

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pembuatan simplisia Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus*)

Daun waru (*Hibiscus tiliaceus*) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Kelurahan Liliba dengan kriteria segar, utuh, dan bebas hama. Proses sortasi basah dilakukan dengan memisahkan bagian yang tidak diinginkan, seperti tangkai atau daun yang rusak. Selanjutnya daun waru dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Mengingat ukurannya yang besar, daun waru dirajang untuk memperluas permukaan sehingga proses pengeringan lebih mudah dan cepat.

Pengeringan dilakukan secara alami dengan menempatkan sampel di bawah sinar matahari tidak langsung yang ditutupi kain hitam. Penggunaan kain hitam bertujuan untuk meningkatkan penyerapan panas serta menjaga simplisia dari efek merusak paparan sinar UV yang berlebihan terhadap senyawa aktif (Sartini et al., 2017). Selanjutnya, dilakukan sortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing dan pengotor yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering.

Simplisia daun waru, kemudian digiling hingga menjadi serbuk halus dan diayak menggunakan ayakan No.60. Pengayakan ini bertujuan untuk memperoleh ukuran partikel yang homogen serta meningkatkan luas permukaan kontak antara simplisia dengan pelarut, sehingga proses ekstraksi dapat dilakukan secara maksimal (Yunita et al, 2020).

B. Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus*)

Maserasi dilakukan melalui perendaman 400 gram serbuk simplisia daun waru dalam metanol 70%. Metanol dipilih sebagai pelarut sesuai prinsip *like dissolves like*, karena flavonoid yang menjadi target ekstraksi merupakan senyawa polar dengan kelarutan tinggi dalam pelarut polar. Flavonoid ini berperan penting dalam aktivitas tabir surya. Hasil penelitian Putri et al. (2021) melaporkan bahwa ekstrak metanol daun waru mengandung flavonoid total dengan konsentrasi delapan kali lipat lebih tinggi daripada suspensi ekstrak.

Maserasi serbuk simplisia daun waru dilakukan selama tiga hari disertai pengadukan berkala. Pengadukan dilakukan untuk memastikan seluruh serbuk simplisia homogen dalam pelarut (Yunita et al, 2020). Distribusi partikel simplisia yang homogen dapat meningkatkan laju pencapaian kesetimbangan konsentrasi antara komponen bioaktif dalam simplisia dengan pelarut, sehingga proses ekstraksi menjadi lebih optimal (Handoyo, 2020) dan rendemen ekstrak yang diperoleh lebih tinggi (Handarni et al, 2020).

Setelah proses maserasi selama tiga hari, hasil maserasi disaring, kemudian residu simplisia menjalani remaserasi dengan metanol 70% selama dua hari. Selama tahap remaserasi, dilakukan pengadukan sekali sehari selama 5 menit. Proses remaserasi ini dilakukan untuk memperoleh penyarian maksimal terhadap senyawa aktif yang masih tersisa dalam simplisia sekaligus meningkatkan total rendemen ekstrak (Arista et al., 2018).

Sebanyak 3 L maserat dievaporasi menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak cair yang dihasilkan selanjutnya dipekatkan lagi dengan *waterbath* pada suhu 50°C hingga terbentuk ekstrak kental. Proses pemekatan ini menghasilkan ekstrak kental seberat 62,56 g dengan rendemen sebesar 15,64%.

C. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus*)

Uji bebas metanol dilakukan terlebih dahulu untuk memastikan bahwa ekstrak kental tidak lagi mengandung metanol, sehingga tidak memengaruhi hasil skrining fitokimia maupun uji aktivitas tabir surya.

Tabel 3 Uji bebas metanol pada ekstrak.

Identifikasi	Pustaka	Hasil	Keterangan
Uji esterifikasi	Jika tercium bau menyengat berarti ekstrak masih mengandung metanol (Antonius et al., 2019)	Tidak tercium bau menyengat	Bebas metanol
Uji oksidasi	Jika ekstrak bebas metanol maka tidak ada perubahan warna cokelat. (Pakaya et al., 2023)	Tidak ada perubahan warna	Bebas metanol

Ekstrak daun waru dicampurkan dengan asam asetat glasial dan asam sulfat pekat, lalu dipanaskan. Dalam reaksi ini asam asetat glasial berperan sebagai donor gugus asam karboksilat, sedangkan asam sulfat berperan sebagai katalis yang mempercepat reaksi esterifikasi. Reaksi ini menghasilkan senyawa ester yang mudah menguap dan memiliki bau menyengat, menyerupai bau karet. Dengan demikian, terciumnya bau menyengat dari tabung reaksi setelah proses

pemanasan menjadi indikator ada atau tidaknya kandungan metanol dalam ekstrak (Antonius et al., 2019).

Pada uji oksidasi, ekstrak dicampur dengan H_2SO_4 pekat dan larutan KMnO_4 pekat, kemudian dibiarkan selama beberapa saat sebelum ditambahkan larutan natrium tiosulfat. Asam sulfat berperan menciptakan suasana asam yang diperlukan untuk mengaktifkan KMnO_4 sebagai oksidator kuat. Dalam kondisi tersebut, metanol (CH_3OH) akan mengalami oksidasi menjadi formaldehida (HCHO) dan selanjutnya menjadi asam format (HCOOH) (Antonius et al., 2019). Perubahan warna larutan dari ungu menjadi cokelat, yang disebabkan oleh pembentukan endapan MnO_2 , menjadi indikator terjadinya reaksi oksidasi. Penambahan natrium tiosulfat bertujuan mereduksi kelebihan KMnO_4 sehingga perubahan warna lebih jelas teramati. Jika hasil uji tidak menunjukkan perubahan warna menjadi cokelat, berarti ekstrak dinyatakan bebas metanol (Pakaya et al., 2023).

Setelah dipastikan bahwa ekstrak telah bebas dari sisa pelarut metanol, selanjutnya dilakukan skrining fitokimia. Tahapan ini bertujuan untuk mengidentifikasi secara kualitatif keberadaan senyawa-senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak yang diteliti. Skrining fitokimia dilakukan menggunakan reaksi warna yang spesifik. Pereaksi tertentu ditambahkan untuk menunjukkan indikasi keberadaan golongan senyawa tertentu (Emilia et al., 2023).

Pada penelitian ini, skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan alkaloid, flavonoid, tanin dan polifenol, steroid dan terpenoid, serta senyawa fenolik. Hasil pengujian disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4 Skrining fitokimia ekstrak metanol daun waru.

Senyawa	Pustaka	Hasil	Keterangan
Alkaloid	Pembentukan endapan menunjukkan adanya alkaloid endapan putih hingga krem dengan <i>Mayer</i> dan endapan jingga dengan <i>Dragendorff</i> . (Dewi et al., 2021)	Pereaksi <i>mayer</i> timbul endapan krem (keruh) dan endapan jingga dengan <i>dragendorff</i> . Merah	+
Flavonoid	Jika terbentuk warna merah, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun waru tersebut positif mengandung flavonoid (Akasia et al., 2021)		+
Tanin dan Polifenol	Munculnya warna biru tua, biru kehitaman, atau hitam kehijauan menandakan bahwa ekstrak tersebut mengandung senyawa polifenol dan tanin (Rubianti et al., 2022)	Hitam kehijauan	+
Steroid dan Terpenoid	Keberadaan senyawa golongan terpenoid ditunjukkan warna merah, untuk senyawa golongan steroid ditunjukkan timbulnya warna biru.(Emilia et al., 2023)	Kuning	-
Fenolik	Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna larutan dari hijau muda menjadi kehitaman.(Alim et al., 2022)	Hijau muda menjadi kehitaman	+

Hasil skrining fitokimia ekstrak metanol daun waru menunjukkan keberadaan alkaloid, flavonoid, tanin, polifenol, dan fenolik. Hal ini sesuai dengan penelitian Yani et al. (2023) yang menemukan senyawa serupa pada ekstrak etanol daun waru.

Berdasarkan pengujian, ekstrak metanol daun waru positif mengandung alkaloid, ditunjukkan dengan adanya endapan krem keruh pada tabung dengan pereaksi *Mayer* dan endapan jingga pada tabung dengan pereaksi *Dragendorff*. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Dewi et al. (2021). Pembentukan endapan tersebut terjadi akibat interaksi antara ion kalium (K^+) pada pereaksi dengan pasangan elektron bebas atom nitrogen dalam struktur alkaloid, yang menghasilkan kompleks tidak larut (Oktavia et al, 2021).

Hasil uji flavonoid menunjukkan warna merah, yang menandakan hasil positif sesuai dengan literatur oleh Akasia et al. (2021). Terbentuknya warna merah ini disebabkan oleh reaksi reduksi inti benzopiron. Reaksi ini dipicu oleh magnesium dalam suasana asam, dan hasilnya adalah garam flavilium yang berwarna merah (Ergina et al., 2014).

Ekstrak metanol daun waru positif mengandung tanin dan polifenol, yang ditunjukkan oleh perubahan warna hitam kehijauan setelah penambahan $FeCl_3$, hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Rubianti et al. (2022). Pengujian ini bertujuan untuk mengidentifikasi adanya gugus fenol. Ketika gugus tersebut bereaksi dengan ion Fe^{3+} , terbentuk kompleks berwarna gelap. Proses ini terjadi karena ion Fe^{3+} berikatan dengan atom oksigen pada gugus dihidroksi yang terletak pada posisi 4' dan 5' pada struktur tanin. Dalam ikatan ini, atom oksigen berfungsi sebagai ligan dengan mendonasikan pasangan elektron bebasnya (Ergina et al., 2014).

Hasil uji ekstrak metanol daun waru menggunakan pereaksi *Liebermann–Burchard* menunjukkan warna kuning. Temuan ini tidak sesuai dengan indikator positif dilaporkan oleh Emilia et al. (2023), yaitu warna merah untuk terpenoid dan biru untuk steroid. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa ekstrak tidak mengandung senyawa steroid maupun terpenoid.

Sementara itu, pada pengujian fenolik menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan perubahan warna dari hijau muda menjadi kehitaman, sejalan dengan temuan yang dilaporkan oleh Alim et al. (2022). Perubahan warna menjadi gelap terjadi karena pembentukan kompleks antara ion ferri (Fe^{3+}) dari pereaksi FeCl_3 dengan ion fenoksida (ArO^-) dari senyawa fenolik. Reaksi ini menghasilkan kompleks $[\text{Fe}(\text{OAr})_6]^{3-}$ yang berwarna gelap, yang menjadi indikasi adanya senyawa fenol (Oktavia et al., 2021).

D. Penentuan Aktivitas Tabir Surya Ekstrak Metanol Daun Waru (*Hibiscus tiliaceus*)

1. Nilai *Sun Protection Factor* (SPF)

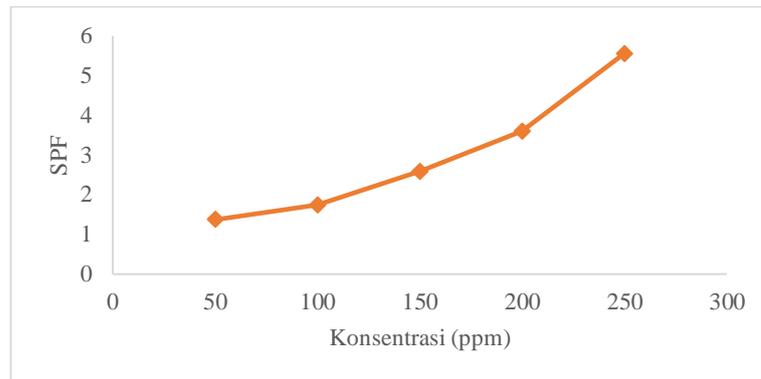
Penentuan nilai SPF dari ekstrak metanol daun waru dilakukan dengan mengukur absorbansi lima konsentrasi larutan uji pada panjang gelombang 280–400 nm, dengan interval setiap 5 nm dan diulang sebanyak tiga kali. Hasil absorbansi dari setiap pengukuran digunakan untuk menghitung *Area Under Curve* atau AUC, yang kemudian menjadi dasar dalam perhitungan nilai SPF (Tjitda et al., 2021). Nilai SPF menggambarkan tingkat perlindungan suatu zat terhadap radiasi sinar UV. Nilai SPF yang lebih tinggi menunjukkan kemampuan yang lebih baik dalam melindungi kulit dari paparan radiasi UV. Secara umum, produk tabir surya dinilai efektif apabila memiliki SPF lebih dari 15 (Siregar et al., 2019). Hasil nilai *Sun Protection Factor* (SPF) dari ekstrak metanol daun waru dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5 Nilai *Sun Protection Factor* (SPF)

Replikasi	Nilai <i>Sun protection Factor</i> (SPF)				
	50 ppm	100 ppm	150 ppm	200 ppm	250 ppm
1	1,31	1,51	1,91	2,56	2,94
2	1,35	1,81	2,66	3,57	4,47
3	1,46	1,94	3,19	4,7	9,28
Rata-rata	1,37±	1,75±	2,59±	3,61±	5,56±
±SD	0,063	0,180	0,525	0,874	2,701
Kategori	-	-	Minimum	Minimum	Sedang

(Sumber : Data Primer, 2025)

Data yang ditampilkan pada Tabel 5 kemudian divisualisasikan dalam bentuk grafik untuk menunjukkan pola hubungan antara konsentrasi ekstrak dan nilai SPF secara lebih jelas.



Gambar 3 Nilai SPF dan Konsentrasi Ekstrak

Gambar 3 menampilkan hubungan antara konsentrasi ekstrak metanol daun waru dengan nilai SPF. Data ini menunjukkan bahwa adanya peningkatan nilai SPF seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak daun waru. Pada konsentrasi terendah, yaitu 50 ppm, nilai SPF rata-rata mencapai $1,37 \pm 0,063$, yang tergolong rendah dan belum efektif dalam memberikan perlindungan terhadap sinar UV. Nilai SPF kemudian meningkat secara bertahap pada konsentrasi 100 ppm dan 150 ppm, hingga mencapai nilai tertinggi pada konsentrasi 250 ppm sebesar $5,56 \pm 2,701$.

Peningkatan ini menunjukkan bahwa bertambahnya konsentrasi ekstrak berpengaruh langsung terhadap kemampuan perlindungan terhadap radiasi UV. Meskipun pada konsentrasi tertinggi simpangan baku relatif lebih besar, grafik tetap memperlihatkan tren kenaikan yang konsisten. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak metanol daun waru memberikan perlindungan yang semakin efektif seiring dengan peningkatan kandungan senyawa aktif dalam ekstrak yaitu flavonoid.

Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang tersusun atas ikatan rangkap dan cincin aromatik dalam struktur molekulnya. Struktur ini membentuk sistem terkonjugasi dengan orbital π yang terdelokalisasi di sepanjang kerangka molekul, yang menyediakan transisi elektron antar orbital ketika menyerap suatu sinar UV. Selanjutnya, eksitasi elektron dan diikuti elektron kembali ke keadaan dasar (*ground state*) dengan energi yang rendah (He et al., 2021). Karakteristik ini mengkonfirmasi bahwa flavonoid memiliki potensi dan berkontribusi pada penyerapan pada penyerapan radiasi ultraviolet (UV) dalam rentang 200–400 nm secara efektif.

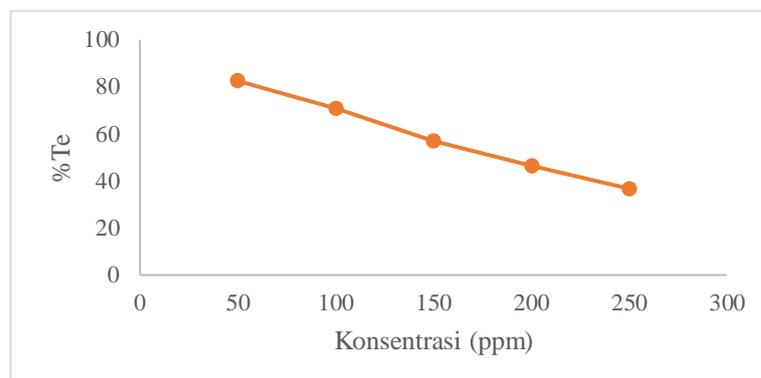
2. Transmisi Eritema (%Te) dan Transmisi Pigmentasi (%Tp)

Nilai %Te (persentase transmisi eritema) dan %Tp (persentase transmisi pigmentasi) digunakan untuk menilai seberapa banyak sinar UV yang diserap oleh tabir surya. Semakin kecil nilai transmisi, semakin tinggi kemampuan perlindungan (Dampati et al., 2020). Hasil pengukuran nilai %Te dari ekstrak metanol daun waru disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6 Hasil pengukuran nilai %Te

Replikasi	Nilai %Te				
	50 ppm	100 ppm	150 ppm	200 ppm	250 ppm
1	87,45	78,89	67,8	58,91	52,31
2	82,24	68,29	54,65	43,37	32,9
3	77,93	65,88	48,84	37,69	25,03
	82,54±	71,02±	57,10±	46,66±	36,75±
Rata-rata ±SD	3,892	5,651	7,931	8,969	11,464

(Sumber : Data Primer, 2025)



Gambar 4 Hasil pengukuran nilai %Te

Berdasarkan hasil uji terhadap lima konsentrasi ekstrak, terlihat bahwa nilai transmisi eritema (%Te) menunjukkan tren penurunan seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak metanol daun waru (Gambar 4). Rata-rata %Te tertinggi terdapat pada konsentrasi 50 ppm sebesar $82,54 \pm 3,892\%$, sedangkan nilai terendah terdapat pada konsentrasi 250 ppm sebesar $36,75 \pm 11,464\%$. Penurunan ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin besar kemampuannya dalam menghambat transmisi sinar UV yang dapat menyebabkan eritema (kemerahan pada kulit).

Efektivitas ini berkaitan erat dengan kandungan flavonoid dalam ekstrak. Flavonoid memiliki aktivitas antiinflamasi yang telah dikonfirmasi oleh beberapa penelitian (Abou Baker, 2022; Ferraz et al., 2020; Al-Khayri et al., 2022; Li et al., 2020). Aktivitas antiinflamasi ini bekerja melalui penghambatan jalur arakidonat dengan menekan ekspresi enzim siklooksigenase-2 (COX-2), sehingga menurunkan sintesis prostaglandin seperti PGI₂ dan PGE₂ yang berperan penting dalam patogenesis eritema akibat sinar UV (Amini, Hamdin, Muliasari, & Subaidah, 2020). Dengan demikian, flavonoid memberikan efek

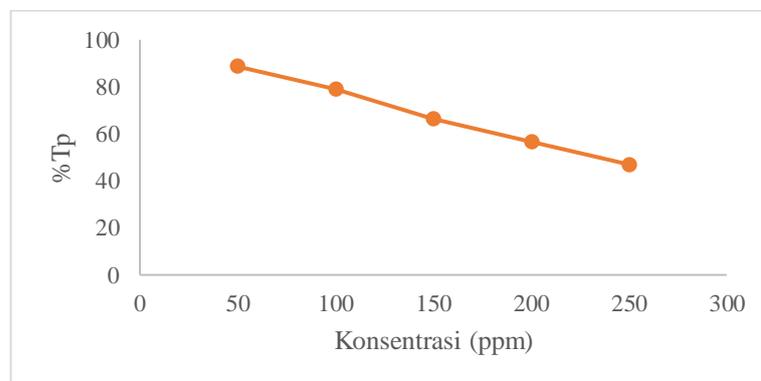
perlindungan tambahan terhadap kulit, tidak hanya sebagai penyerap radiasi UV tetapi juga sebagai agen antiinflamasi yang mengurangi respons inflamasi akibat paparan UV.

Peningkatan nilai standar deviasi (SD) pada konsentrasi tinggi menunjukkan adanya perbedaan respons antar replikasi, yang mungkin disebabkan oleh variasi stabilitas ekstrak atau kondisi teknis selama pengujian. Meski belum dikategorikan secara eksplisit, tren penurunan %Te memperlihatkan efektivitas fotoprotektif yang meningkat seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak.

Tabel 7. Hasil pengukuran nilai %Tp

Replikasi	Nilai %Tp				
	50 ppm	100 ppm	150 ppm	200 ppm	250 ppm
1	92,12	85,26	75,8	67,63	61,41
2	87,8	76,23	64,13	53,56	43,57
3	85,88	75,07	59,16	48,17	35,98
Rata-rata	88,60±	78,85±	66,36±	56,45±	46,99±
±SD	2,610	4,555	6,974	8,204	10,659
Kategori	-	<i>Fast tanning</i>	<i>Fast tanning</i>	<i>Fast tanning</i>	<i>Fast tanning</i>

(Sumber : Data Primer, 2025)

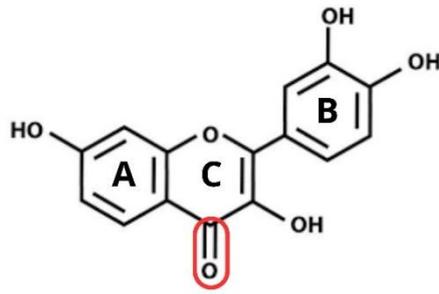


Gambar 5. Hasil pengukuran nilai %Tp

Gambar 5 menunjukkan bahwa nilai transmisi pigmentasi (%Tp) menurun secara signifikan seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak metanol daun waru. Pada konsentrasi 50 ppm, rata-rata %Tp tercatat sebesar $88,60 \pm 2,610\%$, dan menurun tajam menjadi $46,99 \pm 10,659\%$ pada konsentrasi 250 ppm. Penurunan nilai ini menunjukkan adanya aktivitas penghambatan terhadap proses pigmentasi kulit akibat paparan sinar UV, meskipun seluruh konsentrasi yang diuji masih tergolong dalam kategori fast tanning.

Kategori fast tanning pada tabel 7 mengacu pada kemampuan suatu zat dalam menyerap sinar UVA dan UVB yang tergolong rendah, dengan nilai %Tp berkisar antara 45–86%. Dalam kategori ini, sekitar 15% radiasi UVB tetap diteruskan ke kulit, sehingga berkontribusi terhadap penggelapan kulit secara maksimal, khususnya pada rentang panjang gelombang transmisi 300–400 nm (Dampati et al., 2020).

Efek penghambatan terhadap proses pigmentasi berkaitan erat dengan keberadaan senyawa flavonoid dalam ekstrak, khususnya flavonoid yang mengandung gugus 4-keto pada cincin C (Gambar 6). Struktur tersebut memungkinkan terjadinya interaksi dengan enzim tirosinase secara ireversibel, sehingga menghambat sintesis melanin secara signifikan (Obaid et al., 2021).



Gambar 6. Struktur senyawa flavonoid

Nilai %Te yang menunjukkan penurunan lebih besar dibandingkan %Tp mengindikasikan bahwa ekstrak metanol daun waru lebih efektif dalam menghambat radiasi UVB dibandingkan UVA. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa aktif pada ekstrak daun waru cenderung menyerap energi pada panjang gelombang pendek (UVB) berenergi tinggi, sesuai dengan sifat spektrum ultraviolet, di mana UVB (280–320 nm) memiliki energi lebih besar dibandingkan UVA (320–400 nm).

Senyawa aktif seperti flavonoid dan fenolik dalam ekstrak diketahui mengandung gugus kromofor berupa cincin aromatik dan ikatan rangkap terkonjugasi, yang mampu menyerap sinar UV melalui transisi elektron $\pi \rightarrow \pi^*$. Di samping itu, keberadaan gugus aksamokrom seperti $-OH$ dapat memperluas sistem konjugasi elektron, sehingga menurunkan energi eksitasi dan memungkinkan penyerapan pada panjang gelombang lebih besar seperti UVA. Namun, jika sistem konjugasi dalam senyawa belum cukup luas, maka kemampuan menyerap UVA menjadi terbatas. Oleh karena itu, dominasi aktivitas fotoprotektif pada spektrum UVB menjelaskan mengapa nilai %Te lebih rendah dibandingkan %Tp.