

## **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **A. Hasil**

#### 1. Determinasi tanaman

Uji determinasi dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Ahmad Dahlan pada 25 Februari 2024 dengan nomor 275/Lab.Bio/B/V/2024. Tujuan determinasi ini adalah untuk memverifikasi identitas tanaman yang diteliti guna mencegah kesalahan penggunaan sampel dalam penelitian. Hasil dari determinasi ditemukan bahwa sampel yang digunakan adalah *Psidium guajava* L pada **Lampiran 2**.

#### 2. Penyiapan Sampel

Penelitian ini dimulai dengan mengambil sampel daun jambu biji putih dari area budidaya di Grabag, Purworejo, Jawa Tengah. Sampel diambil pada pagi hari karena pada waktu itu kelembaban udara masih tinggi, intensitas cahaya matahari rendah, dan suhu lingkungan masih rendah. Suhu lingkungan yang rendah ditunjukkan oleh kondisi fisik daun yang segar dan berwarna hijau, yang mengindikasikan kandungan senyawa aktif yang tinggi. Pemanenan daun jambu biji putih dilakukan di lingkungan yang sama pada satu pohon supaya tidak terjadi variasi kandungan senyawa. Daun jambu biji putih berdasarkan letak daun diambil dari pucuk ke 2 yang merupakan daun yang masih muda karena berdasarkan fisiologisnya kadar zat aktifnya tinggi (Satiyarti *et al.*, 2019).

Sebanyak 500 gram daun jambu biji putih disortasi basah, kemudian bahan tersebut dipotong menjadi potongan-potongan kecil. Tujuan dari pemotongan kecil-kecil adalah untuk mempercepat proses pengeringan. Sampel yang sudah bersih dilakukan pengeringan yang bertujuan untuk mengurangi kandungan air supaya mikroba tidak tumbuh dan memudahkan proses penghalusan. Pengeringan dilakukan dengan oven pada suhu 40°C agar tidak merusak senyawa yang terkandung dan sirkulasi udara lebih baik sehingga proses pengeringan lebih optimal. Penggunaan oven juga dapat diatur suhu dan panasnya sehingga

lebih merata dari pada menggunakan sinar matahari. Kemudian daun jambu biji putih yang telah dikeringkan dihaluskan menjadi serbuk untuk memperluas area kontak antara sampel dengan pelarut. Hal ini bertujuan untuk memudahkan pelarut menembus dinding sel tumbuhan sehingga senyawa-senyawa dalam sampel dapat larut dengan efisien. Setelah dihaluskan menjadi serbuk, serbuk tersebut disaring menggunakan ayakan 40 mesh agar mendapatkan ukuran serbuk yang seragam, tidak menggumpal, dan partikel serbuk lebih kecil untuk mempermudah proses ekstraksi (Purwanto & Prajitno, 2013).

### 3. Ekstraksi

Dalam penelitian ini digunakan butanol, etanol dan metanol sebagai pelarut ekstraksi dengan metode maserasi. Metode ini dipilih karena senyawa yang diharapkan tidak tahan pemanasan, selain itu metode maserasi ini tidak membutuhkan banyak alat dan mudah dalam pengerjaan. Dalam maserasi dilakukan perendaman serbuk tanaman dalam pelarut yang diletakkan dalam wadah kaca. Dipilih wadah maserasi bahan kaca karena bahan tersebut tahan jika terjadi reaksi kimia dan bersifat *inert*. Dalam penelitian ini, dipilih pelarut butanol, etanol dan metanol karena ketiganya bersifat polar yang dapat dilihat berdasarkan tabel indeks polaritas pada **Tabel 5** sehingga dapat melarutkan senyawa fenolik dan flavonoid yang merupakan senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar (Mauludina *et al.*, 2019).

Maserasi tersebut selama 3 hari dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:10, lalu diaduk setiap 8 jam. Tujuan pengadukan berulang supaya sampel yang terekstraksi oleh larutan penyari dapat lebih cepat (Widhiana Putra *et al.*, 2020). Maserasi dilakukan selama 3 hari dimana waktu tersebut dianggap paling optimal untuk menarik senyawa yang diharapkan. Selanjutnya dilakukan remaserasi dengan penggantian pelarut yang baru supaya pelarut yang sudah jenuh diganti dengan pelarut segar sehingga zat aktif dalam senyawa masih dapat ditarik yang dapat menambah berat rendemen. Remaserasi dilakukan sampai 4 kali yang dapat dilihat pada **Lampiran 4**, dimana warna sudah tidak terlalu pekat yang berarti pelarut sudah jenuh. Hasil filtrat ekstraksi dan remaserasi masing-masing pelarut kemudian diuapkan menggunakan wajan

penangas sampai diperoleh ekstrak kental. Kemudian dihitung rendemen yang diperoleh pada **Tabel 6**

**Tabel 6. Hasil Rendemen Ekstrak Kental Daun Jambu Biji Putih**

<b>Estrak</b>	<b>Berat Simplisia (g)</b>	<b>Berat wadah + ekstrak (g)</b>	<b>Berat wadah kosong (g)</b>	<b>Berat Ekstrak (g)</b>	<b>Rendemen (%)</b>
Butanol	100	101,12	94,02	7,09	7,09
Etanol	100	108,21	95,01	13,20	13,20
Metanol	100	110,70	94,03	16,66	16,66

Berdasarkan tabel 6, didapatkan urutan rendemen dari yang rendah ke tinggi adalah ekstrak butanol, etanol dan metanol. Semakin tinggi rendemen ekstrak maka semakin tinggi kandungan zat dapat tertarik pada suatu sampel tanaman. Syarat untuk rendemen ekstrak kental adalah setidaknya 10%. (Farmakope Herbal Indonesia, 2017). Berdasarkan **Tabel 6** hasil rendemen ketiga pelarut tersebut yang memenuhi syarat hanya metanol dan etanol. Faktor butanol tidak memenuhi syarat dapat dikarenakan tidak adanya kontrol dari viskositas masing-masing ekstrak, selain itu butanol memiliki titik didih paling tinggi yaitu 117,7°C sehingga paling mudah menguap dari pada etanol dan metanol (Diah, 2019).

#### 4. Uji Fitokimia

Uji fitokimia adalah metode untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa metabolit sekunder dalam suatu bahan alam, seperti tumbuhan, yang memiliki potensi aktivitas biologis. Uji ini dilakukan secara kualitatif dengan mengamati reaksi atau perubahan warna yang terjadi setelah penambahan pereaksi tertentu. Hal ini memungkinkan untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terdapat dalam tumbuhan tersebut (D. M. Putri & Lubis, 2020). Hasil uji fitokimia dapat dilihat pada **Tabel 7** diperoleh bahwa masing-masing ekstrak mengandung metabolit sekunder yang sama antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik, tanin dan terpenoid namun tidak mengandung steroid.

Tabel 7. Hasil Uji Fitokimia

No	Golongan + Reaksi	Pelarut			Keterangan
		Butanol	Etanol	Metanol	
1	Alkaloid (Mayer)	+	+	+	Endapan putih
2	Aalkaloid (Dragendroff)	+	+	+	Endapan coklat
3	Alkaloid (Wagner)	+	+	+	Endapan Kuning
4	Flavonoid	+	+	+	Warna merah kuning
5	Saponin	+	+	+	Busa 15 menit
6	Fenolik	+	+	+	Warna hijau kebiruan
7	Tanin	+	+	+	Warna hitam kecoklatan
8	Steroid	-	-	-	Tidak terbentuk cincin biru atau ungu
9	Terpenoid	+	+	+	Cincin merah atau kuning

#### 5. Penentuan Nilai Sun Protection Factor (SPF)

Untuk menghitung nilai SPF, spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mengukur absorbansi sampel masing-masing ekstrak pada rentang panjang gelombang 290–320 nm dengan interval 5 nm. Pada uji aktivitas *in vitro* ini nilai absorbansi yang telah terukur selanjutnya dimasukkan ke dalam persamaan Mansur sehingga didapatkan nilai SPF (Sari & Yani, 2021). Berdasarkan hasil analisa didapatkan nilai SPF seperti yang tercantum pada **Tabel 8**.

Tabel 8. Hasil Uji Nilai SPF

Ekstrak	Indeks Polaritas	Rata-rata SPF $\pm$ SD	Kategori dan Waktu Perlindungan
Butanol	5,7	18,49 $\pm$ 0,357	Ultra (180 menit)
Etanol	4,3	12,11 $\pm$ 0,552	Maksimal (120 menit)
Metanol	5,1	16,07 $\pm$ 0,704	Ultra (160 menit)

Berdasarkan **Tabel 8**, diperoleh ekstrak daun jambu biji putih dengan butanol termasuk kategori ultra ( $>15$ ), etanol kategori maksimal (8-15) dan

metanol kategori ultra ( $>15$ ). Hasil nilai SPF paling optimal ditunjukkan pada ekstrak butanol yaitu 18,49, kemudian ekstrak metanol 16,07 dan yang terendah ekstrak etanol 12,11. Semakin tinggi nilai SPF suatu produk, semakin efektif produk tersebut dalam melindungi kulit dari dampak negatif sinar UV (Yulianti *et al.*, 2015).

#### 6. Analisis Data

Selanjutnya, nilai SPF yang diperoleh dianalisis menggunakan SPSS untuk menentukan apakah nilai SPF masing-masing ekstrak berbeda secara signifikan. Analisis data SPSS dilakukan dengan uji normalitas *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas *Levene* untuk menentukan data normal dan homogen. Kemudian dilakukan uji ANOVA dan uji *Post Hoc* dengan LSD.

**Tabel 9. Hasil Analisis Data SPSS**

Konsentrasi Sampel	Nilai SPF			
	Normalitas	Homogenitas	ANOVA	LSD
Butanol	0,404*			
Etanol	0,295*	0,402**	$<0,001^a$	$<0,001^a$
Metanol	0,354*			

Keterangan:

Sig.  $>0,05$  : Data terdistribusi normal\*, Sig.  $>0,05$ : Data homogen\*\*

Sig.  $<0,05$  : Terdapat perbedaan yang signifikan<sup>a</sup>

Hasil analisis SPF dari ekstrak daun jambu biji putih seperti yang terlihat dalam **Tabel 9** menunjukkan bahwa data terdistribusi secara normal dan homogen, yang dinyatakan dengan nilai signifikansi  $>0,05$ . Selanjutnya, berdasarkan hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan (signifikansi  $<0,05$ ). Kemudian, setiap parameter dianalisis lebih lanjut menggunakan uji *Post Hoc*, khususnya uji LSD, untuk mengidentifikasi sampel mana yang menunjukkan perbedaan signifikan. Hasilnya menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar semua pelarut karena nilai signifikansi yang diperoleh  $<0,05$  (Septiadi & Ramadhani, 2020).

## B. Pembahasan

Dalam penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pelarut terhadap nilai SPF dengan melakukan perbandingan pelarut butanol, etanol dan metanol yang digunakan saat ekstraksi maserasi dengan menggunakan sampel daun jambu biji putih (*Psidium guajava* L). Dalam penelitian ini, uji kualitatif dilakukan dengan uji fitokimia untuk mengidentifikasi kandungan senyawa di dalam suatu bahan alam. Hasil yang diperoleh daun jambu biji putih mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenol dan terpenoid seperti pada **Lampiran 5**. Prinsip dasar pengujian alkaloid melibatkan pengendapan alkaloid dengan logam-logam berat. Dalam pengujian alkaloid, asam sulfat ditambahkan untuk mengekstraksi alkaloid, membentuk garam alkaloid, dan meningkatkan kelarutan alkaloid dalam air. Tiga pereaksi umum yang digunakan adalah Mayer, Dragendorff, dan Wagner. Hasil uji fitokimia pada **Lampiran 5** menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu biji putih menunjukkan hasil positif mengandung alkaloid untuk semua ekstrak pada semua pereaksi. Pembentukan endapan putih hingga kekuningan menunjukkan hasil positif untuk alkaloid dengan pereaksi Meyer. Hal ini adalah hasil reaksi dari nitrogen dalam alkaloid dengan ion logam  $K^+$  dari kalium tetraiodomerkurat (II). Reaksi ini membentuk kompleks endapan kalium-alkaloid. Dalam pereaksi Dragendorff, alkaloid positif menciptakan endapan berwarna coklat karena nitrogen dalam alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam  $K^+$ , komponen kalium-alkaloid. Dalam pereaksi Wagner, alkaloid positif menciptakan endapan berwarna kuning. Dalam proses ini, ion logam  $K^+$  membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen dalam alkaloid. Reaksi antara ion  $I^-$  dari kalium iodida dengan pereaksi Wagner menghasilkan ion  $I^{3-}$  yang berwarna coklat. Dalam uji Wagner, ion logam  $K^+$  juga berperan dalam membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen dalam alkaloid, membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Purwanti *et al.*, 2021).

Dalam pengujian flavonoid, sampel dimasukkan ke dalam serbuk magnesium dan HCl. Serbuk magnesium mereduksi inti benzopiron dalam

struktur flavonoid, sehingga terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga yang menunjukkan hasil positif yang mengandung flavonoid. Selain itu, penambahan HCl dimaksudkan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, melepaskan gugus O-glikosil. Karena sifat elektrofiliknya, gugus glikosil akan digantikan oleh  $H^+$  dari asam. Uji kandungan flavonoid ekstrak daun jambu biji putih menunjukkan hasil positif, yang ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi merah atau kuning, seperti yang ditunjukkan oleh hasil penelitian yang ditunjukkan pada **Lampiran 5** (Purwanti *et al.*, 2021).

Pada pengujian saponin, dilakukan dengan menambahkan air yang dipanaskan dan HCl. Air digunakan sebagai pelarut, sementara HCl berperan sebagai pereaksi. Saponin, yang mudah larut dalam air dan bersifat polar, menyebabkan terbentuknya busa saat dikocok. Sifat ini disebabkan oleh strukturnya yang mirip dengan sabun, memiliki gugus hidrofilik dan hidrofobik yang berperan sebagai sisi aktif dalam pembentukan busa. Uji busa ini menunjukkan keberadaan glikosida yang mampu membentuk buih dalam air dan dapat terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. Berdasarkan hasil pada **Lampiran 5**, ditemukan bahwa ekstrak daun jambu biji putih mengandung saponin dengan hasil uji busa yang stabil selama 15 menit (Habiba *et al.*, 2022).

Untuk mengidentifikasi gugus fenol dalam sampel, pengujian fenolik menambahkan besi klorida (III). Perubahan warna menjadi hijau menunjukkan adanya fenol. Sebagian besar fenol memiliki lebih dari satu gugus hidroksi. Karena sifatnya yang polar, senyawa fenol mudah larut dalam pelarut polar seperti butanol, etanol, dan metanol. Berdasarkan pengujian kandungan senyawa fenol pada **Lampiran 5** menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu biji putih, yang mengandung senyawa fenolik yang membentuk warna hijau agak kebiruan (Habiba *et al.*, 2022).

Pengujian tanin melibatkan penambahan ekstrak sampel ke dalam etanol dan besi klorida (III). Penambahan besi klorida (III) dilakukan untuk mengidentifikasi adanya gugus fenol, yang menghasilkan warna hitam kebiruan atau hijau kehitaman yang menunjukkan positif tanin. Reaksi antara tanin dan besi klorida (III) membentuk senyawa kompleks, yang terdiri dari ion  $Fe^{3+}$

sebagai atom pusat dan tanin yang menghasilkan gugus fenol. Perubahan warna menjadi hitam kebiruan pada uji yang tercantum dalam **Lampiran 5** menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu biji putih mengandung tannin (Habiba *et al.*, 2022).

Pengujian terpenoid melibatkan menambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat untuk membuat pelarut menjadi merah atau kuning oleh asam sulfat. Terpenoid terdiri dari unit isopren berkarbon 5 (-C<sub>5</sub>) yang disintesis dari asetat melalui jalur asam mevalonat. Struktur terpenoid bervariasi dari molekul linear hingga polisiklik, dengan ukuran mulai dari hemiterpen berunit lima karbon hingga karet dengan ribuan unit isopren. Pada **Lampiran 5** menunjukkan hasil uji kandungan senyawa terpenoid ekstrak daun jambu biji putih yang mengandung cincin merah sehingga dinyatakan positif (Purwanti *et al.*, 2021).

Pengujian steroid menggunakan asam asetat anhidrat dan asam sulfat untuk membuat warna biru atau hijau yang menunjukkan keberadaan steroid. Warna ini dihasilkan karena sifat senyawa steroid bereaksi dalam pelarut asam asetat anhidrat dan berubah menjadi biru atau ungu ketika bereaksi dengan asam sulfat. Ini memerlukan asetilasi gugus -OH pada struktur steroid. Pada **Lampiran 5**, uji kandungan senyawa steroid ekstrak daun jambu biji putih menunjukkan hasil negatif dimana tidak terbentuknya warna biru atau ungu (Purwanti *et al.*, 2021). Hasil uji kualitatif pada penelitian ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Satiyarti *et al.*, (2019) berjudul "Penggunaan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Sebagai Oksida Keong Mas (*Pomacea canaliculata* L.)" yang juga meneliti uji fitokimia daun jambu biji juga positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan terpenoid.

Dari hasil penelitian, terungkap bahwa masing-masing ekstrak mengandung senyawa flavonoid dan fenolik yang memiliki potensi sebagai tabir surya karena mereka mengandung gugus kromofor (ikatan rangkap terkonjugasi) yang efektif dalam menyerap sinar UV A dan UV B. Senyawa flavonoid bekerja dengan cara menyerap sinar UV berkat ikatan rangkap dalam molekulnya, sementara keberadaan gugus hidroksil yang melekat pada cincin

aromatik juga berperan dalam menangkap *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dihasilkan oleh radiasi sinar matahari. Hal ini dibuktikan dengan pengukuran nilai SPF (Rahmi, 2017).

SPF (*Sun Protection Factor*) adalah standar yang umum digunakan untuk menilai seberapa efektif produk atau zat dalam melindungi dari radiasi UV. Mekanisme SPF melibatkan penyerapan dan penghambatan pigmen melanin, yang dapat mencegah akumulasi dan munculnya bintik-bintik hitam yang disebabkan oleh paparan sinar UV berlebih. Selain itu, SPF juga membantu dalam menangkalkan radikal bebas yang dapat merusak kulit akibat paparan sinar matahari (Wicaksono & Ulfah, 2017).

Dalam penelitian ini uji kuantitatif dilakukan dengan mengukur nilai SPF yang diperoleh dengan menganalisis sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 290 hingga 320 nm. Rentang ini khususnya dipilih karena termasuk dalam rentang sinar UV-B yang berbahaya, yang diketahui mampu menembus lapisan paling luar kulit (epidermis) dan dapat menyebabkan eritema (Yulianti *et al.*, 2015). Tujuan pengukuran adalah untuk mengevaluasi kemampuan senyawa yang potensial sebagai tabir surya dalam melindungi kulit dari paparan sinar UV-B. Pada penelitian ini blanko yang digunakan yaitu butanol, etanol dan metanol sesuai dengan masing-masing pelarut yang digunakan karena mudah larut dalam banyak senyawa dan tidak memberikan gangguan serapan terhadap senyawa yang dilarutkan.

Berdasarkan hasil absorbansi pada **Lampiran 6**, nilai rata-rata hasil perhitungan SPF yang diperoleh dari yang tertinggi berturut turut yaitu butanol 18,49, metanol 16,06 dan etanol 12,11. Menurut Suryadi *et al.*, (2021) karena nilai SPF ekstrak butanol dan metanol daun jambu biji putih nilainya lebih dari 15 yaitu proteksi ultra sehingga menahan radiasi UV sebesar 96,0% hingga 97,4%. Sedangkan ekstrak etanol daun jambu biji putih nilai SPF antara 8-15 yaitu proteksi maksimal sehingga melindungi dari sinar UV dengan menahan radiasi UV sebesar 93,3% hingga 95,9%. Suatu tabir surya dianggap memberikan perlindungan minimal jika memiliki SPF setidaknya 2. Untuk dianggap sebagai tabir surya yang efektif, sampel uji harus memiliki nilai SPF di atas 15 (Suryadi *et al.*, 2021). Kulit hanya mampu melawan kemerahan dan terbakar akibat paparan sinar matahari selama 10 menit tanpa penggunaan tabir

surya. Maka dilakukan penentuan seberapa lama tabir surya dapat melindungi kulit, nilai SPF-nya dikalikan dengan 10 menit, dimana dari hasil SPF yang diperoleh pada ekstrak butanol mampu melindungi kulit dari sengatan sinar matahari agar terhindar dari rasa terbakar dan kemerahan selama 180 menit, pada metanol selama 160 menit dan etanol selama 120 menit. Maka daun jambu biji putih memiliki potensi besar untuk diformulasikan sebagai bahan tabir surya (Anggreini *et al.*, 2024).

Hasil SPF yang telah diperoleh tersebut sesuai dengan penelitian Diah, (2019) berjudul “Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Nilai *Sun Protection Factor* Maserat Daun Kelor” menyatakan bahwa nilai SPF menggunakan pelarut metanol lebih tinggi dari pada etanol. Berdasarkan **Tabel 5** menurut Wong, (2018), nilai indeks pelarut tertinggi berturut turut yaitu butanol (5,7), metanol (5,1) dan etanol (4,3). Hal tersebut menunjukkan perlakuan perbedaan pelarut saat ekstraksi menggunakan pelarut butanol, etanol dan metanol dengan polaritas berbeda dapat menghasilkan nilai SPF berbeda sesuai dengan tingkat polaritas masing-masing. Semakin polar pelarut yang digunakan, semakin banyak senyawa yang diekstraksi, yang kemudian dapat mempengaruhi nilai SPF dari produk tersebut (Diah, 2019). Dari nilai SPF yang didapat dengan polaritas pelarut diatas dapat disimpulkan bahwa semakin polar pelarut yang digunakan semakin tinggi juga nilai SPF yang diperoleh. Namun apabila dikorelasikan antara hasil rendemen dengan SPF terdapat hubungan yang tidak linier. Pada rendemen ekstrak butanol memiliki rendemen terendah namun SPF tertinggi, jika dibandingkan ekstrak etanol dan metanol. Hal ini dapat dikarenakan metanol dan etanol merupakan pelarut yang tidak bersifat selektif, sehingga dapat melarutkan banyak senyawa non metabolit sekunder seperti karbohidrat, protein, mineral dan vitamin C (Kumar *et al.*, 2021). Hal tersebut sesuai penelitian D. K. Putri *et al.*, (2022) menyatakan metanol dapat menarik hampir semua senyawa organik pada saat mengekstrak sampel. Sehingga dengan tingginya rendemen tidak menjamin aktivitas penangkapan radiasi UV nya juga akan semakin tinggi. Hal ini perlu dibuktikan dengan penelitian lebih lanjut terkait analisa kuantitatif dari senyawa yang berperan yaitu fenolik dan flavonoid masing-masing ekstrak untuk membuktikan korelasi antara perbandingan pelarut terhadap kuantitas senyawa metabolit yang berperan.