

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENENTUAN NILAI *SUN PROTECTION FACTOR* (SPF) DARI FRAKSI DAUN VIOLET (*Viola odorata* L.)

Antioxidant Activity Test and Determination of Sun Protection Factor (SPF) on Fractionated Extract of Violet Leaf (Viola odorata L.)

Marshela Anjani¹, Fendi Yoga Wardana^{1*}, Nanang Ardianto¹, Maria Istiqomah¹

¹Program Studi Farmasi Klinis dan Komunitas, Fakultas Sains dan Teknologi, Institut Teknologi, Sains, dan Kesehatan RS dr. Soepraoen Kesdam V/BRW Malang, Jawa Timur, Indonesia

*Email: fendiyoga@itsk-soepraoen.ac.id

ABSTRACT

*Long-term exposure to UV radiation can cause harmful effects on human skin, such as wrinkles and skin cancer. The violet leaves (*Viola odorata* L.) contain flavonoid compounds that potentially act as antioxidants as well as active substances in sunscreen. The study aimed to determine antioxidant activity and measure the Sun Protection Factor (SPF) value in violet leaf fractions (*Viola odorata* L.). The investigation was carried out at ITSK RS dr. Soepraoen's Chemistry and Pharmacognosy Laboratory from August to September of 2023. Fractionation is the next step in the extraction process after maceration. Sun Protection Factor (SPF) calculation is used to determine sunscreen activity, while the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method is used to determine antioxidant activity. UV-Vis spectrophotometry at 517 nm wavelengths is used to measure the IC₅₀ as an antioxidant activity parameter, while UV-Vis spectrophotometry in the 290–320 nm wave length range is used to calculate the value of the Sun Protection Factor (SPF). The findings demonstrated the low antioxidant activity of violet leaf fractions (*Viola odorata* L.), with IC₅₀ values at 1690 µg/mL for n-hexane fractions, 1880 µg/mL for ethyl acetate fractions, and 2130 µg/ml for ethanol fractions. The SPF values of the n-hexane and ethyl acetate fractions, 2.142 and 2.807, respectively, indicate the minimal protection category at a concentration of 250 ppm. In contrast, the SPF of the ethanol fraction at a concentration of 250 ppm is 12,589 which belongs to the category of maximum protection.*

Keywords: *antioxidant, sun protection factor, violet leaves (*Viola odorata* L.), DPPH, spectrophotometry*

ABSTRAK

Paparan radiasi sinar UV dalam waktu lama dapat memicu efek berbahaya pada kulit manusia, seperti kerutan dan kanker kulit. Dampak buruk tersebut dapat diminimalisir dengan penggunaan tabir surya sebagai pelindung sinar UV. Daun violet (*Viola odorata* L.) mempunyai kandungan senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan sekaligus zat aktif tabir surya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan mengukur nilai *Sun Protection Factor* (SPF) pada fraksi daun violet (*Viola odorata* L.). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Kimia ITSK RS dr. Soepraoen pada bulan Agustus sampai September 2023. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi yang kemudian dilanjutkan dengan fraksinasi. Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dan penentuan aktivitas tabir surya menggunakan perhitungan *Sun Protection Factor* (SPF). Pengukuran nilai IC₅₀ sebagai pengukur aktivitas antioksidan dengan spektrofotometri UV-Vis yang panjang gelombangnya 517 nm, sedangkan spektrofotometri UV-Vis yang digunakan untuk menentukan nilai SPF pada rentang panjang gelombang 290-320 nm. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas antioksidan

yang rendah dari fraksi-fraksi daun violet (*Viola odorata* L.), dengan nilai IC_{50} sebesar 1690 $\mu\text{g/mL}$ untuk fraksi n-heksana, 1880 $\mu\text{g/mL}$ untuk fraksi etil asetat dan 2130 $\mu\text{g/mL}$ untuk fraksi etanol. Kategori perlindungan minimal pada konsentrasi 250 ppm ditunjukkan oleh nilai SPF fraksi n-heksana dan etil asetat, yaitu masing-masing 2,142 dan 2,807. Pada konsentrasi 250 ppm, nilai SPF fraksi etanol adalah 12,589, masuk dalam kategori perlindungan maksimal.

Kata kunci: antioksidan, *sun protection factor*, daun violet (*Viola odorata* L.), DPPH, spektrofotometri

PENDAHULUAN

Masalah paling umum di dunia saat ini salah satunya yakni kerusakan kulit akibat radiasi ultraviolet.¹ Paparan sinar ultraviolet (UV) dari matahari, khususnya UVA, UVB, dan UVC, merupakan faktor risiko terbesar untuk kerusakan kulit, termasuk kanker kulit dan penuaan dini. Sinar tersebut dapat menyebabkan pembentukan radikal bebas yang berhubungan dengan panas dan penghancuran kolagen dan elastin kulit yang menyebabkan kerusakan oksidatif, *photoaging*, dan *photocarcinogenesis*.^{2,3} Oleh karena itu, diperlukan tabir surya dalam memblokir sinar UV untuk pencegahan efek negatif paparan sinar matahari.^{4,5}

Nilai *Sun Protection Factor* (SPF) menunjukkan seberapa efektif perlindungan tabir surya dari radiasi sinar UV penyebab eritema. SPF didefinisikan sebagai rasio energi sinar UV yang diperlukan untuk menyebabkan dosis eritema minimal (MED) pada kulit terlindungi dengan kulit yang tidak terlindungi.^{2,4-6} Meningkatnya nilai SPF sebanding dengan tingkat perlindungannya terhadap matahari.⁷ Menurut FDA (*Food and Drug Administration*), risiko kanker kulit dapat dicegah dengan menggunakan tabir surya dengan nilai SPF minimal 15 dengan penggunaan penghalang fisik.⁸

Berdasarkan penelitian terdahulu, ditemukan bahwa produk sintetis yang ada dalam formulasi lebih efektif, namun produk sintesis memiliki efek samping seperti endometriosis, sitotoksitas, dan genotoksitas. Untuk mengatasi masalah ini, produk alami digunakan sebagai tabir surya yang memiliki efek

samping minimal dan tetap berkhasiat seperti produk sintetis.⁹

Senyawa alami dapat ditemukan di bagian tanaman yaitu daun, bunga, batang, buah, getah, biji, rimpang, dan akar. Senyawa fenolik yang ditemukan pada bagian tanaman ini biasanya berfungsi untuk melindungi tanaman dari kerusakan yang disebabkan oleh sinar matahari.¹⁰ Oleh karena itu, daun violet (*Viola odorata* L.) ialah bahan alami yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini.

Viola odorata termasuk anggota famili *Violaceae* yang dikenal dengan berbagai nama seperti *Sweet Violet*, *Garden Violet*, *Common Viola*, dan *Bānāfsāj*. Tanaman ini telah digunakan sejak lama karena memiliki banyak khasiat terapeutik dan sedikit efek samping.¹¹ Sifat penyembuhan *Viola odorata* dihasilkan dari adanya senyawa bioaktif, seperti siklotida, flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid.^{12,13}

Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang berpotensi memblokir radiasi berbahaya dengan menyerap sinar ultraviolet.⁸ Spektrum serapan UV dari flavonoid memiliki dua puncak serapan maksimum, satu antara 240 nm dan 280 nm dan yang lainnya pada 300-500 nm sehingga dapat digunakan dalam formulasi untuk memblokir radiasi UVA dan UVB. Flavonoid juga merupakan kelompok utama antioksidan primer.¹⁴ Senyawa ini dapat membantu mengurangi efek kerusakan akibat radikal bebas pada kulit akibat paparan sinar UV dan dapat memberikan tingkat fotoproteksi yang lebih baik dalam rentang UVA.⁸ Di sisi lain, dengan adanya potensi dari senyawa ini, belum ditemukan penelitian

yang meneliti aktivitas fotoprotektif dari fraksi daun violet (*Viola odorata* L.).

Dapat disimpulkan dari penelitian yang telah berjalan bahwa menambahkan antioksidan pada tabir surya dapat meningkatkan sifat fotoprotektifnya.^{10,15} Maka penelitian ini dibuat dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan mengukur nilai *Sun Protection Factor* (SPF) dari daun violet (*Viola odorata* L.) untuk mengetahui potensinya sebagai bahan aktif tabir surya. Selain itu, ilmu yang diperoleh dapat menjadi landasan penelitian dan pengembangan di bidang farmasi dan kosmetika.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan teknik *simple random sampling*.¹⁶ Penelitian dilakukan pada bulan Agustus hingga September 2023. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia dan Farmakognosi Institut Teknologi, Sains, dan Kesehatan RS dr. Soepraoen Kesdam V/BRW. Simplisia daun violet yang digunakan dalam penelitian ini dideterminasi di UPT Laboratorium Materia Medica Batu dengan nomor 067/2107/102.20/2023. Penelitian ini memiliki variabel bebas yaitu sampel hasil fraksinasi ekstrak daun violet (*Viola odorata* L.) dan variabel terikatnya adalah nilai *Sun Protection Factor* (SPF) dan aktivitas antioksidan dari daun violet (*Viola odorata* L.).

Alat dan Bahan

Alat yang dibutuhkan di penelitian ini yaitu spektrofotometer UV-Vis UV-1780 Shimadzu, blender (Philips), batang pengaduk, toples kaca, alumunium foil (Bestfresh), sendok tanduk, timbangan analitik, pipet mikro (Dragonlab), *stand*, alat gelas (Pyrex), kertas saring *Whatman* No. 1, corong kaca (Pyrex), corong pisah 250 mL (Pyrex), cawan porselen (Pyrex).

Simplisia daun violet (*Viola odorata* L.), etanol 70%, n-heksana, etil asetat,

2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), magnesium, metanol, HCl pekat, FeCl₃ 1%, H₂SO₄ pekat, CHCl₃, CH₃COOH, dan air suling adalah beberapa zat yang digunakan dalam penelitian ini.

Prosedur Kerja

Ekstraksi

Sebanyak 250g simplisia daun violet dihaluskan menggunakan blender hingga berbentuk serbuk. Selanjutnya selama tiga hari, dimaserasi menggunakan 2,5 liter etanol 70%. Sampel dimasukkan dalam toples kaca lalu ditutup rapat agar terhindar dari sinar matahari dengan diaduk setiap 24 jam sekali. Selanjutnya filtrasi dilakukan sebanyak tiga kali untuk setiap ekstrak menggunakan kertas saring *Whatman* No.1 dan filtrat disimpan dalam erlenmeyer 500 mL.

Fraksinasi

Fraksinasi dari ekstrak etanol daun violet dibuat dengan cara melarutkan filtrat dengan n-heksana sebanyak 750mL. Prosedurnya dilakukan dalam corong pisah dimana filtrat dan n-heksana dicampur 1:1. Setelah didiamkan hingga terbentuk dua lapisan fase, fase-fase tersebut dipisahkan. Hasil fraksinasi yang diperoleh, dikenal sebagai fraksi n-heksana, fraksi ditimbang beratnya setelah dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*.

Residu yang tertinggal setelah fraksinasi n-heksana dilarutkan dengan menggunakan etil asetat. Corong pisah masih digunakan dalam prosedur ini, dan rasio residu terhadap etil asetat adalah 1:1. Fraksi etil asetat adalah hasil yang diperoleh, ditimbang, dan dipekatkan dari hasil fraksinasi dengan alat *rotary evaporator*.

Dengan menggunakan *rotary evaporator*, residu dari fraksi etil asetat dipekatkan. Residu yang didapat disebut sebagai fraksi etanol dan dipekatkan menggunakan *waterbath* pada suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$ selama 5 jam hingga mengental. Setelah itu ekstrak juga ditimbang. Ketiga fraksi (etil asetat; n-

heksana; etanol) kental yang didapatkan kemudian dilakukan pengujian skrining fitokimia.

Perhitungan Rendemen Fraksi

Rendemen fraksi dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat fraksi kental (gr)}}{\text{Berat sampel kering (gr)}} \times 100\%$$

Skrining Fitokimia

Skrining ini bertujuan yaitu untuk menentukan komposisi bahan kimia yang ditemukan dalam setiap fraksi daun violet (*Viola odorata* L.).

Identifikasi flavonoid. Prosedur untuk mengidentifikasi flavonoid adalah dengan mencampurkan $\pm 0,1$ g ekstrak dengan air suling. Setelah lima menit mendidih, kemudian disaring. 1 mL HCl pekat, 0,5 mg bubuk magnesium, dan amil alkohol ditambahkan ke dalam filtrat. Campuran tersebut diaduk dan dikocok secara menyeluruh sebelum didiamkan dan dipisahkan. Ketika lapisan amil alkohol berubah menjadi jingga, kuning, atau merah, maka adanya kandungan flavonoid.¹⁷

Identifikasi tanin. Setiap satu mililiter (mL) dari masing-masing ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dua hingga tiga tetes FeCl_3 5%. Positif terkandung tanin dalam ekstrak ketika muncul endapan berwarna biru atau hitam.¹⁸

Identifikasi saponin. Sebanyak 1 mL setiap ekstrak ditambahkan *aquades* sebanyak 2,5 mL diikuti dengan pengocokan selama 1-2 menit. Positif terkandung saponin dalam ekstrak ketika terbentuk busa stabil selama ± 5 menit.^{18,19}

Identifikasi terpenoid. Tabung reaksi diisi dengan 1,5 mL H_2SO_4 pekat dan 1 mL kloroform setelah masing-masing ekstrak diambil hingga volume 1 mL. Positif terkandung terpenoid ketika muncul warna coklat kemerahan.^{18,19}

Identifikasi steroid. Dalam tabung reaksi, 1 mL ekstrak dan 3 mL kloroform

digabungkan. H_2SO_4 pekat (2 mL) kemudian ditambahkan secara perlahan dari pinggir tabung reaksi. Positif terkandung steroid ketika terbentuk cincin berwarna merah pada pertemuan dua lapisan cairan.^{18,19}

Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Serbuk DPPH (BM 394.33) ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan metanol hingga 100 mL. Larutan dimasukkan ke dalam labu ukur berlapis aluminium foil. Pelarut ditambahkan hingga tanda batas, kemudian dihomogenkan dan diperoleh larutan DPPH 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Larutan DPPH dengan konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ diencerkan dengan cara dipipet 15 mL dan dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, ditambahkan pelarut hingga tanda batas, lalu dikocok hingga homogen dan diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Larutan DPPH (30 $\mu\text{g}/\text{mL}$) dipipet sebanyak 3,8 mL ke dalam vial. Kemudian ditambahkan 0,2 mL metanol pa, dan campuran tersebut dihomogenkan lalu diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Spektrum serapan ditentukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400-800 yang kemudian ditentukan panjang gelombang maksimumnya.

Persentase penangkapan radikal bebas menggunakan persamaan:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs kontrol}} \times 100\%$$

Nilai IC_{50} (50% Inhibitory Concentration) untuk setiap sampel selanjutnya dapat dicari dengan membuat kurva persamaan regresi berdasarkan data tersebut. Besarnya aktivitas penangkapan radikal bebas meningkat seiring dengan menurunnya nilai IC_{50} .¹⁸

Penentuan Aktivitas Tabir Surya

Setidaknya, lima konsentrasi berbeda sebanyak 2 mg/mL dari setiap

ekstrak digunakan untuk memperoleh kurva standar dan menghitung SPF.⁴ Setiap ekstrak dibuat larutan dengan konsentrasi 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm. Kemudian dimasukkan ke dalam kuvet 1 cm dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 290-320 nm dengan interval 5 nm. Dalam pengukuran ini, aquadest yang digunakan sebagai blanko.¹⁰ Absorbansi diukur tiga kali untuk setiap ekstrak dan reratanya digunakan untuk perhitungan SPF.⁴

Model penentuan nilai *Sun Protection Factor* (SPF) yang digunakan dalam penelitian ini didasarkan pada persamaan Mansur.¹⁰

$$SPF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Absorban(\lambda)$$

Keterangan:

EE : *Spectrum of erythema effects*

I : *Spectrum of solar intensity*

Abs : *The sunscreen product's absorbance*

CF : *Factor of correction (10)*

Durasi perlindungan oleh paparan sinar UV yang diberikan oleh tabir surya ditunjukkan oleh angka SPF. Klasifikasi kekuatan SPF dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Kekuatan SPF

Kekuatan Proteksi	Nilai SPF
Proteksi Minimal	2 - <4
Proteksi Sedang	4 - <6
Proteksi Ekstra	6 - <8
Proteksi Maksimal	8 - <15
Proteksi Ultra	≥15

Tabel 1 menunjukkan bahwa proteksi minimal adalah ketika nilai SPF suatu zat pada rentang 2 hingga 4. Nilai SPF kategori proteksi sedang antara 4 hingga 6. Nilai SPF kategori ekstra antara 6 hingga 8. Nilai SPF kategori maksimal antara 8 hingga 15 dan nilai SPF kategori ultra adalah lebih dari 15.

HASIL

Hasil Perhitungan Rendemen Fraksi

Setiap fraksi daun violet (*Viola odorata* L.) memiliki nilai rendemen yang berbeda. Hasil perolehan data dipaparkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Persen Rendemen Fraksi

Jenis Fraksi	Sampel Kering (g)	Ekstrak Kental (g)	Rendemen (%)
n-Heksana		1.4	0.56
Etil Asetat	250	7.87	3.15
Etanol		11.42	4.57

Tabel 2 menggambarkan bagaimana jenis pelarut yang memiliki polaritas beragam dapat mempengaruhi kuantitas hasil fraksi. Nilai rendemen fraksi n-heksana (non-polar) adalah sebesar 0,56%, fraksi etil asetat (semi-polar) sebesar 3,15%, dan fraksi etanol (polar) yaitu sebesar 4,57% yang merupakan nilai rendemen tertinggi.

Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dengan hasil pada setiap fraksi daun violet (*Viola odorata* L.) yang ditulis pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia

Senyawa	Fraksi n-Heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Etanol
Flavonoid	-	-	+
Tanin	-	-	+
Saponin	-	-	-
Terpenoid	+	-	+
Steroid	+	-	+

*Keterangan

(+) mengandung zat aktif

(-) tidak mengandung zat aktif

Tabel 3 menunjukkan hasil uji kualitatif skrining fitokimia dari daun violet (*Viola odorata* L.). Telah ditunjukkan bahwa fraksi n-heksana mengandung senyawa terpenoid dan steroid; fraksi etil asetat tidak terbukti mengandung kelima senyawa yang

diujikan; fraksi etanol mengandung flavonoid, tanin, terpenoid, dan steroid.

Hasil Uji Antioksidan dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

Panjang gelombang maksimal DPPH adalah 517 nm ditemukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Panjang gelombang ini akan digunakan untuk menghitung absorbansi sampel. Tabel 4 menampilkan temuan pengujian antioksidan yang dilakukan pada fraksi daun violet (*Viola odorata* L.).

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Jenis Fraksi	Nilai IC ₅₀ (µg/mL)
n-Heksana	1690

Etil Asetat	1880
Etanol	2130

Tabel 4 menunjukkan bahwa pengujian aktivitas antioksidan menghasilkan data nilai IC₅₀ terbesar pada fraksi etanol daun violet (*Viola odorata* L.) sebesar 2130 µg/mL yang masih termasuk dalam kategori lemah.

Hasil Penentuan Nilai Sun Protection Factor (SPF)

Besarnya nilai Sun Protection Factor (SPF) menandakan seberapa efektif sampel sebagai zat aktif tabir surya.⁶ Hasil uji aktivitas tabir surya pada penelitian ini diuraikan dalam Tabel 5., Tabel 6., dan Tabel 7.

Tabel 5. Nilai Sun Protection Factor (SPF) Fraksi n-Heksana

Sampel	Konsentrasi	Nilai SPF	Kategori SPF
Fraksi n-Heksana	50 ppm	0,327	Tanpa Proteksi
	100 ppm	0,601	Tanpa Proteksi
	150 ppm	1,789	Tanpa Proteksi
	200 ppm	2,017	Minimal
	250 ppm	2,142	Minimal

Hasil penelitian pada Tabel 5 menunjukkan bahwa fraksi n-heksana memiliki nilai SPF yang rendah sehingga termasuk ke dalam kategori proteksi

minimal. Pada konsentrasi terbesar yaitu 250 ppm, fraksi n-heksana masih memiliki nilai SPF sebesar 2,142.

Tabel 6. Nilai Sun Protection Factor (SPF) Fraksi Etil Asetat

Sampel	Konsentrasi	Nilai SPF	Kategori SPF
Fraksi Etil Asetat	50 ppm	0,577	Tanpa Proteksi
	100 ppm	1,279	Tanpa Proteksi
	150 ppm	1,638	Tanpa Proteksi
	200 ppm	2,073	Minimal
	250 ppm	2,807	Minimal

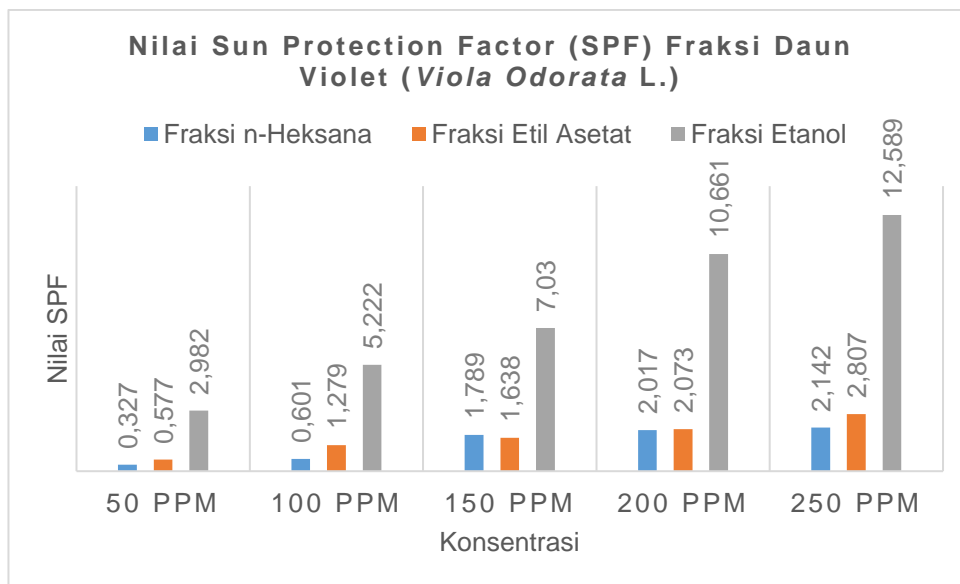
Pada Tabel 6 ditunjukkan bahwa nilai SPF pada fraksi etil asetat juga rendah sama halnya dengan fraksi n-heksana. Fraksi etil asetat juga termasuk dalam proteksi minimal yang memiliki nilai SPF sebesar 2,807 pada konsentrasi tertinggi yaitu 250 ppm.

Hasil penentuan nilai SPF pada Tabel 7 menunjukkan bahwa fraksi etanol memiliki perbedaan yang signifikan dengan fraksi yang lain. Nilai SPF pada konsentrasi 50 ppm sebesar 2,98; 100 ppm sebesar 5,22; 150 ppm sebesar 7,03; 200 ppm sebesar 10,66; 250 ppm sebesar 12,59. Kategori

proteksi dari setiap konsentrasi berturut-turut adalah minimal, sedang, ekstra, dan maksimal.

Tabel 7. Nilai Sun Protection Factor (SPF) Fraksi Etanol

Sampel	Konsentrasi	Nilai SPF	Kategori SPF
Fraksi Etanol	50 ppm	2,982	Minimal
	100 ppm	5,222	Sedang
	150 ppm	7,03	Ekstra
	200 ppm	10,661	Maksimal
	250 ppm	12,589	Maksimal



Gambar 1. Kurva Nilai SPF Fraksi Daun Violet

Berdasarkan data kurva yang dipaparkan dalam Gambar 1 dapat diamati bahwa pada fraksi n-heksana dan etil asetat memiliki nilai *Sun Protection Factor* (SPF) dengan konsentrasi tertinggi yaitu 250 ppm masih termasuk dalam kategori proteksi minimal. Di sisi lain, pada 150 ppm untuk kategori perlindungan ekstra dan 200 ppm dan 250 ppm untuk kategori perlindungan maksimum, fraksi etanol menunjukkan variasi yang menonjol.

PEMBAHASAN

Pelarut polar (etanol) memiliki berat fraksi tertinggi di antara pelarut semi-polar dan pelarut non-polar, menurut penelitian pada fraksi daun violet (*Viola odorata* L.) yang telah dilakukan. Hal ini menunjukkan bagaimana berat hasil

dapat sangat dipengaruhi oleh penggunaan berbagai pelarut. sesuai dengan prinsip fraksinasi, yang menyatakan bahwa pelarut akan mengikat lebih banyak molekul dengan polaritas lebih tinggi.^{20,21}

Senyawa yang ada dalam setiap fraksi daun violet (*Viola odorata* L.) kemudian diidentifikasi melalui skrining fitokimia yang menunjukkan bahwa fraksi n-heksana positif mengandung terpenoid dan steroid; fraksi etanol positif mengandung flavonoid, tanin, terpenoid, dan steroid; sedangkan fraksi etil asetat negatif mengandung kelima senyawa yang diujikan. Hal ini sejalan dengan penelitian lain yang telah menunjukkan adanya kandungan tanin, terpenoid, steroid, saponin, dan senyawa flavonoid pada ekstrak daun

violet (*Viola odorata L.*).¹⁹ Contoh zat yang dapat larut dalam pelarut non-polar yaitu terpenoid dan steroid. Pada penelitian ini, terpenoid dan steroid yang akan bertindak sebagai senyawa antioksidan ketika berinteraksi dengan radikal bebas pada fraksi n-heksana.^{22,23} Pada fraksi etanol daun violet (*Viola odorata L.*) senyawa flavonoid dan tanin yang akan bertanggung jawab terhadap karakter antioksidan.^{18,19,24}

Fraksi daun violet (*Viola odorata L.*) yang diuji aktivitas antioksidannya dengan teknik DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) berhasil menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang mampu menurunkan radikal bebas. Karena DPPH adalah radikal persisten dengan satu elektron valensi atom nitrogen tidak berpasangan, ia menyerap dengan kuat pada 400-800 nm. Larutan radikal DPPH akan berbentuk tereduksi dan kehilangan rona ungunya bila dikombinasikan dengan molekul antioksidan yang memiliki kemampuan mendonorkan atom hidrogen.^{25,26}

Data pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan perbedaan yang signifikan dari nilai IC₅₀ pada setiap fraksi daun violet (*Viola odorata L.*). Dari kedua fraksi tersebut, fraksi n-heksana mempunyai nilai IC₅₀ yang paling rendah yaitu sebesar 1690 µg/mL. Selanjutnya terdapat fraksi etil asetat yang memiliki nilai IC₅₀ sebesar 1880 µg/mL dan fraksi etanol sebesar 2130 µg/mL. Fenomena fraksi etil asetat yang memiliki nilai IC₅₀ lebih tinggi daripada n-heksana meskipun hasil skrining fitokimia menunjukkan tidak ada senyawa yang diujikan terkandung di dalamnya, dapat terjadi dikarenakan terdapat kemungkinan bahwa fraksi etil asetat tetap memiliki kandungan senyawa antioksidan tersebut, namun dengan kadar yang rendah sehingga tidak dapat terdeteksi saat uji kualitatif. Kemungkinan lain yang dapat terjadi adalah senyawa antioksidan dalam etil asetat tersebut tidak berinteraksi dengan banyak senyawa lain sehingga

aktivitas antioksidannya bisa lebih tinggi. Sesuai dengan penelitian ini, telah ditemukan pada penelitian sebelumnya bahwa aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada ekstrak etanol yang mungkin disebabkan oleh polaritasnya yang tinggi, sehingga dapat mengikat senyawa antioksidan lebih banyak.^{12,18}

Beberapa temuan pada penelitian ini terlihat bertentangan dengan penelitian sebelumnya yang mungkin disebabkan oleh variasi umum, perbedaan posisi topografi, dan penyerbukan silang. Perbedaan-perbedaan di semua spesies alami juga dapat bergantung pada sejumlah faktor, seperti ekologi.¹⁹ Meskipun begitu, perolehan data menunjukkan bahwa ketiga fraksi daun violet (*Viola odorata L.*) masih berpotensi sebagai antioksidan alami dalam kategori lemah.

Suatu zat tergolong antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀-nya kurang dari 50 µg/mL. Antioksidan kuat memiliki nilai IC₅₀ antara 50 dan 100 µg/mL, antioksidan sedang memiliki nilai IC₅₀ antara 101 dan 150 µg/mL, dan antioksidan lemah memiliki nilai IC₅₀ antara 151 dan 200 µg/mL.²⁰ Nilai IC₅₀ merupakan jumlah antioksidan yang diperlukan untuk menurunkan 50% konsentrasi DPPH awal. Persentase penghambatan dan IC₅₀ sangat sering digunakan sebagai parameter yang mengkarakterisasi aktivitas pemulungan radikal. Semakin rendah IC₅₀ menunjukkan semakin tinggi efisiensi pembersihan radikal.^{26,27} Hal ini menunjukkan bahwa dari seluruh fraksi, fraksi n-heksana mempunyai aktivitas antioksidan yang paling kuat. Kejadian ini mungkin dikarenakan fraksi n-hexane mengandung terpenoid dan steroid, yang telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan.²⁸ Sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan pada ekstrak daun sungkai (*Peronema canescens Jack.*), dibandingkan dengan ekstrak sisa etanol dan etil asetat, n-heksana juga menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi.²⁹

Kehadiran molekul flavonoid dalam fraksi etanol daun violet (*Viola odorata* L.) ditunjukkan melalui skrining fitokimia, menunjukkan bahwa fraksi etanol mungkin memiliki sifat tabir surya. Metabolit sekunder yang disebut flavonoid dapat menyerap sinar UV dan bertindak sebagai penghambat radiasi, sehingga melindungi kulit dari bahaya.⁸ Dapat disimpulkan bahwa hanya fraksi etanol yang mengandung flavonoid yang akan berpotensi memiliki nilai SPF yang baik.

Temuan penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi etanol daun violet (*Viola odorata* L.) memiliki nilai SPF kategori maksimum pada konsentrasi 200 dan 250 ppm. Pada konsentrasi maksimum, fraksi n-heksana dan etil asetat masih menunjukkan perlindungan yang sangat kecil. Data penelitian menunjukkan bahwa nilai SPF suatu fraksi meningkat seiring dengan konsentrasinya. Tingkat perlindungan suatu senyawa tercermin dari nilai SPF yang lebih tinggi. SPF dihitung sebagai rasio radiasi UV yang diperlukan untuk menimbulkan eritema paling sedikit pada kulit setelah penggunaan tabir surya terhadap energi yang dibutuhkan untuk menimbulkan efek yang sama pada kulit tanpa tabir surya.⁸ Tabir surya herbal bersifat tidak beracun dan tidak menyebabkan iritasi. Oleh karena itu, penggunaan produk herbal seperti daun violet (*Viola odorata* L.) sebagai zat aktif tabir surya saat ini semakin meningkat.⁸

Sesuai dengan penelitian sebelumnya, flavonoid yang terdapat pada fraksi etanol daun violet (*Viola odorata* L.) membuatnya berpotensi menjadi zat aktif tabir surya alami.⁸ Melalui penelitian ini, flavonoid terbukti memiliki aktivitas antioksidan sekaligus memiliki nilai *Sun Protection Factor* (SPF) yang baik.

SIMPULAN

Temuan penelitian ini, menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang lemah pada semua fraksi daun violet (*Viola odorata* L.), sedangkan pada penentuan

nilai SPF fraksi daun violet (*Viola odorata* L.) memiliki berbagai macam kategori proteksi, diantara kategori tersebut terdapat kategori proteksi maksimal pada fraksi etanol dengan konsentrasi 200 dan 250 ppm. Berdasarkan hal ini, dapat disimpulkan bahwa senyawa flavonoid pada fraksi daun violet (*Viola odorata* L.) terbukti berfungsi sebagai antioksidan sekaligus sebagai zat aktif tabir surya meskipun dengan efektivitas yang berbeda. Direkomendasikan pada penelitian selanjutnya untuk dilakukan uji efektivitas daun violet (*Viola odorata* L.) dalam sediaan tabir surya.

DAFTAR RUJUKAN

1. Ngoc LTN, Tran V Van, Moon JY, Chae M, Park D, Lee YC. Recent Trends of Sunscreen Cosmetic. *Cosmetics*. 2019;6(64):1-15.
2. Keisham, C., Elangbam, N., & Sarkar R. Sunscreens: Time to Think Beyond UV Rays. *Pigment Int*. 2018;5(2):78-82. doi:10.4103/Pigmentinternational.Pigmentinternational
3. Yang Z, Zhang J, Liu H, et al. A Bioinspired Strategy Toward UV Absorption Enhancement of Melanin-like Polymers for Sun Protection. *CCS Chem*. 2023:2389-2402. doi:10.31635/ccschem.022.202202565
4. Ali M, Enayatifard R, Khalili M, Ghaffarloo M. Correlation between Sun Protection Factor and Antioxidant Activity , Phenol and Flavonoid Contents of some Medicinal Plants. *Iran J Pharm Res*. 2014;13(3):1041-1047.
5. Passeron T, Bouillon R, Callender V, et al. Sunscreen Photoprotection and Vitamin D Status. *Br J Dermatol*. 2019;181(5):916-931. doi:10.1111/bjd.17992
6. Williams JD, Maitra P, Atillasoy E, et al. SPF 100+ Sunscreen is More Protective Against Sunburn than SPF 50+ in Actual-use: Results of a Randomized, Double-blind, Split-

- face, Natural Sunlight Exposure, Clinical Trial. *J Am Acad Dermatol*. 2018;29.
doi:10.1016/j.jaad.2017.12.062.This
7. Sharma M, Sharma A. A Review on Nature Based Sunscreen Agents. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci*. 2023;1110(1). doi:10.1088/1755-1315/1110/1/012047
 8. Mansuri R, Diwan A, Kumar H, Dangwal K, Yadav D. Potential of Natural Compounds as Sunscreen Agents. *Pharmacogn Rev*. 2021;15(29):47-56.
doi:10.5530/phrev.2021.15.5
 9. Bhattacharjee D, Preethi S, Patil AB, Jain V. A comparison of Natural and Synthetic Sunscreen Agents: A Review. *Int J Pharm Res*. 2021;13(01):3494-3505.
doi:10.31838/ijpr/2021.13.01.524
 10. Rahmawati R, Muflihunna A, Amalia M. Analisis Aktivitas Perlindungan Sinar UV Sari Buah Sirsak (*Annona muricata* L.) Berdasarkan Nilai Sun Protection Factor (SPF) secara Spektrofotometri UV-Vis. *J Fitofarmaka Indones*. 2018;5(2):284-288. doi:10.33096/jffi.v5i2.412
 11. Motavasselian M, Salari R, Feyzabadi Z, Joharchi MR, Ghazanfari SM. Review Paper A Review of the Therapeutic Effects of Viola Odorata Plant in Traditional Iranian Medicine and Modern Medicine. *Complement Med J*. 2022;12(2):118-125.
 12. Mittal P, Gupta V, Goswami M, Thakur N, Bansal P. Phytochemical and Pharmacological Potential of Viola odorata. *Int J Pharmacogn*. 2015;2(5):215-220.
doi:10.13040/IJPSR.0975-8232.IJP.2(5).215-20
 13. Trifolium C, Violet S, Flowers E. Impact of Drying Conditions on Antioxidant Activity of Red Clover (*Trifolium pratense*), Sweet Violet (*Viola odorata*) and Elderberry Flowers (*Sambucus nigra*). *MDPI*. 2022;13.
doi:https://doi.org/10.3390/ma15093317
 14. Tahir I, Khan MR, Shah NA, Aftab M. Evaluation of phytochemicals, antioxidant activity and amelioration of pulmonary fibrosis with *Phyllanthus emblica* leaves. *BMC Complement Altern Med*. 2016;16(1):1-12.
doi:10.1186/s12906-016-1387-3
 15. Antonio F. Sun Block Formulation. *United States Pat*. 2020:12.
 16. Sugiyono. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif Dan R&D*. Bandung: Alfabeta; 2013.
 17. Nopiyanti V, Aisiyah S, Instrumentasi L, et al. Uji Penentuan Nilai SPF (Sun Protection Factor) Fraksi Bunga Rosela (*Hibiscus Sabdariffa* L.) sebagai Zat Aktif Tabir Surya. *J Pharm*. 2019;9(1):19-26.
 18. Aslam L, Kaur R, Kapoor N, Mahajan R. Phytochemical Composition and Antioxidant Activities of Leaf Extracts of *Viola odorata* from Kishtwar, Jammu and Kashmir. *J Herbs, Spices Med Plants*. 2019;12.
doi:10.1080/10496475.2019.1677839
 19. Zahra T, Shahzad K, Shania A. Identification and Implication of Organic Compounds of *Viola odorata*: a Potential Source for Bio-fabrication of Nickel Oxide Nanoparticles. *Springer*. 2021;11:1593-1603.
 20. Tika Apriyani. Uji Aktivitas Antioksidan & SPF (Sun Protection Factor) Ekstrak Polar & Non Polar Daun Kedondong (*Spondias dulcis* Parkinson) secara In Vitro. *Skripsi, Univ Perintis Indones*. 2021:133.
 21. Abubak1. Abubakar AR, Haque M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *J Pharm Bioallied Sci*. 2020;12(1):1-10.
doi:10.4103/jpbs.JPBS_175_19ar
AR, Haque M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *J Pharm Bioallied Sci*. 2020;12(1):1-10.
doi:10.4103/jpbs.JPBS_175_19

22. Jahangeer M, Fatima R, Ashiq M, et al. Therapeutic and Biomedical Potentialities of Terpenoids-A Review. *J Pure Appl Microbiol.* 2021;15(2):471-483. doi:10.22207/JPAM.15.2.04
23. Agustina W, Nurhamidah, Handayani D. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Beberapa Fraksi dari Kulit Banteng Jarak (*Ricinus communis* L.). *J Pendidik dan Ilmu Kim.* 2017;1(2):117-122.
24. Gaidhani KA, Harwalkar M, Nirgude PS. Bahafasha (*Viola odorata* Linn.) - A Review. *World J Pharm Res.* 2014;3(3):5041-5048. doi:10.20959/wjpr202010-18534
25. Falla NM, Demasi S, Caser M, Scariot V. Preliminary Observations on *Viola calcarata* as a Source of Bioactive Compounds: Antioxidant Activity and Phytochemical Profile of Two Alpine Subspecies. *MDPI.* 2021;11. doi:10.3390/agronomy11112241
26. Gulcin İ. *Antioxidants and Antioxidant Methods: An Updated Overview.* Vol 94.; 2020. doi:10.1007/s00204-020-02689-3
27. Rahmi H. Aktivitas Antioksidan Berbagai Buah-buahan di Indonesia. *Agrotek Indones.* 2017;2(1):34-38.
28. Azizah Z, Sarina G, Putri WY. Antioxidant Activity of the Ethyl Acetate Fraction, N- Hexane Fraction from the Ethanol Extract of Black Garlic (*Allium Sativum* L.) using the 2,2- Diphenyl 1-Picrylhydrazyl (DPPH). *Int J Res Publ Rev.* 2022;03(12):742-748. doi:10.55248/gengpi.2022.31217
29. Mohammad Kanedi, Kusuma Handayani, Wawan Abdullah Setiawan. Therapeutic Potentials of Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) an Indonesian Luxurious Woody Plant. *World J Biol Pharm Heal Sci.* 2022;11(1):069-073. doi:10.30574/wjbpshs.2022.11.1.0110