

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimental. Penentuan nilai SPF (*Sun Protection Factor*) ekstrak metanol daun dadap serep (*Erythrina subumbrans* (Hassk.) Merr.) dengan metode spektrofotometri UV-Vis.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta.

2. Waktu penelitian

Penelitian dilakukan antara bulan April sampai Juli 2023.

C. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian daun dari tanaman dadap serep (*Erythrina Sububrans*) yang diperoleh dari Dukuh Turi Kalurahan Sumberagung, Kapanewon Jetis Kabupaten Bantul dengan ketinggian antara 20-100 mdpl. Sampel dari tanaman daun dadap serep tersebut diekstrak dengan pelarut metanol menggunakan metode maserasi.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variasi konsentrasi ekstrak metanol daun dadap serep 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm.

2. Variabel terikat

Nilai SPF, %Te dan %Tp pada ekstrak metanol daun dadap serep merupakan variabel terikat pada penelitian ini.

3. Variabel terkontrol

Lama maserasi selama 24 jam, remaserasi 12 jam, ayakan 35 mesh, suhu oven 40°C untuk proses pengeringan simplisia dan *water bath* untuk proses penguapan simplisia 50°C.

E. Definisi Operasional

1. Dadap serep (*Erythrina subumbrans*) diperoleh dari Kalurahan Sumberagung, Kapanewon Jetis Kabupaten Bantul, selanjutnya diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan cara direndam selama 24 jam lalu dimaserasi selama 12 jam selanjutnya dikentalkan dengan *water bath* dalam suhu 50°C sampai didapat ekstrak pekat daun dadap serep.
2. Konsentrasi dianalisis dalam 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm.
3. Pengukuran nilai SPF suatu ekstrak metanol yang digunakan sebagai tabir surya dilaksanakan dengan metode spektrofotometri UV-Vis yang hasilnya dimasukkan ke dalam persamaan Mansur.

F. Alat dan Bahan

1. Alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini di antaranya toples kaca, batang pengaduk, corong (Herma), cawan porselin, gelas ukur (Iwaki), gelas beker (Iwaki), tabung reaksi (Iwaki), mikro pipet, pipet ukur (Iwaki), labu takar, termometer, timbangan analitik (Ohaus SW version 10S), ayakan 35 mesh, grinder, oven (Memmert), *water bath* (Memmert WNB10FC), vortex (DLAB MX-S), dan spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10S*).

2. Bahan yang digunakan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini di antaranya sampel daun dadap serep, akuades, etanol 70% (teknis), larutan besi (III) klorida 5% (p.a), HCl pekat (p.a), magnesium, metanol (teknis), metanol (p.a), reagen dragendorff (p.a), reagen mayer (p.a), reagen wagner (p.a), blue tip, dan kertas saring.

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Determinasi sampel daun dadap serep

Pada penelitian ini dilakukan determinasi tanaman untuk memastikan taksonomi daun dadap serep yang didapat dari Dukuh Turi Kalurahan Sumberagung, Kecamatan Jetis Kabupaten Bantul. Determinasi dilaksanakan di Laboratorium pembelajaran Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan.

2. Penyiapan sampel penelitian

a. Pengolahan dan pembuatan sampel

Daun dadap serep disiapkan lalu dilakukan sortasi basah dan dicuci hingga bersih dengan air mengalir. Kemudian dilakukan proses perajangan dengan memotong daun selebar 1 cm. Setelah itu daun dijemur selama 2 jam lalu dikeringkan dengan oven dalam suhu 40°C selama 150 menit dan dilakukan sortasi kering. Selanjutnya dihaluskan dengan menggunakan grinder selama 1 menit dan diayak dengan menggunakan ayakan 35 mesh.

b. Ekstraksi sampel

Serbuk daun dadap serep sebanyak 95 gram dilarutkan menggunakan metanol dengan perbandingan 1:10 dan dimaserasi selama 24 jam (dilakukan pengadukan pada 6 jam pertama, didiamkan selama 18 jam) lalu diremaserasi selama 12 jam dengan perbandingan 1:5. Selanjutnya sampel disaring dan filtrat metanol yang diperoleh kemudian dimasukan kedalam cawan porselin lalu dikentalkan dengan menggunakan *water bath* dalam suhu 50°C hingga didapat ekstrak kental daun dadap serep.

c. Uji fitokimia

Pembuatan larutan uji untuk skrining fitokimia dilakukan dengan melarutkan 200 mg ekstrak metanol daun dadap serep dalam 20 mL metanol.

1) Alkaloid

Sebanyak 1 mL ekstrak metanol daun dadap serep dimasukkan ke dalam labu takar lalu ditambahkan 2 mL HCl pekat dan digojog, selanjutnya 3 tabung berbeda disiapkan lalu filtrat ditambahkan pada masing-masing tabung. Ditambahkan 1 mL reagen mayer dalam tabung pertama, 1 mL reagen dragendorff dalam tabung kedua, dan 1 mL reagen wagner pada tabung terakhir. Hasil positif didapat jika terbentuknya endapan kuning pada reagen Mayer, endapan merah pada reagen Dragendorff, dan endapan coklat atau kemerahan pada reagen Wagner.

2) Flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak metanol daun dadap serep ditambahkan etanol 70% 3 mL lalu digojog, dipanaskan, dan digojog kembali kemudian disaring. Filtrat lalu ditambahkan 0,1 gram magnesium dan HCl pekat sebanyak 2 tetes. Hasil positif didapat jika terlihat warna kuning, merah dan jingga.

3) Fenolik

Sebanyak 1 mL ekstrak metanol daun dadap serep dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 5%. Hasil positif dapat terlihat dengan terbentuknya warna hijau kehitaman atau hijau biru.

4) Saponin

Sebanyak 2 mL ekstrak metanol daun dadap serep dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL akuades lalu digojog selama 30 detik. Hasil positif dapat terlihat jika terbentuk busa yang konsisten selama 30 detik.

5) Tanin

Sebanyak 1 mL ekstrak metanol daun dadap serep dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 mL larutan FeCl_3 5% lalu digojog. Hasil positif didapat jika terlihat warna hijau kehitaman.

3. Analisa SPF

a. Penyiapan sampel ekstrak metanol daun dadap serep

Ekstrak metanol daun dadap serep yang sudah didapat dibuat larutan stok dengan konsentrasi 10.000 ppm dengan cara menimbang ekstrak metanol daun dadap serep sebanyak 100 mg lalu dilarutkan gelas beker menggunakan 10 mL metanol, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan vortex dan disaring menggunakan kertas saring. Selanjutnya dilakukan pengenceran larutan menjadi konsentrasi 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm. Direplikasi sebanyak 3 kali.

b. Pengukuran absorbansi

Masing-masing larutan ekstrak metanol daun dadap serep yang sudah didapat pada konsentrasi 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm, selanjutnya diukur dengan spektrofotometer UV-Vis dalam panjang gelombang 290 hingga 320 nm dalam interval panjang gelombang 5 nm menggunakan blanko dari metanol. Selanjutnya diukur nilai absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis.

4. Penentuan Nilai Persen Transmisi Eritema (%Te) dan Nilai Persen Transmisi Pigmentasi (%Tp)

a. Nilai %Te

Nilai %Te ditentukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan mengukur transmittan dari konsentrasi 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm larutan ekstrak metanol daun dadap serep pada panjang gelombang 292,5 sampai 317,5 nm setiap interval 5 nm dengan metanol sebagai blanko.

b. Nilai %Tp

Nilai %Tp ditentukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan mengukur transmittan dari konsentrasi 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm larutan ekstrak metanol daun dadap serep pada panjang gelombang 325,2 sampai 372,5 nm setiap interval 5 nm dengan metanol sebagai blanko.

H. Hasil Data

1. Perhitungan Nilai SPF

Hasil absorbansi pada masing-masing konsentrasi dicatat dan dihitung nilai SPF dengan persamaan Mansur yang dapat dilihat pada Halaman 7.

2. Perhitungan Nilai %Te dan %Tp

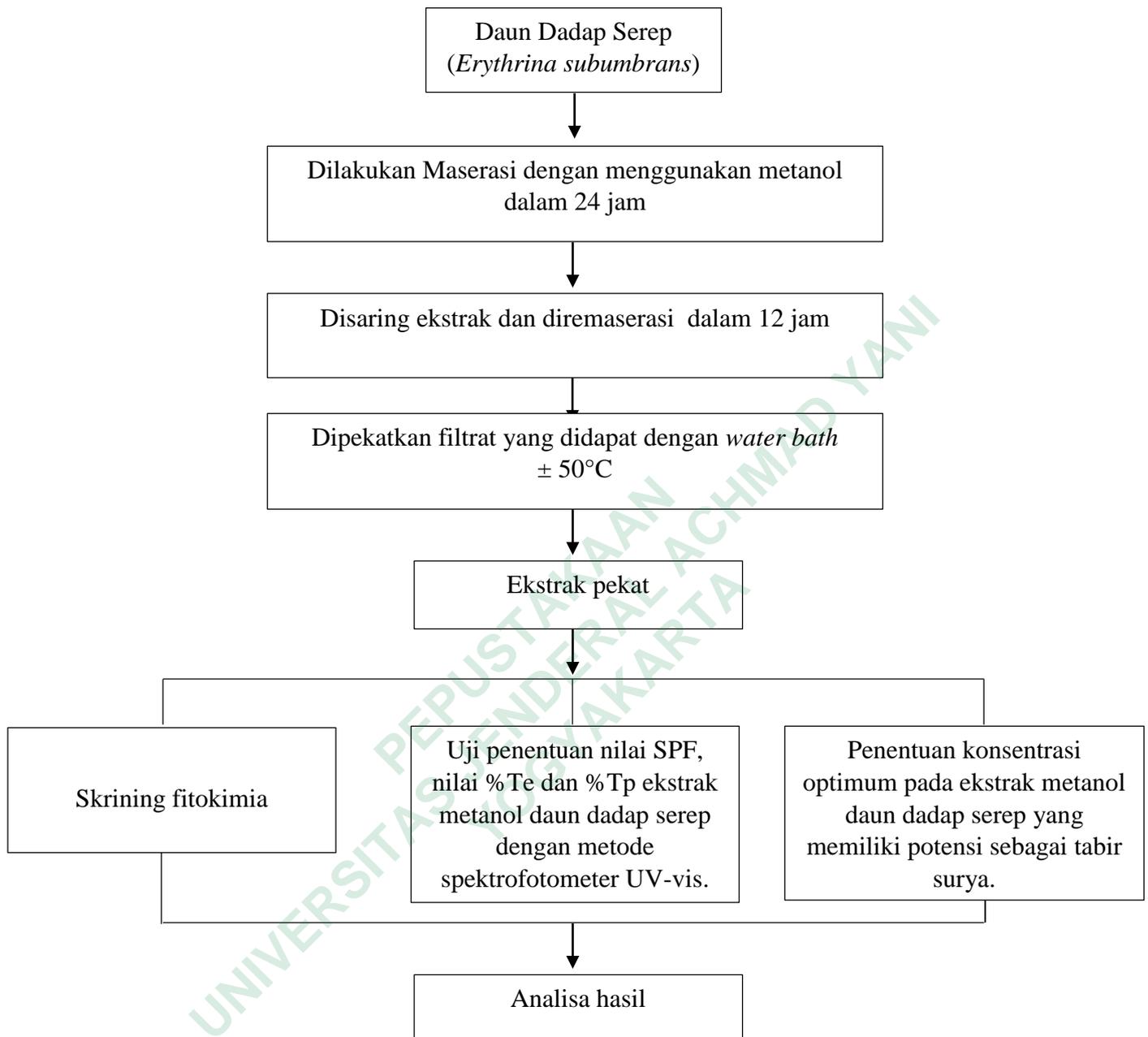
Nilai %Te dihitung dengan cara penjumlahan nilai F_e . Nilai E_e dihitung dengan cara nilai transmittan (T) dikalikan dengan fluks eritema (F_e). Nilai %Tp dihitung dengan cara penjumlahan nilai E_p dibagi dengan penjumlahan nilai F_p . Nilai E_p dihitung dengan cara nilai transmittan (T) dikali dengan fluks pigmentasi (F_p).

3. Analisa Statistik

Nilai rata-rata SPF yang sudah didapat dari masing-masing konsentrasi, kemudian dianalisis secara statistik dengan SPSS, antara lain :

- a. Uji distribusi normal menggunakan uji *Shapiro-Wilk*.
- b. Uji homogenitas menggunakan uji *Levene's*.
- c. Uji *One Way ANOVA* dengan tingkat kepercayaan 95%.

PEPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI
YOGYAKARTA



Gambar 6 Skema Penelitian