

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain metode penelitian eksperimental. Penelitian penentuan nilai SPF menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan sampel daun kersen dan pelarut metanol.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bahan Alam dan Kimia Farmasi Program Studi Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta.

2. Waktu penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Oktober-November 2023.

C. Sampel Penelitian

1. Sampel untuk penelitian ini yaitu bagian daun dari tanaman kersen yang berada di Perkarangan warga Desa Ngampilan, 6934+59F, Ngampilan, Kota Yogyakarta, Daerah Istimewa Yogyakarta
2. Populasi untuk penelitian ini yaitu daun kersen, daun hijau tua yang diambil nomor 3-6 dari pucuk, mendatar, ujungnya runcing dan tepinya bergerigi (Sulaiman *et al* ., 2017)

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Konsentrasi dari ekstrak metanol daun kersen (*Muntingia calabura L.*)

2. Variabel terikat

Nilai SPF yang didapatkan dari ekstrak metanol daun kersen (*Muntingia calabura L.*)

3. Variabel kontrol

Waktu panen, pemilihan daun, dan suhu pengeringan.

E. Definisi Operasional Variabel

1. Ekstrak dari pelarut metanol daun kersen merupakan ekstrak kental dari ekstraksi maserasi daun kersen dengan pelarut metanol.
2. Pengukuran nilai SPF dengan menganalisis sampel dengan spektrofotometri UV-Vis. Kemudian hasil yang diperoleh dilakukan perhitungan Nilai SPF dengan panjang gelombang 290-320 nm menggunakan rumus Mansur.
3. Konsentrasi yang akan dianalisis adalah 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm.

F. Alat dan Bahan

1. Alat: timbangan analitik (*O'haus*), tabung reaksi (*Pyrex*), rak tabung reaksi, *beaker glass* (*Pyrex*), gelas ukur (*Pyrex*), *blender*/alat penyerbuk, *Erlenmeyer* (*Pyrex*), labu ukur (*Pyrex*), corong, hotplate dan stirer, Spektrofotometer UV-Vis (*Thermo*), ayakan nomor 40 mesh, batang pengaduk, pipet tetes, pipet ukur.
2. Bahan: daun kersen, metanol teknis, aquades, H_2SO_4 (pekat) *p.a* , FeCl_3 *p.a*, HCl 2 N *p.a*, metanol *p.a*. pereaksi Mayer,Wagner,Dragendrof

G. Metode Pelaksanaan Penelitian

1. Pengambilan bahan dan determinasi tanaman

Didapatkan daun kersen dari desa Ngampilan, 6934+59F, Kota Yogyakarta. Diambil daun yang berwarna hijau tua nomor 3-6 dari pucuk, urutan daun tersebut terdapat kandungan senyawa flavonoid yang tinggi. Daun diambil dipagi hari pada waktu 06.00 sampai 10.00 WIB, pada saat itu daun sedang segar dan pembukaan secara sempurna belum mengalami panguapan oleh polusi udara dan belum terjadinya fotosintesis pada tanaman (Sari, 2022). Determinasi di Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta. Tujuan dari determinasi adalah untuk mendapatkan identitas/kebenaran suatu tanaman yang akan diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengambil tanaman.

2. Penyiapan sampel

Daun kersen yang didapatkan, dicuci dihilangkan kotoran-kotoranya. Kemudian dipotong kecil-kecil untuk memudahkan dalam pengeringan

menggunakan oven untuk menurunkan kadar air pada sampel daun kersen, kadar air yang tinggi pada simplisia dapat merusak sampel karena adanya jamur. Tanda simplisia sudah kering yaitu saat digenggam daun kersen terasa rapuh maka daun tersebut sudah kering atau kadar airnya dikatakan berkurang (Sari, 2022). Suhu oven yang akan digunakan yaitu 50°C karena jika suhu diatas 50°C dapat merusak senyawa sekunder seperti flavonoid (Yuliantar *et al .*, 2017). Daun yang kering dihaluskan dengan *blender* untuk memperkecil ukuran simplisia, supaya kontak antara simplisia dan cairan penyari akan semakin besar, diayak dengan ayakan 40 mesh karena semakin besar nomor ayakan maka semakin besar permukaan tanaman dan akan diperoleh ukuran serbuk yang seragam (Anjaswati, 2021).

3. Ekstraksi sampel

Ditimbang 200 gram serbuk simplisia daun kersen kemudian diekstraksi dengan pelarut metanol 2 Liter dengan perbandingan (1:10) ekstraksi dilakukan dengan cara memasukan serbuk daun kersen kedalam toples, disimpan ditempat yang tertutup untuk mengurangi resiko terjadinya reaksi antara bahan di dalam toples dengan sinar matahari. Proses maserasi dilakukan 3 hari sambil di aduk 3x 24 jam, kemudian setelah 3 hari ampas disaring dan didapatkan maserat (1). Selanjutnya dilakukan remaserasi dengan cara direndam kembali ampas selama 24 jam dengan pelarut metanol perbandingan 1:5 dengan pengadukan 3x tiap 8 jam. Setelah 24 jam filtrat disaring kembali dan didapatkan maserat (2). Remaserasi ini dapat menarik senyawa kimia yang tertinggal pada maserasi 1. Pemekatan dilakukan dengan penangas air 50°C sampai mendapatkan ekstrak yang kental (Puspitasari *et al .*, 2018).

Kemudian dilakukan pengukuran rendemen ekstrak menggunakan rumus :

$$\text{Randemen Ekstrak} = \frac{\text{Berat Ekstrak Daun kersen}}{\text{Berat Serbuk Daun Kersen}} \times 100 \%$$

4. Uji organoleptis

Uji organoleptik ini bertujuan untuk mendeskripsikan warna, bau, dan tekstur dari ekstrak, sehingga didapatkan hasil yang objektif.

5. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia untuk melihat kandungan senyawa kimia pada ekstrak tanaman yang diteliti. Skrining fitokimia dengan cara pengujian warna menggunakan preaksi warna.

Dibuat larutan stok sebanyak 1000 ppm dengan mengambil 25 mg ekstrak dan dilarutkan dengan metanol sebanyak 25 ml kemudian dilakukan uji fitokimia.

a. Uji flavonoid

Dimasukan 2 ml sampel kedalam tabung reaksi ditetaskan 2-4 tetes larutan asam sulfat. Positif flavonoid maka berwarna merah sampai coklat kehitaman (Kusnadi *et al* . 2017).

b. Uji fenolik

Dimasukan 2 ml sampel kedalam tabung reaksi ditambahkan FeCl_3 2-3 tetes, Positif fenolik maka berwarna hijau kehitaman (Sari, 2022)

c. Uji tannin

Dimasukan 2 ml sampel kedalam tabung reaksi ditetaskan 2-4 tetes besi (III) klorida 5%. Mengandung tanin akan muncul warna hijau kehitaman (Sosalia *et al* ., 2021)

d. Uji saponin

Dimasukan 10-20 tetes sampel kedalam tabung reaksi ditambahkan 2 ml aquades kemudian dikocok selama 30 detik. Hasil positif menunjukkan jika busa tidak menghilang (Agustina *et al* . 2020).

e. Uji alkaloid

Sebanyak 2 ml sampel dimasukan ke tabung reaksi ditetaskan 5 ml HCl 2 N, dibagi 3 tabung reaksi tiap tabung ditambahkan 1 ml pada pereaksi Mayer, positif alkaloid maka terbentuk endapan merah, pada pereaksi Wagner, jika positif maka endapan coklat. Pereaksi Dragendrof positif maka endapan jingga (Muthmainnah, 2019).

f. Uji steroid dan triterpenoid

Dimasukan 2 ml sampel ditambahkan asam klorida pekat sebanyak 3 tetes dan H_2SO_4 sebanyak 1 tetes (Handayani, 2020). Positif steroid berwarna biru kehijauan kemudian triterpenoid berwarna kuning pucat.

6. Penentuan nilai SPF ekstrak metanol daun kersen

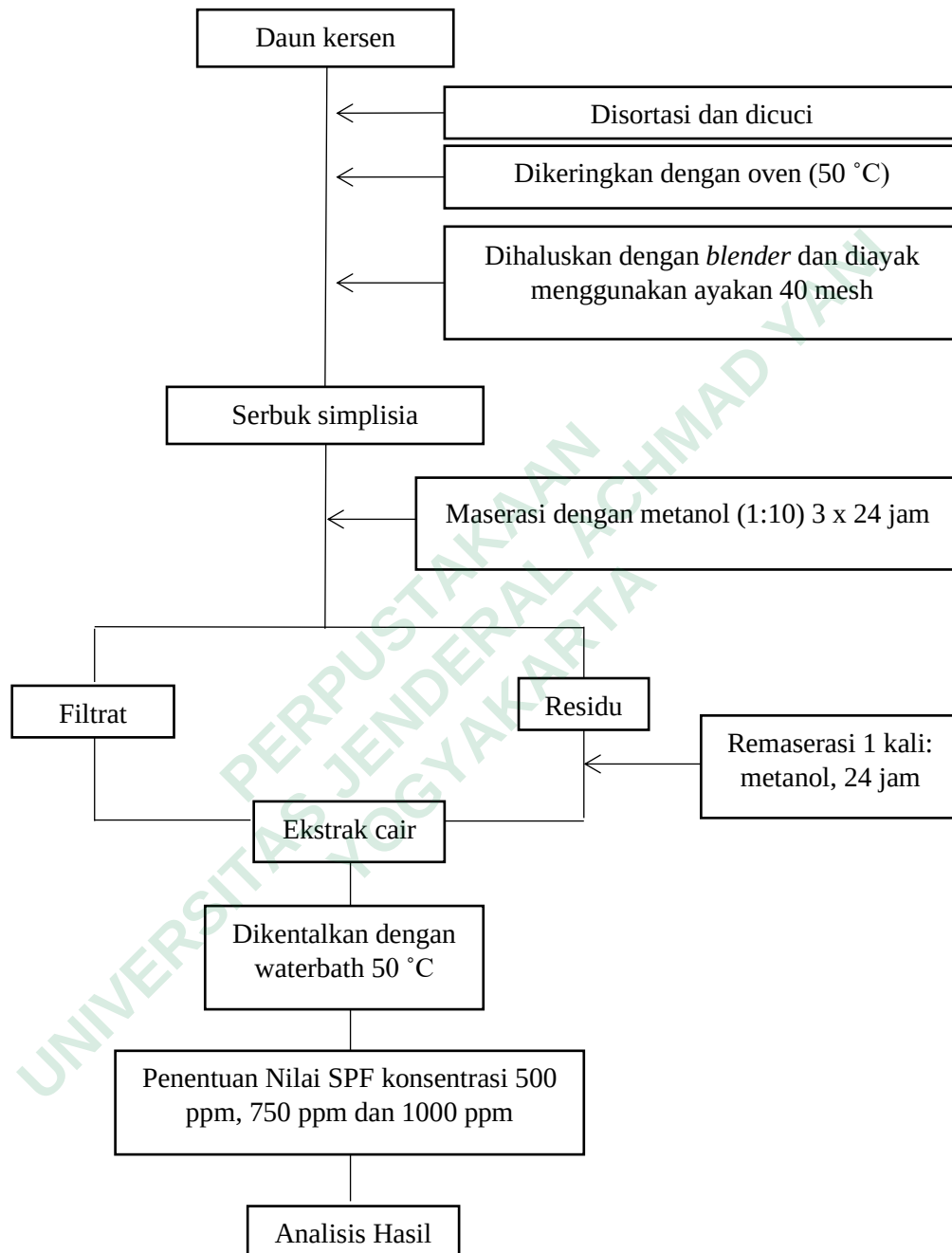
a. Penyiapan larutan sampel

Ekstrak daun kersen dibuat larutan induk 5000 ppm dengan cara mengambil 125 mg ekstrak dan larutkan dengan metanol sebanyak 25 ml. Setelah larutan induk jadi kemudian dibuat 3 konsentrasi 500 ppm 750 ppm dan 1000 ppm dengan cara mengambil 1 ml, 1,5 ml dan 2 ml larutan induk ekstrak metanol daun kersen kemudian dimasukkan ke dalam labu takar dan larutkan dengan menggunakan metanol hingga 10 ml.

b. Pengukuran absorbansi

Setiap konsentrasi larutan ekstrak daun kersen diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis, untuk penentuan nilai SPF ekstrak daun kersen diukur dengan panjang gelombang 290-320 nm dengan interval 5 nm, pengukuran ini dilakukan 3x replikasi tiap konsentrasi. Kemudian metanol digunakan sebagai blanko.

7. Alur pelaksanaan penelitian



Gambar 1. Bagan Penelitian

H. Analisis Data

Data yang didapatkan yaitu dari hasil nilai SPF. Kemudian nilai SPF dibandingkan masing - masing ekstrak dengan variasi konsentrasi 500 ppm, 750 ppm, 1000 ppm, untuk pengaruh konsentrasi ekstrak metanol daun kersen. Dan perolehan data dengan uji (Mansur *et al .*, 1986) dengan persamaan:

$$\text{SPF}_{\text{spectrophootometric}} = \text{CF} \times \sum_{290}^{320} \text{EE} \lambda \times \text{I} \times \text{Abs}$$

Keterangan:

- EE : *Spektrum efek eritemal*
 I : *Intensitas spektrum sinar*
 Abs : *Serapan produk tabir surya*
 CF : *Faktor Koreksi (10)*

Ketentuan nilai EE x I merupakan konstanta dari (Sayre *et al .*, 1979) adalah ditunjukkan pada tabel berikut:

Table 1. Nilai EE x I Pada Panjang Gelombang 290-320 nm
(Dwi, 2018)

Panjang Gelombang (nm)	EE X I
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
Total	1

a. Perhitungan nilai SPF (*Sun Protection Factor*)

1. Nilai absorbansi yang didapatkan dikalikan dengan nilai EE x I
2. Hasil dari perkalian absorbansi dan EE x I dijumlahkan.
3. Hasil dari perjumlahan dikalikan dengan faktor koreksi (10) untuk mendapatkan nilai SPF sedian ekstrak metanol daun kersen.
4. Setelah didapatkan hasil kemudian dihitung rata-rata, SD, CV dan SEM pada tiap konsentrasi.

b. Analisa Statistik

Data yang didapatkan akan dianalisis dengan SPSS.

1. Uji distribusi normal dengan *Shapiro-Wilk*. data normal ditunjukkan dengan hasil yang signifikan ($p > 0,05$), Data tidak normal signifikan ($p < 0,05$).
2. Uji homogenitas dengan Levene's, homogen hasil signifikan ($p > 0,05$), data tidak homogen hasilnya ($p < 0,05$). Data normal dan homogen akan dilanjutkan dengan
3. Uji One Way ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95%. Lanjut dengan *post Hoc Pairwise Comparisons* menggunakan LSD untuk mengetahui sampel mana yang berbeda signifikansinya.

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANU
YOGYAKARTA