

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan berupa riset eksperimental, dimana dilakukan ekstraksi bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) yang dilarutkan menggunakan pelarut etanol 70%. Dalam proses ekstraksi sampel dilakukan menggunakan dua metode yang berbeda, yaitu maserasi dan *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE). Setelah itu diperoleh ekstrak kental lalu ekstrak tersebut diuji aktivitas penangkal radiasi UV berupa nilai SPF, %Tp, dan %Te Variasi yang digunakan berupa metode ekstraksi sehingga diperoleh metode ekstraksi optimal dengan hasil SPF, %Tp, dan %Te terbaik.

#### **B. Lokasi dan Waktu Penelitian**

##### **1. Lokasi Penelitian**

Penelitian ini berlangsung di Laboratorium Biofarmakologi Farmasi yang berlokasi di Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta.

##### **2. Waktu Penelitian**

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan pada rentang waktu Maret hingga Mei 2025.

#### **C. Sampel Penelitian**

Sampel pada penelitian ini berupa bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) yang didapatkan dari petani yang membudidayakan bunga tersebut di daerah Sumbermulyo, Bambanglipuro, Bantul, Yogyakarta. Sampel yang digunakan memiliki kriteria dengan keadaan yang baik berwarna biru tua dan segar serta dipanen saat mencapai tahap mekar sempurna dengan tujuan memperoleh kandungan senyawa aktif yang optimal.

#### D. Variabel Penelitian

##### 1. Variabel Bebas

Ekstraksi dengan metode Maserasi dan *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE).

##### 2. Variabel Terikat

Nilai SPF, persentase transmisi pigmentasi (%Tp), dan persentase transmisi eritema (%Te) ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.).

##### 3. Variabel Terkontrol

Suhu selama tahapan ekstraksi, waktu proses ekstraksi, serta pelarut yang digunakan untuk ekstraksi.

#### E. Definisi Operasional

1. Ekstrak etanol bunga telang diperoleh melalui proses ekstraksi sampel dengan metode maserasi dan *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) menggunakan etanol konsentrasi 70% sebagai pelarut.
2. Ekstraksi menggunakan metode maserasi dilakukan dengan cara mengaduk sampel secara berulang pada suhu kamar.
3. Metode ekstraksi UAE menggunakan gelombang ultrasonik dengan frekuensi berkisar antara 20 kHz hingga 2000 kHz untuk membantu proses ekstraksi.
4. Nilai SPF, %Tp, dan %Te ekstrak etanol bunga telang yang memiliki potensi sebagai pelindung dari sinar UV atau tabir surya, diukur melalui uji *in vitro* menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Panjang gelombang untuk SPF adalah 290–320 nm, sedangkan untuk %Tp adalah 322,5–372,5 nm, dan untuk %Te adalah 292,5–317,5 nm pada interval setiap 5 nm. Nilai data yang diperoleh selanjutnya dihitung menggunakan persamaan yang sesuai.

#### F. Alat dan Bahan

1. Penelitian ini menggunakan alat berupa grinder (Fomac), oven, ayakan 40 mesh, pisau, baskom aluminium, neraca analitik (Ohaus SW 10S), wajan, kompor listrik, *moisturizer balance*, sonikator (cole-palmer), alat gelas (Iwaki), spektrofotometer UV-Vis (genesys 10S UV-Vis).

2. Penelitian ini menggunakan bahan berupa bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dari petani budidaya di daerah Bambanglipuro, etanol 70% teknis, etanol p.a (*pro analysis*), kertas saring, akuades, FeCl<sub>3</sub> 1%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, HCl 1N, HCl pekat (p.a), pereaksi Dragendorf, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, dan serbuk magnesium.

## G. Pelaksanaan Penelitian

### 1. Determinasi simplisia bunga telang

Identifikasi tanaman bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan, yang terletak di Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada.

### 2. Penyiapan simplisia

Bunga telang segar dipilih dan disortasi basah. Proses pembuatan simplisia dilakukan dengan mengeringkan bunga telang tersebut menggunakan oven suhu 50°C hingga kadar air simplisia kurang dari 10% (Wijayanti & Herawati, 2022). Setelah kering, simplisia dihancurkan menggunakan grinder dan diayak dengan ayakan mesh 40.

### 3. Ekstraksi sampel

Sampel serbuk bunga telang diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dan *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE).

#### a. Ekstraksi dengan maserasi

Pada proses maserasi, serbuk bunga telang dengan perbandingan 1:10 direndam dalam pelarut etanol 70% dan disimpan dalam wadah tertutup selama 3x24 jam terhindar dari cahaya matahari sambil sesekali diaduk selama 2x sehari. Kemudian disaring menggunakan kertas saring atau kain bersih. Remaserasi selama 2x24 jam menggunakan ampas dari rendemen kemudian direndam kembali dengan etanol 70% sebanyak 1:5 (Hataningtyas *et al.*, 2024). Setelah itu lalu disaring menggunakan kain bersih dan disaring kembali dengan kertas saring.

b. Ekstraksi dengan UAE

Serbuk bunga telang dengan rasio 1:10 dilarutkan dalam etanol 70%, kemudian ditempatkan di wadah seperti labu erlenmeyer. Setelah itu, diekstraksi menggunakan sonikator pada suhu 45°C selama 75 menit dan frekuensi gelombang 40 kHz (Azzahra, 2023). Selanjutnya disaring dengan kain bersih dan disaring kembali menggunakan kertas saring, setelah diperoleh ekstrak cair lalu dikentalkan dengan pemanasan menggunakan penangas air pada suhu 45°C hingga ekstrak mengental.

Perhitungan persen rendemen:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak kental (gram)}}{\text{bobot simplisia awal (gram)}} \times 100\%$$

#### 4. Skrining fitokimia

Dilakukannya uji kandungan skrining fitokimia yaitu untuk mendeteksi serta mengidentifikasi metabolit sekunder di dalam sampel bunga telang (*Clitoria ternatea* L.). Analisis kandungan fitokimia yang dilakukan meliputi flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, fenolik, terpenoid dan steroid.

a. Flavonoid

Larutan ekstrak bunga telang sebanyak 1 mL diambil menggunakan pipet, lalu ditambahkan 0,1 mL asam klorida pekat (HCl) serta 0,1 g serbuk magnesium (Mg). Campuran tersebut kemudian digojog secara perlahan. Terjadinya pergantian warna menjadi merah, oranye, atau hijau menandakan keberadaan senyawa flavonoid (Pertiwi *et al.*, 2024).

b. Alkaloid

Larutan ekstrak sebanyak 1 mL ditempatkan ke dalam 3 tabung reaksi yang berbeda. Tabung pertama diberi 2 hingga 3 tetes pereagen Wagner, tabung kedua ditetesi 3 tetes HCl pekat dan 5 tetes reagen Mayer, lalu tabung ketiga diberi 5 tetes reagen Dragendorff. Jika terbentuk perubahan warna atau endapan coklat kemerahan pada uji Wagner, lalu warna putih pada uji Mayer, dan warna jingga atau merah di uji Dragendorff hasil tes dinyatakan positif mengandung alkaloid (Khafid *et al.*, 2023).

c. Saponin

Dimasukkan larutan ekstrak sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan aquadest 10 mL. Sampel digojog selama 30 detik dan diamati hasilnya. Jika muncul busa yang tidak hilang dalam waktu lebih dari 30 detik, hal ini menunjukkan senyawa positif mengandung saponin (Sangkal *et al.*, 2020).

d. Tanin

1 mL larutan ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan larutan  $\text{FeCl}_3$  1% 2 hingga 3 tetes. Hasil positif ditandai dengan munculnya warna hijau atau hitam kebiruan berarti sampel mengandung tanin (Kurnianto *et al.*, 2021).

e. Fenolik

Sebanyak 2 mL larutan ekstrak dicampurkan dengan 10 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1%. Apabila terdapat endapan berwarna merah, hijau, biru, ungu, atau hitam pekat, maka sampel mengandung senyawa fenolik (Pertiwi *et al.*, 2024).

f. Terpenoid dan Steroid

Ekstrak sebanyak 2 mL disiapkan, kemudian ditambahkan 10 tetes  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (asam asetat) dan 2 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (asam sulfat pekat). Terbentuknya warna merah atau ungu pada sampel, maka hasil uji positif mengandung terpenoid dan jika warnanya hijau artinya positif steroid (Sangkal *et al.*, 2020).

**5. Penetapan nilai SPF, %Tp, dan %Te**

a. Persiapan sampel ekstrak etanol bunga telang

Ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dibuat dalam konsentrasi 1000 ppm dengan menimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan dalam 10 ml etanol (p.a) dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali (Azzahra, 2023).

b. Pengukuran nilai SPF, %Tp, dan %Te

Penentuan nilai SPF sampel ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis dengan diukur absorbansi sampel dalam kisaran panjang gelombang 290 hingga 320 nm, blanko yang digunakan berupa etanol (p.a). Pengukuran dilakukan setiap selisih 5 nm. Absorbansi dicatat lalu digunakan untuk perhitungan nilai SPF (Rahayu *et al.*, 2023). Pengukuran nilai persentase transmisi pigmentasi (%Tp) dan persentase transmisi eritema (%Te) dilakukan dengan cara mengukur transmitansi (T) dari larutan ekstrak bunga telang. Pengukuran %Tp diukur pada panjang gelombang 322,5-372,5 nm dan %Te dilakukan pada rentang gelombang 292,5-317,5 nm dengan interval 5 nm, lalu hasil absorbansi dicatat (Taupik *et al.*, 2022).

## H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

### 1. Penentuan nilai SPF

Penetapan nilai *Sun Protection Factor* (SPF) dengan metode Spektrofotometri UV-Vis. Menggunakan rumus persamaan Mansur, sebagai berikut:

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

Keterangan:

CF = Faktor Koreksi (10)

EE = Spektrum Efek Eritema

I = Spektrum Intensitas Cahaya

Abs= Absorbansi Sampel

Sayre (1979) telah menentukan nilai EE x I sebagai ketetapan yang sifatnya konstan pada panjang gelombang 290-320 nm dengan interval 5 nm. Nilai EE x I berdasarkan literatur (Aris & Adriana, 2022) dapat dilihat pada **tabel 2** berikut:

**Tabel 2. Nilai EE x I**

Panjang Gelombang (nm)	EE x I
290	0,015
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,018
Total	1

Setelah memperoleh nilai SPF maka dikategorikan berdasarkan kategori SPF menurut FDA (*Food and Drug Administration*) dari literatur (Luthfi *et al.*, 2024), yang dapat dilihat pada **tabel 3** berikut:

**Tabel 3. Efektifitas Tabir Surya berdasarkan Nilai SPF**

No.	Nilai SPF	Kategori Proteksi Tabir Surya
1	1-4	Proteksi minimal
2	4-6	Proteksi sedang
3	6-8	Proteksi ekstra
4	8-15	Proteksi maksimal
5	>15	Proteksi ultra

## 2. Penentuan nilai Persentase Transmisi Pigmentasi (%Tp)

Perhitungan persentase transmisi pigmentasi ekstrak etanol 70% bunga telang dihitung menggunakan rumus:

$$\% Tp = \frac{Ep}{\Sigma Fp} = \frac{\Sigma(T \times Fp)}{\Sigma Fp}$$

Keterangan:

Tp = Nilai persen transmisi pigmentasi

Fp = Fluks pigmentasi yang nilainya pada panjang gelombang (322,5-372,5 nm)

Ep = Banyaknya fluks pigmentasi yang diteruskan oleh tabir surya

Kategori penilaian aktivitas bahan tabir surya kemudian diklasifikasikan berdasarkan nilai hasil persentase pigmentasi menurut (Rijar *et al.*, 2022) pada **tabel 4**.

**Tabel 4. Kategori Penilaian Aktivitas Bahan Tabir Surya berdasarkan %Tp**

Kategori Penilaian	Rentang sinar UV %Tp
<i>Sunblock</i>	3-40
Proteksi ekstra	40-86
<i>Suntan</i> standar	45-86
<i>Fast tanning</i>	45-86

### 3. Penentuan nilai Persentase Transmisi Eritema (%Te)

Perhitungan persentase transmisi eritema ekstrak etanol 70% bunga telang dihitung menggunakan rumus:

$$\% Te = \frac{Ee}{\Sigma Fe} = \frac{\Sigma(T \times Fe)}{\Sigma Fe}$$

Keterangan:

Te = Nilai persen transmisi eritema

Fe = Fluks eritema yang nilainya pada panjang gelombang (292,5-317,5 nm)

Ee = Banyaknya fluks eritema yang diteruskan oleh tabir surya

Kategori efektivitas bahan tabir surya ditentukan melalui pengukuran persentase eritema menurut (Rijar *et al.*, 2022) dapat dilihat pada **tabel 5**.

**Tabel 5. Kategori Penilaian Aktivitas Bahan Tabir Surya berdasarkan %Te**

Kategori Penilaian	Rentang Sinar UV %Te
<i>Sunblock</i>	<1
Proteksi ekstra	1-6
<i>Suntan</i> standar	6-12
<i>Fast tanning</i>	10-18

### 4. Analisis data

Hasil data penelitian kemudian dikumpulkan dan dianalisis secara statistik, untuk menentukan apakah metode ekstraksi yang paling efektif dari ekstrak etanol 70% bunga telang menunjukkan perbedaan yang signifikan atau tidak. Analisis uji normalitas dilakukan dengan metode *Shapiro-Wilk* untuk menentukan apakah data mempunyai distribusi yang normal. Data dinyatakan berdistribusi normal, apabila nilai p melebihi 0,05. Selanjutnya, dilakukan uji

homogenitas yaitu uji *Levene's*. Jika data menunjukkan distribusi atau persebaran yang normal dan bersifat homogen, maka analisis diteruskan menggunakan uji T *independent* yang digunakan untuk membandingkan antara masing-masing parameter dari dua metode. Namun, apabila data tidak memiliki distribusi normal perlu dilakukan uji non parametrik, yaitu uji *MannWhitney* (Widodo, 2023).

PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI  
YOGYAKARTA