

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Dalam penelitian ini, desain penelitian yang digunakan adalah eksperimen yang menggabungkan metode kualitatif dan kuantitatif . Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai SPF, %Te, dan %Tp ekstrak daun kupu-kupu (*Bauhinia Purpurea* L.) menggunakan spektrofotometri Uv-Vis.

#### **B. Lokasi dan Waktu Kegiatan**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta. Kegiatan berlangsung mulai bulan September hingga bulan Oktober 2023.

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

Daun kupu-kupu (*B. Purpurea*) sebanyak 2,2 kg dikumpulkan dari Desa Ngawu, Kecamatan Playen, Gunung Kidul, Yogyakarta. Daun kupu-kupu yang dipilih yaitu daun yang berwarna hijau tua.

#### **D. Variabel Penelitian**

1. Variabel bebas  
Konsentrasi ekstrak daun kupu-kupu.
2. Variabel terikat  
Nilai SPF, %Te, %Tp pada ekstrak daun kupu-kupu.
3. Variabel terkontrol  
Pemilihan daun , suhu pengeringan, dan waktu panen

### E. Definisi Operasional Variabel

1. Ekstrak daun *B. purpurea* merupakan ekstrak yang diperoleh dengan cara maserasi daun kupu-kupu dalam pelarut etanol 70% dan etanol 96%.
2. Nilai SPF, %Te dan %Tp dari ekstrak daun kupu-kupu ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 290-320 nm, setelah itu hasilnya dimasukkan ke dalam persamaan Mansur.
3. Analisis dilakukan pada konsentrasi 1000 ppm.

### F. Alat dan Bahan

#### 1. Alat

Blender, batang pengaduk, erlenmeyer, gelas beaker (*Iwaki Pyrex*), kertas saring, labu takar, pipet tetes, rak tabung reaksi, spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10S UV-Vis*), timbangan digital (*Ohaus*), tabung reaksi, waterbath (*Memmert WNB 45*)

#### 2. Bahan

Akuades, asam asetat anhidrat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), asam sulfat pekat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), asam klorida pekat ( $\text{HCL}$ ) (*p.a*), daun kupu-kupu, etanol 70% (teknis), etanol 96% (teknis), etanol (*p.a*),  $\text{FeCl}_3$  (teknis), kloroform, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, dan serbuk magnesium (teknis).

### G. Prosedur Penelitian

#### 1. Persiapan sampel

##### a. Determinasi daun kupu-kupu (*Bauhinia purpurea* L.)

Dilakukan identifikasi daun kupu-kupu di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Tujuannya untuk memastikan identitas tanaman daun kupu-kupu.

##### b. Pengumpulan sampel

Sampel penelitian adalah *B. purpurea* yang baru dipanen di Desa Ngawu, Kecamatan Playen, Gunung Kidul, Yogyakarta. Daun kupu-kupu yang diambil yaitu dengan kriteria daun yang segar, tidak rusak, masih

muda, dipilih daun dari urutan ke dua hingga keempat dari pucuk tanaman, dan dipanen antara jam 07.00 hingga 09.00 WIB pada pagi hari (Prameswari, 2022) untuk mendapatkan zat aktif yang tinggi (Yuliani & Dienina, 2015).

c. Pembuatan simplisia

Sampel daun kupu-kupu diambil sebanyak 2,2 kg, dibersihkan dengan air mengalir dan disortasi basah untuk membersihkan kotoran serta bahan asing yang menempel, lalu dipotong kecil-kecil agar lebih mudah dikeringkan. Kemudian potongan daun kupu-kupu ditempatkan dalam oven pada suhu 50°C untuk mengeringkannya. Proses pengeringan pada suhu yang rendah bertujuan untuk menjaga kualitas bahan tanaman dan menghindari kerusakan akibat suhu yang tinggi dikarenakan flavonoid yang terdapat pada daun *B. purpurea* tidak tahan suhu tinggi. Setelah itu, dihaluskan daun dengan grinder sampai menjadi serbuk. Serbuk daun kupu-kupu kemudian dilakukan pengayakan dengan pengayak 40 mesh untuk memisahkan partikel-partikel yang lebih besar dan menghasilkan serbuk daun yang lebih halus (Warnis *et al.*, 2020).

d. Pembuatan ekstrak

Dalam pembuatan ekstrak daun *B. purpurea* digunakan metode ekstraksi maserasi menggunakan variasi konsentrasi etanol yaitu 70% dan 96%. Ditimbang serbuk daun kupu-kupu sebanyak 200 gram dan di rendam dalam masing-masing pelarut sebanyak 2 L menggunakan perbandingan 1:10. Maserasi berlangsung selama 72 jam (3 hari) dengan pengadukan beberapa kali pada enam jam pertama, lalu diamkan selama delapan belas jam. Setelah itu, disaring dan hasilnya (filtrat) ditampung, lalu dilakukan remaserasi dan hasilnya diuapkan di dalam penangas air bersuhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental (Kemenkes RI, 2017). Selanjutnya gunakan rumus berikut untuk mendapatkan hasil rendemen :

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

## 2. Skrining fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi dan mengkonfirmasi adanya berbagai metabolit sekunder dalam ekstrak daun kupu-kupu. Serbuk daun kupu-kupu kemudian di uji kandungan kimianya meliputi uji alkaloid, uji flavonoid, uji tanin dan uji saponin dan steroid.

### a. Uji alkaloid

Ditimbang 0,5 gram masing-masing ekstrak pada tabung reaksi lalu tambahkan 1 ml HCl 2N dan air suling 9 mL. Selanjutnya masing-masing sampel ditambahkan pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer dan pereaksi Wagner. Diamati campuran dalam tabung reaksi, tunggu beberapa menit lalu amati perubahan warna apa saja yang terjadi. Jika terbentuk warna putih atau kuning pada uji Mayer dan jika terbentuk warna merah bata pada uji Dragendorff (Lestari *et al.*, 2021), dan warna coklat kemerahan pada uji Wagner, maka dianggap mengandung senyawa alkaloid (Putri & Lubis, 2020).

### b. Uji flavonoid

Ditimbang 0,5 gram setiap ekstrak, tambahkan 2 mg bubuk magnesium pada tabung reaksi, lalu tambahkan 3 tetes asam klorida (HCl) pekat. Kocok sampel dan amati perubahan yang terjadi. Ketika flavonoid terdeteksi, warnanya berubah menjadi merah, kuning, atau jingga (Sari & Yani, 2021).

### c. Uji fenolik

Ditimbang 50 mg setiap ekstrak, larutkan dengan 5 mL air suling, tambahkan 3-4 tetes besi (III) klorida. Ketika fenol terdeteksi, akan menghasilkan warna hijau hingga biru hitam (Banu & Cathrine, 2015).

### d. Uji tanin

Ditimbang 0,5 gram masing-masing ekstrak dan ditambahkan ke dalam 20 ml air, tambahkan beberapa tetes larutan  $\text{FeCl}_3$ . Ketika tanin terdeteksi, itu menghasilkan warna hijau tua (Sari & Yani, 2021).

e. Uji saponin

Ditimbang 0,5 gram masing-masing ekstrak ditempatkan pada tabung reaksi dan tuangkan 20 ml suling mendidih. Biarkan larutan dingin lalu tambahkan 1-2 tetes asam klorida (HCl) 2N, kocok larutan selama 10 detik dan perhatikan perubahan yang terjadi, jika terbentuk lapisan busa yang stabil dengan tinggi sekitar 1-10 cm selama 10 menit, maka dianggap sebagai hasil positif untuk uji saponin (Lestari *et al.*, 2021).

f. Uji steroid

Masing-masing ekstrak diambil sebanyak 0,5 g dan larutkan dengan kloroform. Ambil filtratnya dan masukkan ke dalam tabung reaksi kemudian biarkan pelarutnya menguap. Setelah itu tambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) ke dalam tabung reaksi, diaduk larutan secara perlahan hingga semua residu larut, dan tambahkan 2 tetes asam sulfat pekat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). Jika steroid terdeteksi, maka terjadi perubahan warna hijau sampai biru (Lestari *et al.*, 2021).

3. Aktivitas penangkalan radiasi UV

Timbang masing-masing ekstrak etanol 70% dan etanol 96% sebanyak 100 mg dan dilarutkan dalam 100 ml etanol, maka menghasilkan ekstrak dengan konsentrasi 1000 ppm (Prameswari, 2022). Nilai SPF, %Tp dan %Te ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Spektrofotometer UV-Vis di kalibrasi dengan masing-masing pelarut, kemudian dicatat nilai dengan mengukur absorbansi setiap 5 nanometer. Digunakan pelarut etanol sebagai blanko. Nilai serapan SPF diukur pada panjang gelombang 290-320 nanometer, 292,5-317,5 nanometer untuk %Te dan 322,5-372,5 nanometer untuk %Tp. Dilakukan replikasi sebanyak 3 kali (Prameswari, 2022).

## H. Analisis Data

1. Perhitungan SPF

Nilai SPF dapat ditentukan dengan perhitungan menggunakan metode Mansyur berikut :

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

Keterangan :

CF : factor koreksi =10

EE (λ) : efisiensi eritema

I (λ) : spektrum simulasi sinar surya

Abs (λ) : serapan tabir surya

## 2. Perhitungan %Te

Nilai %Te dapat ditentukan dengan perhitungan menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ Transmisi eritema} : \frac{E_e}{\sum Fe} = \frac{\sum (T \times Fe)}{\sum Fe}$$

Keterangan :

T = Transmisi

Fe = Fluks eritema pada rentang panjang gelombang tertentu

Ee = Seberapa banyak fluks eritema yang disebabkan oleh tabir surya

$\sum Fe$  = Keseluruhan energi sinar UV yang menyebabkan eritema

**Tabel 1. Transmisi Eritema Sediaan Tabir Surya (Maulida, 2015)**

| Rentang Panjang Gelombang (nm) | Fluks Eritema |
|--------------------------------|---------------|
| 292,5                          | 0,110         |
| 297,5                          | 0,672         |
| 307,5                          | 1,000         |
| 307,5                          | 0,200         |
| 312,5                          | 0,136         |
| 317,5                          | 0,112         |
| Total fluks eritema            | 2,233         |

## 3. Perhitungan %Tp

Nilai %Tp dapat ditentukan dengan perhitungan menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ Transmisi pigmentasi} : \frac{E_p}{\sum F_p} = \frac{\sum (T \times F_p)}{\sum F_p}$$

Keterangan :

T = Transmisi

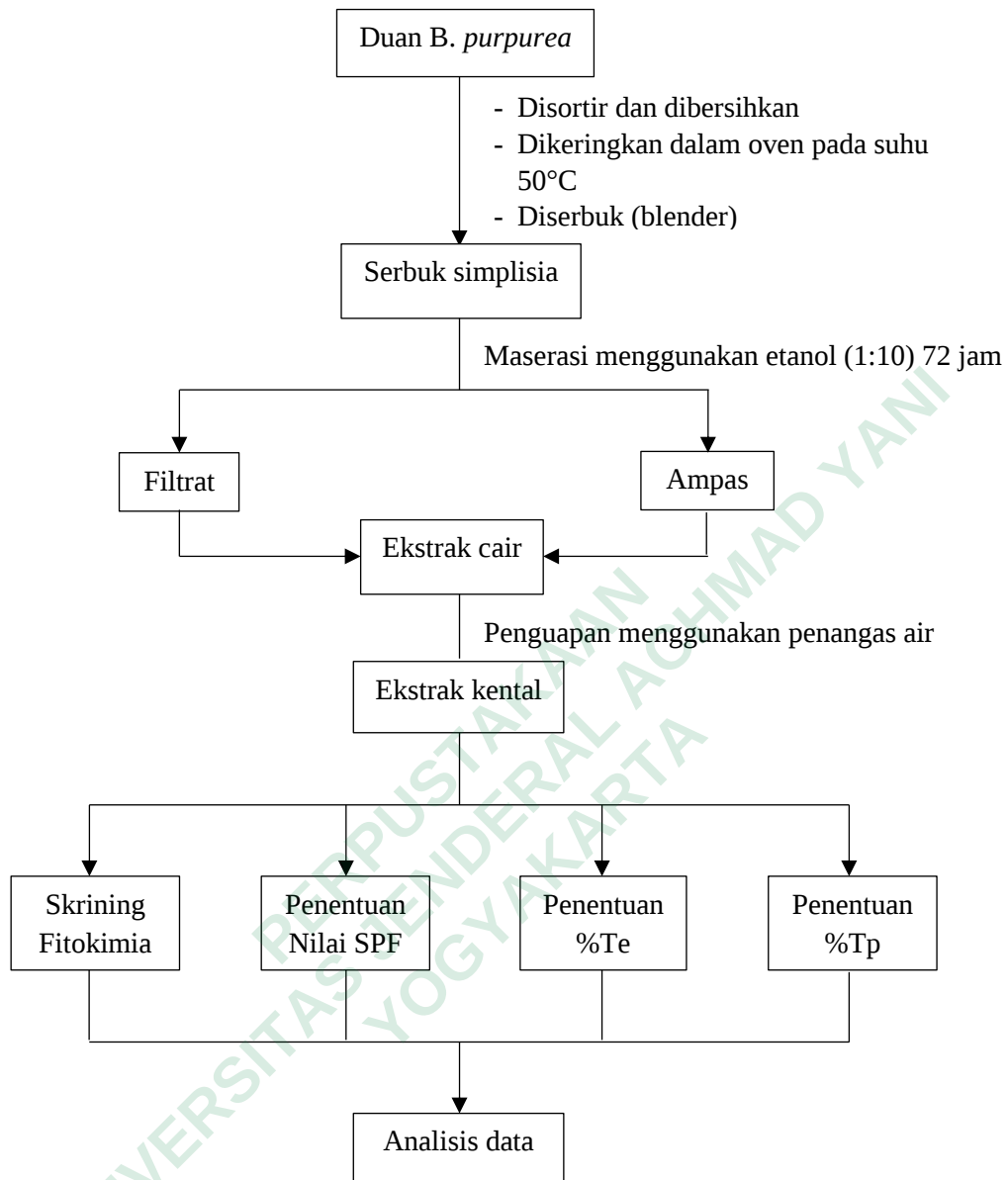
- $F_p$  = Fluks pigmentasi pada panjang gelombang tertentu  
 $E_p$  = Seberapa banyak fluks pigmentasi yang diteruskan oleh tabir surya  
 $\Sigma F_p$  = Keseluruhan energi sinar UV yang menyebabkan pigmentasi

**Tabel 2. Transmisi Pigmentasi Sediaan Tabir Surya (Maulida, 2015)**

| <b>Rentang Panjang Gelombang (nm)</b> | <b>Fluks pigmentasi</b> |
|---------------------------------------|-------------------------|
| 322,5                                 | 0,107                   |
| 327,5                                 | 0,102                   |
| 332,5                                 | 0,093                   |
| 337,5                                 | 0,079                   |
| 342,5                                 | 0,066                   |
| 347,5                                 | 0,057                   |
| 352,5                                 | 0,044                   |
| 357,5                                 | 0,045                   |
| 362,5                                 | 0,035                   |
| 367,5                                 | 0,031                   |
| 372,5                                 | 0,026                   |
| Total fluks pigmentasi                | 0,694                   |

#### 4. Analisis Data Stasitik

Perangkat lunak SPSS digunakan untuk menganalisis data SPF, %Te dan %Tp. Uji *Levene's Test* digunakan untuk uji homogenitas. Data disebut homogen apabila menghasilkan nilai signifikansi  $> 0,05$ . Uji *Shapiro Wilk* untuk uji normalitas karena kurang dari 50 sampel yang digunakan. Tingkat signifikansi  $> 0,05$  maka datanya dinyatakan terdistribusi normal. Data kemudian dianalisis, data normal dan homogen maka dilakukan uji T independent. *Mann Whitney* digunakan ketika data tidak normal dan homogen (Aji *et al.*, 2023).



**Gambar 1.** Alur Pelaksanaan Penelitian