

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian eksperimental ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh pelarut ekstraksi (etanol 70%, metanol dan etil asetat) terhadap kemampuan dalam menangkal radiasi UV pada ekstrak kulit buah manggis (EKBM) dengan parameter SPF menggunakan metode spektrofotometri UV – Vis. Berdasarkan pengujian ini akan dihasilkan pelarut yang menunjukkan nilai SPF yang paling optimal.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Studi ini dilaksanakan pada bulan Juli – November 2024 di Laboratorium Prodi Farmasi (S-1), Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta.

C. Sampel Penelitian

Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang sudah matang dan berwarna hitam keunguan merupakan sampel dalam penelitian ini. Sampel ini diambil dari Desa Kaligesing, Kecamatan Kutoarjo, Kabupaten Purworejo, Provinsi Jawa Tengah.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas
Pelarut etanol 70%, metanol dan etil asetat.
2. Variabel Terikat
Nilai SPF (*Sun Protection Factor*).
3. Variabel Terkendali
Usia buah manggis, warna kulit manggis, suhu pengeringan dan waktu pengadukan.

E. Definisi Operasional

1. EKBM adalah ekstrak hasil maserasi kulit buah manggis dengan pelarut etanol 70%, metanol dan etil asetat.
2. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi, menggunakan pelarut grade teknis.
3. Nilai SPF ditentukan melalui pengujian *in vitro* dengan spektrofotometri UV-Vis pada λ 290-320 nm dan dihitung melalui persamaan Mansur.

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat gelas laboratorium, ayakan 40 mesh, grinder, mikropipet, neraca analitik (Ohaus), oven, penangas air, pisau, toples, sonikator (*Cole Parmer Waterbath Sonicator*), *stopwatch*, spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10S UV-VIS Spectrophotometer*), vakum evaporator dan wajan.

2. Bahan

Asam sulfat pekat, asetat anhidrat, aquadest, CH_3COOH anhidrat, etanol 70% teknis, metanol teknis, etil asetat teknis, FeCl_3 , H_2SO_4 , kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.), kloroform *p.a*, metanol teknis, kertas label, kertas saring, pereaksi Dragendorf, Mayer, Wagner dan serbuk magnesium.

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) adalah tahap yang sangat penting untuk mengidentifikasi tanaman yang akan diteliti, determinasi dilaksanakan di Laboratorium Pembelajaran Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Tujuannya untuk mengetahui kebenaran dari kulit buah manggis sebagai sampel yang diteliti.

2. Penyiapan simplisia

Setelah kulit buah manggis yang dipanen, bagian – bagiannya dipotong, dibersihkan dengan air mengalir dan dikeringkan pada suhu 50°C dengan oven

hingga rapuh. Setelah garing kulit tersebut dihaluskan untuk memperkecil ukuran partikel menggunakan alat grinder. Hasilnya diayak menggunakan ayakan 40 mesh, lalu serbuk yang telah diayak disimpan ke dalam wadah untuk diletakkan di suhu ruangan, terlindung dari sinar matahari langsung (Indrasuari dkk., 2014).

3. Ekstraksi sampel

Prosedur ekstraksi mengikuti penelitian yang dilakukan oleh (Rejeki & Sari, 2023 yang sudah dimodifikasi) serbuk simplisia kulit buah manggis masing – masing ditimbang 200 gram lalu direndam dengan pelarut etanol 70%, metanol serta etil asetat sebanyak 2 liter (perbandingan 1:10). Simplisia direndam selama 3 hari dan sekali kali diaduk. Hasil ekstraksi disaring untuk mendapatkan filtrat dan sisa simplisia. Residu simplisia kemudian diekstraksi ulang dengan masing – masing pelarut dalam jumlah yang sama dan proses ini diulang dua kali. Seluruh hasil ekstraksi selanjutnya diuapkan menggunakan penangas air hingga menghasilkan ekstrak yang pekat. Persentase rendemen ekstrak yang dihasilkan dihitung menggunakan rumus yang tercantum pada persamaan ini.

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak kental (gram)}}{\text{bobot simplisia awal (gram)}} \times 100\% \dots\dots\dots(2)$$

4. Uji kadar air

Penetapan kadar air ekstrak etanol kulit buah manggis dilakukan dengan metode gravimetri. Ekstrak kulit buah manggis ditimbang sebanyak ± 2 gram, kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang telah ditara. Wadah yang berisi ekstrak kulit buah manggis kemudian dimasukkan ke dalam oven dan dipanaskan pada suhu 105°C selama 3 jam, dan ditimbang (Aliya dkk., 2024).

5. Uji fitokimia ekstrak etanol kulit buah manggis

Pengujian fitokimia diawali dengan menimbang 500 mg EKBM etanol 70% dalam 50 mL etanol 70% dimasukkan labu ukur 50 mL. Prosedur yang sama diterapkan pada EKBM metanol dan etil asetat (Junito dkk., 2018).

a. Uji alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan mencampurkan 3 mL masing-masing ekstrak dengan 5 mL larutan HCl 2 N, lalu dipanaskan. Kemudian larutan tersebut didinginkan dan dibagi jadi tiga bagian tiap 1 mL dan ditambahkan pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorff. Adapun hasil positif adanya alkaloid secara berurutan ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih atau kuning, endapan coklat dan endapan jingga (Muthmainnah, 2017).

b. Uji flavonoid

Dilakukan pencampuran sejumlah 2 mL larutan uji dari tiap ekstrak dengan 5 tetes etanol *p.a* didalam tabung reaksi, kocok hingga tercampur merata. Selanjutnya ditambahkan magnesium 0,2 gram dan 5 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna warna kuning, orange atau merah menunjukkan ekstrak positif mengandung flavonoid (Junito dkk., 2018).

c. Uji saponin

Dilakukan pencampuran sejumlah 2 mL larutan uji dari tiap ekstrak dengan 10 mL aquadest didalam tabung. Campuran dikocok kuat selama 1 menit, kemudian ditambahkan 2 tetes HCl 2 N, amati busa yang terbentuk. Jika terdapat busa yang stabil selama 7 menit maka ekstrak tersebut positif mengandung saponin (Cahyaningsih dkk., 2019).

d. Uji fenol

Dilakukan pencampuran sebanyak 3 mL larutan uji dari tiap ekstrak dengan 3 tetes ferri klorida 1% didalam tabung reaksi. Munculnya warna hijau tua, merah, hitam pekat, biru atau ungu menunjukkan ekstrak mengandung senyawa fenol (Marcellia dkk., 2023).

e. Uji tanin

Dilakukan pencampuran sebanyak 2 mL larutan dari masing – masing ekstrak dengan 3 tetes FeCl_3 1% didalam tabung reaksi. Terbentuknya warna biru tua dan hitam kehijauan menunjukkan adanya senyawa tanin pada ekstrak tersebut (Junito dkk., 2018).

f. Uji steroid

Dilakukan pencampuran sebanyak 1 mL larutan uji tiap ekstrak kedalam tabung reaksi, dengan 5 mL kloroform dan 2 mL asam sulfat pekat, kemudian amati perubahan warnanya. Jika terbentuk cincin berwarna merah menunjukkan adanya senyawa steroid (Leswara dkk., 2024).

g. Uji glikosida

Dilakukan pencampuran sebanyak 1 mL larutan tiap ekstrak kedalam tabung reaksi campurkan 10 tetes asam sulfat pekat dan 5 mL asam asetat anhidrat. Amati apakah terjadi perubahan warna biru dan hijau. Hal ini menandakan keberadaan senyawa glikosida (Kristianingsih dkk., 2018).

h. Uji triterpenoid (Salkowski)

Dilakukan pencampuran sebanyak 1 mL larutan tiap ekstrak kedalam tabung reaksi ditambahkan 2 mL CHCl_3 dan 2 mL H_2SO_4 . Apabila warna larutan berubah menjadi coklat kemerahan maka hal ini menunjukkan adanya kandungan senyawa triterpenoid (Irawan dkk., 2022).

5. Uji aktivitas tabir surya EKBM (Uji SPF)

Uji SPF EKBM mengikuti penelitian yang dilakukan oleh (Ulfa & Lukmayani, 2016 yang sudah modifikasi). Ekstrak yang telah dipersiapkan sebelumnya ditimbang sebanyak 100 mg, kemudian dilarutkan dalam etanol 70%, metanol dan etil asetat hingga mencapai volume 100 mL dalam labu takar, untuk mendapatkan konsentrasi 1000 ppm. Selanjutnya, ambil 0,5 mL dari larutan 1000 ppm dan masukkan ke dalam labu takar 10 mL, lalu tambahkan pelarut hingga mencapai batas tanda, sehingga menghasilkan konsentrasi 50 ppm. Nilai SPF larutan ditentukan dengan mengukur absorbansi dengan panjang gelombang antara 290 – 320 nm. Uji dilakukan sebanyak 3 kali replikasi dan absorbansi yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam rumus Mansur untuk menghitung nilai SPF.

H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

1. Perhitungan nilai SPF

Nilai SPF pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan metode Mansur *et. al.*, (1986) menggunakan rumus berikut :

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

Keterangan :

Cf : *Correction Factor* (=10)

EE (λ) : *Erythema Effect Spectrum*

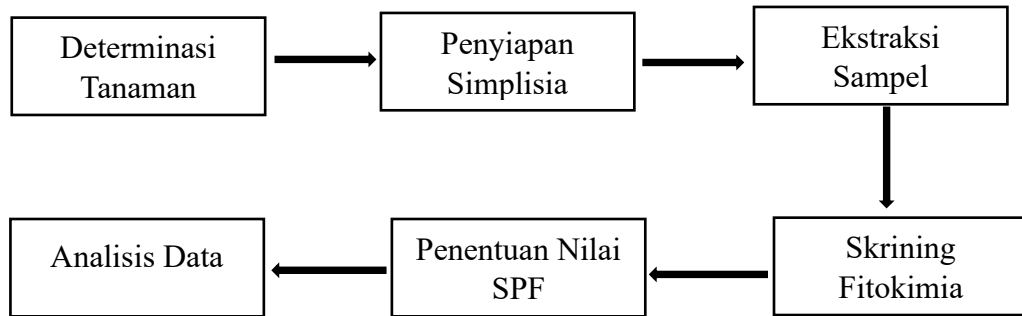
I (λ) : *Light Intensity Spectrum*

Abs (λ) : *Sample Absorbance*

Berdasarkan panjang gelombang Nilai EE (λ)x I (λ) adalah nilai tetap atau konstan. Nilai tersebut diperoleh dari pengukuran Sayre *et. al.*, (1979) pada panjang gelombang (λ) 290 – 320 nm dengan interval 5 nm.

2. Analisa data

Data nilai SPF yang telah dihitung kemudian dianalisa secara statistik menggunakan SPSS. Dalam penelitian ini, uji homogenitas pada masing-masing ekstrak dilakukan dengan *Levene's test*, sementara uji normalitas masing-masing ekstrak menggunakan *Shapiro Wilk*. Berdasarkan uji *Levene's test* diperoleh data masing-masing ekstrak dinyatakan homogen (sig>0,05) dan berdasarkan uji *Shapiro Wilk* didapatkan data terdistribusi normal (sig>0,05). Dikarenakan keduanya memenuhi syarat maka analisis dilanjutkan dengan *One – Way ANOVA* dengan (P<0,05) dan dilakukan uji *Post Hoc LSD*. Nilai SPF antar ekstrak dinyatakan berbeda signifikan apabila (P<0,05).



Gambar 3. Skema Pelaksanaan Penelitian

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI
YOGYAKARTA