

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan di laboratorium.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

##### a. Waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2020 – April 2021.

##### b. Tempat penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Analisis Farmasi dan Analisis Jamu Jurusan Jamu Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Surakarta dan Laboratorium Kimia Farmasi Program Studi Farmasi Fakultas Sains, Teknologi, dan Kesehatan Universitas Sahid Surakarta.

#### **3.3 Populasi dan Sampel Penelitian**

##### a. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah daun jeruk purut dari Kecamatan Jatinom, Kabupaten Klaten, Provinsi Jawa Tengah.

##### b. Sampel

Pada penelitian ini menggunakan sampel yaitu ekstrak etanol daun jeruk purut.

### 3.4 Instrumen Penelitian

Instrumen pada penelitian meliputi alat dan bahan sebagai berikut:

#### a. Alat

Timbangan analitik, seperangkat alat gelas (pipet tetes, gelas ukur (*Pyrex*), corong kaca (*Pyrex*), cawan porselain, tabung reaksi (*Pyrex*)), rak tabung reaksi, batang kayu penjepit tabung, kertas saring, sendok tanduk, bejana maserasi, gelas kimia (*Pyrex*), batang pengaduk, termometer, penangas air, ayakan 60 mesh, blender (*Willman*), pot ekstrak, labu ukur (*Pyrex*), *aluminium foil*, pipet mikro (*Dragon Onemed, DLAB*), kuvet (*Quartz Kuvet*), Spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10S UV-Vis Spektrofotometer*).

#### b. Bahan

Daun jeruk purut, serbuk Mg (*Merck*), HCl pekat (*Merck*), FeCl<sub>3</sub> 5% (*Merck*), etanol 95% (Rachma Sari), etanol pro analisa (*Merck*), *aquadest*.

### 3.5 Variabel Penelitian

#### a. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol daun jeruk purut 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, 160 ppm, dan 320 ppm.

#### b. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah nilai *Sun Protection Factor* (SPF) ekstrak etanol daun jeruk purut.

### 3.6 Definisi Operasional

- a. Ekstrak etanol daun jeruk purut adalah ekstrak kental yang diperoleh dari hasil maserasi serbuk daun jeruk purut menggunakan pelarut etanol 95%.
- b. Variasi konsentrasi ekstrak etanol daun jeruk purut yang digunakan adalah 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, 160 ppm, dan 320 ppm.
- c. Nilai *Sun Protection Factor* (SPF) adalah jumlah energi UV yang dibutuhkan untuk mencapai *Minimal Erythema Dose* (MED) pada kulit yang dilindungi oleh suatu tabir surya, dibagi dengan jumlah energi UV yang dibutuhkan untuk mencapai MED pada kulit yang tidak diberikan perlindungan. Metode penentuan nilai SPF menggunakan spektrofotometer UV-Vis dapat diketahui dari karakteristik serapan sampel tabir surya pada panjang gelombang 290-320 nm dengan interval 5 nm dengan menggunakan persamaan Mansur.

### 3.7 Jalannya Penelitian

#### 3.7.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut

- a. Determinasi Tanaman

Daun jeruk purut yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari wilayah Kecamatan Jatinom, Kabupaten Klaten dan dideterminasi di UPT Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Sampel yang dipastikan benar sebagai daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC).

b. Pengolahan Sampel

Daun jeruk purut yang telah dideterminasi dan dipastikan benar diambil sebanyak 1 kg lalu disortasi basah, kemudian dicuci dan dirajang lalu dikeringkan di tempat yang tidak terkena cahaya atau sinar matahari secara langsung. Setelah kering, ditimbang dan diperoleh berat simplisia daun jeruk purut. Sampel dibuat serbuk dengan menggunakan blender, lalu diayak dengan ayakan 60 mesh, dan diekstraksi dengan cara maserasi.

c. Ekstraksi Sampel

Sebanyak 300 gram serbuk simplisia daun jeruk purut dimasukkan dalam bejana maserasi, lalu serbuk ditambahkan etanol 95% sebanyak 2250 ml. Bejana maserasi ditutup rapat dan disimpan pada tempat yang terhindar sinar matahari langsung selama 5 hari sambil sekali-kali diaduk. Setelah 5 hari campuran diserkai dan diambil filtratnya. Ampas dilakukan remaserasi menggunakan etanol 95% sebanyak 750 ml. Hasil maserat atau ekstrak cair disimpan dalam bejana tertutup dan dibiarkan ditempat sejuk terlindung dari cahaya selama 2 hari, kemudian diuapkan dengan penangas air sampai diperoleh ekstrak kental.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot total ekstrak}}{\text{bobot total simplisia}} \times 100\%$$

### 3.7.2 Uji Pendahuluan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut

#### a. Identifikasi Senyawa Flavonoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak etanol daun jeruk purut ditambahkan dengan air panas secukupnya, kemudian dididihkan selama 5 menit lalu disaring. Filtrat sebanyak 5 mL ditambahkan 0,05 mg serbuk magnesium (Mg) dan 1 mL HCl pekat, kemudian kocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Lanisthi, *et al.*, 2015).

#### b. Identifikasi Senyawa Fenol

Sebanyak 0,5 gram ekstrak etanol daun jeruk purut diekstrak dengan 20 mL etanol 95%. Ekstrak sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan 2 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  5%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, ungu, biru, dan hitam (Syafitri, *et al.*, 2014; Cikita, *et al.*, 2016).

### 3.7.3 Uji Nilai SPF Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut

#### a. Pembuatan Larutan Uji SPF

Ekstrak etanol daun jeruk purut sebanyak 0,05 gram diencerkan dengan etanol pro analisa sampai tanda batas dalam labu ukur 25 ml sehingga didapatkan larutan ekstrak etanol dengan konsentrasi 2000 ppm (larutan stok). Penentuan variasi konsentrasi pada penelitian ini dilakukan dengan melakukan orientasi terlebih dahulu, dengan menggunakan konsentrasi 200

ppm, 400 ppm, 600 ppm, 800 ppm, 1000 ppm (Ajwad, 2016). Hasil dari variasi konsentrasi tersebut diperoleh hasil nilai SPF tidak optimal, sehingga peneliti melakukan orientasi untuk memperoleh variasi konsentrasi dengan nilai SPF yang baik. Larutan stok pada penelitian ini diencerkan hingga diperoleh 5 konsentrasi pengenceran, yaitu 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, 160 ppm, dan 320 ppm dan masing-masing konsentrasi dibuat replikasi sebanyak 3 kali. Kemudian dilakukan penentuan nilai SPF ekstrak etanol daun jeruk purut (Ajwad, 2016; Suhaenah, *et al.*, 2019).

b. Penentuan Nilai *Sun Protection Factor* (SPF)

Nilai SPF ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan mengukur absorbansi dari konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, 160 ppm, dan 320 ppm larutan ekstrak etanol daun jeruk purut pada panjang gelombang (290-320 nm) setiap interval 5 nm dengan etanol pro analisa sebagai blanko. Nilai absorbansi (Abs) yang diperoleh dikalikan dengan  $EE \times I$ , nilai  $EE \times I$  dapat dilihat pada tabel, jumlah perkalian absorbansi dengan  $EE \times I$  dikalikan dengan faktor koreksi yang nilainya 10. Sehingga diperoleh nilai SPF dari sampel uji (Susanti dan Lestari, 2019; Suhaenah, *et al.*, 2019).

### 3.8 Analisa Data

#### 3.8.1. Penentuan Nilai *Sun Protection Factor* (SPF)

Penentuan nilai SPF melalui spektrofotometer UV-Vis dapat diketahui dari karakteristik serapan sampel tabir surya pada panjang gelombang 290-320 nm dengan interval 5 nm.

Perhitungan nilai SPF menggunakan persamaan Mansur sebagai berikut (Khan, 2018):

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

Keterangan:

CF : *Correction Factor* / Faktor Koreksi (sebesar 10)

Abs : Absorbansi sampel

EE : Efektivitas Eritema yang disebabkan sinar UV pada panjang gelombang  $\lambda$  nm

I : Intensitas sinar UV pada panjang gelombang  $\lambda$  nm

#### 3.8.2. Analisa Data

Analisis data yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji homogenitas dengan *Levene's Test* dan uji normalitas dengan *Shapiro Wilk*. Uji statistik yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Kruskal-Wallis* yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi ekstrak etanol daun jeruk purut terhadap nilai *Sun Protection Factor* (SPF).