

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat**

Penelitian mengenai penentuan nilai SPF ekstrak dan fraksi etanol daun bidara (*Zizipus spina-christi L.*) sebagai bahan aktif *sunscreen* dilaksanakan pada tanggal 17 November 2022 sampai 13 Januari 2023 di Laboratorium Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang.

#### **3.2 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.2.1 Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah gelas kimia (iwaki), gelas ukur (iwaki), corong pisah, statif, klem, pipet tetes, pipet ukur (iwaki), kertas saring, spatula, batang pengaduk, corong kaca (pyrex), erlenmeyer (iwaki), tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri (normax), blender (Philips), oven, rotary evaporator (buchi), neraca analitik (mettler toledo), kuvet dan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu UV 1900 double-beam.

### **3.2.2 Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun bidara yang sudah tua diambil dari Desa Segayam Kecamatan Gelumbang Kabupaten Muara Enim Provinsi Sumatera Selatan, aquades, etanol 96%, etanol p.a, pereaksi dragendroff, serbuk Mg (magnesium), HCl pekat (asam klorida pekat), HCl 2N (asam klorida 2N), FeCl<sub>3</sub> (besi (III) klorida), CH<sub>3</sub>COOH (asam asetat glasial) dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat (asam sulfat pekat).

## **3.3 Metode Penelitian**

### **3.3.1 Determinasi Tanaman**

Daun bidara dideterminasi di Laboratorium Biosistemika Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya.

### **3.3.2 Preparasi Sampel**

Daun bidara dikumpulkan sebanyak 1,5 kg kemudian dicuci bersih untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada permukaan daun. Setelah itu, daun bidara dikeringkan menggunakan oven. Daun bidara yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender agar didapatkan serbuk halus (simplisia) daun bidara.

### 3.3.2 Ekstraksi Sampel

Simplisia daun bidara sebanyak 100 g dimasukkan ke dalam maserator, kemudian direndam menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 4500 ml dengan metode maserasi. Perendaman tersebut diaduk dengan batang pengaduk. Setiap 24 jam ekstrak disaring untuk memisahkan filtrat dan residu. Setelah dipisahkan, dimaserasi kembali dengan pelarut baru. Selanjutnya filtrat yang diperoleh, diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu 45°C [17]. Suhu yang digunakan pada proses pemekatan relatif rendah yang bertujuan untuk mencegah rusaknya senyawa metabolit sekunder bersifat termolabil yang terdapat di dalam ekstrak [18]. Persentase bobot rendemen ekstrak dihitung pada rumus:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak kental (g)}}{\text{Bobot sebelum diekstrak (g)}} \times 100\%$$

### 3.3.3 Fraksinasi Sampel

Ekstrak kental yang sudah diperoleh dari proses ekstraksi selanjutnya dilakukan fraksinasi cair-cair menggunakan corong pisah. Tujuan dilakukan fraksinasi ini yaitu untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya dengan menggunakan beberapa pelarut yang

memiliki sifat kepolaran yang berbeda [32]. Pelarut yang digunakan pada fraksinasi ini yaitu etanol dan *n*-heksana.

Ekstrak etanol dilarutkan ke dalam etanol dan ditambahkan dengan pelarut *n*-heksana perbandingan (1:1) ke dalam coroh pisah. Kemudian, dilakukan pengocokan secara perlahan dan diamankan sampai terjadi pemisahan membentuk dua fasa. Selanjutnya, fraksi etanol dan fraksi *n*-heksana dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Kedua fraksi yang telah dipisahkan diuapkan menggunakan oven hingga diperoleh fraksi kental.

### **3.3.4 Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak etanol dan fraksi etanol untuk membandingkan metabolit sekunder yang terdapat di dalam sampel. Skrining fitokimia meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid, adalah sebagai berikut [33]:

#### **a. Uji Alkaloid**

1 mL ekstrak ditambahkan 2 tetes larutan pereaksi Dragendorff. Reaksi positif ditandai dengan bentuk endapan menggumpal berwarna coklat orange atau jingga.

b. Uji Flavonoid

1 mL ekstrak ditambahkan beberapa tetes HCl pekat ditambah sedikit serbuk Mg. Reaksi positif jika terjadi perubahan warna merah, kuning atau jingga.

c. Uji Saponin

1 mL ekstrak ditambahkan dengan air panas dan HCl 2N. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Reaksi positif jika terbentuknya buih yang stabil selama  $\pm 10$  menit.

d. Uji Tanin

1 mL ekstrak ditambahkan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Reaksi positif jika terjadi perubahan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman.

e. Steroid

1 mL ekstrak ditambahkan dengan pereaksi asam asetat glasial dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat. Perubahan sampel warna hijau menunjukkan positif steroid.

### 3.3.5 Proses Pembuatan Larutan Uji

Pembuatan larutan uji dilakukan pada ekstrak etanol daun bidara yang ditimbang sebanyak 25 mg kemudian dilarutkan dalam 25 ml etanol p.a, sehingga diperoleh larutan stock dengan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 100, 200, 300, 400 dan

500 ppm. Diukur absorbansi masing-masing konsentrasi larutan uji pada panjang gelombang 290-320 nm dengan interval 5 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis [25].

Pembuatan larutan uji juga dibuat pada fraksi etanol dengan berat 12,5 mg yang dilarutkan dalam 25 ml etanol p.a sehingga diperoleh larutan stock dengan konsentrasi 500 ppm. Kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 100, 200, 300, 400 dan 500 ppm. Diukur absorbansi masing-masing konsentrasi larutan uji pada panjang gelombang 290-320 nm dengan interval 5 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

### 3.3.6 Analisa Data

Data kurva serapan uji dengan panjang gelombang antara 290-320 nm dengan interval 5 nm. Hasil absorbansi masing-masing konsentrasi dicatat dan dihitung dengan menggunakan metode persamaan Mansur untuk mendapatkan nilai SPF [34].

Nilai SPF dianalisis menggunakan metode Mansur [34]:

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

Keterangan:

CF : Faktor Koreksi (=10)

EE : Spektrum Efek Eritema

I : Spektrum Intensitas dari Matahari

Abs : Absorbansi dari sampel

Nilai  $EE \times I$  adalah konstan dan ditunjukkan pada Tabel 3 di bawah ini :

**Tabel 3** Nilai  $EE \times I$  Pada Panjang Gelombang 290-320 nm.

<b>Panjang Gelombang (nm)</b>	<b>Nilai <math>EE \times I</math></b>
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
<b>Total</b>	<b>1</b>

**Tabel 4** Keefektifan *sunscreen* berdasarkan nilai SPF

<b>Nilai SPF</b>	<b>Kategori Proteksi</b>
1-4	Proteksi minimal
4-6	Proteksi sedang
6-8	Proteksi ekstra
8-15	Proteksi maksimal
>15	Proteksi ultra