

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Rancangan Penelitian**

Penelitian yang akan dilakukan adalah penelitian yang bersifat eksperimental di laboratorium. Percobaan eksperimen atau percobaan (*experimental research*) adalah suatu penelitian dengan melakukan kegiatan percobaan (*experiment*), yang bertujuan untuk mengetahui gejala atau pengaruh yang timbul, sebagai akibat dari adanya perlakuan tertentu atau eksperimen tersebut (Notoatmodjo,2012:50). Dengan rancangan penelitian yaitu *post only design*, dalam penelitian ini perlakuan atau intervensi telah dilakukan kemudian dilakukan pengukuran (observasi), dan tidak ada kontrol dalam penelitian ini (Notoatmodjo,2012:56).

Perlakuan pada penelitian ini yaitu lima kelompok konsentrasi pada masing- masing ekstrak yang akan dibuat larutan uji tiap ekstrak dengan konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm. Variabel bebas adalah konsentrasi ekstrak daun dan kulit batang tanaman kersen (*Muntingia calabura L.*) dan variabel terikatnya yaitu nilai *Sun Protection Factor* (SPF) ekstrak yang diuji secara in-vitro.

#### **B. Subjek Penelitian**

Subjek penelitian ini adalah ekstrak daun dan kulit batang tanaman kersen (*Muntingia calabura L.*) dengan konsentrasi masing- masing ekstrak yaitu 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm.

#### **C. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Tanjungkarang untuk melakukan proses ekstraksi, uji skrining fitokimia, dan uji nilai *Sun Protection Factor* (SPF). Waktu penelitian ini dilaksanakan mulai Maret-Mei tahun 2021.

## D. Pengumpulan Data

### 1. Alat dan Bahan

#### a. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer, beaker glass 1000 ml, beaker glass 100 ml, gelas ukur 10 ml, pipet tetes, erlenmeyer 100 ml, labu ukur 50 ml, labu ukur 100 ml, pipet volume 5ml, pipet volume 10 ml, pipet volume 15 ml, pipet volume 20 ml, pipet volume 25 ml, corong kaca, tabung reaksi, batang pengaduk, oven , *rotary evaporator*, kompor listrik, spatula, kertas saring, aluminium foil, cawan penguap, baskom, blender, ayakan mesh 60, dan pisau.

#### b. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kersen (*Muntingia calabura* L.), kulit batang kersen (*Muntingia calabura* L.), etanol 96%, aquades, serbuk Mg, HCl (P), amil alkohol, dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (P).

### 2. Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Botani Jurusan Biologi Universitas Lampung. Identifikasi ini dilakukan untuk mengetahui kebenaran sampel daun dan kulit batang tanaman kersen (*Muntingia calabura* L.).

### 3. Pembuatan Simplisia Daun Kersen

- a. Disiapkan daun kersen (*Muntingia calabura* L.) segar.
- b. Dilakukan sortir basah dengan memisahkan daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dari kotoran atau bahan asing lain seperti batang dan tangkai.
- c. Dicuci bersih daun kersen (*Muntingia calabura* L.) menggunakan air mengalir, kemudian tiriskan.
- d. Dilakukan perajangan daun kersen (*Muntingia calabura* L.) untuk memperkecil ukuran.
- e. Daun kersen diletakan di atas nampan lalu diangin-anginkan pada suhu kamar dan tidak terkena sinar matahari langsung selama 2 hari.
- f. Dioven daun kersen (*Muntingia calabura* L.) pada suhu 40-50°C hingga kering.
- g. Dilakukan sortir kering dengan cara pemilihan daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dari bahan yang rusak atau terkena kotoran.

- h. Dihaluskan daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk kering.
  - i. Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) yang sudah halus diayak menggunakan ayakan No.60.
4. Pembuatan Simplisia Kulit Batang Kersen
- a. Disiapkan kulit batang kersen (*Muntingia calabura* L.).
  - b. Dilakukan sortir basah dengan memisahkan batang kersen (*Muntingia calabura* L.) dari kotoran atau bahan asing lain.
  - c. Dicuci bersih kulit batang kersen (*Muntingia calabura* L.) menggunakan air mengalir.
  - d. Dipotong menjadi lebih kecil kulit batang kersen (*Muntingia calabura* L.).
  - e. Kulit batang kersen diletakan di atas nampan lalu diangin-anginkan pada suhu kamar dan tidak terkena sinar matahari langsung selama 2 hari.
  - f. Dioven kulit batang kersen (*Muntingia calabura* L.) pada suhu 60°C hingga kering.
  - g. Dilakukan sortir kering dengan cara pemilihan kulit batang kersen (*Muntingia calabura* L.) dari bahan yang rusak atau terkena kotoran.
  - h. Dihaluskan kulit batang kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk kering.
  - i. Kulit batang kersen (*Muntingia calabura* L.) yang sudah halus diayak dengan menggunakan ayakan No.60.
5. Pembuatan Ekstrak Daun Kersen dengan Pelarut Etanol 96%.
- a. Disiapkan wadah yaitu bejana yang digunakan untuk maserasi.
  - b. Ditimbang serbuk kering daun kersen (*Muntingia calabura* L.) sebanyak 100 gram pada neraca analitik, dimasukkan ke dalam wadah.
  - c. Ditambahkan 1000 ml etanol 96% hingga semua daun kersen (*Muntingia calabura* L.) terendam larutan tersebut dan didiamkan selama 3 hari (3x24 jam) ditempat gelap terhindar dari sinar matahari dan diaduk setiap 8 jam.
  - d. Kemudian disaring menggunakan kertas saring dan dipisahkan antara maserat yang diperoleh dengan endapannya.
  - e. Semua maserat diuapkan dengan rotary evaporator dengan suhu 40°C, hingga diperoleh ekstrak kental.

6. Pembuatan Ekstrak Kulit Batang Kersen dengan Pelarut Etanol 96%.
  - a. Disiapkan wadah yaitu bejana yang digunakan untuk maserasi.
  - b. Ditimbang serbuk kering kulit batang kersen (*Muntingia calabura* L.) sebanyak 100 gram pada neraca analitik, dimasukkan ke dalam wadah.
  - c. Ditambahkan 1000 ml etanol 96% hingga semua serbuk simplisia terendam larutan tersebut dan didiamkan selama 3 hari (3x24 jam) ditempat gelap terhindar dari sinar matahari dan diaduk setiap 8 jam.
  - d. Kemudian disaring menggunakan kertas saring dan dipisahkan antara maserat yang diperoleh dengan endapannya.
  - e. Semua maserat diuapkan dengan rotary evaporator dengan suhu 40°C, hingga diperoleh ekstrak kental.

7. Uji Kandungan Flavonoid

Dicampurkan 10 gram serbuk simplisia dengan 100 ml air panas, kemudian didihkan kurang lebih 5 menit, kemudian disaring ketika panas. Diambil sebanyak 5 ml Filtrat ditambahkan 0,1 gram serbuk mg, 1 ml asam klorida pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok lalu diamkan hingga memisah. Positif flavonoid jika terbentuk warna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol (Marjoni, 2016:10).

8. Prosedur Penentuan Nilai *Sun Protection Factor* (SPF)

- a. Larutan Uji Ekstrak Daun Kersen

Sebanyak 100 mg ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dilarutkan dengan etanol 96% p.a pada labu ukur terukur 100 ml diperoleh konsentrasi larutan stok yaitu 1000 ppm. Pembuatan larutan uji untuk konsentrasi 100 ppm, dipipet larutan stok sebanyak 5 ml masukkan dalam labu ukur 50 ml tambahkan etanol 96% p.a ad 50 ml. Hal yang sama dilakukan untuk masing-masing konsentrasi 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm.

- b. Larutan Uji Ekstrak Kulit Batang Kersen

Sebanyak 100 mg ekstrak kulit batang kersen (*Muntingia calabura* L.) dilarutkan dengan etanol 96% p.a pada labu ukur terukur 100 ml diperoleh konsentrasi larutan stok ekstrak kulit batang kersen (*Muntingia calabura* L.) yaitu 1000 ppm. Pembuatan larutan uji konsentrasi 100 ppm, dipipet larutan stok sebanyak 5 ml masukkan dalam labu ukur 50 ml tambahkan etanol 96%

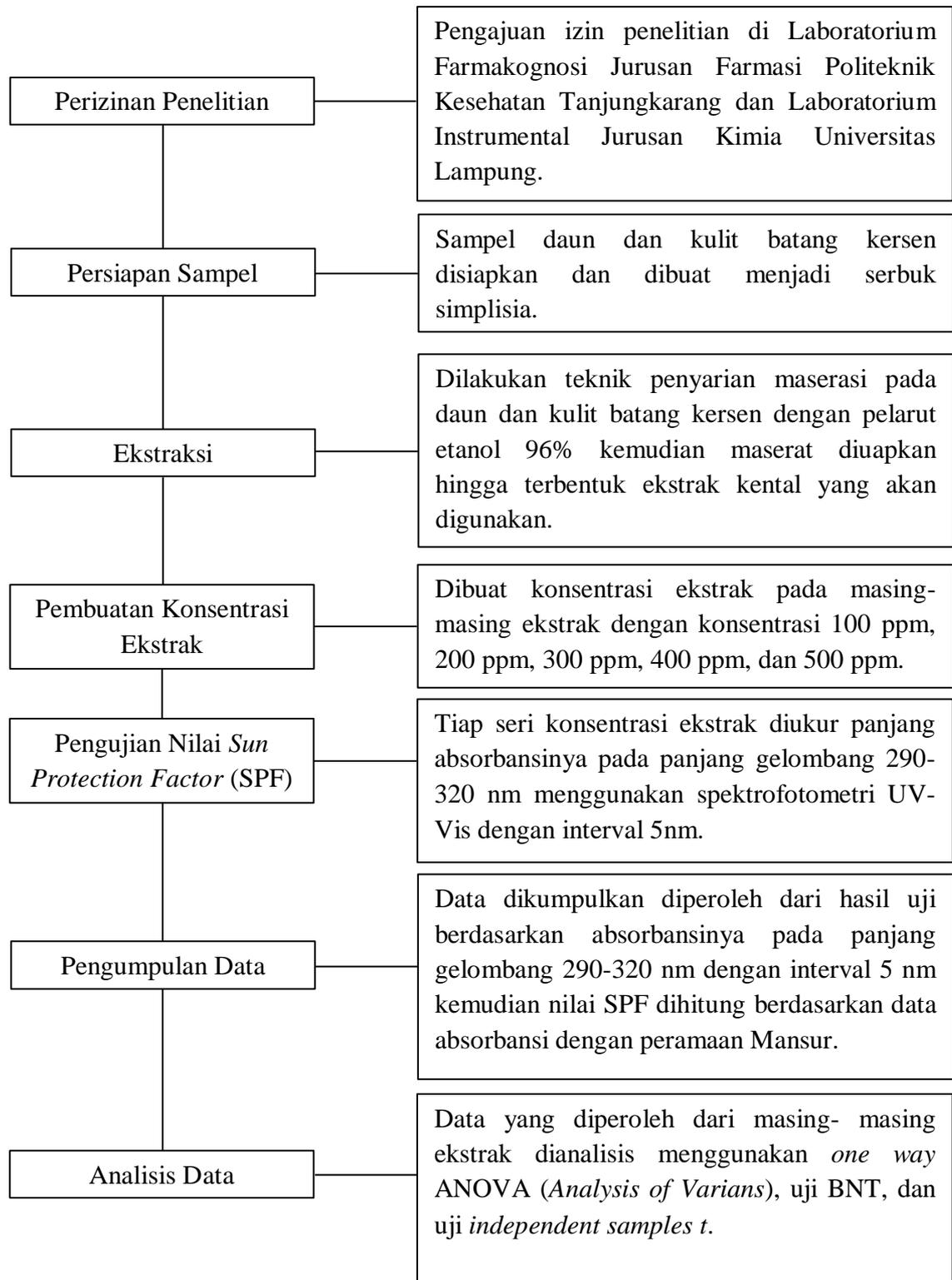
p.a ad 50 ml. Hal yang sama dilakukan untuk masing- masing konsentrasi 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500 ppm.

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

Larutan uji dengan seri konsentrasi ekstrak yang berbeda diukur absorbansinya pada panjang gelombang  $\lambda$  290 nm sampai 320 nm menggunakan spektrofotometri Uv-Vis dengan interval 5 nm. Penentuan nilai SPF dilakukan sebanyak tiga kali replikasi pada masing- masing konsentrasi. Data yang diperoleh diolah dengan persamaan Mansur (Mansur et al., 1986 dalam Dutra; et al, 2004:382). Tiga kali replikasi dilakukan agar data yang diperoleh lebih akurat, karena pengukuran yang dilakukan dengan spektrofotometer yang menggunakan arus listrik.

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

## 9. Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

## E. Pengolahan dan Analisis Data

Data absorbansi disajikan dalam bentuk tabel. Hasil penelitian berupa nilai absorbansi pada masing-masing konsentrasi tiap ekstrak untuk mengetahui nilai *Sun Protection Factor* (SPF). Nilai absorbansi yang diperoleh dikalikan nilai  $EE \times I$  untuk masing-masing panjang gelombang, lalu hasil perkalian absorbansi dan  $EE \times I$  dijumlahkan, hasil penjumlahan kemudian dikalikan dengan faktor pengoreksi yang nilainya 10 dan dilihat tingkat proteksi pada masing-masing konsentrasi.

### 1. Analisis Data *One Way* ANOVA (*Analysis of Varians*)

Analisis data menggunakan uji statistik *one way* ANOVA (*Analysis of Varians*) untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan dari rata-rata nilai SPF masing-masing ekstrak. Jika hasil  $P < 0,05$  dilanjutkan dengan uji BNT (Beda Nyata Terkecil).

### 2. Analisis Data Uji Beda Nyata Terkecil (BNT)

Uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dilakukan analisis pada tingkat kesalahan 5% untuk menentukan perbedaan rata-rata nilai SPF terhadap konsentrasi dari masing-masing ekstrak.

$H_0$  : Tidak ada perbedaan bermakna antara 5 perlakuan dari konsentrasi ekstrak.

$H_1$  : Ada perbedaan bermakna antara 5 perlakuan dari konsentrasi ekstrak, setidaknya 2 perlakuan.

### 3. Analisis Data Uji *Independent samples t test*

Analisis data dengan uji *independent samples t test* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan aktivitas tabir surya dari kedua ekstrak.

$H_0$  : Tidak ada perbedaan bermakna aktivitas tabir surya dari ekstrak daun dan kulit batang tanaman kersen.

$H_1$  : Ada perbedaan bermakna aktivitas tabir surya dari ekstrak daun dan kulit batang tanaman kersen.