

### BAB III

#### METODE PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas tanin pada daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) sebagai tabir surya. Daun Jati Belanda diperoleh dari daerah Tawangmangu, Karanganyar. Daun Jati Belanda yang telah dikeringkan dan dibuat serbuk, diekstraksi secara bertahap dengan menggunakan berbagai pelarut. Pelarut yang digunakan adalah n-heksana, eter, campuran aseton-air dengan perbandingan 7 : 3, etil asetat. Hasil ekstrak yang diperoleh dianalisis dengan Metode Chumpeliks–Kreps dan SPF untuk menentukan aktivitas sebagai tabir surya. Kedua metode ini menggunakan spektrofotometer ultra violet. Hasil ekstrak tersebut dipisahkan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Kemudian hasil KLT preparatif dianalisa dengan spektrofotometer infra merah untuk menentukan gugus fungsi ekstrak tanin.

#### 3.1. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu set alat soklet, penguap vakum, spektrofotometer UV–Vis Milton Ray Spectronic 3000, spektrofotometer Infra Merah (IR) Shimadzu FTIR 820 IPC, plat silika gel 60 – GF 254, dan peralatan gelas.

### **3.2. Bahan**

Daun Jati Belanda yang digunakan diperoleh dari daerah Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan meliputi akuades, n-heksana, eter, ferri klorida, aseton (p.a.), etanol (p.a.), etil asetat (p.a.), asam format (p.a.), toluena (p.a.), asam klorida (p.a.), asam sulfat (p.a.), asam asetat anhidrat (p.a.), serbuk magnesium.

### **3.3. Prosedur Penelitian**

#### **3.3.1. Pembuatan serbuk daun jati belanda**

Daun Jati Belanda dikeringkan dengan menggunakan oven pemanas pada suhu 40°C selama satu hari satu malam sehingga daun menjadi kering dan dapat hancur bila diremas. Daun yang telah kering diblender hingga halus dan berbentuk serbuk.

#### **3.3.2. Ekstraksi sampel**

Seratus gram sampel kering dimaserasi dengan menggunakan pelarut n-heksana selama 3 x 24 jam kemudian ampas yang diperoleh dikeringkan. Setelah kering, ampas tersebut dimaserasi kembali dengan menggunakan pelarut eter selama 3 x 24 jam. Kemudian ampas dikeringkan kembali. Setelah kering, disokletasi dengan menggunakan campuran pelarut aseton-air dengan perbandingan volume 7 : 3 sampai pelarut jernih. Kemudian ekstrak yang diperoleh, dipekatkan dengan menggunakan evaporator putar sampai didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental diekstrak kembali dengan menggunakan etil asetat

kemudian fraksi etil asetat dipisahkan. Fraksi air yang diperoleh dipekatkan. Ekstrak kental yang diperoleh diuji kandungan fitokimia dan dianalisa untuk mengetahui aktivitas sebagai tabir surya (Noa, 1999).

### **3.3.3. Uji Kandungan Fitokimia**

#### **3.3.3.1. Alkaloid**

Ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi Mayer. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih.

#### **3.3.3.2. Flavonoid**

Ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah larutan HCl pekat dan serbuk Mg. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna oranye-merah.

#### **3.3.3.3. Tanin**

Ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1 %. Adanya tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna dari hijau kehitaman.

#### **3.3.3.4. Triterpen / Steroid**

Ekstrak kental dimasukkan ke dalam cawan porselin kemudian ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Adanya triterpen ditunjukkan

terbentuknya warna merah sampai ungu sedangkan adanya steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru.

#### **3.3.3.5. Saponin**

Ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah air dan dididihkan. Setelah dingin, campuran dikocok kuat-kuat. Adanya saponin ditunjukkan dengan adanya busa yang stabil selama 30 menit.

#### **3.3.4. Identifikasi awal tabir surya**

Ekstrak kental dilarutkan dalam dua macam pelarut yang berbeda yaitu pelarut air dan etanol dengan konsentrasi 0,01 g/L, 0,05 g/L, 0,1 g/L, 0,5 g/L, dan 1g/L. Hasil ekstraksi diukur serapannya pada panjang gelombang 292,5 – 372,5 nm dengan perubahan setiap kali pengamatan 5,0 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan metode *in vitro* yaitu perhitungan aktifitas tabir surya berdasarkan metode Chumpelik-Kreps dan metode SPF.

#### **3.3.5. Evaluasi aktivitas tabir surya**

##### **3.3.5.1. Metode Chumpelik – Kreps.**

Aktifitas sebagai tabir surya dapat diketahui dengan menghitung prosentase transmisi eritema ( $\sum \%T.Fe / \sum Fe$ ) dan prosentase transmisi pigmentasi ( $\sum \% T.Fp/ \sum Fp$ ) untuk larutan dengan konsentrasi tertentu. Selanjutnya, dianalisis berdasarkan pedoman yang dikembangkan oleh Cumpelik–Kreps (1972) yaitu jika

prosentase transmisi eritema < 1 % dan prosentase transmisi pigmentasi 3 – 40 % dikategorikan *sunblock*, jika prosentase transmisi eritema 6 – 18 % dan prosentase transmisi pigmentasi 45 – 86 % dikategorikan *suntan*.

### 3.3.5.2. Metode *Sun Protection Factor* (SPF).

Aktifitas sebagai tabir surya dapat diketahui dengan menggunakan persamaan  $SPF = 10^A$  <sup>remata</sup>. Hasil yang diperoleh dianalisis berdasarkan nilai SPF yang ditetapkan oleh FDA (*Food and Drug Administration*).

### 3.3.6. Penentuan Gugus Fungsi Ekstrak Tanin

Ekstrak kental dipisahkan dengan menggunakan metode KLT. Pengembang yang digunakan adalah Aseton : Asam Format : Toluena (6 : 1 : 6). Isolat yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer infra merah untuk menentukan gugus fungsi ekstrak tanin.

