

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode eksperimental laboratorium. Penentuan nilai SPF pada sampel bunga telang menggunakan metode Mansur. Bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) melalui proses preparasi bahan meliputi pengumpulan, pengeringan, dan penghalusan. Simplisia kering dan halus bunga telang kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 96%. Maserat yang didapat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan diuapkan pada *watterbath* untuk mendapatkan ekstrak kental, lalu di hitung rendemen serta kadar airnya. Ekstrak kental dilakukan proses purifikasi dengan variasi pelarut n-heksan, etil asetat, dan campuran (n-heksan dan etil asetat). Ekstrak terpurifikasi kemudian dipekatkan pada *watterbath* untuk mendapatkan ekstrak kental terpurifikasi yang akan digunakan pada uji KLT dan pembacaan absorbansi. Ekstrak kental terpurifikasi dilakukan pengenceran ke beberapa variasi konsentrasi yaitu 100,200, dan 300ppm lalu dibaca absorbansi menggunakan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 290-320nm dengan interval 5nm. Hasil pembacaan absorbansi kemudian dihitung menggunakan rumus untuk mendapatkan nilai Faktor Perlindungan Matahari (SPF).

## **B. Lokasi Penelitian**

1. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Universitas Ngudi Waluyo
2. Determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, UNDIP, guna mengetahui validitas bunga telang (*Clitoria ternatea L.*)
3. Proses ekstraksi dengan metode maserasi dan purifikasi bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) dilakukan di Laboratorium Fitokimia, Program Studi Farmasi, Universitas Ngudi Waluyo.
4. Pengujian dan penentuan nilai SPF dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dilakukan di Laboratorium Instrumen, Program Studi Farmasi, Universitas Ngudi Waluyo.

## **C. Subjek Penelitian**

Subjek yang digunakan di dalam penelitian ini yaitu dengan menggunakan bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) yang didapat dari wilayah Yogyakarta, Kecamatan Bantul, Kabupaten Bantul, Jawa Tengah. Daerah Yogyakarta memiliki iklim dan kontur tanah yang memungkinkan ditanami berbagai macam tanaman, disebabkan letaknya yang berada pada lereng gunung sehingga cocok dalam budidaya bunga telang. Kriteria dalam pemilihan kelopak bunga telang yaitu, bunga yang terlihat sangat segar dan sudah mekar sempurna serta tidak terdapat kerusakan atau cacat pada kelopak bunga, dan pemilihan warna bunga yang benar-benar bagus.

## **D. Variabel Penelitian**

### **1. Variabel bebas**

Variasi pelarut yang digunakan adalah etanol 96% sebagai pelarut maserasi serta purifikasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) yaitu menggunakan pelarut n-heksan (non-polar), etil asetat (semi-polar), pelarut campuran (n-heksan dan etil asetat)

### **2. Variabel terikat**

Variabel terikat yaitu nilai SPF dari masing-masing ekstrak kasar dan ekstrak yang sudah melalui purifikasi.

### **3. Variabel terkendali**

Bunga telang yang terlihat sangat segar dan sudah mekar sempurna. Kondisi bunga telang tidak terdapat kerusakan atau cacat pada kelopak bunga yang diambil dari wilayah Yogyakarta, Kecamatan Bantul, Kabupaten Bantul, Jawa Tengah.

## **E. Pengumpulan Data**

### **1. Pengumpulan Bahan**

Bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) yang dipakai di dalam penelitian ini yaitu bunga telang yang terlihat sangat segar, tidak adanya cacat pada kelopak, serta sudah mekar sempurna yang diperoleh dari wilayah Yogyakarta, Kecamatan Bantul, Kabupaten Bantul, Jawa Tengah.

## 2. Determinasi Tumbuhan

Determinasi bunga telang dilaksanakan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematika, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, UNDIP, untuk mengetahui validitas mengenai bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) guna menghindari kesalahan penggunaan sampel penelitian maupun kesalahan lainnya.

## 3. Penyiapan Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini, meliputi alat yang digunakan dalam preparasi sampel, proses ekstraksi sampel, hingga pembacaan nilai absorbansi sampel guna penentuan nilai SPF pada ekstrak bunga telang. Alat yang digunakan meliputi keranjang plastik, blender (turbo), kertas saring, cawan porselen, timbangan digital (flecto F-117), batang pengaduk, corong pisah, corong kaca, toples besar (lion star 15L), gelas ukur, *beaker glass* (pyrex), labu takar (pyrex), erlenmeyer, pipet ukur, pipet volume, pipet tetes, ball pipet, spiritus, kaki tiga, kasa, buret, termometer raksa, sendok tanduk, *rotary evaporator* digital (RE-100 Pro), *Moisture Balance*, Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu UV Mini 1240). Sedangkan pada proses KLT alat yang digunakan yaitu chamber, pipa kapiler, toples kaca, plat KLT GF 254, pensil, penggaris, pinset, dan lampu UV 254.

Bahan-bahan yang dipakai dalam penelitian ini meliputi bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) yang telah melalui proses pengeringan, etanol teknis 96% etanol P.A 96% (Merck®), n-heksan teknis

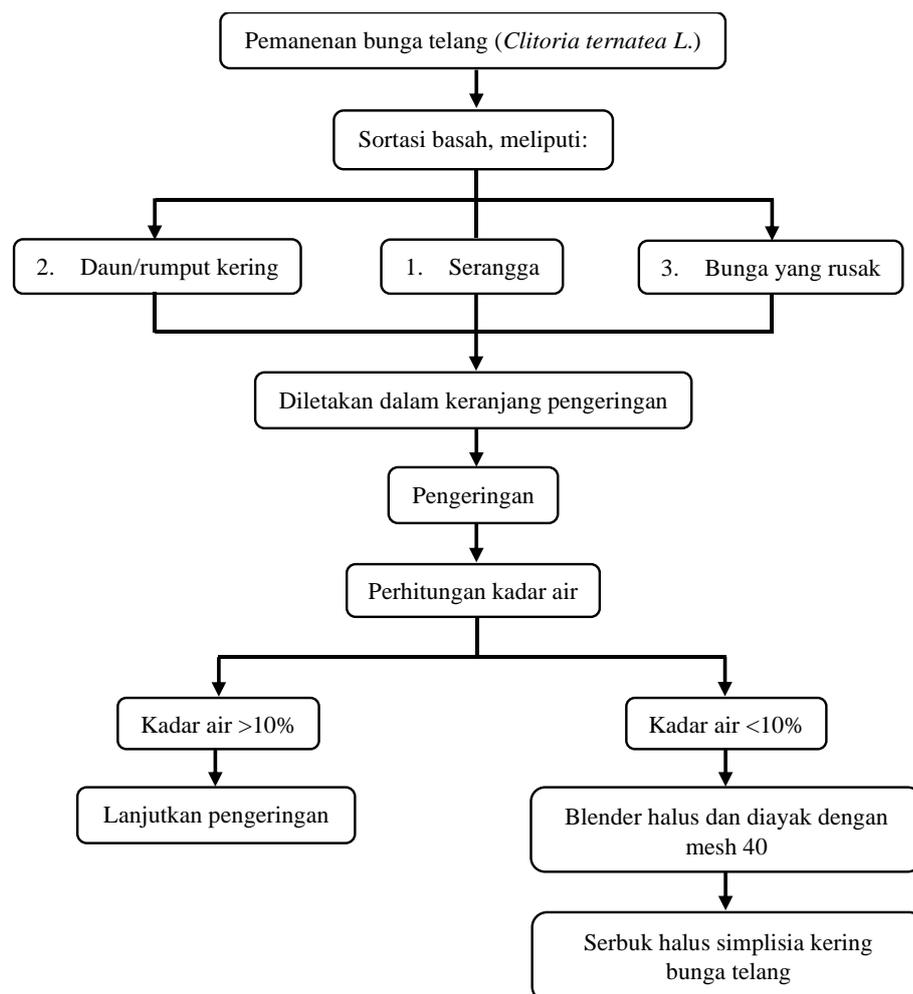
(Smartlab®), etil asetat teknis (Smartlab®), *n*-Butanol, asam asetat, dan aquades.

#### 4. Penyiapan Simplisia

Bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) yang didapatkan, dipilih kelopak bunga yang bagus tanpa ada kerusakan atau cacat dan diletakan dalam keranjang guna dilakukan proses pengeringan. Pada proses awal, tidak dilakukan pencucian, dikarenakan struktur bunga yang rapuh dan mudah rusak jika dicuci dengan menggunakan air (Suganda *et al.*, 2020). Bunga telang yang sudah dipanen, dilakukan sortasi basah untuk menghilangkan pengotor seperti daun atau rumput kering, serangga, maupun kondisi bunga yang rusak. Bunga telang yang sudah melalui sortasi basah, diletakan pada keranjang pengeringan. Proses pengeringan bunga telang, tidak dilakukan dibawah sinar matahari langsung. Melainkan pengeringan dilakukan terhindar dari sinar matahari langsung dan tidak ditutup menggunakan kain hitam, agar pada saat proses pengeringan, sirkulasi udara terus bergerak pada sampel yang dikeringkan serta bisa mempercepat pengeringan. Pengeringan tidak dilakukan di bawah sinar matahari karena ada senyawa khususnya antosianin dan senyawa lainnya yang tidak tahan terhadap adanya panas, sehingga akan menghilangkan bahkan merusak senyawa tersebut jika dilakukan dibawah panas sinar matahari (Jamil, 2018).

Proses pengeringan bahan dilakukan paling lama 1 minggu (Suganda *et al.*, 2020). Setelah bahan kering, kemudian dilakukan

sortasi kering, guna memisahkan kotoran atau bahan lainnya yang tidak diinginkan pada sampel kering. Setelah dilakukan sortasi kering, lalu simplisia kering bunga telang dihaluskan dengan cara diblender kemudian disaring dengan menggunakan ayakan mesh 40. Hal ini dilakukan agar saat proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut, proses ekstraksinya bisa dilakukan dengan cepat (Suganda *et al.*, 2020).



Gambar 3.1. Bagan Alur Kerja Penyiapan Sampel

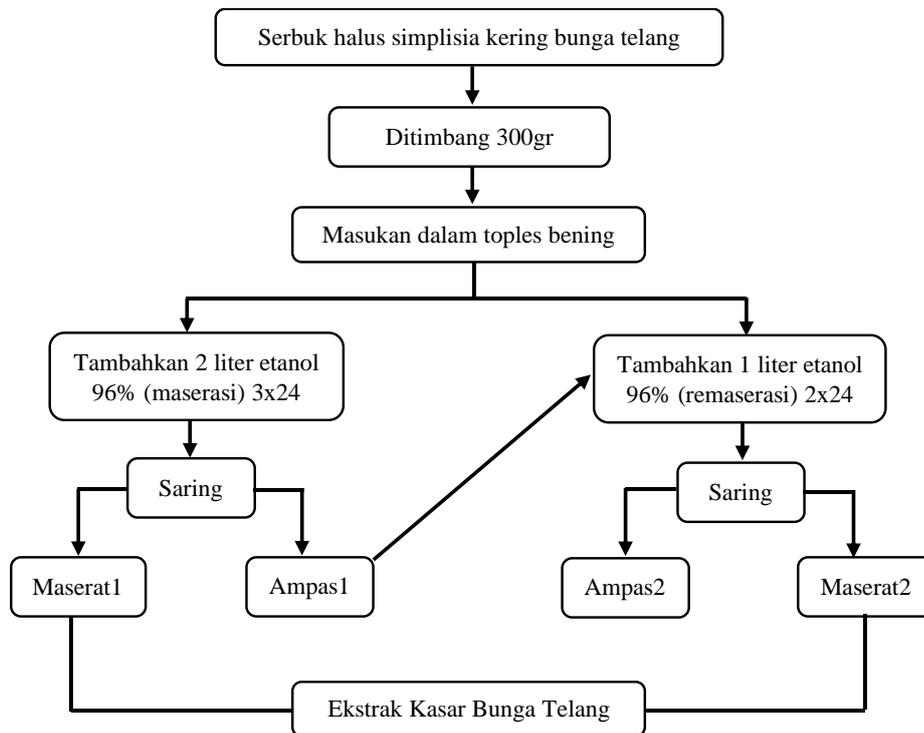
## 5. Pembuatan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*)

Proses ekstraksi terhadap bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Pada proses maserasi, pelarut yang dipakai untuk melakukan maserasi yaitu Etanol dengan konsentrasi 96%. Alasan pemilihan pelarut ini dikarenakan mudah didapatkan, mampu menarik senyawa yang bersifat polar dan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Yuswi, 2017), hasil rendemen yang dihasilkan etanol 96% jauh lebih tinggi dibandingkan pelarut lainnya. Perbandingan antara simplisia dan pelarut yang digunakan yaitu 1:10, yang mana sebanyak 300 gr simplisia kering bunga telang dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak tiga liter (3000 ml). Proses maserasi pertama dilakukan dengan dua liter (2000 ml) pelarut etanol 96%, kemudian sisanya satu liter (1000 ml) akan digunakan sebagai pelarut remaserasi. Alasan dalam perhitungan perbandingan pelarut terhadap simplisia tersebut, semakin banyak pelarut yang digunakan, maka semakin banyak senyawa yang dapat diekstrak (Yudharini *et al.*, 2016). Proses ekstraksi dilakukan di dalam toples, selama 3x24 jam dan diaduk sekali dalam sehari, dan maserasi ini dilakukan didalam ruangan dan terhindar dari sinar matahari langsung.

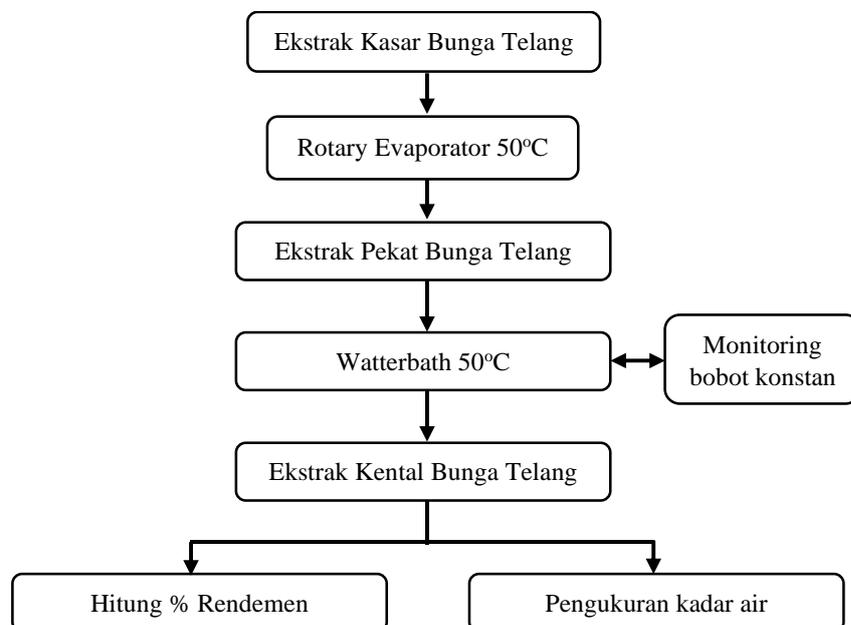
Setelah proses maserasi pertama telah selesai, lalu maserat yang didapat dari maserasi pertama disaring menggunakan kertas saring. Kemudian dilakukan remaserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak satu liter (1000 ml) terhadap ampas yang telah dilakukan proses

maserasi pertama, dan didiamkan selama dua hari sambil dilakukan pengadukan. Setelah selesai proses remaserasi, ekstrak disaring dengan kertas saring, dan ditampung serta digabungkan dengan hasil ekstrak maserasi pertama. Setelah itu, ekstrak hasil dari maserasi tersebut dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C, hal ini dikarenakan ada beberapa kandungan senyawa misalnya antosianin yang labil terhadap suhu yang tinggi. Setelah didapatkan ekstrak pekat dari *rotary evaporator*, ekstrak pekat tersebut kembali diuapkan pada *watterbath* untuk mendapatkan ekstrak kentalnya. Setelah itu ekstrak kental di hitung rendemen total dengan menggunakan rumus berikut:

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



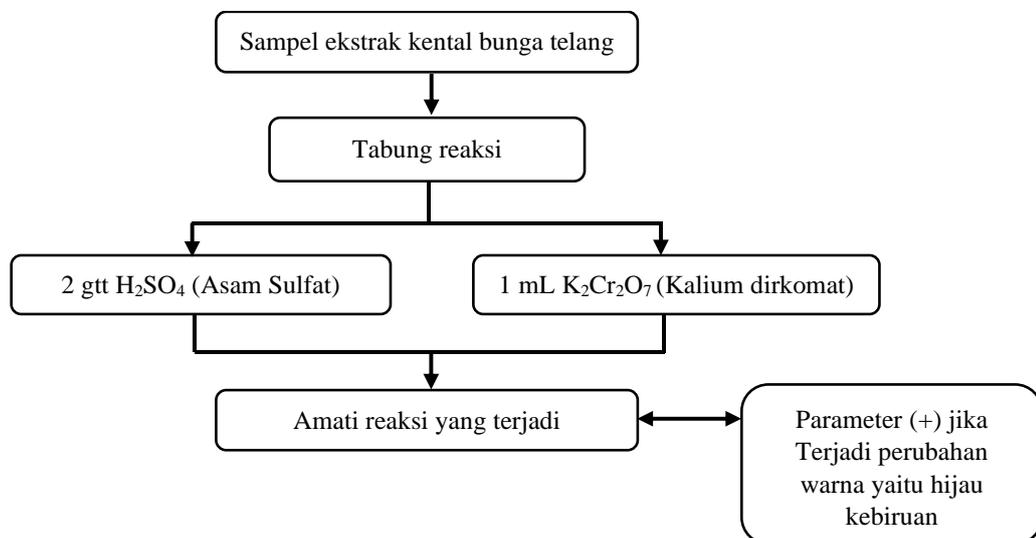
Gambar 3.2. Bagan Alur Kerja Maserasi



Gambar 3.3. Bagan Alur Kerja Penguapan Maserat

## 6. Uji Bebas Etanol

Prinsip dari uji bebas etanol yaitu, untuk memastikan bahwa suatu sampel atau ekstrak benar-benar bersih dari pelarut lain salah satunya etanol. Prosedur uji bebas etanol dilakukan dengan cara, sampel dimasukan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dua tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (Asam Sulfat) pekat serta 1 ml  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  (Kalium Dikromat). Sampel positif mengandung pelarut etanol jika terjadi perubahan warna ke hijau kebiruan (Vifta, 2021).

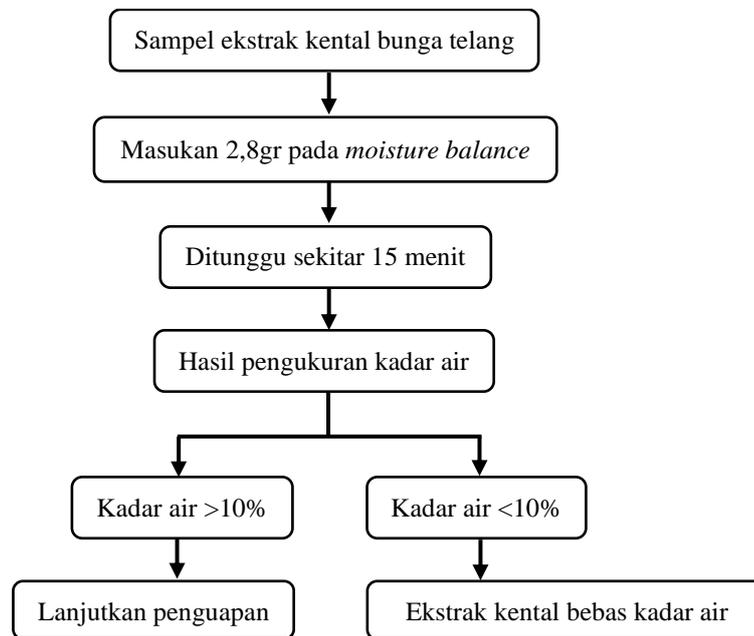


Gambar 3.4. Bagan Alur Kerja Uji Bebas Etanol

## 7. Pengukuran Kadar Air

Prinsip pengukuran kadar air, yaitu untuk tetap menjamin mutu dari simplisia ataupun ekstrak yang digunakan. Alat yang digunakan untuk mengukur kadar air pada ekstrak kental bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) yaitu *Moisture Balance*. Berdasarkan penelitian yang

dilakukan oleh (Utami, 2017), syarat mutu kadar air suatu ekstrak yaitu  $<10\%$ . Hal ini dikarenakan jika kadar air  $>10\%$ , maka akan menjadi tempat bertumbuhnya mikroba yang akan merusak mutu dari ekstrak.



Gambar 3.5. Bagan Alur Kerja Pengukuran Kadar Air

## 8. Pembuatan Ekstrak Terpurifikasi Bunga Telang

Pembuatan ekstrak terpurifikasi menggunakan pelarut n-heksan (non-polar), etil asetat (semi-polar) dan campuran (n-heksan dan etil asetat). Proses purifikasi dilakukan dengan menimbang masing-masing 10 gr ekstrak kental bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) kemudian dilarutkan dengan pelarut polar. Hal ini bertujuan agar memudahkan dalam proses pemisahan ekstrak dengan metode purifikasi.

**a. Pembuatan Ekstrak Terpurifikasi n-heksan.**

Proses pertama dilakukan dengan memasukan 10 gr ekstrak yang telah dilarutkan dengan etanol 96% 100 ml ke dalam corong pisah, kemudian tambahkan dengan n-heksan 100 ml (1:1) dan digojog sampai homogen, hingga terbentuk dua fase, yaitu fase non-polar dibagian atas, dan fase polar dibagian bawah. Alasan melarutkan ekstrak menggunakan etanol 96%, disebabkan bobot jenis air dan n-heksan berbeda, sehingga dapat terjadi pemisahan dua fase. Fase yang dibuang adalah fase n-heksan (non-polar) berada bagian atas dan yang diambil adalah fase polar berada bagian bawah. Purifikasi dilakukan hingga fase n-heksan berwarna bening, yang mana menunjukkan bahwa sudah tidak ada pengotor (Luhurningtyas, 2021). Ekstrak terpurifikasi kemudian diuapkan pada *watterbath* dengan suhu 50°C untuk mendapatkan ekstrak kental terpurifikasi.

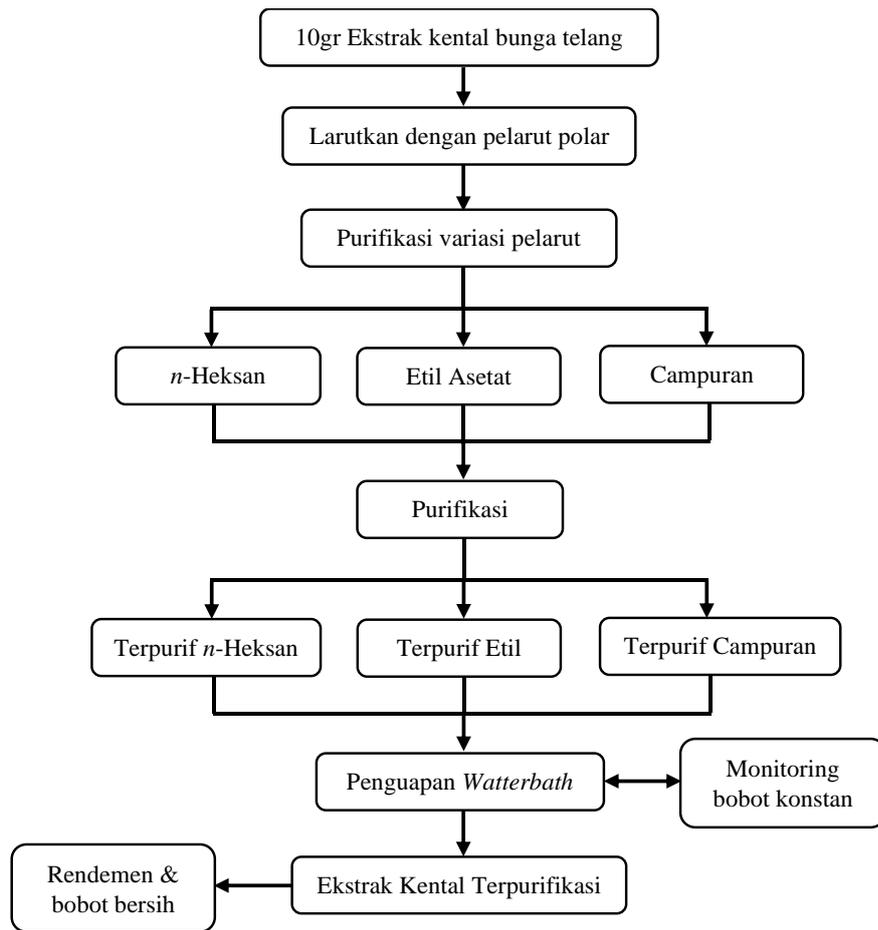
**b. Pembuatan Ekstrak Terpurifikasi Etil Asetat**

Timbang sebanyak 10 gr ekstrak kemudian dilarutkan air panas 50°C 100 ml ke dalam corong pisah, kemudian tambahkan dengan etil asetat 100 ml dan digojog sampai homogen, hingga terbentuk dua fase, yaitu fase semi-polar dibagian atas, dan fase polar dibagian bawah. Alasan melarutkan ekstrak dengan air panas, disebabkan bobot jenis air dan etil asetat itu berbeda sehingga akan terlihat pemisahan 2 fase. Jika melarutkan dengan etanol Fase yang dibuang adalah fase etil asetat (semi-polar) berada bagian atas dan

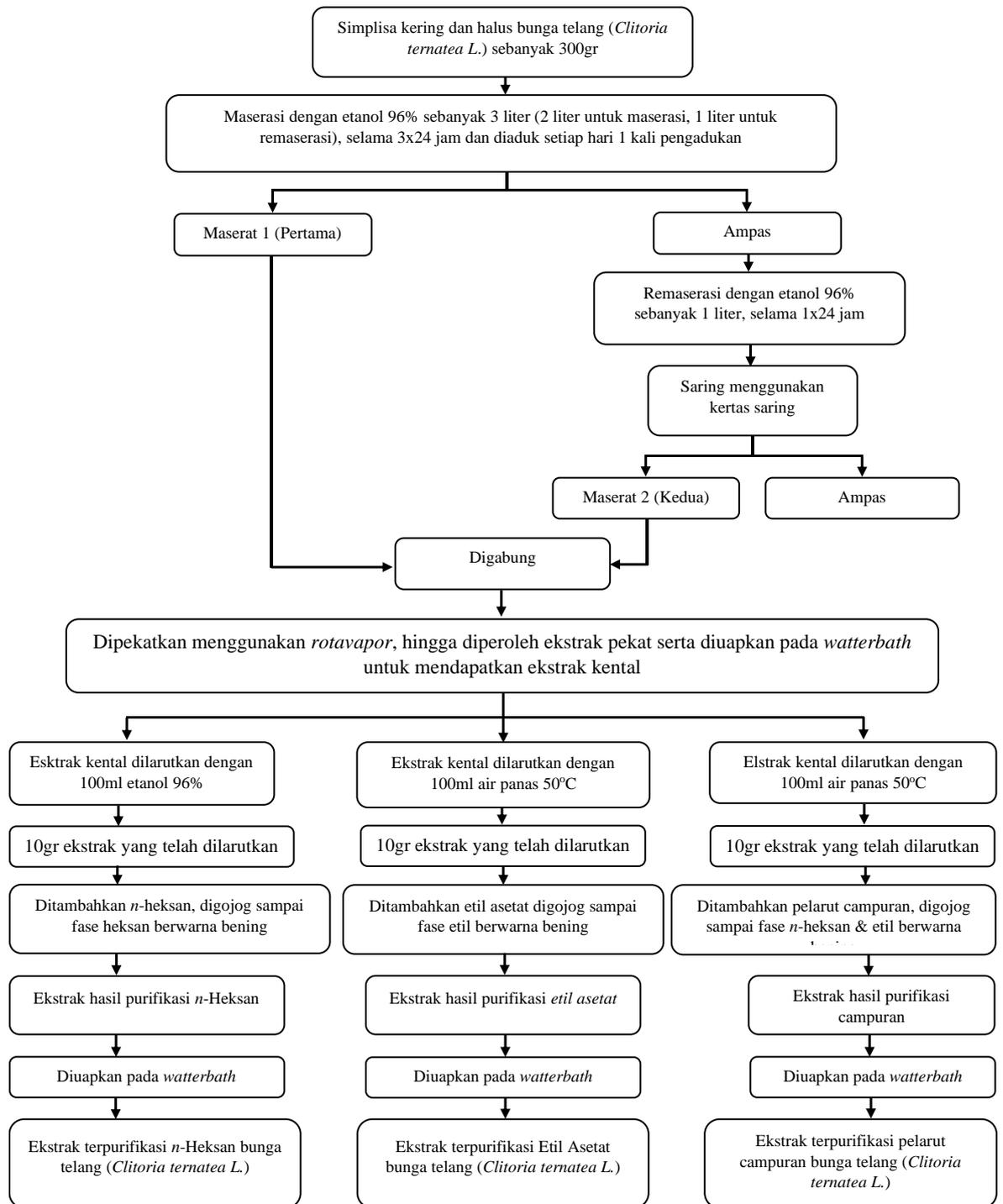
yang diambil adalah fase polar berada bagian bawah. Purifikasi dilakukan hingga fase etil asetat berwarna bening, yang mana menunjukkan bahwa sudah tidak ada pengotor. Ekstrak terpurifikasi kemudian diuapkan pada *watterbath* dengan suhu 50°C untuk mendapatkan ekstrak kental terpurifikasi.

**c. Pembuatan Ekstrak Terpurifikasi Campuran (n-heksan dan etil asetat)**

Dilakukan dengan memasukan 10 gr ekstrak yang telah dilarutkan air panas 50°C 100 ml ke dalam corong pisah, lalu pelarut pertama yang digunakan yaitu n-heksan (1:1) dimasukan secara perlahan lalu digojog add homogen. Proses purifikasi dilakukan sampai n-heksan berwarna bening. Setelah selesai dengan pelarut n-heksan, pelarut kedua yaitu etil asetat (1:1) dimasukan secara perlahan, digojog add homogen. Alasan melarutkan ekstrak dengan air panas, disebabkan bobot jenis air terhadap etil asetat dan n-heksan itu berbeda sehingga akan terlihat pemisahan 2 fase. Proses purifikasi dilakukan sampai etil asetat berwarna bening. Setelah didapatkan ekstrak dari hasil pemisahan dengan menggunakan n-heksan, etil asetat, dan Campuran (n-heksan dan etil asetat). Ekstrak terpurifikasi kemudian diuapkan pada *watterbath* dengan suhu 50°C untuk mendapatkan ekstrak kental terpurifikasi.



Gambar 3.6. Bagan Alur Kerja Purifikasi



Gambar 3.7. Skema Kerja Pembuatan Ekstrak dan Proses Purifikasi Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*)

## 9. KLT (Kromatografi Lapis Tipis)

### a. Persiapan Alat dan Bahan

Persiapan uji KLT dilakukan dengan menyiapkan alat dan bahan. Alat yang digunakan yaitu chamber, pipa kapiler, plat KLT GF 254, pensil, penggaris, dan lampu UV. Sedangkan bahan yang digunakan yaitu ekstrak kasar bunga telang, ekstrak terpurifikasi *n*-heksan, etil asetat, campuran (*n*-heksan dan etil asetat) bunga telang, *n*-butanol, aquades, dan asam asetat.

### b. Persiapan Plat KLT

Persiapan plat KLT diberikan garis menggunakan pensil dan penggaris dengan bagian atas 0,5cm dan bagian bawah 1cm.

### c. Persiapan Ekstrak Kasar Dan Ekstrak Terpurifikasi Bunga Telang

Ekstrak kasar, ekstrak terpurifikasi *n*-heksan, etil asetat, dan campuran sebanyak 50 mg (0,05 gr) masing-masing dilarutkan dengan etanol 96% 2 ml. Setelah larut, sampel siap digunakan untuk ditotolkan pada plat KLT.

### d. Persiapan Fase Gerak

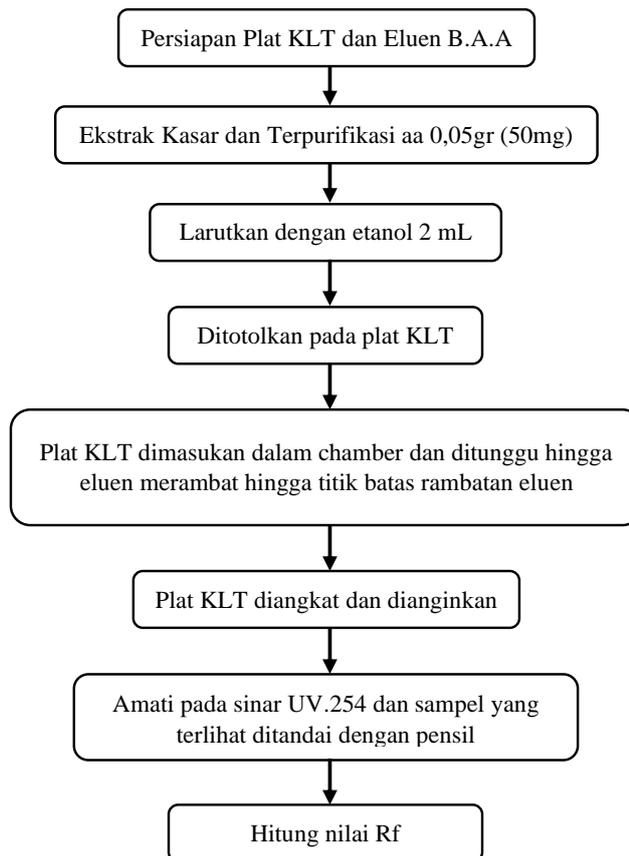
Fase gerak yang digunakan yaitu *n*-butanol, aquades, dan asam asetat (B.A.A), dengan perbandingan 3:1:1. Kebutuhan total eluen yang digunakan 4 ml, dengan rincian kebutuhan *n*-butanol sebanyak 2,4 ml, asam asetat 0,8 ml, dan air 0,8 ml. Fase gerak dibuat dengan cara sebanyak 2,4 ml *n*-butanol dimasukkan dalam

chamber, diikuti aquades 0,8 ml dan asam asetat 0,8 ml. Setelah itu dilakukan penjuhan dengan menggunakan kertas saring sebagai indikator jenuhnya fase gerak.

**e. Uji KLT Ekstrak Kasar Bunga Telang dan Ekstrak Terpurifikasi Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*)**

Plat KLT yang telah diberikan garis pada tepi atas dan tepi bawahnya, kemudian ditotol dengan sampel ekstrak kasar dan ekstrak terpurifikasi yang telah dilarutkan dengan etanol 96% menggunakan pipa kapiler. Penotolan dilakukan secara teliti dan perlahan sampai terbentuk lingkaran kecil, dengan jarak setiap sampel yang ditotolkan tidak terlalu berdekatan, agar menghindari terjadinya kontaminasi antar sampel yang diujikan. Setelah itu, plat KLT yang telah dilakukan penotolan dengan sampel, kemudian diletakan ke dalam chamber yang telah berisikan fase gerak, lalu chamber ditutup, dan diamankan hingga eluen (fase gerak) naik mencapai garis batas atas. Setelah itu, plat KLT diangkat dan dianginkan selama 10 detik sampai kering, kemudian hasil tersebut dilihat dibawah sinar UV 254nm, dan dihitung nilai Rf dari masing-masing sampel dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh sampel}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}}$$



Gambar 3.8. Bagan Alur Kerja KLT

## 10. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Terpurifikasi n-heksan

### 500ppm

Sebanyak 50 mg (0,05 gr) ekstrak terpurifikasi n-heksan dimasukkan kedalam *beaker glass* 100 ml kemudian dilarutkan dengan etanol 96% secukupnya. Setelah larut, lalu dimasukkan dalam labu takar 100 ml dan di add 100 ml dengan etanol 96%, kemudian gojog perlahan hingga homogen.

### **11. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Terpurifikasi Etil Asetat**

#### **500ppm**

Sebanyak 50 mg (0,05 gr) ekstrak terpurifikasi etil asetat dimasukkan kedalam *beaker glass* 100 ml kemudian dilarutkan dengan etanol 96% secukupnya. Setelah larut, lalu dimasukkan dalam labu takar 100 ml dan di add 100 ml dengan etanol 96%, kemudian gojog perlahan hingga homogen.

### **12. Pembuatan Larutan Induk Ekstrak Terpurifikasi n-heksan dan Etil Asetat (campuran) 500 ppm**

Sebanyak 50 mg (0,05 gr) ekstrak terpurifikasi campuran (n-heksan dan etil Asetat) dimasukkan kedalam *beaker glass* 100 ml kemudian dilarutkan dengan etanol 96% secukupnya. Setelah larut, lalu dimasukkan dalam labu takar 100 ml dan di add 100 ml dengan etanol 96%, kemudian gojog perlahan hingga homogen.

### **13. Pembuatan Variasi Larutan Konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm**

Pembuatan larutan dengan variasi konsentrasi tersebut yaitu dengan menggunakan rumus pengenceran larutan yaitu:

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

Pengenceran dari larutan induk 500 ppm menjadi konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, dan 300 ppm, dilakukan dengan mengambil masing-masing larutan induk 500 ppm ekstrak terpurifikasi yang sudah dihitung dengan menggunakan rumus pengenceran ke dalam labu takar 10 ml,

lalu di add 10 ml menggunakan etanol 96%. Sehingga diperoleh larutan 100 ppm, 200 ppm, dan 300 ppm ekstrak terpurifikasi n-heksan, larutan 100 ppm, 200 ppm, dan 300 ppm ekstrak terpurifikasi etil asetat, dan larutan 100 ppm, 200 ppm, dan 300 ppm ekstrak terpurifikasi campuran (n-heksan dan etil asetat).

#### 14. Pembacaan Absorbansi Sampel Menggunakan Spektrofotometri

##### UV-Vis serta Pengujian Nilai SPF

Pembacaan absorbansi sampel larutan konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm ekstrak terpurifikasi dilakukan menggunakan alat Spektrofotometri UV-Vis, dengan larutan blanko etanol 96% murni. Pembacaan absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 290 nm sampai 320 nm dengan interval 5 nm dan dilakukan replikasi 3 kali. Setelah didapatkan hasil pembacaan absorbansi pada sampel, maka dilakukan penentuan nilai SPF dengan melakukan perhitungan dengan menggunakan rumus Mansur sebagai berikut:

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

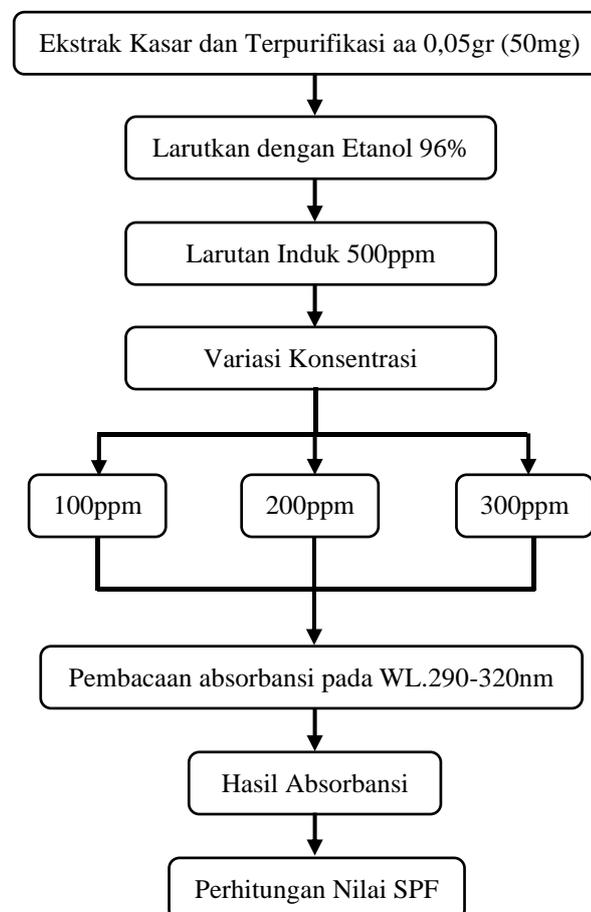
##### Keterangan:

- CF : Faktor Koreksi (ketetapan = 10)  
 EE : Spektrum Efek Eritema  
 I : Spektrum Intensitas Cahaya  
 Abs : Absorbansi Sampel

Nilai  $EE \times I$  adalah konstan dan diperlihatkan pada tabel dibawah ini:

Tabel 3.1 Nilai  $EE \times I$  Dalam Panjang Gelombang 290-320nm  
(Pramiastuti, 2019)

No.	Panjang Gelombang ( $\lambda$ nm)	$EE \times I$
1	290	0.0150
2	295	0.0817
3	300	0.2874
4	305	0.3278
5	310	0.1864
6	315	0.0839
7	320	0.0180
<b>Total</b>		<b>1</b>



Gambar 3.9. Bagan Alur Pembacaan Absorbansi dan Pengujian Nilai SPF

## 15. Analisis Data

Analisis data yang dilakukan pada penentuan nilai SPF ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) dalam penelitian ini, yaitu hasil pembacaan absorbansi sampel pada panjang gelombang 290-320nm dengan interval 5nm dihitung secara manual dengan menggunakan rumus Mansur:

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

Cara perhitungan nilai SPF dengan rumus tersebut yaitu (Pramiastuti, 2019):

1. Nilai hasil pembacaan absorbansi dikalikan dengan nilai EE x I setiap masing-masing panjang gelombang 290, 295, 300, 305, 310, 315, 320.
2. Hasil perkalian dari pembacaan absorbansi dengan panjang gelombang kemudian dijumlahkan
3. Selanjutnya hasil penjumlahan tersebut, dikalikan faktor koreksi (CF) yang ditetapkan nilainya adalah 10, guna mendapatkan hasil nilai SPF.