

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental, penelitian ini dilakukan untuk formulasi gel tabir surya ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dengan variasi konsentrasi ekstrak dan mengukur nilai SPF, %Te, %Tp dengan metode spektrofotometri UV-Vis dan mengevaluasi sifat fisik sediaan gel tabir surya.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta, dari bulan Mei 2023 hingga Juli 2023.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas
Variasi konsentrasi ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.).
2. Variabel terikat
Nilai SPF, %Tp, %Te dan sifat fisik sediaan gel.
3. Variabel terkontrol
Suhu pengeringan ekstrak pada oven, waktu ekstraksi, suhu pengembangan gel, dan kecepatan pengadukan gel.

D. Definisi Operasional

1. Ekstrak daun kersen merupakan ekstrak yang didapatkan dari proses maserasi daun kersen menggunakan pelarut etanol 70%.
2. Uji aktivitas tabir surya merupakan pengujian untuk mengetahui kemampuan sediaan dalam menangkal radiasi sinar UV. Parameter yang digunakan meliputi SPF, %Te dan %Tp.
3. Sifat fisik merupakan parameter yang digunakan untuk menilai kualitas fisik sediaan gel yang mencakup homogenitas, pH, daya lekat, daya sebar, organoleptis dan viskositas.

E. Alat dan Bahan

1. Alat

Neraca analitik (Ohaus PA2202), neraca analitik (Ohaus PX224/E), oven, sonikator (Cole parmer), spektrofotometer UV-Vis (genesys 10S UV-VIS), viskometer Brookfield (DV1 Viscometer), *moisture analyzer* (Ohaus MB90), grinder (Fomac), ayakan 40 mesh, kompor listrik (Maspion S-301), pH meter (Hanna), mortir dan stamper, wajan, bejana, mikropipet (*Eppendorf*), dan peralatan gelas laboratorium lainnya (iwaki).

2. Bahan

Daun kersen, etanol 70% (teknis), HPMC (farmasetis), gliserin (farmasetis), propilen glikol (farmasetis), propil paraben (farmasetis), metil paraben (farmasetis), pereaksi Mayer (p.a), pereaksi Dragendorf (p.a), serbuk Mg (p.a), FeCl₃ (p.a), HCl (p.a), pereaksi Bouchardat (p.a), aluminium foil, blue tip, kertas saring dan akuades.

F. Pelaksanaan Penelitian

1. Determinasi tanaman

Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) dideterminasi di Laboratorium Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Determinasi dilaksanakan untuk menentukan bahwa identitas daun kersen yang dipanen sudah benar dan dapat digunakan untuk penelitian.

2. Penyiapan simplisia

Daun kersen (*Muntingia calabura* L.) diperoleh di daerah persawahan Ambarketawang, Kecamatan Gamping, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta dengan titik koordinat -7.8008120,110.3219450. Daun yang dipilih harus mendatar, tepi bergerigi, helaian daun simetris, ujung daun runcing, dan daun yang diambil terletak pada nomor 3,4,5 dari pucuk dahan tanaman kersen (Sulaiman *et al.*, 2017). Kemudian daun dicuci dengan air mengalir dan disortasi basah untuk membuang sisa-sisa kotoran pada daun, serta diangin-anginkan pada suhu kamar. Selanjutnya daun kersen dikeringkan dengan oven suhu 50⁰C sampai kering. Jika simplisia sudah kering, sortasi kering dilakukan dengan tujuan untuk memilih kualitas daun yang baik (Wahyuni *et al.*, 2014)

(dengan modifikasi). Simplisia kering dihaluskan menggunakan grinder. Selanjutnya, serbuk halus diayak menggunakan ayakan 40 mesh (Puspitasari & Setyowati, 2018).

3. Ekstraksi daun kersen

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi. Sebanyak 1000 g serbuk daun kersen dimasukkan dalam bejana dan ditambahkan 10 L pelarut etanol 70%. Untuk menghindari dari cahaya matahari, maka bejana dan tutup toples dibungkus menggunakan *aluminium foil*. Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam dan diaduk tiga kali sehari selama 5 menit. Setelah tiga hari, filtrat disaring sehingga diperoleh maserat. Kemudian filtrat dipekatkan menggunakan penangas air suhu 45⁰C sampai didapatkan ekstrak yang kental (Puspitasari & Setyowati, 2018) (dengan modifikasi). Selanjutnya rendemen dihitung dari ekstrak kental yang diperoleh dengan menggunakan persamaan 1.

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak kental (gram)}}{\text{bobot simplisia awal (gram)}} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

4. Karakterisasi ekstrak daun kersen

a. Organoleptis

Uji organoleptis meliputi tekstur, bau, dan warna.

b. *Moisture content*

Dimasukkan 1 gram ekstrak dalam cawan aluminium pada *moisture analyzer*, dengan menyebarkannya pada sisi tengah cawan aluminium. Temperatur diatur pada suhu 105⁰C. Saat pengujian selesai dilakukan, maka dicatat nilai kadar air yang terukur (Lachman *et al.*, 1987).

c. Skrining fitokimia

1) Uji alkaloid

Sejumlah 0,5 g ekstrak daun kersen ditambahkan 1 ml HCl 1N dan 9 ml akuades. Selanjutnya, sampel dipanaskan 2 menit, didinginkan dan disaring. Masing-masing filtrat dimasukkan dalam 3 tabung reaksi sebanyak 3 tetes. Kemudian 2 tetes pereaksi dimasukkan dalam masing-masing reaksi : reaksi Mayer (endapan putih kekuningan), reaksi

Bouchardat (endapan coklat kehitaman) dan reaksi Dragendorff (endapan kuning jingga). Apabila 2 dari 3 reaksi menunjukkan hasil positif, maka sampel mempunyai kandungan senyawa alkaloid (Syahara & Siregar, 2019).

2) Uji flavonoid

0,5 g ekstrak etanol daun kersen dilarutkan dengan 1 mL etanol 70%. Sebanyak 0,1 g Mg dan 10 mL HCl 1N dimasukkan. Ekstrak positif mengandung flavonoid jika terbentuk warna merah jingga (Vonna *et al.*, 2021) dengan modifikasi.

3) Uji fenolik

1 g ekstrak dilarutkan dengan 2 ml etanol 70% dalam tabung reaksi. Kemudian sampel direaksikan dengan FeCl_3 10% sebanyak 2 tetes. Ekstrak positif mengandung senyawa fenolik apabila terbentuk warna hitam (Ristiani *et al.*, 2019).

4) Uji tannin

0,5 g ekstrak dilarutkan dengan akuades. Selanjutnya 2 ml filtrat ditambahkan 2 tetes FeCl_3 10% dan diamati adanya perubahan warna yang terjadi. Ekstrak positif mengandung senyawa tannin apabila terbentuk warna biru tua atau hitam kehijauan (Vonna *et al.*, 2021).

5) Uji saponin

0,5 g ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi. Setelah itu sampel ditambahkan 10 mL akuades panas, kemudian didinginkan dan digojog 10 detik hingga terdapat busa. Ekstrak positif mengandung senyawa saponin apabila saat ditambahkan 1 tetes HCl 1N, busa tidak hilang (Vonna *et al.*, 2021).

5. Uji aktivitas tabir surya ekstrak daun kersen (SPF, %Te dan %Tp)

Masing-masing konsentrasi ekstrak (0,5%: 0,75% dan 1% b/v) dilarutkan dalam labu takar 100 ml dengan etanol *p.a.* Larutan disonikasi selama 5 menit dan disaring. Kemudian absorbansi ekstrak dibaca pada λ 290-320 nm tiap interval 5 nm untuk SPF, untuk %Te dibaca pada λ 292,5-317,5 nm tiap interval

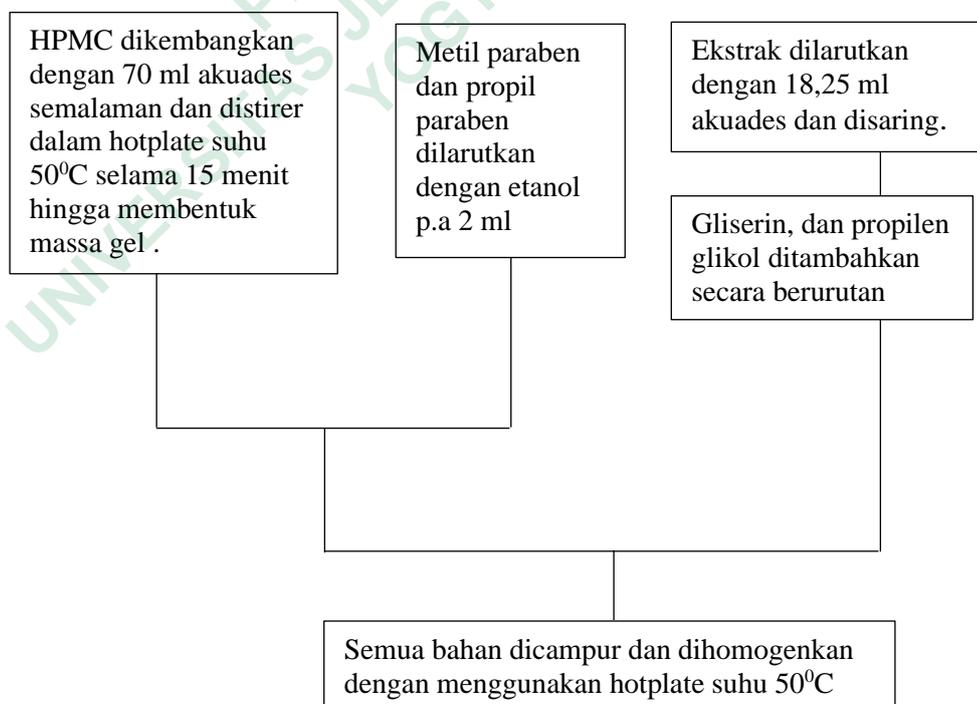
5 nm, dan untuk %Tp dibaca pada λ 322,5-372,5 nm tiap interval 5 nm. Etanol p.a digunakan sebagai blanko (Mulangsri & Puspitasari, 2013).

6. Formulasi gel ekstrak daun kersen

Sediaan gel tabir surya menggunakan tiga variasi konsentrasi ekstrak daun kersen, yang mengacu pada penelitian Mulangsri & Puspitasari (2013), yaitu 0,5%; 0,75%; dan 1%. Formula gel yang digunakan mengacu pada penelitian Puspitasari & Setyowati (2018), yang dapat dilihat pada tabel 4. Prosedur pembuatan gel dapat dilihat pada gambar 8.

Tabel 4. Formula gel tabir surya ekstrak daun kersen (Puspitasari & Setyowati, 2018)

Bahan	Konsentrasi (%b/v)				Manfaat
	F1	F2	F3	F4	
Ekstrak daun kersen	0,5	0,75	1	-	Zat aktif
HPMC	2	2	2	2	<i>Gelling agent</i>
Propilen glikol	2,5	2,5	2,5	2,5	Humektan
Gliserin	5	5	5	5	Humektan
Propil paraben	0,05	0,05	0,05	0,05	Pengawet
Metil paraben	0,2	0,2	0,2	0,2	Pengawet
Akuades ad	100	100	100	100	Pelarut



Gambar 8. Prosedur pembuatan gel tabir surya ekstrak daun kersen

7. Evaluasi sifat fisik gel ekstrak daun kersen

a. Organoleptis

Evaluasi organoleptis mencakup bau, tekstur dan warna.

b. Homogenitas

Sebanyak 0,1 gram gel dioleskan tipis pada *object glass*. Gel harus homogen serta tidak menunjukkan adanya butiran kasar. Uji dilakukan tiga kali untuk setiap formula (Puspitasari & Setyowati, 2018).

c. Viskositas

Spindle nomor 6 dicelupkan ke dalam sediaan gel dan viskositas diukur dengan viskometer Brookfield. Replikasi dilakukan tiga kali untuk setiap formula. Viskositas gel yang baik yaitu berkisar antara 6000-50000 cP (Hidayanti *et al.*, 2015).

d. pH

Sebanyak 1 gram gel dilarutkan dengan 10 mL akuades. Selanjutnya gel yang larut diukur pH meter. Syarat pH kulit yaitu berkisar 4,5-6,5 (Fahrezi *et al.*, 2021).

e. Daya lekat

Sebanyak 0,25 g gel ditempatkan di tengah *object glass* dan ditutup dengan *object glass* lainnya. Beban 1 kg diberikan di atas *object glass* selama 5 menit. Selanjutnya, beban diangkat dan tuas ditarik sembari *stopwatch* dinyalakan. Waktu pelepasan kedua *object glass* dicatat. Replikasi dilakukan 3 kali untuk setiap formula. Syarat daya lekat sediaan gel yang baik yaitu lebih dari 1 detik (Fahrezi *et al.*, 2021).

f. Daya sebar

Sebanyak 0,5 g gel ditempatkan di atas kaca bundar dan ditutup dengan kaca bundar lainnya. Beban diberikan di atas kaca penutup secara bertahap dengan kelipatan 50 hingga beban mencapai 200 (gram). Setiap beban ditambahkan, gel didiamkan selama 1 menit dan diukur diameternya pada sisi vertikal, horizontal, dan diagonal. Replikasi dilakukan 3 kali untuk setiap formula. Syarat daya sebar gel yang baik berkisar antara 5-7 cm (Fahrezi *et al.*, 2021).

8. Uji aktivitas tabir surya gel ekstrak daun kersen (SPF, %Te dan %Tp)

Sebanyak 500 mg sediaan gel pada masing-masing konsentrasi (0,5%; 0,75% dan 1%) dilarutkan dengan 5 mL etanol p.a. Larutan disonikasi selama 15 menit dan disaring. Selanjutnya, serapan diukur pada λ 290-320 nm untuk SPF. %Te diukur pada λ 292,5-317,5 nm. Untuk %Tp diukur pada λ 322,5-372,5 nm. Etanol p.a digunakan sebagai blanko. Replikasi dilakukan sebanyak tiga kali (Nur & Adriana, 2022).

G. Metode Pengolahan dan Analisis Hasil

1. Perhitungan nilai SPF

Nilai SPF yang didapatkan diolah menggunakan persamaan Mansur yang ditunjukkan pada persamaan 2 (Widyawati *et al.*, 2019). Nilai $EE \times I$ merupakan konstanta dan sudah ditetapkan yang dapat dilihat pada tabel 5.

$$SPF = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times \text{abs}(\lambda) \dots \dots \dots (2)$$

Keterangan :

- CF = Faktor koreksi (10)
 EE = Spektrum Efek Erytemal
 I = Spektrum Intensitas dari matahari
 Abs = Absorbansi dari sampel

Tabel 5. Nilai $EE \times I$ (Yulianti E *et al.*, 2015)

Panjang gelombang (nm)	EE x I
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
Total	1

2. Perhitungan nilai %Te dan %Tp

Nilai %Te dan %Tp yang diperoleh dapat dihitung dengan rumus masing-masing pada persamaan 3 dan 4 (Widyawati *et al.*, 2019). Nilai Fe dan Fp dapat dilihat pada tabel 6 dan 7.

$$\% \text{ transmisi eritema} = \frac{E_e}{\Sigma F_e} = \frac{\Sigma(T \times F_e)}{\Sigma F_e} \dots\dots\dots(3)$$

$$\% \text{ transmisi pigmentasi} = \frac{E_p}{\Sigma F_p} = \frac{\Sigma(T \times F_p)}{\Sigma F_p} \dots\dots\dots(4)$$

Keterangan :

T = nilai transmisi

Fe = fluks eritema pada λ 292,5-317,5 nm

Ee = jumlah fluks eritema yang diteruskan oleh tabir surya

Fp = jumlah fluks pigmentasi yang diteruskan oleh tabir surya

Fp = fluks pigmentasi pada λ 322,5-372,5 nm

Tabel 6. Nilai tetapan fluks eritema (Rahardian *et al.*, 2019)

Panjang gelombang (nm)	Fe
292,5	0,1105
297,5	0,672
302,5	1,0
307,5	0,2008
312,5	0,1364
317,5	0,1125

Tabel 7. Nilai tetapan fluks pigmentasi (Rahardian *et al.*, 2019)

Panjang gelombang (nm)	Fp
322,5	0,1079
327,5	0,102
332,5	0,0936
337,5	0,0798
342,5	0,0669
347,5	0,057
352,5	0,0488
357,5	0,0456
362,5	0,0356
367,5	0,031
372,5	0,026

3. Analisis data statistik

Data nilai pengujian tabir surya (SPF, %Te dan %Tp), dan data sifat fisik (pH, viskositas, daya lekat, dan daya sebar) yang diperoleh diuji homogenitas menggunakan *Levene Test* dan diuji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* karena data kurang dari 50. Data terdistribusi normal dan homogen, analisis dilanjutkan menggunakan *one way ANOVA* dan diuji post hoc dengan *Least Signofikan Difference (LSD)*. Data tidak terdistribusi normal atau tidak homogen, dilakukan uji non parametrik yaitu *Kruskal-Wallis*. Lalu diuji post hoc dengan *Pairwise comparisons*.

Untuk melihat perbedaan antara ekstrak daun kersen dengan sediaan gel ekstrak daun kersen, maka dilakukan uji T independent. Uji T independent dilakukan apabila data normal dan homogen. Sementara, data tidak normal atau tidak homogen dilakukan uji non parametrik yaitu *Mann-Whitney U*.