

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Jenis desain penelitian yang digunakan merupakan desain eksperimental berupa optimasi humektan gliserin dan propilen glikol pada formula gel tabir surya ekstrak biji kopi robusta dengan metode *Simplex Lattice Design*.

#### **B. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi, Prodi Farmasi (S1), Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani, Yogyakarta. Waktu penelitian dari bulan April 2025 sampai Juni 2025.

#### **C. Sampel Penelitian**

Sampel dari penelitian ini adalah biji dari tanaman kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) yang diperoleh dari budidaya petani kopi Simon Gayeng di Dusun Tompak, Kelurahan Genting, Kecamatan Jambu, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah dengan ketinggian 950 mdpl di lereng Gunung Ungaran.

#### **D. Variabel penelitian**

1. Variabel Bebas  
Variabel bebas meliputi perbandingan komposisi humektan gliserin dan propilen glikol.
2. Variabel Terikat  
Variabel terikat meliputi pH, daya sebar, daya lekat dan viskositas.

### 3. Variabel Terkendali

Variabel terkendali mencakup suhu *roasting* biji kopi robusta, pelarut maserasi, waktu maserasi, suhu penguapan ekstrak, lama pengadukan maserasi, suhu pemanasan karbopol 940 dan kecepatan *magnetic stirrer* yang digunakan saat pembuatan gel.

## E. Definisi Operasional

1. Ekstrak biji kopi robusta didapatkan melalui proses maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.
2. Gel tabir surya ekstrak biji kopi robusta merupakan sediaan gel yang diperoleh dari kombinasi humektan gliserin dan propilen glikol dengan zat aktif ekstrak biji kopi robusta.
3. Sifat fisik gel ekstrak biji kopi robusta yaitu pH, daya sebar, daya lekat dan viskositas.
4. *Simplex Lattice Design* merupakan metode yang digunakan untuk menentukan perbandingan komposisi humektan gliserin dan propilen glikol sehingga menghasilkan formula gel optimum.

## F. Alat dan Bahan

### 1. Alat

Penelitian menggunakan beberapa alat antara lain neraca analitik (Ohaus), spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific Genesys 10S), *moisture analyzer* (Ohaus), sonikator (Cole-Parmer), grinder (Fomac), *hotplate* (IKA® C-MAG HS 7), bejana maserasi, viskometer Brookfield tipe DV-E, kompor listrik (Maspion S-301), wajan, cawan porselin, *stirrer bar*, ayakan 40 mesh, pH-meter (Hanna), *coffe roaster* (Maksindo Lafira) dan alat gelas laboratorium (Iwaki).

## 2. Bahan

Penelitian menggunakan beberapa bahan antara lain biji kopi robusta, karbopol 940 (farmasetis), trietanolamin (farmasetis), gliserin (farmasetis), propilen glikol (farmasetis), DMDM hydantoin (farmasetis), etanol 96% (teknis), etanol (p.a), pereaksi parry (p.a), FeCl<sub>3</sub> (Merck), amonia (Merck), kertas saring dan akuades.

### G. Pelaksanaan Penelitian

#### 1. Pengambilan bahan

Pemanenan buah kopi robusta dilakukan satu tahun sekali pada tanggal 20 Juli 2024, pukul 06.00-10.00 WIB. Buah kopi berwarna yang merah dipilih lalu disortasi secara basah untuk memisahkan buah dari daun dan ranting. Setelah itu, buah kopi robusta direndam dalam air guna mengelompokkan buah yang rusak dan yang masih utuh. Pada tahap ini, buah kopi yang berlubang, pecah, atau terserang penyakit akan mengapung, sedangkan buah yang utuh dan segar akan tenggelam. Buah yang rusak tidak digunakan dalam tahap berikutnya, sementara buah yang utuh langsung dikeringkan menggunakan sinar matahari selama 2–3 minggu. Proses pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air dalam buah kopi (Martini *et al.*, 2021). Setelah melalui proses pengeringan, buah kopi dikupas untuk memisahkan biji kopi dari kulit buah, kulit tanduk, dan kulit ari. Biji kopi robusta yang telah diperoleh kemudian disortasi kembali secara fisik guna memisahkan biji yang pecah, tidak utuh, atau tidak membelah. Selanjutnya biji kopi disangrai (*roasting*) menggunakan alat *roaster* pada suhu 226°C selama 13 menit hingga biji kopi mencapai kategori medium. Kategori *medium* dipilih karena memberikan nilai IC<sub>50</sub> terbaik dibandingkan dengan kategori *green*, *light* dan *dark* (Putri, 2023).

## 2. Determinasi tanaman

Pada penelitian ini dilakukan proses determinasi pada tanaman dan buah kopi robusta untuk memastikan taksonomi dari biji kopi robusta yang diperoleh dari tempat budidaya di daerah Semarang. Proses determinasi dilakukan di Laboratorium Pembelajaran Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta. Tujuan dari determinasi adalah mengidentifikasi tanaman yang diteliti serta menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama penelitian (Klau & Hesturini, 2021).

## 3. Penyiapan sampel

### a. Pengolahan sampel

Biji kopi robusta yang telah melalui proses penyangraian (*roasting*) kemudian diserbuk menggunakan grinder dan disaring dengan ayakan mesh 40 hingga diperoleh serbuk simplisia bertekstur agak kasar (Ummah, 2019). Penghalusan simplisia bertujuan untuk memperluas permukaan pelarut sehingga proses penarikan senyawa dari simplisia lebih efektif (Ardyanti *et al.*, 2020). Selanjutnya serbuk simplisia disimpan pada toples kaca dan ditutup rapat untuk menjaga kualitasnya (Abriyani *et al.*, 2023).

### b. Ekstraksi biji kopi robusta

Ekstraksi dengan metode maserasi dipilih karena cara penyariannya yang sederhana serta mampu menjaga kestabilan senyawa aktif dari kerusakan akibat paparan suhu tinggi (Wendersteyt *et al.*, 2021). Proses maserasi dilakukan dengan merendam 500 g serbuk biji kopi robusta dalam 5 L etanol 96% (perbandingan 1:10) yang diaduk setiap 6 jam selama 5 menit dan disimpan selama 72 jam di tempat yang terlindung dari cahaya. Tujuan dari pengadukan secara berkala adalah mencegah terjadinya penjenuhan sehingga proses ekstraksi lebih sempurna (Prasetya *et al.*, 2020). Selanjutnya ampas dan filtrat dipisahkan melalui proses penyaringan sebanyak 2 kali menggunakan kain mori dan kertas saring. Selama 48 jam, ampas tersebut diremaserasi

menggunakan 2,5 L etanol 96% lalu disaring dan dikentalkan diatas kompor listrik menggunakan wajan pada suhu 50°C serta dihitung rendemennya (Ummah, 2019). Rendemen ekstrak dihitung dengan rumus pada Persamaan 2.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak kental (g)}}{\text{bobot serbuk simplisia (g)}} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

#### 4. Karakterisasi ekstrak etanol biji kopi robusta

##### a. Uji organoleptik

Ekstrak biji kopi robusta diuji secara fisik untuk mengetahui bau, warna dan teksturnya (Utami *et al.*, 2019).

##### b. Penetapan *moisture content*

Diambil sebanyak 3 g ekstrak biji kopi robusta diratakan ke dalam *moisture analyzer*. Hasil pengukuran kadar air yang diperoleh dicatat dimana syarat kadar air yang baik adalah <10% (Sasongko *et al.*, 2024).

##### c. Skrining fitokimia

Uji skrining fitokimia secara kualitatif dilakukan untuk memastikan bahwa ekstrak biji kopi robusta positif mengandung kafein dan fenolik. Senyawa dalam biji kopi yang termasuk ke dalam golongan fenolik adalah asam klorogenat.

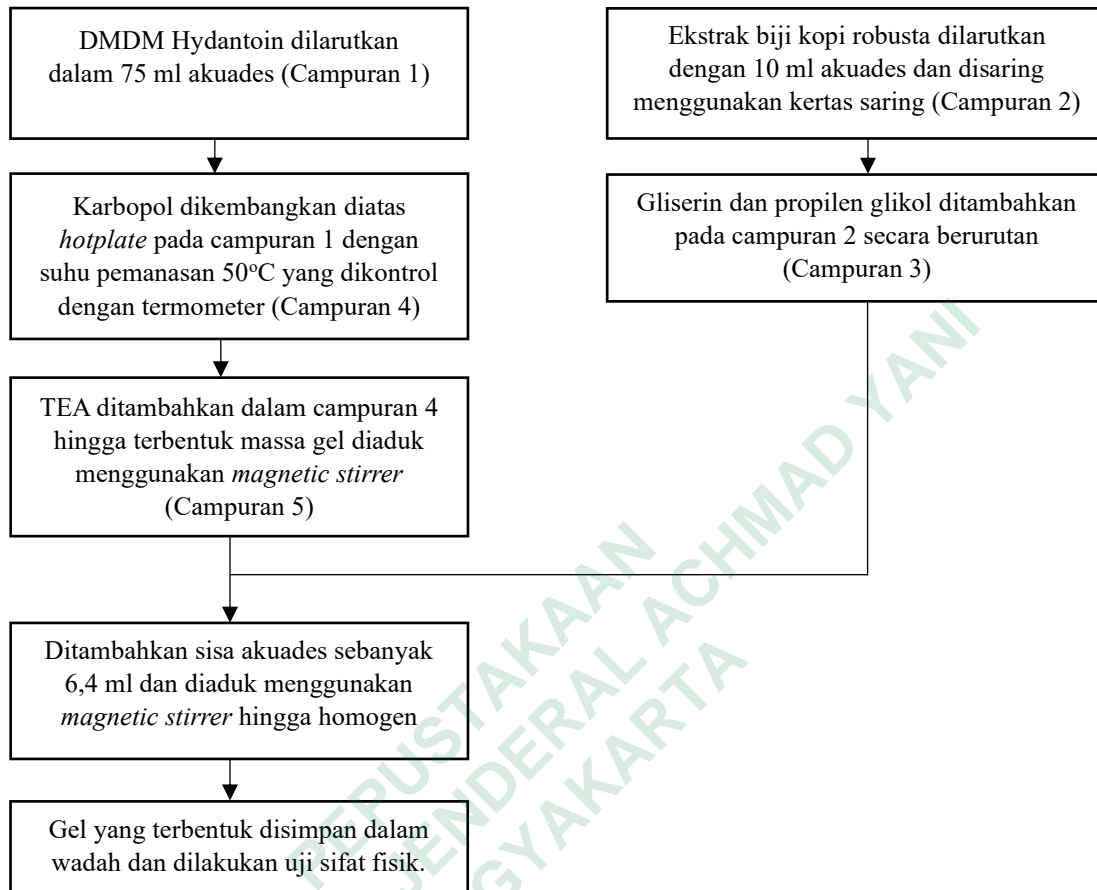
##### 1) Uji kandungan fenolik

Sebanyak 0,5 gram ekstrak etanol biji kopi robusta ditimbang, lalu ditambahkan 2 mL etanol 96%. Setelah itu, larutan ditetesi 3 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 1%. Perubahan warna menjadi biru, merah, atau hijau mengindikasikan adanya senyawa fenolik (Widiawati & Qodri, 2023).

##### 2) Uji kandungan kafein

Sebanyak 0,5 gram dan 2 ml etanol 96% dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 tetes amonia 21% dan 2 tetes reagen





**Gambar 10.** Cara pembuatan gel tabir surya ekstrak biji kopi robusta

6. Karakterisasi gel tabir surya ekstrak biji kopi robusta

a. Uji organoleptik

Gel diamati untuk menilai tekstur, warna dan aromanya dengan bantuan panca indra (Salenda *et al.*, 2018).

b. Uji homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan mengoleskan 0,1 gram gel ekstrak biji kopi robusta pada kaca objek, lalu ditutup menggunakan kaca objek lain. Pengamatan dilakukan untuk menilai apakah sediaan tersebar secara merata dan menunjukkan homogenitas (Salenda *et al.*, 2018).

c. Uji pH

Sebanyak 0,5 g sediaan gel ekstrak biji kopi robusta dilarutkan ke dalam 50 ml akuades kemudian diaduk sampai merata. Selanjutnya dicelupkan pH meter ke dalam larutan dan catat hasil yang ditunjukkan. Syarat pH kulit yang baik adalah 4,5-6,5 (Salenda *et al.*, 2018).

d. Uji daya lekat

Sebanyak 0,1 g sediaan gel ekstrak biji kopi robusta diletakkan di atas *object glass*. Kemudian sediaan ditimpa beban 1 kg selama 5 menit diatas *object glass* lainnya. Selanjutnya dilepaskan beban 80 g hingga kedua *object glass* terlepas dan dicatat hasilnya. Daya lekat yang baik untuk sediaan gel adalah >1 detik (Irianto *et al.*, 2020).

e. Uji daya sebar

Kaca transparan diletakkan di atas kertas milimeter blok, kemudian sebanyak 0,5 gram gel ditempatkan di atasnya dan ditutup dengan kaca transparan lain. Setelah didiamkan selama 60 detik, diameter penyebaran gel diukur pada tiga arah; vertikal, horizontal, dan diagonal. Selanjutnya, beban sebesar 50, 100, dan 150 gram ditambahkan secara bertahap di atas kaca hingga mencapai ukuran yang konstan (Tsabitah *et al.*, 2020). Daya sebar yang memenuhi syarat yaitu 5-7 cm (Irianto *et al.*, 2020).

f. Uji viskositas

Uji viskositas dilakukan dengan sediaan gel dicelupkan ke dalam alat viskometer Brookfield sampai batas tertentu pada kecepatan 50 rpm dan *spindle* nomor 6 (Ririn *et al.*, 2016). Formula gel yang baik memiliki nilai viskositas antara 2.000-50.000 cPs (Rusli *et al.*, 2023).

7. Penentuan formula optimum

Respon nilai pH, daya lekat, daya sebar dan viskositas yang signifikan dianalisis menggunakan *software Design Expert* versi 13 untuk memperkirakan formula optimum dari setiap respon yang didapatkan. Kombinasi optimal dari

gliserin dan propilen glikol pada sediaan gel ditentukan dari nilai *desirability* yang paling besar. *Nilai desirability* yang mendekati angka 1 menunjukkan bahwa semakin besar kemampuan program dalam menghasilkan produk yang dikehendaki semakin baik (Ramadhani *et al.*, 2017).

#### 8. Uji nilai SPF pada formula optimum

Setelah formula optimum gel ekstrak biji kopi robusta ditemukan, dilakukan uji *in vitro* menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk membandingkan nilai SPF pada gel optimum ekstrak biji kopi robusta dengan nilai SPF pada gel optimum tanpa ekstrak biji kopi robusta.

##### a. Penyiapan sampel

Larutan dengan konsentrasi 50.000 ppm dibuat dengan melarutkan 0,5 gram gel optimum ke dalam etanol p.a hingga mencapai volume 10 mL. Penyiapan sampel dilakukan sebanyak 3 kali pada gel optimum ekstrak biji kopi robusta dan gel optimum tanpa ekstrak biji kopi robusta. Perhitungan terkait penyiapan sampel dapat dilihat pada Lampiran 1.

##### b. Pengukuran absorbansi

Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan blanko etanol p.a dan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 290-320 nm dengan interval 5 nm. Hasil absorbansi yang didapat dicatat dan nilai SPF dihitung (Himawan *et al.*, 2018).

## H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

### 1. Verifikasi formula optimum

Verifikasi formula optimum dilakukan melalui *one sample t-test* dengan membandingkan hasil pengujian nilai pH, daya sebar, daya lekat, dan viskositas formula optimum dengan nilai prediksi yang dihasilkan oleh *software Design Expert* versi 13. Pengujian ini bertujuan untuk mengevaluasi apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara hasil observasi aktual dan nilai prediktif dari

perangkat lunak, sehingga dapat digunakan untuk menilai tingkat akurasi model dalam memprediksi karakteristik fisik formula gel.

## 2. Perhitungan nilai SPF

Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian dihitung menggunakan rumus Mansur yang dikutip oleh Dutra *et al.*, (2004) dengan mengalikan nilai absorbansi pada setiap panjang gelombang dengan faktor  $EE \times I$  sebagaimana tercantum dalam Tabel 4. Selanjutnya, hasil perkalian tersebut dijumlahkan dan dikalikan dengan faktor koreksi sebesar 10. Perhitungan nilai SPF dilakukan sesuai dengan Persamaan 3.

$$SPF = CF \times \sum_{320}^{290} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda) \dots\dots\dots (3)$$

Keterangan:

- Abs ( $\lambda$ ) : absorbansi sampel  
 EE ( $\lambda$ ) : efek eritema  
 I ( $\lambda$ ) : spektrum intensitas solar  
 CF : faktor koreksi = 10

**Tabel 4. Interval nilai EE x I**

<b>Panjang Gelombang</b>	<b>EE x I</b>
290	0,015
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,018