

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini menerapkan desain eksperimental, berupa pembuatan sediaan krim ekstrak daun kersen dengan uji stabilitas sifat fisik dan aktivitas tabir surya krim pada suhu penyimpanan dan waktu penyimpanan yang berbeda.

B. Lokasi Dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi, Program Studi Farmasi (S-1), Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta pada bulan Mei sampai Juli 2025.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Suhu penyimpanan dan waktu penyimpanan krim tabir surya ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.).

2. Variabel terikat

Aktivitas tabir surya krim (SPF, $T_e\%$, dan $T_p\%$) dan sifat fisik krim (viskositas, dan pH).

3. Variabel terkontrol

Suhu pengeringan simplisia, waktu ekstraksi, volume pelarut maserasi, suhu pemanasan ekstrak, suhu pemanasan fase air dan fase minyak, suhu pembuatan krim, kecepatan dan lama waktu pengadukan.

D. Definisi Operasional Penelitian

1. Ekstrak daun kersen yang diperoleh melalui proses maserasi dengan etanol 70%.

2. Krim ekstrak daun kersen disimpan berdasarkan perbedaan suhu dingin ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu ruang ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) dan waktu penyimpanan selama 2 bulan dengan pengamatan setiap 7 hari untuk menilai stabilitas dari fisik krim (viskositas, dan pH) dan aktivitas tabir surya krim (SPF, $T_e\%$, dan $T_p\%$).

E. Alat Dan Bahan

1. Alat

Spektrofotometer UV-Vis (Thermo scientific Genesys 10S), viskometer Brookfield (DV1), pH meter (Thermo Scientific Orion Star A211), *moisture balance* (Ohaus MB90), kompor, *hotplate* (IKA C-MAG HS7), timbangan analitik (Ohaus Pioneer), homogenizer (IKA T25 Turrax), oven, sonikator (GT Sonic R9 Ultrasonic), grinder (Fomac FGD-Z500), ayakan no 40 mesh, alat maserasi, *stopwatch*, batang pengaduk, cawan petri, *object glass*, cawan porselin, kuvet, *magnetic stirrer*, pipet tetes, sendok tanduk, dan alat – alat gelas.

2. Bahan

Daun kersen (*Muntingia calabura* L.), etanol 70% (teknis), akuades, asam stearat (farmasetis), setil alkohol (farmasetis), gliserin (farmasetis), trietanolamin (farmasetis), metil paraben (farmasetis), propil paraben (farmasetis), etanol 96% (p.a), HCl pekat (p.a), magnesium (farmasetis), dan FeCl_3 (p.a).

F. Pelaksanaan Penelitian

1. Determinasi daun kersen

Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan.

2. Penyiapan sampel

Pemanenan dilakukan pada daun yang mendatar, tepi bergerigi, dan ujung daun runcing (urutan ke-3 sampai 5 dari pucuk). Daun kersen tersebut diperoleh dari area persawahan Kelurahan Ambarketawang, Kecamatan

Gamping, Yogyakarta dengan titik koordinat -7.8008120,110.3219450. Daun kersen disortir untuk memilih daun yang sesuai spesifikasi dan memisahkannya dari bagian ranting, bunga. Hasil sortiran dicuci menggunakan air mengalir lalu dikering anginkan. Selanjutnya, dilakukan pengeringan kembali dengan oven di suhu 40°C selama 2 hari (Puspitasari & Kusuma Wardhani, 2018). Sampel daun kering dihaluskan dengan grinder dan disaring menggunakan ayakan 40 mesh sampai bobotnya 500 gram (Sulaiman et al., 2017).

3. Ekstraksi daun kersen

Sebanyak 500 gram serbuk daun kersen dan 5 liter etanol 70% (1:10) dimasukkan ke dalam toples secara berurutan. Toples ditutup dengan kain dan disimpan di tempat gelap yang tidak terpapar sinar matahari. Perendaman ini dilakukan selama 3 hari (3x24 jam) dengan pengadukan setiap 8 jam lalu setelah itu disaring. Ampas ditambahkan cairan penyari lagi sebanyak 2,5 liter etanol 70% dan dilakukan remaserasi selama 1 hari (Kusumawardany et al., 2023). Maserat pertama dan kedua dipekatkan menggunakan penangas air dengan suhu 50°C (Widayanti et al., 2023). Persamaan 1 digunakan untuk menghitung nilai rendemen ekstrak kental.

$$\% \text{rendemen ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak kental}}{\text{bobot serbuk}} \times 100\% \dots \dots \dots (1)$$

4. Karakterisasi ekstrak daun kersen

a. Uji organoleptis

Ekstrak daun kersen dideskripsikan secara kualitatif dengan spesifikasi bau, warna dan tekstur.

b. Uji pH

Satu gram ekstrak etanol daun kersen dilarutkan menggunakan akuades sebanyak 10 ml. Pengukuran pH dilakukan dengan pH meter (Mardiah, 2024).

c. Kadar air

Sebanyak satu gram ekstrak etanol daun kersen ditimbang dan dimasukkan ke dalam cawan *moisture balance*. Alat *moisture balance* dinyalakan pada suhu 105°C. Hasil kadar air dicatat dengan target <10% (Pambudi et al., 2021).

d. Skrining fitokimia

Satu gram ekstrak etanol daun kersen ditimbang, lalu dilarutkan dalam 100 mL etanol untuk membuat larutan stok yang digunakan untuk uji fitokimia.

1) Flavonoid

Dipanaskan 2 mL larutan stok ekstrak etanol daun kersen selama kurang lebih 5 menit, ditambahkan 0,1 mg serbuk magnesium dan 5 tetes HCl p.a. Kombinasi serbuk magnesium dan HCl p.a. merupakan penyusun pereaksi Shinoda. Perubahan warna larutan menjadi merah jingga hingga merah bata menunjukkan positif mengandung flavonoid (Vonna et al., 2021).

2) Saponin

2 mL larutan stok ekstrak etanol daun kersen dilarutkan dalam air panas dan didinginkan hingga suhu ruang. Selanjutnya, tabung digojog kuat. Apabila membentuk buih dan saat dimasukkan 2 tetes HCl 1% buih tidak hilang, maka ekstrak positif mengandung saponin (Widjaya et al., 2019)

3) Fenol

Ditambahkan 3-4 tetes FeCl_3 5% ke dalam 5 mL larutan stok ekstrak etanol daun kersen. Apabila berubah warna menjadi hitam kebiruan hingga hitam pekat, maka ekstrak positif mengandung fenol (Widjaya et al., 2019)

4) Alkaloid

2 mL ekstrak etanol daun kersen dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi yang berbeda. Tabung A ditetesi dengan 1 mL pereaksi Dragendroff, tabung B ditetesi dengan 1 mL pereaksi Wagner, dan

tabung C ditetesi dengan 1-2 tetes pereaksi Mayer. Apabila membentuk endapan kuning jingga pada tabung A, terbentuk endapan coklat pada tabung B, dan terbentuk endapan putih atau kuning pada tabung C. Ekstrak dinyatakan positif mengandung alkaloid jika positif 2 dari 3 pereaksi yang digunakan (Vonna et al., 2021).

5) Steroid

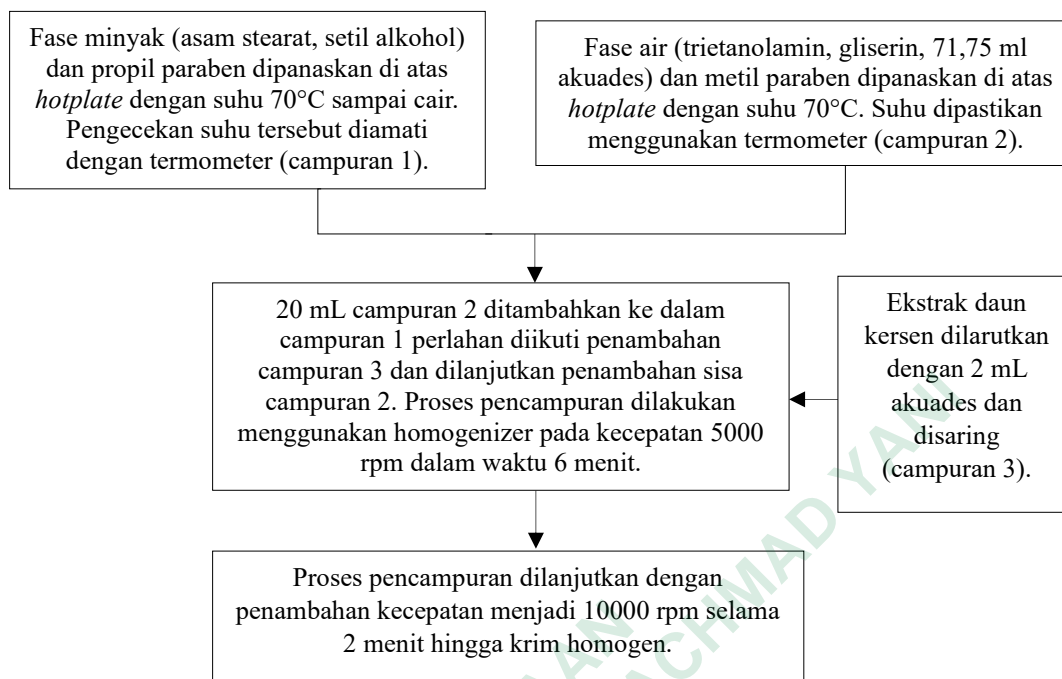
2 mL larutan stok ekstrak etanol daun kersen, ditambahkan dengan kloroform dan beberapa tetes CH_3COOH (asam asetat) anhidrat. Kemudian diteteskkan dengan 1 tetes asam sulfat melalui dinding tabung reaksi. Asam asetat dan asam sulfat merupakan penyusun dari pereaksi Lieberman Burchardat. Apabila terbentuk warna biru atau hijau tua ekstrak dinyatakan positif steroid (Vonna et al., 2021).

5. Formulasi krim ekstrak daun kersen

Mengacu pada penelitian Mardiah (2024), sediaan krim ekstrak etanol daun kersen dengan konsentrasi 1% dipilih karena memiliki sifat fisik yang baik dan nilai tabir surya yang baik dengan nilai SPF sebesar 24,048, %Te sebesar 0,478%, dan %Tp sebesar 2,699%. Untuk dapat mencapai tujuan penelitian, maka dibuat sediaan krim menggunakan formula seperti pada **tabel 4**. Adapun tahapan pembuatan krim mengikuti seperti pada **gambar 9**.

Tabel 4. Formula krim tabir surya ekstrak daun kersen

Bahan	Fungsi	Konsentrasi (%b/b)
Ekstrak	Zat aktif	1
Asam stearat	Emulgator	10
Setil alkohol	Pengental	3
Trietanolamin	Pengontrol pH	2
Gliserin	Humektan	10
Metil paraben	Pengawet	0,2
Propil paraben	Pengawet	0,05
Akuades	pelarut	ad 100



Gambar 9. Prosedur pembuatan krim ekstrak daun kersen

6. Evaluasi sifat fisik krim ekstrak daun kersen

a. Uji organoleptis

Pengamatan krim dideskripsikan secara kualitatif dengan spesifik meliputi bau, warna, dan tekstur.

b. Uji viskositas

Spindel nomor 6 dipasang lalu diatur kecepatan pada 50 rpm. Kemudian spindel dimasukkan ke dalam krim dan viskositas diukur menggunakan viskometer Brookfield. Menurut SNI-16-4399-1996, syarat nilai viskositas yang baik pada sediaan tabir surya yaitu 2.000 – 50.000 cP.

c. Uji pH

Pengukuran pH sediaan dilakukan dengan menggunakan pH meter. Kemudian, elektroda dimasukkan ke dalam sediaan krim yang akan diuji. Syarat nilai pH sediaan tabir surya adalah 4,5- 8,0 menurut SNI-16-4399-1996.

7. Penentuan aktivitas tabir surya krim ekstrak daun kersen

Sediaan ditimbang sebanyak 1,5 g dilarutkan dalam 5 ml etanol p.a., diultrasonifikasi selama 5 menit dan disaring. Pengukuran aktivitas tabir surya dengan spektrofotometer UV-Vis dilakukan terhadap larutan sampel krim. Pengukuran SPF, %Te, dan %Tp dilaksanakan di rentang panjang gelombang spesifik, yaitu 290 – 320 nm untuk SPF, 290 – 315 nm untuk %Te, dan 320 – 375 nm untuk %Tp (Suharsanti et al., 2019).

8. Uji stabilitas

Uji stabilitas sifat fisik dan aktivitas tabir surya krim ekstrak daun kersen dilakukan pada krim yang disimpan pada kondisi penyimpanan berbeda, yaitu:

a. Suhu penyimpanan

Suhu dingin ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$ dalam kulkas), suhu ruang ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$ dengan RH $75\%\pm 5\%$ dalam *climatic chamber*).

b. Waktu penyimpanan

Penyimpanan dilakukan selama 2 bulan. Pengujian dilakukan setiap 7 hari yaitu pada hari ke-0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, dan 56.

G. Metode Pengolahan dan Analisis Data

1. SPF

Hasil absorbansi sampel krim dicatat dan persamaan Mansur pada persamaan 2 digunakan untuk mengolah data yang dikumpulkan. **Tabel 5** menunjukkan nilai konstanta $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ yang telah ditetapkan (Yetti, 2023).

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

Keterangan:

CF = Faktor koreksi bernilai 10

EE = Spektrum efek eritemal

I = Spektrum intensitas matahari

Abs = Absorbansi

Tabel 5. Tetapan nilai EE x I

Panjang Gelombang	EE×I
290	0,015
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,018
Total	1

2. %Te dan %Tp

Hasil absorbansi dicatat lalu persamaan 3 dan 4 digunakan. **Tabel 6** menunjukkan nilai fluks eritema dan menunjukkan nilai fluks pigmentasi (Suharsanti et al., 2019).

$$\% \text{Transmisi Eritema} = \frac{E_e}{\sum Fe} = \frac{\sum(T \times Fe)}{\sum Fe} \dots\dots\dots(3)$$

$$\% \text{Transmisi Pigmentasi} = \frac{E_e}{\sum Fe} = \frac{\sum(T \times FP)}{\sum Fe} \dots\dots\dots(4)$$

Keterangan:

T = Nilai transmisi (antilog absorbansi x 100)

Fe = Fluks eritema pada panjang gelombang 290 - 315 nm

Ee = Jumlah fluks eritema yang dilanjutkan dengan tabir surya

Fp = Fluks pigmentasi pada panjang gelombang 320 - 375 nm

Tabel 6. Nilai fluks eritema dan pigmentasi

Panjang Gelombang	Fluks eritema	Fluks pigmentasi
290 – 295	0,1105	-
295 – 300	0,672	-
300 – 305	1	-
305 – 310	0,2008	-
310 – 315	0,1364	-
315 – 320	0,1125	-
320 – 325	-	0,1079
325 – 330	-	0,102
330 – 335	-	0,0936
335 – 340	-	0,0798
340 – 345	-	0,0669
345 – 350	-	0,057
350 – 355	-	0,0488
355 – 360	-	0,0456
360 – 365	-	0,0356
365 – 370	-	0,031
370 – 375	-	0,026
Total	2,2322	2,9264

3. Analisis data

Data sifat fisik sediaan krim (viskositas, pH,) dan aktivitas tabir surya (SPF, %Te, dan %Tp) dianalisis normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilks* karena jumlah sampel <50 . Homogenitas data diuji dengan uji *Levene*. Apabila data tidak memenuhi asumsi normal atau homogen, uji *Kruskal Wallis* merupakan alternatif yang tepat. Jika didapatkan hasil normal dan homogen, maka uji selanjutnya yang dipilih yaitu uji *one way Anova*. Uji ini dipilih karena akan membandingkan 3 variasi suhu (suhu dingin $4\pm 2^{\circ}\text{C}$, suhu ruang $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, dan suhu tinggi $40\pm 2^{\circ}\text{C}$), dan membandingkan 9 variasi waktu penyimpanan yaitu hari ke-0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, dan 56, pada tiga suhu penyimpanan.