

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian ini bersifat eksperimental berupa formulasi sediaan gel, dan dilakukan analisis aktivitas tabir surya dan sifat fisik gel.

B. Lokasi dan Waktu Kegiatan

Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi, Prodi Farmasi (S-1), Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta. Waktu kegiatan penelitian dilakukan pada bulan Januari-April 2024.

C. Sampel

Sampel daun kenikir diperoleh dari perkebunan desa Sorowajan, kecamatan Banguntapan, kabupaten Bantul, Yogyakarta. Daun kenikir diambil bagian daun tua atau muda secara acak yang masih segar, tidak rusak, tidak berlubang, dan tidak layu.

D. Variabel penelitian

1. Variabel bebas
Konsentrasi ekstrak etanol daun kenikir.
2. Variabel terikat
Nilai SPF, %Te, %Tp, viskositas, pH, diameter sebar, dan waktu lekat.
3. Variabel terkendali
Pemilihan simplisia, suhu pengeringan simplisia, pengadukan pada saat maserasi, dan kecepatan pengadukan saat proses pembuatan gel.

E. Alat dan Bahan

1. Alat
Oven, inkubator, spektrofotometer UV-Vis (Thermo Fisher Scientific), *moisture balance* (Ohaus MB90), viskometer Brookfield (DV1 Viscometer),

sonikator (Cole parmer), grinder (Fomac), neraca analitik (Ohaus PA2202), neraca analitik (Ohaus PX224/E), toples kaca, wajan, bejana, kompor listrik (Maspion S-301), ayakan 40 mesh, spatula kayu, mikropipet (Eppendorf), pH meter (Hanna), stopwatch, penggaris, magnetic stirrer, dan alat-alat gelas lainnya (iwaki).

2. Bahan

Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth), karbopol 940 (farmasetis), propilenglikol (farmasetis), trietanolamin (farmasetis), metil paraben (farmasetis), etanol 70% (teknis), akuades (teknis), H_2SO_4 (*p.a*), $FeCl_3$ (*p.a*), HCl (*p.a*), serbuk magnesium (*p.a*), dan asam asetat anhidrat (*p.a*).

F. Pelaksanaan Penelitian

1. Penyiapan sampel

a. Sortasi simplisia daun kenikir

Sampel daun kenikir dipanen pada pagi hari setelah berusia 8 minggu di daerah perkebunan desa Sorowajan, kecamatan Banguntapan, kabupaten Bantul, Yogyakarta (Revianto, 2016). Daun kenikir diambil pada bagian daun tua atau muda secara acak yang masih segar, tidak rusak, tidak berlubang, dan tidak layu (Wulan, 2018).

b. Pembuatan serbuk daun kenikir

Daun kenikir dicuci dengan air mengalir kemudian dikering-anginkan, Setelah itu daun dikeringkan selama 24 jam dalam oven pada suhu $50^{\circ}C$. Suhu $50^{\circ}C$ digunakan karena daun kenikir mengandung senyawa flavonoid yang tidak tahan terhadap suhu di atas suhu $60^{\circ}C$ (Gloriana, 2021). Kemudian simplisia daun kenikir diperkecil ukurannya dengan grinder dan diayak dengan ayakan nomer 40 mesh (Supriningrum *et al.*, 2018).

c. Ekstraksi daun kenikir

Sebanyak 250 gram serbuk daun kenikir dimaserasi dengan 2,5 Liter pelarut etanol 70% selama 3 hari. Wadah maserasi menggunakan toples

kaca besar yang tertutup rapat dan disimpan di ruangan tertutup (Julianto, 2019). Pengadukan dilakukan sebanyak 2 kali setiap hari secara konstan selama 3 hari perendaman. Setelah 3 hari, hasil ekstraksi disaring menggunakan kain flanel, dan menghasilkan filtrat 1 dan residu 1. Filtrat 1 ditempatkan dalam botol kaca, dan residu 1 diremaserasi dengan 1 liter pelarut etanol 70% selama sehari. Hasil ekstraksi disaring kembali untuk menghasilkan filtrat 2 dan residu 2. Kemudian filtrat 1 dan filtrat 2 digabungkan (Cahyanti, 2018). Lalu filtrat tersebut dipekatkan dalam penangas air dengan bantuan kompor listrik pada suhu 50°C sampai didapatkan ekstrak kental (Gloriana, 2021). Nilai rendemen dapat dihitung dengan rumus pada persamaan 1.

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

2. Karakterisasi ekstrak daun kenikir

a. Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis dilakukan secara visual terhadap warna dan bau.

b. Kadar air

Pengukuran dilakukan menggunakan alat *moisture balance* dengan cara 2gram ekstrak dimasukkan ke dalam instrumen. Sampel dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit. Kemudian ditunggu hingga alat menunjukkan hasil kadar air secara otomatis (Ashari, 2023).

c. Skrining fitokimia

1) Identifikasi flavonoid

Sebanyak 100 mg ekstrak daun kenikir dilarutkan dengan 2 mL air panas dalam tabung reaksi dan disaring. Sebanyak 0,1 gram serbuk magnesium dan 2 tetes HCl 1N ditambahkan dan diaduk hingga homogen. Hasil positif mengandung flavonoid jika terjadi perubahan warna menjadi merah, jingga, atau kuning (Soediono, 2019).

2) Identifikasi fenolik

Sebanyak 2 mL ekstrak daun kenikir dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian 2-3 tetes larutan FeCl_3 5% ditambahkan. Hasil positif mengandung fenolik jika terdapat perubahan warna menjadi hijau pekat, ungu, biru atau hitam (Julianto, 2019).

3) Identifikasi tanin

Sebanyak 100 mg ekstrak daun kenikir dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan 2 ml larutan FeCl_3 1% ditambahkan. Hasil positif mengandung tanin jika terjadi perubahan warna menjadi hitam kebiruan atau hijau tua (Silvani, 2023).

4) Identifikasi saponin

Sebanyak 100 mg ekstrak daun kenikir dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan 10 mL air panas ditambahkan. Kemudian tabung reaksi digojog kuat-kuat selama 1 menit. Bila busa yang terbentuk dengan ketinggian 1-10 cm dan bertahan selama 10 menit dan buih tidak hilang saat larutan HCl 1N ditambahkan, maka ekstrak positif mengandung saponin (Silvani, 2023).

5) Identifikasi terpenoid

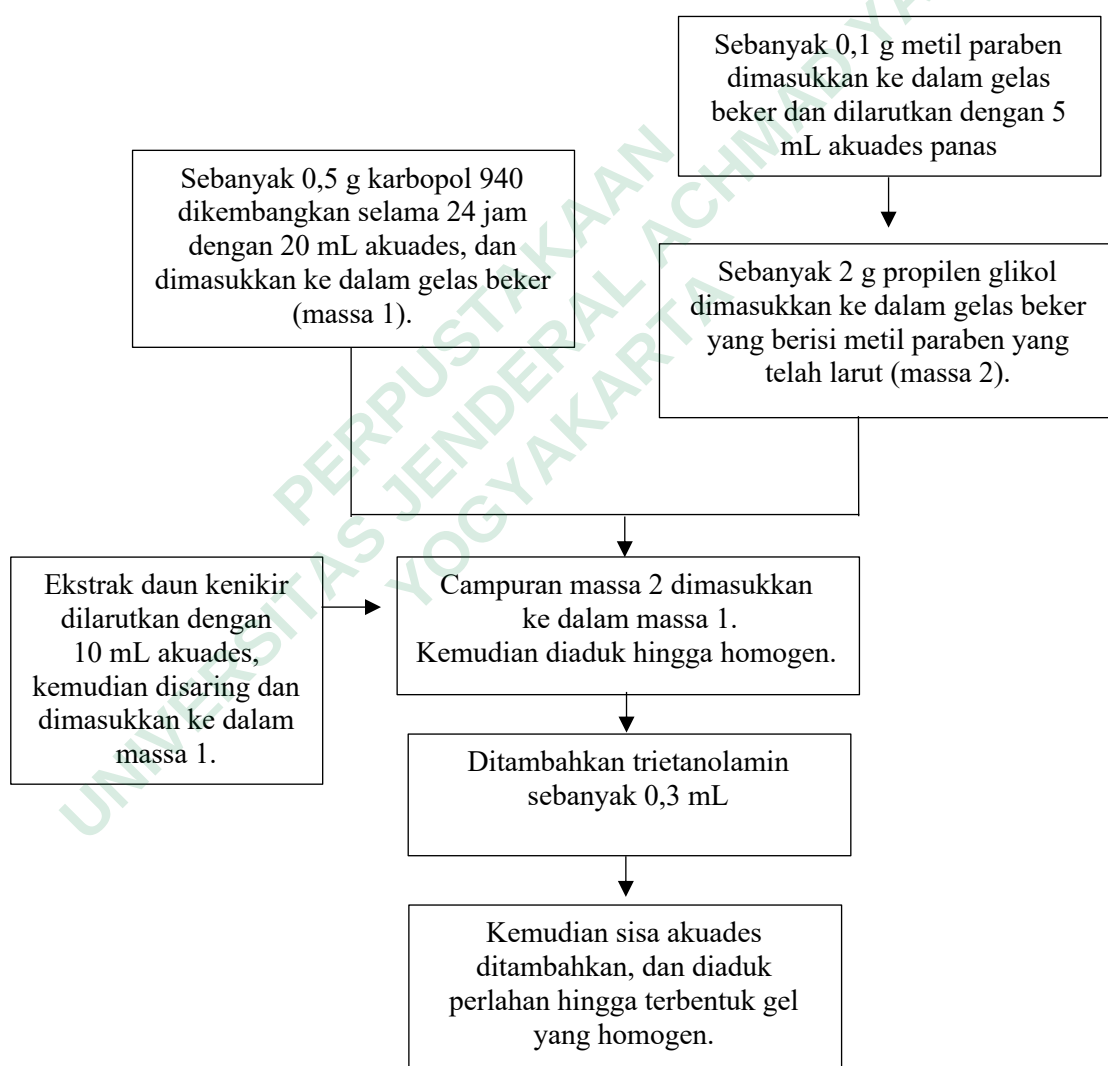
Sebanyak 100 mg ekstrak daun kenikir dilarutkan dengan 0,5 mL kloroform dan 0,5 mL asam asetat anhidrat dalam tabung reaksi. Kemudian 1 tetes H_2SO_4 pekat ditambahkan melalui dinding tabung. Hasil positif terpenoid jika diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet (Silvani, 2023).

3. Formulasi sediaan gel ekstrak daun kenikir dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Formula Gel Ekstrak Etanol Daun Kenikir (Hidayanti, 2015)

Bahan	Fungsi bahan	Konsentrasi (% b/v)			
		F0	F1	F2	F3
Ekstrak daun kenikir	Zat aktif	0	0,3	0,6	0,9
Karbopol 940	<i>Gelling agent</i>	0,5	0,5	0,5	0,5
Propilenglikol	Humektan	2	2	2	2
Metil paraben	Pengawet	0,1	0,1	0,1	0,1
TEA	<i>Alkalizing agent</i>	0,3	0,3	0,3	0,3
Akuades ad	Pelarut	100	100	100	100

Mengacu pada penelitian Mediani (2013), ekstrak etanol 70% daun kenikir memiliki nilai IC_{50} sebesar 0,003 % b/v. Nilai IC_{50} ini berhubungan dengan perlindungan dari radikal bebas yang ditimbulkan oleh paparan sinar matahari. Ekstrak daun kenikir dibuat menjadi 3 variasi konsentrasi yaitu 0,3 %b/v ($100 \times IC_{50}$) ; 0,6 %b/v ($200 \times IC_{50}$) ; 0,9 %b/v ($300 \times IC_{50}$) yang dapat dilihat pada **Tabel 2**. Prosedur pembuatan sediaan gel ekstrak daun kenikir dapat dilihat pada **Gambar 7**.



Gambar 7. Prosedur pembuatan gel ekstrak daun kenikir (Senja, 2018)

4. Evaluasi sifat fisik gel ekstrak etanol daun kenikir

a. Organoleptis

Pengujian organoleptis meliputi bentuk, bau, dan warna (Kuncari & Praptiwi, 2014).

b. Homogenitas

Gel yang akan diuji dioleskan di antara dua kaca objek. Dari sebaran tersebut dapat dilihat apakah gel yang dibuat homogen atau tidak. Homogenitas ditunjukkan dengan tidak adanya butiran kasar (Astuti *et al.*, 2017).

c. Uji pH

Sebanyak 0,5 gram sediaan dilarutkan dalam 10 mL akuades lalu diukur menggunakan pH meter. Syarat pH sediaan tabir surya adalah 4,5-7,5 (Kuncari & Praptiwi, 2014).

d. Uji viskositas

Sediaan gel dituangkan ke dalam *beaker glass* 50 mL. Viskositas diukur dengan viskometer Brookfield yang dilengkapi dengan spindel nomor 7 dengan kecepatan 50 rpm (putaran per menit) (Mursyid, 2017).

e. Uji daya sebar

Sebanyak 0,5 gram sediaan gel diletakkan di tengah kaca bulat. Kaca penutup ditimbang, kemudian diletakkan di atas gel, dan didiamkan selama 1 menit. Kemudian diameter sebar dicatat. Beban tambahan seberat 50 gram ditambahkan, didiamkan selama 1 menit, dan dicatat diameter penyebaran gel. Uji daya sebar diteruskan hingga penambahan beban 250 gram. Daya sebar gel yang baik berkisar antara 5-7 cm (Fahrezi *et al.*, 2021).

f. Uji daya lekat

Sebanyak 0,5 gram sediaan gel ditimbang dan dioleskan pada objek kaca. Objek kaca lain ditempatkan di atas gel dan diberikan beban 1000 g selama 5 menit. Lalu beban diangkat dan tuas ditarik saat stopwatch dinyalakan. Stopwatch dihentikan ketika kedua kaca objek terlepas. Uji

diulang hingga tiga kali untuk setiap formula. Syarat daya lekat sediaan gel yaitu lebih dari 1 detik (Fahrezi *et al.*, 2021).

5. Uji aktivitas tabir surya ekstrak daun kenikir dan gel ekstrak daun kenikir

a. Penyiapan larutan stok ekstrak daun kenikir

Larutan stok ekstrak daun kenikir 0,3 % ; 0,6 % ; 0,9 % dibuat dengan pengambilan ekstrak sebesar 0,3 ; 0,6 ; 0,9 gram dan dilarutkan dalam 100 mL etanol *p.a* (Bahar, 2021).

b. Penyiapan larutan sampel dari gel daun kenikir

Sebanyak 100 mg gel ekstrak (0,3 % b/v ; 0,6 % b/v ; 0,9 % b/v) diencerkan dengan etanol *p.a* hingga tanda batas labu takar 100 ml. Larutan diultrasonikasi selama 5 menit, kemudian disaring menggunakan kertas saring, sehingga larutan sampel didapatkan (Wulandari, 2017).

c. Penentuan nilai SPF, %Te, dan %Tp

Sampel (larutan ekstrak dan larutan gel ekstrak) diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 290 - 320 nm (SPF) ; 292,5 - 337,5 nm (%Te) ; dan 332,5 - 372,5 nm (%Tp) setiap interval 5 nm. Etanol *p.a* digunakan sebagai blanko (Widyawati, 2019).

G. Metode Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan data aktivitas tabir surya

1) Uji SPF

Nilai SPF dihitung menggunakan rumus Mansur pada persamaan 2.

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

Keterangan :

CF = Faktor koreksi yang sudah mempunyai nilai tetap yaitu 10

EE = Spektrum efek erythematous

I = Intensitas spektrum sinar

Abs = Absorbansi (nilai serapan produk tabir surya)

EE x I adalah nilai konstan pada rumus Mansur yang ditunjukkan pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Nilai EE X I (Widyawati, 2019).

Panjang Gelombang (nm)	EE X I
290	0,015
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180

Setelah dihitung nilai SPF, kemudian kekuatan SPF dikategorikan ke dalam **Tabel 4**.

Tabel 4. Kategori Nilai SPF (FDA, 2013).

Nilai SPF	Tipe Proteksi
1-4	Minimal
4-6	Sedang
6-8	Ekstra
8-15	Maksimal
> 15	Ultra

2) Uji %Te dan %Tp

Nilai %Te dan %Tp dihitung dengan rumus pada persamaan 3 dan 4.

$$\%Te = \frac{Ee}{\Sigma Fe} = \frac{\Sigma (T \times Fe)}{\Sigma Fe} \dots\dots\dots(3)$$

$$\%Tp = \frac{Ep}{\Sigma Fp} = \frac{\Sigma (T \times Fp)}{\Sigma Fp} \dots\dots\dots(4)$$

Keterangan :

T = Nilai transmisi

Fe = Faktor keefektifan eritema

Fp = Faktor keefektifan pigmentasi

Ee = Banyaknya energi eritema yang diteruskan pada panjang gelombang 292,5 - 337,5 nm

Ep = Banyaknya energi eritema yang diteruskan pada panjang gelombang 332,5 - 372,5 nm

ΣFe = Jumlah total energi sinar UV yang menyebabkan eritema

ΣF_p = Jumlah total energi sinar UV yang menyebabkan pigmentasi

Nilai tetapan F_e dan F_p dapat dilihat pada **Tabel 5** dan **Tabel 6**.

Tabel 5. Faktor Efektifitas Eritema (Khery, 2023)

Panjang Gelombang (nm)	Fluks Eritema ($\mu\text{Watt}/\text{cm}^2$)
292,5	0,1105
297,5	0,6720
302,5	1,000
307,5	0,2008
312,5	0,1364
317,5	0,1125

Tabel 6. Faktor Efektifitas Pigmentasi (Khery, 2023)

Panjang Gelombang (nm)	Fluks Pigmentasi ($\mu\text{Watt}/\text{cm}^2$)
322,5	0,1079
327,5	0,1020
332,5	0,0936
337,5	0,0798
342,5	0,0669
347,5	0,0570
352,5	0,0448
357,5	0,0456
362,5	0,0356
367,5	0,0310
372,5	0,0260

Setelah dihitung dengan persamaan 3 dan 4, nilai $\%T_e$ dan $\%T_p$ dikategorikan ke dalam **Tabel 7**.

Tabel 7. Kategori Tabir Surya Berdasarkan Nilai Transmisi (Ristiani, 2019)

Kategori	% Transmisi	
	Eritema	Pigmentasi
<i>Sunblock</i>	< 1%	4-40%
Proteksi Ekstra	1-6%	42-86%
Suntan Standar	6-12%	45-86%
<i>Fast Tanning</i>	10-18%	45-86%

2. Analisis Data

Data sifat fisik gel (viskositas, pH, diameter sebar, dan waktu lekat) dan data aktivitas tabir surya (SPF, $\%T_e$, dan $\%T_p$) diuji homogenitasnya menggunakan uji *Levene*. Kemudian data diuji normalitasnya menggunakan uji

Shapiro-Wilk, karena sampel yang digunakan kurang dari 50. Data normal dan homogen atau nilai signifikan $>0,05$ dianalisis dengan statistik parametrik yaitu uji ANOVA. Data tidak normal atau tidak homogen atau keduanya tidak normal dan homogen, dianalisis dengan uji nonparametrik yaitu uji *Kruskal Wallis*. Perbedaan signifikan yang diperoleh dari hasil ANOVA atau *Kruskal Wallis* dianalisis dengan uji *post hoc pairwise comparisons* untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda signifikan (Sayuti, 2015).

PERPUSTAKAAN
JENDERAL ACHMAD YANI
YOGYAKARTA