

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian dilakukan secara ekperimental dengan melakukan uji stabilitas fisik dan aktivitas tabir surya gel ekstrak daun kersen pada dua suhu 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-Juli 2024.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Daun kersen didapatkan di daerah persawahan Ambarketawang, Kecamatan Gamping, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewah Yogyakarta pada titik koordinat -7.8089581, 110.3094198.

2. Sampel

Daun yang dipilih yaitu mendatar, tepi bergerigi, helaian daun simetris, ujung daun runcing, dan daun yang diambil terletak pada nomor 3,4, dan 5 dari pucuk dahan tanaman kersen.

D. Variabel Penelitian

- | | |
|------------------------|--|
| 1. Variabel bebas | : suhu penyimpanan dan waktu penyimpanan sediaan gel. |
| 2. Variabel terikat | : sifat fisik gel (pH dan viskositas) dan aktivitas tabir surya (%Te, %Tp, dan SPF). |
| 3. Variabel terkontrol | : suhu pengeringan daun, waktu ekstraksi, serta kecepatan pengadukan dalam pembuatan gel |

E. Definisi Operasional

1. Ekstrak daun kersen didapatkan melalui proses maserasi daun kersen dengan pelarut yang digunakan yaitu etanol 70%.
2. Uji stabilitas sediaan gel tabir surya salah satu pengujian yang digunakan untuk mengetahui stabilitas fisik dan aktivitas tabir surya gel dari awal pembuatan sampai tahap penyimpanan. Uji dilakukan pada Suhu dingin (4°C) dan suhu ruang (25°C), pada hari ke 0 dan 14.
3. Uji aktivitas tabir surya merupakan pengujian yang dilakukan untuk menilai %Te, %Tp dan SPF.

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Sonikator (Cole palmer), Neraca analitik (Ohaus PA2202), oven (PX224/E), Viskometer Brookfield (DV1 Viscometer), *Moisture balance* (Ohaus MB90), spektrofotometer UV-Vis (Thermo scientific genesys 10S), pH meter (Hanna), mikropipet (*Eppendorf*), ayakan mesh 40, grinder (Fomac), kompor listrik (Maspion S-301), bejana, wajan, kulkas/pendingin, mortir dan stamper dan alatan gelas laboratorium (iwaki).

2. Bahan

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

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tanaman daun kersen dideterminasi di Laboratorium Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan. Determinasi dilakukan untuk mengidentifikasi tanaman daun kersen tersebut benar dan

dapat digunakan untuk penelitian. Bagian tanaman kersen yang digunakan untuk determinasi pengambilan foto yaitu pada daun, batang, dan pohon kersen.

2. Penyiapan simplisia

Tanaman daun kersen didapatkan di daerah persawahan Ambarketawang, Kecamatan Gamping, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta. Daun yang diambil memiliki ciri berikut yaitu harus mendatar, tepi bergerigi, daun yang dipetik berwarna hijau berada pada nomor 3, 4, dan 5 dari pucuk, helaian daun simetris, ujung daun runcing (Sulaiman *et al.*, 2017). Daun kersen dicuci dengan air mengalir dan disortasi basah agar sisa kotoran pada daun menghilang, setelah itu diangin-anginkan pada suhu kamar. Kemudian daun kersen dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C. Daun kersen yang sudah kering kemudian disortasi (Wahyu *et al.*, 2014). Selanjutnya simplisia yang sudah dipilih, dihaluskan menggunakan grinder dan diayak menggunakan ayakan mesh 40 (Puspitasari & Setyowati, 2019).

3. Ekstraksi daun kersen

Metode yang digunakan untuk melakukan ekstraksi yaitu metode maserasi. Sebanyak 200 g serbuk daun kersen dimasukkan ke dalam wadah dan ditambahkan 2 L pelarut etanol 70%. Bejana ditutup dengan *aluminium foil* untuk menghindari paparan sinar matahari. Maserasi dilakukan selama 3 hari dan diaduk 3 x sehari pengadukan selama 3 menit. Ketika sudah mencapai 3 hari, filtrat disaring hingga mendapatkan maserat. Setelah dilakukan penyaringan, maserat pertama diremaserasi dengan penambahan 1 L pelarut etanol dan dilakukan secara berulang seperti maserasi awal. Setelah itu, filtrat yang sudah disaring dipekatkan dengan penangas air dengan suhu 50°C sampai ekstrak yang dipekatkan menjadi kental (Puspitasari & Setyowati, 2019). Perhitungan rendemen dapat menggunakan rumus persamaan 1.

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

4. Karakterisasi ekstrak daun kersen

a. Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan mendeskripsikan bentuk, bau, dan warna.

b. Uji kadar air

Dimasukkan 1 gram ekstrak kedalam cawan aluminium pada *moisture balance*, disebarkan pada sisi bagian tengah cawan. Temperatur diatur pada suhu 105°C. Indikator hijau muncul menandakan uji kadar air selesai. Kemudian nilai kadar air dicatat.

c. Skrining fitokimia

1) Uji flavonoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak dilarutkan dalam 1 ml etanol 70 % dan 10 ml HCl 1 N. Ekstrak menunjukkan hasil positif apabila terbentuk warna merah jingga.

2) Uji fenolik

Sebanyak 1 g ekstrak daun kersen dilarutkan dengan etanol 70% sebanyak 2 ml ke dalam tabung reaksi. Sampel direaksikan dengan FeCl_3 10% 2 tetes. Ekstrak menunjukkan hasil positif jika terbentuk warna hitam.

3) Uji alkaloid

Sebanyak 0,5 g ekstrak daun kersen ditambahkan 1 ml HCl 1N dan 9 ml akuades. Kemudian, sampel dipanaskan selama 2 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Masing-masing filtrat dimasukkan dalam 3 tabung reaksi sebanyak 3 tetes. Selanjutnya, 2 tetes pereaksi dimasukkan dalam masing-masing tabung : reaksi Dragendorff (endapan berwarna kuning jingga) reaksi Bouchardat (endapan berwarna coklat kehitaman), dan reaksi Mayer (endapan berwarna putih kekuningan). Jika 2 dari 3 reaksi menunjukkan hasil yang positif, maka sampel dinyatakan memiliki senyawa alkaloid.

4) Uji tannin

Sebanyak 0,5 g ekstrak dilarutkan menggunakan akuades. Kemudian 2 ml filtrat ditambahkan 2 tetes FeCl_3 10%. Jika terdapat warna hitam kehijauan maka dinyatakan positif mengandung tannin.

5) Uji saponin

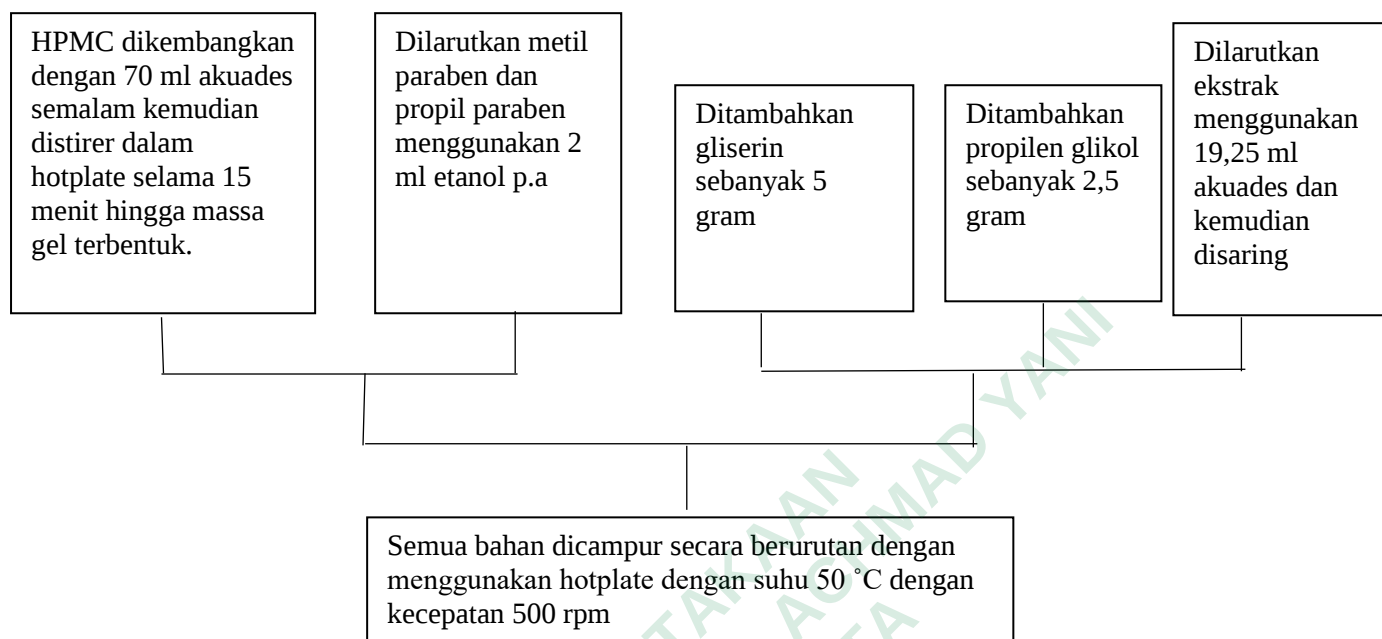
Sebanyak 0,5 g ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian sampel ditambahkan 10 ml akuades panas, selanjutnya didiamkan sebentar lalu digojog selama 10 detik hingga terdapat busa. Jika ditambahkan 1 tetes HCl 1N busa tidak hilang maka dinyatakan positif mengandung senyawa saponin.

5. Formulasi gel ekstrak daun kersen

Sediaan gel tabir surya menggunakan ekstrak daun kersen konsentrasi 1 % yang mengacu pada penelitian Udzma (2023). Formulasi sediaan gel dapat dilihat pada tabel 4, prosedur pembuatan sebagai dapat dilihat pada gambar 8:

Tabel 4. Formula gel tabir surya ekstrak daun kersen (Udzma, 2023)

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



Gambar 8. Prosedur pembuatan gel tabir surya ekstrak daun kersen

6. Evaluasi sifat fisik gel ekstrak daun kersen

a. Uji organoleptik

Pengamatan secara langsung dilakukan terhadap bentuk, bau, dan warna pada sediaan gel.

b. Homogenitas

Gel sebanyak 0,1 gram dioleskan tipis pada *object glass*. Sediaan gel harus homogen dan tidak menunjukkan adanya butiran kasar.

c. Viskositas

Spindle nomor 6 dimasukkan ke dalam gel. Kemudian, viskositas diukur menggunakan Viskometer Brookfield pada kecepatan 10 rpm. Viskositas yang baik pada sediaan gel berkisar pada 6000-50000 cP (Fahrezi *et al.*, 2021).

d. pH

Sebanyak 1 gram gel dilarutkan dengan menggunakan 10 ml akuades. Kemudian, diukur menggunakan pH meter. Syarat nilai pH pada kulit yang aman yaitu berkisar antara 4,5-6,5 (Fahrezi *et al.*, 2021).

7. Uji aktivitas tabir surya sediaan gel ekstrak daun kersen

Sebanyak 500 mg gel dilarutkan dalam labu takar 5 ml menggunakan etanol *p.a.* Kemudian, larutan disonikasi selama 15 menit dan disaring. Absorbansi diukur di λ 290-320 nm (SPF), λ 292,5-317,5 nm (%Te) dan λ 322,5-372,5 nm (%Tp) dan dibaca setiap interval 5 nm. Etanol *p.a* digunakan sebagai blanko.

8. Uji stabilitas sediaan gel tabir surya ekstrak daun kersen

Uji stabilitas fisik gel (viskositas dan pH) dan stabilitas aktivitas tabir surya (SPF, %Te dan %Tp) dilakukan pada gel yang disimpan pada kondisi penyimpanan yang berbeda antara lain:

a. Suhu penyimpanan

Uji dilakukan pada gel yang disimpan pada suhu dingin (4°C) dan suhu ruang (25°C).

b. Waktu penyimpanan

Uji dilakukan pada hari ke-0 dan 14 penyimpanan gel.

H. Metode Penelitian dan Analisis Hasil

1. Metode pengolahan aktivitas tabir surya

a. Perhitungan SPF

Nilai SPF dapat diolah menggunakan persamaan 2. Nilai EE x I merupakan konstanta, dapat diamati pada tabel 5.

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

Keterangan :

CF = Faktor koreksi (10)

EE = Spektrum Efek Eritema

I = Spektrum Intensitas dari matahari

Abs = Absorbansi dari sampel

Tabel 5. Nilai EE x I (Pratiwi *et al.*, 2016)

Panjang gelombang (nm)	EE x I
290	0,015
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,839
320	0,018

b. Perhitungan %Te dan %Tp

Nilai %Te dan nilai %Tp diperoleh menggunakan perhitungan rumus pada persamaan 3 dan 4. Nilai ketetapan fluks eritema dan pigmentasi terletak pada tabel 6 dan tabel 7.

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

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

Keterangan :

T = Nilai transmisi

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

Ee = Jumlah fluks eritema yang diteruskan oleh tabir surya

Fe = Jumlah fluks pigmentasi yang diteruskan oleh tabir surya

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

Tabel 6. Nilai tetapan fluks eritema (Pratiwi *et al.*, 2016)

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 (Pratiwi *et al.*, 2016)

Panjang gelombang (nm)	Fp
322,5	0,1079
327,5	0,102
332,7	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

2. Analisis hasil

Hasil pengujian stabilitas aktivitas tabir surya (SPF, %Te, dan %Tp), dan stabilitas sifat fisik (pH dan viskositas) untuk uji normalitas dilakukan menggunakan *Shapiro-Wilk*. Sedangkan uji homogenitas menggunakan *Levene test*. Untuk data yang normal dan homogen, analisis dilanjutkan dengan uji *T independent*. Sedangkan, data tidak normal atau tidak homogen akan dilakukan uji *Mann-Whitney U*. Stabilitas fisik dan aktivitas tabir surya gel hari ke-0 dan 14 yang disimpan pada suhu ruang 25 °C dan gel yang disimpan pada suhu dingin 4 °C dianalisis menggunakan uji *T independent* jika data terdistribusi normal dan homogen.