

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Jenis desain yang digunakan yaitu desain eksperimental berupa pembuatan sediaan krim ekstrak daun kersen dan evaluasi sifat fisik krim serta aktivitas tabir surya krim.

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

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi, Prodi Farmasi (S-1), Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta pada bulan Juni sampai Agustus 2024.

#### **C. Variabel Penelitian**

1. Variabel Bebas  
Konsentrasi ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura* L.).
2. Variabel Terikat  
Sifat fisik krim (viskositas, pH, daya sebar, dan daya lekat) dan aktivitas tabir surya krim (SPF, %Te, dan %Tp).
3. Variabel Terkendali  
Tempat tumbuh, urutan daun kersen, suhu pengeringan daun kersen, pelarut maserasi, lama maserasi, kecepatan dan waktu homogenasi krim.

#### **D. Definisi Operasional Penelitian**

1. Ekstrak daun kersen diperoleh melalui proses maserasi dengan etanol 70%.
2. Krim ekstrak daun kersen dibuat dengan konsentrasi ekstrak berbeda untuk menilai pengaruh pada sifat fisik (viskositas, pH, daya sebar, dan daya lekat) dan aktivitas tabir surya (nilai SPF, %Te dan %Tp).

## E. Alat dan Bahan

### 1. Alat

Spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific Genesys 10S), viskometer *Brookfield* tipe DV-E, pH meter (Hanna), *moisture balance* (Ohaus MB 90), alat uji daya lekat, alat uji daya sebar, kompor, timbangan analitik (Ohaus PA 2202), homogenizer (IKA tipe T25), oven (Mettler UN 55), sonikator (GT Sonic), grinder, ayakan no 60 mesh, alat maserasi, stopwatch, batang pengaduk, cawan petri, object glass, cawan porselin, kuvet, *magnetic stirrer*, pipet tetes, sendok tanduk, dan alat – alat gelas (Pyrex).

### 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  $\text{FeCl}_3$  (p.a).

## F. Pelaksanaan Penelitian

### 1. Determinasi daun kersen

Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan. Determinasi dilakukan dengan mengirim foto daun, bunga dan ranting.

### 2. Penyiapan sampel

Pemanenan dilakukan pada daun dengan warna hijau, yang segar, tapi tidak terlalu muda (urutan ke-3 sampai 5 dari pucuk) (Anindhita & Arsanto, 2020). Daun kersen tersebut diperoleh dari Kelurahan Ambarketawang, Kecamatan Gamping, Yogyakarta dengan titik koordinat -7,8049326, 110,3247677. Daun kersen disortir untuk memilih daun yang sesuai spesifikasi serta memisahkan dari bagian yang tidak diperlukan seperti ranting, bunga, dan lain - lain. Hasil sortiran dicuci menggunakan air mengalir lalu dikering anginkan. Selanjutnya, pengeringan kembali dilakukan dalam oven 40°C.

Sampel daun kering, dihaluskan dengan grinder dan disaring menggunakan ayakan 60 mesh hingga didapatkan bobot 500 gram (Indriyani *et al.*, 2023).

### 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 (tiap 8 jam) setelah itu disaring. Ampas ditambahkan cairan penyari lagi dengan jumlah setengah (1:5) dari maserasi pertama dan dilakukan remaserasi selama 1 hari (Anindhita & Arsanto, 2020). Maserat pertama dan kedua dipekatkan dengan penangas air pada suhu 40°C hingga ekstrak menjadi kental (Pratasik *et al.*, 2019). Persamaan 1 digunakan untuk menghitung nilai rendemen ekstrak kental yang dihasilkan.

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

### 4. Karakterisasi ekstrak daun kersen

#### a. Uji organoleptik

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

#### b. Uji pH

Satu gram ekstrak etanol daun kersen ditimbang kemudian dilarutkan menggunakan akuades sebanyak 10 ml. Selanjutnya, pH diukur dengan pH meter (Angkotasan, 2022).

#### 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 (Angkotasan, 2022). Hasil kadar air dicatat dengan target <10% (Pambudi *et al.*, 2021)

#### d. Skrining fitokimia

##### 1) Flavonoid

Sebanyak 500 mg ekstrak daun kersen ditimbang lalu dilarutkan menggunakan 1 ml etanol 96% (teknis), kemudian 5 tetes HCl pekat dan

100 mg Magnesium ditambahkan. Perubahan warna cairan menjadi merah jingga hingga merah bata menunjukkan positif mengandung flavonoid (Vonna *et al.*, 2021).

2) Saponin

Sebanyak 500 mg ekstrak daun kersen dilarutkan dengan 10 ml akuades dan dipanaskan selama 3 menit. Selanjutnya, tabung digojog kuat. Apabila membentuk buih dan saat dimasukkan 2 tetes HCl 2N buih tidak hilang, maka ekstrak positif mengandung saponin.

3) Tanin

Sebanyak 500 mg ekstrak daun kersen dilarutkan menggunakan 10 ml akuades. Dua ml ekstrak daun kersen yang sudah dilarutkan ditambahkan 2 tetes pereaksi  $\text{FeCl}_3$  10%. Apabila berwarna hijau, biru hingga kehitaman, maka ekstrak positif mengandung tanin (Angkotasari, 2022).

4) Fenol

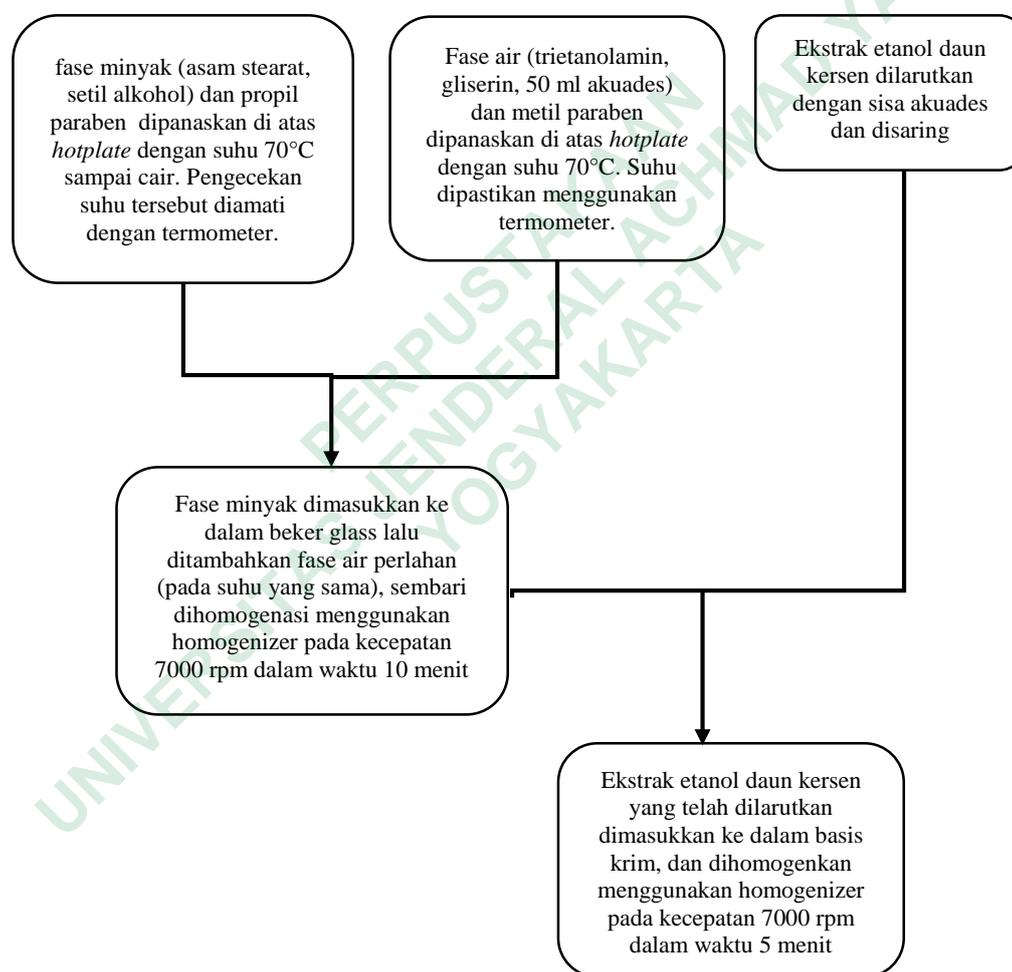
Sebanyak 500 mg ekstrak daun kersen dilarutkan dengan menggunakan 10 ml akuades. Ekstrak yang sudah larut ditambahkan 3 tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Apabila berubah warna menjadi hitam kebiruan hingga hitam pekat, maka ekstrak positif mengandung fenol (Ningsih *et al.*, 2020).

5. Formulasi krim ekstrak etanol daun kersen

**Tabel 4. Formula krim tabir surya ekstrak etanol daun kersen (Putri *et al.*, 2022)**

Bahan	Fungsi	Konsentrasi (%b/v)			
		F0	F1	F2	F3
Ekstrak	Zat aktif	0	0,2	0,6	1
Asam stearat	Emulgator	6	6	6	6
Setil alkohol	Pengental	2	2	2	2
Trietanolamin	Pengontrol pH	1,5	1,5	1,5	1,5
Gliserin	Humektan	3	3	3	3
Metil paraben	Pengawet	0,18	0,18	0,18	0,18
Propil paraben	Pengawet	0,02	0,02	0,02	0,02
Akuades	Pelarut	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

Untuk mencapai tujuan penelitian, dibuat 4 sediaan krim dimana basis (F0) dengan 3 krim dengan variasi konsentrasi ekstrak (F1, F2 dan F3) seperti pada **tabel 4**. Adapun prosedur pembuatan krim mengikuti tahapan pada **gambar 8**. Menurut penelitian Widyawati *et al* (2019), ekstrak etanol daun kersen pada konsentrasi 2000 ppm (0,2%  $b/v$ ) memiliki nilai SPF sebesar 22,01. Maka dari itu peneliti menetapkan variasi konsentrasi ekstrak seperti pada **tabel 4** yang didasarkan dengan perhitungan pada **lampiran 1**.



**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 7 dipasang lalu diatur kecepatan pada 50 rpm. Kemudian spindel dimasukkan ke dalam krim dan viskositas diukur (Hasan *et al.*, 2018). Syarat nilai viskositas pada krim yaitu berkisar 2.000 – 50.000 cP (Baskara *et al.*, 2020).

c. Uji pH

Satu gram sediaan dilarutkan dengan akuades sebanyak 10 ml. Setelah itu, pH meter digunakan untuk mengukur pH. Syarat nilai pH 4,5-6,5 menyesuaikan pH pada kulit (Puspitasari *et al.*, 2018). Pengujian ini diulangi sebanyak 3 kali.

d. Uji daya sebar

Krim (500 mg) ditempatkan pada cawan petri yang terbalik lalu ditutup dengan cawan petri lain yang sudah ditimbang. Sediaan krim tersebut ditambah beban sebanyak 50 gram hingga 250 gram per menit. Setiap penambahan beban, diameter vertikal, horizontal dan diagonal dicatat lalu dihitung rata – rata diameter (Permatasari, 2021). Daya sebar ideal krim adalah 5 – 7 cm (Himawan *et al.*, 2018). Pengujian ini diulangi sebanyak 3 kali.

e. Uji daya lekat

Krim (500 mg) ditempatkan di antara dua *object glass*. Beban sebanyak 250 gram diberikan selama 5 menit. Lama waktu hingga kedua *object glass* terlepas dicatat (Permatasari, 2021). Daya lekat ideal adalah >4 detik (Putri *et al.*, 2022). Pengujian ini diulangi sebanyak 3 kali.

## 7. Penentuan aktivitas tabir surya ekstrak daun kersen dan krim

### a. Penyiapan larutan sampel ekstrak daun kersen

Sebanyak 2 mg, 1,2 mg, dan 0,4 mg ekstrak dilarutkan dalam 10 ml etanol 96%, diultrasonifikasi selama 15 menit dan disaring (Himawan *et al.*, 2018).

### b. Penyiapan larutan sampel krim ekstrak daun kersen

Sebanyak 100 mg krim dilarutkan dalam 5 ml etanol 96%, diultrasonifikasi selama 15 menit dan disaring (Himawan *et al.*, 2018). Di dalam 100 mg krim F1 yang diambil mengandung 0,2 mg ekstrak. Di dalam 100 mg krim F2 yang diambil mengandung 0,6 mg ekstrak. Di dalam 100 mg krim F3 yang diambil mengandung 1 mg ekstrak (**lampiran 3**).

### c. Uji aktivitas tabir surya

Pengukuran tabir surya dengan spektrofotometer UV-Vis dilakukan terhadap larutan ekstrak dan larutan sampel krim. Pengukuran SPF, %Te, dan %Tp dilaksanakan direntang panjang gelombang spesifik, yaitu 290 – 320 nm untuk SPF, 292,5 – 317,5 nm untuk %Te, dan 322,5 – 372,5 nm untuk %Tp.

## G. Metode Pengolahan dan Analisis Data

### 1. Metode pengolahan aktivitas tabir surya

#### a. SPF

Hasil absorbansi dari ekstrak dan 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 (Sayre *et al.*, 1979).

$$SPF = CF \times \sum EE(\lambda) \times I(\lambda) \times abs(\lambda) \dots\dots\dots(2)$$

Keterangan :

CF	= Faktor koreksi bernilai 10
EE	= Spektrum efek eritemal
I	= Spektrum intensitas matahari
Abs	= Absorbansi (Abs).

**Tabel 5. Tetapan nilai EE x I (Sayre *et al.*, 1979)**

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

b. Transmisi Eritema dan Pigmentasi

Hasil absorbansi dicatat lalu persamaan 3 dan 4 digunakan. **Tabel 6** menunjukkan nilai fluks eritema dan **tabel 7** menunjukkan nilai fluks pigmentasi (Yetti *et al.*, 2023).

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

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

Keterangan :

T = Nilai transmisi (antilog absorbansi x 100)

Fe = Fluks eritema pada panjang gelombang 292,5-317,5 nm

Ee = Jumlah fluks eritema yang dilanjutkan dengan tabir surya

Fp = Fluks pigmentasi pada panjang gelombang 322,5-372,5 nm

**Tabel 6. Nilai fluks eritema (Yetti *et al.*, 2023)**

Panjang gelombang	Fluks eritema
292,5	0,1105
297,5	0,672
302,5	1
307,5	0,2008
312,5	0,1364
317,5	0,1125
Total fluks eritema	2,2322

**Tabel 7. Nilai fluks pigmentasi (Yetti *et al.*, 2023)**

Panjang gelombang	Fluks pigmentasi
322,5	0,1079
327,5	0,102
332,5	0,0936
337,5	0,0798
342,5	0,0669
347,5	0,057

Panjang gelombang	Fluks pigmentasi
352,5	0,0488
357,5	0,0456
362,5	0,0356
367,5	0,031
372,5	0,026
Total fluks pigmentasi	0,6942

## 2. Analisis data

Data sifat fisik sediaan krim (viskositas, pH, daya sebar dan daya lekat) dan aktivitas tabir surya (SPF, %Te, dan %TP) dianalisis normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilks* karena 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 konsentrasi ekstrak. Nilai signifikansi ( $p$ )>0,05 menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan terhadap 3 variasi konsentrasi. Sedangkan Nilai signifikansi ( $p$ )<0,05 menunjukkan perbedaan signifikan pada respon sifat fisik dan aktivitas tabir surya, sehingga kelompok yang menyebabkan perbedaan tersebut dianalisis dengan uji *Post Hoc*.