

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode ekperimental laboratorium. Buah parijoto (*Medinilla speciosa*) yang telah di ekstraksi dengan pelarut etanol 96% kemudian dibuat variasi konsentrasi untuk selanjutnya pembuatan sediaan gel, kemudian formula gel di uji sifat fisik, stabilitas fisik dan aktivitasnya sebagai tabir surya berdasarkan nilai SPF (*Sun Protection Factor*) menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

B. Lokasi Penelitian

1. Lokasi Penelitian

- a. Pembuatan ekstrak parijoto (*Medinilla Speciosa*) di Laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo
- b. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro (UNDIP) untuk mengetahui kebenaran buah parijoto (*Medinilla speciosa*).
- c. Uji kualitatif dan kuantitatif penentuan kadar flavonoid dilakukan di Laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.
- d. Pembuatan gel ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) di Laboratorium Farmasetika Universitas Ngudi Waluyo.

- e. Uji *in vitro* penentuan nilai SPF pada sediaan gel di Laboratorium Instrumen Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.

C. Subjek Penelitian

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah seluruh bagian buah pariijoto (*Medinilla speciosa*).

2. Sampel

Sampel diperoleh dari Bandungan, Kabupaten Semarang. Kemudian sampel tersebut selanjutnya akan diformulasikan menjadi bentuk sediaan gel.

D. Definisi Operasional

1. Uji pH adalah salah satu pengujian stabilitas fisik dengan cara sediaan kedalam pH meter, pH sediaan gel menurut (Astuti *et al.*, 2017) memiliki rentang 4,5 – 6,5.
2. Uji organoleptis adalah pengujian dengan pengamatan secara langsung dengan menggunakan system pengindraan uji organoleptis meliputi warna, tekstur sediaan dan tidak bau tengik.
3. Uji viskositas menunjukkan sifat dari cairan yang menentukan besarnya perlawanan terhadap gaya dari hasil pergeseran. Semakin kental sediaan atau suatu cairan, oleh sebab itu semakin besar pula kekuatan yang diperlukan agar cairan dapat mengalir.
4. Uji homogenitas adalah pengamatan untuk mengevaluasi bahan didalam sediaan dapat bercampur secara sempurna atau tidak.

5. Uji daya sebar adalah pengujian seberapa cepat penyebaran sediaan gel terhadap kulit pada saat dioleskan pada kulit.
6. Uji daya lekat adalah kemampuan sediaan gel melekat pada kulit ketika digunakan, semakin besar daya lekat maka semakin baik untuk sediaan gel.
7. Uji SPF (*Sun Protection Factor*) adalah suatu pengukuran dan keefektifan formulasi sediaan gel tabir surya. Untuk bisa mencegah *sunburn* dan kerusakan kulit lainnya.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas adalah faktor yang dapat mempengaruhi hasil atau penyebab utama perbedaan, variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak dalam formula pembuatan sediaan gel tabir surya.

2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini untuk memenuhi uji stabilitas pada pengujian karakteristik fisik meliputi uji pH, viskositas, uji daya sebar, uji daya lekat, uji organoleptis, uji homogenitas dan uji SPF (*sun protection factor*).

3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol adalah uji yang dapat mempengaruhi hasil penelitian contohnya suhu, bahan, kondisi laboratorium, dan kecepatan pengadukan pada *magnetic stirrer*.

F. Pengumpulan Data

1. Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah ayakan mesh 40, *rotary evaporator* (Ika), cawan porselen, mortir dan stemper, *waterbath*, tabung reaksi (pyrex), *beaker glass* (Pyrex) rak tabung reaksi, pipet tetes, *chamber*, pinset, pipa kapiler, spektrofotometer UV-Vis, botol penampak bercak, timbangan digital (Ohaus), *magnetic stirrer* (Corning PC 420-D), pH meter (Hanna), kaca pembesar, kaca bulat berdiameter, jangka sorong, alat uji daya lekat, *visikometer Brookfield* (DV2T), *object glass*, *climatic chamber* (Memert).

b. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah buah pariijoto (*Medinilla speciosa*) yang diperoleh dari Kecamatan Bandungan, Kabupaten Semarang, bahan berupa HPMC (Teknis) teknis yang dimaksud adalah HPMC yang tidak memiliki COA (*Certificate Of Analysis*), gliserin (*pharmaceutical grade*), propilenglikol (*pharmaceutical grade*), metil paraben (*pharmaceutical grade*), kertas saring (whatman), kain kola.

2. Prosedur Penelitian

a. Determinasi Tanaman

Tanaman parijoto di determinasi di Laboratorium Ekologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang, dengan tujuan mengetahui kebenaran dari buah parijoto (*Medinilla speciosa*) agar dapat menghindari kesalahan pengumpulan bahan penelitian dan mencegah kemungkinan tercampur dengan tanaman lain.

b. Penyiapan Bahan

Buah parijoto (*Medinilla speciosa*) yang diperoleh selanjutnya di sortasi basah untuk memisahkan buah dari rantingnya dan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing sehingga dapat mengurangi jumlah pengotor yang dapat terbawa dalam bahan uji, selanjutnya dicuci dengan air yang mengalir, kemudian diangin-anginkan hingga air tidak tersisa. Kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari serta ditutup menggunakan kain hitam, kemudian diperoleh simplisia yang sudah kering di blender dan di ayak dengan nomor mesh 40.

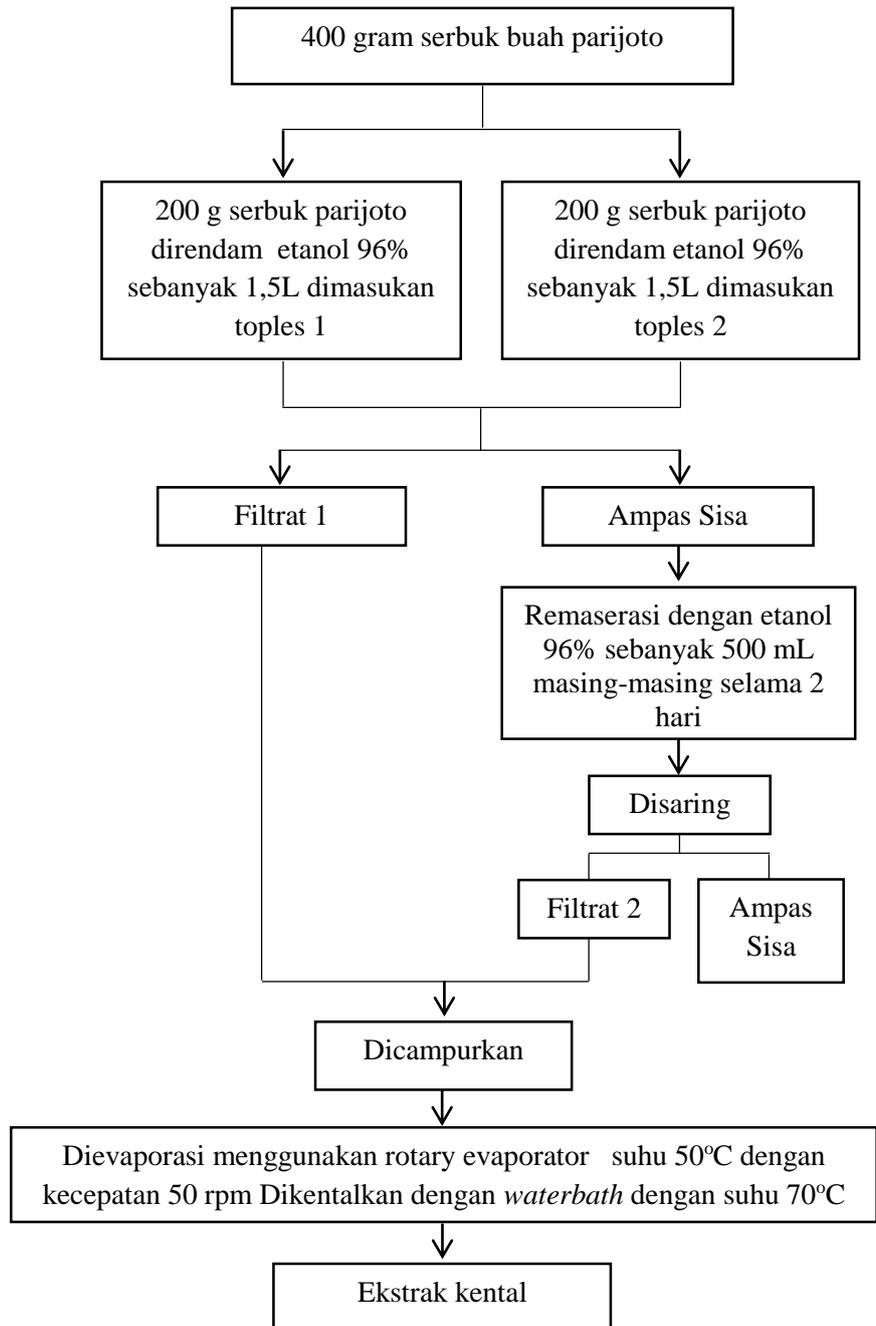
c. Pembuatan Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*)

Sebanyak 400 gram serbuk kering buah parijoto (*Medinilla speciosa*) ditimbang dan dibagi dua dimasukkan kedalam dua toples kaca yang berbeda. Serbuk ditambah etanol 96% dengan perbandingan (1:7,5) sebanyak 3L (1,5 liter untuk setiap toples) direndam selama 24 jam selama 3 hari dengan pengadukan sekali sehari, setelah 3 hari perendaman diserka ampas diperas dipisahkan

ampas dan filtrat, maserat yang diperoleh dijadikan sebagai filtrat ke 1, kemudian dilanjutkan remaserasi, ampas hasil maserasi direndam ulang menggunakan 500 mL masing-masing toples hingga terendam kemudian ditutup didiamkan 24 jam selama 2 hari, sambil diaduk sekali sehari, setelah 2 hari perendaman diserka ampas diperas, filtrat hasil maserasi 1 dijadikan satu dengan filtrat hasil maserasi 2, kemudian dievaporasi menggunakan *evaporator rotary* dengan suhu 50⁰C rpm pengadukan yang digunakan 50 rpm kemudian ekstrak semi kental diperoleh, dilanjutkan dengan penguapan di *waterbath* dengan suhu 70⁰C menggunakan cawan porselen hingga diperoleh ekstrak kental dengan cara menimbang cawan dan bobot ekstraknya setiap jam dalam penguapan hingga bobot stabil selama 3 jam. Ekstrak disimpan dan dihitung rendemennya.

Rumus perhitungan rendemen :

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot total ekstrak}}{\text{Bobot total serbuk}} \times 100\%$$



Gambar 3.1 Skema Kerja Pembuatan Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*)

d. Uji KLT Flavonoid

Ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) ditotolkan pada lempeng KLT silika gel GF 254 nm, lempeng KLT dimasukkan kedalam *chamber* yang telah dijenuhkan dengan fase gerak n-

butanol:asam asetat glasial:air (3:1:1). Setelah mencapai jarak elusi lempeng di angkat dari *chamber* dan diangin anginkan hingga lempeng kering. Lempeng KLT diletakan dibawah sinar UV 254 nm, noda yang terbentuk akibat totolan ditandai. Lempeng KLT disemprot dengan penampak bercak atau uap amoniak. Adanya senyawa metabolit sekunder dengan jenis flavonoid dipertegas dengan visual warna kehijauan ketika diamati pada sinar UV 254 nm dan Rf dicatat (Vifta & Advistasari, 2018).

e. Formulasi

Tabel 3.1 Formulasi Gel Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*)

Nama Bahan	Konsentrasi %			
	Kontrol Negatif	F I	F II	F III
Ekstrak Buah Parijoto (<i>Medinilla speciosa</i>)	-	0,5	1	1,5
HPMC	2	2	2	2
Gliserin	5	5	5	5
Propilenglikol	2,5	2,5	2,5	2,5
Metil paraben	0,2	0,2	0,2	0,2
Jumlah	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100

f. Prosedur pembuatan sediaan gel tabir surya

HPMC ditimbang untuk masing-masing formula kemudian dikembangkan dengan air panas didalam *beaker glass* 1 yang sudah ditimbang sebelumnya, diaduk homogen didiamkan 24 jam. Ditimbang metil paraben dilarutkan dengan 2 mL etanol p.a didalam *beaker glass* 2, gliserin dan propilenglikol ditimbang dicampurkan dengan metil paraben yang sudah terlarut, dihomogenkan.

Ditimbang ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) pada cawan dilarutkan menggunakan 3 tetes etanol dan air panas secara perlahan dengan volume \pm 20 mL, ekstrak yang sudah terlarut dicampurkan dalam beaker 2 yang berisi campuran metil paraben, gliserin, propilenglikol, aduk rata hingga homogen. Campuran pada *beaker glass* 2 dimasukan secara perlahan sambil diaduk perlahan pada *beaker glass* 1 yang berisi HPMC yang sudah mengembang dan melebur proses peleburan hpmc menggunakan *watterbath* dengan suhu 70⁰C, kemudian campuran tersebut dicukupkan dengan aquadest hingga 100g, aduk dan homogenkan (Puspitasari & Kusuma Wardhani, 2018).

g. Evaluasi sediaan gel ekstrak buah parijoto

1. Uji Organoleptis

Uji organoleptis dalam sediaan gel dengan cara melakukan menggunakan indera meliputi tekstur, warna, bau (Sahidin, 2016).

2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dalam sediaan gel dengan cara diambil gel ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) diletakan pada *object glass* yang lainnya. Diamati apakah ada gumpalan atau tidak dengan kaca pembesar. Jika terdapat gumpalan dan warna yang tidak merata maka dapat dikatakan tidak homogen (Depkes, 1979).

3. Uji pH

Uji pH dalam sediaan gel dengan menggunakan alat yaitu pH meter yang telah di kalibrasi dengan pH standart yaitu 4,5 – 6,5 (Astuti *et al.*, 2017). Elektroda di masukan kedalam sediaan gel ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) kemudian ditunggu hingga indicator menunjukkan angka yang konstan.

4. Uji Viskositas

Uji viskositas dalam sediaan gel menggunakan alat *viskosimeter Brookfield* kemudian dipasang spindel nomor 64 dan diatur kecepatan 20 rpm. Sediaan gel buah parijoto diukur viskositasnya (Moechtar, 1989). viskositas yang baik dalam sediaan berkisar antara 2000-4000 Cp (Irianto *et al.*, 2020).

5. Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dalam sediaan gel dengan cara menimbang gel ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) sebanyak 0,5 g, kemudian diletakan diatas kaca bulat pada bagian tengah. Kaca yang telah ditimbang diletakan diatas kaca pertama, *timer* di nyalakan 1 menit, kemudian diukur diameternya dan di tambah beban secara konstan (50g), sehingga gel tidak menyebar lagi ditandai dengan diameter yang tidak berubah atau konstan selama penambahan beban (Widia,

2012). Uji daya sebar yang baik dalam sediaan gel yaitu 3-7 cm (Nurahmanto *et al.*, 2017).

6. Uji Daya Lekat

Uji daya lekat dalam sediaan gel dengan cara menimbang gel ekstrak buah pariijoto (*Medinilla speciosa*) sebanyak 0,5 g kemudian diletakan di atas *object glass* kemudian ditutup dengan *object glass* lainnya. *Object glass* diberi beban 50 gram kemudian ditunggu hingga 5 menit. Pengukurannya dengan menjepit *object glass* pada alat dan ditarik tuas dari alat tersebut, kemudian dicatat waktu yang dibutuhkan dari kedua *object glass* untuk bisa lepas (Widia, 2012). Sediaan gel yang baik yaitu memiliki daya lekat lebih dari 1 detik (Irianto *et al.*, 2020).

7. Uji *Cycling Test*

Cycling Test dalam sediaan gel dilakukan dengan cara menyimpan semua formula dalam penyimpanan suhu sejuk 10° C dan suhu ekstrim 40 ° C selama 24 jam dengan 5 siklus atau 10 hari. Gel yang melewati uji penyimpanan diidentifikasi secara organoleptik atau karakteristik fisiknya (Auliasari *et al.*, 2016).

8. Uji Penentuan Nilai SPF (*Sun Protection Factor*)

Sebanyak 0,1 gram sampel gel dilarutkan dengan etanol p.a kurang lebih 6 mL, dihomogenkan menggunakan *magnetic*

stirer selama 5 menit dengan kecepatan pengadukan 500rpm pada suhu 25°C, kemudian disaring dengan kertas saring, dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL, tambahan etanol p.a ad 10 mL. Pengukuran absorbansi pada gelombang 290, 295, 230, 305, 310, 315, 320 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Dilakukan pencatatan nilai absorbansi tiap formula, kemudian dihitung nilai SPF berdasarkan (Isfardiyana & Safitri, 2014) digunakan persamaan sebagai berikut :

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

Keterangan : EE = Spektrum efek untuk erithemal
I = intensitas spektrum sinar
A = Serapan pada produk tabir surya
CF = *Correction factor*

G. Analisis Data

Data pengamatan diperoleh dari hasil evaluasi karakteristik fisik sediaan gel tabir surya meliputi pH, daya sebar, daya lekat dan viskositas. Analisis menggunakan program SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*) versi 32. Sebelum data diuji dilakukan uji normalitas serta homogenitas data menggunakan uji *Shapiro wilk* dengan nilai signifikansi >0,05, dikarenakan jumlah data kurang dari 50 dengan taraf kepercayaan 95%. Jika data berdistribusi normal dan homogen analisis data menggunakan uji *paired t test*, jika ada data berdistribusi tidak normal atau tidak homogen maka analisis data menggunakan uji *Wilcoxon*.