

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian yang akan dilakukan adalah penelitian eksperimental. Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *Post Test Control Group Design*. Tahap pertama akan dilakukan ekstraksi senyawa metabolit dengan metode maserasi pada daging buah labu kuning menggunakan pelarut etanol 96%. Tahap kedua membuat formulasi sediaan krim ekstrak etanol 96% daging buah labu kuning (*Cucurbita maxima* D.). Tahap ketiga adalah melakukan evaluasi sifat fisik terhadap sediaan krim ekstrak etanol 96% daging buah labu kuning (*Cucurbita maxima* D.) berdasarkan uji organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, dan viskositas. Tahap keempat penentuan nilai SPF pada sediaan krim ekstrak etanol 96% daging buah labu kuning (*Cucurbita maxima* D.) Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo Ungaran. Waktu penelitian dilakukan pada bulan Juni 2021.

B. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Ngudi Waluyo Ungaran.

C. Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah daging buah labu kuning yang diambil dari daerah Kopeng, Kecamatan Getasan Kabupaten Semarang. Buah labu kuning yang dipilih adalah yang memiliki kulit berwarna kuning kecoklatan, daging buah berwarna orange, biji berbentuk pipih, tekstur daging keras dan sedikit berair.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat mempengaruhi dan menjadi sebab timbulnya perubahan pada variabel terikat. Konsentrasi ekstrak pada formula merupakan variabel bebas dalam penelitian ini.

2. Variabel tergantung

Variabel tergantung adalah variabel yang dipengaruhi akibat dari adanya variabel bebas. Karakteristik fisik sediaan krim (organoleptis, homogenitas, daya sebar, daya lekat, pH, viskositas) dan nilai SPF merupakan variabel tergantung dalam penelitian.

3. Variabel terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah alat, bahan, suhu dan kondisi laboratorium.

E. Pengumpulan Data

1. Pengumpulan Bahan

Buah labu kuning yang diambil pada penelitian ini berasal dari Kopeng kec. Getasan Kab. Semarang. Buah yang dipilih adalah buah yang mempunyai kulit berwarna kuning kecoklatan, daging buah berwarna orange, biji berbentuk pipih, tekstur daging keras dan sedikit berair.

2. Determinasi tanaman

Determinasi buah labu kuning (*Cucurbita maxima D.*) dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Diponegoro Semarang.

3. Alat dan Bahan

a. Alat

Penelitian ini menggunakan alat – alat seperti, loyang, blender, beaker glass, gelas ukur, neraca analitis, kain flannel, rotary evaporator, panci stainless steel, pipet tetes, batang pengaduk, sendok tanduk, *yellow tip*, *micropipette*, lemari es, oven, *Moisture Ballance*, pH-indikator strip, pH meter, waterbath, viskometer Brookfield, satu set alat uji daya lekat, dan satu set alat uji daya sebar.

b. Bahan

Bahan utama dalam penelitian ini yaitu, daging buah labu kuning, cera alba, vaselin album, VCO, akuades, paraffin cair, asam stearat, TEA, etanol p.a.

4. Pembuatan ekstrak etanol 96% daging buah labu kuning (*Cucurbita maxima D.*)

Simplisia daging buah labu kuning (*Cucurbita maxima D.*) dibuat dengan metode pengeringan yang diangin – anginkan, selanjutnya dikeringkan pada suhu 50°C menggunakan oven. Hasil simplisia kering kemudian dihaluskan menjadi serbuk, serbuk yang diperoleh diayak menggunakan ayakan 100 mesh. Selanjutnya, serbuk daging buah labu kuning sebanyak 1000 gram diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% selama 5x24 jam. Hasil maserasi (maserat) diuapkan dengan *rotary evaporator*. Maserat diuapkan kembali dengan menggunakan *waterbath* untuk menghilangkan sisa pelarut dan memekatkan ekstrak. Ekstrak kental yang telah diperoleh dihitung persen rendemen menggunakan rumus :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang didapat}}{\text{Berat serbuk simplisia yang di ekstrak}} \times 100\%$$

5. Skrinning Fitokimia

a. Uji Flavonoid

Ditimbang 0,5 g ekstrak kemudian di larutkan dengan metanol secukupnya. Setelah itu ditambah 3 – 5 tetes FeCl₃ dan diamati perubahan warnanya. Jika terbentuk warna merah kehitaman, hijau, ungu atau biru larutan positif mengandung flavonoid (Cs, Vimalkumar *et al.*, 2014; Rosidah, 2019).

b. Uji kandungan polifenol dan tanin

Ditimbang 0,5 g ekstrak ditambahkan pereaksi FeCl_3 1%. Reaksi positif mengandung polifenol dan tanin jika terbentuk warna kehitaman atau biru tua pada larutan (Muthmainnah, 2017).

c. Uji kandungan saponin

Ditimbang 0,5 g ekstrak, kemudian 10 ml aquadest ditambahkan ke dalam tabung reaksi, selanjutnya dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk buih yang stabil maka ekstrak positif mengandung senyawa saponin (Rosidah, 2019).

d. Uji Alkaloid (Wagner)

Ditimbang 0,5 g ekstrak, asam klorida 2 N sebanyak 1 mL dan 9 mL aquadest ditambahkan dalam tabung reaksi, kemudian dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, dinginkan dan saring. Filtrat, tambahkan 3 – 5 tetes reagen wagner (positif alkaloid jika terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam) (Abd.Malik & Waris, 2014).

e. Uji Salkowski

Sebanyak 0,5 ekstrak dilarutkan dengan kloroform, larutan dihomogenkan kemudian disaring. Ditambahkan 3-5 tetes H_2SO_4 . Terbentuknya larutan berwarna merah menunjukkan ekstrak positif mengandung sterol, apabila larutan berwarna kuning keemasan

maka ekstrak positif mengandung triterpenoid (Cs, Vimalkumar *et al.*, 2014)

6. Formulasi Krim

Formulasi krim ekstrak etanol 96% daging buah labu kuning dibuat dengan tiga varian konsentrasi ekstrak masing - masing 5%; 10%; dan 15% b/v. Setiap formulasi direplikasi sebanyak tiga kali replika.

Tabel 3.1 Formula Krim Ekstrak Etanol 96% Daging Buah Labu Kuning (*Cucurbita maxima D.*)(Chasanah, 2017).

Nama Bahan	Formula (%)		
	F1	F2	F3
Ekstrak daging labu kuning	5	10	15
Asam stearat	17	17	17
Propilen glikol	15	15	15
Vaselín album	10	10	10
VCO	10	10	10
Trietanolamin	1,5	1,5	1,5
Cera alba	0,5	0,5	0,5
Akuades	ad100	ad100	ad100

Keterangan :

F1 : formulasi krim dengan konsentrasi ekstrak 5%

F2 : formulasi krim dengan konsentrasi ekstrak 10%

F3 : formulasi krim dengan konsentrasi ekstrak 15%

7. Pembuatan Basis Krim

Formula basis dibuat dengan mencampurkan fase minyak (cera alba, vaselin album, asam stearat, dan VCO) dengan metode peleburan pada suhu 70° - 75°C hingga berubah bentuk menjadi cair dan diaduk hingga homogen. Fase air dibuat dengan mencampurkan propilen glikol, trietanolamin dan akuades dalam *beaker* gelas dan dipanaskan pada suhu yang sama dengan fase minyak. Kemudian fase air ditambahkan secara perlahan – lahan ke dalam fase minyak dalam mortar yang telah

dipanaskan dan diaduk secara konstan hingga massa krim terbentuk. Apabila suhu peleburan pada fase air tidak sama dengan fase minyak dapat menyebabkan beberapa lilin akan menjadi padat sehingga terjadi pemisahan antara kedua fase tersebut.

a. Orientasi Basis Krim

Karakteristik fisik basis krim dievaluasi berdasarkan uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, daya sebar, daya lekat, dan viskositas.

b. Uji Stabilitas Basis Krim

Pengujian stabilitas dipercepat pada basis krim menggunakan sentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Selanjutnya diamati apakah terjadi pemisahan fase atau tidak antara fase air dan fase minyak (Elya *et al.*, 2013).

8. Uji Sifat Fisik Krim

a. Uji Organoleptis

Pengujian ini dilakukan dengan melibatkan panca indera meliputi pengamatan terhadap bentuk konsistensi (padat, cair, kental atau serbuk), warna (bening, kuning atau coklat), dan bau (aromatik atau tidak berbau) (Sari, 2012).

b. Uji Homogenitas

Tercampurnya bahan-bahan yang digunakan dalam formula menunjukkan sediaan krim tersebut homogen. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan *object glass*. Sediaan krim diambil

secukupnya kemudian dioleskan pada *object glass* dan diamati secara visual. Apabila tidak terdapat butiran – butiran kasar pada *object glass* maka sediaan tersebut homogen (Erwiyani *et al.*, 2017).

c. Uji pH

Pemeriksaan pH pada sediaan menggunakan alat pH meter. Sediaan krim yang aman dan tidak menimbulkan iritasi pada kulit dapat dilihat dengan pengujian pH. Sebelum digunakan pH meter dikalibrasi dengan larutan dapar standar terlebih dahulu, kemudian pH meter dicelupkan dalam sediaan. Sediaan krim yang baik adalah sediaan yang sesuai dengan kriteria pH kulit yaitu 4,5-6,5 (Azkiya *et al.*, 2017).

d. Uji Daya Lekat

Sebanyak 0,3 gram krim dan diletakkan diatas gelas objek yang telah diketahui luasnya. Gelas obyek yang lain diletakkan di atas krim tersebut. Selanjutnya ditekan dengan beban 1000 gram selama 1 menit. Kemudian dilepaskan beban seberat 80 gram dan dicatat waktunya hingga kedua gelas objek ini terlepas. Syarat daya lekat >1 detik (Yusuf *et al.*, 2017).

e. Uji Daya Sebar

Krim sebanyak 0,5 gram ditimbang dan diletakkan ditengah alat kaca penutup yang sudah ditimbang bobotnya, kemudiaan diletakkan diatas sediaan, diamkan selama 1 menit. Setelah 1 menit diukur diameter penyebaran krim dengan mengambil panjang rata-

rata diameter dari beberapa sisi, beban seberat 20 gram secara bertahap ditambahkan kemudian dilakukan pengukuran kembali setelah 1 menit dan dilakukan sampai bobot yang ditambahkan kurang dari 150 g, diameter penyebarannya setiap penambahan bobot diamati dan dicatat (Erwiyani *et al.*, 2017). Sediaan topikal yang baik adalah sediaan yang memiliki daya sebar 5 – 7 cm (Wibowo *et al.*, 2017).

f. Uji viskositas

Langkah uji viskositas terlebih dahulu memasang spindel pada gantungan spindel, kemudian spindle diturunkan sampai spindel tercelup kedalam sampel yang akan diukur viskositasnya hingga tanda batas. Alat viskometer dinyalakan sambil menekan tombol, dibiarkan spindel berputar dan lihatlah jarum merah pada skala, kemudian angka yang ditunjukkan oleh jarum tersebut diamati (Erwiyani *et al.*, 2017). Viskositas sediaan krim yang baik berada direntang 2000 – 50.000 cP (Azkiya *et al.*, 2017)

9. Uji Nilai SPF

Spektrofotometri Uv-Vis adalah alat yang digunakan untuk menentukan nilai SPF pada sediaan. Penentuan nilai SPF berdasarkan dari karakteristik serapan sampel pada panjang gelombang 290-320 nm dengan interval 5 nm. Nilai SPF dapat dihitung dengan rumus :

$$SPF_{spectrophotometric} = CF \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

Keterangan :

- CF : Faktor koreksi (10)
 Abs : Absorbansi sampel
 EE : Efektifitas eritema yang disebabkan sinar UV pada panjang gelombang λ_{nm}
 I : Intensitas sinar UV pada panjang gelombang λ_{nm}
 (Lolo *et al.*, 2017)

Nilai SPF juga dapat ditentukan dengan menggunakan metode AUC (luas daerah dibawah kurva serapan) dari nilai serapan pada panjang gelombang 290 – 400 nm dengan interval 2 nm. Nilai AUC dapat dihitung dengan rumus berikut ini (Ilyas, 2015) :

$$[AUC] = \frac{Aa+Ab}{2} \times dPa-b$$

- Keterangan : Aa = Absorbansi pada panjang gelombang a nm
 Ab = Absorbansi pada panjang gelombang b nm
 dPa-b = Selisih panjang gelombang a dan b

Nilai total AUC dihitung dengan menjumlahkan semua nilai AUC pada tiap segmen panjang gelombang. Nilai SPF masing – masing konsentrasi ditentukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Log SPF} = \frac{\Delta AUC}{\lambda_{maks} + \lambda_{min}} \times FP$$

- Keterangan : λ_{maks} = Panjang gelombang terbesar
 λ_{min} = Panjang gelombang terkecil
 FP = Faktor pengenceran

F. Pengolahan Data

Data dalam penelitian yang diolah dan dianalisis terdiri dari data hasil pengujian karakteristik fisik sediaan krim meliputi uji organoleptis, uji pH,

uji homogenitas, uji daya lekat, uji daya sebar, uji viskositas dan perhitungan nilai SPF. Data tersebut dianalisis secara deskriptif.