

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratorium, yaitu penentuan nilai SPF (*Sun Protection Factor*) secara in vitro dan uji iritasi menggunakan kelinci.

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

##### 1. Lokasi Penelitian

- a. Proses formulasi dan uji SPF dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo
- b. Proses uji iritasi dilakukan di Laboratorium Farmakologi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo

##### 2. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2022 - Januari 2023

#### **C. Subjek Penelitian**

Subjek penelitian ini adalah minyak labu kuning dari PT.Tamba Sanji Wani

#### **D. Variabel Penelitian**

##### 1. Variabel bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat mempengaruhi dan menjadi sebab timbulnya perubahan pada variabel terikat. Bobot 1 g dan 3 g minyak biji labu kuning pada formula merupakan variabel bebas dalam penelitian ini.

## 2. Variabel tergantung

Variabel tergantung adalah variabel yang dipengaruhi akibat dari adanya variabel bebas. Nilai SPF dan respon iritasi merupakan variabel tergantung dalam penelitian ini.

## 3. Variabel terkendali

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

## E. Prosedur

### 1. Alat dan bahan

#### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), *homogenizer (Ika Ultra Turrax T25)* , timbangan analitik (Ohaus), batang pengaduk, *beaker glass (Herma)*, kasa steril, plaster, pipet tetes, gelas ukur (Iwaki), labu takar (Iwaki). Alat alat yang digunakan dapat dilihat pada lampiran 1.

#### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *aquadest*, xantan asz gum (farmasetika, PT MKR), sorbitol (farmasetika, PT MKR), trigleserid (farmasetika, PT MKR), minyak biji labu kuning (PT.Tamba Sanji Wani), tween 80 (farmasetika, PT MKR), lecithin (farmasetika, PT MKR), nipagin (farmasetika, PT MKR), gliserin (farmasetika, PT MKR), *essential oil lavender* (farmasetika, PT MKR). Bahan bahan yang digunakan dapat dilihat pada lampiran 2.

## 2. Formulasi *Eye Contour Cream*

*Eye contour cream* terdiri dari 3 fase yaitu fase a (*aquadest*, xantan gum, sorbitol), fase b (trigleserid, minyak biji labu kuning, tween 80), fase c (lecithin, nipagin, gliserin, *essential oil*). Formulasi *eye contour cream* dapat dilihat pada tabel 3.1. Gambar sediaan *eye contour cream* dapat dilihat pada lamiran 3.

**Tabel 3. 1 Formulasi *Eye Contour Cream***

Nama Bahan	Jumlah Bahan (g)		Kegunaan
	F1	F2	
Minyak biji labu kuning	3,4	3,4	Bahan aktif
Trigliserid	5	5	Emolien
Lecithin	3,4	3,4	Emolien
Tween 80	3,4	3,4	<i>Emulsifier</i>
Gliserin	3	3	Emolien
Sorbitol	2	2	Humektan
Xantan Gum	2	2	<i>Emulsifier</i>
<i>Essential Oil</i> (Lavender)	0,2	0,2	<i>Fragrance</i>
Nipagin	0,1	0,1	<i>Preservative</i>
<i>Aquadest</i>	80,1	78,1	Pelarut

Pembuatan sediaan *eye contour cream* dengan cara menyampurkan fase A (*aquadest*, xantan gum, sorbitol) ke dalam *beaker glass* dihomogenkan menggunakan *homogenizer*. Fase B (trigliserid, minyak biji labu kuning, tween 80) dimasukkan ke dalam *beaker glass* dihomogenkan menggunakan *homogenizer*. Fase B dicampurkan dengan fase A menggunakan *homogenizer* sampai terbentuk *cream* yang halus dan kental. Fase C (lecithin, nipagin, gliserin, *essential oil* (lavender) dimasukkan ke dalam *beaker glass* dihomogenkan menggunakan *homogenizer* lalu dimasukkan ke dalam campuran fase A dan B kemudian diaduk rata, *cream* yang terbentuk dimasukkan ke dalam wadah dan

dilakukan uji SPF dan uji iritasi. Proses pembuatan *eye contour cream* dapat dilihat pada lamiran 4.

### 3. Uji Tabir Surya

Penentuan nilai SPF dihitung secara *in vitro* dengan cara mengukur serapan larutan dari tiap formula dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis. Sediaan ditimbang sebanyak 0,1 gram diencerkan dengan *aquadest* hingga 10 mL (Rahmawati *et al.*, 2018). Spektrofotometer UV-Vis dikalibrasi terlebih dahulu dengan menggunakan *aquadest*. *Aquadest* sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam kuvet. Dibuat kurva serapan uji dalam kuvet dengan panjang gelombang antara 290-320 nm, *aquadest* digunakan sebagai blanko. Kemudian tetapkan serapan rata-ratanya dengan interval 5 nm. Hasil absorbansi masing-masing konsentrasi krim dicatat dan kemudian nilai SPFnya dihitung. Penentuan nilai SPF dilakukan sebanyak tiga kali replikasi pada masing-masing formula. Data yang diperoleh diolah dengan persamaan Mansur (Puspitasari *et al.*, 2018). Hasil uji spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada lampiran 5.

### 4. Uji Iritasi

#### a. Penyiapan hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah kelinci albino jantan yang sehat dan dewasa, berat sekitar 2 kg. Hewan uji ditempatkan pada kandang individual (1 kandang untuk 1 ekor). Sekurang-kurangnya 24 jam sebelum pengujian, bulu hewan harus dicukur pada daerah

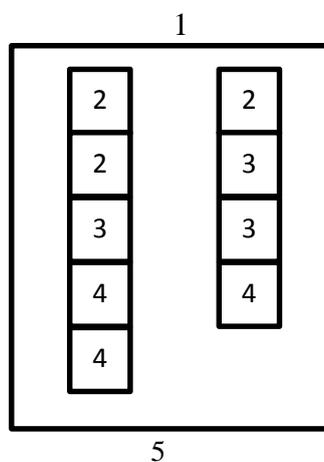
punggung seluas lebih kurang 10 x 15 cm atau tidak kurang 10% dari permukaan tubuh untuk tempat pemaparan sediaan uji. Hewan yang digunakan untuk percobaan adalah hewan yang mempunyai kulit yang sehat, tidak adanya eritema (kemerahan pada kulit) dan edema (akumulasi abnormal cairan di bawah kulit). Hewan uji yang digunakan pada penelitian diperlakukan sesuai dengan hasil *Ethical Clearance*. Surat *Ethical Clearance* dapat dilihat pada lampiran 6. Surat keterangan hewan uji dapat dilihat pada lampiran 7.

b. Sediaan uji

Sediaan yang digunakan untuk uji sebanyak 0,5 g untuk masing-masing area kulit kelinci.

c. Cara pemberiaan sediaan uji

Sediaan uji dipaparkan di area kulit seluas  $\pm 9$  (2x3) cm<sup>2</sup>, kemudian lokasi pemaparan ditutup dengan kasa dan di plester dengan plester yang bersifat *non-iritan*. Lokasi pemaparan sediaan uji dapat dilihat pada gambar 3.1.



**Gambar 3. 1 Lokasi Pemaparan Sediaan Uji**

Keterangan :

1. Kepala
2. Lokasi pemaparan kontrol
3. Lokasi pemaparan sediaan F1
4. Lokasi pemaparan sediaan F2
5. Ekor

d. Tahapan Uji

Uji dilakukan dengan menggunakan 1 hewan uji. Sediaan dioleskan 1 kali pada punggung hewan uji pada masing-masing lokasi pemaparan. Setelah 1 jam, 3 jam, 24 jam, 48 jam, 78 jam sampai 14 hari, gejala yang timbul diamati satu persatu seperti kemerahan, gatal-gatal dan pembengkakan pada kulit kelinci.

e. Pengamatan Klinis dan Penilaian dari Reaksi Kulit

Hewan uji harus diamati ada atau tidaknya eritema dan udema, penilaian respon dilakukan pada jam ke 1, 3, 24, 48, dan 72 setelah pembukaan plester *non-iritan*. Jika kerusakan kulit tidak dapat diidentifikasi sebagai iritan atau korosi pada jam ke 72, pengamatan dapat dilanjutkan sampai hari ke 14 untuk menentukan reversibilitas.

f. Evaluasi Hasil

Skor iritasi kulit yang harus dievaluasi adalah terhadap tingkat keparahan luka, ada atau tidaknya reversibilitas. Skor individu tidak mewakili standar absolut untuk sifat iritan dari sediaan uji. Dilakukan evaluasi efek-efek lain dari sediaan uji, skor individual harus dilihat sebagai nilai referensi. Skor iritasi (Indeks Iritasi Primer) sediaan uji adalah kombinasi dari seluruh observasi dari pengujian. Indeks Iritasi Primer dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Indeks Iritasi Primer} = A-B$$

Keterangan :

- A : Jumlah ekor eritema dan edema seluruh titik pengamatan sampel pada jam ke 1, 3, 24, 48, dan 72 dibagi jumlah pengamatan.
- B : Jumlah ekor eritema dan edema seluruh titik pengamatan kontrol (Sediaan tanpa minyak biji labu kuning) pada jam ke 1, 3, 24, 48, dan 72 dibagi jumlah pengamatan.

#### **F. Analisis Data**

Data yang diperoleh yaitu nilai SPF dari masing-masing formula, selanjutnya dilakukan analisis data untuk mengetahui perbedaan perlakuan menggunakan uji statistik. Sebelum dilakukan analisis, data terlebih dahulu dilakukan uji normalitas data dan homogenitas data. Bila data normal maka dilakukan uji statistik parametrik menggunakan *independent t-test*.