

BAB III

METODE PENELITIAN

A. DESAIN PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorium dengan sampel minyak biji labu kuning (*Cucurbita moschata Seed Oil*). Tahapan penelitian ini terdiri dari penentuan formula nanoemulsi, formula *sunscreen spray gel*, uji karakteristik fisik, stabilitas dan nilai SPF tabir surya.

B. LOKASI PENELITIAN

1. Skrining fitokimia minyak biji labu kuning dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.
2. Formulasi nanoemulsi dilakukan di Laboratorium Teknologi Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.
3. Pengujian karakteristik fisik nanoemulsi minyak biji labu kuning meliputi organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, dilakukan di Laboratorium Teknologi Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo. Uji ukuran partikel dan PDI dilakukan di Laboratorium Instrumen Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.
4. Formulasi *sunscreen spray gel* dan uji karakteristik fisik meliputi organoleptis, pH, homogenitas, viskositas, pola penyemprotan waktu kering, sineresis, daya lekat dan uji stabilitas *cycling test* dilakukan di Laboratorium Teknologi Program Studi Farmasi Universitas Ngudi

Waluyo. Uji stabilitas *sunscreen spray gel* dilakukan di Laboratorium Biologi Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.

5. Penentuan nilai SPF menggunakan Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu UV-1800®) dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo

C. SUBJEK PENELITIAN

Sampel dalam penelitian ini menggunakan minyak biji labu kuning (*Cucurbita moschata Seed Oil*) yang diperoleh dari PT. Saraswati Indo Genetech yang digunakan sebagai pembuatan nanoemulsi *sunscreen spray gel* minyak biji labu kuning sebagai tabir surya.

D. DEFINISI OPERASIONAL

1. Minyak biji labu kuning diperoleh dari PT. Saraswati Indo Genetech.
2. Nanoemulsi minyak biji labu kuning merupakan formulasi nanoemulsi yang dibuat dengan menggunakan zat aktif minyak biji labu kuning (1%), fase minyak VCO (0,03%), surfaktan tween 80 (9%) dan span 80 (1%) serta fase air dari aquadest (87%).
3. Karakteristik fisik nanoemulsi minyak biji labu kuning antara lain uji ukuran partikel, indeks polidispersitas (PDI), pH dan viskositas.
4. *Sunscreen spray gel* minyak biji labu kuning ialah formulasi tabir surya yang dibuat dengan menggunakan nanoemulsi minyak biji labu kuning sebagai zat aktif dengan konsentrasi F1 sebesar 1% dan F2 sebesar 5%, dengan basis carbopol 940, triethanolamine, propilen glikol, metil paraben, oleum rose dan aquadest.

5. Karakteristik fisik *sunscreen spray gel* minyak biji labu kuning terdiri dari uji organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya lekat, waktu kering, sineresis dan pola penyemprotan.
6. Stabilitas adalah penentuan stabilitas fisik dari *sunscreen spray gel* minyak biji labu kuning menggunakan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit dan *cycling test* selama 6 siklus pada suhu 4°C selama 24 jam dilanjutkan dengan suhu 40°C 24 jam.
7. Aktivitas tabir surya secara *in vitro* adalah penentuan nilai SPF formula *sunscreen spray gel* nanoemulsi minyak biji labu kuning dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis yang kemudian dihitung berdasarkan persamaan Mansur.

E. VARIABEL PENELITIAN

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi nanoemulsi minyak biji labu kuning pada sediaan *sunscreen spray gel* formula 1 sebanyak 1% dan formula 2 sebanyak 5 %.

2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah karakteristik fisik meliputi organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, ukuran partikel, PDI, pola penyemprotan, daya lekat sebar dan waktu kering; stabilitas dan nilai SPF *sunscreen spray gel*.

3. Variabel Terkontrol

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah suhu, waktu, kelembaban dan sinar.

F. ALAT DAN BAHAN

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain, tabung reaksi (Iwaki), rak tabung reaksi, neraca analitik (OHAUS), mikropipet (Mettler Toledo), *ultra turrax* (IKA T25), *beaker glass* (Iwaki), *Particle Size Analyzer* (PSA), kuvet (Quartz Cuvettes), *viscometer brookfield* (DV2T), Homogenizer (IKA), *object glass* (One Lab), cawan (RAS), *stopwatch* (Merk), *sentrifuge* (Gemmy 12hole), kulkas, klimatik chamber (Memmert), Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1900), labu ukur 5 mL (Iwaki).

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, minyak biji labu kuning (PT. Saraswati Indo Genetech), HCl (p.a,Merck), Mg (p.a, Merck), VCO (Teknis MKR), aqua pro injeksi (Teknis MKR), tween 80 (Teknis MKR) dan span 80 (Teknis MKR), carbopol 940 (Teknis MKR), triethaolamine (Teknis MKR), propilen glikol (Teknis MKR), metil paraben (Teknis MKR), oleum rosae (Teknis MKR) dan etanol p.a 98% (Teknis MKR).

G. PROSEDUR KEJA

1) Skrining Fitokimia Flavonoid

Minyak biji labu kuning sebanyak 0,5 mL ditambahkan pereaksi 2 mg Mg dan 10-15 tetes HCl lalu digojok. Jika warna berubah menjadi merah, orange hingga kuning artinya positif flavonoid (Fauzi *et al.*, 2021).

2) Formulasi Nanoemulsi Minyak Biji Labu Kuning

Formula yang digunakan mengacu pada peneliti sebelumnya (Hartati *et al.*, 2016), kemudian pada penelitian ini formula yang digunakan terdapat pada tabel 3.1.

Tabel 3. 1 Formula Nanoemulsi Minyak Biji Labu Kuning

Komponen	Fungsi	Konsentrasi (%)
MBLK	Zat Aktif	3
VCO	Fase Minyak	0,03
Tween 80	Surfaktan	9
Span 80	Surfaktan	1
Aquadest	Fase Air	Ad 100

Keterangan:

MBLK : Minyak Biji Labu Kuning

VCO : *Virgin Coconut Oil*

Pembuatan nanoemulsi dengan cara dicampur dan diaduk tween 80, span 80, minyak biji labu kuning dan *Virgin Coconut Oil* (VCO) hingga homogen, ditambah air dan diaduk. Campuran yang sudah jadi diperkecil ukuran partikelnya dengan menggunakan *ultra turrax* selama 60 menit, kecepatan 1000 rpm. Sediaan nanoemulsi yang sudah jadi diuji karakteristik fisiknya.

3) Evaluasi Karakteristik Nanoemulsi

a. Uji pH

Pengujian pH pada sediaan menggunakan indikator pH meter. Tujuannya untuk mengevaluasi pH sediaan dengan persyaratan pH sediaan topikal (4,5-7) (Suyudi, 2014). pH meter dikalibrasi dengan larutan pH 4,7 dan 10 secara bergantian. Pengenceran sampel yang diuji dengan perbandingan 1:1 yaitu sampel sebanyak 5 gram dan aquadest 5 mL (Kresnawati *et al.*, 2022)

b. Uji Ukuran partikel dan indeks polidispersitas (PDI)

Pengujian menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA), sebanyak 3 mL sediaan nanoemulsi dimasukkan ke dalam kuvet untuk tempat sampel, kemudian dilakukan pengukuran ukuran globul dan PDI (Wu & Volker, 2009)

c. Uji Viskositas

Pengujian menggunakan *viskometer brookfield DV2T* spindel no 63 dengan kecepatan 60 rpm (Nurhidayati *et al.*, 2020)

4) Formulasi *Sunscreen Spray Gel*

Formula yang digunakan untuk membuat *sunscreen spray gel* mengacu pada peneliti sebelumnya yaitu (Cendana *et al.*, 2021) dan (Kresnawati *et al.*, 2022), pada penelitian ini formula yang digunakan terdapat pada tabel 3.2.

Tabel 3. 2. Formula *Sunscreen Spray gel*

Komponen	Fungsi	F1 (%)	F2 (%)
NMBLK	Zat Aktif	1	5
Carbopol 940	<i>Gelling agent</i>	0,1	0,1
Triethanolamine	<i>Alkalizing agent</i>	0,1	0,1
Propilen glikol	<i>Humectant</i>	15	15
Metil paraben	Pengawet	0,2	0,2
Oleum rosae	Pewangi	4	4
Aquadest	Pelarut	Ad 100	Ad 100

Keterangan :

NMBLK : Nanoemulsi Minyak Biji Labu Kuning

Pembuatan sediaan *sunscreen spray gel* nanoemulsi minyak biji labu kuning dilakukan dengan melarutkan metil paraben dalam 20 bagian air panas suhu 100°C, campurkan metil paraben yang sudah larut dengan carbopol 940 di atas penangas hingga homogen. TEA ditambahkan sampai terbentuk massa gel yang transparan, lalu menambahkan propilen glikol, nanoemulsi minyak biji labu kuning dan oleum rose 4 tetes dan aquadest sampai volumenya mencapai 100 mL. Pengadukan dilanjutkan dengan menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan 100 rpm selama 30 menit sampai homogen.

5) Evaluasi karakteristik fisik *Sunscreen spray gel*

a. Uji organoleptis

Pengujian organoleptis terhadap *sunscreen spray gel* dilakukan dengan mengamati bentuk fisik antara lain warna, bau, konsistensi, kejernihan, dan adanya pemisahan (Puspita *et al.*, 2020).

b. Uji homogenitas

Pengujian homogenitas ditujukan untuk mengevaluasi adanya partikel atau zat yang belum tercampur secara merata. Pengujian

dilakukan dengan menggunakan sekeping kaca preparat transparan (Puspita *et al.*, 2020).

c. Uji pH

Pengujian pH pada sediaan menggunakan indikator pH meter. Tujuannya untuk mengevaluasi pH dengan rentang persyaratan pH sediaan topikal (4,5-7) (Puspita *et al.*, 2020). Elektroda dikalibrasi dengan pH 4,7 dan 10. Pengenceran sampel yang diuji dengan perbandingan 1:1 yaitu sampel sebanyak 5 gram dan aquadest 5 mL (Kresnawati *et al.*, 2022)

d. Uji Viskositas

Sejumlah 100 gram *sunscreen spray gel* diukur viskositas menggunakan *viskometer brookfield* dengan spindel no 64, kecepatan 50 rpm. Viskositas yang baik untuk *sunscreen spray gel* memiliki rentang 500 – 5000 cps (Angelia *et al.*, 2022)

e. Uji pola penyemprotan

Uji pola penyemprotan dilakukan dengan menyemprotkan *spray gel* pada lembaran plastik mika yang diketahui beratnya. Penyemprotan dilakukan pada jarak 3, 5, 10 dan 15 cm. Hasil penyemprotan sediaan diukur diameternya dan berat sediaan yang menempel pada plastik dihitung sebagai banyaknya formula yang dikeluarkan (gram) setiap semprotan (Zakaria *et al.*, 2022).

f. Uji daya sebar lekat

Pengujian daya sebar lekat sediaan *spray gel* menggunakan permukaan kulit pada bagian lengan atas. Pengujian dilakukan dengan cara menyemprotkan sediaan pada jarak 3 cm. Kelekatan pada permukaan kulit bagian lengan atas, dihitung selama 10 detik (Zakaria *et al.*, 2022).

g. Waktu kering

Uji waktu kering sediaan *sunscreen spray gel* dengan menggunakan permukaan kulit pada bagian lengan atas bersamaan dengan pengujian daya sebar lekat, waktu kering dihitung dengan menggunakan *stopwatch* hingga sediaan mengering. Waktu yang didapatkan merupakan waktu yang dibutuhkan untuk sediaan hingga mengering (Ramadhani & Listiyanti, 2021).

h. Uji Sineresis

Uji sineresis dilakukan dengan mengamati keluarnya air dari sediaan selama penyimpanan gel pada suhu $\pm 10^{\circ}\text{C}$ di kulkas selama 24, 48 dan 72 jam. Setiap sediaan gel ditempatkan pada cawan untuk menampung air yang dibebaskan dari dalam gel selama penyimpanan (Sri & Praptiwi, 2014).

i. Uji Ukuran partikel dan indeks polidispersitas (PDI)

Sebanyak 3 mL sediaan nanoemulsi dimasukkan ke dalam kuvet untuk tempat sampel, kemudian dilakukan pengukuran ukuran globul dan PDI (Wu & Volker, 2009).

6) Uji stabilitas

a. Stabilitas Mekanik

Pengujian stabilitas mekanik dilakukan untuk mengevaluasi adanya pemisahan fase pada sediaan. Uji dilakukan dengan menggunakan tabung sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 30 menit (Sinko, 2007).

b. *Cycling test*

Cycling test dilakukan dengan menyimpan sediaan pada suhu ekstrim. Sediaan *sunscreen spray gel* disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam dilanjutkan dengan suhu 40°C 24 jam berikutnya. Perlakuan ini disebut sebagai 1 siklus. Pengujian sebanyak 6 siklus kemudian dievaluasi pH, viskositas, homogenitas dan organoleptik pada awal dan akhir siklus pengujian (Sani *et al.*, 2021).

7) Uji aktivitas tabir surya

Uji aktivitas tabir surya dengan menentukan nilai SPF dilakukan secara *in vitro*. Sebanyak 5 mg setiap formulasi dilarutkan dalam 5 mL etanol p.a 96 %. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV Vis pada panjang gelombang 290 – 320 nm dengan interval 5 nm dan etanol p.a 96 % sebagai blangko (Jumsurizal *et al.*, 2019).

H. ANALISIS DATA

Analisis data karakteristik fisik sediaan *sunscreen spray gel* minyak biji labu kuning (*Cucurbita moschata Seed Oil*) yang diolah menggunakan SPSS versi 26 dan dianalisis menggunakan anova satu jalan. Data disajikan secara deskriptif. Nilai SPF sediaan *sunscreen spray gel* diolah menggunakan SPSS versi 26 dan diuji normalitas serta homogenitas datanya. Jika data normal dan homogen, dilanjutkan dengan ANOVA satu jalan taraf kepercayaan sebesar 95%.