BAB 4

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental *post-test* only. Penelitian didasarkan pada manipulasi variabel bebas, kemudian mengukur efek pada variabel terikat.

4.2 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian, dibagi menjadi dua, yaitu:

- 1. Variabel Terikat, terdiri dari nilai SPF yang dihasilkan esktrak etanol 70% rimpang temu mangga (Curcuma mangga), nilai SPF krim tabir surya ekstrak etanol 70% rimpang temu mangga (Curcuma mangga) dan penurunan nilai SPF ekstrak etanol 70% rimpang temu mangga (Curcuma mangga) dan nilai SPF krim tabir surya ekstrak etanol 70% rimpang temu mangga (Curcuma mangga).
- Variabel Bebas, terdiri dari berbagai konsentrasi ekstrak etanol 70% rimpang temu mangga (*Curcuma mangga*) yaitu 1250 ppm, 2500 ppm, 3750 ppm dan 5000 ppm.

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Fitoterapi Program Studi Farmasi untuk ekstraksi, Laboratorium Farmasetika Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pembuatan sediaan krim dan pengukuran nilai SPF. Penelitian dilakukan selama ± 5 bulan.

4.4 Alat dan Bahan

4.4.1 Alat

4.4.1.1 Alat Ekstraksi

Peralatan yang digunakan untuk ekstraksi metode maserasi adalah toples kaca untuk tempat perendaman serbuk simplisia yang telah dicampur pelarut. Overhead Stirer untuk mengaduk rendaman agar tercampur homogen. Gelas ukur untuk mengukur jumlah pelarut yang akan digunakan. Timbangan digital untuk menimbang serbuk simplisia yang akan digunakan sesuai kebutuhan. Kain digunakan untuk menyaring rendaman agar diperoleh filtrat. Toples kaca digunakan sebagai tempat filtrat. Rotary evaporator untuk pengentalan ekstrak. Oven untuk menghilangkan kadar air didalam ekstrak. Cawan petri untuk tempat ekstrak kental.

4.4.1.2 Alat untuk Pembuatan Krim

Peralatan yang digunakan adalah Timbangan digital untuk menimbang bahan- bahan krim yang akan digunakan. Beaker glass dan gelas arloji untuk menempatkan bahan- bahan setelah ditimbang. Cawan petri untuk tempat peleburan bahan krim. Penangas air untuk meleburkan bahan krim. Overhead stirer untuk menghomogenkan krim. Pipet tetes digunakan untuk mengambil pewangi secukupnya.

4.4.1.3 Alat untuk Uji Sediaan

Peralatan yang digunakan adalah spektrofotometer untuk mengukur nilai SPF ekstrak etanol 70% temu mangga dan krim ekstrak etanol 70% temu mangga. pHmeter untuk mengukur pH krim. Kaca persegi untuk mengukur daya sebar krim, sentrifuse untuk menguji rasio pemisahan krim, erlenmeyer untuk uji

BRAWIJAYA

determinasi krim air dalam minyak, kaca preparat untuk menguji homogenitas krim.

4.4.2 Bahan

4.4.2.1 Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah serbuk rimpang temu mangga (Curcuma mangga) diperoleh dari Materia Medika Batu dan perlarut etanol 70% analitycal grade.

4.4.2.2 Bahan Formulasi Krim

Sebelum melakukan formulasi, dilakukan optimasi formulasi untuk mengetahui formula yang paling baik. Bahan formulasi krim yang utama digunakan adalah Asam Stearat, Paraffin Liquidum, Vaselin album, Span 80, Propilenglikol, Metil Paraben, Propil Paraben, Pewangi, dan Aquades.

4.5 Definisi Operasional

- 1. Ekstrak etanol 70% temu mangga (Curcuma mangga) merupakan hasil dari metode maserasi serbuk simplisa temu mangga dengan memakai pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:8.
- Krim A, B,C, dan D adalah krim dengan formula sama tetapi dengan jumlah ekstrak yang berbeda.
- 2. Sun Protection Factor merupakan nilai untuk menunjukkan efektifitas dari suatu sediaan tabir surya yang didefinisikan sebagai jumlah energi UV yang dibutuhkan untuk mencapai Minimal Erythema Dose (MED) pada kulit yang dilindungi oleh suatu tabir surya, dibagi dengan jumlah energi UV yang dibutuhkan untuk mencapai MED pada kulit yang tidak diberikan

BRAWIJAYA

- perlindungan. Penentuan nilai SPF secara in vitro menggunakan metode spektrofotometri.
- Spektrofotometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur absorban dari ekstrak etanol 70% temu mangga dan krim ekstrak etanol 70% temu mangga. Absorban digunakan untuk menghitung nilai SPF.

4.6 Rancangan Formula

Tabel 4.1 Formula Sediaan Krim

Nama Bahan	Fungsi Bahan	Krim A	Krim B	Krim C	Krim D
Ekstrak Etanol	Zat aktif	1,25 %	2,5%	3,75%	5%
70 % Temu				Y	
Mangga	_	A Phi			
Asam Stearat	Basis minyak	8%	8%	8%	8%
Paraffin	Basis minyak	45%	45%	45%	45%
Liquidum	ا کے ک				
Span 80	Emulgator	5%	5%	5%	5%
Vaselin album	Emolient	4%	4%	4%	4%
Propilenglikol	Humektan	7%	7%	< 7%	7%
Metil Paraben	Pengawet	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%
Propil Paraben	Pengawet	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%
Pewangi	Pewangi	Qs	Qs	Qs	Qs
Aquades	Basis air	Ad 100%	Ad 100%	Ad 100%	Ad 100%
Berat krim	20 gram				

Dasar pemilihan bahan – bahan yang digunakan dalam formulasi :

1. Asam stearat

Asam sterat sering digunakan pada formulasi topikal, digunakan sebagai agen pengemulsi yang sekaligus dapat menjadi basis krim

2. Paraffin Liquidum

Paraffin liquidum merupakan eksipien yang sering digunakan sebagai eksipien pada formulasi topikal dimana bahan emollient dibutuhkan pada basis krim.

3. Vaselin Album

Vaselin album digunakan sebagai emollient pada formulasi topikal.

4. Propilenglikol

Propilenglikol digunakan untuk meningkatkan penyebaran krim pada kulit untuk meningkatkan aseptibilitas krim pada kulit.

5. Metil Paraben dan Propil Paraben

Kombinasi metil paraben dan propil paraben merupakan kombinasi yang bagus karena merupakan kombinasi sinergis yang dapat memperluas spektrum anti mikroba.

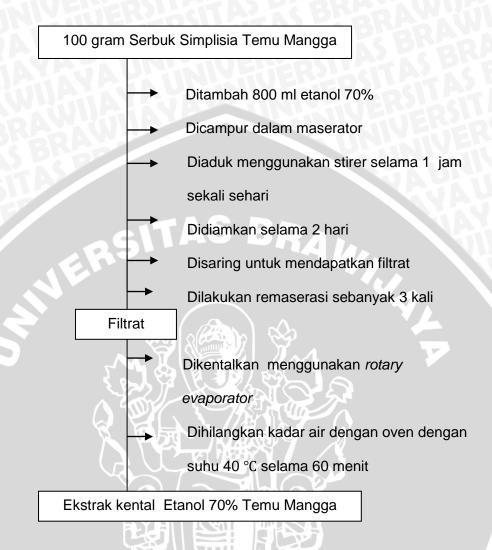
6. Span 80

Ester asam lemak sorbitan monooleat (Span 80) adalah emulgator nonionik yang larut dalam minyak yang menunjang terbentuknya emulsi A/M, karena memiliki nilai HLB yang rendah (HLB=4,3).

4.7 Cara Kerja

4.7.1 Pembuatan Ekstrak etanol 70% temu mangga (Curcuma mangga)

Ekstraksi serbuk rimpang temu mangga (Curcuma mangga) dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Sebanyak 100 gram serbuk rimpang temu mangga ditambah 800 mL bagian etanol 70% v/v dengan Kemudian dicampur di maserator. Diaduk perbandingan 1:8. dalam menggunakan overhead stirer selama 1 jam satu kali sehari agar dicapai keadaan yang homogen. Kemudian didiamkan selama 2 hari. Setelah itu disaring dengan kain untuk mendapatkan filtrat. Kemudian remaserasi dilakukan sampai 3 kali. Filtrat yang dihasilkan dikumpulkan menjadi satu. Kemudian dikentalkan menggunakan rotary evaporator. Setelah itu didihilangkan kadar menggunakan oven dengan suhu 40°C selama 60 menit. Kemudian didapatkan ekstrak kental etanol 70% temu mangga.



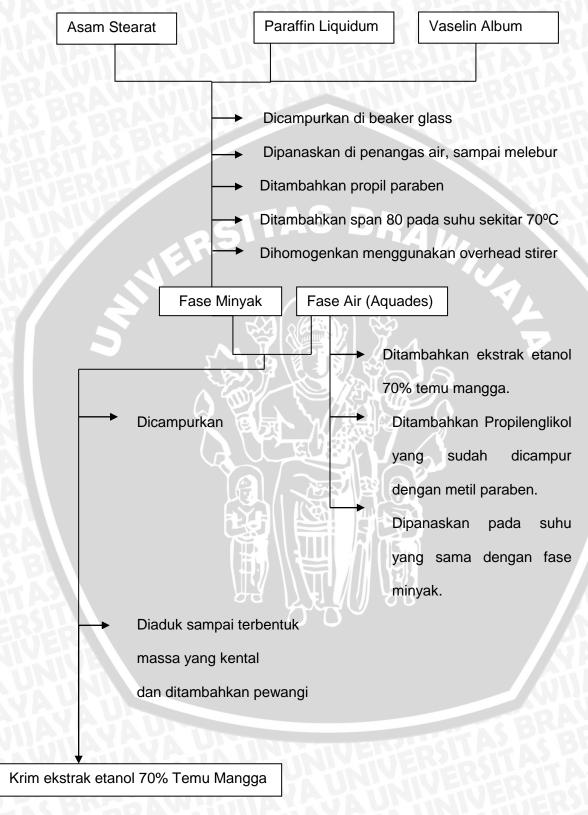
Gambar 4.1 Skema Pembuatan ekstrak etanol 70% temu mangga

4.7.2 Pembuatan sediaan krim

Fase minyak yaitu asam stearat, paraffin liquidum dan vaselin album dipanaskan diatas penangas, ditunggu sampai melebur. Diukur suhunya pada suhu 70°C kemudian ditambahkan span 80 dan propil paraben. Diaduk sampai homogen menggunakan *overhead stirer*. Ekstrak kental temu mangga dicampurkan dengan air. Kemudian propilenglikol digunakan untuk melarutkan metil paraben. Kemudian campuran propilenglikol dan metil paraben ditambahkan pada fase air yang berisi

ekstrak kental temu mangga. Dipanaskan pada suhu 70°C. Kemudian fase air dicampurkan pada fase minyak pada suhu yang sama sedikit demi sedikit sambil dihomogenkan menggunakan *overhead stirer*. Ditunggu sampai terbentuk krim. Saat menjelang dingin krim ditambahkan dengan pewangi.





Gambar 4.2 Skema pembuatan krim ekstrak etanol 70% temu mangga

4.8 Evaluasi Sediaan

4.8.1 Uji Sediaan

4.8.1.1 Uji Organoleptis

Tujuan

Untuk mengetahui karakteristik sediaan baik konsistensi, bau dan warna krim.

Metode

Uji organoleptik dilakukan dengan cara identifikasi konsistensi, bau dan warna krim yang diamati secara deskriptif (Setiawan, 2010)

Penafsiran Hasil

Didapatkan sediaan krim yang kental, dengan warna putih serta bau yang wangi.

4.8.1.2 Uji pH

Tujuan

Uji pH dilakukan dengan tujuan mengetahui pH sediaan krim dan kesesuaian dengan pH kulit wajah.

Metode

Uji pH menggunakan pHmeter. pH meter yang telah dikalibrasi dengan pH buffer, kemudian dicelupkan ke dalam aquades untuk dibersihkan. Kemudian dicelupkan kedalam krim sampai pH meter membaca nilai pH Krim yang stabil. Pengujian pH dilakukan pada setiap replikasi setiap krim (Martin, 1961).

Penafsiran Hasil

Didapatkan sediaan dengan pH yang sesuai dengan pH kulit wajah yaitu 4.5 – 6,5. Apabila pH terlalu asam maka kulit akan iritasi apabila pH terlalu basa maka kulit akan bersisik.

4.8.1.3 Uji Daya Sebar

Tujuan

Untuk mengetahui homogenitas sediaan krim.

Metode

Sebanyak 0,5 gram basis diletakkan ditengah alat (kaca bulat). Kaca penutup ditimbang, kemudiaan diletakkan di atas basis, dibiarkan selama 1 menit. Diameter penyebaran basis diukur dengan mengambil panjang rata- rata diameter dari beberapa sisi. Beban tambahan seberat 50,100 gram, 200 gram, dan 500 gram diletakan diatas basis secara bergantian, didiamkan selama 1 menit dan dicatat diameter penyebaran basis setiap tiap beban (Shovyana dan Karim, 2013).

Penafsiran Hasil

Didapatkan sediaan krim yang homogen dilihat dengan tidak adanya gumpalan.

4.8.1.4 Uji Rasio Pemisahan Krim

Tujuan

Untuk mengetahui stabilitas emulsi sediaan krim

Metode

Basis dimasukkan ke dalam tabung sentrifuse berskala sampai skala tertentu kemudian dilakukan uji stabilitas emulsi yang dipercepat

BRAWIJAYA

menggunakan alat sentrifugasi. Alat dikondisikan dengan kecepatan 10.000 rpm dengan suhu 25 °C dengan waktu 10 menit. Tetapi dikarenakan keterbatasan alat maka digunakan kecepatan 2687 rpm pada suhu 25 °C dengan waktu 30 menit (Joshie and Barhate, 2011).

Penafsiran Hasil

Didapatkan sediaan krim yang memiliki stabilitas yang baik yaitu dengan tidak adanya pemisahan krim.

4.8.1.5 Determinasi Tipe Emulsi Krim Air Dalam Minyak

Tujuan

Untuk menentukan tipe emulsi krim air dalam minyak.

Metode

Determinasi tipe emulsi krim menggunakan metode pengenceran. Satu tetes krim diteteskan ke dalam 30 ml air. Krim tipe a/m tidak akan terdistribusi merata pada permukaan air. Kemudian satu tetes krim diteteskan kedalam 30 ml minyak. Krim tipe a/m akan terdistribusi merata pada permukaan minyak. (Shovyana dan Karim, 2013).

Penafsiran Hasil

Krim tidak akan terdistribusi merata pada permukaan air sehingga didapatkan sediaan krim dengan tipe emulsi krim air dalam minyak.

4.8.1.6 Uji Homogenitas Fisik

Tujuan

Untuk mengetahui homogenitas krim.

Metode

Uji Homogenitas dilakukan dengan cara mengoleskan 0,5 gram sediaan krim pada kaca objek kemudian diamati.

Penafsiran Hasil

krim tampak homogen secara fisik karena distribusi partikel merata di kaca objek Hal ini dibuktikan dengan tidak adanya gumpalan pada krim

4.8.2 Uji Nilai SPF

4.8.2.1 Uji Nilai SPF ekstrak etanol 70% temu mangga (Curcuma mangga)

Penentuan efektivitas tabir surya dilakukan dengan menentukan nilai SPF secara in vitro dengan spektrofotometri *UV-Vis*.

Prosentase Konsentrasi ekstrak didapatkan dari perhitungan berikut ini :

Ditentukan konsentrasi ekstrak sebesar 1250 ppm, 2500 ppm, 3750 ppm,
dan 5000 ppm.

Metode

- 1. Ekstrak etanol Curcuma mangga Diambil sebanyak 0,0125 gram, 0,025 gram, 0,0375 gram dan 0,05 gram.
- Kemudian diencerkan dengan etanol 70% hingga 10 mL (1250 ppm, 2500 ppm, 3750 ppm dan 5000 ppm)
- 3. Spektrofotometer *UV-Vis* dikalibrasi terlebih dahulu dengan menggunakan etanol 70%.
- 4. Dimasukkan etanol 70% sebanyak 1 ml kedalam kuvet kemudian kuvet dimasukkan kedalam spektrofotometer *UV-Vis* untuk proses kalibrasi.
- Dibuat kurva serapan uji dalam kuvet, dengan panjang gelombang antara
 290-320 nm, gunakan etanol 70% sebagai blanko.
- 6. Kemudian tetapkan serapan rata- ratanya (Ar) dengan interval 5 nm.
- 7. Hasil absorbansi masing-masing konsentrasi krim dicatat dan kemudian nilai SPFnya dihitung.

BRAWIJAY

4.8.2.2 Uji Nilai SPF Krim ekstrak etanol 70% temu mangga (Curcuma mangga)

Penentuan efektivitas tabir surya dilakukan dengan menentukan nilai SPF secara in vitro dengan spektrofotometri *UV-Vis*.

Metode

- 1. Krim ditimbang sebanyak 125 mg, 250 mg, 375 mg dan 500 mg.
- 2. Masing masing krim dipindahkan ke labu ukur 100 ml kemudian diencerkan dengan etanol p.a 70%.
- 3. Selanjutnya, dilakukan ultrasonication selama 5 menit .
- 4. Kemudian dilakukan sentrifugasi selama 5 menit.
- 5. Diukur nilai absorbansinya menggunakan alat spektrofotometer.
- 6. Spektrum absorbansi sampel dalam bentuk larutan diperoleh pada kisaran 290-320 nm, setiap 5 Interval nm.

4.9 Analisis Data

Data dianalisis secara deskriptif dalam bentuk narasi, tabel atau grafik.

Untuk analisa data nilai SPF sediaan krim menggunakan perhitungan SPF menggunakan metode mansur (Mansur *et al.*, 1986):

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

Rumus perhitungan nilai SPF (Mansur et al., 1986)

Keterangan;

EE : Erythemal effect spectrum : Solar intensity spectrum

Abs : Absorbance of sunscreen product

CF : Correction factor (= 10)

Nilai EE X I adalah konstan. Ditentukan oleh Sayre *et al.*, (1979) dan ditunjukkan pada tabel berikut :

Tabel 4.2 Normalized Product Function digunakan pada kalkulasi SPF

No.	Panjang Gelombang (λ nm)	EE X I
1.	290	0.0150
2.	295	0.0817
3.	300	0.2874
4.	305	0.3278
5.	310	0.1864
6.	315	0.0839
7.	320	0.0180
	Total	1

(Sayre et al., 1979)

Keterangan:

EE : Erythemal Effect Spectrum
I : solar Intensity Spectrum

Cara perhitungan:

- 1. Nilai serapan yang diperoleh dikalikan dengan nilai EE x I untuk masing masing panjang gelombang yang terdapat pada tabel diatas.
- 2. Hasil perkalian serapan dan EE x I dijumlahkan.
- 3. Hasil penjumlahan kemudian dikalikan dengan faktor koreksi yang nilainya 10 untuk mendapatkan nilai SPF sediaan.

Untuk analisa data menggunakan analisa statistik anova one way untuk mengetahui perbedaan rata-rata nilai SPF krim yang didapatkan terhadap konsentrasi ekstrak yang digunakan. Nilai p ditentukan sebesar 5% atau 0,05. Asumsi-asumsi One Way ANOVA:

- Populasi yang akan diuji berdistribusi normal.
- Varians dari populasi-populasi tersebut adalah sama.

Sampel tidak berhubungan satu dengan yang lain.

Hipotesis statistik pada penelitian ini adalah:

= Tidak ada perbedaan nilai Sun Protecting Factor krim tabir surya Ho ekstrak etanol 70% temu mangga (Curcuma mangga) pada tiap konsentrasi ekstrak etanol 70% temu mangga (Curcuma mangga).

= Ada perbedaan nilai Sun Protecting Factor krim tabir surya ekstrak etanol 70% temu mangga (Curcuma Mangga) pada tiap konsentrasi ekstrak etanol 70% temu mangga (Curcuma mangga).

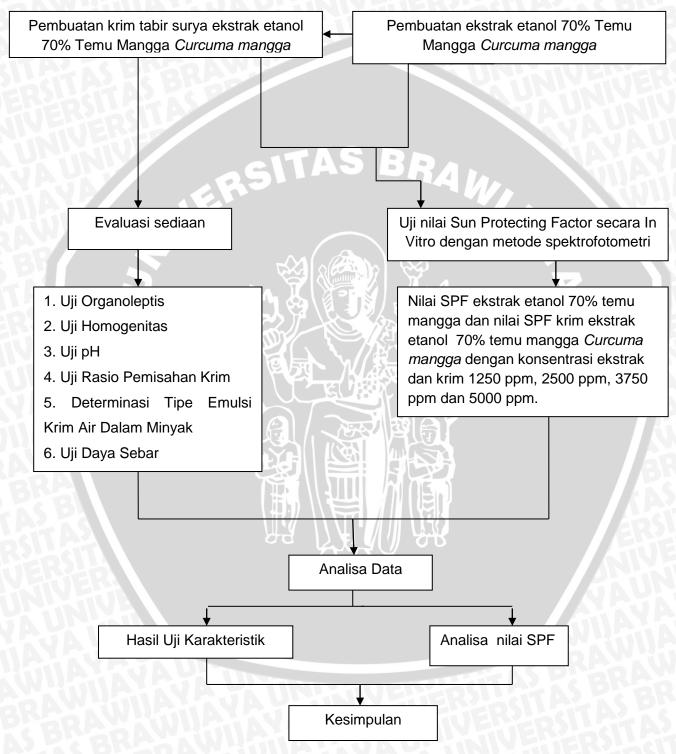
Kemudian menghitung nilai distribusi (Fhitung) berdasarkan perbandingan varian antar kelompok dan varian dalam kelompok. Selain itu, F berdasarkan tabel (Ftabel) juga dihitung menggunakan tabel distribusi-F. Kemudian membandingkan F hitung dengan F tabel:

Jika Fhitung > Ftabel : tolak H₀

Jika Phitung ≤ Ptabel : terima H_o

Apabila didapatkan hasil bahwa H₀ diterima maka dilanjutkan dengan analisis menggunakan uji Honestly Signifficant Difference (HSD). Analisis ini bertujuan untuk mengetahui nilai Sun Protecting Factor mana yang berbeda signifikan.

4.10 Prosedur Penelitian Kerja



Gambar 4.3 Skema Prosedur Penelitian