

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini mengacu pada keseluruhan objek yang menjadi fokus studi. Pada penelitian ini, populasi yang diamati adalah lotion yang diformulasikan menggunakan ekstrak dedak padi (*Oryza sativa* L.var. IR64) yang berasal dari Sukoharjo, Jawa Tengah.

Sampel adalah sebagian dari populasi yang dipilih untuk dijadikan objek penelitian yang dianalisis dan diharapkan dapat mewakili karakteristik serta kondisi keseluruhan populasi tersebut. Dalam penelitian ini, sampel terdiri atas lotion dengan variasi konsentrasi TEA dan asam stearat. Formulasi lotion tersebut akan diuji untuk menilai kestabilan fisiknya serta efektivitas perlindungan terhadap sinar UV, yang diukur melalui nilai SPF secara in vitro.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini mencakup semua variabel yang diteliti secara langsung. Terdapat beberapa jenis variabel, yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel kendali. Fokus penelitian ini, variabel utama adalah lotion yang terbuat dari ekstrak dedak padi dengan variasi konsentrasi TEA dan asam stearat. Lotion ini akan diuji untuk menilai efektivitasnya dalam melindungi kulit dari radiasi sinar UV.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama dapat dibagi menjadi beberapa kategori, yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel kendali.

2.1 Variabel bebas. Variabel bebas adalah variabel yang sengaja dimodifikasi untuk melihat dampaknya terhadap variabel tergantung. Pada penelitian ini, variabel bebas adalah konsentrasi TEA dan asam stearat dalam formulasi sediaan lotion.

2.2 Variabel tergantung. Variabel tergantung adalah variabel yang hasilnya dipengaruhi oleh variabel bebas. Dalam penelitian ini, variabel tergantung adalah efektivitas perlindungan terhadap sinar UV, yang diukur melalui SPF (*Sun Protection Factor*) dari masing-masing sediaan lotion. Nilai SPF menggambarkan tingkat perlindungan yang diberikan oleh setiap formulasi lotion terhadap paparan sinar UV pada kulit.

2.3 Variabel kendali. Variabel kendali adalah variabel yang perlu dikontrol untuk memastikan pengaruh variabel bebas terhadap variabel tergantung tidak terganggu. Dalam penelitian ini, variabel kendali mencakup metode pembuatan lotion (alat dan teknik pencampuran), kondisi penyimpanan (suhu dan kelembapan), serta karakteristik bahan baku.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, dedak padi yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari proses penggilingan padi. Setelah itu, dedak disaring untuk menghilangkan kotoran dan partikel yang tidak diinginkan. Selanjutnya, dedak padi dikeringkan pada suhu tertentu hingga kadar airnya berkurang.

Kedua, dedak padi yang telah dikeringkan di ekstraksi dengan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi. Setelah proses ekstraksi, larutan yang dihasilkan disaring dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Proses ini menghasilkan ekstrak dedak padi yang kental.

Ketiga, sediaan lotion diformulasikan dengan mencampurkan ekstrak dedak padi sebagai bahan aktif dengan variasi konsentrasi TEA dan asam stearat. Bahan tambahan seperti fase minyak, fase air, dan emulsifier dicampurkan dalam proses pembuatan lotion pada suhu 70-75°C hingga terbentuk campuran yang homogen dan stabil.

Keempat, pengujian kemampuan lotion dalam melindungi dari sinar UV dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Alat ini digunakan untuk mengukur nilai SPF lotion. Dalam proses pengujian, sampel lotion diambil dan absorbansinya diukur pada panjang gelombang tertentu.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini ekstrak dedak padi, asam stearat, setil alkohol, gliserin, etanol 96%, etanol pro analisis, TEA, propilenglikol, paraffin cair, nipagin, nipasol, aquadest, n-heksan, etil asetat, metanol, asam galat, FeCl₃, stigmasterol, reagen lieberman burchard, n-butanol, asam asetat, HCl pekat, Mg stearat, kloroform, H₂SO₄ pekat.

2. Alat

Pada penelitian ini alat yang digunakan meliputi timbangan analitik, mortir dan stamper, alat-alat gelas, batang pengaduk, kain kasa,

kain flannel, pipet tetes, erlenmeyer, waterbath, ayakan mesh 40, peralatan maserasi, corong, *rotary vacum evaporator*, blender, spektrofotometer UV-Vis, viskometer, pH meter, alat daya sebar, alat daya lekat, *stopwatch*, jangka sorong, oven, kaca objek, blender, *climatic chamber*, sendok tanduk, cawan porselin, kertas perkamen, penjepit tabung, pinset, spatel, sudip, tisu, lap, label, tube wadah salep, penggaris, pipet kapiler, lempeng KLT, pensil, lampu UV 254 nm dan 366 nm.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Langkah awal pada penelitian ini ialah identifikasi terhadap padi (*Oryza sativa L.*) untuk memastikan bahwa bahan yang digunakan benar-benar berasal dari dedak padi yang berpotensi sebagai bahan aktif dalam formulasi lotion tabir surya. Langkah ini penting untuk memastikan keaslian dan kualitas sampel yang akan digunakan. Setelah identifikasi selesai, sampel dapat digunakan untuk tahap penelitian selanjutnya.

2. Pembuatan serbuk dedak padi

Dedak padi (*Oryza sativa L.*) yang diperoleh disortir untuk memisahkan kotoran, sekam, atau partikel asing lainnya yang tidak diinginkan. Proses penyaringan dilakukan menggunakan ayakan untuk memastikan dedak yang digunakan memiliki kualitas baik dan bebas dari kontaminan. Setelah itu, dedak padi dikeringkan dalam oven pada suhu sekitar 50°C selama beberapa jam hingga kadar airnya berkurang, sehingga dapat mencegah pertumbuhan mikroorganisme dan memperpanjang daya simpannya.

Dedak yang telah kering kemudian dihancurkan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk dengan ukuran partikel yang lebih halus dan diayak menggunakan pengayakan nomor 40. Hasil serbuk dimasukkan ke dalam wadah kering dan tidak lembab yang selanjutnya dilakukan uji susut pengeringan.

2.1 Susut pengeringan. Susut pengeringan merupakan berkurangnya massa suatu material setelah melalui tahap pengeringan sesuai metode yang telah ditetapkan. Apabila terdapat ketentuan berbeda pada monografi masing-masing bahan, maka simplisia harus diproses menjadi serbuk dengan kehalusan tertentu. Tahap pengeringan dilakukan pada temperatur 105°C. Prosedur pengukuran susut pengeringan dimulai dengan menimbang secara presisi 1–2 gram simplisia ke dalam wadah timbang dangkal yang telah tertutup dan dipanaskan terlebih dahulu pada

suhu tersebut. Setelah itu, isi wadah diratakan dengan menggoyangkannya sampai terbentuk lapisan dengan ketebalan sekitar 5–10 mm. Selanjutnya, wadah ditempatkan di dalam oven pengering dengan kondisi tutup wadah dibuka dan dikeringkan pada suhu yang telah ditentukan sampai beratnya stabil. Sebelum memulai proses pengeringan, wadah yang tertutup harus dibiarkan mendingin di dalam eksikator hingga mencapai suhu kamar (FHI, 2017).

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{\text{Berat sebelum pemanasan} - \text{Berat akhir}}{\text{Bobot sebelum pemanasan}} \times 100\%$$

3. Pembuatan ekstrak dedak padi

Pembuatan ekstrak dedak padi (*Oryza sativa L.*) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Proses dimulai dengan mengambil dedak padi yang telah diserbukan dan menimbangnya sejumlah 500 gram. Dedak padi yang sudah dihaluskan tersebut ditempatkan di wadah kaca berwarna gelap, selanjutnya dituang larutan etanol 96% hingga mencapai volume 5 liter. Setelah itu, botol dikocok dan segera ditutup. Campuran tersebut direndam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian dibiarkan selama 18 jam. Setelah proses perendaman, filtrat disaring menggunakan kain flannel, dilanjutkan dengan kertas saring. Sisa ampas yang tertinggal dimasukkan kembali ke dalam maserasi dan dilakukan penyarian ulang dengan menambahkan larutan etanol 96% sebanyak 2,5 liter. Semua filtrat hasil penyaringan dikumpulkan, lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada kisaran suhu 40–50°C hingga terbentuk ekstrak pekat (FHI, 2017). Filtrat pekat di timbang dan diamati, hitung nilai rendemen dan lakukan uji susut pengeringan.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{Bobot awal simpatisa}} \times 100\%$$

3.1 Penetapan organoleptik ekstrak. Penetapan organoleptik ekstrak dedak padi dilakukan melalui observasi terhadap bentuk, warna, dan bau dari ekstrak dedak padi.

3.2 Uji kadar air ekstrak. Ukur secara akurat 10 gram sampel, lalu letakkan pada wadah yang telah memiliki bobot tetap. Dehidrasi sampel pada temperatur 105°C selama kurun waktu 5 jam, kemudian timbang kembali. Lanjutkan proses pengeringan selisih massa antara dua penimbang berturut-turut tidak melebihi 0,25% (FHI, 2017).

4. Uji identifikasi senyawa menggunakan tabung

4.1 Penyiapan sampel. Sebanyak 0,5 gram ekstrak dedak padi (*Oryza sativa L.*) ditimbang, lalu dilarutkan dalam 50 mL etanol 96% (Safitri dan Safitri, 2020).

4.2 Uji flavonoid. Tambahkan 0,5 mL larutan ekstrak dedak padi (*Oryza sativa L.*) ke dalam wadah percobaan berupa tabung reaksi, kemudian lanjutkan dengan menambahkan 10 tetes larutan HCl pekat, serbuk Mg dan 2 mL amil alkohol. Jika reaksi positif terjadi, akan muncul warna merah tua, kuning, atau jingga dalam kurun waktu sekitar 3 menit (Safitri dan Safitri, 2020).

4.3 Uji steroid dan triterpenoid. Masukkan 0,5 mL larutan ekstrak dedak padi (*Oryza sativa L.*) ke dalam tabung reaksi, selanjutnya masukkan 0,5 mL kloroform, 1 mL asam asetat anhidrat, dan 0,5 mL H₂SO₄ pekat. Jika ekstrak dedak padi tersebut mengandung steroid, akan terbentuk cincin berwarna biru atau hijau. Sebaliknya, jika mengandung triterpenoid, warna yang dihasilkan akan merah atau ungu (Rahmasiahi *et al.*, 2023).

4.4 Uji fenolik. Sebanyak 0,5 mL larutan ekstrak ditempatkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan sekitar 10 tetes larutan FeCl₃ 1%. Apabila ekstrak dedak padi (*Oryza sativa L.*) memiliki kandungan senyawa fenolik, maka akan menghasilkan perubahan warna menjadi hitam, merah, biru, ungu atau hijau (Listiani *et al.*, 2023).

5. Pembuatan lotion

5.1 Formulasi

Tabel 3. Formulasi sediaan lotion ekstrak dedak padi (*Oryza sativa L.*)

Bahan	Fungsi	Konsentrasi Bahan (% b/v)			
		K-	F1	F2	F3
Ekstrak dedak padi	Zat aktif	-	5	5	5
Setil alkohol	Pengemulsi	2	2	2	2
Asam stearate	Pengemulsi	2,5	2,5	3	3,5
TEA	Pengemulsi	1,5	1,5	2	2,5
Gliserin	Humektan	2	2	2	2
Propilenglikol	Humektan	6	6	6	6
Paraffin cair	Emolien	4	4	4	4
Nipagin	Pengawet	0,1	0,1	0,1	0,1
Nipasol	Pengawet	0,1	0,1	0,1	0,1
Aquadest	Pelarut	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

5.2 Cara pembuatan sediaan lotion. Timbang semua bahan yang diperlukan. Campurkan fase minyak, yang terdiri dari asam stearat, setil alkohol, paraffin cair, dan nipasol, ke dalam beaker glass. Lelehkan campuran ini di atas pemanas air pada suhu 70°C hingga semuanya

mencair. Siapkan fase air dengan melarutkan TEA, gliserin, propilenglikol, nipagin, dan aquadest ke dalam beaker glass, lalu panaskan pada suhu yang sama hingga larut. Setelah kedua fase mencair, masukkan fase minyak ke dalam mortir dan gerus secara terus-menerus dan tambahkan fase air sedikit demi sedikit hingga tercampur homogen dan membentuk emulsi. Setelah emulsi terbentuk, tambahkan ekstrak dedak padi ke dalam campuran, lalu gerus hingga merata dan homogen. Selanjutnya, tuangkan lotion yang telah dibuat ke dalam wadah, dan lakukan uji mutu fisik pada sediaan tersebut.

6. Uji mutu fisik sediaan lotion

6.1 Organoleptis. Pengamatan yang dilakukan pada sediaan lotion meliputi tekstur, bentuk, warna, bau dengan menggunakan panaclindra. Lotion dapat dikatakan baik apabila mempunyai bentuk cairan yang homogen dan mempunyai warna dan bau yang khas (Badan Standarisasi Nasional, 1996).

6.2 Uji homogenitas. Proses pengujian homogenitas dilakukan dengan memanfaatkan kaca objek sebagai media pengamatan. Sebagian sediaan diaplikasikan tipis di permukaan kaca objek, kemudian diperiksa secara visual untuk memastikan tidak terdapat partikel kasar (Ilyas, 2015).

6.3 Uji pH. Penentuan nilai pH lotion menggunakan pH meter digital. Sebelum digunakan, alat pH meter diatur dan distandarisasi terlebih dahulu menggunakan larutan baku standar. Setelah itu, pH meter dimasukkan ke dalam sediaan lotion, dan nilai pH sediaan lotion diharapkan berada dalam kisaran 4,5-8,0 (Fitriana, 2020).

6.4 Uji daya sebar. Ambil 0,5 gram lotion dan letakkan di tengah kaca objek, lalu tutup dengan kaca objek lain. Selanjutnya, berikan beban seberat 50 gram, 100 gram, dan 150 gram di atas lotion, lalu diamkan hingga lotion menyebar. Setelah itu, ukur diameter area sebar yang terbentuk menggunakan penggaris, kemudian hitung nilai rata-rata (Daut *et al.*, 2016).

6.5 Uji daya lekat. Prosedur penilaian daya lekat dimulai dengan meletakkan sebanyak 0,5 gram sampel di tengah kaca objek, lalu menutupnya menggunakan kaca objek lain. Kemudian, berikan beban seberat 1 kg di atas kaca penutup selama 5 menit. Setelah itu, pasang kaca objek tersebut pada alat uji yang telah diberi beban 50 gram. Catat lama waktu yang diperlukan hingga kedua permukaan kaca terpisah

(Lestari *et al.*, 2023). Idealnya, daya lekat lotion memiliki durasi lebih dari 1 detik (Wikandita *et al.*, 2022).

6.6 Uji viskositas. Uji viskositas dilakukan menggunakan viskometer *Brookfield* L.V. Masukkan sediaan ke dalam cup dan pasang spindle nomor 4. Jalankan rotor dengan kecepatan 50 rpm dan torque sebesar 30,5%. Menurut SNI 16-4399-1996, rentang viskositas yang sesuai adalah antara 2000 hingga 50.000 cP (centipoise).

6.7 Uji tipe emulsi

6.7.1 Metode pewarnaan. Pengujian lotion dengan cara letakkan pada 2 sisi *objek glass*, kemudian masing-masing sisi *objek glass* diberi pewarna *methylen blue* dan sudah III. Apabila warna biru terdispersi semua maka termasuk dalam tipe M/A (Megantara *et al.*, 2017).

6.7.2 Metode pengenceran. Proses pengujian lotion dilakukan dengan menambahkan sejumlah air ke dalam sediaan lotion dan mengaduknya. Jika sediaan lotion tetap homogen setelah proses tersebut, maka dapat dikategorikan tipe M/A (Megantara *et al.*, 2017).

6.7.3 Metode daya hantar listrik. Pengujian lotion dengan cara dimasukkan ke dalam wadah, kemudian dihubungkan dengan arus listrik. Bila sediaan menghantarkan listrik maka termasuk dalam tipe M/A (Megantara *et al.*, 2017).

6.8 Uji stabilitas. Pengujian kestabilan sediaan dilaksanakan dengan menggunakan prosedur uji siklus atau *cycling test* sebanyak enam siklus. Pada tahap awal proses dimulai dengan menempatkan sediaan pada kondisi bersuhu rendah, yaitu 4°C, selama 24 jam. Setelah itu, sediaan dikeluarkan dari penyimpanan dingin lalu dipindahkan ke ruangan dengan suhu 40°C. Prosedur ini diulang hingga mencapai enam siklus. Selama *Cycling test*, dilakukan pengamatan uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar, uji daya lekat, serta uji viskositas sebelum dan sesudah pengujian untuk mengetahui perubahan yang terjadi (Indalifiany *et al.*, 2023).

7. Uji sun protection factor (SPF)

7.1 Preparasi sampel ekstrak dedak padi. Sebanyak 5 gram ekstrak dedak padi ditimbang kemudian dilarutkan di dalam labu ukur 10 mL menggunakan etanol p.a 5 mL. Larutan ini didiamkan selama 5 menit agar larut sempurna, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang dihasilkan dipindahkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambah etanol p.a hingga mencapai volume batas yang ditentukan,

lalu dihomogenkan. Sebanyak 5 mL dari larutan hasil filtrasi diambil, ditempatkan pada kuvet dan dilakukan pengukuran nilai absorbansinya dalam kisaran panjang gelombang 290–320 nm memakai spektrofotometer UV–Vis dengan interval setiap 5 nm. Data absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung nilai SPF secara *in vitro* menggunakan rumus Mansur (Donglikar dan Deore, 2017).

7.2 Preparasi sampel lotion ekstrak dedak padi. Timbang 0,5 gram sediaan lotion ekstrak dedak padi dan masukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Dilarutkan sediaan tersebut dalam 5 mL etanol p.a. Selanjutnya, sonifikasi larutan selama 5 menit, kemudian dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring. Setelah disaring, masukkan larutan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan etanol p.a hingga volume mencapai batas, kemudian homogenkan. Dari larutan ini, pipet sebanyak 5 mL menggunakan pipet volume dan ditempatkan ke dalam labu ukur 10 mL. Larutkan dengan etanol p.a hingga mencapai tanda batas. Terakhir, ukur absorbansi larutan tersebut pada rentang panjang gelombang 290–320 nm dengan interval 5 nm menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis (Donglikar dan Deore, 2017).

7.3 Penentuan nilai correction factor (CF). Sebanyak 10 mg lotion Marina diencerkan dalam labu takar 10 mL dengan etanol p.a, disonikasi 5 menit, lalu disaring ke labu 50 mL dan diencerkan hingga tanda batas. Sebanyak 5 mL filtrat diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 290–320 nm (interval 5 nm). Nilai SPF dari hasil pengukuran ini dibandingkan dengan nilai SPF aktual dari produk tersebut, lalu digunakan untuk menghitung nilai *Correction Factor* (CF) dengan rumus:

$$SPF = CF \times \sum EE(\lambda) \times I(\lambda) \times abs(\lambda)$$

7.4 Penentuan nilai Sun Protection Factor. Evaluasi nilai SPF dilakukan melalui pengujian secara *in vitro* dengan menerapkan metode Mansur sebagai dasar perhitungan. Larutan sampel yang telah disiapkan kemudian dianalisis memakai alat spektrofotometer UV–Vis pada kisaran panjang gelombang 290–320 nm, di mana larutan etanol berperan sebagai blanko atau pembanding. Pembacaan absorbansi dilakukan setiap interval 5 nm sepanjang rentang gelombang tersebut. Hasil absorbansi ini kemudian diolah untuk memperoleh nilai SPF sesuai persamaan Mansur (Utami *et al.*, 2021), yaitu:

$$SPF = CF \times \sum EE(\lambda) \times I(\lambda) \times abs(\lambda)$$

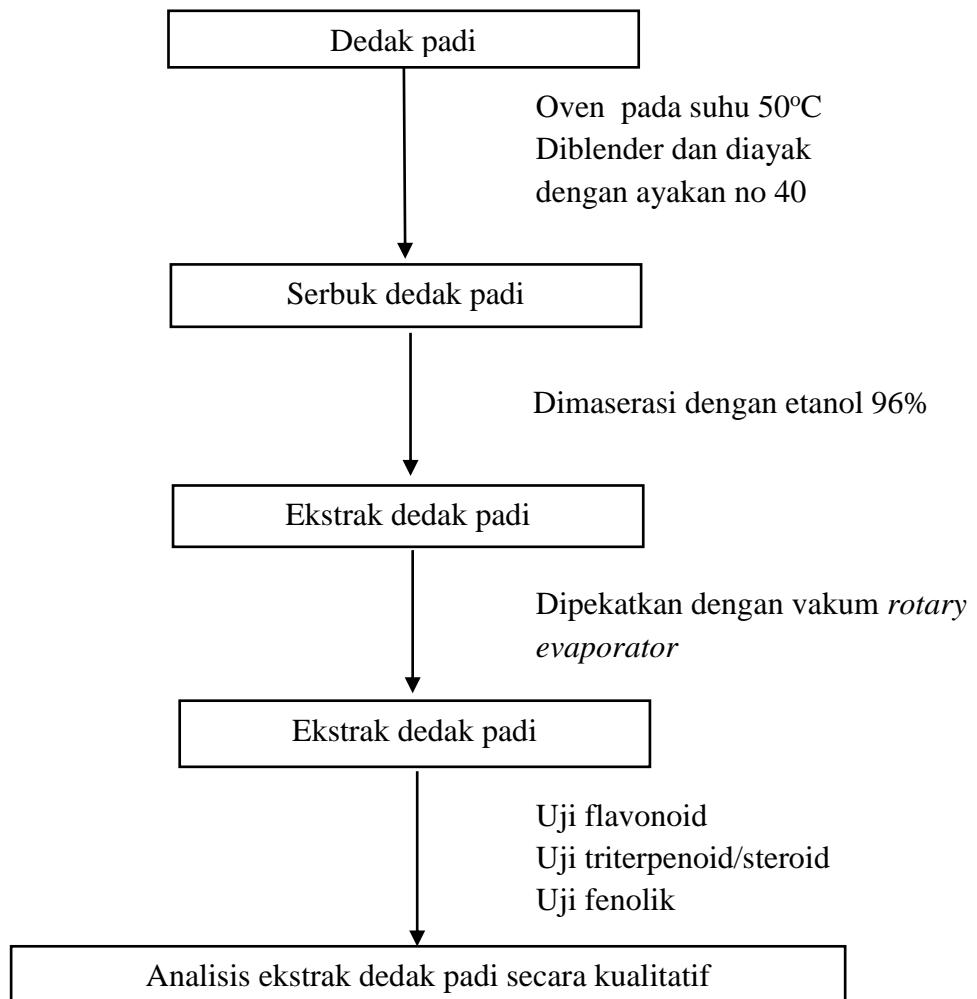
Keterangan:

CF : Faktor korelasi
EE : Efisiensi Eritema
I : Spektrum sinar surya yang disimulasikan
Abs : Nilai absorbansi yang terukur
Nilai EE x I : Nilai konstan dan telah ditetapkan

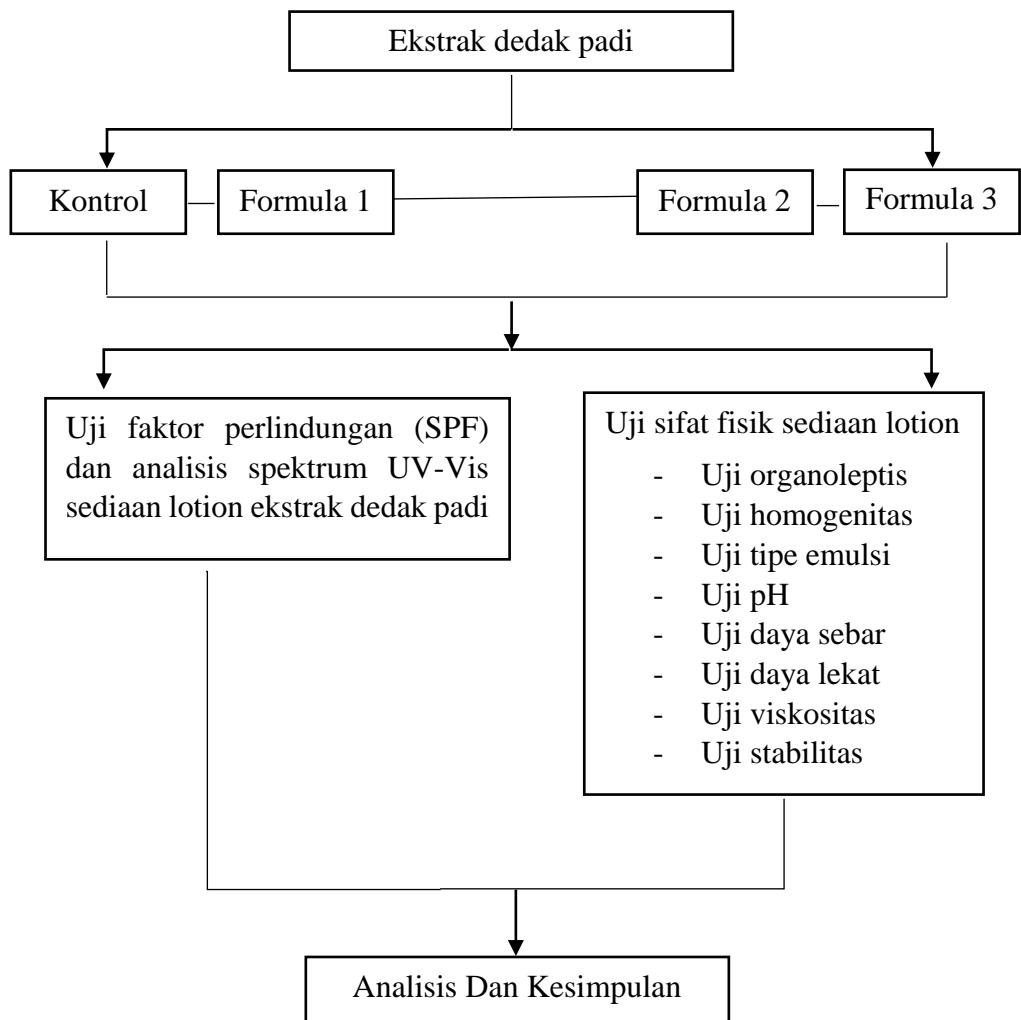
E. Analisis Hasil

Data dikumpulkan dengan menganalisis pengaruh TEA dan asam stearat pada formula lotion ekstrak dedak padi. Empat formula lotion disiapkan dengan perbedaan kadar TEA dan asam stearat. Setiap formula tersebut kemudian menjalani evaluasi kestabilan fisik, yang meliputi pemeriksaan organoleptis, nilai pH, homogenitas, viskositas, daya sebar, daya lekat, jenis emulsi lotion, serta kestabilan keseluruhan sediaan. Hasil penelitian yang diperoleh dikumpulkan serta diolah melalui analisis statistik menggunakan *one way ANOVA*. Dengan uji lanjutan non-parametrik yaitu *Kruskal-Wallis*, jika pada pengujian homogenitas $<0,05$. Dilanjutkan dengan pengujian *Paired T test* untuk mengetahui perbedaan mutu fisik sediaan sebelum dan setelah stabilitas. Analisis ini bertujuan untuk mengevaluasi stabilitas masing-masing formula selama penyimpanan dan membandingkan hasil pengujian antar formula dengan bantuan software SPSS 25.

F. Kerangka Konsep



Gambar 1. Prosedur pembuatan ekstrak dedak padi (*Oryza sativa* L.)



Gambar 2. Prosedur pembuatan dan pengujian formula sediaan lotion ekstrak dedak padi (*Oryza sativa L.*)