

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi merupakan seluruh objek yang ditetapkan oleh peneliti atau sasaran penelitian dan memiliki karakteristik tertentu yang telah ditetapkan guna dipelajari untuk ditarik kesimpulan. Populasi pada penelitian ini adalah sediaan emulgel kombinasi TiO_2 dan minyak tamanu yang diperoleh dari CV. Plantanesia.

Sampel merupakan bagian kecil dari populasi yang diambil sebagai objek pada penelitian karena dianggap mampu mewakili populasi. Sampel pada penelitian ini adalah sediaan emulgel kombinasi TiO_2 dan minyak tamanu yang diperoleh dari CV. Plantanesia dengan variasi konsentrasi minyak tamanu 10%; 15%; dan 20%

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah minyak tamanu yang dikombinasikan dengan TiO_2 dalam sediaan emulgel sebagai tabir surya.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah pengujian aktivitas tabir surya dengan melihat nilai *Sun protection factor* (SPF) secara *in vitro* pada sediaan emulgel minyak tamanu yang dikombinasikan dengan TiO_2 berdasarkan serapan panjang gelombang.

Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah berbagai macam pengujian mutu fisik dan stabilitas sediaan emulgel minyak tamanu yang dikombinasikan dengan TiO_2 dengan variasi konsentrasi minyak tamanu

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang sudah ditentukan dapat diklasifikasikan menjadi beberapa bagian yaitu variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel terikat. Variabel bebas merupakan variabel yang memberikan pengaruh dan merupakan penyebab munculnya variabel lain. Pada penelitian ini yang merupakan variabel bebas adalah minyak tamanu dengan variasi konsentrasi minyak tamanu sebesar 10%; 15%; dan 20% yang dikombinasikan dengan TiO_2 dalam sediaan emulgel.

Variabel terkontrol merupakan variabel yang perlu ditetapkan kualifikasinya karena dapat mempengaruhi variabel terikat

sehingga perolehan hasil tidak tersebar dan dapat dilakukan pengulangan oleh peneliti secara cepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kondisi laboratorium yang digunakan pada saat melakukan penelitian, kondisi peneliti, kondisi alat, dan metode penelitiannya.

Variabel terikat merupakan salah satu pokok utama dalam suatu penelitian karena berupa standar mutu dalam penelitian. Pada penelitian ini yang merupakan variabel terikat adalah aktivitas tabir surya dan mutu fisik serta kestabilan dari sediaan emulgel minyak tamanu yang dikombinasikan dengan TiO_2 .

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, minyak tamanu adalah minyak yang dihasilkan melalui dari dengan metode *cold press* biji tamanu, yang diperoleh dari CV. Platanesia, Karanganyar, Jawa Tengah, Indonesia yang disertai CoA (*Certificate of Analysis*) minyak tamanu.

Kedua, konsentrasi masing-masing minyak tamanu yang diformulasikan ke dalam sediaan emulgel adalah 10%; 15%; dan 20%

Ketiga, emulgel minyak tamanu adalah sediaan emulgel yang mengandung minyak tamanu yang dikombinasikan dengan TiO_2 dibuat dengan mencampurkan fase emulsi dan fase gel menggunakan kombinasi emulgator tween 80 dan span 80, serta menggunakan carbopol sebagai *gelling agent*.

Keempat, uji mutu fisik emulgel adalah serangkaian pengujian sediaan yang mempengaruhi kestabilan fisik dari emulgel. Uji mutu fisik emulgel yaitu organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, daya lekat, dan stabilitas emulgel.

Kelima, kontrol positif adalah tabir surya merek Y.O.U yang mempunyai nilai *Sun protection factor* (SPF) sebesar 50+.

Keenam, uji aktivitas daya proteksi *Sun protection factor* (SPF) emulgel minyak tamanu yang dikombinasikan dengan TiO_2 adalah dengan menggunakan metode spektrofotometri UV.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Pada penelitian ini alat yang digunakan adalah neraca digital, beaker glass (*pyrex*), erlenmeyer (*pyrex*), gelas ukur (*pyrex*), corong kaca (*pyrex*), labu tentukur (*pyrex*), pipet volume (*pyrex*), batang pengaduk, sudip, mortar dan stamper, cawan porselen, sendok tanduk, piknometer, pH meter, alat uji daya sebar, alat uji daya lekat, dan

spektrofotometer UV-Vis *Shimadzu* UV 1800, alat GC-MS *Shimadzu* GCMS-QP2010S, viscometer *Rion Viscotester* VT-04F, pipet tetes, objek glass, *water bath*.

2. Bahan

Pada penelitian ini bahan yang digunakan adalah minyak tamanu, titanium dioksida *cosmetic grade (merck)*, karbopol 940 (*merck*), trietanolamin (TEA) (*merck*), propilen glikol (*merck*), tween 80 (*merck*), span 80 (*merck*), paraffin cair (*merck*), nipagin (*merck*), nipasol (*merck*), aquadestilata, etanol *p.a*, dan n-heksan *p.a*

D. Jalannya Penelitian

1. Penyiapan sampel

Pada penelitian ini sampel yang berupa minyak tamanu yang diperoleh dari CV. Plantanesia, Karanganyar, Jawa Tengah, Indonesia

2. Karakterisasi minyak tamanu

Karakterisasi minyak tamanu bertujuan menetapkan kebenaran sampel minyak tamanu melalui pemerian, bobot jenis, indeks bias, dan pH kemudian mencocokkan dengan kepustakaan yang dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta, Solo, Jawa Tengah.

2.1 Pemeriksaan organoleptis. Pemeriksaan organoleptis yang dilakukan adalah dengan mengamati bentuk, warna, dan bau dari minyak tamanu.

2.2 Penetapan bobot jenis. Penetapan bobot jenis digunakan alat piknometer. Piknometer yang digunakan harus dibersihkan dan dikeringkan terlebih dahulu menggunakan etanol dilanjutkan dengan dikalibrasi melalui penetapan bobot piknometer dan bobot air yang baru dididihkan, dinginkan hingga suhu mencapai 25°C. Pada pengujian pengaturan suhu pada zat uji diatur hingga kurang lebih 20°C, cairan dimasukkan ke dalam piknometer. Piknometer yang telah diisi suhunya diatur hingga 25°C. Sisa zat uji yang menempel pada permukaan piknometer dibersihkan. Ditimbang piknometer dan dihitung selisih bobot piknometer yang telah diisi dengan piknometer kosong. Menghitung bobot jenis dengan membagi bobot zat/sampel dengan bobot air, dalam piknometer. Kecuali dinyatakan lain keduanya ditetapkan pada suhu 25°C (Depkes RI, 2020).

2.3 Penetapan indeks bias. Indeks bias ditetapkan dengan alat refraktometer dengan replikasi sebanyak 3 kali. Sampel minyak

nyamplung ditetaskan pada prisma yang telah bersih kemudian ditutup. Batas antara gelap dan terang diposisikan dengan mengatur sekrup pengatur pada bagian kanan sampai terlihat pada garis. Hasil pengamatan dicatat dan dibaca (Heinrich *et al.*, 2010)

2.4 Penetapan pH. Pengukuran pH sampel minyak tamanu dilakukan dengan menggunakan alat pH meter. Elektroda dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan dapar sampai menunjukkan pH 7, kemudian dilakukan pengukuran pH pada minyak tamanu dan dicatat hasilnya (Hurria, 2014).

3. Analisis GC-MS minyak tamanu

Untuk mengetahui komponen yang terkandung di dalam minyak tamanu digunakan alat (*Gas Chromatography–Mass Spectrometry*) (Cahya *et al.*, 2022). Komponen minyak tamanu dianalisis menggunakan GC-MS Shimadzu QP-2010s.

4. Rumusan formula emulgel

Pembuatan sediaan emulgel dilakukan dengan mengkombinasikan minyak tamanu dan TiO_2 . Variasi minyak tamanu didasarkan pada orientasi kadar zat aktif pada pengujian *Sun protection factor* (SPF) menjadi formula emulgel. Hal ini bertujuan melihat aktivitasnya sebagai tabir surya setelah dikombinasikan dengan TiO_2 dan diformulasikan menjadi bentuk sediaan emulgel.

Tabel 3. Rumusan formula emulgel tabir surya kombinasi minyak tamanu dan TiO_2

Bahan	Satuan	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Minyak tamanu	%	-	-	20	10	15	20
Titanium dioksida	gram	-	7	-	7	7	7
Karbopol 940	gram	1	1	1	1	1	1
TEA	mL	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s	q.s
Propilenglikol	mL	10	10	10	10	10	10
Paraffin cair	mL	5	5	5	5	5	5
Tween 80	gram	3,6	3,6	3,6	3,6	3,6	3,6
Span 80	gram	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Nipagin	gram	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
Nipasol	gram	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Aquadestilata	gram	Ad	Ad	Ad	Ad	Ad	Ad
		100	100	100	100	100	100

Keterangan:

F1 : Kontrol negatif

F2 : Emulgel yang hanya mengandung TiO_2

F3 : Emulgel yang hanya mengandung minyak tamanu

F4 : Emulgel kombinasi TiO_2 dan mengandung minyak tamanu sebesar 10%

F5 : Emulgel kombinasi TiO_2 dan mengandung minyak tamanu sebesar 15%

F6 : Emulgel kombinasi TiO_2 dan mengandung minyak tamanu sebesar 20%

5. Pembuatan sediaan emulgel

Pertama, alat dan bahan yang akan digunakan disiapkan kemudian ditimbang sesuai dengan formula. Massa gel dibuat dengan cara karbopol dikembangkan pada mortir yang berisi aquadestilata, diaduk sampai homogen dan ditetesi dengan TEA sampai terbentuk massa gel. Pada cawan porselin dibuat fase air dengan menambahkan nipagin dan tween 80 yang dilarutkan dengan propilen glikol dan aquadestilata dan dilebur di atas *water bath* sambil diaduk hingga homogen. Minyak tamanu dimasukan ke dalam fase minyak yang terdiri atas parafin cair, nipasol, TiO_2 , dan span 80 di dalam cawan porselin dengan ditambahkan aquadestilata, dilebur hingga homogen di atas *water bath*. Kedua fase dicampurkan sampai membentuk emulsi dan dimasukkan ke dalam mortar yang sudah berisi massa gel kemudian diaduk sampai homogen dan terbentuk emulgel.

6. Pengujian sifat fisik emulgel kombinasi minyak tamanu dan TiO_2

6.1 Pengujian organoleptik. Sediaan emulgel yang sudah jadi diuji organoleptisnya dengan melakukan pengamatan bentuk, warna, dan bau.

6.2 Pengujian homogenitas. Uji homogenitas dilakukan dengan kaca transparan yang sudah bersih. Sediaan emulgel diambil sebanyak 1 gram dan dioleskan pada kaca transparan. Sediaan yang homogen tidak boleh terlihat adanya butir-butir partikel yang kasar (Wiyono *et al.*, 2020).

6.3 Pengujian tipe emulsi. Penentuan tipe emulsi dapat dilakukan dengan 3 metode meliputi:

6.3.1 Metode pewarnaan. Pewarna yang digunakan pada pengujian tipe emulsi adalah *methylene blue* dan sudan III. Sediaan dioleskan pada dua objek glass, objek glass pertama ditetesi dengan *methylene blue* dan objek glass kedua ditetesi dengan sudan III. Apabila tipe emulsi adalah air dalam minyak maka droplet akan menunjukkan warna merah jika ditetesi sudan III dan akan berwarna biru pada latar belakang sediaan jika ditetesi *methylene blue* (Safitri dan Parfati, 2020)

6.3.2 Metode pengenceran. Sediaan diambil sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam vial kemudian diencerkan dengan aquadestilata. Apabila sediaan emulsi dapat tercampurkan maka tipe emulsi sediaan adalah minyak dalam air (Usman dan Muin, 2021)

6.3.3 Metode hantaran listrik. Sediaan emulsi diambil dan dimasukkan wadah sebanyak 25 ml kemudian diuji dengan alat multitester. Adanya pergerakan jarum menunjukkan tipe emulsi minyak dalam air dan sebaliknya (Mirawati, 2012).

6.4 Pengujian viskositas. Uji viskositas sediaan emulgel dilakukan dengan menggunakan alat viscometer *Rion Viscotester VT-04F* menggunakan ukuran *spindle* yang disesuaikan dengan konsistensi sediaan. Sediaan dituang ke dalam wadah lalu *spindle* dicelupkan pada wadah tersebut. Pembacaan hasil viskositas didasarkan pada jarum yang stabil menunjukkan suatu angka dengan satuan dPa's (Wiyono *et al.*, 2020).

6.5 Pengujian pH. Sediaan diukur pHnya dengan menggunakan alat pH meter. Elektroda dikalibrasi terlebih dahulu dengan menggunakan dapar sampai menunjukkan pH 7, kemudian dilakukan pengukuran pH pada sediaan kemudian dicatat hasilnya. Pengukuran pH dilakukan pada suhu ruang (Hurria, 2014).

6.6. Pengujian daya sebar. Pengujian daya sebar sediaan emulgel menggunakan kaca bulat dengan skala. Sediaan ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian diletakkan di atas kaca pada bagian tengah yang selanjutnya ditutup dengan kaca transparan lainnya. Diberikan beban 50; 100; dan 150 g secara bertahap dengan masing-masing waktu setiap beban adalah 1 menit dan diukur diameternya (Wiyono *et al.*, 2020).

6.7. Pengujian daya lekat. Pengujian daya lekat pada sediaan emulgel menggunakan 0,5 gram sampel yang kemudian diletakkan di atas objek glass dan ditutup dengan objek glass lainnya dengan diberikan beban sebesar 1 kg selama 5 menit. Dipasang kaca objek pada alat ukur, lepaskan beban seberat 50 g dan catat waktu hingga kedua kaca terlepas (Aisyah *et al.*, 2017).

6.8. Pengujian stabilitas. Uji stabilitas dilakukan dengan menggunakan metode *Cycling test (freeze-Thaw Cycle)* dengan jumlah siklus sebanyak 6 kali. Satu siklus tersebut adalah sediaan disimpan pada suhu dingin 4°C selama 24 jam, dilanjutkan disimpan pada suhu 40°C selama 24 jam dengan oven. Hasil yang diamati adalah ada atau tidaknya pemisahan fase pada emulgel, serta parameter pergeseran sifat fisik yaitu pergeseran organoleptis, viskositas, serta pH emulgel. Pengamatan dilakukan sebelum dan sesudah dilakukan *Cycling test*

(*freeze-Thaw Cycle*) dengan jumlah siklus sebanyak 6 kali (Sinata dan Mistawati, 2020).

7. Pengujian *Sun Protection Factor* (SPF)

Efektivitas sediaan sebagai tabir surya dilakukan dengan menguji SPF dengan cara *in vitro* menggunakan spektrofotometer. Pertama dilakukan pengujian terhadap minyak tamanu, kemudian dilanjutkan dengan pengujian sediaan emulgel (formula 1, 2, 3, 4, 5 dan 6), dan sediaan tabir surya di pasaran sebagai kontrol positif.

7.1 Preparasi minyak tamanu. Minyak tamanu dipreparasi dengan ditimbang 0,125 gram minyak tamanu dilarutkan dengan 25 mL n-heksan *p.a* sebagai pelarut diperoleh konsentrasi 5000 ppm, selanjutnya dibuat seri pengenceran kemudian serapannya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 290-320 nm dengan interval 5 nm menggunakan blangko n-heksan *p.a*.

7.2 Preparasi sediaan emulgel. Sebanyak 0,125 gram sediaan dari masing-masing formula ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass, dilarutkan dengan etanol *p.a* sebanyak 25 mL diperoleh konsentrasi 5000 ppm kemudian diultrasonikasi dan disaring. Hasil penyaringan dibuat seri pengenceran lalu dibaca serapannya spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 290-320 nm dengan interval 5 nm menggunakan blangko etanol *p.a*.

7.3 Perhitungan nilai *Sun protection factor* (SPF). Dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 290-320 nm menggunakan interval 5 nm spektrum serapan dapat diperoleh. Dasar perhitungan SPF adalah nilai absorbansi. Nilai SPF diperoleh dari hasil kali $EE \times I$ dengan CF (*Correction Factor*) dan absorbansi pada setiap interval. Digunakan persamaan Mansur sebagai berikut untuk menghitung nilai SPF (Mishra *et al.*, 2012):

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

Keterangan:

CF = Faktor koreksi

EE = Efisiensi Eriterma

I = Spektrum simulasi sinar surya.

Nilai CF (*Correction Factor*) merupakan hasil pengukuran absorbansi sediaan yang nilai SPF-nya sudah diketahui kemudian diolah menggunakan persamaan Mansur. Nilai CF berfungsi untuk menjaga keakuratan pengukuran dengan kondisi, peralatan dan bahan yang digunakan. Sayre *et al.* (1979) telah menentukan nilai $EE \times I$ yang

merupakan suatu konstanta (Mishra *et al.*, 2012). Nilai EE x I termuat dalam tabel 4.

Tabel 4. Konstanta EE x I panjang gelombang 290-320 nm

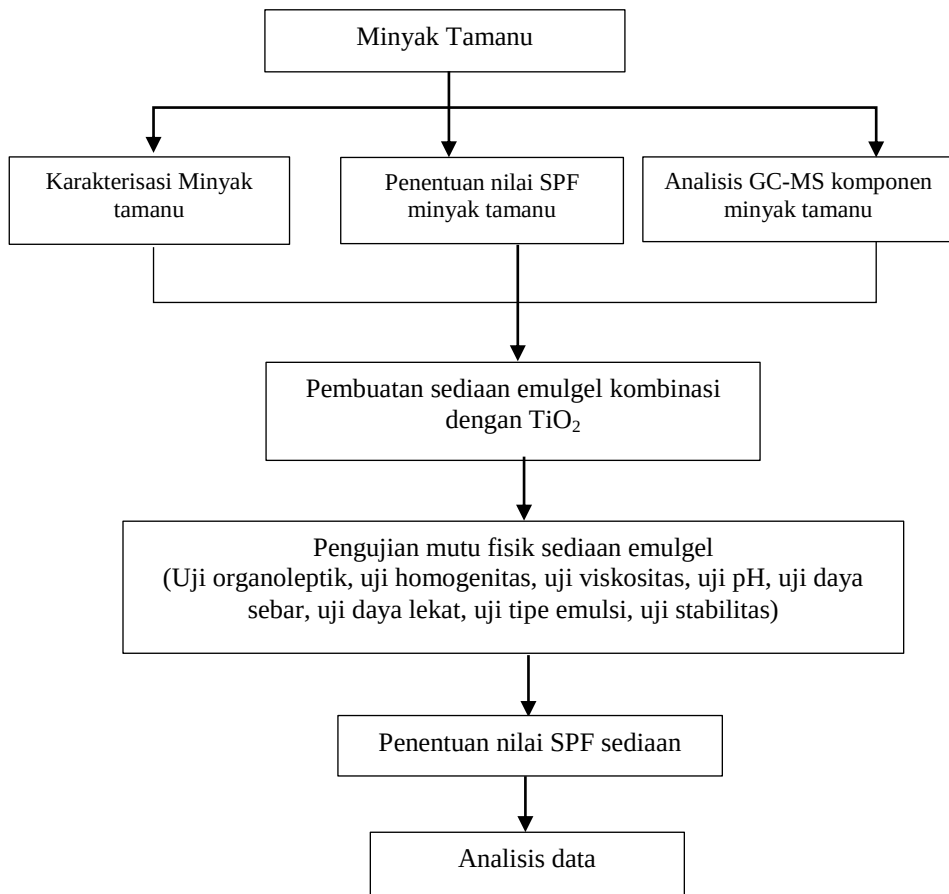
Panjang gelombang (λ nm)	EE x I
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
Total	1

E. Analisis Data

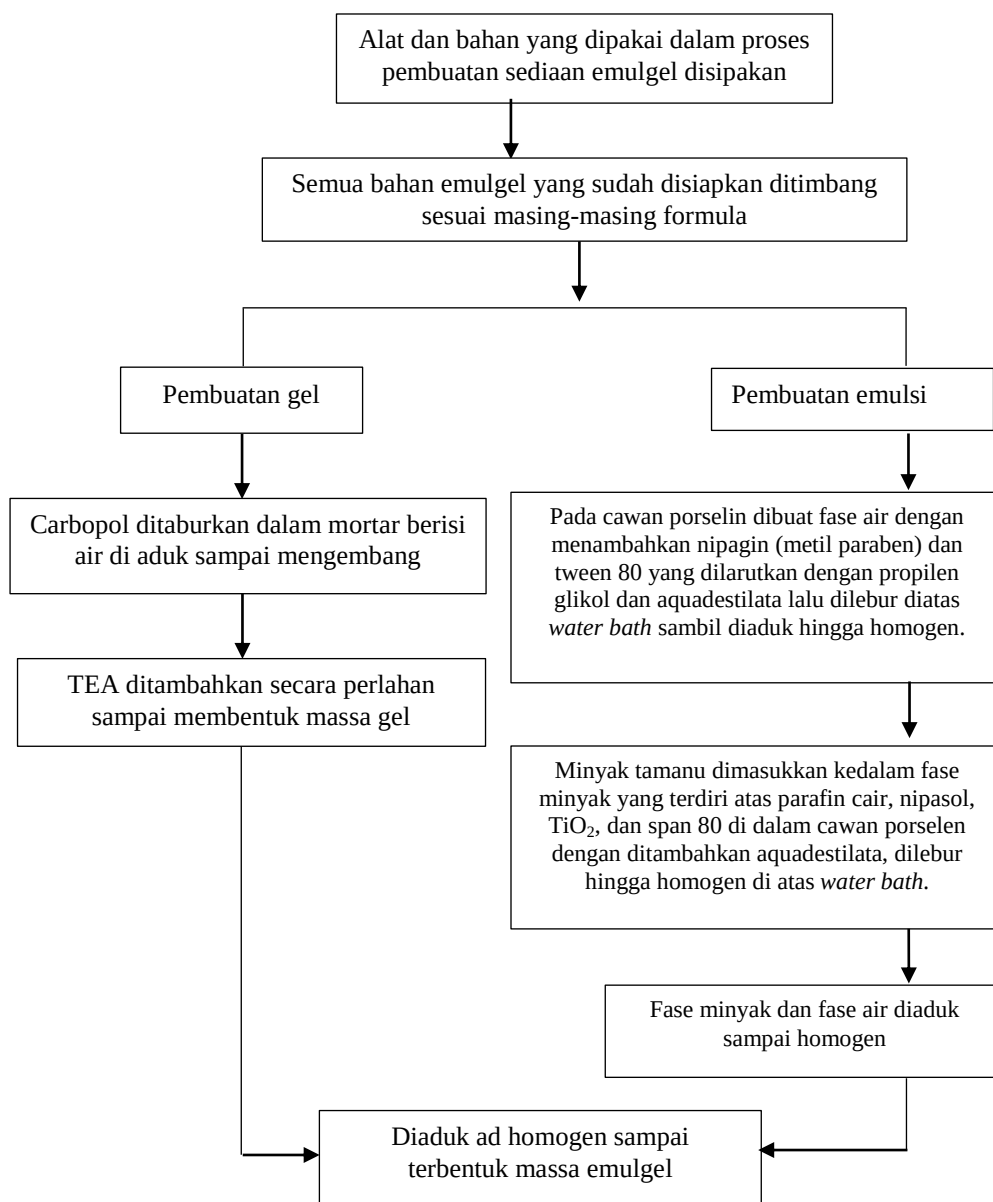
Penelitian ini akan diperoleh data hasil pengujian dari sifat fisik sediaan emulgel kombinasi TiO₂ dan minyak tamanu dengan variasi konsentrasi 10%; 15% ; dan 20%, setiap formula diuji stabilitasnya menggunakan metode *Cycling Test*. Pengujian sifat fisik terdiri atas organoleptis, pH, viskositas, tipe emulsi, daya sebar, dan daya lekat,

Analisis data yang terkumpul selanjutnya akan diolah secara statistika menggunakan *software* SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*). Data hasil pengujian mutu fisik yang didapatkan diuji normalitasnya ($p > 0,05$) dengan *Shapiro-Wilk*. Jika data yang diperoleh terdistribusi normal akan dilanjutkan dengan analisis *One Way ANOVA* yang berguna untuk mendapati perbedaan efek dari masing-masing konsentrasi minyak tamanu pada sediaan. Untuk melihat perbedaan sebelum dan sesudah uji stabilitas dilakukan analisis dengan *paired t test/Wilcoxon*.

F. Skema Kegiatan Penelitian



Gambar 14. Skema kegiatan penelitian



Gambar 15. Skema pembuatan sediaan emulgel