

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini merupakan penelitian secara eksperimental, meliputi formulasi serum antioksidan dengan variabel konsentrasi ekstrak etanol daun jambang (*Syzygium cumini* (L.)Skeels), uji aktivitas antioksidan ekstrak dan sediaan serum ekstrak etanol daun jambang (*Syzygium cumini* (L.)Skeels) menggunakan metode DPPH, pengujian stabilitas fisik sediaan serum ekstrak etanol daun jambang (*Syzygium cumini* L), dan pengujian nilai *Sun protection factor* (SPF) pada sediaan serta dilakukannya analisis data menggunakan Uji *one-way* ANOVA.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Tempat penelitian di Laboratorium Bahan Alam, Laboratorium Teknologi dan mikrobiologi, Laboratorium Instrumental Fakultas Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang

3.2.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dimulai dari Januari 2022 sampai Mei 2022.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang terlibat pada penelitian ini yaitu konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu:

FI = konsentrasi ekstrak daun jambang 0,5%,

FII = konsentrasi ekstrak daun jambang 0,8%,

FII = konsentrasi ekstrak daun jambang 1,1%.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel Terikat pada penelitian ini yaitu pengujian stabilitas fisik produk meliputi Organoleptik, pH, Viskositas, Homogenitas, pengujian Aktivitas antioksidan dan Nilai *Sun protection factor* (SPF) serum ekstrak etanol daun jambang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels).

3.3.3 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3. 1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Variabel Bebas				
Formulasi serum antioksidan	Formulasi serum antioksidan ekstrak etanol daun jambang dengan konsentrasi 0,5%, 0,8%, 1,1%	Pengujian kimia meliputi organoleptic (bau, warna), Homogenitas, pH,	-	-

Viskositas dan

Spesifikasi

Variabel terikat

Warna	Parameter fisik	Uji Organoleptik	Nominal	1. Keruh
	menggunkan indera			2. Bening
	mata dalam pengujian			
	serum antioksisan			
	ekstrak daun			
	jamblang			
Bau	Parameter fisik	Uji Organoleptik	Nominal	1. Bau khas
	menggunkan indera			ekstrak
	penciuman dalam			daun
	pengujian serum			jamblang
	antioksisan ekstrak			2. Tidak
	daun jamblang			berbau
Tekstur	Parameter fisik	Uji Organoleptik	Nominal	1. Kental
	menggunkan indera			2. Agak
	peraba dalam			Kental
	pengujian serum			3. Cair
	antioksisan ekstrak			
	daun jamblang			
Homogenitas	Uji homogenitas	Uji Homogenitas	Nominal	1. Tidak
	serum ekstrak etanol	menggunakan kaca		Homogen
	daun jamblang	objek		2. Homogen
	dilakukan dengan			
	mengoleskan serum			
	pada kaca objek,			
	kemudian ditutupkan			
	dengan kaca objek			
	yang lainnya untuk			

	diamati				
	homogenitasnya				
pH	Nilai pH pada sediaan serum ekstrak etanol daun jamblang yang ditunjukkan sesuai dengan pH kulit oleh pH meter	pH Meter	Rasio	Angka dalam pH meter	
Uji Viskositas	Uji viskositas serum ekstrak etanol daun jamblang dilakukan dengan alat viscometer Brookfield Cone and plate set AT 71 362 pada suhu $25 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$	Alat Viskometer Brookfield	Rasio	cP	
Aktivitas Antioksidan	Uji aktivitas serum ekstrak etanol daun jamblang menggunakan metode DPPH dengan mengukur nilai absorbansi menggunakan Spektrofotometri Uv-vis	Spektrofotometri Uv-vis	Rasio	ppm	
Nilai SPF	Pengukuran nilai serapan SPF pada panjang gelombang 290-320 nm	Spektrofotometri Uv-Vis	Rasio	Nilai SPF	

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Gelas Piala (Pyrex®), Batang Pengaduk (Pyrex®), Pipet, Mortir dan Stamper, Kertas Perkamen, Cawan Porselen (Pyrex®), Tabung Reaksi (Pyrex®), Neraca analitik digital, Sudip, Gelas Ukur (Pyrex®), Labu Ukur (Pyrex®), pH meter (Neomet) dan pH meter *Universal* (MColorpHast), *Viscometer Brookfield Cone*, Kaca Objek, Vial, Spektrofotometer *UV-Vis* (Thermo Scientific), *Rotary Evaporator*, *Water Bath* (Memmert), *Tanur* (Nabertherm), *Oven* (Gemmyco), Kurs Porselen, Vial, Kuvet, *aluminium foil*.

3.4.2 Bahan

Pada penelitian ini bahan yang digunakan yaitu Ekstrak Etanol Daun Jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels), Etanol 70%, *diphenyl picryl hydrazyl* (DPPH), Preaksi Dragendorff, Preaksi Mayer, Larutan amonia, Larutan hidrogen klorida (HCL), *Amilalcohol*, Preaksi besi (III) klorida, Preaksi gelatin, Larutan kalium hidroksida (KOH), Preaksi Lieberman-Burchard, Natrosol, Serbuk NaEDTA, Serbuk Natrium Benzoat, Gliserin, Propilenglikol, Aquadest, Methanol p.a, Kloroform.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Determinasi Tumbuhan

Determinasi adalah proses membandingkan suatu tumbuhan dengan tumbuhan lain yang sudah diketahui/dikenal, bertujuan guna menghindari kesalahan dalam pengumpulan  bahan/sampel yang digunakan dalam penelitian. Determinasi tumbuhan jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu.

3.5.2 Preparasi Simplisia

Sampel berupa Daun jamblang yang diperoleh dari Kecamatan Klari, Karawang. Bagian yang diambil adalah seluruh bagian daun jamblang dengan kondisi tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda. Kemudian untuk mendapatkan Simplisia Daun Jamblang langkah awal yaitu dilakukan nya sortasi basah pada bahan, selanjutnya pencucian dengan alir mengalir setelah itu penirisan dan pengeringan bahan menggunakan sinar matahari, Kemudian setelah bahan kering dilakukan sortasi kering dan pengecilan ukuran bahan menjadi lebih kecil dengan cara di penggilingan.

3.5.3 Ekstraksi Daun Jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels)

Untuk menghasilkan ekstrak kental, Serbuk simplisia daun jamblang dilakukan proses ekstraksi maserasi dengan penambahan pelarut etanol 70%

selama 3 hari yang diaduk sekali-kali, kemudian disaring, filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan dengan alat *rotary evaporator*.

3.5.4 Skrining Fitokimia dan Standarisasi Ekstrak

Skrining fitokimia dan standarisasi ekstrak adalah suatu prosedur pemeriksaan kandungan kimia suatu tumbuhan yang bertujuan untuk mengetahui golongan-golongan senyawa yang terkandung dalam tumbuhan.

Pemeriksaan fitokimia meliputi pemeriksaan golongan senyawa seperti:

1. **Alkaloid**

1g serbuk daun jambang dilarutkan dalam 20 ml larutan ammonia dan 20 ml kloroform kemudian disaring. Masukkan 2 ml filtrat kedalam tabung reaksi. Pada masing-masing tabung reaksi ditambahkan 2 tetes preaksi Mayer, dan 2 tetes preaksi Dragendorf. Jika terbentuk endapan dan kekeruhan pada 2-3 sampel preaksi maka positif mengandung senyawa alkaloid (Gafur *et al.*, 2012)

2. **Flavonoid**

Ekstrak etanol daun jambang dilarutkan dengan etanol ditambahkan serbuk mg sebanyak 1g kemudian ditetaskan asam klorida dan dikocok kuat. Jika larutan terbentuk warna kuning, jingga hingga merah maka sampel dinyatakan positif mengandung flavonoid (Ulfah *et al.*, 2020).

3. **Tannin**

1g serbuk daun jambang dilarutkan dengan 50 ml aquadest kemudian disaring. Filtrat ditambahkan larutan gelatin 1%. Jika terbentuk endapan putih maka positif mengandung senyawa tannin (Gafur *et al.*, 2012).

4. Saponin

Ekstrak etanol daun jambang dilarutkan dengan air panas 10 ml dalam tabung reaksi kemudian dilakukan pengkocokan kuat selama 10 detik dan didiamkan selama 10 menit. Jika terbentuk buih atau busa setinggi 1-2cm dan jika ditambahkan larutan HCl 2N tidak hilang, maka sampel dinyatakan positif mengandung saponin (Ulfah *et al.*, 2020).

5. Kunon

1 g ekstrak dilarutkan dengan 100 aquadest panas, kemudian saring. 5 ml filtrat ditambahkan beberapa tetes NaOH 1N, jika sampel positif mengandung kuinon ditandai dengan terbentuknya warna jingga/merah/violet. (Gunarti, 2017)

6. Terpenoid/Steroid

1g serbuk daun jambang dilarutkan kedalam 25 ml eter dan di saring. Filtrate diuapkan dalam cawan penguap kemudian ditambahkan 2-3 tetes preaksi lieberman-bouchard. Jika terdapat perubahan warna ungu menjadi biru maka positif mengandung triterpenoid, warna merah menjadi hijau maka positif mengandung steroid (Gafur *et al.*, 2012).

Serta standarisasi ekstrak meliputi pengujian:

1. Uji kadar air

1 gr ekstrak etanol daun jambang dimasukkan kedalam wadah yang telah di tawa, kemudian dikeringkan selama 5 jam pada suhu 105°C dan ditimbang. Lakukan pengulangan hingga dicapai bobot yang tetap (Dirjen POM, 2000).

2. Uji Kadar abu

1g ekstrak etanol daun jambang dimasukkan kedalam kurs porslen yang telah di timbang, kemudian dipijarkan dan di abukan selama 5 jam dalam tanur dengan suhu 600°C selanjutnya di dinginkan dalam desikator suhu ruang, diamati hingga bobot tetap (Ulfah *et al.*, 2020).

3. Uji kadar sari larut air

5g ekstrak etanol daun jambang dimaserasi selama 24 jam dengan 100ml larutan LP (1air:1kloroform) dalam labu takar, kemudian dikocok bertahap selama 6 jam dan didiamkan selama 18 jam. Selanjutnya diuapkan larutan filtrat 20ml dan panaskan residu pada suhu 105°C hingga didapatkan bobot yang tetap tetap (Ulfah *et al.*, 2020).

4. Uji kadar sari larut etanol

5g ekstrak etanol daun jambang dimaserasi selama 24 jam dengan 100ml etanol 70% dalam labu takar, kemudian dikocok bertahap selama 6 jam dan didiamkan selama 18 jam. Selanjutnya diuapkan larutan filtrat 20ml dan panaskan residu pada suhu 105°C hingga didapatkan bobot yang tetap tetap (Ulfah *et al.*, 2020).

5. Susut Pengeringan

1 g ekstrak etanol daun jamblang dimasukkan kedalam cawan yang telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan ratakan hingga membentuk lapisan setinggi 5-10 mm. Kemudian dimasukkan kedalam oven pada suhu 105°C dan didinginkan pada suhu ruang dalam desikator hingga bobot tetap (Dirjen POM, 2000)

3.5.5 Formulasi

1. Formulasi Serum Ekstrak Etanol Daun Jamblang (*Syzygium cumini* (L.)Skeels)

Tabel 3. 2 Formulasi Serum Ekstrak Etanol Daun Jamblang (*Syzygium cumini* (L.)Skeels)

Nama Bahan	Fungsi	Konsentrasi (%b/v)			
		F 0	FI	FII	FIII
Ekstrak Daun Jamblang	Bahan Aktif	0	0,5	0,8	1,1
Natrosol	Pengental	0,8	0,8	0,8	0,8
Na EDTA	Solubilizing Agent/ Humektan	0,005	0,005	0,005	0,005
Natrium Benzoat	Pengawet	0,1	0,1	0,1	0,1
Gliserin	Emolient	8	8	8	8
Propilenglikol	Humektan	8	8	8	8
Aquadest	Pelarut	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100

(Sumber : Mardhiani *et al*, 2018)

2. Prosedur Pembuatan

Pembuatan serum antioksidan yang mengandung ekstrak etanol daun jamblang (*Syzygium cumini* (L.)Skeels) dan bahan tambahan

lainnya mengikuti formula yang telah dicantumkan. Dilarutkan Natrosol kedalam air panas (50°C) dan ditambahkan Na EDTA aduk konstan ad homogen sambil dijaga suhu hingga terbentuk Massa gel (Massa I). Dilarutkan Natrium Benzoat dengan aquadest panas (50°C) (Massa II). Massa II dimasukan kedalam Massa I secara perlahan-lahan dan aduk ad homogen (Massa III), kemudian dimasukan Gliserin kedalam Massa III sedikit demi sedikit sambil terus di aduk ad homogen (Massa IV). Dilarutkan ekstrak etanol daun jambang (*Syzygium cumini* (L.)Skeels sesuai konsentrasi formulasi yang telah ditentukan dengan Propilenglikol, Kemudian dimaksukan kedalam Massa IV aduk ad homogen. Aquades ad 100ml aduk ad Homogen.

3.5.6 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambang (*Syzygium cumini* (L.)Skeels) dan serum wajah ekstrak etanol daun jambang (*Syzygium cumini* (L.)Skeels) menggunakan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrilhydrazyl). Sampel dilarutkan dengan methanol p.a dan ditambahkan larutan stok DPPH, kemudian diinkubasi selama 30 menit dalam wadah gelap pada suhu kamar, selanjutnya dilakukan pengukuran nilai absorbansi dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis panjang gelombang 517 nm. Untuk pengukuran aktivitas antioksidan serum wajah ekstrak etanol daun jambang (*Syzygium cumini* (L.)Skeels) nilai absorbansi yang diperoleh dibandingkan dengan kontrol positif (+) Sediaan Serum pembanding dan

Kontrol negatif (-) F0. Penentuan nilai absorbansi atau IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*) dapat menggunakan rumus : (Nurhalisa, 2021)

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

3.5.7 Uji Nilai *Sun Protection Factor*

Penentuan nilai *Sun Protection Factor* (SPF) dilakukan dengan pengujian sampel serum dari masing-masing konsentrasi yang telah dilakukan pengenceran (1 gram sediaan serum : 100ml ethanol) menggunakan Spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang UV-B (290-320 nm) kemudian dihitung nilai serapan dan nilai SPF. Rumus perhitungan nilai *Sun Protection Factor* (SPF) menurut persamaan Mansur (Harjanti, 2021) :

$$\text{Nilai SPF} = CF \times \sum_{320}^{290} Abs \times EE \times I$$

Keterangan:

EE = Spektrum Efek Eritermal

I = Intensitas Spektrum Sinar

Abs = Serapan Produk

CF = Faktor Koreksi

3.5.8 Uji Stabilitas Fisik

Uji stabilitas fisik serum ekstrak etanol daun jambang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels) dilakukan menggunakan metode uji stabilitas *Freeze and Thaw* selama 4 Siklus atau 16 hari (Mardhiani, 2018).

Pengujian terdiri dari :

1. Uji Organoleptik

Tujuan = Mengamati parameter Bau, warna dan Tekstur sediaan

Prosedur = Uji Organoleptik dilakukan dengan pengamatan menggunakan panca indera, dengan dilihat secara langsung fisik sediaan meliputi aroma, warna dan tekstur. Hasil pengamatan kemudian langsung dicatat.

Melakukan uji organoleptik sediaan dengan mengamati aroma, warna dan tekstur.

Hasil Pengamatan dicatat

Nilai syarat = - (Tidak ada ketentuan)

2. Uji Nilai pH

Tujuan = Mengetahui tingkat pH sediaan

Prosedur = Pengujian pH sediaan dilakukan menggunakan pH meter yang di celupkan ke dalam sampel kemudian diamati perubahan angka pada pH meter.

Menyiapkan sampel yang akan diuji.

Melakukan pengujian pH dengan mencelupkan pH meter kedalam sampel

Hasil pengamatan dicatat

Mengamati perubahan angka pada pH meter

Nilai syarat = pH yang di dapat harus sesuai dengan pH kulit yaitu 4,0 – 6,5 (Nurmalasari, 2018).

3. Uji Homogenitas

Tujuan = Mengetahui homogenitas sediaan

Prosedur = Uji homogenitas dilakukan dengan mengambil sampel dan meletakan diatas permukaan kaca objek kemudian diamati apakah tedapat butiran kasar atau tidak.



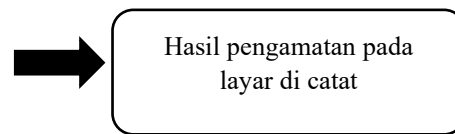
Nilai syarat = Sediaan harus menunjukan distribusi yang homogen dan tidak terlihat adanya partikel kasar.

4. Uji Viskositas

Tujuan = Mengetahui kekentalan sediaan

Prosedur = Pengujian viskositas sampel dilakukan dengan alat *Viscometer Brookfield Cone and plate set* AT 71 362 pada suhu

25°C. Mencelupkan spindle R-4 ke dalam sampel serum kemudian hasil yang didapat setelah menunjukan angka yang stabil, angka tersebut merupakan viskositas serum dengan satuan cP = 1 mpa-s.

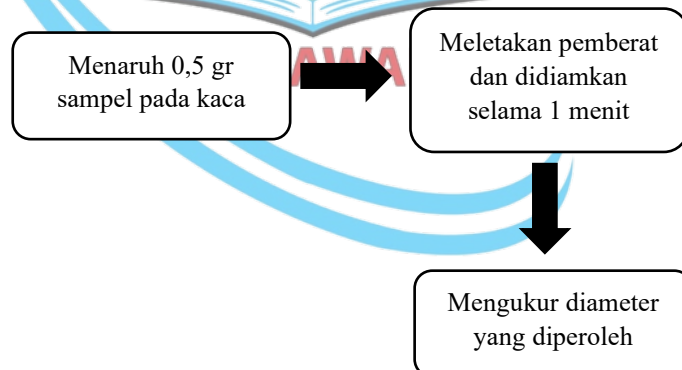


Nilai syarat = Rentang viskositas sediaan serum yaitu 230-1150 mPa.s (Mardhiani *et al*, 2018).

5. Uji Daya Sebar

Tujuan = Mengetahui kemampuan sebar sediaan

Prosedur = Pengujian daya sebar dilakukan dengan meletakan 0,5 gram sampel pada kaca selanjutnya ditutup dengan kaca lain, diletakan pemberat diatasnya, didiamkan selama 1 menit dan kemudian diukur diameternya.

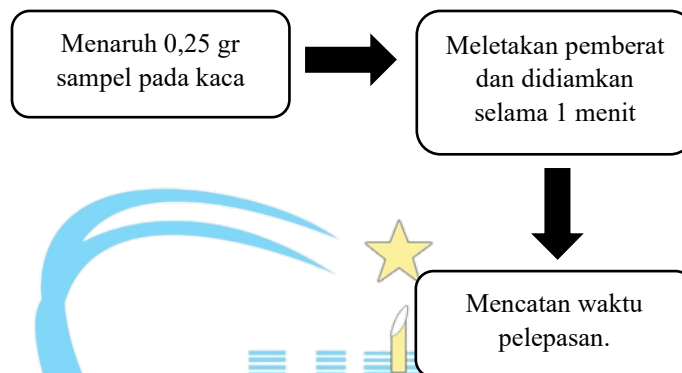


Nilai Syarat = Diameter yang baik yaitu 5-7 cm (Sayuti, 2018)

6. Daya Lekat

Tujuan = Mengetahui kemampuan lekat sediaan

Prosedur = Pengujian daya lekat dilakukan dengan meletakan 0,25 gram sampel pada kaca objek, diletakan pemberat 50 g diatasnya, kemudian didiamkan 1 menit dan dicatat waktu pelepasnya.



Nilai Syarat = Lebih dari 1 detik dan kurang dari 4 detik (Sayuti, 2018)

3.6 Analisis Data

Analisis statistik pengujian aktivitas *Sun protecting factor* (SPF) terhadap stabilitas fisik sediaan menggunakan one-way ANOVA. Pengujian dilakukan menggunakan statistik SPSS versi 24 meliputi Uji normalitas (*Kolmogorov-Smirnov*) dan homogenitas (*Kruskal-Wallis*), kemudian jika data terdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan uji parametrik menggunakan uji *one-way* ANOVA untuk melihat perbedaan nilai SPF terhadap konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam sediaan. Untuk uji organoleptis diamati sebagai data deskriptif.