

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah quasi eksperimental dengan variasi kelompok yang digunakan yaitu 2 variasi tween 20 dan 3 variasi Propilen glikol. Parameter uji pada penelitian ini meliputi uji kualitas formula dan uji karakterisasi nanopartikel.

3.2. Variabel Penelitian

3.2.1. Variabel Bebas

Variable bebas pada penelitian ini yaitu 6 variasi kelompok berdasarkan perbedaan konsentrasi Tween 20 dan Propilen glikol yaitu, T40P10 (Tween 20 40 ml: Propilen glikol 10 ml), T40P12.5 (Tween 20 40 ml: Propilen glikol 12.5 ml), T40P15 (Tween 20 40 ml: Propilen glikol 15 ml), T80P10 (Tween 20 80 ml: Propilen glikol 10 ml), T80P12.5 (Tween 20 80 ml: Propilen glikol 12.5 ml), T80P15 (Tween 20 80 ml: Propilen glikol 15 ml).

3.2.2. Variabel Terikat

Variable terikat pada penelitian ini yaitu parameter skrining fitokimia, organoleptik, pH, viskositas, %transmittan, ukuran partikel, PDI, zeta potensial, FTIR, TEM.

3.2.3. Definisi Operasional Variable

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variable

No.	Variable	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Variable Bebas					
1.	Variasi kelompok formulasi SNEDDS ekstrak jahe merah	Variasi kelompok berdasarkan Tween 80 dan PEG 400	-	Nominal	1. T40:P10 2. T40:P12.5 3. T40:P15 4. T80:P10 5. T80:P12.5 6. T80:P15
Variable Terikat					
1.	Uji Skrining Fitokimia	Skrining fitokimia digunakan untuk	Visual		1. Positif 2. Negatif

No.	Variable	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
		mengidentifikasi senyawa aktif sampel, meliputi: Flavonoid, alkaloid, tannin, terpenoid dan saponin			
2.	Uji Organoleptik	Mengevaluasi warna, bau, rasa dari suatu sediaan SNEDDS ekstrak jahe merah	Panca Indera	Nominal	3. Warna 4. Bau 5. Rasa
6.	Uji pH	Mengevaluasi pH suatu sediaan SNEDDS	pH meter	Rasio	Angka dalam pH meter
7.	Uji Viskositas	Mengevaluasi kekentalan dari suatu sediaan SNEDDS	Viscometer	Rasio	Angka dalam viscometer
8.	Uji %Transmittan	Dilakukan untuk mengevaluasi kejernihan sediaan	Spektrofotometri UV-Vis	Rasio	Angka % Transmittan
9.	Uji Ukuran Partikel	Dilakukan untuk mengevaluasi besarnya ukuran partikel sediaan	Particle size Size Analyzer	Rasio	Angka pada PSA (rim)
10.	Uji Polydispersity Indeks	Dilakukan untuk mengevaluasi keseragaman ukuran partikel sediaan	Particle Size Analyzer	Rasio	Angka pada PSA
11.	Uji Zeta Potensial	Dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan daya hantar listrik antar partikel	Particle Size Analyzer	Rasio	Angka pada PSA (mV)
12.	Uji FTIR	Dilakukan untuk mengevaluasi gugus - gugus pada	FTIR	Rasio	Jenis gugus

No.	Variable	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
		sediaan			
13.	Uji TEM	Dilakukan untuk mengevaluasi bentuk partikel sediaan secara nano	TEM	R:SiO	bentuk partikel sediaan

3.3. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan ialah ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale var. Rubrum*) dari PT. Natrindo, span 20 (Merck), PEG 400 (Merck), Asam oleat (Merck), Tween 20 (Merck), Propilen Glikol (Merck), purified water (PT. Bintang Toedjoe).

3.4. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan adalah beaker glass 100ml (IWAKI), Gelas ukur 50ml (PYREX), pH meter (METTLER TOLEDO), Viscometer (Brookfield), tabung reaksi (IWAKI), Spektrofotometri Uv-Vis (SHIMATZU UV SPEKTROFOTOMETER UV-1800), *particle size analyzer* (MALVERN ZETA SIZER NANO ZSP), FTIR (SHIMADZU), TEM (HITACHI), kertas label (T&J), tissue (PASEO) timbangan (SARTORIUS), aluminium foil (BEST FRESH), *hot plate*, *stirrerr* (THERMO), dan alat tulis.

3.5. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium PT. Bintang Toedjoe Kabupaten Bekasi, PT. DKSH Kota Jakarta, Laboratorium Institut Teknologi Bandung yang dilakukan pada Februari — Mei 2025.

3.6. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian meliputi pengujian uji skrining fitokima, organoleptik, pH, viskositas, uji %transmittan, uji ukuran partikel, uji PDI, uji zeta potensial, uji FTIR, uji TEM.

3.7. Ekstrak Rimpang Jahe Merah

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak jahe merah yang diperoleh dari PT. Natrindo Ekstrak ini telah disertifikasi dengan *Certificate*

of Analysis (COA), yang memastikan kualitas dan kemurnian bahan sesuai standar yang telah ditetapkan. COA tersebut dilampirkan sebagai bukti otentikasi bahan yang digunakan dalam penelitian.

3.8. SKRINING FITOKIMIA

A. Alkaloid

Pengujian alkaloid dilakukan dengan melarutkan sampel menggunakan beberapa tetes larutan H_2SO_4 , lalu menambahkan dua jenis pereaksi alkaloid, yaitu pereaksi Dragendorff dan Mayer. Indikasi positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna merah hingga jingga pada pereaksi Dragendorff serta endapan putih kekuningan pada pereaksi Mayer (Munadi, 2020).

B. Flavonoid

Pengujian flavonoid dilakukan dengan cara 3 mL ekstrak diambil menggunakan pipet dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL larutan H_2SO_4 . Sampel dinyatakan positif mengandung flavonoid apabila terjadi perubahan warna mencolok, seperti menjadi kuning, merah atau coklat (Munadi, 2020).

C. Tanin

Pengujian tanin dilakukan dengan cara 2 mL ekstrak diambil menggunakan pipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 1 mL larutan $FeCl_3$ 1%. Sampel dinyatakan positif mengandung tannin jika terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman (Munadi, 2020).

D. Saponin

Pengujian saponin dilakukan dengan metode Foth, dengan cara memasukkan 2 mL sampel ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air hangat dan dikocok selama 30 detik. Perubahan yang diamati adalah terbentuknya busa yang stabil dan tidak hilang dalam waktu 30 detik, yang menandakan keberadaan saponin (Munadi, 2020).

E. Terpenoid

Pengujian flavonoid dilakukan dengan cara 2 mL ekstrak diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,5 mL kloroform dan 0,5 mL $C_4H_6O_a$. Selain itu, campuran didinginkan, lalu ditambahkan 2 mL

H₂SO₄ pekat secara perlahan melalui dinding tabung. Sampel dinyatakan positif mengandung terpenoid jika terbentuk cincin coklat pada batas antara kedua pelarut (Munadi, 2020).

3.9. Formulasi SNEDDS

Pemilihan formulasi SNEDDS awalnya dilakukan secara acak untuk mencari formula yang sesuai, lalu membuat rancangan formula dengan pencampuran ekstrak jahe merah 50 mg. Campurkan As. Oleat, surfaktan dan kosurfaktan sesuai masing masing variasi, timbang ekstrak jahe merah sebanyak 50mg dan masukan ke larutan basis SNEDDS, kemudian dihomogenkan dengan hotplate magnetic stirrer dengan suhu 40°C selama 30 menit, setelah itu disonikasi 15 menit (Rusumaningsi, *et al.*, 2023). Variasi yang digunakan yang digunakan ialah 2 variasi surfaktan (tween 80) dan 3 variasi kosurfaktan (Propilen glikol) sebagai berikut:

Tabel 3.2 Pemilihan Formulasi SNEDDS

No.	Bahan	Variasi 1	Variasi 2	Variasi 3	Variasi 4	Variasi 5	Variasi 6
1.	Bahan aktif (Ekstrak jahe merah)	50 mg	50 mg	50 mg	50 mg	50 mg	50 mg
2.	Surfaktan (Tween 20)	40 g	40 g	40 g	80 g	80 g	80 g
3.	Kosurfaktan (Propilen glikol)	7.5 g	10 g	12.5 g	7.5 g	10 g	12.5 g
4.	Fase minyak (Asam oleat)	Add 100 ml	Add 100 ml	Add 100 ml	Add 100 ml	Add 100 ml	Add 100 ml

Variasi kelompok yang digunakan pada penelitian ini yaitu terdiri atas 2 variasi surfaktan (Tween 20) dan 3 variasi kosurfaktan (Propilen glikol), fase minyak yang digunakan ialah asam oleat add 100g dan zat aktif berupa ekstrak jahe merah sebanyak 50 mg.

3.10. Uji Organoleptik

Pengujian organoleptik bertujuan untuk mengetahui warna, bentuk, tekstur dan rasa dari sediaan SNEDDS. Pengujian organoleptik meliputi pemeriksaan sediaan SNEDDS secara visual untuk mengetahui bentuk, bau, warna dan teksturnya (Tungadi *et al.*, 2021).

3.11. Uji pH

Uji pH dilakukan untuk memastikan bahwa formulasi emulsi memenuhi persyaratan parameter pH. Setelah mendapatkan 10 mililiter SNEDDS dimasukkan kedalam beaker glass dan pH meter menampilkan hasil (Husni *et al.*, 2019). Hasil yang baik untuk pH sediaan SNEDDS yaitu sekitar 1,4-7,0 (Putri *et al.*, 2021).

3.12. Uji Viskositas

Pengujian viskositas bertujuan untuk melihat kekentalan sediaan SNEDDS. Metode yang dilakukan yaitu dengan memasukkan 50 mL sediaan dalam beaker glass dengan menggunakan viskometer brookfield spindle 64. Cawan sampel kemudian ditempatkan kembali pada viskometer, viskometer dihidupkan, dan sampel dibiarkan beberapa saat untuk memastikan pembacaan yang stabil. Hasil SNEDDS yang baik <10.000 cps (Beandrade., 2018).

3.13. Uji %Transmittan

Uji transmittan dilakukan untuk melihat kejernihan sediaan, dilakukan dengan spektrofotometri uv-vis. Larutan 100 pL SNEDDS ekstrakjahe merah ditambahkan ke dalam 5 mL aquadest, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex mixer selama 1 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 650 nm menggunakan aquadest sebagai blanko. Nilai transmittan yang mendekati 100% menunjukkan bahwa ukuran tetesan dispersi yang dihasilkan oleh SNEDDS telah mencapai skala nanometer (Huda dan Wahyuningsih, 2016).

3.14. Uji Ukuran Partikel dan Uji Polydispersity Indeks

Dalam penelitian ini, karakterisasi nanopartikel dilakukan menggunakan alat Particle Size Analyzer (PSA) untuk mengukur partikel, PDI dan nilai zeta potensial (Wirasti, et al., 2021). Pengujian pengukuran partikel dilakukan dengan melarutkan 100 mL aquadest dengan 100 pL SNEEDS, lalu dimasukkan sediaan tadi dalam kuvet dan dimasukkan daam PSA untuk mendapatkan hasil yang baik. Hasil terbaik untuk ukuran partikel SNEDDS yaitu berkisar 20-500 nm (Indalifiany, *et al.*, 2021). PDI yang ideal adalah kurang dari 0,05 dan PDI di atas 0,7 mengindikasikan kualitas yang kurang baik. Semakin mendekati no1 nilai PDI maka semakin baik distribusi partikel dalam system (Danaei, *et al.*, 2018).

3.15. Uji Zeta Potensial

Pengukuran zeta potensial dilakukan menggunakan PSA. Sebanyak 2 tetes SNEDDS ekstrak rimpang jahe dicampurkan ke dalam 5 mL aquadest. Kemudian, sebanyak 3 mL larutan diambil dan dimasukkan ke dalam kuvet untuk dianalisis (Indriani, et al., 2018).

3.16. Uji FTIR

Data spectrum FTIR diperoleh dengan memindai sampel menggunakan alat FTIR pada rentang gelombang 400 — 4000 cm^{-1} . Analisis dilakukan dengan *attenuated total reflecting* (ATR) yang dikombinasikan dengan spektroskopi inframerah yang memungkinkan pemeriksaan sampel secara langsung (Mohd et al., 2020). Mekanisme kerja dari FTIR yaitu cahaya diteruskan beberapa cermin lainnya hingga cahaya tersebut sampai ke detector, dimana *detector* ini akan menghasilkan sinyal dari guncangan cahaya yang disebut interferogram lalu akan berubah menjadi spectra IR dengan bantuan komputer (Zustika, 2024).

3.17. Uji TEM

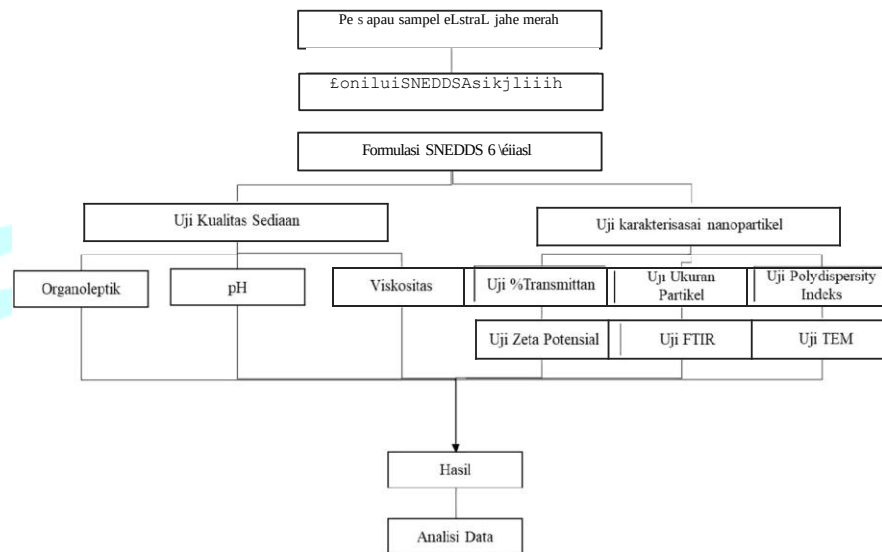
Terhadap formulasi SNEDDS yang paling optimal diambil sebanyak 1 ml dilarutkan dalam 100 ml aquadest, kemudian diambil 1 tetes larutan tersebut dan ditetaskan pada copper grid yang telah dilapisi dengan *alat Auto Carbon Coated* (JOEL JEC-560, Japan). Kemudian dimasukkan ke dalam holder dan dianalisis pada percepatan 100 kV dengan magnifikasi 60000 (Setiawan, 2021).

3.18. Analisis Data

Data penelitian yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan one way Anova dengan tingkat kepercayaan $\alpha = 95\%$. Analisis data ini bertujuan untuk melihat perbedaan bermakna pada setiap variasi formula SNEDDS. Jika nilai alpha lebih kecil dari 0,05 maka H_0 ditolak atau terdapat perbedaan pada setiap konsentrasi ekstrak dan jika nilai alpha lebih besar dari 0,05 maka H_0 diterima atau tidak terdapat perbedaan pada setiap konsentrasi ekstrak. Kemudian jika terdapat perbedaan yang nyata, dilanjutkan dengan uji lanjutan Tukey HSD untuk melihat perbedaan masing-masing variasi.

3.19. Diagram Alir Penelitian

Diagram penelitiannya adalah sebagai berikut:



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian