

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium *in vitro* dengan pendekatan kuantitatif, yang bertujuan menguji pengaruh variasi komposisi surfaktan dan kosurfaktan terhadap kualitas sediaan serta aktivitas penghambatan enzim. Penelitian menggunakan desain *one shot case study* dengan perlakuan berupa pembuatan dan pengujian beberapa formula SNEDDS, kemudian dilakukan pengukuran parameter setelah sediaan terbentuk. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) berpola faktorial yang menghasilkan 6 kombinasi formula. Faktor perlakuan adalah konsentrasi Tween 20 sebagai surfaktan dan konsentrasi propilen glikol sebagai kosurfaktan. Berdasarkan komposisi formula, Tween 20 divariasikan pada 40 g dan 80 g, sedangkan propilen glikol divariasikan pada 10 g; 12,5 g; dan 15 g, dengan ekstrak jahe merah sebagai zat aktif.

3.2 Variabel Penelitian

Penelitian ini memiliki penelitian *one shot case study*, menerapkan Rancangan Acak Lengkap (RAL) berpola faktorial 3×2 . Faktor pertama 3 level konsentrasi Tween 20 dan faktor kedua 2 level konsentrasi Propilen glikol, sehingga didapatkan enam variabel bebas. Adapun variabel terikat pada penelitian ini yaitu pengujian evaluasi sifat fisik formula meliputi uji organoleptik, uji pH, uji viskositas, uji kelarutan, uji % trasmitan, identifikasi nanoemulsi SNEDDS Particle Size Analyzer (PSA), FTIR, dan uji penghambatan α -glukosidase.

3.3 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3. 1 Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Variabel Bebas					
1.	Variasi kelompok formulasi SNEDDS ekstrak rimpang jahe merah	Variasi kelompok berdasarkan Tween 20 dan Propilen Glikol	-	Nominal	1. T20 ₄₀ P ₁₀ 2. T20 ₄₀ P _{12,5} 3. T20 ₄₀ P ₁₅ 4. T20 ₈₀ P ₁₀ 5. T20 ₈₀ P _{12,5} 6. T20 ₈₀ P ₁₅
Variabel Terikat					
1.	Uji Kelarutan	Uji kelarutan dilakukan untuk mengetahui formulasi SNEDDS yang larut dengan baik	Spektrofotometri UV-Vis	Rasio	µg/mL
2.	Uji Organoleptik	Pengujian parameter fisik warna, bau dan tekstur formulasi SNEDDS ekstrak rimpang jahe merah	Panca Indera	Nominal	1 = Warna 2 = Bau 3 = Tekstur
3.	Uji pH	Pengujian dilakukan menggunakan pH meter	pH meter	Rasio	Angka dalam pH 4 meter
4.	Uji Viskositas	Nilai viskositas di tunjukkan menggunakan	Viscometer	Rasio	cP

		alat <i>viscometer</i>			
5.	Uji Ukuran Partikel	Dilakukan untuk mengevaluasi besarnya ukuran partikel sediaan	<i>Particle Size Analyzer</i>	Rasio	Angka pada PSA (nm)
6.	Uji Polydispersity Index	Dilakukan untuk mengevaluasi keseragaman ukuran partikel sediaan	<i>Particle Size Analyzer</i>	Rasio	Angka pada PSA
7.	Uji Zeta Potensial	Dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan daya hantar listrik antar partikel	<i>Particle Size Analyzer</i>	Rasio	Angka pada PSA (mV)
8.	Uji FTIR	Dilakukan untuk mengevaluasi gugus – gugus pada sediaan	FTIR	Rasio	Jenis gugus
9.	Uji % Transmittan	Dilakukan untuk melihat kejernihan sediaan	Spektrofotometri UV-Vis	Rasio	%
10.	Uji Waktu Emulsifikasi	Dilakukan untuk menilai kecepatan	Vortex	Rasio	Waktu (s)
11.	Uji Penghambatan α -Glukosidase	Dilakukan untuk mengetahui uji penghambatan α -glukosidase dari ekstrak jahe merah	Microplate-reader	Rasio	ppm

3.4z Bahan dan Alat

3.4.1 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu Ekstrak rimpang jahe merah, serta berbagai bahan kimia seperti asam oleat (Merck), Tween 20 (Merck), Propilen glikol (Merck), H₂SO₄ (Merck), pereaksi Dragendorff (Merck), pereaksi Mayer (Merck), FeCl₃ 1% (Merck), C₄H₆O₃ (Merck), air injeksi (Merck), dan aquadest (Merck).

3.4.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu alat-alat kaca (Pyrex), neraca analitik (Adam Scientific), spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific), *particle size analyzer* (PSA) (Malvern), *Fourier transform infrared* (FTIR), serta viskometer (Lamy Rheologi Instrument).

3.5 Prosedur Riset

3.5.1 Tahap Persiapan Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan adalah ekstrak rimpang jahe merah diperoleh dari PT. Natrindo Surya Prima di Tangerang Selatan.

3.5.2 Tahap Formulasi Sediaan SNEDDS

Formulasi SNEDDS ekstrak rimpang jahe merah terdiri dari beberapa komponen utama, yaitu ekstrak jahe merah sebagai zat aktif sebanyak 50 mg, Tween 20 sebagai surfaktan dengan konsentrasi 40 g atau 80 g, Propilen glikol sebagai kosurfaktan dengan variasi 10 g, 12,5 g, atau 15 g serta asam oleat sebagai fase minyak yang ditambahkan hingga mencapai total 100 g.

3.5.3 Tahap Pengujian Sediaan SNEDDS

1. Uji Kelarutan SNEDDS

Uji kelarutan SNEDDS berdasarkan prosedur Park *et al.*, (2022) uji kelarutan dilakukan untuk mengetahui formulasi SNEDDS yang larut dengan baik. Diambil 1 mL minyak (Asam oleat), surfaktan (Tween 20) dan kosurfaktan (Propilen glikol) ditambahkan 500 mg

ekstrak rimpang jahe merah 6 lalu dimasukkan dalam sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit dengan suhu 37°C. Ambil sediaan, lalu dianalisis menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil dari kelarutan SNEDDS yang baik yaitu sediaan tersebut larut sempurna (Park *et al.*, 2022).

2. Uji Organoleptik

Uji organoleptik, atau dikenal juga sebagai uji indera, merupakan metode evaluasi yang menggunakan pancaindra manusia untuk menilai sejauh mana suatu produk dapat diterima secara subjektif.

3. Uji pH

Uji pH menggunakan pH meter dengan mencelupkan ke dalam sediaan hingga nilai pH muncul pada layar (Priya *et al.*, 2015).

4. Uji Viskositas

Uji viskositas menggunakan viskometer Ostwald. Parameter viskositas SNEDDS ditetapkan kurang dari 10.000 cPs (Patmayuni *et al.*, 2024).

5. Uji Nanoemulsi (PSA dan FTIR)

Sediaan SNEDDS di karakterisasi menggunakan PSA untuk menentukan ukuran partikel, difraktometer sinar-X untuk analisis XRD dengan kondisi operasi tertentu, serta spektrofotometer FTIR untuk mengidentifikasi gugus fungsi dalam sediaan.

6. Uji % Transmitan

Sebanyak 100 µL larutan SNEDDS ekstrak jahe merah dicampur dengan 5 mL aquadest, kemudian dihomogenkan selama 1 menit menggunakan vortex mixer. Selanjutnya, absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 650 nm dengan aquadest sebagai larutan perbandingan (blanko). Nilai transmitan yang mendekati 100% mengindikasikan bahwa ukuran tetesan dispersi dari SNEDDS telah berada pada skala nanometer (Huda & Wahyuningsih, 2016).

7. Uji Waktu Emulsifikasi

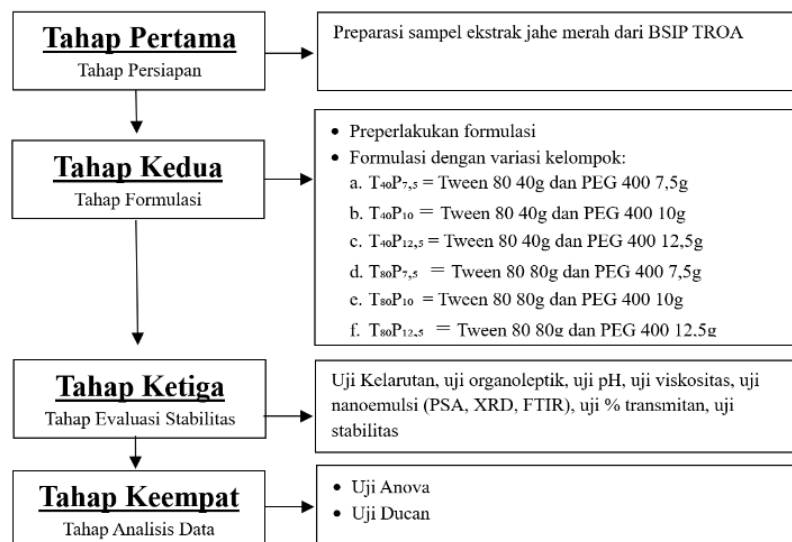
Penilaian waktu emulsifikasi bertujuan mengetahui kecepatan SNEDDS membentuk emulsi (Zhao, 2015). Sebanyak 100 μL SNEDDS dicampur dengan 5 mL aquadest menggunakan vortex, dan emulsifikasi dianggap berhasil jika emulsi sempurna terbentuk dalam waktu <1 menit (Singh *et al.*, 2020).

8. Uji Penghambatan α -Glukosidase

Uji penghambatan α -glukosidase berdasarkan Maryam *et al.*, (2020) enzim α -glukosidase yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari *Saccharomyces cerevisiae* dan memanfaatkan p-Nitrophenyl- α -D glucopyranoside (pNPG) sebagai substrat. Aktivitas enzim α -glukosidase diukur dengan mendeteksi intensitas warna kuning para-nitrophenol yang dihasilkan dari pNPG pada panjang gelombang 405 nm. Sebagai pembanding, digunakan acarbose sebagai kontrol positif. Persentase penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase dihitung berdasarkan data pengukuran tersebut.

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Sampel}} \times 100\%$$

Berikut ini diagram tahapan penelitian:



Gambar 3. 1 Diagram Tahapan Riset

3.6 Analisis Data

Tiap variasi kelompok diperiksa data kuantitatif hasil uji kualitas sifat fisik formula SNEDDS meliputi uji pH, uji viskositas, uji kelarutan, uji % trasmitan, serta hasil uji penghambatan α -glukosidase. Data dianalisis menggunakan ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%.

