

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua individu yang menjadi sumber pengambilan sampel. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih merah yang diperoleh dari Tawangmangu Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Februari 2019.

Sampel adalah representasi dari populasi yang dijadikan sumber informasi bagi semua data yang diperlukan untuk menjawab semua permasalahan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih merah muda hingga cukup tua yang diambil dari tanaman dan diperoleh dalam kondisi segar, bersih dan tidak busuk.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah fraksi etil asetat daun sirih merah dan emulgel fraksi etil asetat daun sirih merah konsentrasi 200 ppm, 400 ppm, 800 ppm.

Variabel utama kedua adalah nilai SPF dari fraksi etil asetat daun sirih merah dan emulgel fraksi etil asetat daun sirih merah yang menggambarkan aktivitas sebagai tabir surya secara *in vitro*.

Variabel utama ketiga adalah mutu fisik emulgel yang meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji viskositas, uji daya sebar, uji daya lekat, dan uji stabilitas emulgel.

Variabel utama ke empat adalah stabilitas sediaan emulgel pada penyimpanan selama 21 hari dan stabilitas terhadap perubahan suhu.

Variabel utama ke lima adalah uji iritasi sediaan emulgel terhadap responden apakah timbul eritema, bengkak, atau gatal.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi fraksi etil asetat daun sirih merah dalam basis emulgel.

Variabel kendali adalah variabel yang dianggap dapat dikendalikan berpengaruh terhadap variabel tergantung, dan dapat diulang dalam penelitian lain secara tepat. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah komposisi emulgel, proses pembuatan emulgel, kondisi peralatan, dan bahan yang digunakan di laboratorium.

Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian ini. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah nilai SPF, dan mutu fisik emulgel fraksi etil asetat daun sirih merah diantaranya organoleptis, homogenitas, viskositas, daya sebar, daya lekat, dan pH emulgel.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun sirih merah adalah daun dari tanaman sirih merah yang diperoleh dari daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, fraksi etil asetat daun sirih merah adalah fraksi yang diperoleh dari proses fraksinasi ekstrak etanol 96% sirih merah yang sebelumnya diekstraksi dengan cara maserasi.

Ketiga, emulgel fraksi etil asetat daun sirih merah adalah sediaan emulgel mengandung fraksi etil asetat daun sirih merah yang dibuat dengan mencampurkan fase emulsi dan fase gel menggunakan kombinasi emulgator tween 80 dan span 80.

Keempat, uji mutu fisik adalah pengujian suatu sediaan yang mempengaruhi kestabilan fisik dari formula emulgel. Uji mutu fisik meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji viskositas, uji daya sebar, uji daya lekat, dan uji pH.

Kelima, nilai SPF adalah nilai yang diperoleh dari hasil pengujian aktivitas tabir surya fraksi etil asetat daun sirih merah yang di formulasikan dalam emulgel dengan menggunakan instrument spektrofotometer UV VIS.

Keenam, uji stabilitas adalah pengujian sediaan emulgel fraksi etil asetat daun sirih merah selama penyimpanan selama 21 hari dan pengujian stabilitas terhadap suhu menggunakan metode *cycling test*.

Metode pengujian stabilitas terhadap suhu yaitu *cycling test* dilakukan dengan menyimpan sediaan emulgel fraksi etil asetat daun sirih merah pada suhu 4°C selama 24 jam, kemudian dilanjutkan dengan menyimpan sediaan emulgel fraksi etil asetat daun sirih merah pada suhu 40°C selama 24 jam yang disebut sebagai 1 siklus. Pengujian dilakukan selama 6 siklus, dan diamati secara fisik apakah terdapat pemisahan, perubahan pH, dan perubahan viskositas.

Ketujuh, uji iritasi adalah pengujian keamanan sediaan emulgel fraksi etil asetat daun sirih merah dengan penggunaan terhadap responden kemudian diamati apakah terjadi kemerahan, bengkak, atau gatal.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz&Pav), Carbophol 940, Polisorbat 80 (Tween 80), Sorbitan stearate (Span 80), minyak zaitun (*olive oil*), Propilenglikol, Metil Paraben, Propil paraben, TEA, BHT, *Aqua destillata*.

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat alat gelas, neraca analitik, *rotary evaporator*, *moisture balance*, *Sterling Bidwell extensiometer*, *sonikator*, *homogenizer*, *viscometer VT -04E (Rion CO, Ltd)*, *Spektrofotometer UV Vis*.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman. Determinasi tanaman untuk menetapkan kebenaran tanaman sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz&Pav) berkaitan dengan ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman sirih merah terhadap kepustakaan dan dibuktikan di Laboratorium Balai Besar

Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

2. Pembuatan serbuk daun sirih merah

Daun sirih merah diperoleh dari daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Daun sirih merah yang digunakan adalah daun yang muda hingga sudah cukup tua dan segar. Pilih daun yang dalam keadaan utuh dan tidak busuk. Daun segar dibersihkan, dan dicuci dengan air bersih. Daun sirih merah yang sudah dibersihkan dikeringkan menggunakan oven suhu 40° C. Daun sirih merah yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan *grinder*. Hasil yang diperoleh kemudian diayak dengan ayakan no 40 hingga diperoleh ukuran serbuk yang seragam dan ukuran yang lebih halus. Serbuk yang dihasilkan disimpan dalam wadah kering tertutup rapat, selanjutnya dilakukan pemeriksaan dan ekstraksi.

3. Pemeriksaan fisik serbuk daun sirih merah.

3.1 Pemeriksaan organoleptis. Pemeriksaan organoleptis adalah pernyataan sifat ukuran yang bisa dilihat dengan panca indera tanpa bantuan alat. Pemeriksaan organoleptis terhadap serbuk meliputi bentuk, warna, bau dan rasa.

4. Pembuatan ekstrak dan fraksi

Serbuk daun sirih merah di ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi. Serbuk daun sirih merah sejumlah 10 bagian dimasukkan wadah. Tuangi dengan 75 bagian penyari, tutup biarkan 5 hari. Kemudian serkai, peras ampas, tambah penyari sehingga 100 bagian. Tutup wadah, biarkan 2 hari. Kemudian enapkan dan saring. Ekstrak cair dipekatkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak pekat (Depkes 1986).

Ekstrak pekat yang diperoleh kemudian difraksinasi. Sebanyak 10 g ekstrak etanol daun sirih merah dilarutkan 50 ml air, selanjutnya dilakukan partisi dengan ekstraksi cair cair menggunakan pelarut heksan dan etil asetat 50 ml. Sehingga diperoleh fraksi heksan, etil asetat dan air. Fraksi etil asetat di pekatkan dengan *vaccum rotary evaporator* hingga diperoleh fraksi kental etil asetat (Rahardian *et al.* 2015).

5. Identifikasi ekstrak daun sirih merah

5.1 Pemeriksaan organoleptik. Pemeriksaan organoleptis adalah pemeriksaan menggunakan panca indera. Pemeriksaan organoleptis terhadap ekstrak meliputi bentuk, warna, bau dan rasa.

5.2 Penetapan susut pengeringan. Susut pengeringan diukur menggunakan alat *moisture balance*. Penggunaan alat ini dengan cara alat dinyalakan terlebih dahulu, kemudian serbuk yang diuji ditimbang 2 gram diatas wadah aluminium secara merata. Kemudian atur alat pada suhu 105⁰C, tunggu alat sampai berbunyi yang menunjukkan bobot sudah konstan. Hasil susut pengeringan ditetapkan dalam persen.

5.3 Penetapan kadar air. Penetapan kadar air dilakukan dengan destilasi toluen. Alat yang digunakan adalah *Sterling Bidwell*. Toluene yang digunakan dijenuhkan dengan air terlebih dahulu, setelah dikocok dan didiamkan, kedua lapisan air dan toluene akan memisah, kemudian air dibuang. Timbang seksama sejumlah bahan yang diperkirakan mengandung 1 ml sampai 4 ml air. Bahan yang ditimbang adalah 20 gram. Masukkan ke dalam labu alas bulat 200 ml toluene. Panaskan secara hati hati selama 15 menit. Setelah toluene mendidih, atur penyulingan dengan kecepatan penyulingan kurang lebih 2 tetes per detik hingga sebagian besar air tersuling. Kemudian kecepatan penyulingan di tingkatkan hingga kurang lebih 4 tetes per detik. Bagian pendingin pada alat dibilas dengan toluene jenuh air setelah semua air tersaring. Penyulingan dilanjutkan selama 5 menit, kemudian tabung didinginkan pada suhu ruang. Volume air dibaca setelah air dan toluen memisah secara sempurna. Kadar air dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{volume air}}{\text{bobot ekstrak}} \times 100\%$$

5.4 Penetapan kadar abu. Sejumlah 0,2 g ekstrak ditimbang dalam krus yang telah ditara, pijarkan perlahan, kemudian suhu dinaikkan secara bertahap hingga 600⁰C sampai bebas karbon, selanjutnya dinginkan dalam desikator, serta timbang berat abu. Kadar abu dihitung dalam persen berat sampel awal. Abu yang diperoleh dari kadar abu kemudian dididihkan dengan 25 ml asam klorida encer selama 5 menit, bagian yang tidak larut asam dikumpulkan, disaring melalui

kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas, disaring dan ditimbang, tentukan kadar abu yang tidak larut asam dalam persen terhadap berat sampel awal.

$$\text{Kadar abu} = \frac{\text{berat awal-berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100 \%$$

5.5 Penetapan Bobot Jenis. Bobot jenis ekstrak dihitung menggunakan piknometer. Ekstrak yang digunakan adalah ekstrak kental daun sirih merah yang sudah diencerkan 5 % menggunakan etanol 96% sebagai pelarut (Depkes RI 2000). Larutan ekstrak daun sirih merah dihitung bobot jenisnya menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Bobot jenis 5\%} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot air}}$$

6. Identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruis & Pav)

6.1 Identifikasi alkaloid. Uji alkaloid dilakukan dengan melarutkan 100 mg ekstrak dengan etanol. Larutan dibagi menjadi 3 tabung. 1 tabung pembanding tanpa reagen, dua tabung masing masing diberi beberapa tetes asam sulfat 2 N kemudian diuji dengan pereaksi *Dragendorff* dan *Mayer*. Hasil uji positif jika terbentuk endapan merah jingga dengan pereaksi *Dragendorff* dan endapan putih kekuningan dengan pereaksi *Mayer* (Harborne 1987).

6.2 Identifikasi flavonoid. Sampel sebanyak 1 gram dipanaskan dalam 100 ml aqua destillata, kemudian disaring. Filtrat diambil 5 ml ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium, 2 ml asam klorida pekat dan amil alkohol. Lalu digojog kuat dan dibiarkan memisah. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya warna merah, jingga, atau kuning pada lapisan amil alkohol. Jingga sampai merah untuk flavon, merah sampai merah tua untuk flavanol, merah tua sampai magenta untuk flavanon (Farnsworth 1966).

6.3 Identifikasi fenolik dan tanin. Sampel sebanyak 1 gram dipanaskan dalam 100 ml aqua destillata, kemudian disaring. Sebanyak 5 mL filtrat masukkan dalam tabung reaksi, tambahkan Besi (III) klorida. Hasil positif fenolik ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, violet, biru sampai hitam. Hasil

positif tanin ditunjukkan dengan larutan warna biru kehitaman (tanin galat) atau hijau kehitaman (tanin katekol) (Farnsworth 1966).

7. Formulasi emulgel fraksi etil asetat daun sirih merah

7.1 Formula. Formula emulgel mengandung fase emulsi dan fase gel. Fase emulsi mengandung minyak zaitun dan propilenglikol. Sebagai emulgator pada fase emulsi digunakan kombinasi emulgator tween 80 dan span 80. Fase gel menggunakan *gelling agent* carbophol 940. Bahan aktif fraksi etil asetat daun sirih merah ditambahkan pada basis emulgel dengan variasi konsentrasi. Variasi konsentrasi fraksi etil asetat daun sirih merah yang ditambahkan dalam basis emulgel adalah 200 ppm, 400 ppm, dan 800 ppm yang dikonversikan dalam satuan % yaitu 0.02 %, 0,04 %, dan 0.08 %. Formula yang direncanakan tersaji dalam tabel 6.

Tabel 6. Formula Emulgel Fraksi Etil Asetat Daun Sirih Merah

Bahan	F1(%)	F2(%)	F3(%)
FEA daun sirih merah	0.02	0.04	0.08
Carbophol 940	1	1	1
Olive oil	5	5	5
Tween 80	3	3	3
Span 80	2	2	2
Metil paraben	0,18	0,18	0,18
Propil paraben	0,2	0,2	0,2
BHT	0,01	0,01	0,01
Propilenglikol	10	10	10
TEA	3	3	3
Aqua bidest	ad 100	ad 100	ad 100

7.2 Cara Pembuatan emulgel. Pembuatan emulsi dari fase minyak dengan melarutkan span 80 dan BHT dalam minyak zaitun. Ekstrak daun sirih merah dapat ditambahkan di fase minyak, aduk sampai homogen. Selanjutnya dibuat fase air dengan melarutkan tween 80, metil paraben, propilparaben dalam propilenglikol. Kemudian campurkan fase minyak dan fase air menggunakan homogenizer pada kecepatan 2000 rpm sampai terbentuk emulsi. Pembuatan *gelling agent* dengan mengembangkan Carbophol 940 dalam aqua destilata tambahkan TEA untuk meningkatkan pH Carbophol yang cenderung asam. Peningkatan pH akan meningkatkan viskositas dan terbentuk massa gel. Emulgel dibentuk dengan mencampurkan emulsi ke dalam massa gel sedikit demi sedikit

menggunakan homogenizer pada kecepatan 3000 rpm selama 30 menit sampai terbentuk emulgel yang homogen.

8. Pengujian sifat fisik dan stabilitas emulgel fraksi etil asetat daun sirih merah

8.1 Uji organoleptik. Uji organoleptik emulgel meliputi uji warna, bau dan konsistensi emulgel secara fisik. Pengamatan dilakukan selama selama penyimpanan 21 hari dan pada pengujian stabilitas terhadap suhu yaitu *cycling test*.

8.2 Uji homogenitas. Emulgel dioleskan pada gelas obyek. Bila tidak terdapat butiran kasar diatas gelas obyek, maka sediaan emulgel homogen. Uji homogenitas ini dilakukan 3 kali replikasi (Safitri *et al* 2014).

8.3 Uji viskositas. Pengukuran viskositas emulgel dilakukan menggunakan viskometer. Rotor dipasang pada viskometer dengan menguncinya berlawanan arah dengan jarum jam. Cup diisi sampel yang akan diuji, kemudian tempatkan cup ditengah sampel yang akan diuji, alat diputar. Rotor berputar dan jarum menunjuk viskositas secara otomatis akan bergerak ke kanan, kemudian setelah stabil viskositas dibaca pada skala dari rotor yang digunakan (Anief 1998).

8.4 Uji pH. Pengujian pH dilakukan dengan menimbang 1 gram sampel, kemudian larutkan dalam air sampai 10 ml. Ukur pH sampel dengan pH meter. Sebelum digunakan alat dikalibrasi menggunakan larutan dapar pH 7. Elektroda pH dicelupkan ke dalam larutan emulgel, jarum pH meter bergerak sampai menunjukkan posisi tetap. Amati dan catat nilai pH yang ditunjukkan jarum (Safitri *et al.*2014)

8.5 Uji daya sebar. Uji ini dilakukan dengan menggunakan alat extensiometer. Uji dilakukan dengan cara menimbang sampel emulgel 0,5 g diletakkan diatas kaca. Kemudian dengan kaca lainnya letakkan diatas massa gel tersebut, biarkan 5 menit. Diameter emulgel yang menyebar diukur dengan mengambil rata rata diameter dari beberapa sisi. Tambahkan beban di atas kaca 50 g, 100 g, 150 g, 200 g. Setiap penambahan beban, didiamkan selama 1 menit, kemudian dicatat diameter emulgel yang menyebar. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan untuk tiap formula (Voight 1994).

8.6 Uji daya lekat. Uji dilakukan dengan meletakkan 0,5 gram emulgel diatas gelas obyek, kemudian letakkan gelas obyek lainnya diatas emulgel tersebut, dengan beban 1 kg selama 5 menit. Kemudian pasang kaca obyek pada alat ukur, lepaskan beban seberat 50 g dan catat waktunya hingga kedua gelas obyek tersebut terlepas (Safitri *et al.* 2014).

8.7 Uji stabilitas. Pengujian stabilitas emulgel dilakukan terhadap penyimpanan dan terhadap suhu. Pada pengujian stabilitas terhadap penyimpanan, sediaan emulgel disimpan dan diamati organoleptis, homogenitas, viskositas, pH, daya lekat, dan daya sebar selama 21 hari. Pengujian stabilitas sediaan terhadap suhu dilakukan dengan cara menyimpan sediaan pada suhu yang berbeda dalam waktu tertentu. Salah satu cara pengujian stabilitas terhadap suhu adalah dengan *cycling test*. Pengujian dilakukan sebanyak 6 siklus. Sediaan gel disimpan pada suhu dingin 4 °C selama 24 jam lalu dikeluarkan dan ditempatkan pada suhu 40 °C, proses ini dihitung 1 siklus (Dewi 2010). Pengamatan *cycling test* dilakukan secara organoleptis apakah terjadi pemisahan, dan diamati juga pH dan viskositas sebelum dan sesudah *cycling test*.

9. Pengujian *Sun Protecting Factor* (SPF) emulgel fraksi etil asetat daun sirih merah

Penentuan efektivitas sediaan tabir surya dilakukan dengan menguji SPF (*Sun Protecting Factor*) secara *in vitro* dengan spektrofotometri. Pengujian dilakukan terhadap fraksi etil asetat daun sirih merah, sediaan emulgel tanpa fraksi etil asetat daun sirih merah, sediaan emulgel yang mengandung fraksi etil asetat daun sirih merah dengan variasi konsentrasi 200 ppm, 400 ppm dan 800 ppm (Formula 1, 2, 3) dan sediaan mengandung tabir surya SPF 30 (kontrol positif).

9.1 Preparasi fraksi etil asetat daun sirih merah. Fraksi etil asetat daun sirih merah dibuat konsentrasi 200 ppm, 400 ppm, 800 ppm dalam etanol pa. Fraksi etil asetat daun sirih merah kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometri UV VIS pada panjang gelombang 290-320 nm dengan interval 5 nm menggunakan blangko etanol pa.

9.2 Preparasi emulgel fraksi etil asetat daun sirih merah. Sebanyak 0,5 gram sediaan emulgel masing masing formula dengan konsentrasi bahan aktif 200 ppm, 400 ppm, dan 800 ppm ditimbang, kemudian di masukkan ke dalam beker

glass, tambahkan etanol pa kurang lebih 5 ml, aduk sampai larut. Larutan kemudian diultrasonikasi selama 5 menit lalu disaring dengan kertas saring. Kurang lebih 1 ml filtrat pertama dibuang, sisa filtrat dimasukkan dalam labu takar 10 ml, ditepatkan volumenya dengan etanol pa.

9.3 Perhitungan nilai SPF (*Sun Protecting Factor*). Spektrum serapan diperoleh dengan alat Spektrofotometer UV VIS pada panjang gelombang 290-320 nm menggunakan interval 5 nm. Hasil pengukuran berupa nilai absorbansi dijadikan dasar dalam perhitungan SPF. Nilai absorbansi yang diperoleh dikalikan dengan $EE \times I$ untuk masing masing interval. Jumlah $EE \times I$ yang diperoleh dikalikan faktor koreksi dan didapat nilai SPF dari sampel uji Nilai SPF dihitung dengan menggunakan persamaan Mansur. Persamaan Mansur dirumuskan sebagai berikut :

$$SPF = CF \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

Keterangan :

CF = Faktor koreksi

EE = Spektrum efek *erytemal*

I = Spektrum Intensitas dari matahari

Abs= Absorbansi dari sampel

10. Uji iritasi pada kulit sukarelawan

Uji iritasi dilakukan dengan cara uji tempel terbuka (*patch test*) yaitu dengan mengoleskan sediaan pada lengan bawah bagian dalam yang dibuat pada lokasi lekatan dengan luas tertentu (2,5 x 2,5 cm), dibiarkan terbuka dan diamati apa yang terjadi. Uji ini dilakukan sebanyak 3 kali sehari (pagi, siang, dan sore hari) selama 3 hari (72 jam) berturut-turut. Reaksi iritasi positif ditandai oleh adanya kemerahan, gatal, atau bengkak pada kulit yang diberi perlakuan (Panjaitan 2012). Sukarelawan yang dijadikan panel pada uji iritasi berjumlah 12 orang, dengan kriteria sebagai berikut : laki-laki atau perempuan sehat berusia antara 20-35 tahun, tidak memiliki riwayat penyakit alergi, bersedia menjadi sukarelawan untuk uji iritasi, dan merupakan orang terdekat atau sering berada di sekitar pengujian sehingga lebih mudah diawasi dan diamati bila ada reaksi yang terjadi pada kulit yang sedang diuji. Selanjutnya hasil pengamatan eritema dan edema di hitung indeks iritasi.

Hasil pengamatan uji iritasi dihitung menggunakan indeks iritasi dengan rumus :

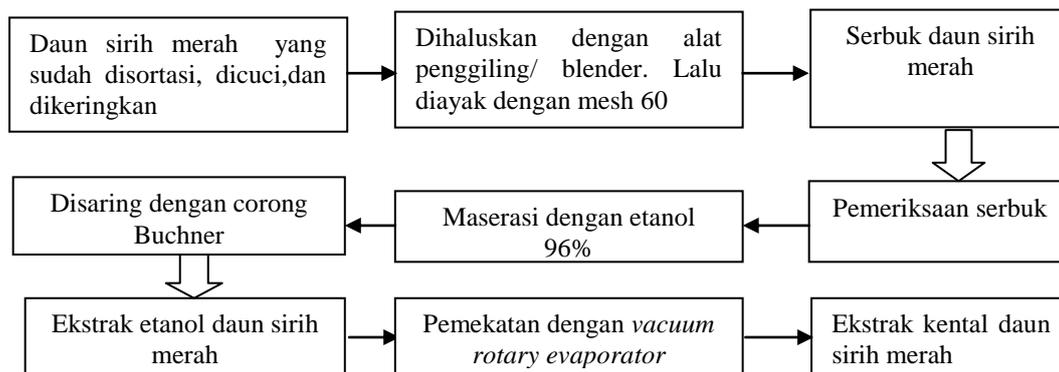
$$\text{Indeks iritasi} = \frac{(\text{Skor eritema 24+48+72 jam}) + (\text{skor edema 24+48+72 jam})}{\text{Jumlah sukarelawan}}$$

E. Teknik Analisis

Emulgel dari masing-masing formula diuji sifat fisiknya yang meliputi organoleptis, pH, homogenitas, viskositas, daya sebar, daya lekat. Stabilitas emulgel diuji pada [enyimpanan 21 hari dan stabilitas terhadap suhu dengan metode *cycling test*. Pengamatan *cycling test* dilakukan secara organoleptis apakah terjadi pemisahan pada sediaan dan nilai pH serta viskositas apakah ada perubahan sebelum dan sesudah pengujian. Analisis hasil data dilakukan pendekatan statistik dengan menggunakan aplikasi SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*). Hasil data yang diperoleh dianalisis dengan *Kolmogorov – smirnov/Saphiro-wilk* apabila data yang diperoleh menunjukkan distribusi normal maka selanjutnya dilakukan analisis *one way anova* untuk melihat apakah ada perbedaan antar formula dan dengan *Paired t test* untuk melihat apakah ada perbedaan pada hari ke 1 dan ke 21.

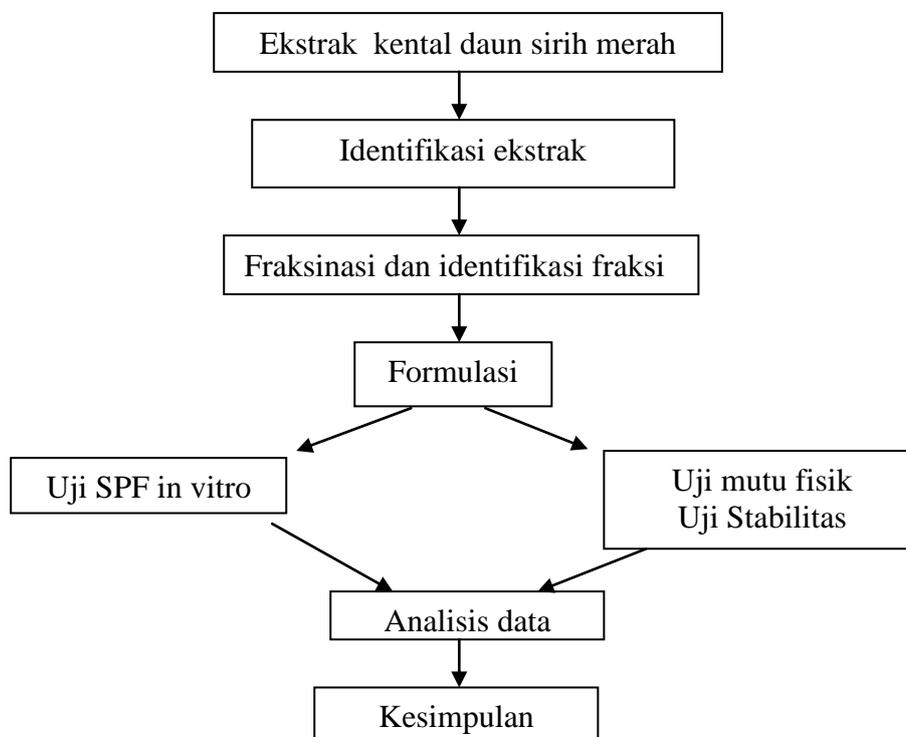
F. Skema Jalannya Penelitian

Pelaksanaan penelitian diawali dengan pembuatan ekstrak etanol daun sirih merah dengan cara ekstraksi dingin yaitu maserasi. Daun sirih merah segar yang sudah melalui proses sortasi dikeringkan. Setelah kering di ayak untuk mendapatkan serbuk dengan ukuran seragam. Hasil serbuk kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 96% selama 5 hari, lakukan pengadukan selama maserasi agar serbuk dapat terekstrak lebih optimal. Hasil maserasi disaring dan dipekatkan untuk menghilangkan pelarut, dan diperoleh ekstrak etanol daun sirih merah. Skema pembuatan ekstrak etanol daun sirih merah dengan proses maserasi dapat dilihat di gambar 15.



Gambar 15. Pembuatan ekstrak daun sirih merah

Ekstrak kental yang sudah diidentifikasi kemudian dilakukan fraksinasi. Hasil fraksi etil asetat dalam konsentrasi 200 ppm, 400 ppm, dan 800 ppm dan emulgel mengandung fraksi etil asetat daun sirih merah dalam konsentrasi yang sama di tetapkan nilai SPF (*Sun Protecting Factor*) secara *in vitro*. Sediaan emulgel mengandung fraksi etil asetat daun sirih merah juga diuji mutu fisik dan stabilitas selama penyimpanan dan stabilitas terhadap suhu. Skema fraksinasi dan formulasi dapat dilihat pada gambar 16.



Gambar 16. Skema fraksinasi dan formulasi