

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Rancangan dan Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan di laboratorium dengan menggunakan metode formulasi dan evaluasi sediaan.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Bejana Maserasi, kain saring, timbangan analitik (*OHAUS*), *Magnetic Stirrer Hotplate (SOJIKYO SHS12)*, *waterbath (Memmert WTB 6)*, *Viskometer Brookfield (RVT 115)*, alat gelas kaca (*Iwaki Pyrex*), kertas pH *universal (JUANJUAN_DF)*, *thermometer (GEA S-006)*, *rotary evaporator (IKA)*, batang pengaduk, kaca daya sebar, kaca arloji, kertas blok milimeter (*SILVER HORSE*), kaca preparat (*GEA 7105*), cawan *pocelain*, sendok tanduk, sudip, pipet tetes, kertas perkamen, *aluminiumfoil (KLINPAK)*, anak timbangan 50g dan 100g.

3.2.2. Bahan

Ekstrak daun Andong Merah, PVA (*PanReac AppliChem*), HPMC (*CV. Kimia Jaya Labora*), Propilen glikol (*PT. BRATACO*), gliserin (*PT. Palapa Muda Perkasa*), Metil Paraben (*MedChemExpress*),

Minyak mawar (*Oleum rosae*) (CV. Kimia Jaya Labora), Aquadest (CV. Kimia Jaya Labora), Ethanol (CV. Kimia Jaya Labora).

3.3. Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data

3.3.1. Pembuatan Simplisia dan Ekstraksi

Bahan yang digunakan adalah bagian daun dari tanaman Andong Merah yang tumbuh dan diambil dari Desa Kalahien, Kalimantan Tengah. Daun Andong Merah yang sudah dipanen, kemudian disortasi basah dan dicuci bersih dengan air mengalir. Selanjutnya daun Andong Merah dirajang halus dan dikeringkan dibawah sinar matahari pagi selama 3 x 24 jam untuk mengurangi kadar air pada sampel simplisia. Setelah simplisia kering, kemudian sampel simplisia disortasi kering untuk memastikan simplisia bebas dari kotoran.

Digunakan simplisia Daun Andong Merah sebanyak 500 gram yang direndam dalam etanol 70% sebanyak 2000 mL dengan perbandingan (1 : 4), selama 3 x 24 jam. Pada maserasi hari pertama, masukan simplisia daun Andong Merah sebanyak 500 gram dan direndam dengan 2000 mL etanol 70% hingga simplisia terendam sempurna, dan kemudian diaduk setiap 1 jam sekali pada 6 jam pertama dan dilanjutkan dengan pengadukan yang dilakukan setiap 6 jam sekali hingga tepat 1 x 24. Setelah proses maserasi pertama selesai, saring simplisia dan pisahkan dari filtratnya, lalu simpan

didalam wadah yang tertutup rapat. Selanjutnya, dilakukan remaserasi menggunakan pelarut yang sama hingga mendapatkan filtrat yang jernih. Filtrat hasil maserasi dan remaserasi kemudian digabungkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator*; dan bila belum didapatkan ekstrak kental, proses penguapan dilanjutkan dengan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental dengan bobot tetap dan dapat dihitung rendemen ekstraknya dengan menggunakan rumus % rendemen ekstrak (Aristyanti *et al.*, 2017). Rendemen yang baik memiliki persentase rendemen > 10%, karena nilai rendemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung didalamnya (Dewatisari *et al.*, 2017).

$$R . \text{rendemen simplisia} = \frac{\text{bobot simplisia kering}}{\text{bobot simplisia basah}} \times 100\%$$

$$R . \text{rendemen ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot sampel}} \times 100\%$$

3.3.2. Skrining Fitokimia

Lakukan skrining fitokimia untuk mengetahui metabolit sekunder apa saja yang terkandung dalam sampel ekstrak etanol 70% daun Andong Merah.

a. Alkaloid

Ambil ekstrak etanol 70% daun Andong Merah sebanyak 2 mL dan masukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan HCl 2 N sebanyak 5 mL, lalu bagi sampel dalam 3 tabung reaksi, dan tiap tabung ditambahkan dengan masing-

masing *reagen*. Pada penambahan *reagen P Mayer*, sampel dinyatakan positif mengandung alkaloid jika membentuk endapan putih. Pada penambahan *reagen Wagner*, sampel dinyatakan positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan cokelat dan pada penambahan *reagen Dragendroff*, sampel dinyatakan positif mengandung alkaloid jika terbentuk endapan jingga (Octaviani, *et al.*, 2019).

b. Flavonoid

Ambil sampel sebanyak 0,5 gram simplisia kemudian ditambahkan 10 mL aquadest panas, didihkan selama 10 menit dan disaring dalam keadaan panas, kemudian diambil filtratnya sebanyak 5 mL dan ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 1 mL HCL Pekat dan 2 mL amil alkohol, dikocok dan dibiarkan hingga terbentuk pemisahan lapisan amil alkohol pada permukaan sampel. Sampel dinyatakan positif mengandung Flavonoid jika didapati adanya perubahan warna sampel menjadi berwarna merah, kuning, ataupun jingga, pada lapisan amil alkohol (Depkes, 1989).

c. Saponin

Ambil 1 mL ekstrak etanol daun Andong Merah, dan masukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL aquadest hangat dan dikocok kuat selama 10 detik hingga terbentuk buih. Sampel dinyatakan positif mengandung saponin

jika terbentuk buih setinggi 1-10 cm dan tidak berubah setelah 10 menit. Sampel juga dinyatakan positif jika setelah dilakukan penambahan 1 tetes HCl 2 N, dan buih pada sampel tidak hilang setelah 30 detik (Baharuddin, 2017).

d. Triterpenoid dan Steroid

Ambil 2 mL ekstrak etanol 70% daun andong Merah, dan masukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 mL etil asetat dan dikocok. Selanjutnya lapisan etil asetat diambil lalu ditetesi pada plat tetes dan biarkan hingga mengering. Setelah kering, ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Apabila sampel menghasilkan warna merah atau kuning, maka sampel dinyatakan positif mengandung terpenoid dan apabila berwarna hijau maka sampel dinyatakan positif mengandung steroid (Baharuddin, 2017).

e. Tannin

Diambil 1 mL ekstrak etanol 70% daun Andong Merah, dan masukkan dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 mL air panas kemudian dididihkan selama 5 menit. Selanjutnya tambahkan FeCl₃ sebanyak 3 - 4 tetes kedalam sampel, dan amati jika sampel menunjukkan warna hijau biru (hijau - hitam) maka sampel dinyatakan positif mengandung tanin katekol dan jika sampel menunjukkan warna biru – hitam, maka sampel

dinyatakan positif mengandung tanin pirogalol (Baharuddin, 2017).

3.3.3. Prosedur Pembuatan Sediaan *Masker gel peel off*

Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan, lalu pada tahap pertama timbang dan kembangkan PVA dengan menggunakan *Aquadest* hangat (80°C) dan aduk hingga mengembang sempurna. Selanjutnya, kembangkan HPMC menggunakan *Aquadest* hangat (80°C) hingga mengembang sempurna, lalu campurkan HPMC kedalam PVA dan aduk hingga homogen (Campuran 1). Selanjutnya campurkan agen *humectant* dan *plasticizer* yaitu Propilen glikol dan gliserin kemudian tambahkan metil paraben yang sudah dilarutkan dengan *aquadest* hangat dan aduk hingga homogen (campuran 2). Selanjutnya homogenkan campuran 1 dan campuran 2, kemudian aduk hingga homogen (campuran 3). Dispersikan ekstrak daun Andong Merah dengan etanol 70% dan campurkan kedalam campuran 3 dan aduk hingga homogen. Selanjutnya tambahkan minyak mawar (*Oleum rosae*) dan aduk kembali hingga homogen, lalu timbang bobot fase *masker gel peel off* sementara dan jika belum mencapai 100 gram, maka akan ditambahkan *aquadest* sedikit demi sedikit hingga ad 100 gram dan kemudian dihomogenkan kembali. Setelah homogen pindahkan sediaan *masker gel peel off*

kedalam wadah *tube* atau kemasan masker dan berlakukan prosedur yang sama pada formula 2 dan 3.

3.4. Formulasi Sediaan

Dalam penelitian ini, digunakan komponen yang mengandung Ekstrak etanol 70% daun Andong Merah, PVA, HPMC, Metil paraben, Propilen glikol, gliserin, etanol, minyak mawar dan aquadest, dengan konsentrasi yang tertera pada tabel.

Tabel 1. Formula Sediaan Masker gel peel off Ekstrak Etanol 70% Daun Andong Merah

Bahan	Fungsi	F1	F 2	F 3
Ekstrak etanol 70% daun Andong Merah	Zat aktif	0,8 %	0,8 %	0,8 %
PVA	<i>Film-forming agent</i>	10 %	12,5 %	15 %
HPMC	<i>Gelling agent</i>	2 %	3 %	4 %
Propilen glikol	<i>Humektan</i>	10 %	10 %	10 %
Gliserin	<i>plasticizer</i>	2 %	4 %	6 %
Metil paraben	Pengawet	0,2 %	0,2 %	0,2 %
Minyak mawar	Pengaroma	0,1 %	0,1 %	0,1 %
Etanol	<i>Drying agent</i>	15 %	15 %	15 %
Aquadest	Pelarut	Ad 100	Ad 100	Ad 100

3.4.1. Evaluasi Sediaan *Masker Gel Peel Off*

1. Uji Organoleptis

Sediaan *masker gel peel off* yang sudah dibuat diamati warna, bau, tekstur dan bentuknya. Parameter standar gel yang baik adalah bentuknya kental, warna transparan, bertekstur lembut dan bau khas basis (Budiman A, 2017).

2. Uji Homogenitas

Diambil 0,1 gram sampel sediaan, kemudian dioleskan pada permukaan kaca transparan dan diamati apakah terdapat bagian yang tidak tercampur dengan baik (Aghnia, 2015). Syarat homogenitas yang baik yaitu tidak boleh mengandung bahan kasar yang bisa diraba. Homogenitas ditunjukkan dengan tidak adanya partikel kasar dan memisah pada sediaan (Fauziah, 2020).

3. Uji pH

Diambil sediaan *masker gel peel off* sebanyak 0,5 gram dan dilarutkan dalam 5ml air, kemudian dicelupkan kertas pH *universal* pada sediaan gel. Dilihat perubahan warna pada stik pH dan sesuaikan warna tersebut dengan indikator pH yang telah ditentukan. Jika nilai pH sediaan terlalu asam maka dapat mengiritasi kulit sedangkan jika pH terlalu basa maka kulit akan menjadi kering. pH *gel* yang baik memiliki pH yang sesuai dengan pH kulit wajah, yaitu 4,5 – 5,5 (Budiman A, 2017).

4. Uji viskositas

Sediaan *masker gel peel off* ditimbang sebanyak 50 gram, dan diuji dengan alat *Viskometer Brookfield* dengan *spindle* no.4, dan di *rotary* dengan kecepatan 30 rpm (Sukmawati, 2013). Viskositas sediaan kulit yang baik yaitu 2000-50.000 cps (Mailana *et.al.*, 2016).

5. Uji Daya Lekat

Masker gel peel off diambil sebanyak 0,5 gram, lalu dioleskan secara merata diatas kaca preparat dan ditimpa dengan kaca preparat lain pada permukaan sampelnya. Kaca preparat yang dipasang pada alat uji dan ditambahkan beban sebesar 50 gram selama 1 menit. Selanjutnya beban dilepaskan hingga kaca preparat terpisah dan catat waktu pelepasan dari kaca preparat Dida A, (2017) dan syarat daya lekat yang baik yaitu tidak kurang dari 4 detik (Cahyani *et.al.*, 2017).

6. Uji Daya Sebar

Masker gel peel off ditimbang sebanyak 0,5 gram lalu diletakkan pada kaca bulat yang di bawahnya sudah ditempel dengan kertas blok skala milimeter. Kemudian ditutup dengan menggunakan kaca lain yang dan dibiarkan selama 1 menit lalu diukur diameter sebarannya. Selanjutnya ditambahkan beban sebesar 50 gram dan dibiarkan selama 1 menit kemudian diukur diameter sebarannya,

dan dilakukan hal yang sama pada beban 100 gram. Daya sebar masker gel yang baik yaitu 5-7 cm (Dida A, 2017).

7. Uji Waktu Mengering

Dioleskan sampel sebanyak 0,2 gram pada permukaan kulit, kemudian ditunggu hingga kering dan dapat dikelupas. Dihitung waktu pada masing - masing untuk mengering, dengan standar waktu kering *masker gel peel off* yang baik yaitu antara 15-30 menit (Fauziah *et al.*, 2020).

8. Uji Stabilitas

Sediaan *masker gel peel off* ekstrak etanol 70% daun Andong Merah dengan variasi konsentrasi PVA, HPMC, dan gliserin dibuat dalam 3 formulasi, dan diuji stabilitasnya dengan mengamati perubahan sifat fisik sediaan (Wardani, 2016). Stabilitas sediaan ini diamati dengan uji stabilitas yang dipercepat (*accelerated stability*), yang mana sediaan akan disimpan pada suhu ruang selama 28 hari, lalu sediaan diamati pada hari ke 0 hingga hari ke 28, dan sediaan dapat dinyatakan stabil, apabila setelah diamati dan diuji stabilitasnya dan sediaan tidak menunjukkan adanya perubahan stabilitas (Priani *et.al.*,2015).

3.4.2. Analisis Data

Analisis data hasil uji evaluasi organoleptis dan homogenitas sediaan disajikan secara deskriptif dan dalam bentuk tabel. Untuk

analisis data pada uji pH, daya sebar, daya lekat, waktu kering, dan stabilitas sediaan dilakukan dengan uji parametrik *One Way Anova*, dan *T-test* untuk data yang normal dan homogen (Priyanto, 2013). Sedangkan untuk data yang tidak normal dan tidak homogen digunakan uji non parametrik *Kruskal wallis* menggunakan program SPSS 25.0. pengujian stabilitas ini ditujukan untuk mengetahui pengaruh penggunaan variasi PVA, HPMC dan gliserin dalam basis sediaan *masker gel peel off* daun Andong Merah.