

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan pada penelitian ini antara lain amilum kunyit, HCl p.a, amil alkohol p.a, gelatin 1%, FeCl₃ p.a 1%, KOH 5%, bismut subnitrat p.a, KI p.a, HgCl p.a, asam asetat anhidrat p.a, H₂SO₄ p.a, etanol 95%, *sodium sulfite*, oleum lotus, aquadest, kaolin, *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Buffered Peptone Water* (BPW).

3.2 Peralatan Penelitian

Peralatan yang akan digunakan antara lain neraca analitik (Adm PW254), gelas ukur (Pyrex), pipet takar (Pyrex), cawan petri, *Laminar Air Flow* (LAF), mikropipet (Fisherbrand), corong kaca (pyrex), beaker glass (bomex), kompor listrik (maspion), batang pengaduk, autoclaf, kaca arloji, pH meter (Neomet pH-240L GJ-7726), oven, ayakan mesh, mortir dan stamper.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bahan Alam dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Buana Perjuangan Karawang. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Februari-Juni 2021.

3.4 Prosedur Percobaan

Prosedur percobaan meliputi :

3.4.1 Uji Angka Lempeng Total (ALT)

Pertama, homogenkan sampel uji dengan larutan pepton pengencer *Pepton Dilution Fluid* (PDF) sehingga diperoleh pengenceran 10⁻¹. Dari hasil pengenceran, pipet 1 mL ke dalam tabung pertama yang berisi 9 mL larutan pengencer PDF, Campurkan larutan yang diencerkan hingga diperoleh pengenceran 10⁻². Campur dan kocok hingga homogen. Pengenceran dilakukan sampai diperoleh pengenceran bertingkat 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵ dan seterusnya. Pipet 1 mL masing-masing pengencer ke dalam cawan Petri dan siapkan dua kali. Kemudian, sebanyak 15-20 ml median *Plate Count Agar* (PCA) dituangkan ke dalam setiap cawan Petri. Cawan Petri dikocok perlahan untuk mencampur Sampel dengan

medium. Setelah media memadat, letakkan cawan Petri pada posisi optimal dalam inkubator pada suhu 35-37°C selama 24-48 jam (Yusmaniar *et al.*, 2017).

3.4.2 Uji Skrining Fitokimia

A. Uji Flavonoid

Ambil beberapa tetes sampel dan masukkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 2 mg serbuk Mg dan 3 tetes HCl pekat ke dalam sampel. Kocok sampel dan amati hingga terjadi perubahan. Jika larutan berwarna merah, kuning atau jingga, maka dapat dinyatakan positif (Purwati *et al.*, 2017).

B. Uji Alkaloid

Ambil beberapa tetes sampel dan masukkan ke dalam tabung reaksi. Dua tetes reagen *Drageendroff* ditambahkan ke sampel. amati perubahannya selama 30 menit, hasil dapat dinyatakan positif jika terbentuk larutan berwarna jingga (Purwati *et al.*, 2017).

C. Uji Polifenolat

50 mg sampel dididihkan dalam 50 mL air selama 15 menit, kemudian didinginkan dan disaring. ke dalam filtrat ditambahkan larutan pereaksi FeCl_3 1%. Jika terbentuk warna biru-hitam menunjukkan adanya polifenol (Purwati *et al.*, 2017).

D. Uji Tanin

Sampel serbuk 50 mg dididihkan dalam 50 ml air selama 15 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Tambahkan filtrat ke dalam larutan gelatin 1%. Jika terbentuk endapan putih, ini menunjukkan adanya tanin (Purwati *et al.*, 2017).

E. Uji Kuinon

Masukkan beberapa tetes sampel ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 2 tetes larutan CHCl_3 dan 3 tetes pereaksi Lieberman Burchard ke dalam sampel. Amati perubahannya, jika terjadi perubahan warna larutan menjadi merah ungu maka positif mengandung kuinon (Purwati *et al.*, 2017).

F. Uji Triterpenoid dan Steroid

Ambil sampel sebanyak 1 ml dan masukkan ke dalam tabung reaksi. 2 tetes larutan CHCl_3 ditambahkan ke dalam sampel. Tambahkan 3 tetes reagen Lieberman Burchard. Jika terbentuk warna ungu, maka menunjukkan positif adanya golongan triterpenoid. Sedangkan jika terbentuk warna biru hijau menunjukkan positif adanya golongan steroid (Purwati *et al.*, 2017).

3.5 Formulasi Sediaan

Tabel 3.1 Formulasi Sediaan Masker Serbuk (Ismail *et al.*, 2014)

Bahan	Formulasi Bobot (%)			Rentang Konsentrasi	Fungsi
	F1	F2	F3		
Amilum	16	18	20	-	Pengisi
Kunyit					
<i>Sodium Sulfite</i>	0.1	0.1	0.1	0.1-0.2%	Pengawet
Oleum	q.s	q.s	q.s	-	Pewangi
Lotus					
Kaolin	ad 100	ad 100	ad 100	-	Adsorben

3.5.1 Prosedur Pembuatan

Pembuatan sediaan masker serbuk dilakukan dengan cara amilum kunyit dan *sodium sulfite* dicampurkan hingga homogen. Kemudian ditambahkan kaolin, gerus hingga homogen. Setelah itu tambahkan Oleum Lotus sedikit demi sedikit secukupnya, gerus hingga homogen.

3.6 Evaluasi Fisik Sediaan

Pada evaluasi fisik dilakukan penelitian terhadap sediaan masker serbuk dari amilum kunyit meliputi :

3.6.1 Uji Fisik Sediaan Masker Serbuk Amilum Kunyit

A. Uji Organoleptik

Analisis secara organoleptis dilakukan dengan cara mengamati warna dan bau dari sediaan masker serbuk dari amilum kunyit (Ismail *et al.*, 2014).

B. Uji Ukuran Partikel

Sampel sebanyak 10 gram, kemudian diayak menggunakan ayakan bertingkat dengan susunan nomor mesh 5, 10, 18, dan 40 selama 5 menit. Kemudian partikel yang tertinggal dari masing-masing mesh ditimbang. Ukuran partikel dinyatakan dalam milimeter (mm) yang sesuai dengan diameter ayakan yang dilewati oleh 100 % granul (Ismail *et al.*, 2014).

C. Uji Daya Alir dan Sudut Istirahat

Uji daya alir dilakukan dengan menimbang 10 gram sampel serbuk kemudian dimasukkan ke dalam corong dengan penutup bawah. Sebelumnya, corong diletakkan diatas klem dan statif terlebih dahulu dengan tinggi dasar corong 0,25 inci yang di bawahnya ada kertas. Kemudian digunakan *stopwatch* untuk menghitung waktu alir partikel dalam corong sampai berhenti mengalir. Uji sudut istirahat dilakukan dengan mengukur ketinggian tumpukan serbuk dari uji daya alir menggunakan jangka sorong. Setelah itu diukur diameter tumpukan serbuk dan kemudian dihitung sudut istirahatnya (Ismail *et al.*, 2014).

3.6.2 Uji Sediaan Pasta Hasil Rekonstruksi Masker Serbuk

A. Uji pH

pH produk diukur dengan menambahkan 1 gram sampel ke dalam air hingga membentuk pasta kemudian mencelupkan kertas pH ke dalam sampel (Ismail *et al.*, 2014).

B. Uji Homogenitas

Sampel yang sudah berbentuk pasta dioleskan pada lempeng kaca secara merata, kemudian diamati secara visual homogenitas dari masker serbuk (Ismail *et al.*, 2014).

C. Uji Daya Sebar

Sampel berbentuk pasta ditimbang sebanyak 1 gram dan diletakkan ditengah kaca transparan yang terdapat kertas grafik di bawahnya, lalu ditutup menggunakan kaca transparan lain yang sudah ditimbang sebelumnya, diamkan selama 1 menit. Kemudian diameter sebar sampel diukur. Setelah itu, tambahkan bobot seberat 2 gram dan diamkan selama 1 menit, kemudian ukur kembali diameter sebaranya. Kemudian dilakukan perlakuan yang sama secara terus-menerus dengan bobot 4 gram dan 6 gram (Ismail *et al.*, 2014).

3.7 Uji Hedonik

Uji hedonik dilakukan khususnya dengan mengutamakan tekstur, warna, aroma dan waktu pengeringan sediaan. Metode pengujian hedonis melibatkan pengisian kuesioner pada interval penilaian reguler yaitu sangat tidak suka, tidak suka, cukup suka, suka, sangat suka. Uji coba hedonis dilakukan dengan analisis kulit 10 orang panelis dengan kriteria berusia 18 tahun ke atas, pria dan wanita, dan kondisi kulit wajah normal. Dalam penelitian ini, perubahan hidrasi dan kehalusan kulit diamati. Pengujian ini dilakukan dengan mengoleskan masker serbuk pada bagian kulit wajah (Wulandari *et al.*, 2019).

3.8 Uji Stabilitas Dipercepat

Uji stabilitas dilakukan dengan cara sediaan disimpan pada suhu $40 \pm 2^\circ\text{C}$ di dalam wadah tertutup rapat selama 3 bulan dengan interval waktu pemeriksaan yaitu bulan ke-1, bulan ke-2, dan bulan ke-3. Parameter pemeriksaan sediaan antara lain organoleptic, warna, bau, homogenitas, pH, dan batas mikroba (Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2010).

3.9 Analisis Data

Analisis data yang didapatkan dari hasil uji hedonik sediaan masker serbuk dari amilum kunyit dilakukan dengan menggunakan analisis varian satu arah (ANOVA).

3.10 Diagram Alir Penelitian

