

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang akan dilakukan adalah penelitian eksperimental. Rancangan penelitian dimulai dari sterilisasi bahan baku, skrining fitokimia, uji angka lempeng total (ALT), pembuatan sediaan masker, uji evaluasi sediaan dengan uji stabilitas dan uji hedonik dan terakhir dengan melakukan pengolahan data dengan program SPSS metode ANOVA.

3.2 Populasi dan Sampel

Sampel bahan dasar yang akan digunakan adalah amilum lempuyang pahit yang diperoleh di karawang jawabarar, sedangkan untuk populasi yang digunakan dalam penelitian untuk percobaan adalah sebanyak 10 orang di sekitaran tempat penelitian.

3.3 Bahan dan Alat Yang Digunakan

3.3.1 Bahan

Bahan penelitian yang akan digunakan antara lain amilum lempuyang pahit (*Zingiber littorale val*), sodium sulfite (p.a), HCL (p.a), H₂SO₄ (p.a), Gelatin 1%, KOH 5%, FeCL₃ 1%, KI (p.a), HgCL (p.a), asam asetat anhidrat, bismut subnitrat, etanol 95%, amil alkohol kaolin, parfum, Media *buffered pepton water* (MPW) dan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA).

3.3.2 Alat

Peralatan penelitian yang akan digunakan antara lain, *laminar air flow* (LAF), cawan petri, inkubator, neraca analitik (Vibra HT), gelas ukur (*pyrex*), corong gelas, tabung reaksi (*iwaki*), gelas kimia (*iwaki*), mikropipet (*fisherbrand*), labu spiritus, kompor listrik (Maspion), batang pengaduk, pipet tetes, autoklaf (*gemmyco*), object glass, pH meter (827 pH lab Metrhom), oven (Memmert), ayakan mesh (no mesh 20,40,60,80,100), rak tabung reaksi, mortir dan stamper.

3.4 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian meliputi :

3.4.1 Sterilisasi Bahan

A. Pengenceran Sampel

Gelas ukur berisi 45 ml NaCl 0,9% disiapkan dan 4 buah tabung reaksi yang diisi dengan 9 mL NaCl 0,9%. 5 gram Serbuk amilum lempuyang pahit ditimbang kemudian dimasukkan kedalam gelas ukur berisi 45 mL NaCl 0,9% lalu aduk sampai homogen hingga didapatkan pengenceran 10^{-1} . 1 mL pengenceran 10^{-1} dipipet ke dalam tabung reaksi kedua, aduk sampai homogen hingga didapatkan pengenceran 10^{-2} . Proses pengenceran dilakukan sampai tabung terakhir pada pengenceran 10^{-4} . Pembuatan Media *buffered pepton water* (BPW) dan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA).

Sebanyak 1,75 gram media BPW dilarutkan dalam 100 mL aquades dan 3,9 gram media PDA dilarutkan dalam 100 mL aquades. Panaskan diatas kompor listrik aduk perlahan dengan batang pengaduk hingga jernih dan tidak terdapat endapan. Angkat tabung erlenmayer lalu diamkan sampai tidak terlalu panas, tutup mulut botol dengan kapas dan dilapisi dengan alumunium foil. Sterilisasi Larutan media BPW dan PDA dengan autoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah sterilisasi selesai dilanjutkan dengan membagi larutan media BPW di dalam *laminar air flow* ke dalam 9 cawan petri masing-masing ± 12 mL, setelah itu media BPW yang sudah dingin dan memadat di simpan di dalam lemari es dalam posisi terbalik sebelum digunakan (Yusmaniar, 2015)

B. Uji Angka Lempeng Total (ALT)

0,1 mL larutan di pipet ke masing-masing media BPW dan dibuat secara duplo. Kemudian di dalam cawan petri media disebar dengan batang bengkok hingga suspensi tersebar merata. Uji kontrol (blanko) dibuat untuk mengetahui sterilitas media dan pengencer. Proses dilakukan sampai cawan petri ke-4 atau pada pengenceran hingga 10^{-4} . Jika media sudah memadat, kemudian diinkubasi pada suhu $35-37^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam dengan posisi terbalik. Amati dan hitung jumlah koloni yang tumbuh (Yusmaniar, 2015).

3.4.2 Skrining Fitokimia

Pemeriksaan metabolit sekunder dilakukan dengan metode skrining fitokimia sebagai berikut

A. Uji Alkaloid

Sebanyak 1 gram sampel dibasahkan dengan ammonia, kemudian gerus dengan mortar. Tambahkan 5 ml kloroform gerus dengan kuat, lapisan kloroform dipipet dan disaring menggunakan pipet yang disumbat dengan kapas, lalu masukan dalam tabung reaksi. Dalam tabung reaksi tambahkan HCl 2N (1:10 v/v). Kocok kuat hingga terbentuk 2 lapisan, lapisan asam dipipet dan dibagi menjadi 3 bagian.

- Filtrat 1 : Tambahkan pereaksi Mayer, terjadi endapan atau kekeruhan menandakan hasil positif alkaloid.
- Filtrat 2 : Tambahkan pereaksi Dragendroff, terjadi endapan jingga atau coklat menandakan hasil positif alkaloid.
- Filtrat 3 : Sebagai blanko (Fikayuniar, 2020).

B. Flavonoid

Sebanyak 1 gram sampel ditambahkan dengan 50 ml air panas, dididihkan selama 5 menit kemudian saring. Filtrat yang dihasilkan ditambahkan dengan sedikit serbuk Mg dan 5 ml HCl 2N. Lalu tambahkan amilalkohol kocok kuat dan biarkan memisah. Terbentuk warna kuning hingga merah 18 (atau suatu warna ekstrak tertentu) yang ditarik dengan amilalkohol menandakan hasil positif flavonoid (Fikayuniar, 2020).

C. Polifenolat

Sebanyak 50 mg sampel masukan dalam tabung reaksi dididihkan dalam 50 ml air selama 15 menit, kemudian dinginkan dan disaring (Filtrat A). Dalam filtrat A tambahkan pereaksi FeCl_3 1%. Terbentuk warna biru atau hitam menandakan hasil positif polifenolat (Fikayuniar, 2020).

D. Tanin

Sebanyak 50 mg sampel masukan dalam tabung reaksi dididihkan dalam 50 ml air selama 15 menit, kemudian dinginkan dan disaring (Filtrat A). dalam filtrat A tambahkan gelatin 1%. Terbentuknya endapan putih menandakan hasil

positif tanin (Fikayuniar, 2020).

E. Kuinon

Sebanyak 50 mg sampel masukan dalam tabung reaksi didihkan dalam 50 ml air selama 15 menit, kemudian dinginkan dan disaring (Filtrat A). Dalam filtrat A tambahkan larutan KOH 5%. Terbentuknya warna kuning hingga merah menandakan hasil positif kuinon (Fikayuniar, 2020).

F. Saponin

Sebanyak 50 mg sampel masukan dalam tabung reaksi didihkan dalam 50 ml air selama 15 menit, kemudian dinginkan dan disaring (Filtrat A). Sejumlah filtrat A, dikocok vertikal dalam tabung reaksi selama 10 detik. Terbentuknya busa yang persisten kurang lebih selama 10 menit menandakan hasil positif saponin (Fikayuniar, 2020).

G. Monoterpenoid dan Sesquiterpenoid

Sebanyak 1 gram sampel digerus dengan 5 ml eter, kemudian pipet dengan pipet yang disumbat kapas (filtrat B). Filtrat B dimasukan dalam cawan penguap, kemudian dibiarkan menguap hingga kering. Dalam residu teteskan larutan vanillin 10% dalam asam sulfat pekat melalui pinggir cawan. Terbentuknya warna-warna menandakan hasil positif mono dan sesquiterpene (Fikayuniar, 2020).

H. Triterpenoid dan Steroid

Sebanyak 1 gram sampel digerus dengan 5 ml eter, kemudian pipet dengan pipet yang disumbat kapas (filtrat B). Filtrat B dimasukan dalam cawan penguap, kemudian dibiarkan menguap hingga kering. Dalam residu teteskan 2 hingga 3 tetes pereaksi Libermann Buchard. Terbentuk warna ungu menandakan hasil positif triterpenoid, sedangkan terbentuknya warna biru atau hijau menandakan hasil positif steroid (Fikayuniar, 2020).

3.5 Pembuatan Sediaan Masker

3.5.1 Formulasi

Formulasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

Tabel 3. 1 Formulasi Sediaan Masker

Bahan	Formula %			Fungsi
	F1	F2	F3	
Amilum lempuyang pahit	20	25	30	Pengisi
<i>Sodium sulfite</i>	0,1	0,1	0,1	pengawet
Parfum	q.s	q.s	q.s	Pewangi
Kaolin	ad 100	ad 100	ad 100	Adsorben

3.5.2 Prosedur Pembuatan Masker

Pembuatan sediaan masker serbuk amilum lempuyang pahit dilakukan dengan cara amilum lempuyang pahit dan *sodium sulfite* dicampurkan hingga homogen. Kemudian ditambahkan kaolin secara perlahan, gerus hingga homogen. Setelah homogen kemudian di tambahkan parfum sedikit demi sedikit, gerus terus hingga homogen.

3.6 Evaluasi Fisik

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

3.6.1. Uji Organoleptik

Pengamatan organoleptis dilakukan secara visual dengan mengamati dari segi tekstur, bau,bentuk, dan warna sediaan masker serbuk (Numberi *et al.*, 2020).

3.6.2. Uji Ukuran Partikel

Timbang serbuk amilum sebanyak 10 gram, lalu diayak menggunakan ayakan bersusun dengan nomor mesh 5,10,18 dan 40 selama 5 menit dengan kecepatan rpm. Granul kemudian ditimbang dari masing-masing nomer mesh pada ayakan ukuran granul dinyatakan dengan satuan yang sesuai dengan diameter ayakan yang dilewati oleh 100% granul (Ismail *et al.*, 2014).

3.6.3. Uji Waktu Alir

Sebanyak 100 gram sediaan dimasukan dalam flow taster untuk diamati waktu alir. Kcepatan alir serbuk dinyatakan dalam satuan gram/detik (Husni *et al.*, 2020). Syarat-syarat waktu alir adalah sebagai berikut :

Tabel 3. 2 Syarat-Syarat Waktu Alir

Nilai	Gambaran alir
>10	Mengalir bebas
4-10	Mudah mengalir
1,6-4	Kohesif
<1,6	Sangat kohesif

(Murtini dan Elisa, 2018).

3.7 Uji Sediaan Pasta Hasil Rekonstruksi Masker Serbuk

3.7.1. Uji pH

Sediaan masker serbuk amilum lempuyang pahit diambil sebanyak 1 gram lalu diencerkan dengan 10 mL aquadest. Pengukuran pH masker dilakukan menggunakan pH meter. Umumnya pH kulit 4,5-6,5 (Numberi *et al.*, 2020).

3.7.2. Uji Homogenitas

Pemeriksaan homogenitas sediaan dilakukan dengan cara mengamati hasil pengolesan masker pada gelas objek kemudian ditempel dengan gelas objek lainnya. Masker yang homogen ditandai dengan tidak adanya gumpalan pada hasil pengolesan (Numberi *et al.*, 2020).

3.7.3. Uji Daya Sebar

Ditimbang 1 gram masker, kemudian diletakan diantara lempeng kaca berdiameter bulat. Kemudian beri beban 50 gram beban dan dibiarkan selama 5 menit lalu diukur diameter sebaranya (Numberi *et al.*, 2020).

3.8 Uji Hedonik

Uji hedonik yang dilakukan meliputi kesukaan terhadap tekstur, warna, aroma, waktu sediaan mengering. Rentang penilaian yang diberikan adalah 1 : sangat tidak suka, 2 : tidak suka, 3 : cukup suka, 4 : suka, 5 : sangat suka. Uji hedonik dilakukan dengan menggunakan metode skin analyzer, 10 orang panilis dengan kriteria 17 tahun keatas, jenis kelamin perempuan, kondisi kulit wajah normal. Pada uji ini diamati perubahan tingkat kelembaban dan kehalusan kulit. Uji ini dilakukan terhadap 10 orang panilis dengan teknik patch test (Tempat terbuka) yang dilakukan

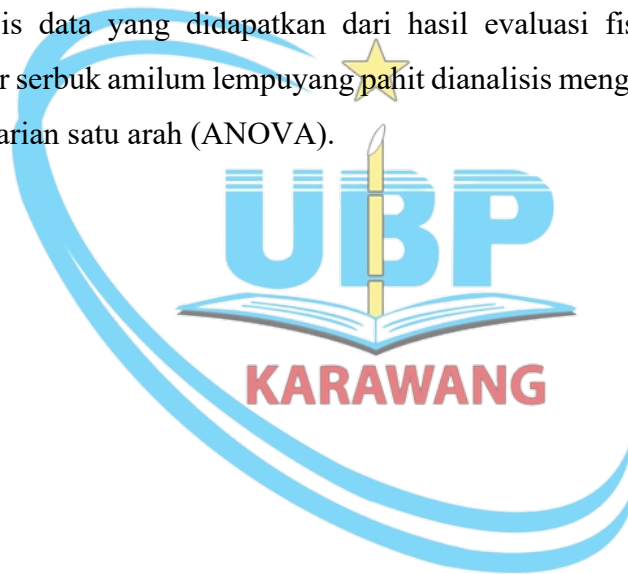
dengan mengoleskan sediaan pada sebagian kulit wajah (Wulandari *et al.*, 2019).

3.9 Uji Stabilitas Dipercepat

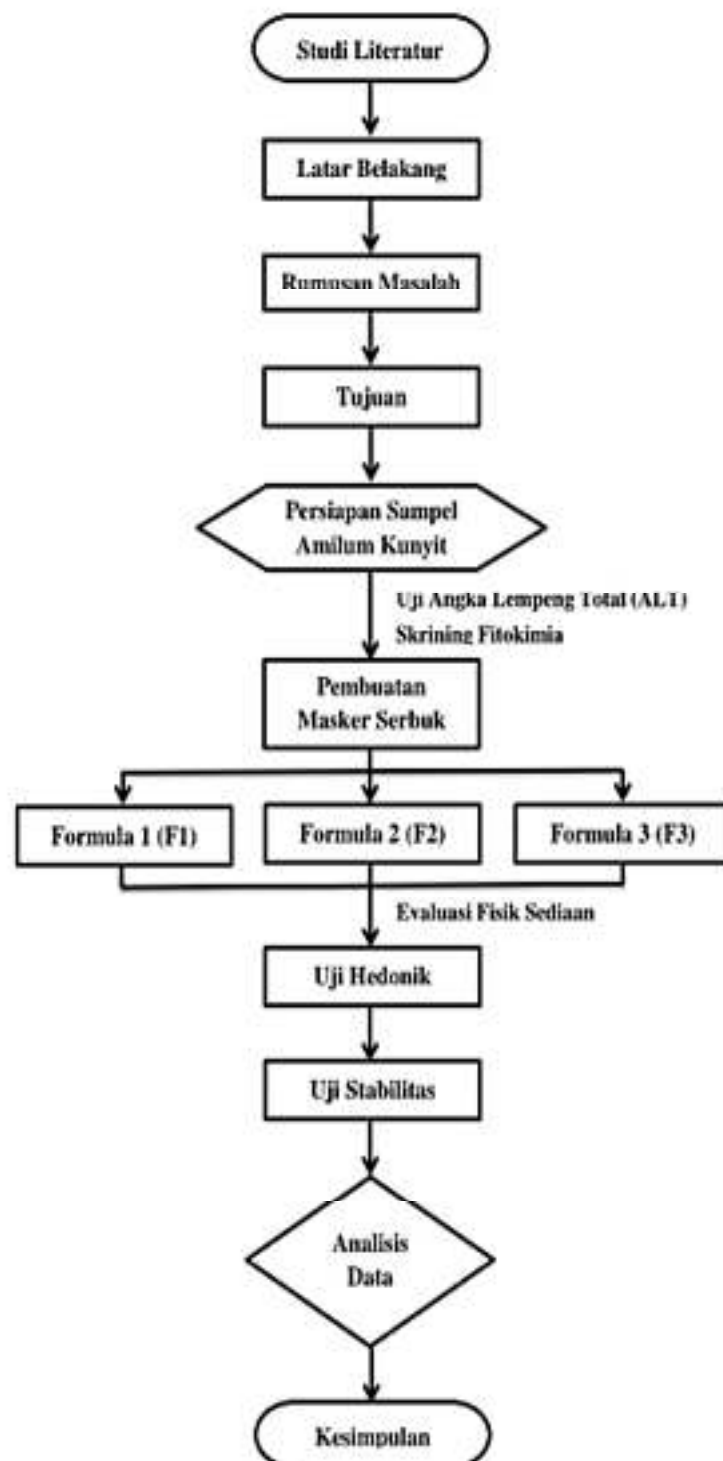
Uji stabilitas dilakukan dengan cara sediaan disimpan pada suhu $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ dan dengan wadah tertutup rapat selama 3 bulan dengan interval waktu pemeriksaan yaitu bulan ke-1, bulan ke-2, dan bulan ke-3. Parameter pemeriksaan sediaan antara lain organoleptic, warna, bau, homogenitas, pH,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

3.10 Analisis Data

Analisis data yang didapatkan dari hasil evaluasi fisik dan uji hedonik sediaan masker serbuk amilum lempuyang pahit dianalisis menggunakan pengolahan data analisis varian satu arah (ANOVA).



3.11 Diagram Alir Penelitian



Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian