

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu amilum Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.), HCl p.a, KI p.a, HgCl<sub>2</sub> p.a, Etanol 95%, asam asetat anhidrat p.a, *bismuth subnitrat*, HCl 2N p.a, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> p.a, amil alkohol p.a, FeCl<sub>3</sub> 1% p.a, Gelatin 1%, KOH 5%, *Potato Dextrose Agar* (PDA), media *Buffered Peptone Water* (BPW), aquadest, Kaolin, *Sodium sulfite* dan *Ol. Apple*.

#### 3.2. Alat Penelitian

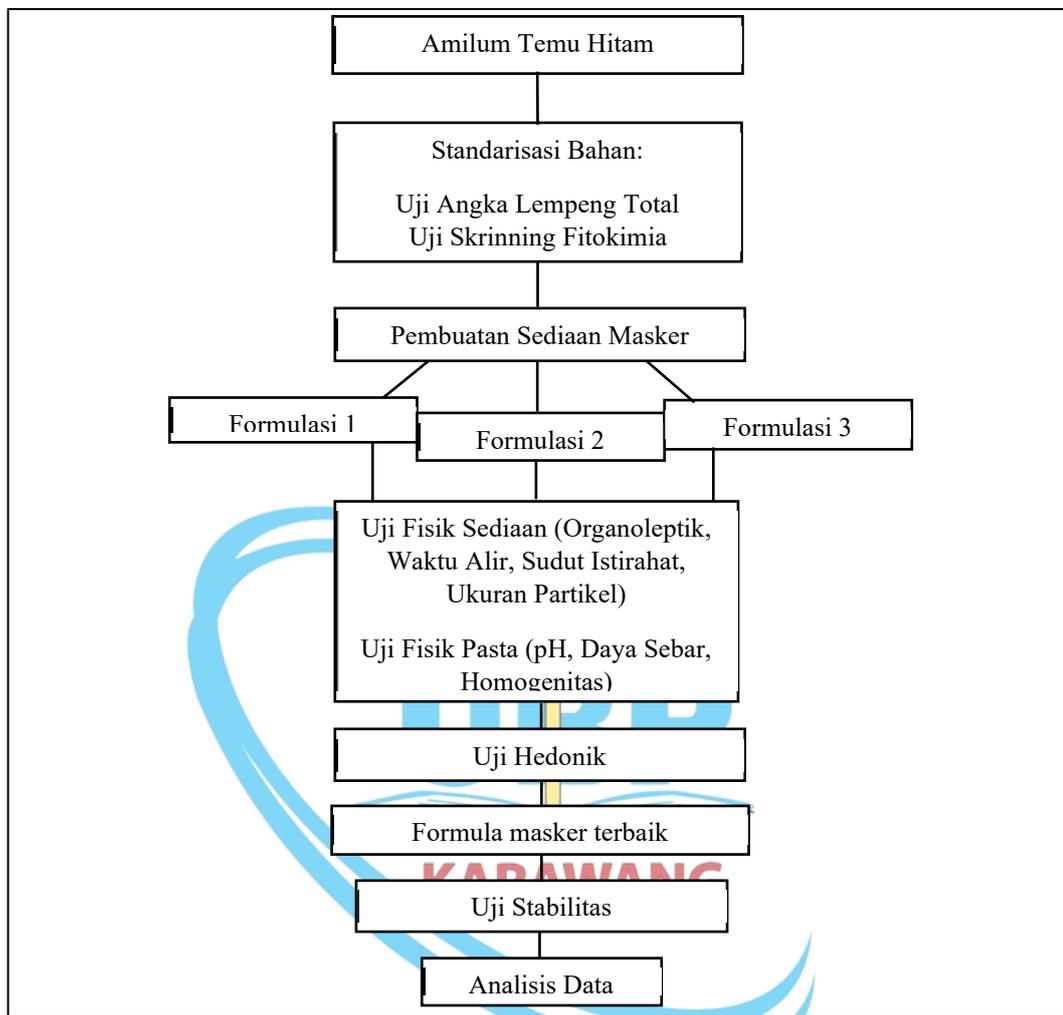
Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu gelas ukur (*Pyrex*), Erlenmeyer (*Pyrex*), beaker glass (*bomex*), kompor listrik (*Maspion*), mikropipet (*Fisherbrand*), pipet tetes, corong kaca (*pyrex*), *Laminar Air Flow* (LAF), cawan petri, tabung reaksi (*iwaki pyrex*), batang pengaduk (*iwaki pyrex*), spatula, sudip, batang bengkok, pinset, bunsen, rak tabung reaksi, penjepit kayu, aluminium foil, kertas coklat, jarum ose, autoklaf (*Germmyco*), oven (*Germmyco*), ayakan aluminium (no mesh 20, 40, 60, 80 dan 100), kaca arloji, *flow taster*, pH meter (*Neomet pH-240L GJ-7726*), mortir dan stemper.

#### 3.3. Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Universitas Buana Perjuangan Karawang. Penelitian dilaksanakan di bulan Februari 2021 sampai dengan bulan Mei 2021.

#### 3.4. Diagram Alur Penelitian

Alur penelitian untuk prosedur pembuatan masker serbuk amilum Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.):



Gambar 3. 1 Diagram Alir Prosedur Penelitian

### 3.5. Prosedur Percobaan

Dalam penelitian ini dilakukan beberapa langkah prosedur percobaan meliputi:

#### 3.5.1. Standarisasi Bahan

- a. Pembuatan Media *Buffered Peptone Water* (BPW)

*Buffered Peptone Water* (BPW) ditimbang sebanyak 2 gram lalu di larutkan di aquadest 100 mL dan diaduk hingga larut. Kemudian ditimbang sebanyak 5 gram sampel dan ditambahkan larutan *Buffered Peptone Water* (BPW) sebanyak 50 mL. Tabung reaksi disiapkan sebanyak 6 buah, tabung reaksi pertama dimasukan larutan *Buffered Peptone Water* (BPW) sebanyak 9 ml dan ditambah dengan larutan

sampel 1 ml, sehingga didapatkan pengenceran  $10^{-1}$ . Pada tabung reaksi kedua dimasukan larutan *Buffered Peptone Water* (BPW) 9 ml dan ditambah larutan pengenceran  $10^{-1}$  sebanyak 1 ml, sehingga didapatkan pengenceran  $10^{-2}$ . Tabung reaksi ketiga dimasukan larutan *Buffered Peptone Water* (BPW) 9 ml dan ditambah larutan pengenceran  $10^{-2}$  sebanyak 1 ml, sehingga didapatkan larutan pengenceran  $10^{-3}$ . Perlakuan diulangi secara duplo atau dua kali (Yusminar dan Wardiyah, 2017).

b. Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

*Potato Dextrose Agar* (PDA) ditimbang sebanyak 4,5 gram lalu dilarutkan di aquadest 120 mL. Kemudian larutan *Potato Dextrose Agar* (PDA) dipanaskan dengan kompor listrik sambil diaduk hingga larutan menjadi jernih dan tidak memiliki endapan (Yusminar dan Wardiyah, 2017).

c. Uji Angka Lempeng Total (ALT)

Setelah membuat media *Potato Dextrose Agar* selesai maka mulut beaker glass ditutup dengan menggunakan kapas dan aluminium foil lalu disterilisasi dengan *autoclave* selama 15 menit pada tekanan 1 atm suhu  $121^{\circ}\text{C}$ . Setelah steril, cawan petri disiapkan sebanyak 6 buah, lalu dimasukan 15 mL larutan *Potato Dextrose Agar* pada tiap cawan petri. Proses ini dilakukan didalam LAF agar tidak terjadi kontaminasi pada media. Setelah itu larutan pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , dan  $10^{-3}$  *Buffered Peptone Water* (BPW) dimasukan ke dalam masing-masing cawan petri kemudian di inkubasi selama 24-48 jam dengan suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) diamati dan dihitung. Perlakuan diulangi secara duplo (Yusminar dan Wardiyah, 2017).

### 3.5.2. Skrinning Fitokimia

a. Uji Alkaloid

Sebanyak 1 gram sampel dibasahkan dengan larutan ammonia dan digerus dengan mortar. Kemudian ditambah 5 ml kloroform dan digerus dengan

kuat, lapisan kloroform dipipet dan disaring dengan menggunakan pipet yang disumbat dengan kapas, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan larutan HCl 2N (1:10 v/v). Kocok kuat-kuat tabung reaksi sehingga terbentuk dua lapisan, lapisan asam dipipet dan dibagi menjadi 3 bagian. Bagian pertama ditambahkan dengan pereaksi *mayer*, jika terjadi endapan atau kekeruhan pada larutan maka positif alkaloid. Pada bagian kedua filtrat ditambahkan pereaksi *dragendorff*, jika terjadi endapan jingga atau coklat maka positif alkaloid. Untuk bagian ketiga filtrat sebagai blanko (Fikayuniar, 2020).

b. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 gram sampel ditambah dengan 50 ml air panas, lalu dididihkan selama 5 menit dan disaring. Kemudian filtrat yang dihasilkan ditambah dengan sedikit serbuk Magnesium dan 5 ml larutan HCl 2N. Setelah itu ditambahkan amil alkohol dan tabung reaksi dikocok kuat dan larutan dibiarkan memisah. Jika terbentuk warna kuning hingga merah (warna ekstrak tertentu) yang ditarik dengan amil alkohol maka positif flavonoid (Fikayuniar, 2020).

c. Uji Saponin

Sebanyak 50 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan di didihkan dalam 50 ml air selama 15 menit, kemudian di dinginkan dan disaring (Filtrat A). Sejumlah filtrat A, dikocok vertikal di dalam tabung reaksi selama 10 detik. Jika terbentuk busa yang persisten kurang lebih selama 10 menit maka sampel positif saponin (Fikayuniar, 2020).

d. Uji Tanin

Sebanyak 50 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu dididihkan dalam 50 ml air selama 15 menit, kemudian didinginkan dan disaring (Filtrat A). Filtrat A ditambahkan dengan gelatin 1%, jika terbentuk endapan putih maka sampel positif tannin (Fikayuniar, 2020).

e. Uji Polifenol

Sebanyak 50 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan di didihkan dalam 50 ml air selama 15 menit, kemudian di dinginkan dan disaring (Filtrat

- A). Filtrat A ditambah dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1%. Jika terbentuk warna biru atau hitam maka sampel positif polifenolat (Fikayuniar, 2020).
- f. Uji Kuinon  
Sebanyak 50 mg sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dididihkan dalam 50 ml air selama 15 menit, lalu didinginkan dan disaring (Filtrat A). Filtrat A ditambah dengan larutan KOH 5%. Jika terbentuk warna kuning hingga merah maka sampel positif kuinon (Fikayuniar, 2020).
- g. Uji Steroid dan Triterpenoid  
Sebanyak 1 gram sampel digerus dengan 5 ml larutan eter, kemudian di pipet dengan pipet yang disumbat kapas (filtrat B). Filtrat B dimasukkan ke dalam cawan penguap dan dibiarkan menguap hingga kering. Dalam residu diteteskan 2 hingga 3 tetes pereaksi *Liebermann Buchard*. Jika terbentuk warna ungu maka sampel positif triterpenoid, sedangkan jika terbentuknya warna biru atau hijau maka sampel positif steroid (Fikayuniar, 2020).
- h. Uji Monoterpenoid dan Sesquiterpenoid  
Sebanyak 1 gram sampel digerus dengan 5 ml larutan eter dan pipet dengan pipet yang disumbat kapas (filtrat B). Filtrat B dimasukkan ke dalam cawan penguap, lalu dibiarkan menguap hingga kering. Dalam residu ditetesi larutan vanillin 10% dalam asam sulfat pekat melalui pinggir cawan. Jika terbentuk warna-warna maka positif monoterpenoid dan sesquiterpenoid (Fikayuniar, 2020).

### 3.5.3. Formulasi Sediaan

Tabel 3. 1 Formula Masker Serbuk Amilum Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.)

Bahan	Konsentrasi (%)			Kegunaan
	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>	
Amilum Temu Hitam	15	17	20	Zat Aktif dan zat pengisi
Kaolin	85	83	80	<i>Adsorbent</i>
<i>Sodium Sulfit</i>	0,1	0,1	0,1	Pengawet
Pewangi	q.s	q.s	q.s	Pewangi

#### 3.5.4. Prosedur Pembuatan Sediaan Masker Serbuk

Pembuatan sediaan masker serbuk dari amilum Temu Hitam yaitu dengan menggunakan metode granulasi kering. Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan, kemudian timbang amilum Temu Hitam 15%, Kaolin 85% dan *Sodium Sulfit* 0,1% untuk formula pertama. Timbang amilum Temu Hitam 17%, Kaolin 83% dan *Sodium Sulfit* 0,1% untuk formula kedua dan timbang amilum Temu Hitam 20%, Kaolin 80% dan *Sodium Sulfit* 0,1% untuk formula ketiga. Selanjutnya Kaolin dimasukkan kedalam masing-masing mortir lalu gerus atau aduk hingga halus, sembari diaduk lalu tambahkan *Sodium Sulfit* yang telah ditimbang dan gerus kembali hingga halus. Setelah itu ditambahkan amilum Temu Hitam mortir yang telah dicampur kedua bahan sebelumnya dan gerus hingga halus. Terakhir ditambahkan *Ol. Apple* sebagai zat pewangi secukupnya dan digerus kembali sampai homogen. Setelah semua bahan tercampur serbuk dari sediaan masker diayak dengan ayakan mesh No. 20 dan masukan pada kemasan yang telah disediakan.

#### 3.5.5. Uji Fisik Sediaan

##### a. Uji Organoleptik

Uji organoleptik yaitu pengujian terhadap bentuk, warna, bau dan rasa dari sediaan serbuk yang didapatkan (Septianingrum *et al.*, 2019).

##### b. Uji Waktu Alir dan Sudut Istirahat

Pengujian waktu alir granul dilakukan dengan menyiapkan granul sebanyak 25 g lalu dituang ke dalam corong pengukur. Kemudian *stopwatch* disiapkan untuk menghitung lama waktu granul mengalir sampai habis lalu dicatat. Pengukuran waktu alir pada granul menggunakan alat yang bernama flowmeter. Waktu alir yang baik pada granul adalah  $\leq 10$  gram/detik atau  $100 \text{ gram} \leq 10$  detik (Septianingrum *et al.*, 2019).

Pengujian sudut istirahat atau sudut diam yaitu salah satu parameter dari sifat alir, sudut istirahat juga dapat digunakan sebagai pembanding uji sifat fisik campuran dari granul atau serbuk. Sudut istirahat (sudut diam) yang baik antara  $28^\circ$  sampai  $42^\circ$  akan menunjukkan sifat alir yang baik atau kualitas granul yang baik pada sediaan (Candra dan Fadlil, 2018).

c. Uji Ukuran Partikel

Uji ukuran partikel yaitu menyiapkan beberapa ayakan yang telah disusun dengan nomor tertentu yang berurutan dari atas ke bawah dengan makin besar nomor ayakan yang digunakan. Sediaan serbuk ditimbang kemudian dimasukkan kedalam ayakan yang paling atas. Selanjutnya serbuk diayak selama 5 menit. Setelah serbuk tersebut diayak serbuk yang terdapat didalam masing-masing ayakan ditimbang maka diameter dapat ditentukan (M. Dafit Mulyadi, Ika Yuni Astuti, 2011).

### 3.5.6. Uji Fisik Pasta

a. Uji pH

Sampel sediaan dilarutkan di dalam air destilata dengan beberapa perbandingan, lalu diukur dengan menggunakan pH meter. Kemudian nilai pH dapat terbaca pada alat pH meter (Septianingrum *et al.*, 2019). pH sediaan harus disesuaikan dengan pH kulit antara 4,5-6,5 (Fauziah *et al.*, 2020).

b. Uji Daya Sebar

Sampel sediaan sebanyak 1 g ditimbang lalu diletakan diatas kaca objek, kemudian ditutup dengan menggunakan kaca lain dan diberikan pemberat 150 g. Setelah kurang lebih 1 menit diameter yang terbentuk di kaca objek di ukur (Froelich dkk., 2017).

c. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan mengoleskan sampel sediaan diatas kaca objek, kemudian kaca objek tersebut dikatupkan dengan kaca objek yang lainnya dan dilihat apa sediaan tersebut homogen atau tidak homogen (Kuncari, 2014).

### 3.6. Uji Hedonik

Uji hedonik atau uji kesukaan yaitu untuk menguji tekstur, aroma, rasa, dan warna dari sediaan serbuk dengan cara membagikan sampel uji beserta kuisisionernya kepada 10 responden atau panelis.

Tabel 3. 2 Formulir Uji Hedonik

Formulir Uji Hedonik				
Nama :				
Jenis Kelamin :				
Produk :				
Parameter	Tingkat Kesukaan	Sampel		
		F1	F2	F3
Tekstur	Netral			
	Sangat Tidak Suka			
	Agak Tidak Suka			
	Tidak Suka			
	Suka			
	Sangat Suka			
Warna	Netral			
	Sangat Tidak Suka			
	Agak Tidak Suka			
	Tidak Suka			
	Suka			
	Sangat Tiak Suka			
Aroma	Netral			
	Sangat Tidak Suka			
	Agak Tidak Suka			
	Tidak Suka			
	Suka			
	Sangat Suka			

### 3.7. Uji Stabilitas

Uji stabilitas dilakukan untuk mendapatkan suatu hasil uji yang diinginkan pada waktu tertentu terhadap kondisi yang dapat mempercepat terjadinya perubahan pada suatu sediaan. Uji stabilitas sediaan dilakukan dengan mengambil sampel sediaan di dalam sachet atau kemasan yang kedap udara kemudian ditempatkan pada beberapa suhu yang berbeda, yaitu pada suhu dipercepat 40° C, pada suhu kamar 25° C, dan pada suhu sejuk 15° C (Prasetyorini *et al.*, 2015). Pada penelitian ini dilakukan uji stabilitas penyimpanan sampel dilakukan selama 3

bulan pada suhu 40° C. Jika hasil uji stabilitas dipercepat selama 3 bulan mendapatkan hasil yang stabil, maka sediaan tersebut stabil terhadap penyimpanan suhu kamar selama 1 tahun (Sayuti dan Winarso, 2015).

### 3.8. Analisis Data

Analisis data yang didapatkan dari hasil uji stabilitas sediaan dan uji hedonik sediaan masker serbuk amilum Temu Hitam, akan dibuat pengolahan data dengan menggunakan SPSS dengan analisis varian satu arah (ANOVA) *one-way*.

