

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang akan dilakukan adalah penelitian *true experimental laboratory*.

3.2 Variabel Penelitian

3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variable yang mempengaruhi atau variable yang menjadi sebab akibat variable terikat. Pada penelitian ini variable bebasnya adalah ekstrak daun beluntas yang digunakan sebagai bahan krim

3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variable akibat dari adanya pengaruh variable bebas. Pada penelitian ini variable terikat yaitu uji stabilitas sediaan, yang mana sebab akibat pengujian dari sediaan ekstrak daun beluntas.

3.3 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang akan digunakan antara lain ekstrak Daun Beluntas (*pluchea indica* L.), Asam Stearat, Setil Alkohol, Paraffin Liquid, Tween 80, Span 80, TEA, Gliserin, Natrium Benzoat, Parfume dan Aquadest.

3.4 Peralatan Penelitian

Peralatan penelitian yang akan digunakan antara lain Rotary Evaporator (CECIL), Water Bath (CECIL), Spektrofotometer UV-Vis (THERMO SCIENTIFIC), Neraca Analitik (ADAM SCIENTIFIC), Gelas Ukur (PYREX), Corong, Beaker Glass (BOMEX), Tabung Reaksi, Cawan Porselin, Batang Pengaduk, Mortir dan Stamper, Viskometer (LAMMYRHEOLOGY), pH Meter (ISTEK).

3.5 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Universitas Buana Perjuangan Karawang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2021 sampai Juni 2021.

3.6 Skrinning Fitokimia

Menurut (Andriyanto *et al.*, 2016) untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak daun beluntas dilakukan uji fitokimia meliputi uji alkaloid, flavanoid, saponon, tanin/polofenol, terpenoid dan steroid.

1. Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan menggunakan pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat (II)), Wagner (iodin dalam kalium iodida) dan Dragendroff (bismut nitrat dalam kalium iodida). Jika direaksikan dengan masing masing ketiga reagen tersebut maka akan terbentuk endapan jingga sampai kecoklatan dan terbentuk endapan hasil sampel mengandung alkaloid.

2. Identifikasi Flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi serbuk magnesium (Mg) dan asam klorida pekat (HCl). Tujuan dari Penambahan serbuk Mg yaitu agar membentuk ikatan dengan gugus karbonil pada senyawa flavonoid. Sedangkan tujuan Penambahan HCl yaitu untuk membentuk garam flavilium yang ditandai dengan perubahan warna menjadi merah jingga.

3. Identifikasi Tanin

Uji tanin/polifenol dilakukan dengan menambahkan larutan FeCl_3 5 % terhadap sampel. Sampel yang mengandung polifenol akan membentuk senyawa kompleks Fe_3^+ - tanin / polifenol dengan ikatan koordinasi dengan terjadinya perubahan warna menjadi biru kehitaman atau hijau kecoklatan. Hal ini terjadi karena atom O pada tanin / polifenol dapat mendonorkan pasangan elektron bebasnya ke Fe_3^+ yang memiliki orbital d kosong membentuk ikatan kovalen koordinat untuk menjadi suatu senyawa kompleks.

4. Identifikasi Saponin

Uji saponin dilakukan dengan melarutkan sampel dalam aquades kemudian dipanaskan selama 15 menit lalu dikocok selama 10 detik. Sampel positif mengandung saponin jika terbentuk buih yang stabil selama kurang lebih 10 menit dan ditambahkan beberapa tetes asam klorida 2 N.

5. Identifikasi Triterpenoid/Steroid

Uji triterpenoid/steroid dilakukan dengan melarutkan sampel dengan pereaksi Liebermann Burchard (asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat). Sampel yang mengandung senyawa golongan steroid akan berubah warna menjadi hijau kebiruan. Sedangkan senyawa golongan triterpenoid akan berubah warna membentuk cincin coklat atau violet.

3.7 Formulasi Krim

Tabel 3.1 Formulasi Sediaan Krim Ekstrak Daun Beluntas

Bahan	Formula (%)			Rentang Konsentrasi	Fungsi
	F1	F2	F3		
Ekstrak Daun Beluntas	0,5%	1%	1,5%	-	Zat Aktif
Asam Stearat	3%	6%	9%	1 – 20%	Pengemulsi
Tween 80	15%	15%	15%	-	Emulgator
Span 80	4,3%	4,3%	4,3%	-	Emulgator
Setil Alkohol	2%	4%	6%	-	Pengental
TEA	0,8%	0,8%	0,8%	-	<i>Alkalizing Agent</i>
Natrium Benzoat	0,1%	0,1%	0,1%	0,1 – 0,2%	Pengawet
Gliserin	5%	5%	5%	≤ 30 %	Humektan
Paraffin Liquid	3%	3%	3%	1 – 20%	Pelembab
Parfum	qs	qs	qs	-	Pewangi
Aquadest	Ad 100 ml	Ad 100 ml	Ad 100 ml	-	Pembawa

3.8 Prosedur Pembuatan

Prosedur pembuatan meliputi :

3.8.1 Pembuatan Ekstrak Daun Beluntas (*pluchea indica* L.)

Pembuatan ekstrak Daun Beluntas dengan metode maserasi, dikarenakan metode maserasi memiliki kelebihan yaitu terjamin zat aktif yang diekstrak tidak akan rusak. Keuntungan utama metode ekstraksi maserasi yaitu, prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana, metode ekstraksi maserasi tidak dipanaskan sehingga bahan alam tidak menjadi terurai. Daun Beluntas dimaserasi dengan menggunakan etanol 96 % sampai Daun Beluntas terendam sepenuhnya selama 3 hari dengan pengadukan setiap 24 jam sekali. Kemudian ekstrak Daun Beluntas disaring dan pelarut etanol 96 % diganti dengan yang baru. Hasil maserasi ekstrak dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan pengentalan ekstrak dengan menggunakan *waterbath*.

3.8.2 Pembuatan Sediaan Krim Ekstrak Daun Beluntas (*pluchea indica* L.)

Pembuatan Krim dimulai dengan menentukan fase minyak dan fase air. Fase minyak terdiri dari (Asam Stearat, Paraffin Liquid, Setil Alkohol, Tween, Span). Fase air (TEA, Gliserin, Sodium Benzoat, dan Aquadest). Fase minyak dibuat dengan melebur secara bersamaan (massa 1). Fase air dibuat dengan memanaskan secara bersamaan sambil diaduk-aduk sampai homogen (massa 2). Campurkan fase air (massa 2) kedalam fase minyak (massa 1) sedikit demi sedikit, tambahkan sedikit demi sedikit ekstrak Daun Beluntas (*pluchea indica* L.) hingga homogen.

3.8.3 Evaluasi Fisik Sediaan

1. Uji Organoleptik

Pengujian organoleptik dilakukan dengan mengamati masing-masing sediaan formula sebanyak tiga kali yang dilakukan secara visual meliputi warna, bau, dan tekstur (Lumentut *et al.*, 2020)

2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan cara sediaan ditimbang 1 g dioleskan pada *objek glass*. Homogen bila sediaan tidak menunjukkan adanya partikel-partikel atau tidak adanya butiran kasar (Pratasik *et al.*, 2019)

3. Uji Viskositas

Sediaan sebanyak 30 gram dimasukkan kedalam pot salep, kemudian diukur viskositasnya dengan viscometer, kemudian diatur spindle 6 dan rotor kecepatan 100 rpm. Viskositas yang baik 2.000-50.000 (Pratasik *et al.*, 2019)

4. Uji pH

Uji pH sediaan dilakukan dengan menggunakan pH meter. Masukkan sediaan dalam wadah, kemudian elektroda pengukur dicelupkan ke dalam wadah sampai elektroda tercelup. pH yang diperoleh dicatat, pH kulit 4,5 - 6,5 (Pratasik *et al.*, 2019)

5. Daya Sebar

Sediaan ditimbang sebanyak 0,5 gram diletakan ditengah cawan petri yang telah diberi millimeter *block* kemudian tutup, lalu diamkan selama 1 menit, diulangi dengan penambahan beban 50 gram sampai 250 gram setiap 1 menit. Penyebaran diukur pada beberapa sisi. Standar daya sebar 5 cm- 7 cm (Lumentut *et al.*, 2020)

6. Daya Lekat

Sediaan ditimbang sebanyak 0,1 gram dioleskan pada *objek glass* dan ditekan dengan beban alat selama 1 menit. Beban diangkat dan 2 *objek glass* yang melekat dilepaskan sambil catat waktu kedua *objek glass* terlepas. Standar daya lekat yang baik adalah ≥ 4 detik (Lumentut *et al.*, 2020)

3.9 Uji Stabilitas Dipercepat

3.9.1 Penyiapan Sampel dan Kondisi Pengujian Dipercepat

Siapkan sampel yang akan diuji, kemudian, pada setiap sampel diberi label dengan identitas kondisi penyimpanan. Dalam kondisi pengujian pada suhu ruang 29°C, dibawah sinar matahari, dan suhu oven 40 (Dewi *et al.*, 2014). Pada pengujian stabilitas fisik sediaan krim dilakukan selama 3 bulan dengan pengambilan sampel uji setiap 24 jam kemudian pada hari ke 7, 15, 30, 60, 90 (Rismana *et al.*, 2015) dan dilakukan secara triplo.

3.9.2 Parameter Stabilitas Fisik Dipercepat

Pengamatan dilakukan selama 3 bulan dengan memperhatikan perubahan yang terjadi pada sediaan meliputi :

1. Uji Organoleptik

Pengujian organoleptik dilakukan dengan mengamati masing-masing sediaan formula sebanyak tiga kali yang dilakukan secara visual meliputi warna, bau, dan tekstur (Lumentut *et al.*, 2020)

2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan cara sediaan ditimbang 1 g dioleskan pada *objek glass*. Homogen bila sediaan tidak menunjukkan adanya partikel-partikel atau tidak adanya butiran kasar (Pratasik *et al.*, 2019)

3. Uji Viskositas

Sediaan sebanyak 30 gram dimasukkan kedalam pot salep, kemudian diukur viskositasnya dengan viscometer, kemudian diatur spindle 6 dan rotor kecepatan 100 rpm. Viskositas yang baik 2.000-50.000 (Pratasik *et al.*, 2019)

4. Uji pH

Uji pH sediaan dilakukan dengan menggunakan pH meter. Masukkan sediaan dalam wadah, kemudian elektroda pengukur dicelupkan ke dalam wadah sampai elektroda tercelup. pH yang diperoleh dicatat, pH kulit 4,5 - 6,5 (Pratasik *et al.*, 2019)

5. Daya Sebar

Sediaan ditimbang sebanyak 0,5 gram diletakan ditengah cawan petri yang telah diberi millimeter *block* kemudian tutup, lalu diamkan selama 1 menit, diulangi dengan penambahan beban 50 gram sama 250 gram setiap 1 menit. Penyebaran diukur pada beberapa sisi. Standar daya sebar 5 cm- 7 cm (Lumentut *et al.*, 2020)

6. Daya Lekat

Sediaan ditimbang sebanyak 0,1 gram dioleskan pada *objek glass* dan ditekan dengan beban alat selama 1 menit. Beban diangkat dan 2 *objek glass* yang melekat dilepaskan sambil catat waktu kedua *objek glass* terlepas. Standar daya lekat yang baik adalah ≥ 4 detik (Lumentut *et al.*, 2020)

3.10 Analisi Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini menggunakan program pengolahan data *starview* dengan metode *One Way* ANOVA.



3.11 Diagram Alir

