

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Pada penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan pengujian kualitatif.

3.2 Variabel

Variable dalam penelitian ini meliputi variabel bebas dan variabel terikat. Dengan variabel bebas : variasi konsentrasi F0, F1, F2, F3 ekstrak Umbi Bit Merah (*Beta vulgaris* L.) dan variabel terikat : hasil uji organoleptic, uji homogenitas, uji pH, uji visositas, uji daya sebar dan analisis bercak yang terdapat pada sediaan Serum Wajah ekstrak etanol Umbi Bit Merah (*Beta vulgaris* L.) berdasarkan hasil kromatogram kromatografi lapis tipis (KLT) dengan penambahan penampak bercak spesifik DPPH.

3.3 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu antara lain ekstrak Umbi Bit merah diambil dari Lembang, Kab. Bandung Barat, Jawa Barat, carbomer, trietanolamin, glyserin, natrium benzoate, dinatrium EDTA, dan aquadest, DPPH 0,4%, plat KLT, Etanol 96%, n-heksana, etil asetat, methanol, asam asetat (PT. Smart Lab Indonesia).

3.3 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu antara lain alat maserator, rotary evaporator (Cecil), mortir dan stamper, labu takar, blender (Philips), timbangan analitik (Adam Scientific), alat-alat gelas (Bomex), mikropipet, pH meter (Istek), viskometer (Lammyrheologi), alat daya sebar (*object glass*).

3.4 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium Mikrobiologi dan Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang. Determinasi dilakukan di Lembaga

Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret 2021 sampai Juli 2021.

3.5 Formulasi Sreum Wajah

Formula Serum Wajah yang digunakan dalam penelitian ini mengacu pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Dedhi, 2018). Adapun formulanya sebagai berikut :

Tabel 3. 1 Prosedur Percobaan

Bahan	Konsentrasi %				Fungsi
	F1	F2	F3	F4	
Ekstrak Umbi Bit Merah	-	0,3	1	3	Zat aktif
Carbomer	0,3	0,3	0,3	0,3	<i>Gelling agent</i>
Trietanolamin	0,2	0,2	0,2	0,2	<i>Buffering</i>
Glyserin	2	2	2	2	<i>Humektan</i>
Natrium benzoate	0,2	0,2	0,2	0,2	Pengawet
Dinatrium EDTA	0,1	0,1	0,1	0,1	<i>Chelating agent</i>
Aquadest	Add 100	Add 100	Add 100	Add 100	Pembawa

Catatan: Formulasi F1, F2, F3, F4 (Dedhi, 2018), dengan memodifikasi variasi konsentrasi Ekstrak Umbi Bit Merah 0,3 %, 1%, 3%. basis (Carbomer) dan eksipien (Dinatrium EDTA).

Pembuatan Serum Wajah ekstrak etanol Umbi Bit Merah (*Beta vulgaris L.*) dibuat berdasarkan Tabel 3.1. Pembuatan serum diawali dengan mengembangkan *gelling agent* dalam 15 ml aquadest pada suhu 50°C, ditambahkan dengan trietanolamin, dinatrium EDTA, natrium benzoate dan glyserin yang disebut dengan campuran 1.

Ekstrak Umbi Bit Merah (*Beta vulgaris L.*) ditambahkan pada campuran 1 kemudian ditambahkan aquadest add 100 gram dan diaduk ad homogen (Dedhi, 2018).

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Ekstraksi

Maserasi, khususnya teknik ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi dingin karena lebih menarik dalam menarik metabolit opsional dan campuran yang ditemukan pada tanaman yang menggunakan etanol 96% sebagai pelarut, yang merupakan senyawa polar yang tidak dapat diprediksi sehingga sangat bagus untuk digunakan sebagai konsentrat. larut selama 3 hari dengan beberapa proses pencampuran.

Penyempurnaan serbuk simplisia umbi bit merah dilakukan dengan cara dijemur pada umbi bit merah yang baru saja diiris untuk bekerja dengan sistem pemurnian, setelah kering umbi bit merah dihaluskan menggunakan blender dan kemudian ditimbang, setelah ditimbang dan kemudian dihilangkan menggunakan etanol 96% yang dapat larut melalui maserasi yang dilakukan dalam waktu lama dengan melakukan pengadukan terus menerus, alat pencampuran untuk mempercepat kontak antara contoh dan zat terlarut. Seperti jarum jam filtrat dikumpulkan dan kemudian diayak konsentrasinya untuk mendapatkan filtrat utama. Kemudian, pada saat itu, endapan diekstraksi lagi selama 24 jam menggunakan pelarut etanol 96% dan diperoleh filtrat berikutnya, dll. Kemudian, pada saat itu, filtrat yang telah diperoleh dikumpulkan untuk dilakukan sistem pengentalan menggunakan evaporator, Kemudian pada saat itu siklus pengentalan konsentrat dilanjutkan dengan menggunakan pancuran air sampai diperoleh konsentrat yang kental (Syarif et al, 2008).

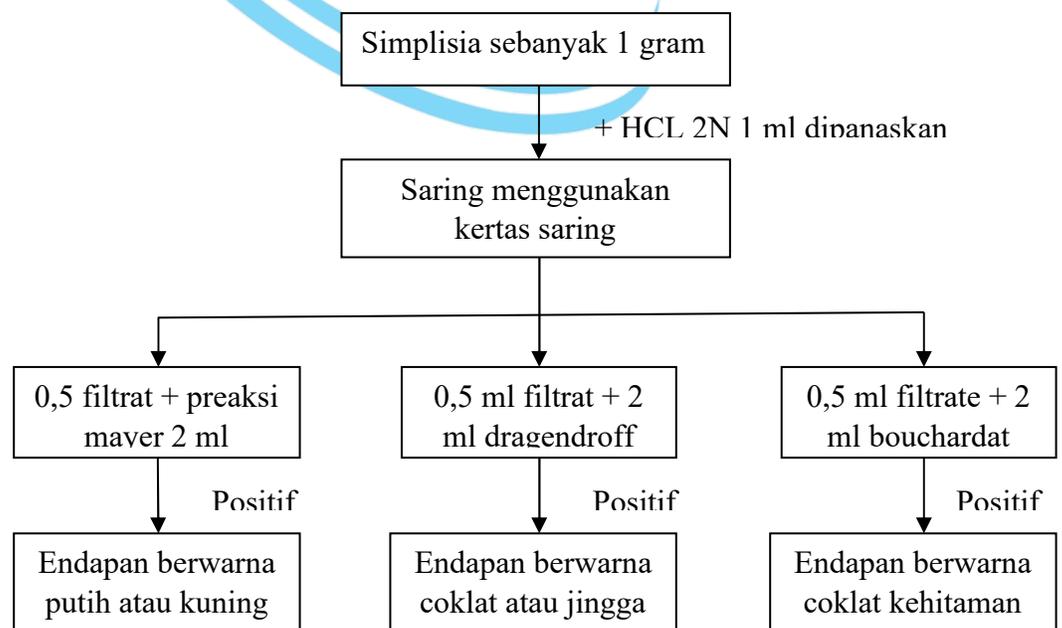
3.7 Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Etanol Umbi Bit Merah

Skrining fitokimia adalah salah satu cara yang dilakukan untuk mendapatkan hasil identifikasi senyawa metabolit sekunder suatu bahan alam, memberikan gambaran mengenai kandungan bahan alam yang diteliti secara kualitatif (Septiani *et al*, 2020)

1. Pengujian Alkaloid

Sebanyak 1 gram ditambah 1 ml HCl dan dipanaskan selama 2 menit sambil terus diaduk. Saring campuran ekstrak Daun Kemangi dan HCl setelah dingin. Filtrat hasil penyaringan digunakan untuk uji senyawa alkaloid, masukan masing-masing 0,5 ml kedalam 3 tabung reaksi.

- 1) Pada tabung 1, tambahkan pereaksi mayer sebanyak 2 ml akan menunjukkan terbentuk endapan berwarna putih atau kuning.
- 2) Pada tabung 2, tambahkan pereaksi dragendorff sebanyak 2 ml, akan menunjukkan endapan berwarna coklat atau jingga kecoklatan.
- 3) Pada tabung 3, sebagai blanko



Gambar 3. 1 Uji Alkaloid

2. Pengujian Flavonoid

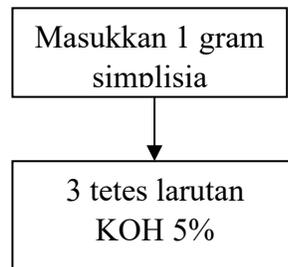
Sebanyak 1 gram ekstrak etanol Umbi Bit merah ditambahkan dengan 50 ml air panas, dididihkan selama 5 menit kemudian saring. Filtrat yang dihasilkan ditambahkan dengan 0,1 gram logam Mg dan 5 ml HCl 2N. Lalu tambahkan amil alcohol kocok kuat dan biarkan memisah. Terbentuknya warna merah atau jingga, maka sampel positif mengandung adanya senyawa flavonoid (Novatama, 2014).



Gambar 3. 2 Uji Flavonoid

3. Pengujian Kuinon

Dimasukkan 1 gram sampel Umbi Bit merah ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan 3 tetes larutan KOH 5%. Terbentuknya warna kuning - merah, maka sampel positif mengandung senyawa kuinon (Novatama, 2014).

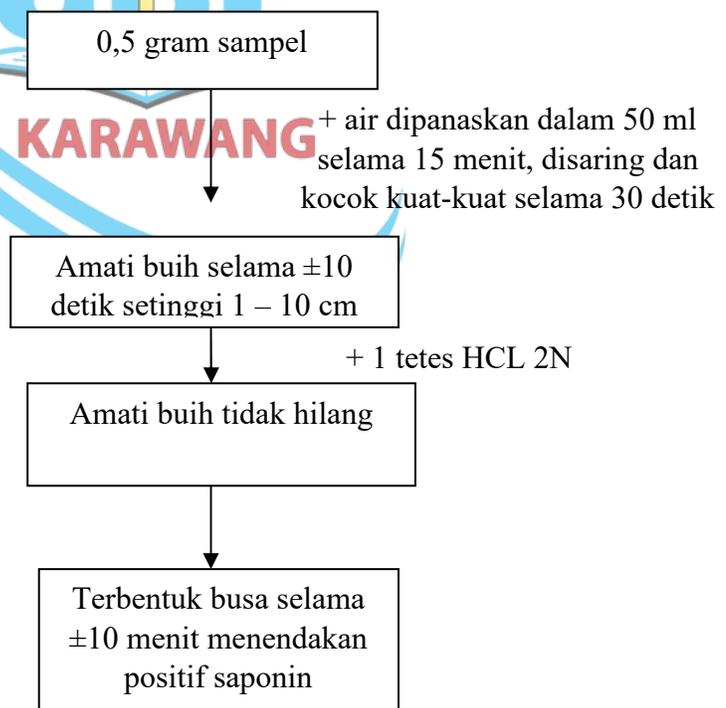




Gambar 3. 3 Uji Kuinon

4. Pengujian Saponin

Sebanyak 0,5 g sampel Umbi Bit merah ditimbang, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 50 ml air suling panas, didinginkan, kemudian dikocok kuat kuat selama 30 detik. Saponin positif jika terbentuk busa yang stabil dan presisten tidak kurang dari 10 menit setinggi ≥ 1 cm dan dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2N buih tidak hilang (Dwiliani, 2018).



Gambar 3. 4 Uji Saponin

5. Pengujian Triterpenoid dan Steroid

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

3.8 Uji Evaluasi Fisik Sediaan

A. Uji Organoleptik

Uji organoleptik yaitu dengan melihat tampilan fisik serum dengan cara melakukan pengamatan warna, bau, dan tekstur dari sediaan yang telah dibuat (Lumentut *dkk*, 2020).

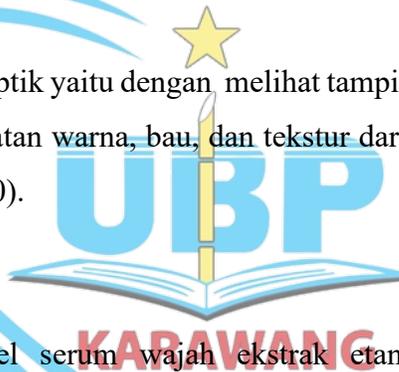
B. Uji Homogenitas

1 ml sampel serum wajah ekstrak etanol umbi bit merah diuji homogenitasnya dengan dioleskan pada kaca preparat dengan melihat ada atau tidaknya partikel yang belum homogen, dikatakan homogen yaitu tidak adanya butiran yang terlihat, dan dikatakan belum/tidak homogen terlihat adanya butiran yang tidak halus (Lumentut *dkk*, 2020).

C. Uji pH

Timbang 1 ml serum wajah ekstrak etanol umbi bit merah larutkan dengan 50 ml air kemudian diukur pHnya dengan pH meter yang telah dikalibrasi (Lumentut *dkk*, 2020). Persyaratan pH wajah yang sesuai dengan Standar Nasional Indonesia yaitu berada pada rentang 4,5 – 6,5 (Kurniawati, 2018).

D. Uji Viskositas



Uji viskositas dengan menggunakan alat *Brookfield viscometer* yaitu dengan cara memasukan 5 ml serum wajah ekstrak etanol umbi bit merah kedalam *beaker glass* dan celupkan selama 5 menit dengan kecepatan 60 rpm menggunakan tipe *spindle* No 3 (Lumentut *et all*, 2020). Persyaratan viskositas yang sesuai dengan Standar Nasional Indonesia yaitu dalam rentang 200-3000cPs (Kurniawati, 2018).

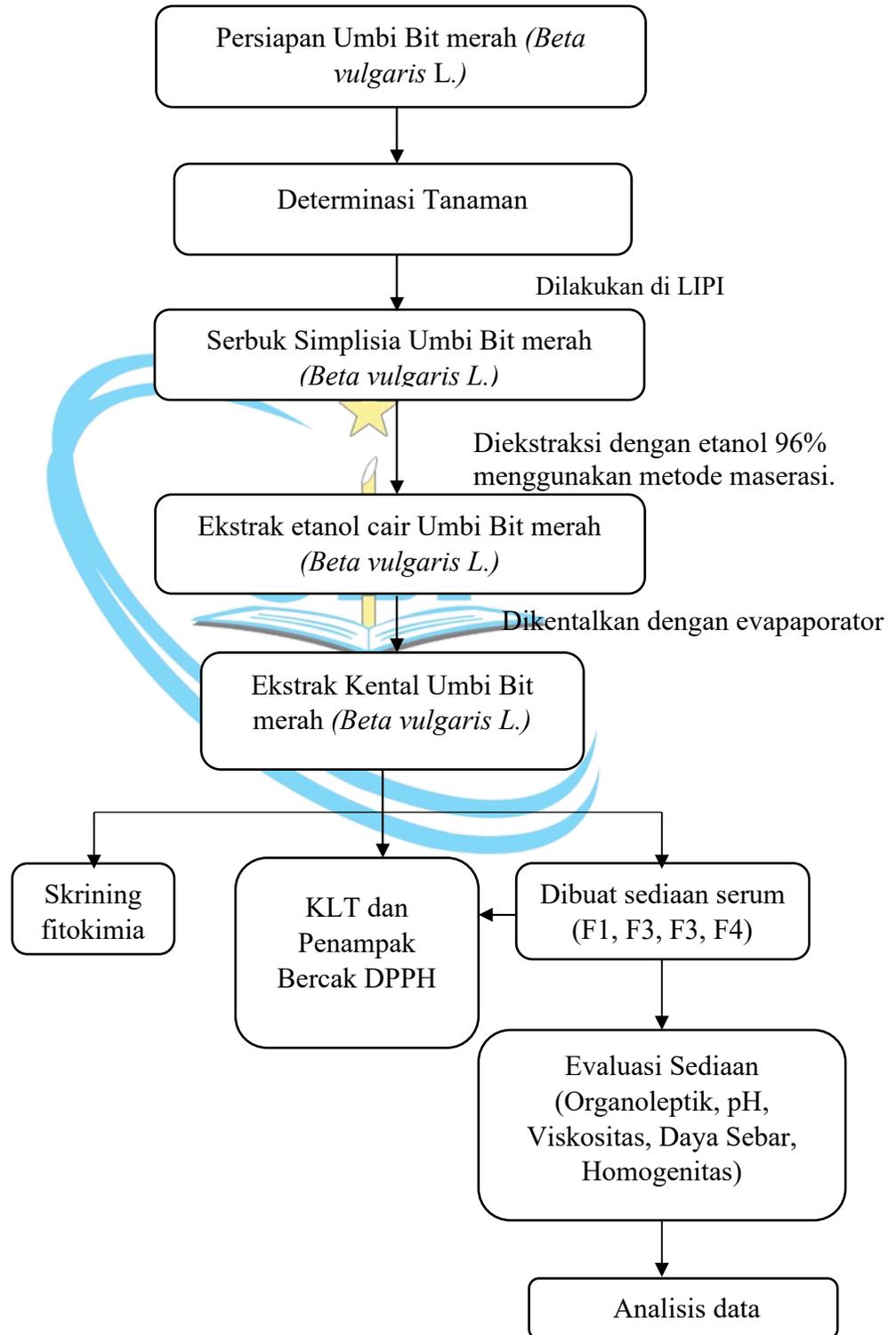
E. Daya Sebar

Dilakukan pengujian dengan menimbang sebanyak 1 gram serum wajah ekstrak etanol umbi bit merah kemudian diletakan dalam kaca bulat, kaca lainnya diletakan di atasnya dan dibiarkan selama 1 menit. Setelah itu, ditambahkan 150 gram beban didiamkan 1 menit dan diukur diameter konstan (Dedhi, 2018). Daya sebar yang baik antara 5-7 cm (Sayuti, 2015).

3.9 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis menggunakan Kromatografi Lapis Sedikit (perhatian) adalah metode yang terlibat dengan mengisolasi bagian sintetik tergantung pada aturan adsorpsi dan segmen ditentukan oleh tahap tetap (adsorben) dan tahap serbaguna (eluen). Pada pengujian ini dilakukan arah eluen terlebih dahulu dengan berbagai tingkat kelarutan untuk mendapatkan kelarutan yang memiliki pilihan untuk memberikan partisi yang besar dan pewarnaan yang besar. Eluen layak adalah eluen yang dapat mengisolasi senyawa dalam jumlah besar yang dipisahkan dengan adanya noda. Noda yang dibingkai tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan noda lainnya (Maryam et al, 2020).

3.10 Diagram Alir Penelitian



3.11 Analisis Data

Data dianalisis secara statistic menggunakan program pengolahan data statistic statview dan uji ANOVA. Yang bertujuan untuk melihat hasil optimal sediaan dengan taraf kepercayaan 95% menggunakan *software* serupa.

1. Pengambilan data meliputi: organoleptik, homogenitas, pH, viskositas, dan daya sebar.
2. Pengolahan data yang dianalisa statistik diantaranya: pH, viskositas, dan daya sebar.
3. Penyajian grafik data hasil penelitian Formulasi dan Evaluasi Fisik Sediaan Bio Essence Wajah Ekstrak Umbi Bit Merah (*Beta vulgaris L.*), disajikan dalam bentuk deskriptif dan tabel.

