BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan eksperimental dengan pengujian aktivitas antioksidan dan evaluasi fisik serum ekstrak etanol kulit pisang kepok *(Musa paradisiaca* L*)* pada suhu ruangan. Pengujian yang dilakukan yaitu pengujian organoleptis, pH, viskositas, homogenitas, daya sebar dan daya lekat.

3.2 Sampel

Sampel penelitian yang digunakan adalah ekstrak kulit pisang kepok *(Musa paradisiaca* L*)* yang diperoleh dari Karawang.

3.3 Bahan dan Alat yang Digunakan

3.3.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol kulit pisang kepok *(Musa paradisiaca* L*)*, xanthan gum Quadrantlab, gliserin CV. Purnama Jaya Sarana, Natrium Benzoat CV. Purnama Jaya Sarana, aquadest, serbuk DPPH Alorich D9132-1G, etanol 96%, Quersetin Sigma Q4951-10G, Dragendroff, Magnesium, HCl 2N.

3.3.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas ukur, *beaker glass*, mortir dan stemper, pipet tetes, kertas perkamen, cawan porselen, spatula, sendok tanduk, timbangan analitik, tabung reaksi, wadah serum, *object glass*, spektrofotometer UV-Vis Thermo Scientific, kuvet kuarsa quartz, viskometer first touch lamy rheology, pH meter benchstop tipe pH-240L, kertas saring, alat daya lekat, kaca bulat berskala.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang terlibat pada penelitian ini yaitu uji aktivitas antioksidan dan uji evaluasi fisik serum ekstrak etanol kulit pisang kepok *(Musa paradisiaca* L*)* yang diperoleh dari Karawang.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah pengujian organoleptik, pH, viskositas, homogenitas, daya sebar dan daya lekat serum ekstrak etanol kulit pisang kepok *(Musa paradisiaca* L*)*.

3.4.3 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
		Variabel Bebas			
1	Uji aktivitas antioksidan serum ekstrak etanol kulit pisang kepok	Uji aktivitas antioksidan serum ekstrak etanol kulit pisang kepok *(Musa paradisiaca* L*)* yang diperoleh dari Karawang	Pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH dengan alat spektrofotometri UV-Vis	-	-
2	Uji evaluasi fisik serum pisang kepok	Uji evaluasi fisik serum ekstrak etanol kulit pisang kepok *(Musa paradisiaca* L*)* yang diperoleh dari Karawang	Pengujian fisika meliputi organoleptik (warna,bau,tekstur), pH, homogenitas, viskositas, daya sebar dan daya lekat	-	-
		Variabel Terikat			
3	Warna	Parameter fisik menggunakan indera mata dalam pengujian sampel serum ekstrak etanol kulit pisang kepok	Uji organoleptik	Nominal	1. Warna putih 2. Warna agak kekuningan
4	Bau	Parameter fisik menggunakan indera penciuman	Uji organoleptik	Nominal	1. Bau lemah/kuat

		dalam pengujian sampel sediaan serum ekstrak etanol kulit pisang kepok			2. Tidak berbau
5	Tekstur	Parameter fisik menggunakan indera penglihatan dalam pengujian sampel sediaan serum esktrak kulit pisang kepok	Uji organoleptik	Nominal	1. Kental 2. Licin
6	Homogenitas	Uji homogenitas sediaan serum dilakukan dengan mengoleskan serum pada kaca objek, kemudiaan dikatupkan dengan kaca objek yang lainnya untuk diamati homogenitasnya	Uji homogenitas menggunakan kaca objek	Nominal	1. Tidak homogen 2. Homogen
7	Ph	Nilai pH sediaan serum yang ditunjukkan sesuai dengan pH kulit oleh pH meter	pH meter	Rasio	Angka dalam pH meter, pH yang baik 4,5 – 6,5.
8	Viskositas	Uji viskositas sediaan serum ekstrak etanol kulit pisang kepok	alat Viskometer Brookfield dengan spindle yang sesuai	Rasio	cP

UBP KARAWANG

	dilakukan dengan alat Viskometer *(Brookfield Cone)*.

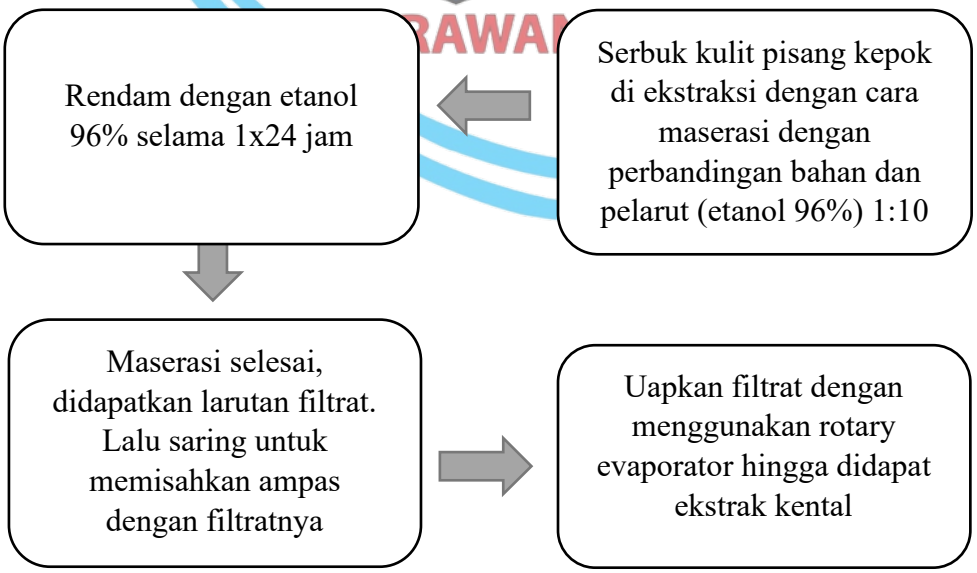
3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman adalah identifikasi suatu tanaman sehingga nama ilmiah tanaman tersebut diketahui, maka dari itu dilakukan determinasi ekstrak etanol kulit pisang kepok *(Musa paradisiaca* L*)* untuk diidentifikasi kebenaran dari tanamannya.

3.5.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok *(Musa paradisiaca* L*)*

Serbuk kulit pisang kepok *(Musa paradisiaca* L*)* di ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan perbandingan bahan dan pelarut (etanol 96%) 1:10. Serbuk kulit pisang kepok *(Musa paradisiaca* L*)* direndam dengan etanol 96% selama 1x24 jam. Setelah proses maserasi selesai didapatkan larutan filtrat kemudian larutan filtrat disaring untuk memisahkan ampas dengan filtratnya. Filtrat kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapat ekstrak kental (Ibrahim *et al*, 2014).



Gambar 3.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok

3.5.3 Skrining Fitokimia (Sonja, V.T, dkk, 2018)

a. Identifikasi Alkaloid

Disiapkan sampel uji dan diambil beberapa tetes kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi. Pada sampel tersebut ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendroff. Perubahan yang terjadi selama 30 menit, hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk warna jingga coklat.

b. Identifikasi Flavonoid

Sampel uji dimasukkan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan air panas didihkan selama 5 menit, lalu saring dengan kertas saring hingga didapatkan filtrat. Filtrat ditambahkan serbuk Magnesium 2 mg dan diberikan 3 tetes HCl 2N. Sampel dikocok kuat dan diamati perubahan yang terjadi, terbentuknya warna kuning hingga merah pada larutan menunjukkan adanya flavonoid.

c. Identifikasi Saponin

Sampel uji dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan air panas lalu dikocok selama 10 - 30 detik. Diamati perubahan yang terjadi. Apabila terbentuk busa yang persisten (tidak hilang selama lebih kurang 10 menit) maka identifikasi menunjukan adanya saponin.

d. Identifikasi Polifenolat

Sampel uji dimasukan sebanyak 1-2 gr ke dalam tabung reaksi dan di didihkan dalam 50 mL air selama 15 menit, kemudian dinginkan dan disaring (Filtrat A).

Ambil sejumlah Filtrat A, ditambahkan $FeCl_3$ 1%, terbentuknya warna hitam atau hitam kehijauan menunjukkan adanya polifenolat (tanin galat).

e. Identifikasi Tanin

Ambil sejumlah Filtrat A, lalu ditambahkan larutan gelatin 1% terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya tanin.

f. Identifikasi Steroid dan Triterpenoid

Sampel uji dimasukkan kedalam mortir sebanyak 1 gr dan ditambahkan 25 eter, kemudian dipipet dan disaring dengan kertas saring (Filtrat B).

Filtrat B ditempatkan dalam cawan penguap, kemudian dibiarkan menguap hingga kering. Ke dalam residu diteteskan 2-3 tetes pereaksi Libermann Buchard. Terbentuknya warna ungu berubah menjadi biru menunjukkan adanya golongan triterpenoid, sedangkan terbentuknya warna merah berubah menjadi warna hijau menunjukkan adanya golongan steroid.

3.5.4 Pengujian Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok (M. Reza & Yunita, 2017)

a. Pembuatan Larutan DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 4 mg dan dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 100 mL, dan dibuat larutan stok DPPH dengan konsentrasi 25, 50, 75 dan 100 mg/L. Pada masing – masing konsentrasi, ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas (10 ml).

b. Pembuatan Larutan Uji

Dibuat larutan uji ekstrak etanol kulit pisang kepok, dipipet sebanyak 10 mL kemudian dilarutkan dalam 20 ml etanol, kocok sampai homogen. Buat larutan stok dengan konsentrasi 25, 50, 75 dan 100 mg/L.

c. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Masing – masing larutan uji di pipet 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah sebanyak 2 ml etanol dan 1 ml DPPH, dikocok hingga homogen. Selanjutnya larutan tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37ºC dan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.5.5 Formulasi Serum Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok

Tabel 3.2 Formulasi Serum Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok

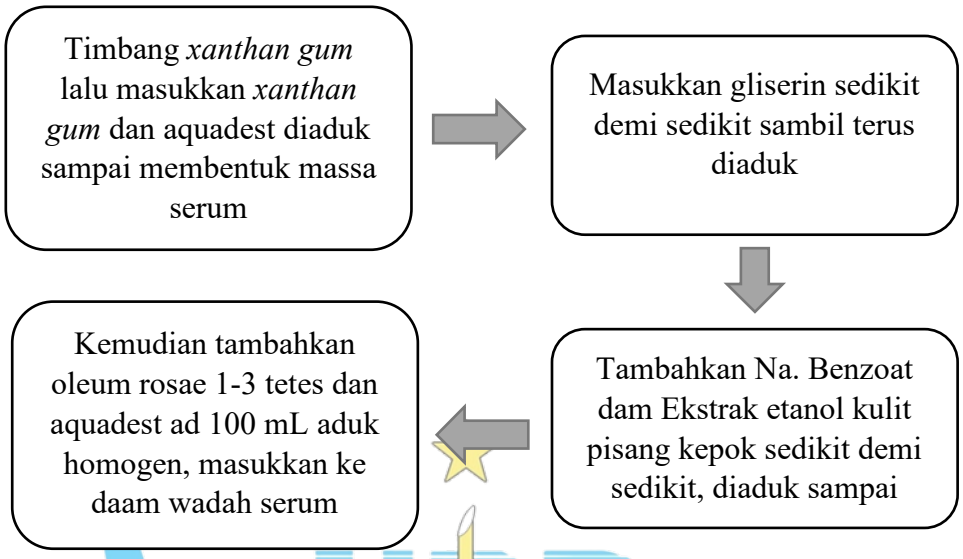
(Rosiana Sari *et al*, 2017; Azizah Yunita K *et al*, 2018)

Nama Bahan	**Fungsi**	**Konsentrasi (%)**				
		F1	**F2**	**F3**	**K(-)**	**K(+)**
Ekstrak kulit pisang kepok *Musa Paradisiaca L*	Zat Aktif	6%	8%	10%	0	Quersetin
Xanthan gum	Gelling Agent	0,8	0,8	0,8	0,8	
Gliserin	Humektan	10	10	10	10	
Na. Benzoat	Pengawet	0,2	0,2	0,2	0,2	
Ol. Rosae	Pewangi	q.s	q.s	q.s	q.s	
Aquadest	Pelarut	ad 100 mL	ad 100 mL	ad 100 mL	ad 100 mL	

3.5.6 Pembuatan Serum Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok

Pembuatan serum ekstrak etanol kulit pisang kepok dibuat berdasarkan formula pada **Tabel 3.2**. pembuatan serum diawali dengan menimbang *xanthan gum* lalu masukkan *xanthan gum* dan aquadest diaduk sampai membentuk massa

serum. Setelah itu dimasukkan gliserin sedikit demi sedikit sambil terus diaduk, lalu tambahkan Na. Benzoat dan ekstrak etanol kulit pisang kepok sedikit demi sedikit, diaduk sampai homogen. Kemudian ditambahkan oleum rosae 1-3 tetes dan aquadest ad 100 mL diaduk ad homogen, dimasukkan ke dalam wadah serum.



Gambar 3.2 Pembuatan Serum Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok

3.6 Pengujian Antioksidan dengan Metode DPPH (M. Setiawan I *et al*, 2019)

a. Pembuatan Larutan DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 4 mg dan dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 100 mL, dan dibuat larutan stok DPPH dengan konsentrasi 25, 50, 75 dan 100 mg/L. Pada masing – masing konsentrasi, ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas (10 ml).

b. Pembuatan Larutan Sampel

Dibuat larutan uji serum ekstrak etanol kulit pisang kepok, dipipet sebanyak 10 mL kemudian dilarutkan dalam 20 ml etanol, kocok sampai homogen. Buat larutan stok dengan konsentrasi 25, 50, 75 dan 100 ppm dengan ditambahkan masing – masing larutan dengan etanol 96% mencapai tanda batas (10 mL) dengan pengulangan sebanyak 3 kali pada masing – masing konsentrasi.

c. Pembuatan Larutan Quersetin

Quersetin ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dalam etanol sebanyak 10 mL, buat larutan stok dengan konsentrasi 25, 50, 75 dan 100 ppm dengan ditambahkan masing – masing larutan dengan etanol 96% mencapai tanda

batas (10 mL) dengan pengulangan sebanyak 3 kali pada masing – masing konsentrasi. Sampel Quersetin diuji pada spektrofotometer UV-Vis.

d. Uji Aktivitas Antioksidan Serum Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok *(Musa paradisiaca* L*)* dan Quersetin

Larutan uji sediaan serum ekstrak etanol kulit pisang kepok *(Musa paradisiaca* L*)* dan larutan quersetin diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C, lalu masukkan kuvet ke dalam spektrofotometri UV-Vis. Aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus :

$$\%\ \text{inhibisisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \text{ x } 100\%$$

e. Pengukuran nilai IC_{50}

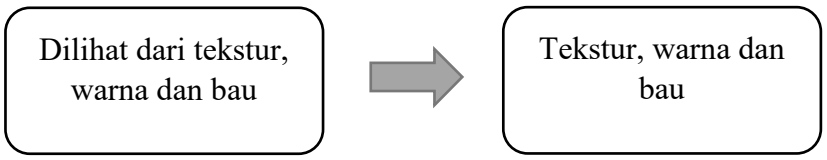
IC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan 50% radikal bebas oleh suatu konsentrasi sampel (ppm) semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi nilai aktivitas antioksidan. Nilai IC_{50} dihitung kurva *regresi linier* antara % inhibisi sebesar 50% dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol kulit pisang kepok. Rumus :

$$y = bx + a$$

3.7 Pengujian Evaluasi Fisik Serum Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok

3.7.1 Uji Organoleptik

Uji organoleptik meliputi tekstur, warna, bau dan dilakukan secara visual pada sediaan serum ekstrak etanol kulit pisang kepok *(Musa paradisiaca* L*)*, hasil pengamatan kemudian langsung dicatat (Widana GAB, 2014).

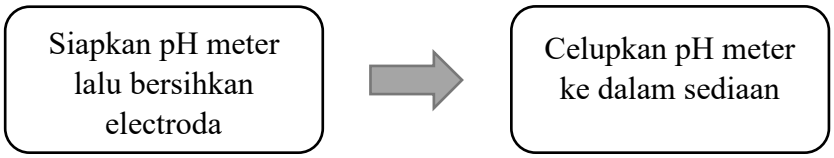


Gambar 3.3 Uji Organoleptik

3.7.2 Uji pH

Uji derajat keasaman menggunakan alat pH meter. Kalibrasi alat menggunakan larutan buffer setiap akan dilakukan pengukuran. Dibersihkan electroda lalu di celupkan pada sampel sediaan serum yang akan di periksa. Nilai

pH pada skala pH meter di catat (Sari R & Ferdinan A, (2017). pH sediaan topikal berkisaran 4,5 – 6,5. Berikut ini adalah alur uji pH dalam pengukuran sediaan serum ekstrak etanol kulit pisang kepok *(Musa paradisiaca* L*)*.



Gambar 3.4 Uji pH

3.7.3 Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan dengan mengukur kekentalan sediaan. Pengujian dilakukan dengan cara memasukkan sediaan sebanyak 100 mL ke dalam tabung lalu dipasang spindle yang sesuai. Spindle harus terendam dalam sediaan uji. Dinyalakan viskometer dan diatur kecepatan viskometer. Dilakukan pengamatan jarum penunjuk dari viskometer yang mengarah ke angka pada skala viskositas lalu dicatat (Adnan, 2016). Angka konstan yang ditunjukkan oleh viskometer merupakan nilai viskositas dari sediaan dengan satuan cP = 1 mPa·s. Syarat viskositas yaitu 230cPs – 1150cPs (Mardhiani, dkk., 2018).

3.7.4 Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan cara sampel serum ekstrak etanol kulit pisang kepok *(Musa paradisiaca* L*)* di oleskan pada objek glass atau alat transparan lain yang sesuai, kemudian diratakan dengan kaca objek lainnya lalu diamati. Pengamatan dilakukan dengan ada tidaknya partikel yang belum tercampur secara homogen.

3.7.5 Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan dengan cara menimbang sebanyak 0,5 gr basis dan sediaan serum, kemudian diletakkan pada bagian tengah kaca bulat berskala dan ditutup dengan kaca bulat lain, didiamkan selama 5 menit. Pengukuran diameter penyebaran sediaan secara membujur dan melintang serta dilakukan penambahan beban 50 gr hingga berat total 250 gr. Daya sebar yang memenuhi syarat yaitu 5-7 cm (Iramie, dkk., 2020).

3.7.6 Uji Daya Lekat

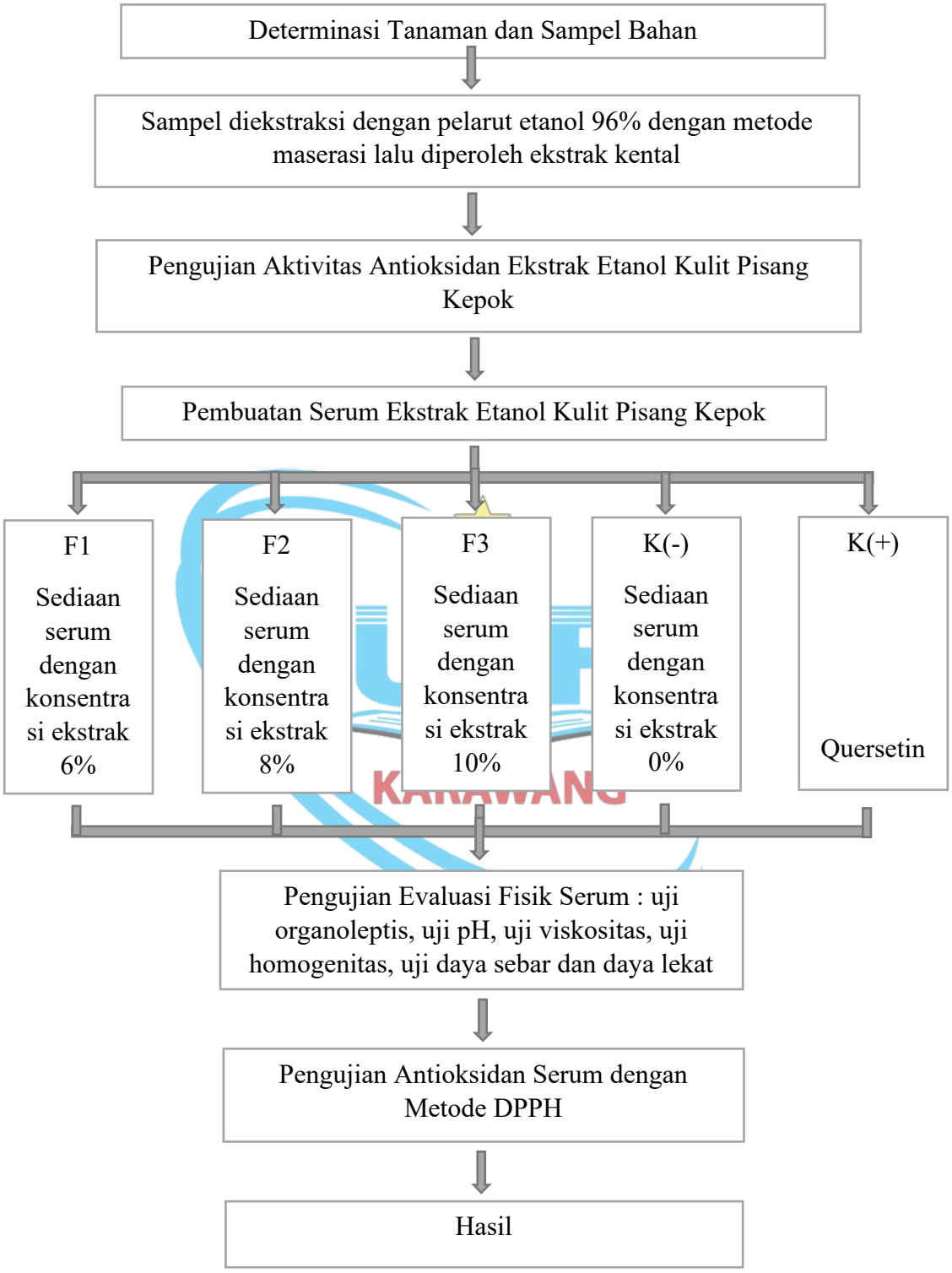
Uji daya lekat dilakukan dengan meletakkan 0,5 gr serum diatas kaca objek kemudian ditutup dengan kaca objek lainnya dan diberi beban 500 gr selama 5 menit. Beban diangkat dan diberi beban 20 gr pada alat. Penentuan daya

lekat berupa waktu yang diperlukan sampai kedua kaca objek terlepas. Syarat daya lekat yaitu lebih dari 1 detik (Iramie, dkk., 2020).

3.8 Analisis Data

Metode analisisa statistik yang digunakan dalam penelitian ini adalah *one-way* ANOVA untuk menganalisis hasil pengamatan evaluasi fisik meliputi pH, viskositas, daya sebar dan daya lekat jika memenuhi persyaratan berupa data terdistribusi normal dan homogen. Untuk uji organoleptis dan homogenitas diamati sebagai data deskriptif.

3.9 Diagram Alir Prosedur Penelitian



Gambar 3.5 Diagram Alir Penelitian