

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain simplisia bunga kertas (*Bougainvillea glabra*), etanol 70% (PT Brataco), *2,2-Diphenyl-1-pikrilhidrazil* DPPH (P.a), Metanol (P.a) HPMC (PT Brataco), kitosan (Nitra Kimia), asam asetat (PT Merck), tween 80 (PT Brataco), quersetin, asam klorida (PT Merck), asam sulfat (PT Merck), FeCl<sub>3</sub>, eter pekat (PT Merck), pereaksi *mayer*, pereaksi *dragendrof*, *Aquadest* (PT Brataco),

#### 3.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain timbangan analitik, *rotary evaporator* (IKA), blender (Phillips), *viscometer lamy rheology*, pH meter, spektrofotometer UV-Vis (Scientific), kuvet (Quartz), batang pengaduk (Pyrex), spatula, pipet, aluminium foil, kaca arloji (Pyrex), gelas beaker (Pyrex), labu ukur (Pyrex), botol semprot.

#### 3.3 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi dan Laboratorium Riset, Fakultas Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang. Penelitian ini dilakukan selama 3 bulan yang terhitung dari bulan Maret – Mei 2022 pada tanaman yang digunakan dilakukan proses determinasi terlebih dahulu agar memastikan kebenaran klasifikasinya, determinasi dilakukan di UPT Laboratorium Materia Medica Batu, Malang, Jawa Timur serta melakukan ekstraksi di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO), Jawa Barat.

### 3.4 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

No.	Variabel	Definisi	Alat ukur	Skala	Hasil ukur
<b>Variable Bebas</b>					
1.	Formula serum <i>spray gel</i> <i>spray gel</i>	Formula serum <i>spray gel</i> ekstak etanol bunga kertas	-	Nominal	1. F1 : konsentrasi ekstrak 3% 2. F2 : konsentrasi ekstrak 5% 3. F3 : konsentrasi ekstrak 7%
<b>Variable Terikat</b>					
1.	Warna	Menggunakan parameter fisik yaitu indera penglihatan dalam formulasi serum <i>spray gel</i> ekstrak etanol bunga kertas	Uji organoleptik dengan panca indera	Nominal	1. Kuning pucat 2. Tidak berwarna
2.	Bau	Menggunakan parameter fisik yaitu indera penciuman dalam formulasi serum <i>spray gel</i> ekstrak etanol bunga kertas	Uji organoleptik dengan panca indera	Nominal	1. Bau khas ekstrak 2. Tidak berbau
3.	Bentuk	Menggunakan parameter fisik yaitu indera penglihatan dalam formulasi serum <i>spray</i>	Uji organoleptik Dengan panca indera	Nominal	1. Cair 2. Setengah gel cair 3. Gel

4.	Viskositas	<p><i>gel</i> ekstrak etanol bunga kertas</p> <p>Uji viskositas formulasi serum <i>spray gel</i> ekstrak etanol bunga kertas menggunakan viscometer lamy rheologi</p>	Alat viscometer lamy rheologi	Rasio	cP
5.	pH	<p>Uji pH pada formulasi serum <i>spray gel</i> ekstrak etanol bunga kertas disesuaikan dengan pH wajah</p> <p>Uji homogenitas pada formulasi serum <i>spray gel</i> ekstrak etanol bunga kertas dengan meneteskan serum pada kaca objek, lalu dikatupkan dengan kaca objek yang lainnya untuk uji homogenitas</p>	pH Meter	Rasio	Angka dalam pH meter
6.	Homogenitas	<p>Uji homogenitas pada formulasi serum <i>spray gel</i> ekstrak etanol bunga kertas dengan meneteskan serum pada kaca objek, lalu dikatupkan dengan kaca objek yang lainnya untuk uji homogenitas</p>	Kaca objek	Nominal	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Homogen</li> <li>2. Tidak homogen</li> </ol>
7.	Daya lekat	<p>Uji ini dilakukan dengan menimbang sediaan lalu diletakkan diatas kaca objek dan ditutup lagi</p>	Alat uji daya lekat	Rasio	Detik (s)

		dengan kaca objek lainnya diberi beban diatas kaca objek selama 3 menit.			
8.	Daya Sebar	Uji ini dilakukan dengan meletakkan sediaan di tengah bagian kaca bulat berskala lalu ditutup dengan kaca bulat lainnya dengan ditambah beban 5 g sampai 15 g	Kaca bulat	Rasio	Cm
9.	Pemeriksaan pola penyemprotan	Sediaan disemprotkan pada selembar plastik yang sudah diukur beratnya dan sudah diberi nomor dengan jarak tertentu	Selembar plastik	Rasio	Cm
10.	Uji aktivitas antioksidan metode DPPH	Pengukuran aktivitas antioksidan pada ekstrak dan formulasi serum <i>spray gel</i> ekstrak etanol bunga kertas menggunakan metode DPPH	Spektrofotometri UV-Vis	Rasio	$\mu\text{g/mL}$

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Determinasi

Tahapan pertama pada penelitian ini yaitu melakukan determinasi bunga kertas (*Bougainvillea glabra*) yang bertujuan untuk memastikan tanaman yang digunakan sudah sesuai dengan ciri-ciri morfologi tanaman terhadap pustaka yang dilakukan di UPT Laboratorium Materia Medica Batu, Malang, Jawa Timur (Astuti, 2017).

#### 3.5.2 Simplisia

Sampel berupa bunga kertas (*Bougainvillea glabra*) dikenal sebagai tanaman hias yang di manfaatkan untuk penelitian ini, mulai dari tahap pengumpulan sampel bunga kertas yang diambil dari daerah Karangpawitan, Karawang, kemudian disortasi basah dan selanjutnya di cuci bersih hingga tidak ada kotoran yang menempel, lalu melakukan proses pengeringan dilanjutkan dengan proses sortasi kering yang bertujuan untuk menghasilkan simplisia yang bagus dan berkualitas (Winangsih *et al.*, 2013)

#### 3.5.3 Ekstraksi

Serbuk simplisia bunga kertas (*Bougainvillea glabra* Chois) dikirim ke BALITRO dan diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi hingga mendapatkan ekstrak cair, kemudian ekstrak cair dipekatkan dengan menggunakan alat yaitu *rotary evaporator* untuk mendapatkan hasil ekstrak yang kental. Ekstrak yang didapat, selanjutnya dihitung rendemen ekstrak dengan rumus sebagai berikut (Leba, 2017):

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot total ekstrak}}{\text{Bobot serbuk simplisia}} \times 100\%$$

#### 3.5.4 Skrining Fitokimia

Senyawa kimia yang terkandung dalam serbuk simplisia bunga kertas (*Bougainvillea glabra*) adalah alkaloid, saponin, fenolik, flavonoid, dan triterpenoid. Skrining fitokimia dilakukan dengan mereaksikan dengan reagen –

reagen tertentu agar menghasilkan hasil yang spesifik dan untuk tahapan pertama membuat 2 filtrat ekstrak dengan menggunakan pelarut *Aquadest* dan pelarut eter pekat yang digerus didalam mortar, masing masing pelarut melarutkan 1g simplisia bunga kertas (Haveni *et al*, 2019).

#### A. Uji Alkaloid

Masukan filtrat kedalam tabung reaksi yang menggunakan pelarut *Aquadest* kemudian ditambahkan 1 ml ammonia dan kloroform yang selanjutnya ditambahkan dengan asam klorida 1 ml kocok hingga terbentuk adanya lapisan asam yang kemudian dibagi kedalam 3 tabung reaksi yang berbeda selanjutnya dilakukan penambahan pada salah satu tabung reaksi dengan pereaksi Mayer dan terjadi endapan putih yang menunjukkan positif mengandung alkaloid, kemudian pada tabung reaksi yang berbeda ditambahkan pereaksi Dragendorff terjadi adanya endapan merah kecoklatan yang menunjukkan positif mengandung alkaloid dan untuk tabung reaksi selanjutnya tidak ditambahkan pelarut tertentu yang disebut blanko (Agustina L.S,2021; Depkes RI,1979)

#### B. Uji Flavonoid

Masukan filtrat kedalam tabung reaksi yang menggunakan pelarut *Aquadest* kemudian masukan 0,2g magnesium dan 2 tetes HCl kemudian akan menghasilkan warna kuning atau jingga, dan bahkan bisa merah yang ditarik oleh amil *alcohol* (Agustina W, Nurhamidah, 2017).

#### C. Uji Fenolik

Mengambil filtrat 1 ml lalu masukan kedalam tabung reaksi dan di tambahkan  $FeCl_3$  akan menghasilkan warna hijau, ungu kebiruan, bahkan hitam (Agustina W, Nurhamidah, 2017).

#### D. Uji Triterpenoid

Masukan filtrat kedalam tabung reaksi yang menggunakan pelarut eter pekat lalu tutup dengan aluminium foil agar tidak menguap kemudian ditambahkan beberapa tetes reagen Liebermann-Burchard dan terjadi

perubahan warna menjadi ungu bahkan biru keunguan tandanya positif mengandung senyawa triterpenoid (Haveni *et al*, 2019)

### E. Uji Saponin

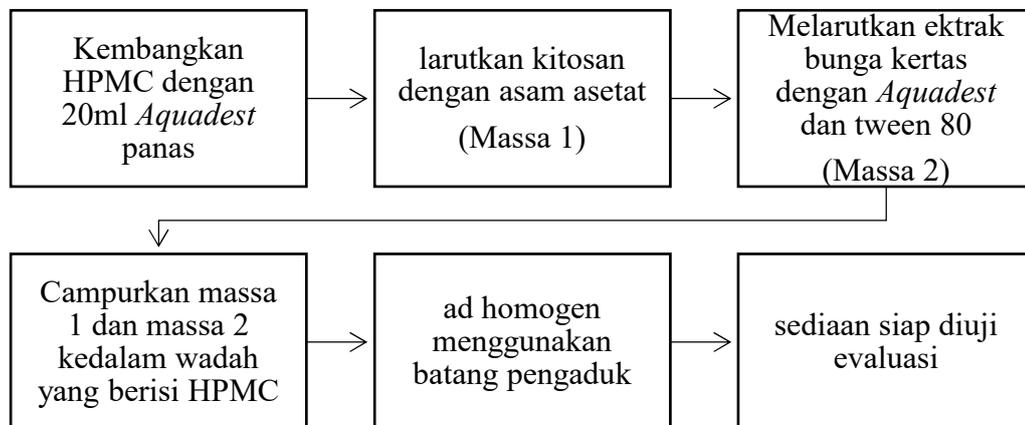
Masukan filtrat kedalam tabung reaksi yang menggunakan pelarut *Aquadest* dan ditambah HCl tiga tetes kemudian tabung reaksi dididihkan lalu kocok selama 15 menit maka akan menghasilkan busa setinggi 1cm, dikatakan sampel memiliki senyawa saponin yaitu bila ketinggian busa lebih dari 1cm (Haveni *et al*, 2019)

### 3.6 Pembuatan Formulasi Serum

Tabel 3.2 Formula Serum *Spray gel* (Putri, R.D. 2017; Haveni *et al*, 2019).

Bahan	Formula %				Fungsi
	F0	F1	F2	F3	
Ekstrak					
Bunga Kertas	0	3	5	7	Zat aktif
Tween 80	2	2	2	2	Pembasah
	0.2				Basis
HPMC		0.2	0.2	0.2	serum
Kitosan	1	1	1	1	Pengawet
Asam asetat	2	2	2	2	Pelarut
<i>Aquadest</i>	Ad 50 ml	Ad 50 ml	Ad 50 ml	Ad 50 ml	Pelarut

Formulasi dibuat dengan zat aktif yang tinggi antioksidan yaitu ekstrak bunga kertas (*Bougainvillea glabra*) dengan menggunakan HPMC sebagai basis sediaan yang dilarutkan dengan *Aquadest*. Kitosan sebagai pengawet yang dilarutkan dengan asam asetat, Tween 80 sebagai pembasah, *Aquadest* untuk pelarut, dan menggunakan kontrol positif yaitu Quersetin yang berfungsi sebagai pembanding nilai antioksidan.



**Gambar 3.1** Prosedur pembuatan sediaan serum *Spray gel*

Adapun cara pembuatan serum *spray gel* ekstrak bunga kertas (*Bougainvillea glabra* Chois) yaitu dengan mengembangkan HPMC yang berfungsi sebagai basis serum dengan *Aquadest* 20ml aduk hingga membentuk basis gel lalu diamkan untuk menghilangkan busa, kemudian membuat larutan asam asetat untuk melarutkan kitosan, diwadah yang berbeda melarutkan ekstrak bunga kertas dengan tween 80 selanjutnya mencampurkan ekstrak bunga kertas (*Bougainvillea glabra* Chois) telah terbentuk aduk hingga tercampur rata, selanjutnya dilakukan pengadukan hingga serum homogen (Putri R.D, 2017; Taufik *et al*, 2021).

### 3.7 Evaluasi Fisika Kimia Serum *Spray gel*

#### 3.7.1 Pemeriksaan Organoleptik

Uji Organoleptik bertujuan untuk melihat fisik sediaan yang dilakukan dengan uji yang meliputi uji warna, bau, dan bentuk dari formulasi sediaan yang dibuat.

#### 3.7.2 Pemeriksaan Homogenitas

Uji Homogenitas bertujuan untuk melihat sediaan yang dibuat ada tidaknya partikel yang belum homogen, dilakukan dengan menggunakan kaca preparat yang ditetaskan sediaan kemudian ditutup dengan kaca preparat yang lainnya dan dilihat ada tidaknya partikel yang belum

homogen, sediaan dikatakan homogen bila tidak ada butir partikel yang terlihat.

### 3.7.3 Pengukuran Viskositas

Uji viskositas bertujuan untuk melihat kekentalan sediaan serum *spray gel* yang dibuat, dilakukan dengan *mensetting* alat *viscometer Lamy rheologi*, selanjutnya masukkan sediaan kedalam *beaker glass* sebanyak 100 ml yang kemudian menurunkan spindle no.3 dengan kecepatan 30 rpm. Nilai normal pada viskositas sediaan serum *spray gel* ini berkisar 800-3000 Cp (Kamishita *et al*, 1992; Putri R.D. 2017; Taufik *et al*, 2021).

### 3.7.4 Pengukuran pH

Pengujian pH bertujuan untuk melihat pH sediaan yang sesuai dengan pH kulit yaitu dengan menggunakan pH meter yang dicelupkan kedalam sampel serum yang telah dimasukkan kedalam *beaker glass* kemudian mengamati perubahan angka pada pH meter yang harus sesuai dengan pH kulit yaitu pada kisaran 4,5 - 6,5 (Putri R.D. 2017; Taufik *et al*, 2021).

### 3.7.5 Pemeriksaan Pola Penyemprotan

Uji pola penyemprotan ini bertujuan untuk melihat sediaan menyebar dengan baik, dilakukan dengan menyemprotkan sediaan pada selembar plastik yang sudah diukur Panjang lebarnya dan sudah diberi nomor dengan jarak 5cm, 10cm, 15cm, dan 20 cm lalu diukur diameter pola sediaan yang disemprotkan dan dihitung juga waktu mengeringnya sediaan dengan menggunakan stopwatch, sediaan dikatakan baik bila diameter lebih dari 10 cm (Putri, R.D. 2017).

### 3.7.6 Pengujian Daya Lekat

Pengujian ini bertujuan untuk melihat berapa lama waktu yang dibutuhkan serum untuk melekat pada permukaan kulit yang dilakukan dengan cara menimbang 0,5 g sediaan serum *spray gel* yang diletakkan

diatas kaca objek kemudian tutup dengan kaca objek lainnya dan diberi beban 50g selama 3 menit, penentuan uji daya lekat berupa waktu sampai kedua kaca objek terlepas. Sediaan dikatakan baik bila uji daya lekat kurang dari 1 detik (Yusuf *et al*, 2017).

### 3.7.7 Pengujian Daya Sebar

Pengujian ini bertujuan untuk melihat sediaan menyebar pada permukaan kulit yang dilakukan dengan cara menimbang 0,5 g yang diletakkan ditengah kaca bulat kemudian ditutup dengan kaca bulat lainnya dan diberi beban mulai dari 5 g sampai berat beban 50 g selama 5 menit. Sediaan memenuhi syarat bila diameter 5-7 cm (Yusuf *et al*, 2017).

## 3.8 Pengujian dengan DPPH

### A. Pembuatan Larutan DPPH 0,1 mM

Membuat larutan DPPH dengan cara menimbang 5 mg yang kemudian dilarutkan dengan methanol p.a kedalam labu ukur 50 mL, selanjutnya menempatkan larutan DPPH kedalam botol gelap (Haveni *et al*, 2019; Erawati, 2012).

### B. Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Etanol Bunga Kertas

Membuat larutan induk 1000 ppm ekstrak etanol bunga kertas dengan menimbang 10 mg ekstrak etanol bunga kertas dengan 10 ml methanol p.a, kemudian membuat variasi konsentrasi (12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, dan 75 ppm) (Haveni *et al*, 2019; Erawati, 2012).

### C. Pembuatan Larutan Pembanding

Membuat stok 100 ppm Quersetin yang dilarutkan dengan methanol p.a yang dibuat beberapa konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 10 ppm, dan 16 ppm (Haveni *et al*, 2019; Erawati, 2012).

#### D. Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Kertas

Mengambil sebanyak 2 ml ekstrak yang telah dilarutkan dengan methanol p.a dari beberapa variasi konsentrasi (12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, dan 75 ppm). Selanjutnya dari setiap variasi konsentrasi dicampurkan dengan larutan DPPH sebanyak 1 ml dan 2 ml methanol p.a, kemudian diinkubasi ditempat gelap selama 30 menit dengan keadaan tertutup yang kemudian di ukur absorbansinya dengan menggunakan alat spektrofotometer *Uv-Visible* dengan Panjang gelombang 517 nm (Haveni *et al*, 2019; Erawati, 2012).

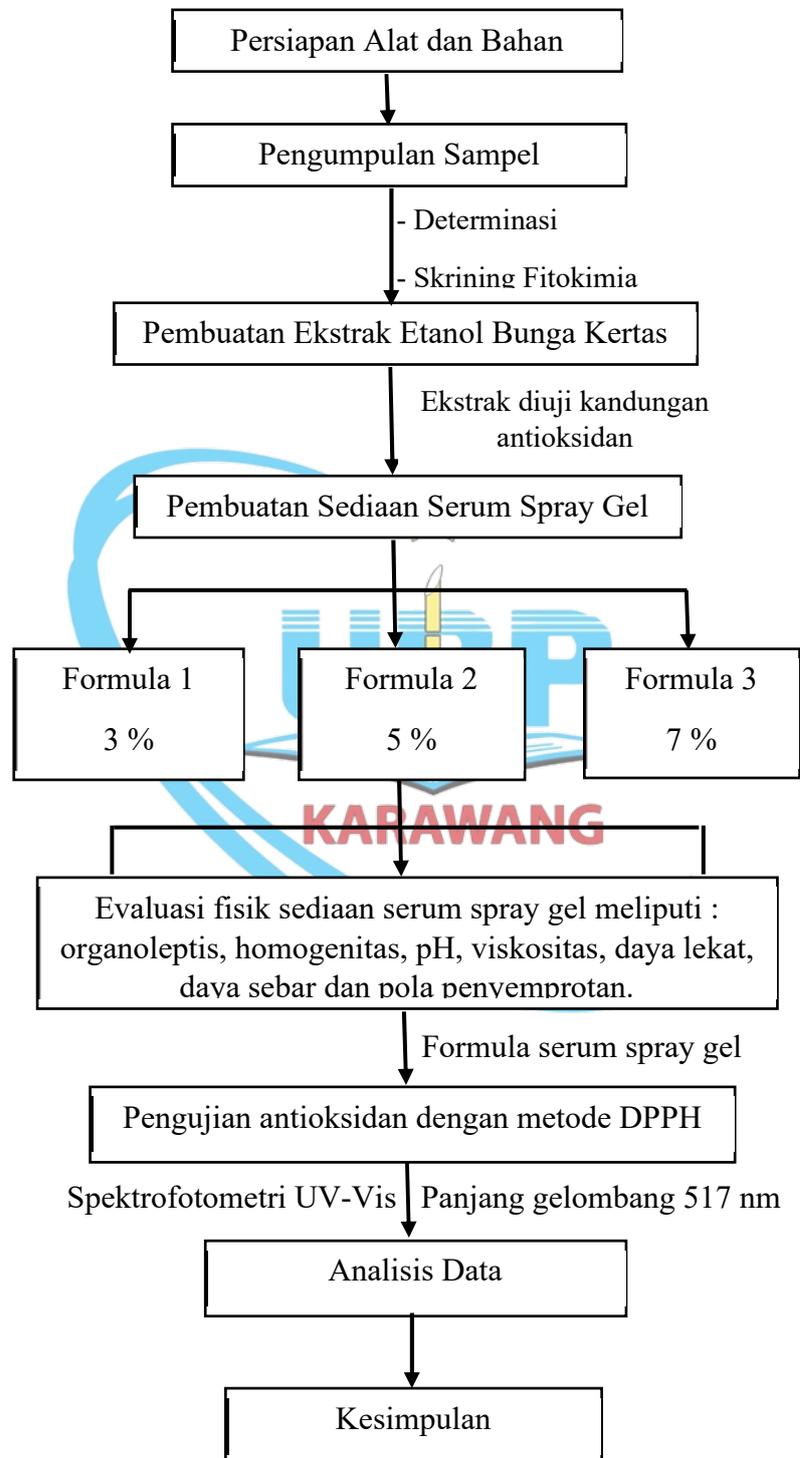
#### E. Pengujian Aktivitas Antioksidan Sampel Pembanding

Mengambil sebanyak 2 ml ekstrak yang telah dilarutkan dengan methanol p.a dari beberapa variasi konsentrasi (12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, dan 75ppm). Selanjutnya dari setiap variasi konsentrasi dicampurkan dengan larutan DPPH sebanyak 1 ml dan 2 ml methanol p.a, kemudian setelah dicampurkan dilanjutkan dengan inkubasi selama 30 menit dengan wadah yang tertutup rapat dan disimpan ditempat gelap dengan suhu 37°C. Lalu selanjutnya melakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer *Uv-Visible* dengan Panjang gelombang 517 nm (Haveni *et al*, 2019; Erawati, 2012).

### 3.9 Analisis Data

Analisis data ini menggunakan program SPSS versi 24 dengan melihat perbedaan formula serum *spray gel* yang sebelumnya di uji menggunakan *oneway* ANOVA(satu arah) dilakukan terlebih dahulu uji normalitas (*Kolmogorov smirnof*) dan uji homogenitas dengan signifikasi 0.05 atau 5% dan jika data tidak terdistribusi normal dan tidak terdistribusi homogen maka dilanjutkan dengan uji (Kruskal wallis) dan dilanjutkan ke ANOVA bila data sudah terdistribusi normal dan terdistribusi homogen dengan *Post hoc* Tukey.

### 3.10 Diagram Alir



**Gambar 3.2** Diagram Alir Penelitian