

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Metode penelitian yang dilakukan adalah jenis eksperimental. Pada penelitian ini dilakukan pembuatan formulasi sediaan *sheet mask* bioselulosa minyak atsiri bunga kenanga. Penelitian ini meliputi pembuatan masker bioselulosa, evaluasi terhadap berat dan ketebalan bioselulosa, pembuatan *essence* minyak kenanga, evaluasi terhadap mutu fisik sediaan (uji homogenitas, uji stabilitas sediaan, uji pH, uji viskositas sediaan), pengujian aktivitas antioksidan sediaan, uji iritasi dan uji hedonik.

3.2 Sampel

3.2.1 Sampel Yang Akan Diuji

Minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*) yang dibeli di PT. Triefta Aroma Nusantara.

3.3 Bahan dan Alat

3.3.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi starter *Acetobacter xylinum*, air kelapa tua, amoniumsulfat, gula pasir, asam stearate, minyak atsiri bunga kenanga, gliserin, propilen glikol, carbomer, CMC Na, Nipagin, akuades, serbuk Mg, HCl pekat, amil alkohol, H₂SO₄, pereaksi Wagner, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendrof, FeCl₃ 1%.

3.3.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *Beaker glass* (Pyrex), mortar dan stamper, cawan porselen, objek gelas, batang pengaduk, pipet tetes, penangas air, timbangan, pH meter, viscometer Stormer, mikrometer sekrup, cetakan, gelas ukur (Pyrex), plat kaca, autoklaf, alat penyegel masker dan *foil bag*.



3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

3.4.1 Tempat Penelitian

Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Bahan Alam, Laboratorium Teknologi dan Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang.

3.4.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Desember sampai dengan bulan Juli 2023.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variable bebas yang terlibat pada penelitian ini yaitu uji aktivitas anti oksidan dan uji evaluasi fisik sediaan *sheet mask* bioselulosa minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*).

3.5.2 Variabel Terkait

Variable terkait pada penelitian ini adalah pengujian organoleptik, pH, viskositas, homogenitas dan stabilitas *sheet mask* bioselulosa minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*).

3.5.3 Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional pada penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada tabel 3.1

Tabel 3. 1 Definisi Operasional Variabel

Variable	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Variable Bebas				
1	Uji aktivitas antioksidan <i>sheet maks</i> bioselulosa minyak atsiri bunga kenanga	Uji aktivitas antioksidan minyak aktiri bunga kenanga (<i>Cananga odorata</i>)	Pengujian antioksidan menggunakan metode DPPH dengan alat spektrofotometri UV-Vis	Rasio Ppm (per part million)

2	pH	Nilai pH pH meter sediaan disesuaikan dengan nilai pH wajah	Rasio	Angka dalam pH meter
3	Homogenitas	Uji homogenitas dilakukan dengan cara mengoleskan essence pada kaca objek untuk diamati homogenitasnya	Kaca objek Ordina	Tidak homogeny Homogen
4	Uji organoleptic	Dilakukan dengan panca indra penciuman dan pengelihatan	Panca indra Ordinal	Warna Bau
5	Uji Viskositas	Dilakukan dengan menguji kekentalan pada essence minyak atsiri bunga kenanga	Panca indra Ordinal	Cps (centipoise)

6	Uji Iritasi	Dilakukan dengan mengoleskan <i>essence</i> pada bawah telinga selama 5 menit	Panca indra	Ordinal	Iritasi Tidak iritasi
7	Uji Hedonik	Dilakukan dengan cara kuisisioner	Kuisisioner	Rasio	Suka Tidak suka Netral
8	Uji Berat Sediaan	Dilakukan dengan menimbang lembar masker bioselulosa	Timbangan	Rasio	Gram
9	Uji Ketebalan	Dilakukan dengan menguji ketebalan lembar masker bioselulosa	Mikrometer	Rasio	Mili meter

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Skrining Fitokimia

Berikut merupakan skrining fitokimia dari minyak atsiri bunga kenanga menurut Muthmainnah, 2019:

1. Uji Flavonoid

Minyak atsiri sebanyak 1 mL dan dilarutkan dalam 5 mL air hangat, kemudian ditambahkan serbuk Mg, 1 mL HCl pekat dan 1 mL amil alkohol, dikocok kuat-kuat. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

2. Uji Alkaloid

Minyak atsiri bunga kenanga diambil sebanyak 2 mL, ditambahkan 2 mL asam sulfat (H_2SO_4) kemudian dipanaskan selama 30 menit. Diamkan hingga larutan memisah, diambil lapisan asamnya dan dibagi menjadi 3 tabung reaksi. Ditambahkan 2 tetes pereaksi Wagner pada tabung 1, hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan berwarna coklat. Tabung 2 ditambah 2 tetes pereaksi Mayer, hasil positif ditunjukkan dengan endapan putih. Tabung 3 ditambah 2 tetes pereaksi Dragendorf, hasil positif ditunjukkan dengan endapan jingga.

3. Uji Saponin

Masukkan 3-7 tetes minyak atsiri bunga kenanga ke dalam tabung reaksi, lalu tambahkan 5 ml air. Larutan dikocok selama 30 detik, busa yang dihasilkan menunjukkan adanya saponin. Larutan didiamkan selama beberapa menit hingga terbentuk buih yang stabil antara 1 dan 10 cm yang menunjukkan adanya senyawa saponin.

4. Uji Tanin

Masukkan 3-7 tetes minyak atsiri bunga kenanga ke dalam tabung reaksi. Kemudian tambahkan 1-2 tetes larutan $FeCl_3$ 1%. Jika terbentuk endapan biru-hijau (hijau-hitam), positif mengandung tanin.

3.6.2 Uji Antioksidan Minyak Bunga Kenanga

Pengujian antioksidan dilakukan dengan konsentrasi minyak kenanga yang berbeda yaitu 2,5%, 5% dan 7,5%. Sebanyak 1 mL sampel dilarutkan dalam 10 mL larutan DPPH (etanol) 0,25 mM. Larutan ditempatkan didalam tempat yang gelap dan tertutup untuk di inkubasi selama 30 menit kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Sebagai kontrol, 1 mL etanol yang ditambahkan larutan DPPH digunakan sesuai dengan metode yang dijelaskan di atas. Kontrol positif menggunakan vitamin C sebagai acuan dan diuji dengan cara yang sama dengan pengujian sampel. (Pujiarti *et al*, 2015)

3.6.3 Formulasi Pembuatan Lembar Masker Bioselulosa

Formulasi pembuatan lembar masker bioselulosa dapat di lihat pada tabel 3.2 sebagai berikut:

Tabel 3. 2 Formulasi Pembuatan Lembar Masker Bioselulosa (Fitri. R,2021).

Bahan		Takaran
Starter Bakteri <i>Acetobacter xylinum</i>		10%
Gula Pasir		4%
Asam Stearat		2,5%
Amonium Sulfat		0,5%
Air Kelapa Tua	Add	100%

1 Prosedur Pembuatan Lembar Masker Bioselulosa

a Pembuatan Bioselulosa

Air kelapa tua diukur 10 mL dan dipanaskan pada suhu 80°C selama 15 menit. Kemudian biarkan dingin, timbang gula putih dan amonium sulfat dan asam stearat kemudian ditambahkan ke dalam larutan hingga pH larutan menjadi 4. Starter bakteri *Acetibacter xylinum* ditambahkan ke dalam larutan yang telah didinginkan, dicampur hingga homogen, kemudian disimpan dalam cetakan dan ditutup dengan kertas perkamen untuk mencegah kontaminasi dari luar. Masa inkubasi berlangsung selama 2-3 hari pada 27-30 °C (Zakaria *et al.*, 2012).

b Pembersihan Bioselulosa

Bioselulosa yang telah dicetak diambil dan dicuci dengan air mengalir, kulit dibersihkan dari lapisan asam bioselulosa. Masker tersebut kemudian direbus dalam air mendidih selama 30 menit. Kemudian rendam selama 15 menit dalam larutan NaOH 5%, lalu bilas dengan air mengalir dan rendam kembali dalam air selama 1 hari hingga pH bioselulosa menjadi netral. (Kamarudin *et al.*, 2013).

c Pencetakan Lembar Masker Bioselulosa

Bioselulosa yang telah diibersihkan dan telah di cek pH telah netral diletakan pada plat kaca untuk dilakukan pemotongan bentuk masker wajah. Setelah itu lembaran masker dicuci menggunakan air mengalir hingga bersih.

2 Evaluasi Lembar Masker Bioselulosa

a Uji Ketebalan Lembar Masker Bioselulosa

Lembar masker bioselulosa yang telah dihasilkan dilakukan evaluasi berupa uji ketebalan lembar masker dengan menggunakan mikrometer skrup untuk mengetahui berapa ketebalan pada lembar masker bioselulosa (Fitri. R., 2022).

b Uji Berat Lembar Masker Bioselulosa

Pengukuran berat lembar masker bioselulosa dengan menimbang basah dan berat dengan penekanan lembar masker. Penimbangan dilakukan selama 120 detik untuk mendapatkan berat konstan (Fitri. R., 2022).

3.6.5 Formulasi Pembuatan *Essence* Minyak Atsiri Bunga Kenanga

Formulasi pembuatan *essence* minyak atsiri bunga kenanga dapat di lihat pada tabel 3.3 sebagai berikut:

Tabel 3. 3 Formulasi *Essence* Minyak Atsiri Bunga Kenanga (Laudza., 2022).

Bahan	Fungsi	Konsentrasi			
		F0	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)
Minyak Atsiri Bunga Kenanga	Zat Aktif	0	2,5%	5%	7,5%
Gliserin	Emolien Humektan	2,5	2,5	2,5	2,5
Propilenglikol	Pengawet	15	15	15	15
Carbomer	Penstabil Pengubah Reologi	0,5	0,5	0,5	0,5
CMC Na	Agen Penambah Viskositas	0,5	0,5	0,5	0,5
Nipagin	Pengawet	0,3	0,3	0,3	0,3
Aquades	Pelarut	Add 100	Add 100	Add 100	Add 100

1 Prosedur Pembuatan *Essence* Minyak Kenanga

CMC Na dikembangkan pada air panas (massa 1), nipagin diarkan menggunakan air panas (massa 2), setelah itu dicampurkan massa 1 dan massa 2 (massa3), propilenglikol, gliserin dan carbomer dimasukkan dalam cawan penguap campur hingga homogen (massa 4), kemudian ditambahkan minyak atsiri bunga kenanga, add 100 mL akuades (Laudza., 2022).

2 Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Sampel dilarutkan dalam etanol PA, kemudian ditambahkan larutan stok DPPH (1:1), kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang dalam wadah gelap, dan panjang serapan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada 517 nm (Mardhani *et al.*, 2018).

3 Evaluasi *Essence* Minyak Atsiri Bunga Kenanga

a Uji Organoleptik

Pengamatan dilihat secara langsung warna, aroma dan bentuk dari *essence* yang dibuat (Ira Sinaga, 2019)

b Uji Homogenitas

Beberapa sediaan dioleskan di atas dua plat kaca atau bahan transparan lain yang sesuai, komposisi sediaan harus homogen dan tidak terlihat butiran kasar (Ira Sinaga, 2019).

c Uji Viskositas

100 mL *essence* ditempatkan dalam wadah, setelah itu spindel dipasang. Pastikan jarum viskometer melengkung menunjuk ke arah yang stabil, maka angka ini adalah viskositasnya (Ira Sinaga, 2019).

d Uji pH

Dilakukan dengan menggunakan pH meter digital. pH meter dicelupkan dalam sediaan. Dibiarkan alat menunjukkan harga pH sampai konstan. Angka yang ditunjukkan pH meter merupakan pH sediaan (Ira Sinaga, 2019).

e Uji Iritasi

Uji iritasi menggunakan metode *in Vitro* bertujuan untuk melihat keamanan dari sediaan terhadap 6 sukarelawan dengan cara uji tempel (*patch tes*) dengan cara menempelkan tisu yang telah dipotong dan diberi sediaan *essence* ditempel selama 30 menit, kemudian diamati hasil reaksi setelah 24 jam tidak terjadi reaksi iritasi kulit seperti kemerahan, gatal dan bengkak, maka kosmetik tersebut dikatakan aman digunakan (Athallah *et al.*, 2022).

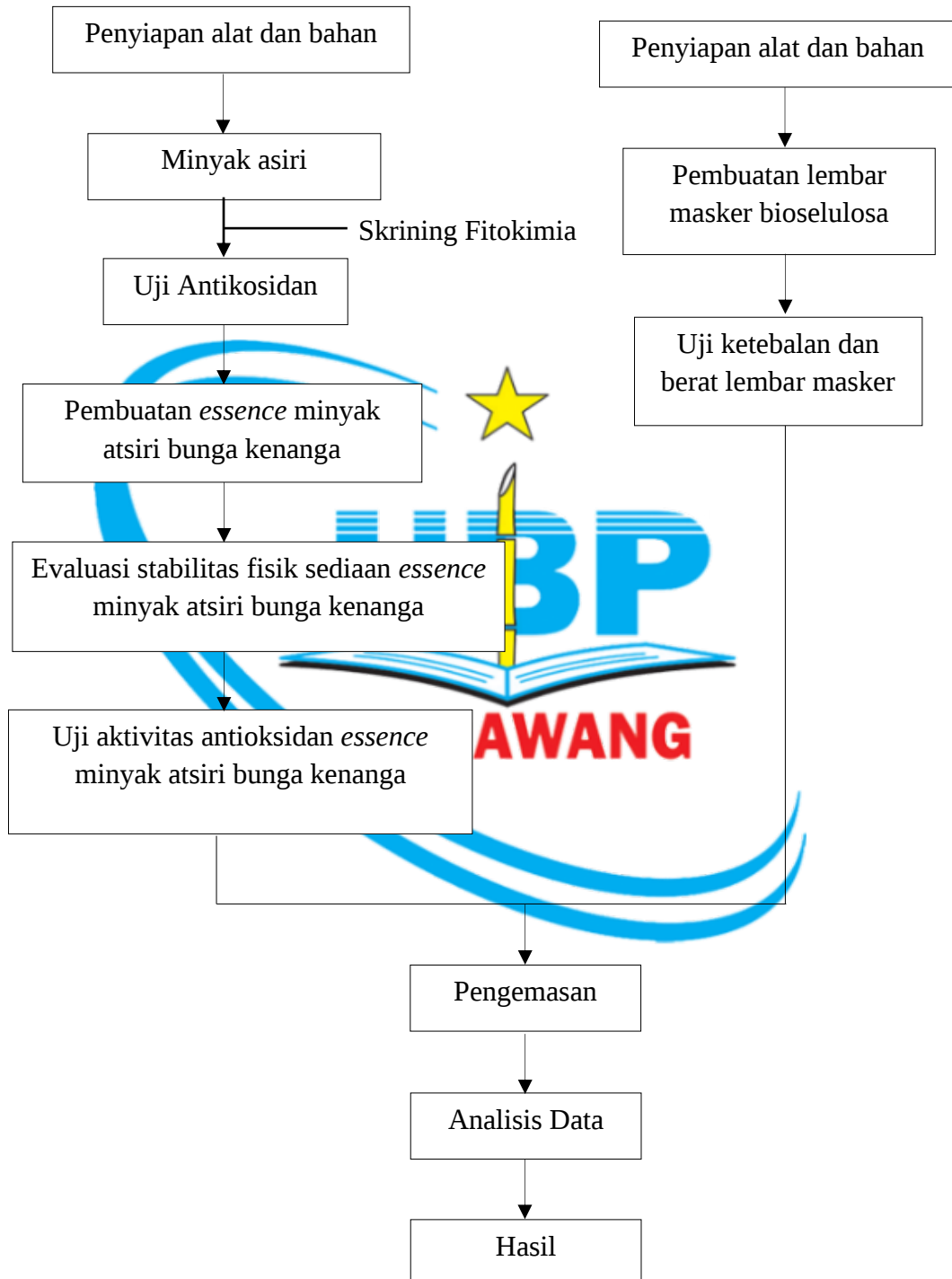
5 Uji Hedonik

Uji hedonik adalah uji tingkat kesukaan seseorang terhadap suatu produk yang dikonsumsi sehingga dikenal juga dengan istilah uji sensorik. Uji hedonik dilakukan kepada 20 partisipan (Su *et al.*, 2021).



3.7 Diagram Alir Penelitian

Adapun diagram alir penelitian yang akan dilakukan dapat dilihat pada gambar 3.1



Gambar 3. 1 Diagram Alir Penelitian

3.8 Analisis Data

Analisis data statistic pada pengujian aktivitas anti0oksidan dianalisis dengan menggunakan uji *one-way* ANOVA atau satu arah melalui program SPSS (*Statistical Product and Service Solution*), apabila terdapat perbedaan nyata maka dilanjutkan dengan uji Tukey. Namun, jika data tidak terdistribusi normal dan homogen maka dilakuakn uji kruskall-wallis dan jika terdapat perbedaan nyata maka dilanjutkan dengan uji Mnn-Whitney. Data yang sudah dioleh, kemudian diinterpretasikan bentuk table dan grafik. Sementara itu, ujituk uji organoleptik, homogenitas dan iritasi diamati sebagai data deskriptif.

