

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan metode rancangan acak kelompok, dimana pada penelitian ini akan dilakukan pembuatan sediaan hidrogel ekstrak etanol daun terubuk dengan formula tiga variasi.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang. Penelitian ini dilakukan ± dari bulan Agustus sampai September 2024.

3.3 Populasi dan Sampel

Sampel penelitian ini yaitu ekstrak etanol 70% daun terubuk (*Saccharum spontaneum var. edulis* (Hassk) K. Schum.) yang akan dilakukan proses pembuatan simplisia dan ekstraksi maserasi. Tanaman daun terubuk berasal dari Loji, Kabupaten Karawang, Provinsi Jawa Barat.

3.4 Alat dan Bahan yang Digunakan

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan yaitu beaker glass, gelas ukur, timbangan analitik, waterbath, batang pengaduk, tabung reaksi, rotary evaporator, erlenmeyer, spatula, cawan penguap, kurs porselin, pipet tetes, kertas saring, kertas perkamen, aluminium foil, kaca arloji, magnetic stirrer, corong, sudip, mortar dan stamper, kaca objek, pH meter, viskometer, oven dan wadah hidrogel.

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu ekstrak etanol 70% Daun Terubuk (*Saccharum spontaneum var. edulis* (Hassk) K. Schum.), Aquadest, H₂SO₄, NaOH (*Merck*), CHCl₃ (*Merck*), FeCl₃ (*Merck*), Gelatin, Vanillin, Dragendroff, Mayer, Magnesium, Lieberman Buchard, KOH (*Merck*),

Carbopol 940, HPMC, Gliserin, Metilparaben, Propilparaben, Propilen glikol, Tween 80.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Klasifikasi Variabel

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu ekstrak etanol daun terubuk (*Saccharum spontaneum var. edulis* (Hassk) K. Schum.).

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini yaitu skrining fitokimia dan uji stabilitas fisik hidrogel daun terubuk (*Saccharum spontaneum var. edulis* (Hassk) K. Schum.).

3.5.2 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Variabel Bebas				
Ekstrak etanol daun terubuk	Ekstrak etanol daun terubuk adalah ekstrak kental yang terbuat dari daun terubuk yang sudah yang di ekstraksi dengan etanol 70%	Observasi	Nominal	%
Variabel Terikat				
Kandungan metabolit sekunder	Skrining fitokimia memerlukan pengujian pada tanaman untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder	Uji kualitatif dengan memasukkan bahan kimia ke setiap percobaan dan di amati perubahan rona dan buih	Nominal	
Uji organoleptik warna	Dilakukan dengan menggunakan panca indera dan penciuman	Panca indera	Nominal	1 = Tidak berwarna 2 = Berwarna
Uji organoleptik bau	Dilakukan dengan menggunakan panca indera dan penciuman	Panca indera	Nominal	1 = Tidak berbau 2 = Berbau khas
Uji organoleptik bentuk	Dilakukan dengan menggunakan panca indera dan penciuman	Panca indera	Nominal	1 = Tidak berbentuk 2 = Berbentuk

Uji homogenitas	Dengan cara mengoleskan sediaan pada kaca objek untuk diamati homogenitasnya	Kaca objek	Nominal	1 = Tidak homogen 2 = Homogen
Variabel Terikat	Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Uji pH	Nilai pH hidrogel diukur dengan pH meter	pH meter	Rasio	Angka dalam pH meter
Uji viskositas	Uji kekentalan pada sediaan hidrogel	Viskometer	Rasio	cP (centipoise)
Uji daya sebar	Dilakukan dengan menggunakan lempeng kaca, sediaan diletakkan tengah-tengah kaca	Gelas objek	Nominal	Daya sebar sediaan berkisar diameter 5-7 cm
Uji daya lekat	Dilakukan dengan menggunakan kaca objek dan letakkan sediaan pada kaca objek	Kaca objek	Nominal	Daya lekat yang baik > dari satu detik
Uji stabilitas organoleptik	Uji organoleptik meliputi warna, bau dan tekstur dari hidrogel dilakukan dengan menggunakan panca indera dan penciuman setelah masa penyimpanan	Panca indera	Nominal	1 = Tidak berbau 2 = Berbau khas
Uji stabilitas viskositas	Uji viskositas dari hidrogel dengan menguji kekentalan pada sediaan hidrogel setelah masa penyimpanan	Dilakukan dengan menggunakan viscometer.	Rasio	cP (centipoise)
Uji stabilitas pH	Uji stabilitas pH dari hidrogel diukur dengan menggunakan pH meter setelah masa penyimpanan	pH meter	Rasio	Angka dalam pH meter.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Determinasi Tanaman

Pada proses awal penelitian ini yaitu dilakukan determinasi tumbuhan terubuk dengan mencocokkan ciri-ciri morfologis yang terdapat dalam literature. Determinasi dilakukan di Universitas Padjajaran (UNPAD) merupakan tempat dilakukannya penelitian, tepatnya di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Departemen Biologi FMIPA, terhadap sampel tanaman secara utuh dari bagian akar hingga daun.

3.6.2 Penyiapan Simplisia

Tanaman terubuk (*Saccharum spontaneum* var. *edulis* (Hassk) K. Schum.) diambil Puncak Loji Kota Karawang. Pengambilan sampel memilih daun terubuk lalu disatukan dan dipisahkan dalam wadah, kemudian prosedur pembersihan dengan air mengalir sampai tanaman benar-benar bebas dari tanah dan zat luar, lakukan proses perajangan dengan memotong daun dengan ukuran yang sama, lakukan penjemuran di bawah sinar matahari dengan kain hitam, simplisia daun terubuk yang telah kering di blender dan disaring.

3.6.3 Proses Ekstraksi Daun Terubuk

Ekstraksi daun terubuk dengan teknik maserasi memakai pelarut etanol 70% dimasukkan ke dalam wadah maserasi selama 3 hari untuk setiap sesi. Selama proses tersebut, ekstrak diaduk setiap 6 jam. Setelah itu, filtrat disaring menggunakan corong. Filtrat yang dihasilkan kemudian diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50-60°C. Ekstrak selanjutnya diuapkan di atas waterbath hingga diperoleh ekstrak yang kental (Aulia *et al.*, 2023).

3.6.4 Skrining Fitokimia

1. Uji Alkaloid

Simplisia dibasahi dengan ammonia encer dan digerus dalam mortir. Beberapa ml CHCl_3 ditambahkan sambil terus digerus. Setelah disaring, filtrat dikocok dengan HCl 2N. Lapisan asam dipisahkan dan kemudian dibagi menjadi tiga bagian dalam tabung reaksi: tabung reaksi I digunakan sebagai kontrol, tabung reaksi II ditambahkan reagen Mayer, di mana terbentuknya endapan putih menandakan positif alkaloid, dan tabung reaksi III ditambahkan reagen Dragendorff, di mana adanya endapan jingga menunjukkan positif alkaloid (Abriyani *et al.*, 2021).

2. Uji Flavonoid

Filtrat dari pemanasan dengan aquades dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan serbuk Mg dan 0,5 ml HCl pekat, lalu dikocok dengan kuat. Adanya warna merah, jingga, atau kuning

menunjukkan positif flavonoid (Abriyani *et al.*, 2021).

3. Uji Tanin

Filtrat dari pemanasan dengan aquades dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan gelatin 1%. Jika muncul warna kuning jernih dan endapan putih, itu menunjukkan positif tanin (Abriyani *et al.*, 2021).

4. Uji Saponin

Filtrat dari pemanasan dengan aquades dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok dengan kuat selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1 cm yang bertahan selama 1 menit dan tidak menghilang setelah penambahan 1 tetes HCl encer menunjukkan positif saponin (Abriyani *et al.*, 2021).

5. Uji Fenolik

Tuangkan 1 mililiter ekstrak ke dalam tabung reaksi, lalu tambahkan 10 tetes larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditandai dengan munculnya warna merah, biru, ungu, hitam, atau hijau (Aulia, 2023).

6. Uji Kuinon

Sebanyak 1 gram ekstrak serbuk daun ditimbang dan dicampurkan dengan 20 mL air, lalu disaring dan ditempatkan dalam tabung reaksi. Selanjutnya, larutan KOH 5% ditambahkan. Jika muncul rona kuning hingga merah, hal ini menunjukkan hasil positif (Aulia, 2023).

7. Uji Triterpenoid dan Steroid

Simplisia diekstrak dengan eter, kemudian diuapkan dan ditambahkan reagen Liebermann-Burchard. Jika terbentuk warna ungu, itu menunjukkan positif triterpenoid, sedangkan warna biru-hijau menunjukkan positif steroid (Abriyani *et al.*, 2021).

8. Uji Monoterpenoid dan Sesquiterpenoid

Sampel dilarutkan dengan eter, kemudian digerus, disaring, dan diuapkan hingga kering. Setelah itu, tambahkan vanilin 10% dalam H_2SO_4 pekat. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya berbagai warna (Aulia, 2023).

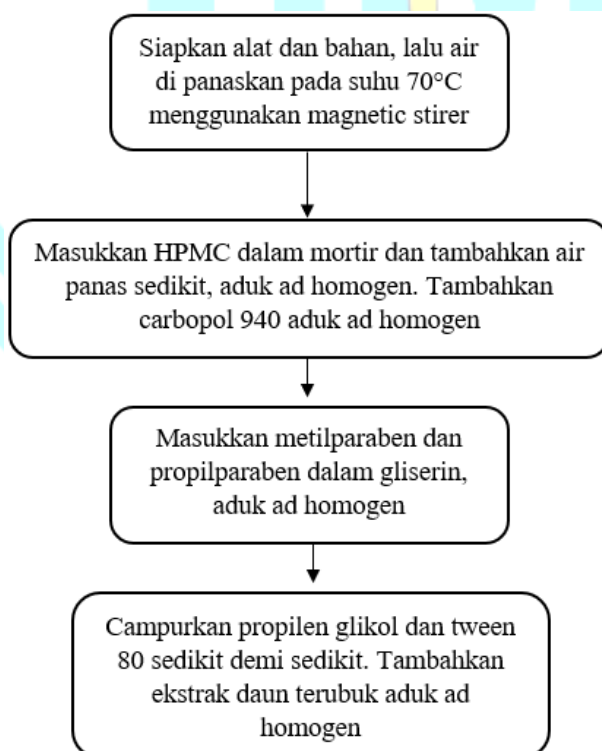
3.7 Formulasi Sediaan Hidrogel Ekstrak Daun Terubuk

Pada penelitian ini dibuat formula sediaan hidrogel dengan perbandingan konsentrasi yang berbeda. Berikut formula hidrogel.

Tabel 3.2 Formula Sediaan Hidrogel

Bahan	Fungsi	Konsentrasi %		
		F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)
Ekstrak etanol daun terubuk	Zat Aktif	5	10	15
HPMC	Basis	0,25	0,25	0,25
Carbopol 940	Basis	0,25	0,25	0,25
Gliserin	Humektan	5	5	5
Propil paraben	Pengawet	0,02	0,02	0,02
Metil paraben	Pengawet	0,18	0,18	0,18
Propilen glikol	Humektan	1	1	1
Tween 80	Surfaktan	2	2	2
Aquadest	Pelarut	ad 100	ad 100	ad 100

3.8 Prosedur Pembuatan Hidrogel



Gambar 3.1 Prosedur Pembuatan Hidrogel

3.9 Evaluasi Sediaan

3.9.1 Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan untuk menilai penampilan fisik sediaan melalui pengamatan menggunakan indra manusia terhadap bentuk, tekstur, warna, dan bau dari sediaan yang telah dibuat (Noor *et al.*, 2023).

3.9.2 Homogenitas

Pengujian homogenitas dilakukan dengan mengamati partikel dalam sediaan secara visual untuk menentukan apakah partikel tersebut tercampur secara homogen atau tidak (Noor *et al.*, 2023).

3.9.3 Uji pH

Pengujian pH dimulai dengan kalibrasi pH meter. Setelah pH meter dinyalakan, elektroda dimasukkan ke dalam wadah yang berisi sediaan, kemudian skala akan bergerak hingga angka stabil. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali replikasi untuk setiap formula (Noor *et al.*, 2023).

3.9.4 Uji Viskositas

Viskometer stormer menggunakan spindle nomor 4 untuk mengukur viskositas pada setiap formula. Kecepatan diatur bertahap dari 12 rpm (revolutions per minute) menjadi 30 rpm, dan kemudian 60 rpm. Hasil pengujian viskositas dicatat dalam satuan mPa.s (millipascal-seconds), dan uji viskositas dilakukan tiga kali replikasi untuk menghitung rata-ratanya (Harliatika dan Noval., 2021).

3.9.5 Uji Daya Sebar

Pengujian ini dilakukan menggunakan lempeng kaca. Sebanyak 1 g sediaan diletakkan di tengah kaca, kemudian ditutup dengan kaca penutup dan diberi pemberat total 125 g selama 1 menit. Prosedur ini diulang sebanyak tiga kali replikasi (Nabillah *et al.*, 2022).

3.9.6 Uji Daya Lekat

Pengujian ini dilakukan dengan menimbang 0,5 g sediaan dan meletakkannya di salah satu permukaan kaca objek, lalu ditutup dengan kaca objek lainnya. Kaca objek tersebut kemudian diberi beban 1 kg selama

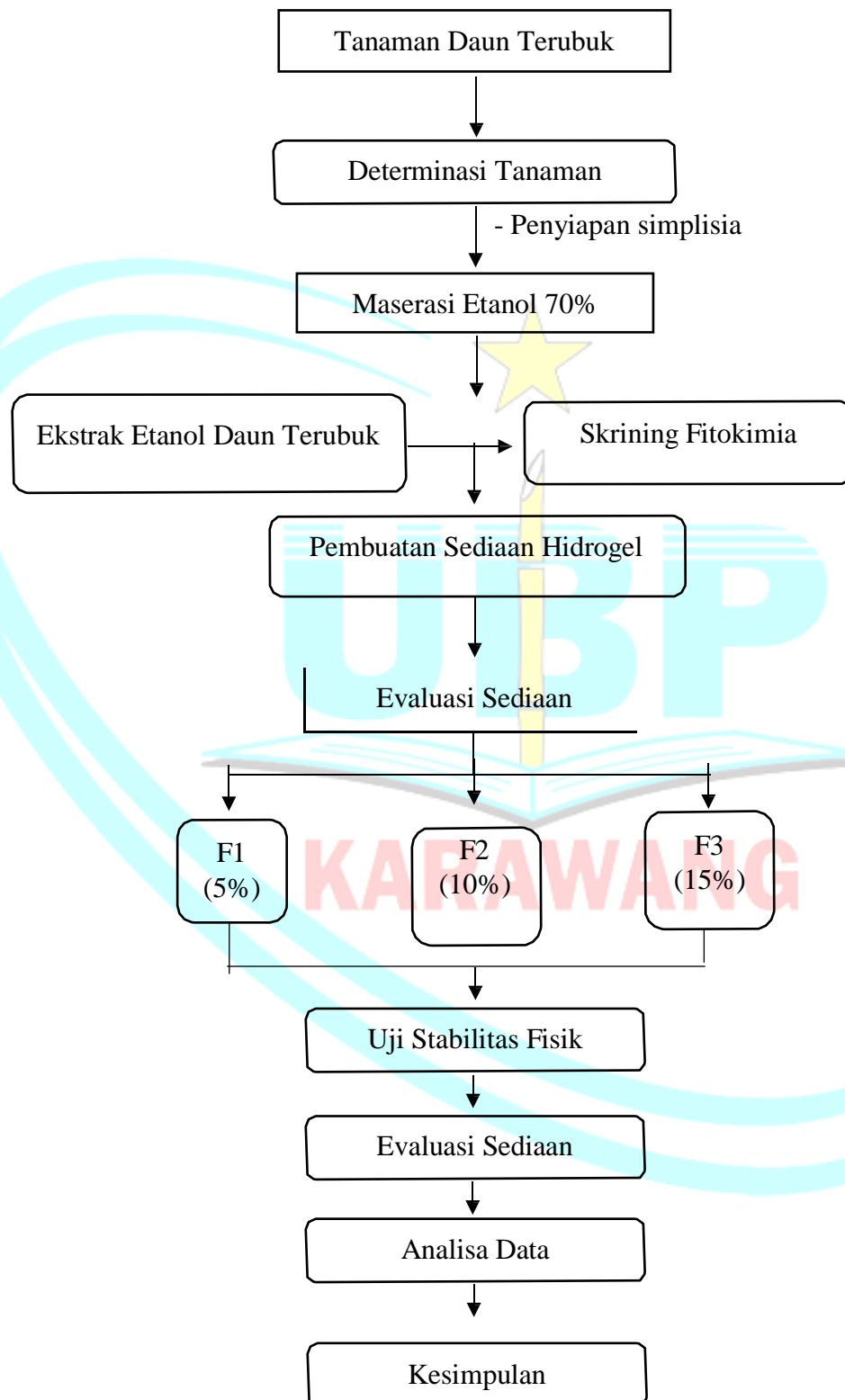
5 menit. Pengukuran ini diulang sebanyak tiga kali replikasi (Nabillah *et al.*, 2022).

3.9.7 Uji Stabilitas Fisik

Uji stabilitas dilakukan menggunakan metode *freeze-thaw cycling test*. Sampel disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam dan kemudian pada suhu 40°C selama 24 jam (1 siklus). Pengujian dilakukan sebanyak 3 siklus, di mana setiap siklus berlangsung selama 48 jam, dan diamati perubahan fisik yang meliputi organoleptik, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, dan daya lekat (Tari dan Indriani., 2023).



3.10 Tahapan Penelitian



Gambar 3.2 Diagram Alir Penelitian