

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Bahan Penelitian**

Bahan yang akan digunakan adalah ekstrak beras merah, HPMC, Na EDTA, Sorbitol, Gliserin, Propilenglikol, Na Benzoat, Aquadest, Ethanol 96%, DPPH, Metanol p.a, Vitamin C, garam bismut, asam asetat, kalium iodida, HgCl<sub>2</sub>, kalium iodida, magnesium, kloroform, FeCl<sub>3</sub>, HCl, asam sulfat.

#### **3.2 Alat Penelitian**

Alat yang akan digunakan mortar, stemper, gelas ukur (*pyrex*), beaker glass (*pyrex*), Labu Ukur (*pyrex*), batang pengaduk, kaca arloji, pipet tetes, oven, pipet volum, cawan penguap, Krus porselen, neraca analitik (Adam PW254), viscometer (Lamy Rheologi First Touch 15.04T. F016), pH-meter (Neomet pH-240L GJ-7726), *homogenizer* (WiseTis HG-15D), Spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific Evolution 201), tanur (Naberthem).

#### **3.3 Lokasi dan Tempat Penelitian**

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang yaitu Laboratorium Teknologi Formulasi Sediaan dan Bahan Alam penelitian ini akan dilaksanakan dari bulan Februari – Juli 2020.

#### **3.4 Prosedur Pembuatan Ekstrak**

Beras merah di haluskan kemudian di ayak masukkan serbuk kedalam toples coklat, kemudian maserasi dengan etanol 96% sampai serbuk beras merah terendam lalu maserasi selama tiga hari dengan pengadukan 24 jam sekali. Kemudian saring hasil maserasi masukkan dalam botol sebagai ekstrak cair, ekstrak cair di *rotary epavorator* dan hasil rotary di uapkan menggunakan water bath sampai menjadi ekstrak.

### 3.5 Standarisasi Ekstrak

#### A. Parameter Spesifik

##### 1. Organoleptik

Mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa

##### 2. Penentuan kadar senyawa terlarut dalam pelarut tertentu

###### a. Kadar senyawa yang terlarut dalam air

Sejumlah 2 gram ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 20 ml air – kloroform, menggunakan labu bersumbat sambil dikocok pada 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam, kemudian disaring. Diuapkan 10 ml hasil saringan hingga kering dalam cawan penguap, residu dipanaskan pada suhu 105°C sehingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam persen senyawa yang terlarut.

$$\% \text{ kadar senyawa larut dalam air} = \frac{w_2 - w_0}{w_1} \times \frac{100}{10} \times 100 \%$$

Keterangan :

W0 = berat cawan kosong

W1 = berat ekstrak

W2 = berat cawan + hasil pengeringan

###### b. Kadar senyawa yang terlarut dalam etanol

Sejumlah 2 gram ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 20 ml etanol 95% menggunakan labu tersumbat sambil sesekali dikocok pada 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam, kemudian disaring. Diuapkan 10 ml filtrat sehingga kering dalam cawan penguap, residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam air terhadap berat awal ekstrak pada ekstrak etanol (Departemen RI, 2000).

$$\% \text{ kadar senyawa larut dalam air} = \frac{w_2 - w_0}{w_1} \times \frac{100}{10} \times 100 \%$$

Keterangan :

W0 = berat cawan kosong

W1 = berat ekstrak

W2 = berat cawan + hasil pengeringan

## B. Parameter Non Spesifik

### 1. Parameter kadar air (Metode Gravimetri)

Ditimbang sebanyak 1 gram ekstrak dalam cawan yang telah ditara. Dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan timbang.

$$\% \text{ kadar air} = \frac{\text{berat sampel awal} - \text{berat sampel akhir}}{\text{berat sampel awal}} \times 100 \%$$

### 2. Susut pengeringan

Ditimbang sebanyak 1 gram ekstrak di dalam cawan yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Sebelum di timbang ekstrak diratakan dengan bantuan batang pengaduk hingga membentuk lapisan setebal 5 sampai 10 mm kemudian dikeringkan pada suhu 105°C selama 30 menit, keluarkan lalu masukan kedalam desikator kemudian timbang. Ulangi perlakuan sampai didapatkan bobot tetap. Kemudian dicatat bobot tetap yang diperoleh untuk menghitung persentase susut pengeringan (Departemen RI 2000).

$$\% \text{ Susut Pengeringan} = \frac{w1 - (w2 - w0)}{w1} \times 100 \%$$

Keterangan :

W0 = berat cawan kosong

W1 = berat ekstrak

W2 = berat cawan + hasil pengeringan

### 3. Parameter kadar abu

Sejumlah 2 gram ekstrak ditimbang dengan seksama dalam krus yang telah ditara, dipijarkan perlahan – lahan. Kemudian suhu di naikan secara bertahap hingga 600± 25°C sampai bebas karbon, selanjutnya didinginkan di desikator, serta ditimbang berat abu. Kadar abu dihitung dalam persen berat sampel awal.

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{w2 - w0}{w1} \times 100 \%$$

W0 = berat cawan kosong

W1 = berat ekstrak

W2 = berat cawan + hasil pengeringan

### 3.6 Skrining Fitokimia

#### A. Uji Alkaloid

Ekstrak etanol diteteskan pada empat plat tetes. Satu bagian dijadikan sebagai control dan tiga bagian di tetesi dengan preaksi Mayer, pereaksi Dragendorff sehingga ekstrak berwarna jingga atau coklat dan terbentuk endapan putih menunjukkan hasil uji positif untuk alkaloid (Harbone, 1987).

#### B. Uji Flavonoid

Ekstrak etanol diteteskan pada dua plat tetes. Satu bagian dijadikan control dan satu bagian ditambah dengan 0,2 gram logam Mg dan 2 tetes HCl, sehingga terbentuk warna jingga sampai merah. Hasil ini menunjukkan uji positif flavonoid (Harbone, 1987).

#### C. Uji Fenolik

Ekstrak etanol diteteskan pada dua plat tetes. Satu bagian dijadikan control dan satu bagian ditambahkan larutan  $\text{FeCl}_3$  1%, hingga terbentuk warna hijau sampai biru kehitaman. Hasil ini menunjukkan uji positif fenolik (Harbone, 1987).

#### D. Uji Terpenoid dan Steroid

Ekstrak etanol diteteskan pada dua plat tetes. Satu bagian dijadikan control dan satu bagian di tambahkan dengan preaksi Liberman-Burchard sehingga terbentuk warna merah atau violet. Hasil ini menunjukkan hasil positif untuk steroid (Harbone, 1987).

#### E. Uji Saponin

Ekstrak etanol diteteskan pada dua tabung reaksi, satu bagian sebagai control dan satu bagian sebagai didihkan dengan 20 ml air dalam penangas air. Filtrate dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuk busa menunjukkan positif hasil uji saponin (Harbone, 1987).

### 3.7 Uji Antioksidan Dengan Metode DPPH

#### A. Pembuatan Larutan DPPH

Serbuk DPPH diambil sebanyak 0,005 g dilarutkan dalam metanol p.a sampai 100ml.

#### B. Pembuatan Larutan Sampel

Dibuat larutan uji ekstrak beras merah dalam konsentrasi yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm. Dibuat larutan pembanding yaitu vitamin C dengan konsentasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm.

#### C. Uji Antioksidan Beras Merah

Masukan 5 ml larutan DPPH ditambahkan kedalam larutan uji ekstrak beras merah (*Oryza nivara* L) 5ml, kemudian didiamkan selama 30 menit, kemudian masukan kuvet kedalam spektrofotometer UV-Vis amati absorbansinya. Aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

#### D. Pengukuran nilai IC<sub>50</sub>

IC<sub>50</sub> merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan 50% radikal bebas oleh suatu konsentrasi sampel (ppm) semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> berarti semakin tinggi nilai aktivitas antioksidan. Nilai IC<sub>50</sub> dihitung kurva regresi linier antara % imhibisi dengan berbagai konsentrasi ekstrak dan vitamin C.

### 3.8 Prosedur Pembuatan

#### 1. Pembuatan Ekstrak

Beras merah di haluskan, kemudian diayak dan dimasukan kedalam botol toples coklat, kemudian masukan etanol 96% sampai serbuk beras merah terendam selama tiga hari dengan pengadukan setiap 24 jam sekali. Kemudian saring dan lakukan kembali dengan pelarut.

## 2. Pembuatan Sediaan

Timbang semua bahan kemudian panaskan aquadest sambil menunggu panas larutkan ekstrak beras merah dengan propilenglikol (campuran a) setelah aquadest panas masukan hpmc dan aduk hingga agak mengental kemudian masukan NaEDTA aduk homogen, setelah dirasa tercampur tambahkan natrium benzoat dan (campuran a) aduk homogen terakhir masukan gliserin dan sorbitol aduk konstan sampai homogen.

Tabel 3.1 Formula

No	Bahan	Jumlah (g)		
		F1	F2	F3
1.	Ekstrak Beras Merah	0,5%	1%	2%
2.	HPMC	1%	0,8%	0,5%
3.	NaEDTA	0,005%	0,005%	0,005%
4.	Natrium benzoate	0,1%	0,1%	0,1%
5.	Gliserin	5%	8%	7%
6.	Sorbitol	5%	8%	8%
7.	Propilenglikol	5%	8%	7%
8.	Aquadest	Ad 50 ml	Ad 50ml	Ad 50 ml

### 3.9 Evaluasi Sediaan Fisik Sediaan

#### 1. Uji Organoleptik

Pengamatan sediaan meliputi aroma, warna dan tekstur dari masing – masing formulasi sediaan serum wajah ekstrak beras merah.

#### 2. Uji homogenitas

Sediaan di uji menggunakan dua kaca objek dimana sampel diletakan pada salah satu kaca objek dan diletakan secara merata. Sediaan yang baik harus homogen dan bebas dari partikel yang masih menggumpal (Ansel, H. C, 1989).

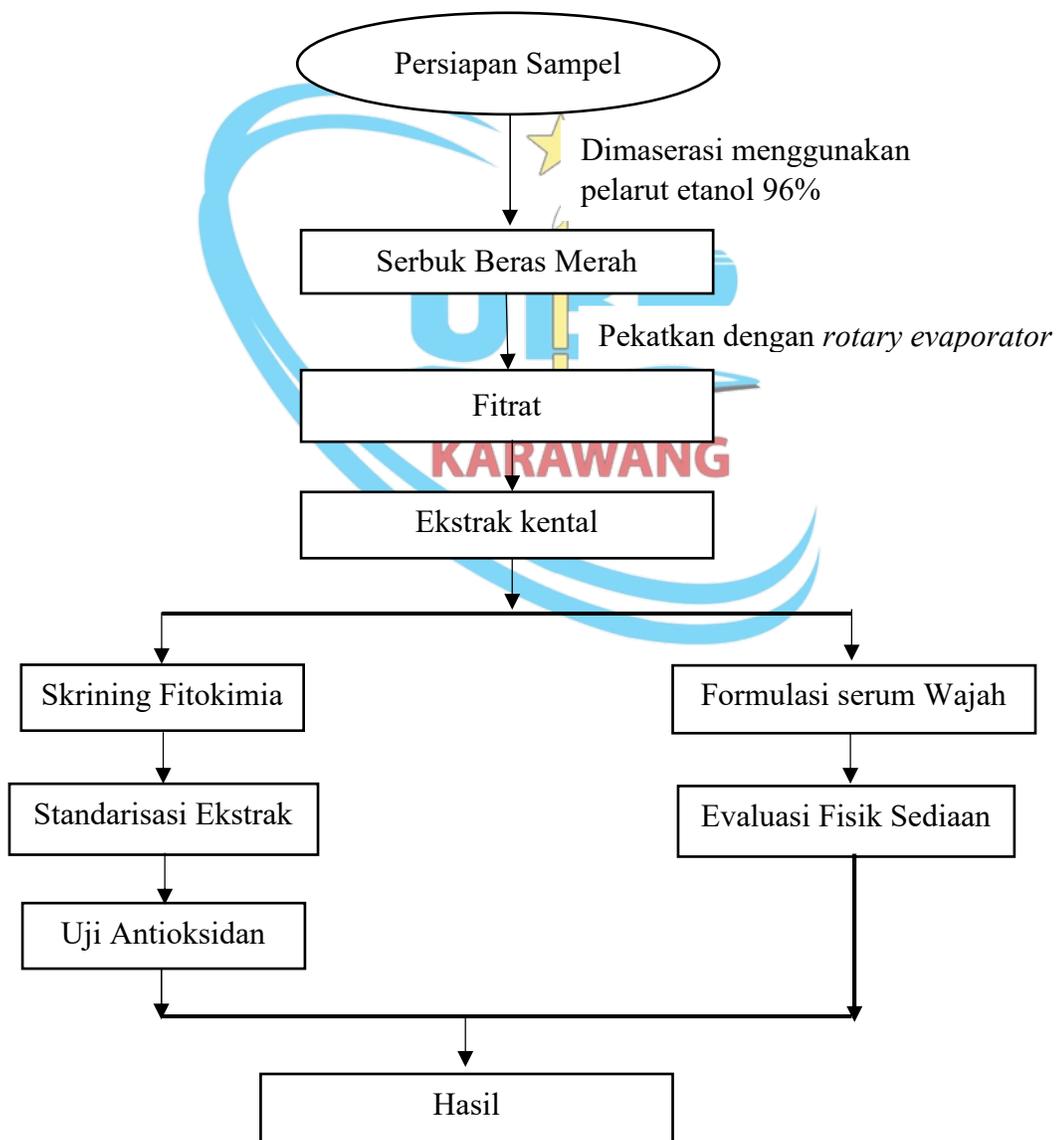
#### 3. Uji pH

Pengujian pH sediaan dilakukan menggunakan pH meter yang di celupkan ke dalam sampel serum yang telah di encerkan kemudian amati perubahan angka pada pH meter. pH yang di dapat harus sesuai dengan pH kulit yaitu 4,5 – 6,5 (Ansel, H. C, 1989).

#### 4. Uji Viskositas

Uji viskositas menggunakan viskometer lamy dengan memasukan sediaan ke dalam beaker glass 50 ml kemudian turunkan spindle 4 dengan kecepatan 50 rpm, viskositas yang di dapat harus sesuai rentang standar gel yaitu 2000 – 4000 cPois (Ansel, H. C, 1989).

#### 3.10 Diagram Alir



### 3.11 Analisis Data

Data yang didapatkan dari hasil evaluasi fisik sediaan serum wajah yang terdiri dari organoleptik, viskositas, pH dan daya sebar dianalisis menggunakan statistik SPSS versi 22. Analisis yang digunakan antara lain uji normalitas (Shapiro-wilk) dan homogenitas (uji levene). Jika data yang diuji terdistribusi normal dan homogen pengujian dilanjutkan dengan uji ANOVA untuk dapat melihat tiap perlakuan kemudian dilanjutkan dengan uji kolerasi dan paired T test untuk dapat melihat hubungan dan pengaruh dari setiap variabel.

