

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Ekstrak ketan hitam, *carbopol* 940, glycerin, propylenglikol, parfum, TEA, natrium benzoat, aquadest bebas CO_2 , etanol 96%, DPPH, metanol p.a, parffin liquidum, *cethyl* alkohol, vitamin c, magnesium, kloroform, FeCl_3 , peraksi dragendroff, mayer, amil alkohol, asam asetat anhidrad, H_2SO_4 .

3.2 Peralatan Penelitian

Alat yang digunakan adalah gelas ukur, gelas *beaker*, batang pengaduk, spatula, erlenmeyer tutup asah, krus porselen, pipet tetes, kaca arloji, cawan penguap, vial, oven, tanur (Nabertherm), erlenmeyer tutup asah, neraca analitik (Adam PW254) viskometer (Lamy Rheologi First Touch 15.04T. F016), pH-meter (NeoMet pH-240L GJ-7726), *magnetic mixer* (IKA C-MAG HS 7), *homogenizer* (WiseTis HG-15D). Spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific Evolution 201).

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang, yaitu Laboratorium Teknologi Formulasi Sediaan dari bulan Februari – Juli 2020.

Determinasi tanaman dilakukan di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung, Jawa Barat.

3.4 Formulasi *Sleeping Mask*

Tabel 3.1 Formula *Sleeping Mask*

No	Bahan	Jumlah (g)			Fungsi	Range (%)
		F1	F2	F3		
1	Ekstrak ketan hitam	0,25	0,5	1	Zat aktif	-
3	Carbopol 940	0,25	0,5	1	<i>Gelling Agent</i>	0,5-2 %
4	Gliserin	5	5	5	Humektan	< 30%
5	Propilenglikol	2	2	2	Humektan	< 15%
6	<i>Cetyl alcohol</i>	0,5	0,5	0,5	<i>Sttefinig Agent</i>	2-6%
7	Paraffin liquidum	1,5	1,5	1,5	<i>Emollient</i>	3-60%
8	Natrium benzoat	0,05	0,05	0,05	Pengawet	0,1-0,2%
9	TEA	0,25	0,25	0,25	<i>Alkalizing Agent</i>	-
10	Parfum	6 tetes	6 tetes	6 tetes	Pewangi	-
11	Aquadest	Ad 50	Ad 50	Ad 50	Pelarut	-

3.5 Prosedur Pembuatan

A. Pembuatan Ekstrak

Ketan hitam di haluskan, kemudian diayak dan dimasukkan kedalam botol coklat, kemudian masukan etanol 96% sampai beras terendam selama 3 hari dengan pengadukan setiap 24 sekali. Kemudian saring dan lakukan kembali dengan pemberian pelarut.

B. Pembuatan Sediaan

Buat gelling agent dengan menambahkan carbopol 940 dengan aquadest bebas CO₂ didiamkan sampai membentuk *gelling agent* (Campuran A). *Cetyl* alkohol dan paraffin liquidum di lebur dahulu di *waterbath* sampai larut (Campuran B), natrium benzoat dilarutkan dengan *glycerin* (Campuran C) dan ekstrak ketan hitam dilarutkan dengan prolenglikol (Campuran D). Kemudian campuran B ditambahkan dengan campuran C dan D menggunakan magnetik mixer. Tambahkan *gelling agent* kedalam campuran sedikit demi sedikit, tambahkan TEA dan parfum. Kemudian sediaan di homogenizer tujuannya agar mendapatkan sediaan yang homogen.

3.6 Skrining Fitokimia

A. Uji Alkaloid

Ekstrak ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N. Filtrat dibagi menjadi 2 bagian, pertama tambahkan 2 tetes reagen mayer kemudian kedua tambahkan 2 tetes reagen dragendorff. Hasil dikatakan positif jika terbentuk endapan coklat pada saat penambahan reagen Dragendorff dan membentuk endapan putih atau kuning pada saat penambahan reagen Mayer (Parisnawan & Adrianta, 2016).

B. Uji Flavonoid

Ekstrak tambahkan serbuk Magnesium sebanyak 0,1 gram, kemudian tambahkan 1 ml larutan alkohol klorhidrat (campuran HCl 37% dan etanol 95% dengan volume yang sama), tambahkan beberapa tetes amil alkohol, kocok kuat. Terdapat warna dalam amil alkohol (merah, kuning atau jingga) menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Parisnawan & Adrianta, 2016).

C. Uji Tanin dan Polifenol

Ekstrak ditetaskan FeCl_3 1%. Hasil positif mengandung tanin jika terbentuknya warna biru-hitam (Harborne, 1987).

D. Uji Saponin

Ekstrak dididihkan dengan aquades panas. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 10 menit. Terbentuknya busa setinggi 1-10 cm menunjukkan hasil uji positif saponin (Parisnawan & Adrianta, 2016).

E. Uji Triterpenoid dan Steroid

Ekstrak ditambahkan 15 tetes asam asetat anhidrad dan dibiarkan selama kurang lebih 15 menit. Tambahkan 2-3 tetes asam sulfat pekat. Hasil positif menunjukkan warna merah jingga atau ungu (triterpenoid) atau biru (steroid) (Sangi *et al.*, 2008).

3.7 Standarisasi Ekstrak

Standarisasi ekstrak menurut Depkes RI 2000 memiliki dua parameter yaitu parameter nonspesifik dan parameter spesifik.

3.7.1 Parameter Nonspesifik

A. Kadar abu

Sejumlah ekstrak dimasukkan kedalam krus porslen yang telah dipijarkan dan ditimbang terlebih dahulu, kemudian diratakan. Dipijarkan hingga arang habis. Lalu dinginkan di dalam desikator dan ditimbang. Kadar abu tidak boleh lebih dari 8% (Depkes RI, 1989)

$$\text{Kadar abu} = \frac{\text{Berat abu total}}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\%$$

B. Susut pengeringan

Ekstrak ditimbang sebanyak 1g dalam cawan porselen yang sebelumnya telah dipanaskan dan telah ditara. Kemudian masukan kedalam oven, keringkan pada suhu 105^o C timbang sampai bobot tetap. Susut pengeringan dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Susut pengeringan (\%)} = \frac{W1 - (W2 - W0)}{W1} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 = Berat cawan kosong

W1 = Berat ekstrak

W2 = Berat cawan dan sampel sesudah pemanasan

C. Kadar air

Ditimbang sejumlah ekstrak dalam cawan yang telah ditara. Kemudian panaskan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Kadar air tidak kurang dari 10% (Depkes RI, 2008).

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

3.7.2 Parameter Spesifik

A. Organoleptik

Pemeriksaan organoleptik dilakukan dengan melihat secara visual yakni meliputi bentuk, warna, rasa dan bau.

B. Penetapan kadar sari yang larut dalam air

Ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL air-

kloroform (2,5 mL kloroform dalam aquadest sampai 100 mL) dalam erlenmeyer tutup asah sambil sesekali dikocok tiap 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam, disaring. Filtrat sebanyak 10mL diuapkan sampai kering dalam cawan penguap yang telah dipanaskan dan ditara. Sisa dipanaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap.

$$\text{Kadar sari larut air} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times \frac{100}{10} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 = Berat cawan kosong

W1 = Berat ekstrak

W2 = Berat cawan dan sampel sesudah pemanasan

C. Penetapan kadar sari larut dalam etanol

Ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 100mL etanol 95% dalam erlenmeyer tutup asah sambil sesekali dikocok tiap 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam, disaring. Filtrat diuapkan sebanyak 10mL sampai kering dalam cawan penguap yang telah dipanaskan dan ditara. Sisa dipanaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap.

$$\text{Kadar sari larut air} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times \frac{100}{10} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 = Berat cawan kosong

W1 = Berat ekstrak

W2 = Berat cawan dan sampel sesudah pemanasan

3.8 Pengujian Antioksidan

A. Pembuatan Larutan DPPH

Serbuk DPPH diambil sebanyak 0,0025g dilarutkan dalam metanol sampai 50ml.

B. Pembuatan Larutan Sampel

Dibuat larutan uji ekstrak ketan hitam dalam konsentrasi yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm. Dibuat larutan pembanding

yaitu vitamin C dengan konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm.

C. Uji Aktivitas Antioksidan Ketan Hitam (*Oryza sativa var glutinosa*)

Diambil 5 ml larutan DPPH ditambahkan kedalam larutan uji ekstrak ketan hitam (*oryza sativa var glutinosa*) 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. Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Diambil 5 ml larutan DPPH ditambahkan kedalam larutan vitamin C sebanyak 5ml, kemudian didiamkan selama 30 menit, kemudian masukan kuvet kedalam spektrofotometer UV-Vis amati absorbansinya. Aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus :

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

E. Pengukuran nilai IC₅₀

IC₅₀ merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan penghambatan 50% radikal bebas oleh suatu konsentrasi sampel (ppm) semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin tinggi nilai aktivitas antioksidan. Nilai IC₅₀ dihitung kurva *regresi linier* antara % inhibisi dengan berbagai konsentrasi ekstrak dan vitamin C.

3.9 Evaluasi Sediaan

A. Uji Organoleptik

Pemeriksaan organoleptik dilakukan secara visual dengan mengamati perubahan-perubahan yang terjadi pada sediaan, yakni meliputi penampilan, warna dan bau (Septiani, 2011).

B. Uji pH

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter, masing-masing formula harus memenuhi rentang pH dengan kisaran sesuai pH kulit yaitu 4,5-6,5 (Tranggono, 2007)

C. Uji Homogenitas

Pengujian homogenitas dilakukan dengan cara sampel gel dioleskan

pada sekeping kaca atau bahan transparan lain yang cocok, sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar (Ditjen POM, 1985).

D. Uji Viskositas

Sebanyak 100 gram sediaan dimasukan ke dalam gelas *beaker* 100 ml kemudian diukur viskositasnya dengan viskometer, kemudian diatur spindel menggunakan spindel 4 dan kecepatan yang digunakan 50rpm (Septiani, 2011). Viskositas gel 2000-4000 cps (Garg *et al*, 2002).

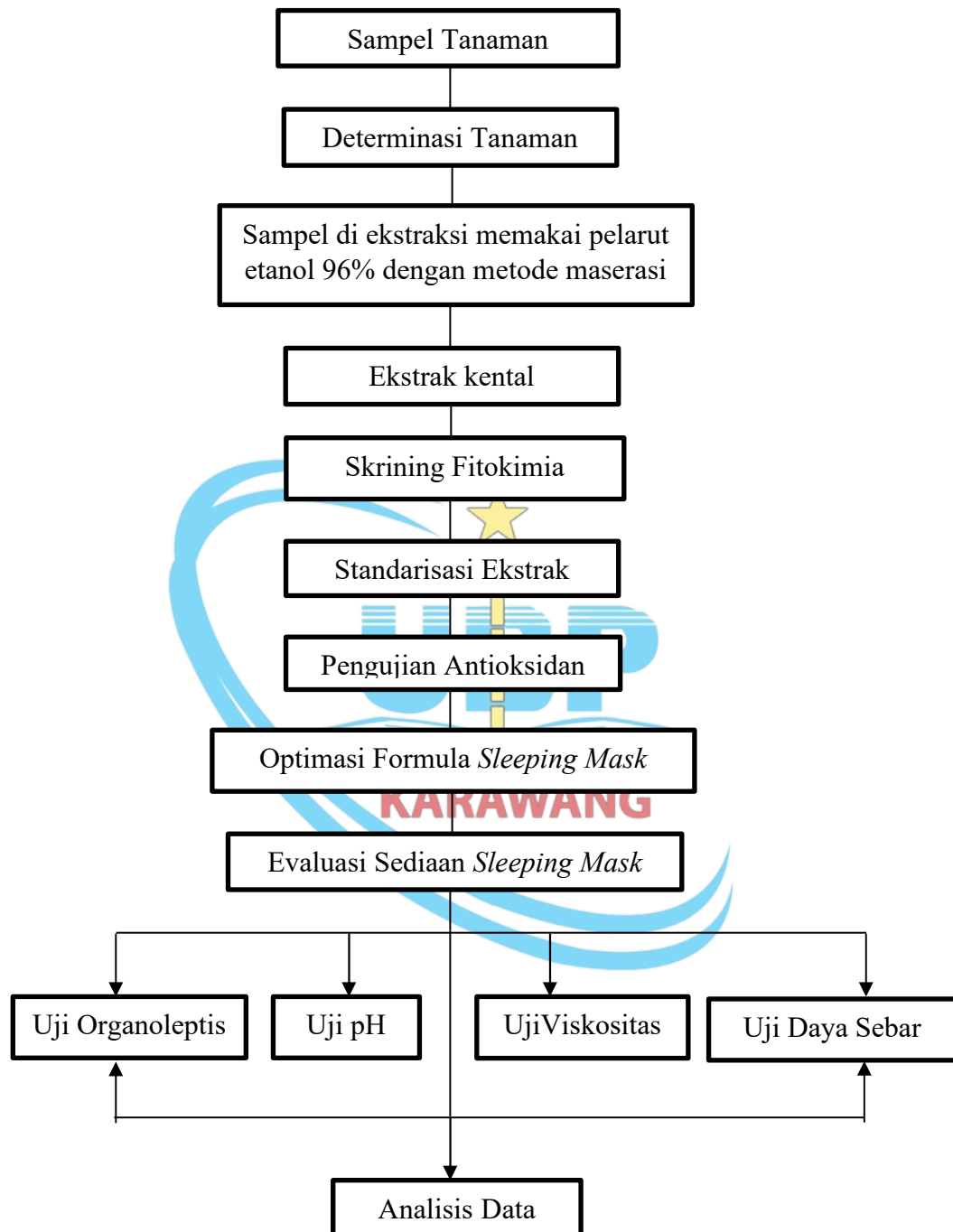
F. Daya Sebar

Sebanyak 0,5 gram sediaan diletakan ditengah kaca yang telah diberi milimeter block, kemudian biarkan selama 1 menit ukur diameter penyebaran sediaan pada berapa sisi, diulang dengan penambahan beban tiap 1 menit 50, 100, 150, dan 200 gram. Dengan kriteria daya sebar 5-7 cm (Grag *et al*, 2000).

3.10 Analisis Data

Data yang di dapatkan dari hasil evaluasi sifat fisik *sleeping mask* yang terdiri dari, organoleptik, pH, viskositas, dan daya sebar dianalisis dengan statistika SPSS versi 22. Analisis yang digunakan yaitu uji normalitas (shapiro-wilk) dan uji homogenitas (uji levene). Jika datanya terdistribusi normal dan homogen pengujian dilanjutkan dengan uji ANOVA untuk melihat tiap perlakuan, namun jika datanya normal tetapi tidak homogen, atau tidak normal dan homogen maka analisis dengan uji paired T test untuk melihat hubungan dan pengaruh tiap variabel.

3.11 Diagram Alir



Gambar 3.1. Diagram Alir Penelitian