

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan antara lain ekstrak ketan hitam (*Oryza sativa var glutinosa*), HPMC, carbomer, propilen glikol, gliserin, triethanolamine, natrium benzoate, parfum, aquades, etanol 96%, DPPH, matanol p.a, vitamin C, pereaksi mayer, pereaksi dragendrof, serbuk Mg, HCl, FeCl<sub>3</sub>, pereaksi liberman-buchard, kloroform,

#### 1.2 Peralatan Penelitian

Alat yang digunakan adalah *Rotary evaporator* (CECIL), *waterbath* (CECIL), spektrofotometer uv-vis (THERMO SCIENTIFIC), neraca analitik (ADAM SCIENTIFIC), gelas ukur (PYREX), *beaker glass* (BOMEX), tabung reaksi, batang pengaduk, spatula, pipet tetes, cawan porselen, krus porselen, kaca arloji, viskositas (LAMMYRHEOLOGY), pH meter (ISTEK), *homogenizer* (WiseTis HG-15D)

#### 3.3 Lokasi Dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang yaitu Laboratorium Teknologi Formulasi Sediaan, penelitian ini akan dilaksanakan dari bulan Febuari – Juli 2020.

### 3.4 Formulasi *Soothing gel*

Dibawah ini merupakan tabel formulasi *soothing gel*

**Tabel 3.1** Formula *Soothing gel*

Bahan	Konsentrasi (%)			Fungsi	Rentang
	F1	F2	F3		
Ekstrak Ketan Hitam	0,25%	0,5%	1%	Zat aktif	-
Carbomer	0,5%	0,6%	0,7%	<i>Gelling Agent</i>	0,5-2,0%
HPMC	0,5%	0,6%	0,7%	<i>Gelling Agent</i>	0,45-1%
Gliserin	5%	5%	7%	Humektan	≤30%
Propilenglikol	5%	6%	7%	Humektan	≈15%
TEA	0,1%	0,1%	0,1%	<i>Alkalizing Agent</i>	0,5%
Na Benzoat	0,1%	0,1%	0,1%	Pengawet	0,1-0,5%
Parfum	Qs	qs	qs	Pewangi	-
Aquades	ad 100	ad 100	ad 100	Pelarut	-

### 3.5 Prosedur Pembuatan

#### 1. Pembuatan Ekstrak

Ketan hitam dihaluskan, kemudian diayak dan dimasukkan kedalam botol coklat. Tambahkan etanol 96% sampai ketan hitam terendam, diamkan selama 24 jam sambil sesekali diaduk. Setelah 24 jam, kemudian saring dan lakukan kembali dengan pemberian pelarut, ulangi perendaman sebanyak 3 kali untuk mendapatkan ekstrak.

#### 2. Pembuatan Sediaan

Carbomer dikembangkan terlebih dahulu dengan aquades lalu diaduk dan ditambahkan TEA hingga terbentuk basis gel (M1), HPMC dilarutkan dengan aquades dan diaduk hingga larut (M2), campurkan M1 dan M2 aduk hingga homogen, kemudian larutkan Na benzoat dengan propilenglikol aduk sampai larut, campurkan gliserin, dan aquades sedikit demi sedikit. Tambahkan ekstrak ketan hitam dan parfum, aduk ad homogen.

### 3.6 Skrining Fitokimia

Skrining Fitokimia menurut Harbone (1987) :

#### a. Uji Alkaloid

Ekstrak diteteskan pada tiga tabung reaksi lalu ditambahkan dengan pereaksi Mayer, Dragendrof. Terbentuk endapan putih dengan preaksi Mayer, terjadi perubahan warna jingga dengan pereaksi Dragendrof.

#### b. Uji Flavonoid

Ekstrak di teteskan pada tabung reaksi ditambahkan 0,2 g Mg serbuk dan 2 tetes HCl, sehingga terbentuk warna jingga sampai merah.

#### c. Uji Tanin dan Polifenol

Ekstrak diteteskn larutan  $\text{FeCl}_3$ . Terbentuk warna biru hitam positif tanin dan polifenol.

#### d. Uji Triterpenoid Dan Steroid

Ekstrak diteteskan pada tabung reaksi ditambahkan dengan preaksi Lieberman-Buchard, sehingga terbentuk warna merah atau violet, hasil ini menunjukkan uji terpenoid. Sedangkan hasil uji steroid terbentuk warna hijau atau biru.

#### e. Uji Saponin

Ekstrak diteteskan pada tabung reaksi dididihkan dengan 20 ml air dalam penangas air. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuk busa menunjukkan hasil positif saponin.

### 3.7 Standarisari Ekstrak

Menurut Depkes RI (2000) memiliki dua parameter yaitu parameter spesifik dan parameter non spesifik.

#### 3.7.1 Parameter Spesifik

##### a. Organoleptis

Ambil sedikit serbuk simplisia dan lakukan uji secara organoleptis (bau, warna dan rasa).

##### b. Penetapan kadar sari larut dalam air

Bahan uji dimaserasi selama 24 jam dengan 20 ml air-kloroform P, menggunakan labu tersumbat sambil dikocok selama 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 hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam air.

$$\text{Rumus} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times \frac{100}{10} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 = cawan kosong

W1 = bobot ekstrak

W2 = cawan setelah dipanaskan

c. Penetapan kadar sari larut dalam etanol

Bahan uji dimaserasi selama 24 jam dengan 20 ml etanol 96% menggunakan labu tersumbat sambil dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam, disaring. Diuapkan 10 ml hasil penyaringan hingga kering dalam cawan penguap, residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam etanol.

$$\text{Rumus} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times \frac{100}{10} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 = cawan kosong

W1 = bobot ekstrak

W2 = cawan setelah dipanaskan

### 3.7.2 Parameter Non Spesifik

a. Parameter Kadar Air (Metode Gravimetri)

Timbang ekstrak dalam cawan yang telah di tara. Dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang.

$$\text{Rumus} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 = cawan kosong

W1 = cawan + isi

W2 = cawan setelah dipanaskan

b. Susut Pengerinan

Ekstrak ditimbang dalam cawan yang telah di panaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan ditara. Kemudian keringkan pada suhu 105°C selama 30 menit, keluarkan lalu di masukan ke dalam desikator lalu timbang. Ulangi perlakuan sampai didapatkan bobot tetap.

$$\text{Rumus} = \frac{W_1 - (W_2 - W_0)}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 = cawan kosong

W1 = berat ekstrak

W2 = cawan setekah dipanaskan

c. Penetapan Kadar Abu

Ekstrak di masukan ke dalam krus porselen yang telah di pijarkan dan di timbang terlebih dahulu. Pijarkan hingga arang habis. Lalu dinginkan di dalam desikator dan di timbang.

$$\text{Rumus} = \frac{(\text{Bobot abu} + \text{kurs konstan}) - (\text{kurs kosong})}{\text{berat ekstrak}} \times 100\%$$

### 3.8 Pengujian Antioksidan **KARAWANG**

#### 1. Pembuatan Larutan DPPH

Serbuk DPPH diambil sebanyak 0,025 g dilarutkan dalam metanol p.a sampai 50 mL.

#### 2. Pembuatan Larutan Sampel

Dibuat larutan uji ekstrak ketan hitam dalam konsentrasi yaitu 100 ppm, 80 ppm, 60 ppm, 40 ppm, 20 ppm dan dibuat larutan pembanding yaitu vitamin c dengan konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm.

#### 3. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ketan Hitam (*Oryza sativa var glutinosa*)

Diambil larutan ekstrak ketan hitam sebanyak 5 ml dan larutan DPPH sebanyak 5 ml, selanjutnya campuran dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit dan diamati absorbansinya menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{Ab kontrol} - \text{Ab Sampel})}{\text{Ab kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

Ab kontrol = Nilai absorbansi blanko

Ab sampel = Nilai absorbansi sampel

#### 4. Pengukuran IC<sub>50</sub>

Nilai IC<sub>50</sub> dihitung kurva *regresi linear* antara % inhibisi dengan berbagai konsentrasi ekstrak dan vitamin c (larutan uji).

### 3.9 Evaluasi Fisik Sediaan

#### 1. Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan secara visual dan dilihat secara langsung bentuk, warna dan bau dari *soothing gel* yang dibuat.

#### 2. Uji pH

Sebanyak 0,5 g *soothing gel* di cek pH menggunakan pH meter , masing – masing formula harus memenuhi rentang pH kulit yaitu 4,5 – 6,5 (Tranggono, 2007).

#### 3. Uji Viskositas

Sebanyak 100 g sediaan dimasukan ke dalam *beaker glass* 100ml kemudian diukur viskositasnya dengan viscometer, kemudian diatur spindel dan kecepatan yang digunakan. Viskositas pada gel harus memenuhi standar pada rentang 3000 – 50000 cPs (SNI 16-4380-1996).

#### 4. Homogenitas

Pemeriksaan homogenitas dilakukan dengan menggunakan gelas objek. Sediaan dioleskan pada sekeping kaca atau bahan transparan lain yang cocok, maka sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar (Ditjen POM, 1979).

#### 5. Uji Daya Sebar

Gel ditimbang sebanyak 0,5 g dan diletakan diatas kaca transparan, kaca lainnya diletakan diatasnya dan dibiarkan selama 1 menit. Ukur diameter daya sebar selama 1 menit. Selanjutnya ditambahkan beban 50 g,

100 g, 150 g dan 200 g dan di diamkan selama 1 menit lalu ukur diameter yang konstan (Safriani, *et al.*, 2017).

### 3.10 Analisis Data

Data yang di dapat dari hasil evaluasi fisik (pH, viskositas dan daya sebar) dengan menggunakan statistik SPSS. Analisis yang dilakukan yaitu uji normalitas dan uji homogenitas dengan tingkat signifikan 0,05%.



### 3.11 Diagram Alir

