

BAB III

METODE PENELITIAN

A. DESAIN PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dirancang dengan menggunakan perbandingan formulasi kombinasi *enhancer* propilen glikol dan asam oleat pada sediaan krim ekstrak etanol bunga rosella ungu.

B. WAKTU DAN TEMPAT

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan (FKIK) Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Dilakukan pada bulan November 2018 sampai dengan April 2019.

C. VARIABEL PENELITIAN DAN DEFINISI OPERASIONAL

1. Variabel penelitian

a. Variabel Bebas

- 1) Formula krim : Variasi *enhancer* yang digunakan yaitu propilen glikol dan asam oleat.
- 2) Uji Stabilitas Fisik : Variasi *enhancer* yang digunakan yaitu propilen glikol dan asam oleat.
- 3) Uji Aktivitas Antioksidan: Variasi *enhancer* yang digunakan yaitu propilen glikol dan asam oleat.

b. Variabel Terikat

- 1) Formula krim : Karakteristik dari sediaan krim secara organoleptis meliputi warna, bau
- 2) Uji Sifat Fisik : Organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar dan daya lekat.
- 3) Uji Aktivitas Antioksidan: Persentase inhibisi aktivitas antioksidan dari masing-masing formula setelah di uji menggunakan metode DPPH.

2. Definisi Operasional

- a. Organoleptik adalah metode uji yang akan digunakan untuk mengetahui kualitas fisik dari formula krim yaitu meliputi warna, aroma, dan bentuk yang dihasilkan.
- b. Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui apakah komposisi bahan dalam sediaan krim telah tercampur sempurna atau tidak. Hasil yang didapatkan dari uji ini ialah seluruh partikel dalam bahan memiliki ukuran yang seragam.
- c. Uji pH untuk mengetahui sifat asam-basa dari sediaan krim yang dihasilkan. Hasil uji pH harus memenuhi rentang dari pH kulit yaitu 4,5-6,5.
- d. Uji daya sebar merupakan suatu uji untuk mengetahui kemampuan menyebarnya suatu sediaan krim setelah diaplikasikan pada kulit.

Persyaratan daya sebar yang baik untuk sediaan topikal harus memenuhi rentang sekitar 5-7 cm.

- e. Uji daya lekat merupakan uji untuk mengetahui kemampuan melekatnya sediaan krim setelah diaplikasikan pada kulit. Persyaratan uji daya lekat yang baik untuk sediaan topikal yaitu tidak kurang dari 4 detik.
- f. Uji aktivitas antioksidan merupakan suatu uji untuk mengetahui persentase inhibisi dari ekstrak kental maupun krim.
- g. Persentase inhibisi adalah persentase banyaknya aktivitas senyawa antioksidan pada sampel yang dapat menangkal radikal bebas.

D. INSTRUMEN PENELITIAN

1. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan analitik, alat-alat gelas (Iwaki pyrex®), *waterbath* (Mettler®), pH meter (Mettler Toledo®), *stopwatch*, batang pengaduk, *rotary evaporator*, alat uji daya lekat (hasil rakitan), alat uji daya sebar, Spektrofotometer uv-vis (Jasco V-730®), *centrifuge* (Hettich®).

2. Bahan Penelitian

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini ialah simplisia bunga rosella ungu yang diperoleh dari Herba Anugerah Alam

Yogyakarta. Bahan yang digunakan dalam formulasi sediaan krim ialah vaseline album (Brataco®), asam stearat (Brataco®), asam oleat (Brataco®), propilenglikol (Brataco®), natrium lauril sulfat (Brataco®), metil paraben (Brataco®), propil paraben (Brataco®), trietanolamin (Brataco®), dan aquadest (Brataco®). Semua bahan yang digunakan untuk formulasi sediaan krim diperoleh dari PT Brataco Chemica Yogyakarta.

E. CARA KERJA

1. Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Fakultas Biologi Universitas Ahmad Dahlan.

2. Ekstraksi Simplisia Serbuk Bunga Rosella Ungu

Metode ekstraksi yang peneliti gunakan ialah metode maserasi. Maserasi dimulai dengan menimbang serbuk simplisia bunga rosella ungu (*Hibiscus Sabdariffa L.*) sebanyak 1 kg , kemudian dimasukkan ke dalam bejana dan ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 5 L. Maserasi dilakukan selama tiga hari. Setiap 24 jam dilakukan penyaringan menggunakan corong Buchner.

Maserat yang didapat dari hasil penyaringan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan kecepatan 90rpm pada suhu 60°C. Kemudian ekstrak cair hasil *rotary* dipanaskan menggunakan

waterbath 60°C untuk memperoleh ekstrak kental. Ampas serbuk sisa penyaringan di maserasi berulang menggunakan pelarut etanol 96 % sebanyak 5L hingga hari ke tiga. Ekstrak kental yang didapat selanjutnya dihitung untuk mengetahui hasil rendemennya:

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{bobot total ekstrak}}{\text{bobot serbuk total}} \times 100 \%$$

3. Skrinning Fitokimia

a. Identifikasi alkaloid

0,5 g ekstrak bunga rosella ungu ditambahkan 10 mL kloroform dan 5 tetes NH_4OH , campuran tersebut disaring, filtratnya dikocok dan ditambahkan 10 tetes H_2SO_4 2M. Lapisan asam (atas) dibagi menjadi dua ke dalam tabung reaksi. Tabung pertama ditetesi pereaksi Dragendorff. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah atau jingga. Tabung kedua ditambahkan pereaksi Mayer. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya kabut putih hingga endapan putih (Mitha *et al*, 2016).

b. Identifikasi flavonoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak bunga rosella ungu ditambahkan 10 mL methanol dan 10 mL aquades kemudian disaring. Lalu ditambahkan dengan 5 mL eter, dikocok dan didiamkan. Lapisan methanol diuapkan pada suhu 40°C. Kemudian dilarutkan dalam 5 mL *etil asetat*. Ditambahkan 1 mL etanol, 0,1 g serbuk magnesium dan 1 mL asam klorida pekat. Lalu dikocok kuat dan dibiarkan

memisah. Hasil positif bila timbul warna merah, kuning (Mitha *et al*, 2016).

c. Identifikasi Tanin

Sebanyak 0,5 g ekstrak bunga rosella ungu ditambahkan 10 mL aquades panas, dididihkan selama 10 menit dan disaring. Ditambahkan larutan FeCl₃1%. Hasil positif bila terbentuk warna hijau kehitaman (Mitha *et al*, 2016).

d. Identifikasi saponin

0,5 g ekstrak bunga rosella ungu ditambahkan 10 mL aquades panas, dididihkan selama 10 menit dan disaring. Larutan dikocok kuat secara vertical selama 10 detik. Hasil positif bila terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil sekitar 10 menit dan tidak hilang saat ditambahkan 1 tetes HCl 2N (Mitha *et al*, 2016).

4. Pembuatan Krim Ekstrak Etanol Bunga Rosella

a. Formula Sediaan Krim

Tabel 2. Formula Krim Ekstrak Bunga Rosella Ungu

Bahan	Formula I (gram)	Formula II (gram)	Formula III (gram)	Formula VI (gram)
Ekstrak bunga rosella ungu	2,5	2,5	2,5	2,5
Vaseline Album	20	20	20	20
Metil Paraben	0,025	0,025	0,025	0,025
Propil Paraben	0,015	0,015	0,015	0,015
Asam Stearat	20	20	20	20
Trietanolamin (TEA)	1	1	1	1
Natrium Lauril Sulfat	1	1	1	1
Aquadest	51,46	41,46	41,46	41,46
Propilen Glikol	0	10	5	0
Asam Oleat	0	0	5	10
	96	96	96	96

b. Pembuatan Formula Sediaan Krim

Proses pembuatan krim diawali dengan penyiapan alat dan bahan yang digunakan. Kemudian dilakukan penimbangan bahan-bahan yang akan digunakan untuk membuat sediaan krim yaitu terdiri dari fase minyak dan fase air. Bahan-bahan yang merupakan fase minyak diantaranya *vaseline album* asam stearat, propil paraben dileburkan pada suhu 65°C menggunakan *waterbath*. Bahan-bahan fase air yaitu TEA, Natrium lauril sulfat, propilen glikol, dan metil paraben dicampurkan ke dalam aquadest yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 65°C.

Fase minyak dimasukkan ke dalam mortir panas diaduk dan ditambah fase air sedikit demi sedikit hingga homogen. Setelah terbentuk basis krim, krim didinginkan terlebih dahulu kemudian dimasukkan zat aktif yaitu ekstrak bunga rosella ungu ke dalam basis krim diaduk hingga homogen.

5. Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Krim

Uji sifat fisik sediaan krim yang dilakukan meliputi : uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar, dan uji daya lekat.

a. Pengamatan Organoleptis

Pengamatan dilakukan secara visual dengan cara mengamati bentuk, warna dan bau dari sediaan krim ekstrak etanol bunga rosella ungu pada suhu kamar (Elya *et al*, 2013).

b. Pengujian Homogenitas

Pengujian homogenitas dari krim ekstrak etanol bunga rosella ungu dilakukan dengan meletakkan sediaan krim diatas kaca objek kemudian ditimpa dengan kaca objek lainnya, diamati ukuran partikel diatas kaca objek tersebut untuk melihat adanya partikel kasar (Elya *et al*, 2013). Pada pengujian ini dilakukan replikasi sebanyak tiga kali pada masing-masing formula. (Elya *et al*, 2013).

c. Penetapan pH

Pengukuran pH sediaan krim dilakukan dengan menggunakan pH meter. Sebanyak 1 gram krim diencerkan menggunakan aquades 10 mL kemudian diaduk hingga homogen. Elektroda pH meter dicelupkan ke dalam krim yang telah diencerkan, jarum pH meter dibiarkan bergerak hingga menunjukkan posisi stabil, kemudian dicatat hasil pengukuran tersebut. (Depkes RI, 1995).

d. Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan dengan mengambil krim ekstrak kulit buah naga sebanyak 0,5 gram dan diletakkan diatas kaca

transparan kemudian di tutup dengan kaca transparan, lalu dibiarkan selama 1 menit. Selanjutnya diameter daerah penyebaran yang telah diberi sediaan diukur dengan mengambil panjang rata-rata diameter dari beberapa sisi, dan kemudian diberi beban masing-masing 50, 100, 250, 500 gram dan dibiarkan selama 1-2 menit. Diukur pada masing-masing beban jika terjadi pertambahan luas (Rahmawati *et al*, 2010).

e. Uji Daya Lekat

Sampel sebanyak 0,25 gram diletakan diatas 2 *object glass* yang telah ditentukan. Setelah itu ditekan beban 1 kg selama 5 menit. Kemudian beban diangkat dari *object glass* lalu dipasang pada alat uji. Dicatatat waktu yang diperlukan untuk *object glass* terlepas, dan dilakukan replikasi sebanyak tiga kali (Rahmawati *et al*, 2010).

6. Uji Aktivitas Antioksidan

Dilakukan uji aktivitas antioksidan pada rutin, ekstrak bunga rosella ungu dan formula krim I, II, III dan VI dengan menggunakan metode DPPH.

a. Preparasi Sampel Uji Aktivitas Antioksidan.

Ekstrak bunga rosella ungu, pembanding rutin, dan juga krim ekstrak bunga rosella ungu yaitu formula I, II, III, VI ditimbang 2,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah

di tutup dengan alumunium foil. Sampel dilarutkan dengan 5 ml metanol p.a dan digojog hingga larutan homogen. Larutan *disentrifugasi* selama sepuluh menit dengan kecepatan 600 rpm, kemudian disaring agar mendapatkan filtrat jernih.

b. Pembuatan Larutan DPPH dan Penentuan Panjang Gelombang Maksimal.

Ditimbang 10 mg reagen DPPH dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml yang telah ditutup dengan alumunium foil, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a hingga 100 ml. Larutan DPPH tersebut diambil 5 ml, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml yang telah ditutup menggunakan alumunium foil dan ditambahkan metanol p.a hingga 10 ml, digojog hingga homogen dan didiamkan di tempat gelap selama 30 menit. Panjang gelombang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang 400-800 nm.

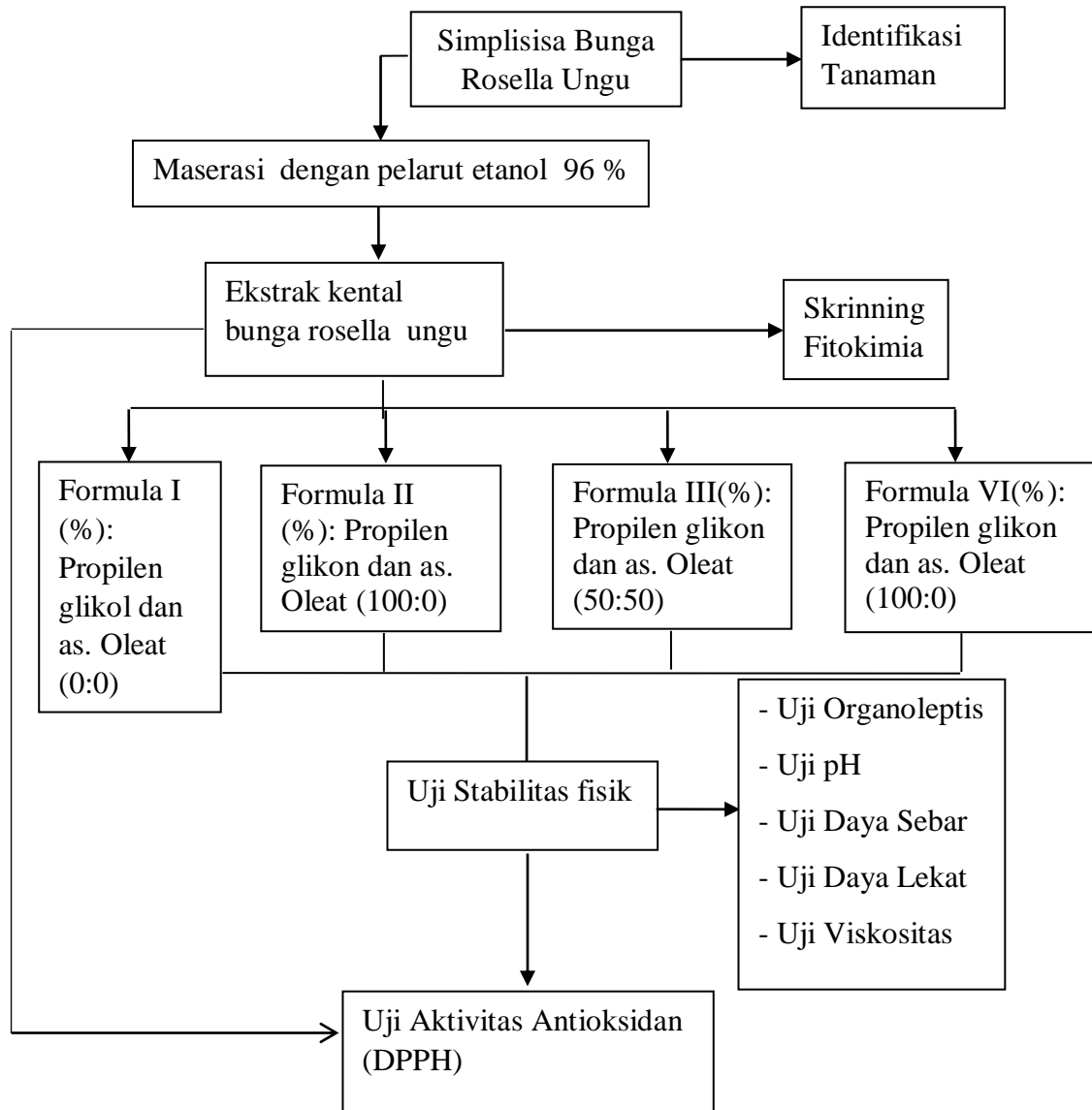
c. Uji Aktivitas Antioksidan.

Sampel yang telah dipreparasi kemudian diambil sebanyak 3 ml dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml. Pada labu ukur ditambahkan larutan DPPH sebanyak 2 ml dan etanol p.a sampai 10 ml. Diamkan di tempat gelap selama 30 menit. Kemudian dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal yang diperoleh yaitu 518 nm. Kemudian dilakukan perhitungan aktivitas antioksidan

menggunakan hasil absorbansi yang didapat, yaitu menggunakan rumus:

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan: } \frac{\text{Abs.kontrol} - \text{Abs.perlakuan}}{\text{Abs.kontrol}} \times 100\%$$

F. SKEMA LANGKAH KERJA



G. ANALISIS DATA

Hasil yang diperoleh dari uji stabilitas fisik berupa data deskriptif dan kuantitatif. Data deskriptif diperoleh dari hasil uji organoleptis dan homogenitas. Data kuantitatif diperoleh dari hasil uji daya sebar, daya lekat, pengukuran pH, dan aktivitas antioksidan. Hasil data yang diperoleh dari uji aktivitas antioksidan dianalisis secara statistik menggunakan SPSS yang meliputi uji normalitas, uji homogenitas, dan uji parametrik (Kruskal Wallis) (Andriani 2016).