

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental.

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

##### 1. Tempat

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

##### 2. Waktu

Penelitian ini dilaksanakan selama 5 bulan dan dimulai pada bulan November 2018.

#### **C. Variabel dan Definisi Operasional**

##### 1. Variabel

- a. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi *enhancer* propilen glikol dan asam oleat.
- b. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kualitas fisik sediaan *lotion* berupa organoleptis (warna, bau dan bentuk sediaan), pH, homogenitas, daya lekat, daya sebar, serta aktivitas antioksidan.

##### 2. Definisi Operasional

- a. Konsentrasi propilen glikol dan asam oleat dibedakan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap sifat dan stabilitas fisik serta aktivitas antioksidan *lotion*.

- b. Kualitas fisik sediaan *lotion* dilakukan sesaat setelah pembuatan sediaan *lotion* untuk mendapatkan sediaan terbaik dengan uji organoleptis (warna, bau, dan bentuk sediaan), pH, homogenitas, daya lekat, dan daya sebar, serta dilakukan uji aktivitas antioksidan.
- c. Uji organoleptis merupakan pengamatan makroskopis meliputi, warna, bau, dan bentuk sediaan.
- d. Uji pH dilakukan menggunakan pH meter untuk mengetahui cocok tidaknya *lotion* pada kulit.
- e. Uji homogenitas dilakukan untuk mengamati sebaran partikel dengan tekstur yang rata.
- f. Uji daya lekat dilakukan untuk mengetahui seberapa lama waktu yang dibutuhkan *lotion* untuk melekat pada kulit.
- g. Uji daya sebar digunakan untuk mengetahui kemampuan penyebaran *lotion* pada kulit sehingga nyaman atau tidak saat digunakan.
- h. Uji aktivitas antioksidan digunakan untuk mengetahui sediaan *lotion* memiliki efek sebagai antioksidan atau tidak.

#### **D. Instrumen Penelitian**

##### **1. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *stopwatch*, stamper, mortir, cawan penguap, gelas ukur (*Pyrex*<sup>®</sup>), sendok tanduk, pipet tetes, sudip, timbangan analitik (*Mettler Toledo*<sup>®</sup>), spektrofotomer UV-Vis (*Jasco V-730*),

kertas perkamen, serbet, wadah, batang pengaduk, *rotary evaporator (Ika®)*, *waterbath (Memmerth)*, pH meter (*Mettler Toledo®*) dan sentrifuge (*Hettich*)

## 2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu simplisia bunga rosella ungu (*Hibiscus Sabdariffa L.*) yang di dapat dari Herbal Anugerah Alam, asam stearate, TEA (Trietanolamin), setil alkohol, lanolin, gliserin, nipagin, nipasol, propilen glikol, asam oleat, etanol, dan aquadest.

## E. Cara Kerja

### 1. Identifikasi tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Ahmad Dahlan.

### 2. Ekstraksi bunga rosella ungu (*Hibiscus Sabdariffa L.*)

Sebanyak 1 kg simplisia halus bunga rosella ungu diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 5 L. Maserasi dilakukan selama 24 jam dengan dilakukan beberapa kali pengadukan. Untuk mempermudah proses penyaringan terlebih dahulu disaring menggunakan kain flannel kemudian disaring menggunakan kertas saring sehingga diperoleh maserat yang diinginkan. Simplisia yang sudah disaring dilakukan remaserasi sebanyak dua kali setiap 24 jam sekali. Setelah itu maseratnya dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kental etanol kemudian ditimbang beratnya (Putri et al., 2015)

### 3. Analisis Skrining Fitokimia

#### a. Identifikasi Alkaloid

Identifikasi alkaloid dilakukan menggunakan pereaksi Mayer, dan Dragendroff. Sampel sebanyak 0,5 gram ekstrak etanol bunga rosella ungu ditambah dengan 10 mL kloroform dan 5 tetes  $\text{NH}_4\text{OH}$ , maka akan terbentuk 2 lapisan. Lapisan asam diteteskan pada druple plat kemudian masing-masing ditambah dengan pereaksi mayer dan dragendroff. Hasil positif jika terbentuk endapan putih pada pereaksi mayer dan endapan merah bata pada pereaksi dragendroff.

#### b. Identifikasi Flavonoid

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan menimbang ekstrak sebanyak 0,5 gram melarutkan ekstrak etanol bunga rosella ungu kedalam methanol panas kemudian ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat. Apabila timbul warna merah, kuning, atau jingga maka hasilnya positif terdapat flavonoid (Setyowati, Ariani, et al., 2014).

#### c. Identifikasi Tanin

Identifikasi tanin dilakukan dengan melarutkan ekstrak sebanyak 0,5 gram dalam 10 mL aquadest panas, kemudian didihkan selama 10 menit dan disaring. Filtrat ditambahkan  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil positif apabila timbul warna hijau kehitaman.

d. Identifikasi Saponin

Identifikasi saponin dilakukan dengan melarutkan ekstrak sebanyak 0,5 gram dalam 10 mL aquadest panas. Didihkan selama 10 menit dan saring ekstrak. Filtrat diambil 10 mL kemudian dikocok selama 10 detik.

Hasil positif ditandai dengan terbentuknya busa yang tidak mudah hilang.

4. Pembuatan *Lotion* Ekstrak Etanol Bunga Rosella Ungu (*Hibiscus Sabdariffa L.*)

a. Pembuatan Formula Sediaan *Lotion*

1. Alat dan bahan yang digunakan dalam formulasi sediaan *lotion* disiapkan.
2. Ditimbang semua bahan yang dibutuhkan.
3. Mortir dan stamper dipanaskan diatas *waterbath* atau penangas air.
4. Semua bahan fase minyak (asam stearat, setil alkohol, lanolin, propil paraben, dan asam oleat) dimasukkan kedalam wadah kemudian dipanaskan pada suhu 70°C diatas *waterbath*.
5. Bahan fase air (gliserin, metil paraben, dan propilen glikol) dimasukkan kedalam wadah yang terpisah dengan fase minyak, kemudian dipanaskan pada suhu 70°C diatas *waterbath*.
6. Setelah semua fase terlarut, fase minyak dimasukkan kedalam mortir kemudian dicampur dengan fase air sambil dilakukan pengadukan hingga homogen. Kemudian ditambahkan TEA dan aquadest secara

perlahan sambil dilakukan pengadukan secara konstan hingga membentuk emulsi.

7. Campuran tersebut ditambah dengan ekstrak etanol bunga rosella ungu (zat aktif). Sediaan *lotion* dimasukkan kedalam wadah.

b. Penyusunan formula sediaan *lotion*

Sediaan *lotion* mengacu pada formula berikut :

Tabel 4. Formula sediaan *lotion*

Bahan	Formulasi (%)			
	F I	F II	F III	F IV
Ekstrak etanol bunga rosella ungu ( <i>Hibiscus Sabdariffa L.</i> )	2,5	2,5	2,5	2,5
Asam stearate	8	8	8	8
TEA (Triethanolamine)	2	2	2	2
Setil Alkohol	1	1	1	1
Lanolin	1	1	1	1
Gliserin	10	10	10	10
Metil Paraben	0,02	0,02	0,02	0,02
Propil Paraben	0,18	0,18	0,18	0,18
Propilen Glikol	0	0	5	10
Asam Oleat	0	10	5	0
Etanol	qs	qs	qs	qs
Aquadest	Ad	Ad	Ad	Ad
	100	100	100	100

## 5. Evaluasi Sediaan *Lotion*

### a. Uji organoleptis

Dilakukan secara visual dengan panca indera dan tanpa menggunakan alat bantu dengan cara mengamati bentuk, bau, dan warna.

### b. Pemeriksaan Homogenitas Sediaan

Dilakukan dengan cara mengoleskan *lotion* pada kaca atau bahan transparan lain yang cocok dan harus menunjukkan homogen. Jika tidak terdapat butiran pada kaca tersebut maka bisa dikatakan homogen (Tranggono *et al*, 2007)

### c. Uji pH

Dilakukan dengan cara menggunakan pH meter. Sebelum digunakan untuk menguji pH, terlebih dahulu pH meter dinetralkan menggunakan aquadest. Setelah itu elektroda pH meter dicelupkan kedalam sediaan *lotion* yang sudah dimasukkan kedalam wadah. Syarat pH kulit yaitu 4,5 - 7,5 karena mengacu pada keamanan penggunaan *lotion* agar tidak mengiritasi kulit (Adliani, 2012).

### d. Uji Daya Sebar

Sebanyak 0,5 gram sediaan *lotion* diletakkan diatas kaca transparan kemudian ditutup dengan kaca transparan yang lainnya. Dibiarkan selama 60 detik, hitung diameter sediaan. Kemudian diberi beban mulai dari 50 gram, 100 gram, 250 gram dan 500 gram dan dibiarkan selama 60 detik,

pertambahan luas yang diberikan oleh sediaan dihitung. Sediaan *lotion* yang memiliki nilai daya sebar yang baik berkisar antara 5-7 cm.

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. Alat uji diberi beban 80 gram kemudian dicatat waktu pelepasan *lotion* dari *object glass* (Miranti, 2009).

6. Uji Antioksidan

a. Preparasi Sampel Uji Antioksidan

*Lotion* ekstrak etanol bunga rosella ungu ditimbang 2,5 gram kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan methanol 5 ml p.a kemudian tabung ditutup menggunakan aluminium foil. Tabung digojog hingga larutan homogen. Larutan dipisahkan dengan cara disentrifuge selama 10 menit. Filtrat disaring hingga jernih.

b. Pembuatan Laruran DPPH dan Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

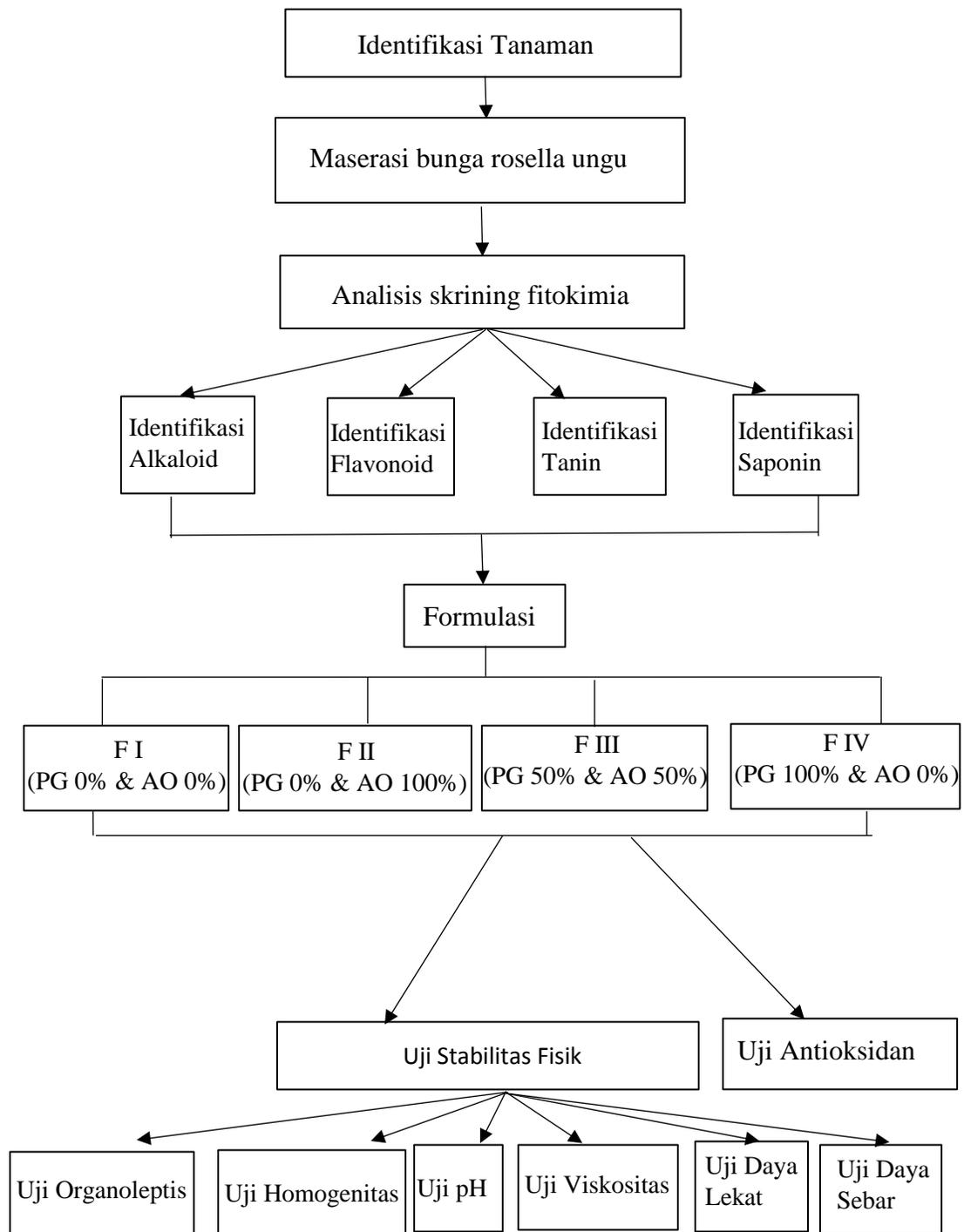
Ditimbang DPPH sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dalam 100 ml methanol p.a (larutan stok). Larutan DPPH diambil sebanyak 5 ml kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml dan ditambah methanol pa sampai 10 ml. digojog hingga homogen kemudian

didiamkan ditempat gelap selama 30 menit. Panjang gelombang diukur antara 400 nm - 800 nm.

c. Uji Aktivitas Antioksidan

Sampel yang sudah dipreparasi diambil 3 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml. Ditambahkan larutan DPPH sebanyak 2 ml dan methanol p.a sampai 10 ml. Diamkan selama 30 menit di tempat gelap. Setelah *operating time*, dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu 515 nm. Aktivitas antioksidan dapat diukur melalui rumus perhitungan % inhibisi (% aktivitas hambatan).

## F. Skema Langkah Kerja



## G. Analisis Data

Hasil dari formula yang didapat dari pengujian kualitas fisik berupa organoleptis (warna, bau dan bentuk sediaan), pH, homogenitas, daya lekat, dan daya sebar disajikan dalam bentuk tabel. Data yang didapat setelah uji antioksidan akan dihitung % inhibisinya, kemudian akan dilakukan analisis secara statistik. Analisis secara statistik menggunakan metode *one-way ANOVA* apabila tidak memenuhi persyaratan maka akan dilakukan analisis menggunakan *Kruskall-Walis* dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.