

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini dengan judul “Uji Fisik Dan Uji Iritasi Basis Formulasi Masker Gel *Peel-off* Lendir Bekicot (*Achatina fulica*) Menggunakan Variasi Penambahan Madu” merupakan jenis penelitian eksperimental dengan menggunakan formula dasar yang sudah dioptimasi dari hasil penelitian sebelumnya.

Dari satu formula yang telah diteliti pada penelitian sebelumnya akan dilakukan bentuk variasi terhadap formulasi yang ada berupa penambahan madu. Pada uji ini digunakan penambahan konsentrasi madu yaitu sebesar 6%. Uji sifat fisik yang dilakukan meliputi uji organoleptis, pemeriksaan pH, viskositas, daya sebar, kecepatan mengering, dan daya lekat. Adapun uji lain yang dilakukan yaitu uji aktivitas pelembab kulit dan uji iritasi pada hewan uji.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di tiga tempat yaitu,

1. Laboratorium Teknologi Farmasi gedung G2 lantai 2, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
2. Laboratorium Taksonomi Hewan Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada.
3. Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia dimulai pada bulan Januari-Mei 2019.

C. Identifikasi Variabel dan Devinisi Operasional

1. Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

Basis CMC-Na dan PVA, Madu.

b. Variabel Terikat

1) Uji sifat fisik meliputi : Organoleptis, pH, Viskositas, Kecepatan Meringing, Daya Sebar, Daya Lekat

2) Uji Aktivitas Pelembab Kulit

3) Derajat Iritasi pada Hewan Uji.

c. Variabel Terkendali

Metode, alat yang digunakan, metil paraben, propil paraben, dan cara pembuatan masker gel *peel-off* lendir bekicot.

2. Definisi Operasional

a. Pengamatan Organoleptik adalah pengamatan yang didasarkan pada suatu proses pengindraan untuk mengamati tekstur, warna, bentuk, aroma, dan rasa suatu produk untuk mengetahui apakah suatu komoditi atau sifat sensorik tertentu dapat diterima oleh masyarakat (Lailiyana, 2012). Uji yang dilakukan untuk mengamati sifat fisik dari sediaan yaitu warna, aroma, homogenitas, dan konsistensi sediaan.

b. Tingkat asam atau basa pada umumnya dinyatakan sebagai nilai pH dan dapat diukur dengan pH meter (Bleam, 2017).

Pengujian pH dilakukan untuk mengetahui sifat asam-basa dari sediaan gel yang dihasilkan sesuai dengan pH kulit.

- c. Pengujian viskositas bertujuan untuk menentukan nilai kekentalan suatu zat. Semakin tinggi nilai viskositasnya maka semakin tinggi tingkat kekentalan zat tersebut (Martin *et al.*, 1993).
- d. Kecepatan mengering merupakan suatu uji untuk mengetahui waktu yang diperlukan sediaan yang dihasilkan hingga mengering (Vieira *et al.*, 2009).
- e. Uji daya sebar adalah uji yang dilakukan untuk mengetahui seberapa luas kemampuan menyebar sediaan gel yang telah dihasilkan dan akan menjamin pelepasan bahan obat yang memuaskan (Voigt, 1994).
- f. Daya lekat gel dilakukan untuk mengetahui ikatan antara gel dengan kulit. Semakin tinggi daya lekat gel menunjukkan semakin kuatnya ikatan antara gel dengan kulit sehingga memungkinkan absorpsi obat yang lebih tinggi oleh kulit. Sebaliknya jika ikatan antara gel dengan kulit kurang optimal obat akan mudah terhapus dari kulit. Daya lekat sediaan yang baik adalah tidak kurang dari 4 detik (Nevi, 2006).
- g. Aktivitas pelembab kulit adalah uji yang dilakukan untuk mengetahui seberapa besar presentase sediaan gel yang telah

dihasilkan dapat mempengaruhi kenaikan kelembaban kulit (Aghnia dkk, 2015).

- h. Uji iritasi dilakukan untuk mengetahui potensi iritasi pada kulit setelah diberikan sediaan gel, sehingga dapat diketahui sediaan yang dihasilkan memenuhi syarat keamanan derajat iritasi kulit (Rosida dkk, 2018).

D. Instrumen Penelitian

1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan adalah Kertas label, kertas perkamen, timbangan digital (Mettler Tolendo®), alat-alat gelas (Iwake pyrex®), handscoon, masker, toples yang tutupnya dilubangi, spatula, mortir, alu, lempeng kaca, pot salep, viskometer (VT-04 E), stik pH meter universal, alat cukur, *hypafix*.

2. Bahan Penelitian

Penelitian ini menggunakan bahan yaitu Lendir bekicot (*Achatina fulica*), PVA (Brataco®), CMC-Na (Brataco®), Propil paraben (Brataco®), Metil paraben (Brataco®), Propilenglikol (Brataco®), Madu, Aquadest (Brataco®), Sodium Lauril Sulfat (Brataco®).

E. Cara Kerja

1. Pengumpulan & Identifikasi Sampel

Sampel bekicot yang digunakan berasal dari daerah Tlogo, Ambarketawang, Yogyakarta. Bekicot yang dikumpulkan kemudian dideterminasi untuk memastikan bekicot yang digunakan

adalah jenis bekicot *Achatina fulica*. Determinasi bekicot dilakukan di Laboratorium Taksonomi Hewan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.

2. Penyiapan Sampel (Lendir Bekicot)

Penyiapan dilakukan dengan cara metode manual, hewan bekicot dibersihkan terlebih dahulu sebelum diambil lendirnya, kemudian merangsang badan bekicot yang telah dibersihkan dengan cara mengutik lembut badan bekicot menggunakan spatula agar lendir dapat keluar secara alami. Kemudian lendir bekicot ditampung pada wadah yang bersih lalu ditutup rapat (Pamungkas dkk, 2018).

3. Formulasi Masker Gel *Peel-off*

Pada penelitian ini, formula yang dipakai adalah formula optimum modifikasi formula produk masker gel *peel-off* (Ramadhani dkk, 2018).

Tabel 2. Formula Penelitian

Bahan	Konsentrasi					Keterangan
	Basis F1	Basis F2	F1	F2	F3	
lendir bekicot	-	-	9%	9 %	9 %	Zat aktif
Madu	-	-	-	-	6%	Zat Aktif
PVA	14,50 %	15%	14,50 %	15 %	15 %	Basis, <i>gelling agent</i>
CMC-Na	5,25%	5%	5,25%	5 %	5%	Basis, Pengental
Metil paraben	0,2%	0,2 %	0,2%	0,2 %	0,2 %	Pengawet
Propil paraben	0,1 %	0,1 %	0,1 %	0,1%	0,1 %	Pengawet
Propilenglikol	12 %	12 %	12 %	12 %	12 %	Humektan
Aquades add	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	Pelarut

Keterangan:

- FI : formula optimasi I
- FII : formula optimasi II (formula acuan variasi madu)
- FIII : formula II dengan penambahan madu (formula variasi)

Pembuatan formulasi dimulai dengan mengembangkan basis CMC-Na terlebih dahulu dengan cara menambahkan aquades panas suhu 100°C pada basis CMC-Na yang diletakan pada gelas beaker, aduk homogen serta didiamkan selama 24 jam. Untuk mengembangkan basis PVA dilakukan dengan menambahkan aquadest mendidih (minimal 80°C) kemudian diaduk di atas *waterbath* (suhu 100°C). Kemudian, metil paraben dan propil paraben dicampurkan ke dalam wadah propilglkohol pada wadah yang berbeda, sebelumnya untuk formula variasi madu dengan lendir bekicot dicampur dalam wadah terpisah untuk melihat kehomogenannya selanjutnya campurkan CMC-Na, PVA, dan propilenglikol yang di dalamnya terdapat metil paraben serta propil paraben sebagai pengawet, serta campuran lendir bekicot dan madu, aduk homogen dan terakhir aquadest ad 100 mL.

4. Evaluasi Sediaan Masker Gel *Peel-Off*

Evaluasi untuk penelitian ini berupa pengamatan secara organoleptis, kemudian dilakukan uji daya sebar, waktu mengering, viskositas, pH, daya lekat, aktivitas pelembab kulit dan uji iritasi pada hewan uji.

a. Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan cara pengamatan langsung menggunakan panca indra tanpa bantuan alat bantu.

Untuk yang diamati berupa warna, bau, homogenitas, dan konsistensi sediaan (Septiani dkk, 2012).

b. Uji Daya Sebar

Uji ini dilakukan dengan cara gel ditimbang 0,5 gram diletakan pada kaca arloji secara hati-hati. Di atas kaca arloji yang terisi gel ditimpa kaca arloji lain selama 1 menit, replikasi 3 kali dan hitung daya diameter sebaranya, kemudian di tambah pemberat 50 gram, 100 gram, 250 gram didiamkan lagi selama 1 menit, lalu dicatat dan dihitung pertambahan luas yang diberikan oleh sediaan, dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Syarat daya sebar gel adalah 5-7 cm (Garg *et al*, 2002).

c. Waktu Mengering

Uji ini dilakukan dengan cara mengamati lama waktu gel mengering sampai terbentuk lapisan yang kering dengan cara mengoleskan sediaan gel di atas kaca transparan guna mempermudah peneliti dalam mengamati (Vieira *et al*, 2009). Waktu pengeringan menjadi sangat penting untuk diketahui karena formulasi dengan waktu pengeringan yang cepat akan memungkinkan proses pengelupasan yang cepat pula.

d. Viskositas

Uji gel dengan alat viskometer dengan cara menempatkan gel dalam alat viskometer Brookfield DV-E hingga spindel terendam. Diatur spindel 64 dan kecepatan rpm 50 yang

digunakan. Setelah dihidupkan alat viskometer tersebut secara otomatis, kemudian setelah stabil viskositas yang diinginkan dapat dibaca pada skala yang digunakan (Septiani dkk, 2012). Kemudian, lakukan replikasi sebanyak 3x.

e. Uji pH

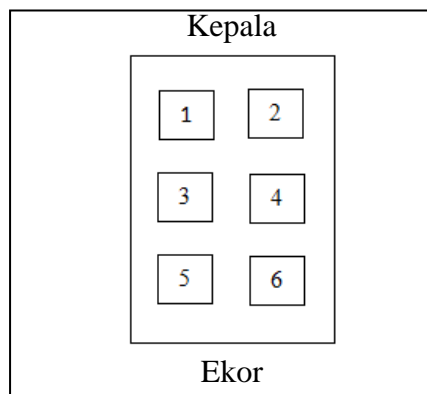
Pengukuran pada uji ini dilakukan menggunakan pH meter kertas merk universal dengan cara mencelupkan pH meter kertas pada sediaan gel, kemudian kertas pH meter diamati dan dibandingkan dengan standar skor angka warna pH pada wadah kertas pH. Langkah-langkah ini dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. pH sediaan gel harus sesuai dengan pH kulit yaitu 4,5 - 6,5 (Tranggono, 2007).

f. Daya Lekat

Letakan gel diatas kaca transparan dengan cara dioles pada area 2x2 cm, kemudian letakan kaca lain pada area tersebut namun sedikit bergeser, kemudian ditimpa beban 1 kg selama 5 menit , rangkai alat uji setelah itu lepaskan beban 80 gram, yang ditung adalah waktu dari mulai beban dilepaskan sampai rekatan terlepas, lakukan replikasi sebanyak 3 kali. Syarat daya lekat untuk sediaan gel adalah uji daya lekat tidak boleh kurang dari 4 menit (Voigt, 1995).

g. Uji Iritasi

Uji ini dilakukan secara *in vivo* menggunakan metode Draize pada dua ekor kelinci albino jantan yang telah dewasa berumur 8-12 bulan dengan bobot 1,5-2 kg. Bagian tubuh kelinci yang digunakan adalah bagian punggung yang telah dicukur bulunya dengan luas area 1x1 inci menggunakan alat pencukur sehingga didapatkan kulit yang halus bebas rambut. Adapun pembagian perlakuan setiap kotak di bagian punggung kelinci dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Skema Lokasi Pemaparan Sediaan Uji (BPOM,2014)

Keterangan :

- 1 = Formula FI
- 2 = Basis
- 3 = Formula FII
- 4 = SLS (Sodium Lauril Sulfat)
- 5 = Formula FIII
- 6 = Tidak menerima perlakuan apapun

Pencukuran dilakukan sedemikian rupa sehingga tidak melukai hewan uji. Masing-masing area dibatasi oleh bulu kelinci yang tidak dicukur dan berbatas jelas. Pengelompokkan hewan yaitu dengan cara setiap hewan uji mendapat perlakuan

yang sama. Jumlah hewan uji yang digunakan adalah 2 ekor kelinci dengan rincian 1 ekor 6 perlakuan.

Setelah pencukuran, dilanjutkan dengan pemberian sediaan pada kulit hewan uji. Perlakuan ke hewan uji dilakukan pada jam ke-24 setelah dilakukannya pencukuran bulu pada punggung hewan. Perlakuan diberikan kepada hewan uji pada waktu 24, 48, dan 72 jam setelah pemberian bahan uji, area uji diperiksa dan diamati perubahannya sebagai reaksi kulit terhadap bahan uji, kemudian dinilai dengan memberi skor 0-4 sesuai dengan tingkat keparahan reaksi kulit yang telah diamati (Draize, 1959).

Pemberian sediaan gel dengan cara mengoleskan gel sebanyak 0,5 mL kemudian ditutup dengan kain kasa steril, ditutup lagi dengan hypafix, dan diberi plester. Kemudian hewan uji dikembalikan ke kandangnya. Perlakuan ke hewan uji dilakukan 24 jam setelah dilakukannya pencukuran bulu pada punggung hewan. Pengamatan iritasi dilakukan pada jam ke 24, 48, dan 72 jam setelah pemberian bahan uji, area uji diperiksa dan diamati perubahannya sebagai reaksi kulit terhadap bahan uji, kemudian dinilai dengan memberi skor 0-4 sesuai dengan tingkat keparahan reaksi kulit yang telah diamati (Draize, 1959).

SLS (Sodium Lauril Sulfat) adalah surfaktan anionik yang dapat menyebabkan iritasi. Bahan ini digunakan sebagai pembanding untuk melihat derajat iritasi yang timbul. SLS dalam rentang 0,5-10% mengakibatkan iritasi ringan, dan pengaplikasian SLS sebagai bahan tambahan dalam pembuatan sediaan seharusnya tidak lebih dari 1% (Robinson dkk, 2002). Untuk mengetahui indeks derajat iritasi yang timbul pada hewan uji, dilakukan skoring berdasarkan OECD seperti pada Tabel 3. Masing-masing sediaan uji di hitung jumlah dari indeks eritema dan indeks edema kemudian dihitung indeks iritasi sesuai pada Gambar 5.

Tabel 3. Penilaian reaksi pada kulit (OECD,2002)

Reaksi Kulit	Skor
Tanpa eritema.....	0
Sangat sedikit eritema (hampir tidak terlihat).....	1
Eritema tepi berbatas jelas.....	2
Eritema sedang sampai berat.....	3
Eritema berat (merah) sampai sedikit membentuk kerak.....	4
Reaksi Kulit	Skor
Tanpa edema.....	0
Sangat sedikit edema (hampir tak dapat dibedakan).....	1
Edema tepi berbatas jelas.....	2
Edema sedang (tepi naik sekitar 1 mm).....	3
Edema berat (tepi naik lebih dari 1 mm dan meluas keluar daerah area pemaparan sediaan uji).....	4

$\frac{\text{Jumlah eritema 24/48/72 jam} + \text{jumlah edema 24,48,72 jam}}{\text{Jumlah Kelinci}}$

Gambar 5. Perhitungan Indeks Iritasi Primer (Lu,1995)

Derajat iritasi diperoleh dengan cara membandingkan indeks iritasi yang diperoleh dengan kategori respon iritasi sesuai dengan Tabel 4.

Tabel 4. Katagori Respon Iritasi pada Kelinci (BPOM,2014)

Katagori respon	Skor Indeks Iritasi
Tidak mengiritasi	0,00
Hampir tidak mengiritasi	0,04-0,99
Sedikit mengiritasi	1,00-1,99
Iritasi ringan	2,00-2,99
Iritasi sedang	3,00-5,99
Iritasi parah	6,00-8,00

h. Aktivitas Pelembab Kulit

Uji kelembaban ini menggunakan *skin detector* RoHs model 56-5D kepada 5 responden yang termasuk ke dalam kriteria inklusi. Penelitian ini dilakukan pada responden dengan kriteria yaitu :

1. Kriteria Inklusi : -Wanita atau Pria dengan usia 18-22 tahun
 -Memiliki kondisi kulit kering
 -Memiliki nilai kelembaban kulit <25%.
2. Kriteria Eksklusi : -Sedang melakukan perawatan kulit
 -Memiliki kulit yang sensitif.

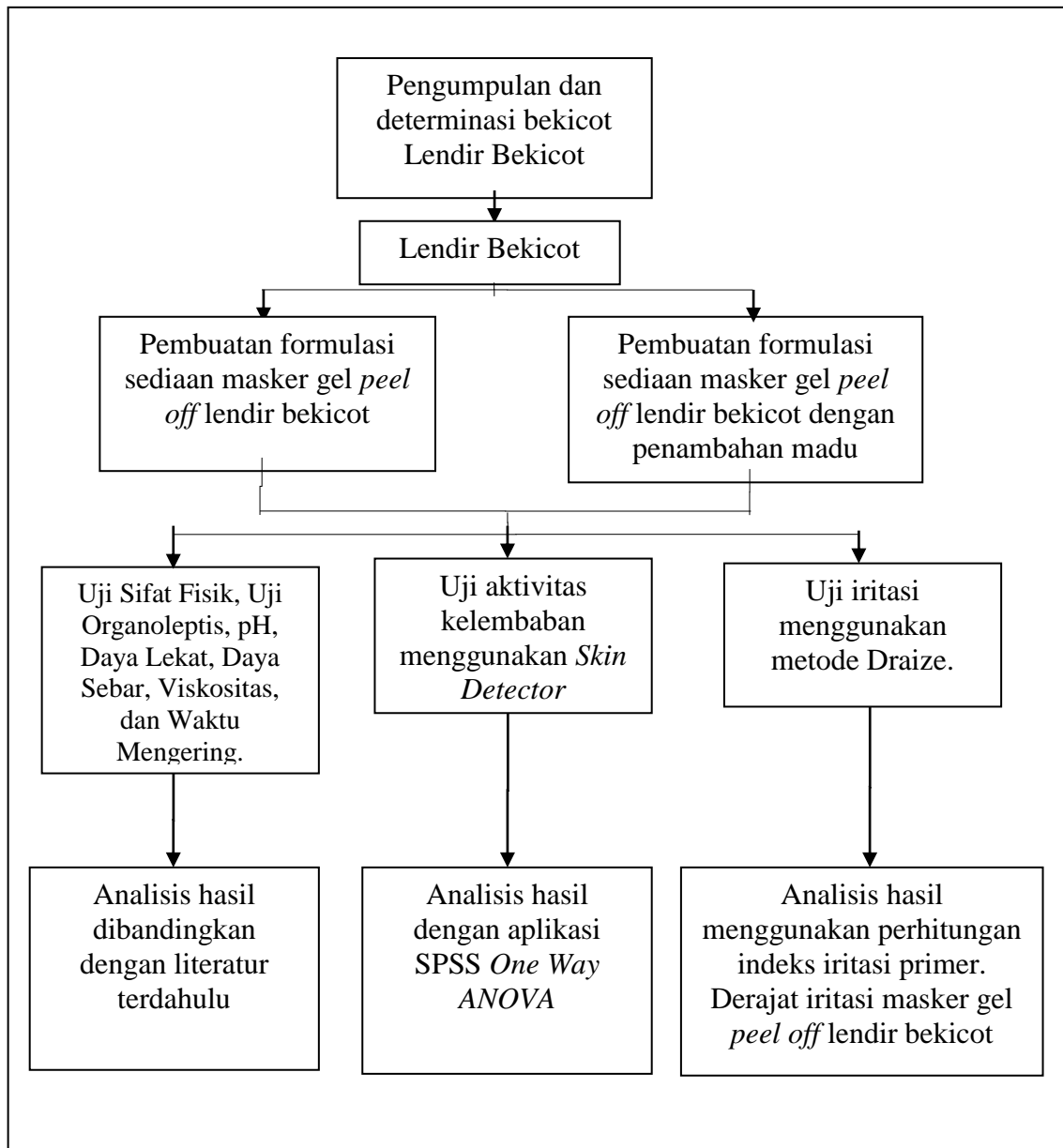
Karakteristik kulit responden diketahui dari hasil pengecekan dengan alat *skin detektor* sebelum dilakukan uji aktivitas pelembab kulit. Langkah awal pengujian ini yaitu diberikannya *inform consent* kepada responden. Kemudian, dilakukan pengecekan dan pencatatan hasil persentase kondisi kulit reponden dengan *skin detector* sebelum diberi gel, setelah diketahui kondisi kulit responden <25% maka dilanjutkan dengan mengoleskan gel pada punggung tangan responden secara merata sebanyak 0,5 mL, gel didiamkan sampai mengering, kemudian setelah mengering gel dilepas dari punggung tangan. Setelah itu, dilakukan pengukuran dan pencatatan persentase tingkat kelembabannya menggunakan alat *skin detector*.

Pengukuran kelembaban kulit responden dilakukan selama tujuh hari dengan jeda waktu dua hari performula. Perlakuan diberikan kepada responden pada hari pertama untuk mengukur persentase kelembaban basis FI dipunggung tangan kiri reponden dan basis FII untuk punggung tangan kanan, hari keempat untuk pengukuran persentase kelembaban FI dipunggung tangan kiri dan FII untuk punggung tangan kanan, dan hari ke ketujuh untuk pengukuran FIII dipunggung tangan kiri responden.

Data yang digunakan adalah data selisih antara data kelembaban sebelum dan sesudah diberikannya gel yang disebut dengan data kenaikan kelembab kulit. Analisis data dilakukan

menggunakan. *software SPSS One Way ANOVA* untuk membandingkan ada atau tidaknya perbedaan kenaikan kelembab kulit yang dihasilkan oleh beberapa formula.

F. Skema Langkah Kerja



G. Analisis Data

Analisis data yang diperoleh berupa analisis data sifat fisik, uji iritasi kulit pada hewan, dan uji kelembaban kulit. Analisis data fisik yang didapatkan akan dibandingkan dengan penelitian terdahulu ataupun literatur untuk melihat apakah masuk dalam rentang yang sesuai atau tidak dengan kriteria gel yang diinginkan. Data sifat fisik meliputi organoleptik, pemeriksaan pH, daya lekat, daya sebar, viskositas, dan kecepatan mengering.

Analisis aktivitas pelembab kulit dilakukan menggunakan SPSS 25, untuk membandingkan antar formula, digunakan analisis data perbedaan kelembaban formula basis FI, basis FII, FI, FII, dan FIII menggunakan metode uji *One way ANOVA* jika data dinyatakan data terdistribusi normal. Analisis uji iritasi yang dilakukan dengan perhitungan indeks iritasi primer yang hasilnya akan dibandingkan dengan skor derajat iritasi sehingga diketahui derajat iritasi dari formulasi masker gel *peel-off*.