

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental. Desain penelitian yang digunakan menggunakan desain eksperimental dengan menguji 3 formula *body scrub* ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) yang sudah diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% kemudian dibuat sediaan *body scrub* dengan berbagai variasi konsentrasi, sediaan *body scrub* di uji mutu fisik dan aktivitas antioksidannya. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi dan Fitokimia Program Studi S1 Farmasi Universitas Ngudi Waluyo Ungaran.

#### **B. Lokasi Penelitian**

##### 1. Lokasi Penelitian

- a. Pembuatan ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) dilakukan di Laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.
- b. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro (UNDIP) untuk mengetahui kebenaran buah parijoto (*Medinilla speciosa*).
- c. Pembuatan krim *body scrub* ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.

### C. Subyek Penelitian

#### 1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah seluruh bagian buah parijoto (*Medinilla speciosa*).

#### 2. Sampel

Sampel buah parijoto (*Medinilla speciosa*) diperoleh dari Bandungan, Kabupaten Semarang. Sampel buah parijoto (*Medinilla speciosa*) selanjutnya diformulasikan menjadi sediaan *body scrub*.

### D. Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini yaitu:

1. Buah parijoto (*Medinilla speciosa*) yang menjadi sampel diperoleh dari daerah Bandungan, Jawa Tengah, Kab. Semarang.
2. Konsentrasi buah parijoto (*Medinilla speciosa*) yang digunakan adalah 1%, 2%, dan 3%.
3. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan penyari etanol 96% dengan metode maserasi selama 5 hari.
4. Metode DPPH digunakan sebagai metode untuk menguji aktivitas antioksidan ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) dan sediaan *body scrub* ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*).
5. Pengujian yang dilakukan pada sediaan *body scrub* meliputi uji organoleptis, pH, daya sebar, viskositas, dan tipe emulsi serta aktivitas antioksidan.

## E. Variabel Penelitian

### 1. Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang menyebabkan timbulnya perubahan pada variabel tergantung. Pada penelitian ini variabel bebasnya yaitu konsentrasi ekstrak buah parijoto (*Medinilla Speciosa*) sebesar 1%, 2% dan 3%.

### 2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung adalah variabel yang dipengaruhi akibat dari adanya variabel bebas. Variabel tergantung dalam penelitian ini yaitu mutu fisik sediaan *body scrub* yang meliputi uji organoleptis, viskositas, pH, daya sebar dan tipe emulsi serta aktivitas antioksidan yang menggunakan parameter  $IC_{50}$  yaitu konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menangkap radikal DPPH sebanyak 50%.

### 3. Variabel Terkendali

Variabel terkendali adalah variabel yang perlu dikendalikan untuk menetralkan pengaruhnya. Variabel terkendali dalam penelitian ini yaitu alat, bahan, suhu pada saat penguapan, kondisi kelembaban laboratorium, kecepatan dan lama pengadukan.

## F. Pengumpulan Data

### 1. Alat dan Bahan

#### a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, blender, toples kaca, penyaring, *rotary evaporator*, *waterbath*, timbangan analitik, ayakan no 12, spektrofotometer UV-Vis, *glass beaker*, batang pengaduk, labu ukur, mikro pipet, tabung reaksi, cawan porselen, mortir, stamper, satu set alat uji daya sebar, viskometer *brookfield*, *spindle* nomor 64, pH meter, gelas objek.

#### b. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah buah parijoto (*Medinilla speciosa*) yang diperoleh dari daerah Bandungan, Jawa Tengah, Kab. Semarang, asam stearat, propilen glikol, setil alkohol, metil paraben (nipagin), propil paraben (nipasol), trietanolamin, beras ketan hitam, aquades, vanilla, metilen biru, etanol 96%.

### 2. Prosedur Penelitian

#### a. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman parijoto (*Medinilla speciosa*) dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro (UNDIP) dengan tujuan untuk mengetahui keaslian dari buah parijoto (*Medinilla speciosa*) sehingga bahan tidak tercampur dengan tanaman lain saat pengumpulan bahan.

b. Penyiapan Bahan

Buah parijoto (*Medinilla speciosa*) yang dihasilkan langkah pertama di sortasi basah terlebih dahulu untuk memisahkan antara buah dan ranting, memilah kotoran-kotoran dan bahan asing sehingga dapat mengurangi jumlah kotoran yang masuk dalam bahan uji. Buah parijoto (*Medinilla speciosa*) dicuci dengan air mengalir. Selanjutnya buah parijoto (*Medinilla speciosa*) yang sudah dicuci bersih dijemur dibawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam. Tujuan ditutup dengan kain hitam yaitu untuk meminimalkan cahaya matahari yang masuk sehingga zat aktif tidak rusak. Setelah itu simplisia dilakukan penghalusan menggunakan blender (Wijaya & Noviana, 2022)

c. Pembuatan Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*)

Pembuatan ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 400 gram serbuk buah parijoto (*Medinilla speciosa*) dimasukkan ke dalam toples kaca. Serbuk ditambah etanol 96% dengan perbandingan (1:7,5) sebanyak 3L (1,75 L untuk maserasi dan 1,25 untuk remaserasi). Serbuk dimaserasi selama 3 hari dan diaduk sehari sekali. Setelah 3 hari direndam kemudian diserkai untuk memisahkan antara ampas dan filtrat, filtrat yang diperoleh ditampung dalam wadah. Ampas hasil filtrasi direndam dengan cara direndam ulang menggunakan 1,25 L etanol 96%. Perendaman dilakukan pengadukan tiap 1 x 24 jam selama 2 hari. Setelah selesai perendaman selama 2 hari, selanjutnya filtrat dipisahkan dari residu dengan cara diperas. Filtrat hasil maserasi 1

dijadikan satu dengan filtrat hasil maserasi 2. Filtrat selanjutnya dievaporasi menggunakan rotary evaporator dengan suhu 50°C hingga menghasilkan ekstrak cair. Penguapan dilanjutkan dengan *watterbath* pada suhu 50°C sampai didapatkan ekstrak kental (Luqman H, 2021). Ekstrak kental yang didapatkan dihitung rendemennya menggunakan rumus (Afianti, 2015):

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang didapat}}{\text{Berat serbuk simplisia yang di ekstrak}} \times 100\%$$

Metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dilakukan untuk mendapatkan ekstrak buah Parijoto (*Medinilla speciosa*). Keuntungan menggunakan metode maserasi karena tidak membutuhkan alat-alat yang rumit karena prosesnya sederhana. Senyawa metabolit yang terkandung dalam buah parijoto (*Medinilla speciosa*) agar tersari sempurna (senyawa polar maupun nonpolar) maka dipilih menggunakan pelarut etanol 96% karena merupakan pelarut universal. Dibandingkan dengan pelarut organik lainnya keuntungan pelarut etanol 96% yaitu tidak beracun dan lebih cepat menguap. Hal ini disebabkan karena pelarut etanol 96% mempunyai titik lebur yang lebih rendah daripada air (Saifuddin *et al.*, 2011). Hasil penelitian (Farida *et al.*, 2021), metode maserasi ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) etanol 96% dilakukan selama 5 hari 3 hari proses maserasi dan 2 hari proses remaserasi. Hasil rendemen didapatkan sebesar 18,50%

dengan berat serbuk 300 gram dan berat ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) sebesar 190,2 gram.

d. Uji Flavonoid Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*)

Pengujian dilakukan dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 0,5 gram kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL etanol (Schott & Metode, 2022). Sebanyak 0,1 g  $MgSO_4$  dan 5 tetes HCl pekat dimasukkan kedalam tabung reaksi. Larutan jika menghasilkan warna kuning, jingga, atau merah maka larutan tersebut mengandung senyawa flavonoid (Nafisah *et al.*, 2014).

e. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*)

1) Pembuatan larutan DPPH

Sebanyak 10 mg DPPH ditimbang lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas, labu ukur dikocok hingga homogen (Mauizatul *et al.*, 2017).

2) Penentuan panjang gelombang maksimum

Sampel diambil sebanyak 1 mL larutan DPPH dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Etanol p.a diambil sebanyak 3 mL kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dihomogenkan. Tabung reaksi di inkubasi selama waktu *operating time* pada suhu 37°C. Menentukan panjang gelombang dengan spektrometri UV-Vis dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400-800 nm (Rahmatullah, 2019).

3) Pembuatan dan pengukuran larutan pembanding vitamin C

Pembuatan larutan vitamin C 100 ppm dilakukan dengan cara menimbang sebanyak 10 mg vitamin C dan dilarutkan dengan etanol 96% dikocok hingga homogen, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Pengenceran larutan vitamin C dari larutan stock dengan deret konsentrasi 2, 4, 6, 8 10 ppm. Mengambil sebanyak 1 mL pada tiap-tiap larutan yang sudah diencerkan kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 4 mL larutan DPPH 100 ppm kocok hingga homogen. Larutan diinkubasi selama 30 menit. Dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometri UV-Vis (Indrawati et al., 2022).

4) Penentuan aktivitas antioksidan ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*)

Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) dilakukan dengan membuat larutan stock 500 ppm dengan melarutkan 25 mg sampel ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) kedalam labu ukur 50 mL dengan etanol 96%. Langkah selanjutnya membuat deret konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50 ppm. Tiap larutan dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan larutan DPPH sebanyak 4 mL. Larutan diinkubasi selama 20 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis

5) Perhitungan persentase inhibisi dan nilai IC<sub>50</sub>

Nilai IC<sub>50</sub> ditentukan dengan rumus persamaan kuadrat  $y = bx + a$  yang dibentuk dari persentase inhibisi pada setiap konsentrasi. Nilai x dari persamaan tersebut merupakan konsentrasi zat yang diukur dan nilai y adalah serapan sampel yang diukur (Rahmatullah, 2019). Nilai IC<sub>50</sub> dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{A blanko} - \text{A sampel}}{\text{A blanko}} \times 100\%$$

f. Formula *Body Scrub* Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*)

Formula *body scrub* ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) hasil dari modifikasi penelitian (Anisah, 2021) yang dapat dilihat pada tabel 3.1

**Tabel 3. 1 Formula Sediaan *Body Scrub* Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*)**

Sampel	Konsentrasi %				Kegunaan
	F0 (Basis)	F1	F2	F3	
Ekstrak buah parijoto	-	1	2	3	Zat aktif
Asam stearat	14	14	14	14	Emulgator
Propilen glikol	9	9	9	9	Humektan
Setil alkohol	3	3	3	3	Emulgator
Trietanolamin	2	2	2	2	Emulgator
Propil paraben	0,5	0,5	0,5	0,5	Pengawet
Metil paraben	0,3	0,3	0,3	0,3	Pengawet
Beras ketan hitam	10	10	10	10	<i>Scrubbing</i>
Vanilla	1	1	1	1	Pengaroma
Aquades	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	Pelarut

Dasar penentuan konsentrasi ekstrak mengacu pada hasil penelitian (Vivta *et al.*, 2019) menyebutkan bahwa ekstrak buah

parijoto dengan rendemen sebesar 10,03% mendapatkan nilai *Inhibition concentration* (IC<sub>50</sub>) sebesar 19,73 ppm yang artinya memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. Dari hasil IC<sub>50</sub> penelitian (Vivta *et al.*, 2019) kemudian dihitung persentasenya untuk membuat sediaan sebanyak 100 mL.

g. Prosedur pembuatan *Body scrub*

Menyiapkan alat dan bahan kemudian ditimbang sesuai jumlah. Mortir dan stamper dipanaskan dengan air panas. Asam stearat, setil alkohol sebagai fase minyak dileburkan diatas *waterbath* menggunakan cawan porselen, kemudian dimasukkan ke dalam mortir dan ditambahkan propil paraben, diaduk hingga homogen. Selanjutnya membuat fase air, trietanolamin dimasukkan ke dalam mortir, ditambahkan metil paraben yang sudah dilarutkan dengan aquades secukupnya, diaduk hingga homogen. Fase minyak dan air dicampurkan hingga terbentuk krim kemudian ditambah ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) dan diaduk hingga homogen. Granul beras ketan hitam dibuat dengan cara diblender dan diayak menggunakan ayakan no 12. Granul beras ketan hitam sedikit demi sedikit dimasukkan ke dalam mortir selanjutnya ditambahkan aquades. Vanilla sebagai pengaroma ditambahkan dalam mortir, aduk hingga homogen dan dimasukkan dalam wadah, kemudian diuji mutu fisiknya (Anisah, 2021).

h. Evaluasi Sediaan *Body Scrub* Ekstrak Parijoto (*Medinilla Speciosa*)

### 1) Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan cara mengamati sediaan yang meliputi bentuk (padat, cair, semi padat), warna, dan bau (aromatik atau tidak berbau) (Fujiastuti, 2015).

### 2) Uji pH

Pengujian pH pada sediaan menggunakan pH meter. Langkah pertama pH meter dikalibrasi dengan larutan standar netral (pH 7,01) dan larutan dapar asam (pH 4,01). Elektroda kemudian dicuci dengan etanol kemudian dikeringkan dengan tisu. Sampel ditimbang 1 gram dan dilarutkan dalam 100 mL etanol, kemudian elektroda dimasukkan dalam larutan tersebut. pH diamati dengan membiarkan larutan sampai pH konstan dan nilai yang ditunjukkan oleh pengukuran pH adalah pH sediaan. Sediaan *body scrub* yang aman dan tidak mengiritasi kulit dapat ditentukan dengan menguji pH. Sediaan *body scrub* yang baik adalah yang memenuhi standar pH kulit yaitu 4,5-6,5 (Nunik K, 2016).

### 3) Uji Daya Sebar

Sebanyak 0,5 gram sediaan *body scrub* ditimbang dan diletakkan di tengah alat penutup kaca yang telah ditimbang bobotnya dan dibiarkan 1 menit. Kemudian dilakukan penambahan beban seberat 50 gram pada tiap pengukuran. Dibiarkan 1 menit dan diukur diameter sampel. Percobaan dilakukan dengan menambahkan beban 50 gram pada setiap pengukuran hingga

beban mencapai 250 gram. Dibiarkan 1 menit serta diukur diameternya yang tersebar dari 2 sisi (vertikal dan horisontal) (Mudhana & Pujiastuti, 2021). Syarat sediaan topikal yang baik memiliki daya sebar 5 – 7 cm (Wibowo *et al.*, 2017).

#### 4) Uji Viskositas

Pengujian viskositas krim *body scrub* menggunakan viskometer *Brookfield* dengan *spindle* nomor 64. Langkah pertama uji viskositas dengan memasang spindel pada gantungan spindel terlebih dahulu. Sampel yang diuji viskositasnya dimasukkan dalam *beaker glass* 100 mL, kemudian *spindle* diletakkan di tengah *beaker glass* dan dibiarkan sampai tercelup. Selanjutnya menekan tombol “run” sampai muncul hasilnya (Mudhana & Pujiastuti, 2021). Viskositas sediaan krim *body scrub* yang baik berada direntang 2000 – 50.000 cP (Azkiya dkk, 2017).

#### 5) Uji Tipe Emulsi

Cara pengujian tipe emulsi dapat dilakukan dengan dua cara, yang pertama dengan cara pengenceran menggunakan air dan pewarnaan. Cara pengujian tipe emulsi metode pewarnaan dengan mengencerkan 100 mg *body scrub* dengan 10 mL air, kemudian diamati jika *body scrub* dapat bercampur dengan air maka *body scrub* tersebut adalah tipe M/A. Sebanyak 1 mg sediaan ditempatkan di atas gelas objek, kemudian ditambahkan 1 tetes larutan metilen biru, dicampur dengan rata dan diamati. Sediaan

menunjukkan tipe M/A yang ditandai dengan warna biru yang tercampur, sedangkan menunjukkan tipe air dalam minyak jika sediaan terbentuk warna biru yang tidak homogen (Sirait, 2018).

#### **G. Uji Aktivitas Antioksidan Krim *Body Scrub* Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*)**

##### 1. Pembuatan larutan DPPH

Sebanyak 10 mg DPPH ditimbang lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas labu ukur dikocok hingga homogen (Mauizatul *et al.*, 2017).

##### 2. Pembuatan larutan induk sampel

Sediaan *body scrub* masing-masing formula dibuat larutan stock 100 ppm dengan menimbang 10 mg sampel dan dilarutkan etanol p.a 100 mL. Larutan diencerkan dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm (Hehakaya *et al.*, 2022). Dasar pembuatan larutan induk sampel mengacu pada penelitian (Sibarani *et al.*, 2020) dengan melarutkan 10 mg ekstrak spons *Stylissa* sp. dalam 100 mL etanol.

##### 3. Penentuan aktivitas antioksidan larutan uji sampel

Setiap sampel diambil sebanyak 2 mL dan ditambahkan 2 mL larutan DPPH kemudian diinkubasi selama waktu *operating time* (20 menit). Pengujian dilakukan 3 kali replikasi, kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Hasil serapan digunakan untuk menghitung % inhibisi dan nilai IC<sub>50</sub> (Hehakaya *et al.*, 2022).

##### 4. Perhitungan persentase inhibisi dan nilai IC<sub>50</sub>

Nilai  $IC_{50}$  ditentukan dengan rumus persamaan kuadrat  $y = bx + a$  yang dibentuk dari persentase inhibisi pada setiap konsentrasi. Nilai  $x$  dari persamaan tersebut merupakan konsentrasi zat yang diukur dan nilai  $y$  adalah serapan sampel yang diukur (Rahmatullah, 2019). Hasil persentase inhibisi masing-masing konsentrasi, nilai  $IC_{50}$  diperoleh dengan perhitungan regresi linier ( $x,y$ ) dimana  $x$  adalah konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ ) dan  $y$  adalah presentase penghambatan (%).  $IC_{50}$  sampel dan pembanding diperoleh dengan menggunakan rumus  $y = bx + a$  dimana  $y$  diganti dengan 50 (Wachidah, 2013; Magfira, 2018). Nilai  $IC_{50}$  yang lebih kecil, menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari sampel tersebut (Magfira, 2018).

Persentase inhibisi dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{A blanko} - \text{A sampel}}{\text{A blanko}} \times 100\%$$

## H. Analisis Data

Hasil dari formulasi sediaan *body scrub* ekstrak buah pari-joto (*Medinilla speciosa*) disajikan berupa data dalam bentuk tabel dan grafik yang diperoleh dari replikasi tiga kali pada uji organoleptis, pH, daya sebar, viskositas dan tipe emulsi. Analisis data dilakukan juga secara statistik dengan pengujian *analysis of variance* (anova) menggunakan *software Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) dan menggunakan uji *Least Significant Difference* (LSD) yang bertujuan untuk melihat perbedaan secara

signifikan dari masing-masing sampel. Hasil pengujian rata-rata dibandingkan dengan uji mutu fisik yang dipersyaratkan. *Body scrub* yang terbaik dipilih pada formula yang memiliki mutu fisik yang paling baik dan aktivitas antioksidan yang paling kuat.