

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Tujuan penelitian ini yaitu memformulasikan ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) segar yang telah dijadikan simplisia dan dimaserasi, kemudian dibuat variasi konsentrasi untuk dilanjutkan pembuatan *facial wash*, dilakukan uji stabilitas fisik dengan parameter organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, dan tinggi busa. Kemudian diuji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan spektrofotometri Uv-Vis.

B. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2022 – Januari 2023. Meliputi beberapa prosedur yang dilakukan :

1. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang untuk menghindari kesalahan pemilihan buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume).
2. Maserasi buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) di Laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo
3. Uji kualitatif penentuan kadar flavonoid dilakukan di Laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.
4. Pembuatan gel ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) di Laboratorium Farmasetika Universitas Ngudi Waluyo.

5. Uji in vitro penentuan nilai antioksidan pada sediaan *facial wash* di Laboratorium Instrumen Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.
6. Uji stabilitas fisik dilakukan di Laboratorium Teknologi Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.

C. Subjek Penelitian

1. Populasi

Dalam penelitian ini populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah seluruh bagian buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume). Bagian buah parijoto yang digunakan adalah yang sudah matang dan berwarna ungu kemerahan yang didapatkan dari daerah desa Colo Kecamatan Dawe Kudus.

2. Sampel

Sampel pada penelitian ini yaitu buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) yang didapatkan dari daerah desa Colo Kecamatan Dawe Kudus yang kemudian dijadikan sebagai sediaan *facial wash* gel.

D. Definisi Operasional

1. Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)

Ekstrak buah parijoto berasal dari simplisia buah parijoto yang sudah dikeringkan kemudian dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi selama 5 hari dilanjutkan dengan penguapan menggunakan *rotary evaporator*.

2. Facial Wash Gel Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume)

Jenis kosmetika yang dapat digunakan sebagai pembersih dan perawatan kulit wajah sehari-hari. Terbuat dari bahan-bahan yang dapat mengangkat kotoran yang bersifat lemak, minyak, dan debu. *Facial wash* bisa digunakan untuk semua jenis kulit dan setiap

produk biasanya tertera untuk jenis kulit yang berbeda-beda dapat di sesuaikan dengan kebutuhan, *facial wash* berbentuk gel dapat terbuat dari bahan alam salah satunya adalah ekstrak buah parijoto karena memiliki kandungan flavonoid didalamnya sehingga mampu menangkal radikal bebas pada kulit wajah (Yanti, 2019).

3. Uji Stabilitas fisik

Uji stabilitas pada sediaan dilakukan dengan 5 siklus 10 hari dengan parameter uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji viskositas, dan uji tinggi busa (Luqman, 2021).

4. Uji Antioksidan

Metode yang digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan yaitu dengan metode DPPH dengan ditunjukkan oleh nilai IC_{50} pada hasil perhitungan pembacaan spektrofotometer Uv-Vis (Wachidah, 2013).

E. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas merupakan salah satu factor yang dapat mempengaruhi hasil atau menjadi penyebab utama dalam perbedaan penentuan hasil. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak dalam formulasi pembuatan sediaan *facial wash* dari buah parijoto dengan konsentrasi 0,5%, 1%, dan 1,5%.

2. Variabel tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian yaitu untuk memenuhi stabilitas yang baik dilihat pada parameter uji organoleptik, pH, homogenitas, viskositas, tinggi busa, dan nilai IC_{50} .

F. Pengumpulan Data

1. Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan yaitu Viscometer Brookfield (DV2T), Rotary evaporator, spektrofotometer Uv-Vis Uv-1900I (Shimadzu), timbangan digital (Ohaus), blender, pH meter, *water bath*, batang pengaduk, ayakan mesh 40, pipet ukur (iwaki), labu takar, mortir dan stemper, rak tabung reaksi, tabung reaksi (*pyrex*), labu ukur, gelas beaker, sendok tanduk, pipet tetes, dan cawan porselin.

b. Bahan

Bahan yang digunakan adalah ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) yang diperoleh dari daerah Desa Colo Kecamatan Dawe Kabupaten Kudus Jawa Tengah Indonesia dan etanol 96% karena dapat menyari ekstrak dengan baik, dalam pembuatan formulasi *facial wash* gel bahan yang digunakan meliputi carbopol 940 (*gelling agent*), TEA (*Triethanolamine*) sebagai penetral pH, Natrium Lauryl Sulfat (surfaktan), Propietilenglikol (pelarut/ stabilizer), natrium benzoate (pengawet), MgSO₄, HCl, FeCl₃ digunakan untuk skrinning fitokimia, bahan yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan yaitu DPPH sebagai reagen, kuersetin sebagai pembanding, dan etanol p.a untuk melarutkan reagen.

2. Prosedur Penelitian

a. Determinasi Sampel

Dalam penelitian ini untuk menghindari kesalahan dalam penelitian yaitu dengan dilakukannya determinasi tanaman. Tanaman yang masih lengkap dengan akar, batang, daun, bunga, dan buahnya kemudian diambil dan dilakukan determinasi.

Determinasi dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang (Milanda *et al.*, 2021)

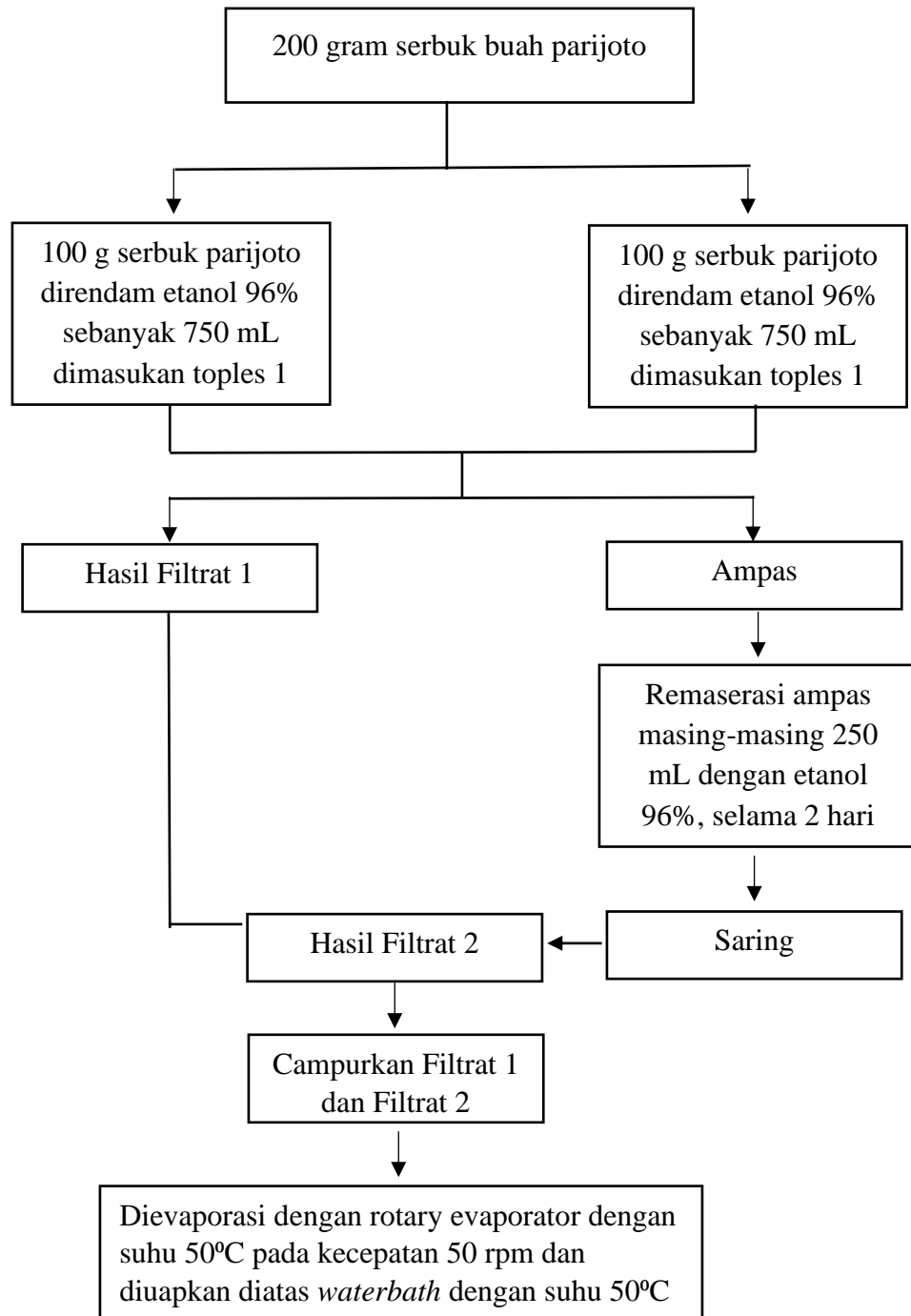
b. Pembuatan Simplisia

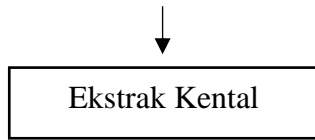
Setelah dilakukan sortasi basah pada Buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) untuk memisahkan kotoran, dan buah dari rantingnya yang bertujuan untuk mengurangi pengotor saat pengujian, kemudian didapatkan buah parijoto yang segar dan matang ditimbang sebanyak 3 kilogram, selanjutnya buah parijoto dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Buah parijoto kemudian dipotong melintang dan diangin-anginkan dengan ditutup kain hitam dibawah sinar matahari sampai kering, kemudian simplisia kering di blender hingga halus dan diayak menggunakan ayakan mesh 40 (Luqman, 2021).

c. Pembuatan Ekstrak Buah Parijoto

Timbang 200 gr simplisia, serbuk dibagi menjadi 2 toples untuk memisahkan antara filtrat 1 dan filtrat 2, lakukan maserasi menggunakan etanol 96% sebanyak 750 mL untuk masing-masing toples, dengan waktu selama 3 hari dan diaduk sesekali. Setelah 3 hari saring filtrat menggunakan corong Boucher dan kertas saring. Remaserasi dilakukan pada ampas filtrat 1 dengan etanol 96% sebanyak 250 mL selama 1x 24 jam dan diaduk sesekali dan disaring. Filtrat 1 kemudian digabungkan dengan hasil filtrat remaserasi dalam 1 wadah, pengentalan ekstrak dilakukan menggunakan *rotary evaporator* dan diamkan di *water bath* hingga ekstrak menjadi kental (Vifta *et al.*, 2022). Simpan ekstrak dan hitung rendemen menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Rendemen ekstrak (\%)} = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Awal}} \times 100\%$$





**Gambar 3.1 Skema Kerja Pembuatan Ekstrak Buah Parijoto
(*Medinilla speciosa* Blume)**

d. Skinning Fitokomia

1) Uji Kualitatif Identifikasi Flavonoid

Diambil 3 mL sampel masukkan dalam tabung reaksi, tambahkan MgSO_4 0,1 gr dan HCl pekat sebanyak 5 tetes. Lihat perubahan warna yang terjadi, warna kuning dapat diartikan ekstrak buah parijoto positif mengandung senyawa flavonoid (Vifta *et al.*, 2022).

2) Uji Kualitatif Identifikasi Saponin

Diambil sedikit ekstrak buah parijoto dilarutkan dengan air hangat kemudian teteskan HCl, gojok dan lihat kestabilan busa yang terjadi. Jika terdapat busa setelah penggojokkan maka diartikan ekstrak buah parijoto positif (*Medinilla speciosa* Blume) mengandung saponin (Astutik *et al.*, 2021)

3) Uji Kualitatif Identifikasi Tannin

Dilarutkan sampel dengan etil asetat, tambahkan FeCl_3 1%. Amati perubahan warna yang terjadi, jika warna yang dihasilkan hitam kebiruan maka diartikan ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa*) positif mengandung tannin (Astutik *et al.*, 2021)

e. Formulasi

Pada penelitian ini terdapat tiga formula sediaan *facial wash* gel ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume). Variasi konsentrasi pada penelitian ini menggunakan acuan dari penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Luqman, 2021) pada pembuatan Gel Tabir Surya Ekstrak Buah Parijoto (*Medinilla speciosa*) Asal Bandungan Secara In Vitro dan bahan penyusun lain menggunakan acuan dari penelitian (Kurniawati *et al.*, 2022) Formulasi dan Uji Sifat Fisik *Facial Wash* Ekstrak Methanol Daun Salam (*Eugenia polyntha*) sebagai Antioksidan dengan Metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrihidrazil*). Formula *facial wash* gel ekstrak buah parijoto dapat dilihat pada tabel 3.1

Tabel 3.1 Formula *Facial Wash* Gel Ekstrak Buah Parijoto

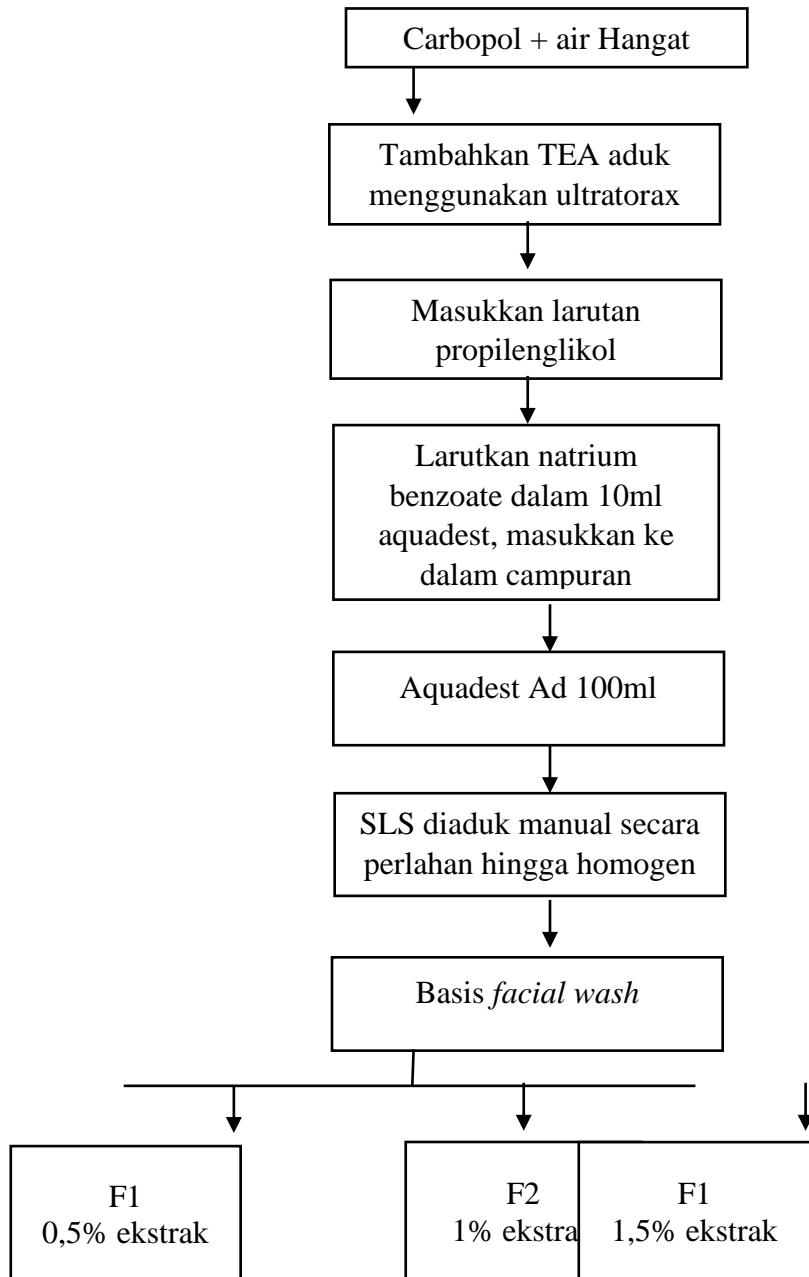
Bahan	Konsentrasi (%)			
	Kontrol Negatif	F1	F2	F3
Ekstrak Buah Parijoto	-	0,5	1	1,5
Carbopol 940	1	1	1	1
TEA	2	2	2	2
Natrium Lauril Sulfat	0,5	0,5	0,5	0,5
Propilenglikol	5	5	5	5
Natrium benzoat	0,5	0,5	0,5	0,5
Aquadest	Ad100 mL	Ad 100 mL	Ad 100 mL	Ad 100 mL

f. Prosedur pembuatan sediaan *facial wash* gel

Pembuatan sediaan *facial wash* gel dari ekstrak buah parijoto dimulai dengan menyiapkan dan menimbang semua bahan yang akan digunakan dalam pembuatan sediaan. Langkah pertama pembuatan sediaan adalah melarutkan carbopol dengan air panas dan diamkan selama 1 x 24 jam ini difungsikan agar mengembang dengan baik. Carbopol yang sudah mengembang akan berubah bentuk dan warna, yang semula berbentuk serbuk berwarna putih menjadi berbentuk gel berwarna transparan. Gel

tersebut ditambahkan dengan TEA, yang berfungsi untuk menetralkan pH gel agar tidak mengiritasi kulit, aduk dengan menggunakan alat ultratorax dengan kecepatan minimal hingga terbentuk basis gel. Basis gel yang sudah terbentuk ditambahkan dengan propilenglikol tetap didalam alat ultratorax dan ditunggu hingga tercampur dengan merata. Fungsi dari propilenglikol adalah sebagai penstabil sediaan.

Pencampurkan natrium benzoate dengan air dalam wadah lain guna melarutkan natrium benzoate hingga larut agar saat pencampuran dengan basis gel dalam alat dapat terdispersi dengan merata. Fungsi natrium benzoate dalam pembuatan *facial wash* adalah sebagai pengawet. Penambahan SLS (*Sodium Lauryl Sulfate*) paling akhir setelah sediaan *facial wash* tercampur dengan merata karena SLS (*Sodium Lauryl Sulfate*) merupakan *foaming agent* yang dapat membuat sabun berbusa, mengikis minyak, kotoran, dan lemak (Nurzaman *et al.*, 2018).



Gambar 3.2 Prosedur Pembuatan *Facial Wash Ekstrak Buah Parijoto (Medinilla speciosa Blume)*

g. Evaluasi sediaan *facial wash* gel buah parijoto

1) Uji Organoleptik

Uji organoleptis dalam sediaan *facial wash* ini dapat dilakukan dengan melihat bentuk, bau, dan warna dari sediaan *facial wash* yang telah dibuat (Eugresya *et al.*, 2017)

2) Uji Homogenitas

Uji homogenitas dalam sediaan *facial wash* ekstrak buah parijoto dilakukan dengan mengambil 1 gr sediaan dan letakkan pada objek gelas. Hasil diamati terdapat gumpalan atau tidak dengan kaca pembesar. Gumpalan dan warna yang dihasilkan tidak merata maka sediaan tidak homogen (Kurniawati *et al.*, 2022).

3) Uji pH

Uji pH sediaan *facial wash* dilakukan dengan pH universal dengan pH standart 4,5-7,8 (Yuniarsih *et al.*, 2020) . Elektroda dimasukkan kedalam sediaan *facial wash* ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dan indikator menunjukkan angka konstan (Yuniarsih *et al.*, 2020).

4) Uji Viskositas

Uji viskositas dalam sediaan *facial wash* dilakukan dengan menggunakan alat viskosimeter *Brookfield* DV2T dengan spindel nomor 64 dan diatur kecepatan 20 rpm. Sediaan *facial wash* buah parijoto diukur viskositasnya. Viskositas yang baik dalam sediaan berkisar antara 2000-4000 Cp (Irianto *et al.*, 2020)

5) Uji Tinggi Busa

Uji tinggi busa sediaan *facial wash* buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) ini dilakukan dengan mengambil sediaan *facial wash* 1 mL tambahkan 9 mL akuades, kocok dengan vortex selama 2 menit. Ukur tinggi busa awal dan

tunggu 5 menit ukur kembali sebagai tinggi busa akhir dengan rentang 60-70% (Marlina *et al.*, 2022).

6) Uji Stabilitas

Uji stabilitas sediaan *facial wash* dilakukan dengan menyimpan sediaan pada suhu kurang lebih 4°C selama 24 jam dalam *climatic chamber* suhu 40°C, lakukan pengujian ini selama 5 siklus 10 hari dengan parameter organoleptik, homogenitas, pH, tinggi busa, dan viskositas (Luqman, 2021).

7) Uji Antioksidan dengan metode DPPH

a) Pembuatan Larutan 100 ppm

Timbang 5 mg serbuk DPPH kemudian ukur etanol 96% sebanyak 50 mL, untuk melarutkan serbuk DPPH dan didapatkan konsentrasi 100 ppm (Ilmiah *et al.*, 2016).

b) Pembuatan Larutan Baku Kerja DPPH 40 ppm

Ambil 8 mL larutan DPPH 100 ppm dengan pipet, masukkan dalam labu takar ukuran 20 mL, tambahkan etanol 96% hingga tanda batas dan didapatkan konsentrasi 40 ppm (Ilmiah *et al.*, 2016).

c) Penentuan Panjang gelombang maksimum DPPH

Ambil 4 mL larutan baku kerja DPPH 40 ppm, kemudian masukkan kedalam kuvet, ukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 400-800 nm (Ilmiah *et al.*, 2016)

d) Penentuan *Operating Time*

Larutan DPPH 40 ppm diambil sebanyak 1 mL ditambahkan etanol p.a ad 5 mL. lihat absorbansinya panjang gelombang maksimum dengan interval 1

menit waktu 30 menit sampai di peroleh absorbansi yang stabil (Endra & Ricka, 2021).

e) Pembanding

Timbang kuersetin sebanyak 25mg larutkan dengan etanol p.a sebanyak 25 mL, konsentrasi yang di dapatkan yaitu 100 ppm, ambil larutan baku kuersetin 1 mL dan tambahkan etanol p.a 10 mL (Sari *et al.*, 2019). Larutan seri kadar kuersetin dibuat sebagai bahan baku standar (100 ppm) dengan kadar 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Ambil 1 mL larutan standar DPPH ditambahkan larutan kuersetin hingga tanda batas labu ukur 5 mL, didiamkan di tempat gelap selama *operating time* yang ditentukan dan dibaca absorbansi pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Bakti *et al.*, 2017).

f) Kontrol Positif

Kontrol positif dilakukan sebagai pembanding, dalam penelitian ini sebagai kontrol positif menggunakan sediaan *facial wash* yang ada di pasaran atau di toko kosmetik dengan merk Rojukiss *facial wash*. Ambil 25mg larutkan dengan metanol 25 mL, dan konsentrasi yang diperoleh yaitu 100 ppm. Kemudian ambil 0,1 mL , 0,2 mL, 0,3 mL dan 0,4 mL dalam labu ukur 10 mL tambahkan metanol sampai tanda batas dan didapatkan konsentrasi sebesar 1 ppm, 2 ppm , 3 ppm, dan 3 ppm. Selanjutnya masing-masing konsentrasi ditambahkan dengan 1 mL larutan DPPH 40 ppm, kemudian disimpan dalam ruangan gelap

dan terhindar dari cahaya matahari setelah 10 hari ukur absorbansi *facial wash* pada Panjang gelombang 400-600 nm (Kurniawati *et al.*, 2022).

g) Kontrol Negatif

Kontrol negatif pada sediaan *facial wash* tanpa mencampurkan ekstrak buah pari-joto (*Medinilla speciosa*) dalam sediaan. Perlakukan uji kontrol negatif sesuai dengan kontrol positif.

h) Penentuan nilai IC₅₀

Penentuan nilai IC₅₀ adalah suatu bilangan konsentrasi sampel yang dapat menyatakan perendaman dengan metode DPPH. Jika hasil yang di dapatkan adalah 0% maka $Y = bx + a$ tidak mempunyai aktivitas antioksidan. Persamaan regresi digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀, dapat menggunakan rumus sebagai berikut :

Nilai IC₅₀ antioksidan jika kurang dari 50 ppm maka dapat diartikan sangat kuat, jika nilai IC₅₀ 50 ppm- 100 ppm maka artinya kuat, IC₅₀ 100 ppm – 150 ppm sedang, dan IC₅₀ 151-200 ppm dapat diartikan lemah. Aktifitas yang dapat menangkal radikal bebas dapat di ekspresikan sebagai % inhibisi dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel})}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Absorbansi control : Absorbansi DPPH
Absorbansi bahan uji : Absorbansi ekstrak buah pari-joto

G. Analisis Data

Data dari pengamatan diperoleh dari hasil evaluasi fisik sediaan *facial wash* meliputi organoleptik, homogenitas, pH, viskositas, tinggi busa. Dalam analisis ini untuk menentukan perbandingan IC_{50} antara kelompok larutan uji yaitu *facial wash* ekstrak buah parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) dan kelompok larutan pembanding *facial wash* dipasaran dengan merk Rojukiss digunakan program SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*). Semua data kelompok uji diuji normalitasnya terlebih dahulu dan melihat bagian signifikansi pada uji *shapiro wilk* karena data kurang dari 30 dengan nilai signifikansi ($p > 0,05$) dengan taraf kepercayaan 95%. Selanjutnya jika dalam uji normalitas, data yang dihasilkan normal maka dapat dilanjutkan dengan uji parametrik menggunakan *paired simple t test*, dan jika hasil uji normalitas didapatkan hasil dari data tidak normal maka dilanjutkan dengan uji non parametrik yaitu uji *Wilcoxon*.