

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental. Pada tahap pertama mengekstraksi buah parijoto menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi. Tahap kedua yaitu uji flavonoid menggunakan uji wilstarter. Tahap ketiga membuat formulasi sediaan masker *peel off* ekstrak buah parijoto (*Medinella Speciosa*). Tahap keempat evaluasi karakteristik pada sediaan masker *peel off* ekstrak buah parijoto (*Medinella Speciosa*) meliputi uji organoleptis, homogenitas, pH, waktu kering, daya sebar dan viskositas serta pengujian aktivitas antioksidan ekstrak buah parijoto dan masker *pell off* buah parijoto. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi dan Laboratorium Fitokimia Program Studi S1 Farmasi Universitas Ngudi Waluyo Ungran.

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

1. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang (UNDIP).
2. Pembuatan ekstrak buah parijoro (*Medinella Speciosa*) dilakukan di Laboratorium Fitokimia Universitas Ngudi Waluyo.
3. Pembuatan masker *peel off* ekstrak buah parijoto (*Medinella Speciosa*) dilakukan di Laboratorium Teknologi Universitas Ngudi Waluyo.

### C. Subjek Penelitian

Sampel buah parijoto (*Medinella Speciosa*) diperoleh dari lereng pegunungan Muria, Desa Colo, Kecamatan Dawe, Kabupaten Kudus, Jawa Tengah. Kemudian sampel tersebut diformulasikan menjadi sediaan masker *peel off*.

### D. Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini meliputi :

1. Buah parijoto (*Medinella Speciosa*) yang menjadi sampel pada penelitian ini diperoleh dari Desa Colo, Kecamatan Dawe, Kabupaten Kudus, Jawa Tengah.
2. Konsentrasi ekstrak buah parijoto yang digunakan adalah 0,5%, 1%, 1,5%.
3. Pembuatan ekstrak dilakukan menggunakan metode maserasi dengan penyari etanol 96%.
4. Uji wilstarter digunakan sebagai identifikasi senyawa flavonoid pada buah parijoto (*Medinella Speciosa*).
5. DPPH digunakan sebagai metode untuk menguji aktivitas antioksidan sediaan masker *peel off*.
6. Pengujian yang dilakukan pada sediaan masker *peel off* adalah pengujian mutu fisik sediaan meliputi uji organoleptis, homogenitas, pH, waktu kering, daya sebar, viskositas serta uji antioksidan.

## E. Variabel Penelitian

### 1. Variabel bebas

Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau menyebabkan timbulnya variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak buah parijoto (*Medinella Speciosa*) pada sediaan masker *peel off* dengan konsentrasi 0,5%, 1%, 1,5%.

### 2. Variabel terikat

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi akibat adanya variabel bebas. Variabel terikat dari penelitian ini adalah uji aktivitas antioksidan sediaan masker *peel off* buah parijoto (*Medinella Speciosa*) dan uji fisik sediaan masker *peel off* meliputi uji organoleptis, homogenitas, pH, waktu kering, daya sebar dan uji viskositas.

### 3. Variabel terkendali

Variabel terkendali adalah variabel yang perlu dikendalikan untuk menetralkan pengaruhnya. Variabel terkendali dalam penelitian ini yaitu alat, bahan, dan suhu pada saat penguapan ekstrak, rpm pada saat pembuatan sediaan dan uji viskositas, waktu pada saat pembuatan sediaan.

## F. Alat dan Bahan

Alat :

Alat yang digunakan set alat maserasi, corong (*buchner*), kertas saring (*watman*), *rotary evaporator* (RE-2000E), *waterbath* (*memmert*), oven (*memmert UN30*), timbangan (*labtronics*), toples kaca, spektrofotometer UV-Vis, (*shimadzu UV 1800*) gelas ukur (*iwaki*), *beaker glass* (*iwaki*), labu ukur (*iwaki*), batang pengaduk, mikro pipet, tabung reaksi (*iwaki*), cawan porselin,

mortir, stemper, kertas indikator pH (*Universal indicator*), set alat uji daya sebar, *stopwatch*, penggaris, viskometer (*Brookfield DV2T*)

Bahan :

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah parijoto diperoleh dari lereng pegunungan Muria, Desa Colo, Kecamatan Dawe, Kabupaten Kudus, Jawa Tengah, aquades, polivinil alkohol (Farmasetika, PT.MKR), hidroksipropil metilselulosa (Farmasetika, PT.MKR), metil paraben (Farmasetika, PT.MKR), propilen glikol (Farmasetika, PT.MKR), etanol 96% (Farmasetika, PT.MKR), serbuk DPPH (Farmasetika, PT.MKR),  $MgSO_4$  (Farmasetika, PT.MKR), HCl pekat (Farmasetika, PT.MKR), metanol (Farmasetika, PT.MKR)

## **G. Alur Penelitian**

### **1. Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Diponegoro Semarang. Determinasi dilakukan dengan melihat kunci determinasi yang berisi ciri-ciri khas takson tumbuhan. Ciri-ciri tersebut disusun sedemikian rupa sehingga selangkah demi selangkah pemakai kunci determinasi memilih satu dari beberapa sifat yang tidak sesuai dengan ciri-ciri tumbuhan yang diinginkan, begitu seterusnya hingga akhirnya diperoleh suatu jawaban berupa identitas tumbuhan (Devi Ratnawati, 2011).

## **2. Pengambilan sampel**

Sampel buah parijoto (*Medinella Speciosa*) diperoleh dari lereng pegunungan Muria, Desa Colo, Kecamatan Dawe, Kabupaten Kudus, Jawa Tengah. Buah parijoto (*Medinella Speciosa*) yang digunakan harus sudah masak, tidak busuk, berwarna merah keunguan, utuh dan masih segar.

## **3. Pembuatan simplisia buah parijoto**

Pembuatan simplisia buah parijoto (*Medinella Speciosa*) dengan cara yaitu sebanyak 3 kg buah parijoto diambil buahnya berwarna ungu yang berusia  $\pm$  3 bulan, kemudian dilakukan sortasi untuk memisahkan buah parijoto dari zat pengotor atau bahan-bahan asing. Buah parijoto dikeringkan dibawah sinar matahari selama 5 hari dengan ditutupi kain hitam agar tidak terkena sinar matahari secara langsung dan dilakukan pengovenan dengan suhu 50<sup>0</sup>C sehingga diperoleh buah parijoto kering, selanjutnya diblender dan dilanjutkan pengayakan dengan ayakan no 40 mesh sampai didapatkan serbuk buah parijoto halus (Wijayanti *et al.*, 2021).

## **4. Pembuatan ekstrak buah parijoto**

Pembuatan ekstrak etanol buah parijoto dilakukan menggunakan metode maserasi. Buah parijoto kering sebanyak 100 g yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam wadah kaca lalu diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan antara simplisia halus dan pelarut adalah 1:10 sebanyak 1 liter (750 mL untuk maserasi dan 250 mL untuk remaserasi), kemudian dilakukan ekstraksi dengan cara

maserasi selama 3 hari dan dilakukan pengadukan sekali sehari. Setelah perendaman selama 3 hari kemudian disaring antara filtrat dengan residu menggunakan corong *Buchner* dan kertas saring *whatman*, maserat yang dihasilkan menjadi filtrat ke 1. Etanol 96 % residu hasil maserasi direndam ulang menggunakan 250 mL selama 2 x 24 jam dan diaduk. Setelah perendaman kemudian dilakukan penyaringan dan maserat yang dihasilkan menjadi filtrat ke 2. Filtrat ke 1 digabungkan dengan filtrat ke 2. Filtrat yang terkumpul diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45°C hingga diperoleh ekstrak cair dan dilanjutkan penguapan menggunakan *watterbath* pada suhu 45°C hingga diperoleh ekstrak kental (Kurniawati, 2015).

#### **5. Uji flavonoid ekstrak buah parijoto**

Identifikasi flavonoid menggunakan uji wilstarter dilakukan dengan melarutkan ekstrak buah parijoto dalam metanol panas dan menambahkan 0,1 gram serbuk  $MgSO_4$  dan 5 tetes HCl pekat. Hasil identifikasi flavonoid menunjukkan warna jingga yang berarti positif adanya flavonoid (Agustina, Nurhamidah and Handayani, 2017).

#### **6. Formula masker *peel off* ekstrak buah parijoto**

Formula dasar yang dipilih pada pembuatan sediaan masker *peel off* dalam penelitian ini dibuat dalam 3 formula dengan konsentrasi ekstrak yang berbeda sesuai dengan penelitian sebelumnya (Vifta *et al.*, 2022) yaitu formula 1 (0,5%), formula 2 (1%), formula 3 (1,5%). Prosedur pembuatan masker *peel off* akan dibuat sebanyak 50 gram dengan menggunakan formulasi standar dari penelitian (Wahyuni *et al.*, 2022) sebagai berikut :

PVA	7%
HPMC	2%
Metil paraben	0,3%
Propilen glikol	15%
Etanol	5%
Aquades	50%

Rancangan formula dari penelitian ini berdasarkan modifikasi dari penelitian (Wahyuni *et al.*, 2022). Formulasi sediaan masker *peel off* dapat dilihat pada tabel 3.1.

**Tabel 3. 1 Formula Sediaan Masker *Peel Off* Buah Parijoto (*Medinella Speciosa*)**

Bahan	Jumlah bahan (%)			Keterangan
	F1	F2	F3	
Ekstrak buah parijoto	0,5	1	1,5	Zat aktif
Polivinil alkohol (PVA)	7	7	7	Lapisan film
HPMC	2	2	2	Gelling agent
Propilen glikol	15	15	15	Humektan
Metil paraben	0,3	0,3	0,3	Pengawet
Etanol 96%	5	5	5	Pelarut
Aquadest	ad 50	ad 50	ad 50	Pelarut

Keterangan : F 1 : Formula dengan ekstrak buah parijoto konsentrasi 0,5 %  
 F 2 : Formula dengan ekstrak buah parijoto konsentrasi 1%  
 F 3 : Formula dengan ekstrak buah parijoto konsentrasi 1,5%

## 7. Pembuatan masker *peel off* ekstrak buah parijoto

Pembuatan masker *peel off* dimulai dengan melarutkan PVA dengan aquadest hangat (80°C) selama 24 jam hingga mengembang sempurna kemudian diaduk hingga halus (massa 1). HPMC dikembangkan di dalam mortir menggunakan air panas selama 24 jam setelah mengembang diaduk hingga homogen (massa 2). Selanjutnya metil paraben dilarutkan dengan etanol dan ditambahkan propilen glikol,

kemudian dimasukkan ke dalam massa 1. Dimasukkan massa 1 dan massa 2 kedalam mortir yang bersih lalu diaduk hingga homogen. Ekstrak buah parijoto yang sudah ditimbang dimasukkan ke dalam sediaan yang sudah disiapkan dan diaduk hingga homogen (Wahyuni *et al.*, 2022).

## **8. Prosedur pengujian karakteristik fisik sediaan**

### a. Uji organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan pengamatan secara langsung pada saat sediaan masker *peel off* selesai dibuat. Pengamatan meliputi warna, bau, dan tekstur dari sediaan masker *peel off* ekstrak buah parijoto (Ningrum, 2018).

### b. Uji homogenitas

Uji homogenitas dilakukan menggunakan kaca objek. Masker yang akan diamati ditimbang sebanyak 0,5 gram dan dioleskan pada kaca objek yang bersih dan kering sehingga membentuk suatu lapisan tipis. Kaca objek kemudian ditutup dengan kaca preparat. Masker *peel off* menunjukkan susunan yang homogen apabila tidak terlihat adanya butiran kasar, tekstur tampak rata dan tidak menggumpal (Putriani *et al.*, 2022).

### c. Uji pH

Pengukuran pH sediaan masker *peel off* dengan menggunakan kertas indikator pH. Kertas indikator pH dicelupkan ke dalam masker *peel off* selama  $\pm 5$  detik, kemudian dicocokkan warna kertas dengan indikator warna pada wadah kertas pH tersebut dan akan terbaca nilai

pH dari sediaan masker. pH sediaan masker *peel off* harus sesuai dengan nilai pH sediaan pada kulit yaitu 4,5-8,0 (Ningrum, 2018).

d. Uji waktu kering

Pengujian dilakukan dengan mengoleskan 0,2 gram pada kulit hingga membentuk lapisan film tipis. Kemudian dihitung waktu mengering sediaan masker *peel off* menggunakan *stopwatch*, persyaratan waktu untuk mengering sediaan masker *peel off* selama 15-30 menit (Ningrum, 2018).

e. Uji daya sebar

Sediaan masker *peel off* sebanyak 0,5 gram diletakkan pada kaca datar kemudian diletakkan kaca lain di atasnya didiamkan 1 menit dan diukur diameter menggunakan penggrais. Kemudian diulangi pengujian dengan menambahkan beban 50 gram pada setiap pengukuran hingga konstan (250 gram). Daya sebar sediaan masker *peel off* yang baik antara 5-7 cm (Putriani *et al.*, 2022).

f. Uji viskositas

Pengujian viskositas sediaan masker *peel off* menggunakan viskometer *Brookfield DV2T* dengan ukuran spindle no. 64. Dimasukkan spindle kedalam sediaan kemudian mengatur kecepatan putarannya dengan kecepatan 100 rpm selama 1 menit dan selanjutnya alat dinyalakan. Hasil pengukuran nilai viskositas tersebut akan terlihat dimonitor viskometer. Nilai sediaan masker *peel off* yang baik yaitu 2000 – 4000 cP.

## 9. Pengujian antioksidan ekstrak dan masker *peel off* ekstrak buah parijoto

Pembuatan larutan baku DPPH 100 ppm dengan cara menimbang 10 mg serbuk DPPH yang dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan etanol p.a hingga tanda batas. Kemudian dikocok hingga homogen sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 100 ppm (Zikra Azizah, 2017).

Penentuan panjang gelombang DPPH dilakukan dengan cara diambilnya 2 mL dari larutan induk DPPH. Larutan DPPH kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dan ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400 – 800 nm (Dwi Susiloningrum, 2021)

Penentuan *operating time* dilakukan dengan cara diambil 2 mL larutan DPPH 100 ppm dan dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL, selanjutnya ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas. Kemudian dibaca panjang gelombang maksimum yang optimal selama durasi 30 menit hingga diperoleh absorbansi yang stabil.

Pembuatan kurva baku vitamin C sebagai pembanding dengan cara menimbang 10 mg vitamin C, selanjutnya dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas sehingga mendapatkan konsentrasi 100 ppm. Kemudian larutan vitamin C 100 ppm dibuat seri dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Lalu dicampurkan 2 mL larutan DPPH 100 ppm dengan 2 mL masing – masing

seri kemudian didiamkan selama waktu *operating time* dan di baca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Ambari *et al.*, 2021).

Pengujian aktivitas antioksidan DPPH dengan spektrofotometer UV-Vis. Pertama larutan ekstrak 100 ppm dibuat dengan cara menimbang 10 mg selanjutnya dimasukan ke dalam labu ukur 100 mL dan diberikan etanol p.a hingga tanda batas. Larutan ekstrak 100 ppm dibuat seri konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. Kedua larutan sediaan masker *peel off* 100 ppm ditimbang 10 mg selanjutnya dimasukkan kedalam labu takar 100 mL dan diberi etanol p.a hingga tanda batas. Setelah itu dibuat beberapa seri konsentrasi dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. Masing – masing seri larutan ekstrak dan sediaan diambil 2 mL setelah itu dicampurkan 2 mL larutan DPPH 100 ppm. Hasil absorbansi dibaca pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dan didiamkan selama waktu *oprating time* (Suryani *et al.*, 2017).

Aktivitas antioksidan dihitung berdasarkan besarnya persentase. Hasil data absorbansi masing-masing sampel digunakan untuk mencari persentase inhibisinya. Berikut rumus untuk mencari inhibisinya adalah :

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

Keterangan :

$A_{blanko}$  = Absorbansi DPPH tanpa sampel (blanko)

$A_{sampel}$  = Absorbansi setelah ditambahkan sampel uji

Setelah didapatkan nilai persen inhibisi masing-masing konsentrasi sampel. Hasil perhitungannya kemudian dibuat dalam suatu persamaan linier  $y = ax+b$ . Persamaan linier digunakan untuk menentukan nilai  $IC_{50}$ . Untuk menghitung nilai  $IC_{50}$  menggunakan rumus berikut  $50 = ax+b$ , dimana  $x$  adalah  $IC_{50}$  dengan menggunakan satuan  $\mu\text{g/mL}$  (Wahyuni *et al.*, 2022).

#### **H. Analisis Data**

Untuk hasil evaluasi sifik sediaan masker *peel off* dianalisis dengan aplikasi SPSS diuji normalitas data dengan uji kolmogorov-smirnov dan uji homogenitas data dengan uji levene dengan nilai signifikan ( $p > 0,05$ ). Jika data hasil yang didapatkan normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji parametrik *one way ANOVA* maka uji lanjutan yaitu *Post Hoc LSD*. Jika data hasil yang didapatkan tidak normal dan tidak homogen dengan nilai signifikan ( $p < 0,05$ ), maka dilakukan analisis uji non parametrik yaitu *kruskal wallis* dan dilanjutkan dengan *Mann Whitney*.