

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental. Penelitian eksperimental adalah penelitian yang berusaha mencari pengaruh variabel tertentu terhadap variabel lain dengan kontrol yang ketat (Ratminingsih 2010). Penelitian ini termasuk penelitian eksperimental karena untuk mengetahui mutu fisik dan aktivitas antioksidan pada sediaan emulgel dari minyak serah wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dengan konsentrasi zat aktif yang berbeda. Sediaan emulgel minyak serah wangi (*Cymbopogon nardus* L.) yang dihasilkan dilakukan uji organoleptis, homogenitas, tipe emulsi, viskositas, daya lekat, daya sebar, dan pH, serta dilakukan pengujian aktivitas antioksidan.

B. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi dan Laboratorium Bahan Alam Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Ngudi Waluyo pada bulan November 2023.

C. Subjek Penelitian

Sampel minyak serah wangi yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari PT Van Aroma yang sudah memiliki *Certificate of Analysis* (CoA). CoA dapat dilihat pada lampiran 1.

D. Definisi Operasional

1. Variasi konsentrasi zat aktif minyak sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) merupakan variasi yang digunakan dalam formula yaitu 1 %, 3 %, dan 5 %.
2. Uji karakteristik fisik sediaan emulgel pada penelitian ini meliputi uji organoleptis, homogenitas, viskositas, daya lekat, daya sebar, dan pH.
3. Uji antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH.
4. Minyak sereh wangi pada penelitian ini didapatkan dari PT Van Aroma yang sudah memiliki *Certificate of Analysis* (CoA).

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang diduga sebagai sebab munculnya variabel terikat. Variabel bebas dari penelitian ini adalah konsentrasi minyak sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) 1 %, 3%, dan 5%.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat yaitu variabel yang dipengaruhi karena adanya variabel bebas. Variabel terikat dari penelitian ini adalah hasil uji mutu fisik meliputi organoleptis, homogenitas, tipe emulsi, viskositas, daya lekat, daya sebar, dan pH serta aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol yaitu variabel yang berpengaruh tetapi dapat dikendalikan. Variabel terkontrol dari penelitian ini adalah metode pembuatan dan evaluasi sediaan emulgel minyak sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.).

F. Pengumpulan Data

1. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu timbangan analitik (Ohaus), batang pengaduk, spatel, *beaker glass* (pirex), labu ukur (pirex), mikro pipet, tabung reaksi (pirex), mortir, stamper, ultraturax (IKA T25), aluminium foil, gelas ukur (pirex), kaca arloji, spektrofotometri UV-VIS (Shimadzu), kertas perkamen, batang pengaduk, wadah sediaan emulgel, penggaris, *viscometer Brookfield* (DV2T), cawan petri, pH meter (Ohaus).

2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu minyak sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.), karbopol (Farmasetika Grade), gliserin (Farmasetika Grade), propilenglikol (Farmasetika Grade), TEA (Farmasetika Grade), metil paraben (Farmasetika Grade), aquadest, larutan DPPH, dan metanol pa (PT. Smart Lab Indonesia).

2. Prosedur Kerja Penelitian

a. Skrining Fitokimia

1) Uji Alkaloid

Minyak sereh wangi 0,5 gram dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 tetes reagen *dragendorff*. Sampel kemudian diamati hingga keruh atau ada endapan. Hasil positif ditandai dengan adanya endapan berwarna jingga (Rinaldi *et al.*, 2021).

2) Uji Flavonoid

Minyak sereh wangi 0,5 gram dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan serbuk magnesium 0,5 gram dan 3 tetes HCl pekat dengan cara diteteskan pelan- pelan dari sisi dinding tabung reaksi.. Terbentuknya warna jingga hingga merah menunjukkan adanya flavon, merah sampai merah padam menunjukkan flavonoid (Ikalinus *et al.*, 2015).

3) Uji Saponin

Minyak sereh wangi 0,5 gram dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 20 mL aquadest dan dikocok. Jika terbentuk busa yang stabil menunjukkan adanya saponin (Ikalinus *et al.*, 2015).

4) Uji Tanin

Minyak sereh wangi 0,5 gram dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan FeCl_3 sebanyak 3 tetes dengan cara diteteskan pelan- pelan dari sisi dinding tabung reaksi.. Jika menghasilkan hijau pekat kehitaman menunjukkan adanya tanin (Ikalinus *et al.*, 2015).

5) Uji Steroid

Minyak sereh wangi 0,5 gram dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL H_2SO_4 pekat dengan cara diteteskan pelan- pelan dari sisi dinding tabung reaksi. Terbentuknya

warna merah kehitaman pekat menunjukkan adanya steroid (Ikalinus *et al.*, 2015).

3. Formulasi dan Cara Pembuatan Sediaan Emulgel

Formula sediaan emulgel minyak sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) yang digunakan pada penelitian ini merupakan hasil modifikasi dari penelitian (Rachmatillah *et al.*, 2021)). Setiap formula sediaan emulgel minyak sereh wangi dibuat sebanyak 100 gram. Formula sediaan emulgel minyak sereh wangi dapat dilihat pada tabel 3.1

Tabel 3.1 Formula Sediaan Emulgel

No	Bahan	Jumlah Bahan (%)			Fungsi
		F I	F II	F III	
1.	Minyak sereh wangi	1	3	5	Zat Aktif
2.	Propilen glikol	10	10	10	Humektan
3.	Gliserin	5	5	5	Humektan
4.	Karbopol	0,5	0,5	0,5	Basis gel
5.	TEA	0,5	0,5	0,5	Alkali
6.	Metil Paraben	0,2	0,2	0,2	Pengawet
7.	Aquadest (ad)	100	100	100	Pelarut

Keterangan:

F I : Formula emulgel dengan konsentrasi minyak sereh wangi 1 %

F II : Formula emulgel dengan konsentrasi minyak sereh wangi 3 %

F III : Formula emulgel dengan konsentrasi minyak sereh wangi 5 %

Pembuatan sediaan emulgel antioksidan minyak sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) adalah dengan mengembangkan karbopol 0,5 gram selama 1 jam menggunakan aquadest 10 mL dalam mortir. Karbopol yang sudah mengembang diaduk terlebih dahulu dengan ditambahkan TEA sampai terbentuk basis gel. Metil paraben dilarutkan dalam 20 mL aquadest panas dan diaduk hingga homogen, kemudian ditambahkan propilenglikol dan diaduk sampai larut, kemudian

ditambahkan gliserin dan diaduk sampai homogen dengan ditambahkan aquadest 2 mL sedikit demi sedikit (campuran 1). Campuran 1 ditambahkan dalam basis gel sambil diaduk sampai homogen dengan ditambahkan aquadest sedikit demi sedikit yaitu FI (70,2 mL), FII (68,8 mL), dan FIII (66,8 mL). Setelah semua tercampur, ditambahkan minyak sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) sebanyak FI (1 gram), FII (3 gram), dan FIII (5 gram) (Supomo *et al.*, 2016). Sediaan emulgel yang telah terbentuk dilakukan uji mutu fisik sediaan meliputi uji organoleptis, homogenitas, tipe emulsi, viskositas, daya lekat, daya sebar, dan pH, serta uji aktivitas antioksidan sediaan emulgel.

4. Evaluasi Mutu Fisik Sediaan Emulgel

1) Uji Organoleptis

Uji organoleptis merupakan cara pengujian dengan menggunakan indra manusia sebagai alat utama untuk pengukuran daya penerimaan terhadap produk. Indra yang digunakan adalah indra penglihatan, peraba, pembau dan pengecap (Slamet *et al.*, 2020).

2) Uji Homogenitas

Pengujian homogenitas adalah pengujian yang dilakukan dengan mengamati campuran bahan-bahan dalam sediaan emulgel minyak sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) untuk mengetahui bahan-bahan tersebut tercampur rata atau tidak. Pengamatan dilakukan dengan cara visual yaitu mengoleskan emulgel pada

lempeng kaca kemudian diamati untuk mengetahui homogenitas pada sediaan (Slamet *et al.*, 2020).

3) Uji tipe emulsi

Uji tipe emulgel dilakukan dengan cara sediaan emulgel 0,5 gram diletakkan pada kaca objek, lalu diteteskan larutan *methylen blue*, kemudian ditutup dengan *cover glass* dan di amati dibawah mikroskop perbesaran 40x10. Apabila zat warna tersebar merata pada sediaan maka tipe emulsi M/A, tapi jika zat warna tidak tersebar merata maka tipe emulsi A/M (Hatidjah *et al.*, 2023).

4) Uji Viskositas

Viskositas merupakan tahanan dari cairan saat mengalir. Pengukuran viskositas dilakukan dengan menempatkan sampel sediaan emulgel minyak sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dalam *Viscometer Brookfield* hingga spindel terendam. Spindel menggunakan nomor 64 dan diatur dengan kecepatan 10 rpm. Nilai viskositas sediaan emulgel berdasarkan SNI 16-4380-1996 adalah 3.000-50.000 cPs (Slamet *et al.*, 2020).

5) Uji Daya Lekat

Sebanyak 0,5 gram emulgel diletakan di atas gelas objek. Lalu diletakan gelas objek yang lain diatasnya dan ditekan dengan beban seberat 1 kg selama 5 menit. Setelah itu beban diambil, dilepaskan dan dicatat waktunya sehingga kedua gelas objek tersebut terlepas. Syarat uji daya lekat yaitu lebih dari 4 detik (Slamet *et al.*, 2020).

6) Uji Daya Sebar

Uji daya sebar merupakan pengujian untuk mengetahui kemampuan sediaan emulgel minyak sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) untuk menyebar apabila diaplikasikan ke kulit. Cara yang dilakukan yaitu dengan menimbang 0,5 g emulgel minyak sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan diletakkan pada plat kaca. Kemudian di atas plat kaca tersebut diletakkan beban 50, 100, 150, 200, 250, dan 300 gram secara bergantian, setelah itu diukur diameternya menggunakan jangka sorong. Daya sebar emulgel yang baik antara 5-7 cm (Slamet *et al.*,2020).

7) Uji PH

Uji pH dilakukan dengan menggunakan pH meter dengan cara 1 gram emulgel minyak sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dilarutkan dalam aquadest sampai 10 mL. Larutan emulgel diukur dengan menggunakan elektroda pH meter. Angka yang muncul pada *display* pH meter merupakan nilai pH sediaan. pH sediaan yang memenuhi kriteria pH kulit yaitu dalam rentang 4,5-8 (Slamet *et al.*, 2020).

5. Evaluasi Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan larutan DPPH

Larutan DPPH konsentrasi 40 ppm dibuat dengan menimbang serbuk DPPH 4 mg dan dilarutkan dengan metanol p.a hingga tanda batas labu ukur 100 mL.

b. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan DPPH 40 ppm dikocok hingga homogen kemudian diukur pada panjang gelombang 500-520 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mendapatkan absorbansi $\pm 0,2-0,8$.

c. *Operating Time* DPPH

Larutan DPPH 40 ppm dikocok hingga homogen kemudian diukur absorbansinya pada menit ke 0-30 sampai diperoleh absorbansi yang stabil yaitu 21-25 menit.

d. Pembuatan Larutan Blanko DPPH

Larutan DPPH 40 ppm sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan metanol p.a sebanyak 1 mL, dikocok hingga homogen, diinkubasikan dalam ruangan gelap selama 21-25 menit. Panjang gelombang diukur pada maksimum 516 nm.

e. Pembuatan Larutan Perbandingan Kuersetin

1) Pembuatan larutan induk konsentrasi 100 ppm kuersetin digunakan sebagai pembanding ditimbang sebanyak 10 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas.

2) Pembuatan larutan seri kuersetin konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Larutan induk kuersetin 100 ppm dipipet 0,2 mL; 0,4 mL; 0,6 mL; 0,8 mL; dan 1 mL. Tiap larutan seri kuersetin masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambah dengan metanol p.a sampai tanda batas.

3) Pengukuran serapan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Masing-masing seri konsentrasi kuersetin dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan larutan DPPH 40 ppm sebanyak 2 mL, dikocok hingga homogen, diinkubasikan dalam ruangan gelap selama 21-25 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum 516 nm.

f. Pembuatan Larutan Sediaan Emulgel

1) Pembuatan larutan induk konsentrasi 1000 ppm

Sediaan emulgel minyak sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) masing-masing formula ditimbang sebanyak 50 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan dilarutkan dengan metanol p.a sampai tanda batas.

2) Pembuatan larutan uji sediaan emulgel minyak sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L) konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm

Larutan induk sediaan emulgel minyak sereh wangi (*Cymbopogon nardus* l.) 1000 ppm dipipet 0,2 mL; 0,4 mL; 0,6 mL; 0,8 mL; dan 1 mL, masing-masing dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan dengan metanol p.a sampai tanda batas.

3) Pengukuran serapan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Masing-masing seri konsentrasi sediaan emulgel dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan larutan DPPH 40 ppm sebanyak 2 mL, dikocok hingga homogen,

diinkubasikan dalam ruangan gelap selama 21-25 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum 516 nm.

g. Penentuan Persen Inhibisi

Aktivitas penangkal radikal bebas dinyatakan sebagai persen inhibisi yang dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ inhibisi radikal DPPH} : \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi bahan uji}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100 \%$$

h. Penentuan nilai *Inhibitory Concentration* (IC₅₀)

Konsentrasi sampel dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC₅₀ dari masing-masing sampel dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC₅₀.

G. Analisis Data

Data yang diperoleh dari evaluasi sediaan emulgel minyak sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) kemudian dilakukan analisis statistik menggunakan SPSS (*Statistical Package for the Social Science*). Analisis statistik yang dilakukan pada penelitian ini yaitu uji normalitas, uji homogenitas, *one way anova*, dan *post hoc*.