

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan selama lebih kurang 3 bulan, dari bulan Januari sampai bulan Maret 2025 di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi, dan Laboratorium Bahan Alam Farmasi Prodi Farmasi S1 Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Bhamada Slawi.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi neraca analitik, mortir, kompor listrik, pengayak mesh 16 dan 18, blender, oven, gelas ukur (*pyrex*), *beaker glass* (*pyrex*), *stopwatch*, penggaris, kertas pH universal, blender (*Hakasima*), pemotong, oven dan aluminium foil.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah Serbuk wortel, aquadest, Na-CMC, HPMC, Karbopol, magnesium, HCl pekat, asam sulfat, asam klorida, metanol p.a, FeCl_3 , serbuk DPPH, dan beras ketan putih.

3.3 Rancangan Penelitian

3.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang sengaja direncanakan untuk diteliti pengaruhnya dari variabel terikat, variabel bebas dalam

penelitian ini adalah basis gel masker organik serbuk wortel (*Daucus carota* L.).

3.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi karena adanya variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah sifat fisik masker organik serbuk wortel (*Daucus carota* L.) dengan kombinasi basis gel yang meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji pengukuran pH, uji waktu kering, uji daya sebar, dan uji daya lekat. Parameter aktivitas antioksidan berupa nilai absorbansi aktivitas antioksidan.

3.2.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali adalah variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan, sehingga tidak akan mempengaruhi variabel yang diteliti. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah lokasi pengambilan wortel.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah wortel. Wortel diperoleh dari Desa Rembul, Kecamatan Bojong, Kabupaten Tegal, Jawa Tengah.

3.4.2 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Program Studi Farmasi S1 Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Bhamada Slawi. Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan

kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian ini (Rubiyantri et al., 2023).

3.4.3 Pembuatan Serbuk Wortel

Simplisia yang digunakan pada penelitian ini adalah wortel yang terbaik. Kriteria wortel yang diambil yang berwarna jingga, permukaan halus dan besar. Pengambilan wortel di petani bojong dan waktu panen tanaman wortel sekitar 90-120 hari setelah penanaman, Rimpang basah yang di ambil sebanyak 1 kg. Wortel yang sudah diambil kemudian di bersihkan dengan dicuci menggunakan air lalu dipisahkan antara kotoran dengan wortel, lalu dilakukan sortasi basah dan diangin-anginkan pada suhu kamar, Setelah itu wortel yang telah dipotong tipis-tipis dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 24 jam. Lakukan sortasi kering untuk memastikan simplisia bebas dari kotoran, lalu di blender hingga halus (Sopiantri & Agustin, 2019).

Pengambilan beras ketan putih di petani Margasari dan waktu panen untuk tanaman beras ketan putih sekitar 90-120 hari setelah penanaman, Rimpang basah yang di ambil sebanyak 500 gram Beras ketan putih yang sudah diambil kemudian di bersihkan dengan dicuci menggunakan air lalu dipisahkan antara kotoran dengan beras ketan putih, lalu dilakukan sortasi basah dan diangin-anginkan pada suhu kamar, Setelah itu dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 24 jam. Lakukan sortasi kering untuk memastikan

simplisia bebas dari kotoran, lalu di blender hingga halus (Sopianti & Agustin, 2019).

3.4.4 Standarisasi Simplisia Serbuk Wortel

a. Penetapan Organoleptis Simplisia

Uji organoleptik merupakan pengujian dengan menggunakan alat indra berupa mata, hidung, dan lidah untuk mengetahui karakteristik fisik dari suatu bahan yang diuji meliputi bau, bentuk, dan warna. Organoleptik bau dinyatakan tidak berbau, praktis tidak berbau, bau khas lemah, bau khas atau lainnya (Amin et al., 2024).

b. Penetapan Susut Pengeringan

Sebanyak 1 gram serbuk ditimbang dalam cawan yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan ditimbang. Ratakan dengan menggoyangkan hingga merupakan lapisan setebal (5-10 mm). Lalu dikeringkan pada suhu penetapan hingga bobot tetap. Buka tutupnya, biarkan cawan dalam desikator hingga suhu kamar. Kemudian dicatat bobot tetap yang diperoleh penetapan susut pengeringan yang baik adalah pada kadar kurang dari 10% (Pokhrel, 2024).

c. Kadar Air

Sebanyak 0,5 gram serbuk ditimbang dalam alumunium yang telah ditara. Lalu dikeringkan pada suhu 105°C selama 15 menit didalam oven. Tujuan dari uji kadar air untuk menentukan ukuran kandungan kadar air dalam kemurnian dan kemungkinan adanya

kontaminasi. Syarat kadar air untuk simplisia pada umumnya yaitu tidak lebih dari 10% karena susut pengeringan juga mengurangi kandungan air yang menguap (FHI). (Rini, 2011).

d. Penetapan Kadar Abu

Sebanyak 1 gram serbuk ditimbang dan dimasukkan dalam krus silikat yang sebelumnya telah dipijarkan dan ditimbang. Kemudian ekstrak dipijar dengan menggunakan tanur secara perlahan-lahan hingga arang habis dengan suhu 600°C selama 30 menit. Kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang hingga bobot tetap, penetapan kadar abu total yang baik untuk ekstrak adalah tidak lebih dari 14% (Pokhrel, 2024). Selanjutnya dihitung kadar abu total yang dinyatakan dalam dengan rumus:

$$Kadar\ abu\ total = \frac{bobot\ abu\ (g)}{bobot\ ekstrak\ (g)} \times 100\%$$

Sumber: (Pokhrel,2024).

3.4.5 Skrining Fitokimia

a. Uji Flavonoid

Sampel serbuk wortel ditimbang sebanyak 2 gram kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan serbuk Magnesium 2 mg dan diberikan 3 tetes HCl pekat. Sampel dikocok dan diamati perubahan yang terjadi. Timbulnya warna kuning, biru, jingga maupun merah pada larutan menunjukkan adanya flavonoid atau menunjukkan hasil positif (Rahmawati, 2022).

b. Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram serbuk dilarutkan dalam 20 tetes asam sulfat 2 N, kemudian diuji dengan pereaksi meyer. Uji alkaloid positif jika terbentuk endapan putih hingga warna jingga dengan pereaksi mayer (Rahmawati, 2022).

c. Uji Saponin

Serbuk wortel sebanyak 2 gram ditambahkan asam klorida kemudian dikocok kuat selama 10 menit. Diamkan selama 3-5 menit kemudian tetesi dengan HCl 2 N sebanyak 2 tetes (Rahmawati, 2022).

d. Uji Tanin

Sebanyak 2 gram serbuk dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan FeCl_3 , sebanyak 3 tetes. Diamati perubahan yang terjadi, terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin (Rahmawati, 2022).

3.4.6 Formulasi

Tabel 3.1 Formulasi Masker Organik Antioksidan Serbuk Wortel

Bahan	F1(%)	F2(%)	F3(%)	Range	Kegunaan
Wortel	40	40	40	-	Zat aktif
Beras	5	5	5	5-12.5%	Pewangi
Ketan Putih					
HPMC	15	-	-	11-15%	Pengikat
Na.CMC	-	15	-	12-15%	Pengikat
Karbopol 940	-	-	2	0,5-2%	Pengikat
aquadest	Ad	Ad	Ad	-	Pembersih
	100	100	100		

Keterangan: Sediaan masker organik antioksidan serbuk wortel (*Daucus carota* L.) dengan basis gel dibuat sebanyak 15 gram.

3.4.7 Pembuatan Formulasi

Pembuatan serbuk masker dilakukan dengan cara ditimbang semua bahan. Dibuat mucilago Na.CMC dengan mengembangkannya dalam air panas. Serbuk wortel dicampur hingga homogen, kemudian ditambahkan mucilago, massa dikepal, kemudian diayak menggunakan ayakan mesh 12. Granulat basah dikeringkan dalam oven suhu 60°C hingga kadar airnya kurang dari 10%. Granul kemudian dihaluskan dan diayak kembali dengan ayakan mesh 100. Diulangi dengan cara yang sama pada pengikat HPMC, dan Karbopol 940 (Vol, 2017).

3.4.8 Uji Evaluasi

a. Uji Organoleptis

Uji organoleptik merupakan pengenalan awal yang sederhana subjektif mungkin. Uji organoleptik dilakukan dengan melihat bentuk, warna, bau, dan rasa (Ningrum, 2018).

b. Uji Homogenitas

Masker serbuk yang telah berbentuk pasta dioleskan pada lempeng kaca secara merata, kemudian diamati secara visual homogenitas dari masker (Ismail et al., 2014).

c. Uji pH

Pada sediaan masker ditambahkan air hingga membentuk pasta kemudian diukur pH sediaan. Pengukuran pH dilakukan dengan cara mencelupkan stik pH ke dalam sediaan masker yang telah berbentuk pasta (Ismail et al., 2014). Nilai kisaran pH sediaan masker adalah 4,5-6,5 (Wahyuni et al., 2022).

d. Uji Waktu Kering

Pengujian waktu kering dilakukan untuk mengetahui lama sediaan mengering dikulit hingga bisa dibilas dengan ciri-ciri adanya lapisan yang kering seperti retak dan perubahan warna. Pengujian ini dilakukan dengan cara mengaplikasikan sejumlah sediaan seperti saat mengaplikasikan masker pada punggung telapak tangan lalu dihitung waktu kering dari sediaan

menggunakan stopwatch. Syarat waktu kering masker serbuk yang baik yaitu 15-30 menit (Khalas et al., 2021).

e. Uji Daya Sebar

Uji ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan penyebaran masker didalam kulit. dilakukan dengan menggunakan kaca transparan dan anak timbangan. Digunakan sampel sebanyak 1gram diletakan pada kaca transparan kemudian diberi 100 gram beban anak timbangan. setelah itu diukur diameter penyebarannya. Daya sebar masker yang baik antara 5-7 cm (Saputra et al., 2019).

f. Uji Daya Lekat

Uji Ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan masker untuk melekat pada permukaan kulit. Dilakukan dengan tes alat daya lekat dua kaca transparan, stopwatch, anak timbangan diatas kaca transparan yang lain diatas krim tersebut, kemudian ditekan dengan beban 0,5 kg selama 5 menit, lalu pasang beban seberat 20 gram. Dicatat waktunya hingga kedua objek tersebut terlepas. Nilai uji daya lekat yang baik untuk masker yaitu 2-300 detik (Syifa Intan, 2021).

3.4.9 Uji Aktivitas Antioksidan

a. Pembuatan larutan DPPH

Timbang seksama kurang lebih 39 mg DPPH 1 mM dan larutkan dalam 50 ml methanol pro analisis sampai batas dikocok sampai homogen lalu ditempatkan dalam botol gelap (Setianingsih, 2021).

b. Pembuatan larutan blanko

Pipet 1 ml larutan DPPH 1 mM ke dalam tabung reaksi yang telah dikalibrasi 5,0 ml lalu tambahkan metanol pro analisis hingga 5,0 ml homogenkan (Setianingsih, 2021).

c. Persiapan Larutan Uji

Timbang seksama lebih kurang 10 mg sample serbuk wortel dan larutkan dalam metanol pro analisis hingga 10 ml sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 µg/ml (sebagai larutan induk). Pipet 25 µl, 50 µl, 125 µl, 250 µl dan 1 ml larutan induk kedalam setiap tabung yang telah dikalibrasi. Ambil larutan induk 5 ml untuk mendapatkan konsentrasi 5 µg/ml, 10 µg/ml, 25µg/ml, 50 µg/ml, dan 100µg/ml (Setianingsih, 2021).

d. Persiapan larutan pembanding

Timbang seksama lebih kurang 10 mg Vitamin C dan larutkan dalam metanol pro analisis hingga 10 ml dan diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 µg/ml (sebagai larutan induk). Pipet 25 µl, 50 µl, 125 µl dan 250 µl larutan induk kedalam setiap tabung yang telah dikalibrasi 5,0ml untuk mendapatkan konsentrasi 5 µg/ml, 10 µg/ml, 25 µg/ml, dan 50 µg/ml (Setianingsih, 2021).

Panjang gelombang maksimum. Dicatat absorbansi yang diperoleh pada masing-masing konsentrasi. Untuk menghasilkan pengukuran yang baik, larutan yang diukur memberikan serapan sebesar 0,2-0,8 di daerah ultraviolet atau cahaya tampak. Kemudian

diamati perbandingannya dengan serbuk DPPH sebagai standar (Mugita Sari & Zulfa, 2022).

e. Uji Aktivitas

Kedalam setiap tabung larutan uji dan larutan pembanding ditambahkan 1 ml larutan DPPH 1mM dan metanol pro analisis hingga 5,0 ml. Tutup mulut tabung dengan alumunium foil dan homogenkan. Larutan DPPH tanpa penghambatan (larutan blanko) Larutan uji dan larutan kontrol positif. Segera diinkubasi pada tempat gelap pada suhu ruang. Kemudian ukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm. Tentukan aktivitas antioksidan dengan menghitung % inhibisi dan IC_{50} (Setianingsih, 2021) Rumus Inhibisi:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorban blanko} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban blanko}} \times 100\%$$

f. Penentuan Nilai IC_{50}

Nilai IC_{50} dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier. IC_{50} yaitu bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel yang mampu menghambat atas suatu radikal sebesar 50%. Untuk menentukan IC_{50} diperlukan persamaan kurva standar dari persen inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi sampel antioksidan sebagai sumbu x.

$$y = a + bx$$

Keterangan :

y = Persen Inhibisi (%)

x = Kosentrasi (K)

Sehingga pada akhirnya diperoleh nilai konsentrasi hambat 50% ($x = IC_{50}$) dan diperoleh aktivitas antioksidan dari sampel yang diuji.

3.5 Analisis Data

Data penelitian formulasi dan uji aktivitas antioksidan masker organik serbuk wortel (*Daucus carota* L.) dengan kombinasi basis gel yang dilakukan dengan uji statistika yaitu uji one-way Anova dengan menggunakan statistical Product and Servis Solution (SPSS) for windo.

