

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi, dan Laboratorium Bahan Alam Prodi Farmasi S1 Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Bhamada Slawi Selama 6 bulan pada bulan Januari sampai dengan Juni 2025.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah rotary evaporator (Haocheng), waterbath (*Biobase*), magnetic stirrer (IKA C-MAG HS 4), *particle size analyzer* (Horiba LB 550), oven (*Yenaco Drying*), *skin analyzer*, neraca analitik (*Ohaus*), blender (Maspion), cooling incubator (memmert), autoklaf, viscometer (NDJ8S), stopwatch, pH meter, botol *spray*, pisau, toples maserasi, kain hitam, rak tabung, aluminium foil, kompor listrik, batang pengaduk, batang sendok, spatula, mortir, cawan petri, bunsen dan stamper, cawan porselen, piknometer (*pyrex*), kaca transparan, tabung reaksi (*pyrex*), gelas ukur (*pyrex*), gelas beaker (*pyrex*), pipet tetes (*pyrex*), erlenmeyer (*pyrex*).

3.2.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan antara lain ekstrak lidah buaya, ekstrak buah tomat, botol *spray*, kain flannel, kertas saring, kertas perkamen, plastik mika, pH stick, polietilen glikol 400 (PEG 400), tween 80, polivinil pirolidon (PVP), *virgin coconut oil* (VCO), oleum rosae, natrium benzoate, aqua destilata, etanol 96%, FeCl₃ 2%, FeCl₃ 1%, asam sulfat

(H₂SO₄), asam klorida pekat, asam asetat, HCl 2N, HCl pekat, natrium klorida (NaCl), potato dextrose agar, nutrien agar.

3.3 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan merupakan penelitian eksperimental di laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui apakah kombinasi ekstrak tomat dan sari lidah buaya dapat diformulasikan pada sediaan nanoemulsi *face mist* sebagai pelembab wajah dan berapakah konsentrasi ekstrak tomat dan sari lidah buaya yang menghasilkan uji fisik yang paling baik untuk sediaan nanoemulsi *face mist*.

3.3.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu variasi konsentrasi ekstrak tomat dan sari lidah buaya.

3.3.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini yaitu hasil fisik nanoemulsi *face mist* ekstrak tomat dan sari lidah buaya yang meliputi uji organoleptik, uji pH, uji waktu kering, uji homogenitas, uji viskositas, uji stabilitas, uji daya sebar semprot, uji kelembaban dan uji kesukaan (hedonik).

3.3.3. Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini yaitu pengambilan sampel tomat, lidah buaya dan metode pembuatan sediaan nanoemulsi *face mist*.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1. Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan yaitu tanaman tomat dan lidah buaya yang diperoleh langsung dari daerah pegunungan desa Tambi, Kecamatan Watukumpul, Kabupaten Pemalang.

3.4.2. Determinasi Sampel

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

3.4.3. Pembuatan Serbuk Simplisia

Buah tomat yang sudah terkumpul dibersihkan dengan air mengalir, kemudian buah tomat diiris tipis – tipis, dipisahkan dari bijinya, dan dikeringkan menggunakan lemari oven suhu 60°C selama 7 jam. Setelah buah tomat dikeringkan kemudian dilakukan sortasi kering, dan dihaluskan dengan menggunakan blender sampai menjadi serbuk kering, kemudian serbuk ditimbang sebanyak 500 gram (Wulandari & Ermawati, 2024).

3.4.4. Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak tomat dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk buah tomat direndam dengan etanol 96% dengan perbandingan 1:2 selama 3 x 24 jam, Ditutup dan diamankan selama 3 hari dengan sesekali pengadukan. Setelah 3 hari dilakukan penyaringan menggunakan kain flannel dan kertas saring. Hasil maserat dipisahkan dengan pelarut menggunakan rotary evaporator pada suhu 60°C sampai diperoleh ekstrak kental. Hasil penyarian diuapkan dengan *water bath* hingga menjadi ekstrak kental (Wulandari & Ermawati, 2024).

3.4.5. Pembuatan Sari Lidah Buaya

Lidah buaya yang dipilih berwarna hijau, berdaging tebal dan tidak terlalu tua, lidah buaya dilakukan pencucian awal untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada kulitnya. ditiriskan terlebih dahulu dengan

posisi berdiri. Lidah buaya yang telah ditiriskan kemudian dikupas untuk memisahkan kulitnya dan bagian lain yang tidak dipakai. Daging lidah buaya kemudian dipotong, kemudian diperas menggunakan kain flannel sampai didapatkan sari lidah buaya (Tasbihah, 2017).

3.4.6. Standaridisasi Ekstrak

a. Parameter Spesifik

a). Uji Organoleptik

Ditimbang masing-masing ekstrak sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam cawan porselin. Dilakukan pengamatan organoleptik meliputi bentuk, warna, bau, dan rasa dari simplisia (Marpaung & Septiyani, 2020).

b. Parameter Non spesifik

a). Uji Susut Pengeringan

Timbang 1 gram ekstrak ke dalam gelas kimia yang telah dipanaskan hingga 105°C selama 30 menit, ratakan dengan menggoyangkan hingga merupakan lapisan tebal (5-10 mm). Kemudian dikeringkan pada suhu tertentu untuk mempertahankan berat konstan. Buka tutupnya dan masukkan cangkir ke dalam *freezer* hingga mencapai suhu kamar. Kemudian berat tetap yang diperoleh dicatat (Marpaung & Septiyani, 2020).

Persentase susut pengeringan dihitung dengan rumus:

$$\text{Susut Pengeringan} = \frac{\text{bobot ekstrak kering (g)}}{\text{bobot ekstrak basah (g)}} \times 100 \%$$

b). Uji Kadar Air

Ekstrak dimasukkan ke piringan alat moisture analyzer, suhu diatur 105 °C dan proses pengukuran dimulai. kemudian tunggu hingga alat menunjukkan hasil kadar air dalam satuan persen (%) (Saraswati. et al., 2025). Syarat kadar air yang baik tidak lebih dari 10% (Marpaung & Septiyani, 2020).

c). Uji Kadar Abu Total

Ekstrak ditimbang terlebih dahulu sebanyak 1 gram dan kemudian dimasukkan ke dalam labu silikat sebelum dibakar, kemudian ekstrak dinyalakan perlahan menggunakan tanur hingga arang habis (Asjur *et al.*, 2023). Kemudian didinginkan dan timbang hingga beratnya tetap. Kemudian dilakukan perhitungan kadar abu total yang dinyatakan dalam persentase (b/b) dengan menggunakan rumus: (Marpaung & Septiyani, 2020).

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

d). Uji Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu total dididihkan dengan 25 mL asam klorida pekat selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut asam dipisahkan dengan cara disaring menggunakan kertas saring bebas abu dan residunya dibilas dengan air panas. Abu yang tersaring dan

kertas saringnya dimasukkan kembali dalam krus silikat yang sama. Setelah itu ekstrak dipijarkan dengan menggunakan tanur secara perlahan-lahan (dengan suhu dinaikkan secara bertahap hingga $600 \pm 250^{\circ}\text{C}$) hingga arang habis. Kemudian ditimbang hingga bobot tetap (Maryam *et al.*, 2020).

$$\% \text{ Kadar air} = \frac{A1 - C - A0}{B} \times 100\%$$

Keterangan : A1 : Berat cawan + ekstrak setelah pemijaran (g)
 A0 : Berat cawan kosong (g)
 B : Berat sampel awal (g)
 C : Bobot kertas saring kosong (g)

e). Uji Bobot Jenis

Siapkan piknometer yang sudah bersih dan dalam keadaan kering. Kemudian ditimbang terlebih dahulu piknometer sebagai nilai W1 (berat piknometer kosong). Piknometer di isi dengan aquades dan ditimbang sebagai nilai W2 (berat piknometer dan aquadest), aquadest di keluarkan dan pikno di keringkan kembali. Kemudian dimasukan ekstrak cair dengan konsentrasi 5% ke dalam piknometer kemudian di timbang sebagai nilai W3 (berat piknometer dan ekstrak 5%) (Waty *et al.*, 2021).

$$\text{Bobot jenis} = \frac{W1 + W2}{W1 + W3}$$

Keterangan : W1 = Berat piknometer kosong (g)
 W2 = Berat piknometer aquadest (g)
 W3 = Berat piknometer ekstrak (g)

f). Uji Ekstrak Bebas Etanol

Uji ini dilakukan dengan dimasukan 1mL ekstrak kental ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 tetes H_2SO_4 dan 2 tetes asam asetat kemudian dipanaskan. Uji positif ditandai tidak adanya bau ester yang khas dari etanol (Tivani *et al.*, 2021).

3.4.7. Skrining Fitokimia

a. Uji Senyawa Flavonoid

Pada uji flavonoid ekstrak dididihkan terlebih dahulu dalam 100mL aquadest panas selama 5 menit dan kemudian dilakukan penyaringan. Selanjutnya tambahkan serbuk magnesium dan 0,5 mL HCl ke dalam 5 mL filtrat, lalu kocok secara kuat-kuat. Uji positif terbentuknya warna merah atau jingga atau kuning (Wahyuningsih *et al.*, 2023).

b. Uji Senyawa Polifenol

Pada uji polifenol ekstrak ditimbang sebanyak 1mg, kemudian ditambah dengan 3 tetes larutan $FeCl_3$ 2%. Uji positif terbentuknya larutan berwarna warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam (Nofita *et al.*, 2024).

c. Uji Senyawa Saponin

Pada uji saponin ekstrak 100mg dimasukkan kedalam tabung reaksi. Tambahkan 2mL air panas kedalam sampel uji pada tabung reaksi. Kocok selama 10 detik, uji positif terbentuknya busa selama 30 menit dan tidak hilang jika ditambahkan 1 tetes HCl 2N (Wahidah *et al.*, 2021).

d. Uji Senyawa Tanin

Pada uji ini ekstrak dipipet sebanyak 2mL masukkan kedalam tabung reaksi. Ekstrak ditambahkan dengan larutan FeCl_3 1% sebanyak 1 mL. Uji positif ditandai adanya perubahan warna menjadi hijau, hijau kehitaman (Reiza *et al.*, 2019).

3.4.8. Uji Cemarkan Mikroba

Cemarkan mikroba dilakukan ekstrak 1 gram dilarutkan dalam 10 mL pengencer yaitu larutan NaCl, dikocok hingga homogen didapatkan pengenceran 10^{-1} . Siapkan 3 tabung reaksi, lalu 9 mL pengencer dimasukkan pada masing-masing tabung. Pengenceran 10^{-1} dipipet sebanyak 1 mL ke dalam tabung pertama, kocok hingga homogen didapatkan pengenceran 10^{-2} selanjutnya pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} dilanjutkan. Angka lempeng total (ALT) dengan tiap pengenceran dipipet sebanyak 1 mL dengan pipet steril ke dalam masing-masing cawan petri, perlakuan ini dilakukan secara duplo, kemudian tuang 15 mL media NA (Nutrien Agar) yang telah dicairkan pada suhu 45°C ke dalam tiap cawan petri, lalu digoyang agar suspensi tersebar merata. Setelah media memadat, cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi terbalik. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung dan dikalikan dengan faktor pengenceran. Syarat angka lempeng total 1×10^6 CFU/mL (Maryam *et al.*, 2020).

Selanjutnya penentuan total kapang khamir tiap pengenceran dipipet sebanyak 1 mL dengan pipet steril ke dalam masing-masing cawan petri, pengujian ini dilakukan secara duplo, kemudian masukan 15 mL media

PDA (Potato Dextrose Agar) yang masih cair pada suhu 45°C pada cawan petri lalu digoyang agar suspensi tersebar merata, lalu diinkubasi pada suhu 25°C selama 3 hari. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung dan dikalikan dengan faktor pengenceran. cecair bakteri $\leq$ 1.000 koloni/g (Utami et al., 2017).

3.4.9. Formulasi Nanoemulsi Sediaan *Face Mist*

Tabel 3.1 Formulasi nanoemulsi sediaan *face mist* ekstrak lidah buaya dan buah tomat

Bahan	Konsentrasi %				Fungsi	Range	Sumber
	F0	F1	F2	F3			
Sari lidah buaya	-	5,25	5	4,75	Zat aktif	-	(Asjur <i>et al.</i> , 2023)
Ekstrak buah tomat	-	0,25	0,5	0,75	Zat aktif	-	(Asjur <i>et al.</i> , 2023)
Natrium Benzoate	0,2	0,2	0,2	0,2	Pengawet	0.1–0.5%	(Rowe et al., 2009)
PVP	4	4	4	4	Pengikat	0,5-5%	(Rowe et al., 2009)
VCO	5	5	5	5	Fase minyak	5%	(Zubaydah <i>et al.</i> , 2023)
Tween 80	30	30	30	30	Surfaktan	1–10%	(Rowe et al., 2009)
PEG 400	15	15	15	15	Kosurfaktan	30%	(Rowe et al., 2009)
Oleum rosae	1	1	1	1	Pewangi	1%	(Asjur <i>et al.</i> , 2023)
Aquadest	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Pelarut	-	(Asjur <i>et al.</i> , 2023)

Keterangan :

F0: Formulasi 0 tanpa ekstrak buah tomat dan sari lidah buaya

F1: Formulasi 1 ekstrak buah tomat 0,25% dan sari lidah buaya 5,25%

F2: Formulasi 2 ekstrak buah tomat 0,5% dan sari lidah buaya 5%

F3: Formulasi 3 ekstrak buah tomat 0,75% dan sari lidah buaya 4,75 %

3.4.10. Pembuatan Formulasi Nanoemulsi Sediaan *Face Mist*

Nanoemulsi terbentuk dengan mencampur fase minyak dan fase air menggunakan *magnetic stirrer*. Nanoemulsi terdiri zat aktif yaitu fase

minyak, surfaktan dan dihomogenkan selama 2 jam menggunakan *magnetic stirrer*, kemudian masukkan PE4 400 dan ditimbang sari lidah buaya dan ekstrak buah tomat. Campurkan sari lidah buaya dan buah tomat yang sudah ditimbang ke dalam dua fase tersebut. Kemudian larutkan natrium benzoate dan masukkan natrium benzoate yang sudah dilarutkan dengan aquadest, tambahkan polivinil pirolidon yang sudah dilarutkan, kemudian ditambahkan oleum rosae. Ditambahkan aquadest kemudian homogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 1000 rpm selama 30 menit hingga terbentuk larutan yang jernih dan transparan. kemudian dimasukkan ke dalam botol *spray* (Zubaydah *et al.*, 2023) & (Asjur *et al.*, 2023).

3.4.11. Evaluasi Sediaan

a. Uji Organoleptik

Pengujian ini dilakukan uji organoleptik dengan mengamati penggunaan indera manusia sebagai alat utama untuk mengukur daya penerimaan suatu produk seperti warna, aroma dan bentuk (Herliningsih & Anggraini, 2021).

b. Uji pH

Pengujian ini dilakukan uji organoleptik uji pH dengan menggunakan pH meter dengan cara mencelupkan ujung alat pH meter yang sudah dikalibrasi, dan ditunggu sampai angka berhenti bergerak. Sediaan harus memenuhi pH kulit, yaitu berada dalam rentang pH antara 4,5 – 8 (Nofita *et al.*, 2024).

c. Uji Homogenitas

Pengujian ini dilakukan uji homogenitas ini dilakukan dengan cara menyemprotkan sampel sediaan pada keping kaca atau bahan transparan. Sediaan uji harus menunjukkan susunan yang susunan yang seragam. Selain itu, tidak boleh ada partikel kasar yang terlihat pada sediaan tersebut (Anindhita & Oktaviani, 2020).

d. Uji viskositas

Pengujian ini dilakukan dengan memasukkan sediaan *face mist* kedalam wadah atau beker gelas, kemudian ditentukan roter yaitu menggunakan nomer 2 dengan speed 60. Pengujian ini menggunakan alat viskometer (Asjur *et al.*, 2023).

e. Uji Daya Semprot

Pengujian ini dilakukan uji daya semprot dengan penyemprotkan pada plastik mika dengan jarak 5 cm kemudian diukur daya sebar sediaan dengan menggunakan penggaris. Parameter yang digunakan diameter (Aspia *et al.*, 2024). Diameter semprotan yang baik pada range antara 5-7cm. Semakin besar daya sebar yang diberikan, maka kemampuan zat aktif untuk menyebar dan kontak dengan kulit semakin luas (Badriyah, & Ifandi, 2021).

f. Uji Waktu Kering

Pengujian ini dilakukan uji waktu kering dengan cara mengaplikasikan sediaan *face mist* pada bagian dalam siku penulis. Setelah sediaan diaplikasikan, waktu yang dibutuhkan untuk sediaan

tersebut mengering akan dihitung dengan *stopwatch*. Uji ini dengan memperhatikan waktu setelah mengaplikasikan hingga sediaan kering. Agar uji waktu kering dapat dianggap baik, waktu yang dibutuhkan untuk pengeringan kurang dari 5 menit (Widyasanti *et al.*, 2024).

g. Uji Kelembaban

Pengujian ini dilakukan uji kelembapan diukur menggunakan alat *Skin Analyzer*. Langkah yang pertama buka tutup pada alat dan probe logam akan terlihat. Tombol start ditekan, probe logam diletakkan pada kulit wajah, dan ditekan perlahan hingga beberapa detik kemudian terdengar bunyi bip bahwa pengujian telah selesai dan pembacaan indeks kelembaban kulit dapat di baca skor kelembaban pada kulit wajah. Pengukuran dilakukan sebelum dan sesudah pengaplikasian *face mist* pada wajah panelis. Pada hasil uji kelembaban kulit syarat yang memenuhi kriteria uji kelembaban berada pada rentang 43-46% kulit lembab, dan >47% kulit sangat lembab (Maria *et al.*, 2023).

h. Uji Stabilitas

Pengujian ini dilakukan uji stabilitas yang melibatkan 6 siklus dimana 1 siklus terhitung jika sudah melewati 2 perbedaan suhu. Suhu pertama yang digunakan pada suhu dingin yaitu $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 1 x hari. Selanjutnya sediaan dipindahkan ke lingkungan yang bersuhu $40\pm 2^{\circ}\text{C}$. Kondisi fisik sediaan dilihat sebelum dan sesudah percobaan

sebagai perbandingan perubahan bentuk fisik yang terjadi sehingga memberikan pemahaman yang lebih efisien terhadap stabilitasnya (Febriani *et al.*, 2024).

i. Uji Hedonik

Pengujian ini menggunakan 20 penelis yang dilakukan menggunakan parameter warna, aroma, dan tekstur produk. Para peserta kemudian diberikan pertanyaan, dan berdasarkan pengamatan mereka mengisi kuesioner dengan skala sangat, suka, suka, netral, kurang suka, tidak suka (Wahyuningsih *et al.*, 2023).

3.4.12. Ukuran Partikel

Alat PSA (*Particle Size Analyzer*) dilakukan di kampus Universitas Islam Indonesia untuk mengetahui ukuran partikel sediaan yang dihasilkan. Alat *Particle Size Analyzer* dipanaskan terlebih dahulu selama ± 20 menit. Sebelum digunakan perangkat komputer dinyalakan terlebih dahulu. Kemudian dilakukan pengaturan pada alat *Particle Size Analyzer*. Untuk pertama kali digunakan cara otomatis dengan bentuk grafik distribusi standard. Larutan standar 20 kali pengenceran dikocok menggunakan *vortex mixer* selama ± 1 menit. Bersihkan kuvet terlebih dahulu dengan aquadest. Kemudian dimasukan larutan standar 20 kali pengenceran ke dalam cuvet yang sudah bersih hingga terisi 2/3 kuvet. Setelah kuvet yang berisi larutan standar kemudian di masukkan kedalam alat dan ditutup dengan sebuah sensor. Pengaturan suhu diatur pada suhu 25°C dengan menekan menu “*Temp Panel*”. Standar mulai diukur dengan menekan menu “*Auto I*”. Maka secara otomatis alat akan mengukur

besarnya ukuran partikel sediaan yang di buat sebanyak enam kali pengukuran. Cara yang sama dilakukan pada larutan standar 200 kali pengenceran dan 2000 kali pengenceran. Selanjutnya menggunakan cara otomatis dengan bentuk distribusi *sharp*. Prosedur ini dilakukan sama dengan pada metode otomatis pertama, tetapi pengaturan grafik distribusi diganti dengan bentuk *sharp* (Halimiyah, 2023).

3.5 Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis menggunakan SPSS (*Statistical Product and Service Solution*). Apabila hasil data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji One Way ANOVA untuk mengetahui perbedaan rata-rata diantara kelompok dan dilanjutkan uji Kruskal-Wallis.