

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini bertempat di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi Universitas Bhamada Slawi yang dilakukan pada Januari-Maret 2025.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1. Alat

Timbangan analitik (ohaus), wadah maserasi, mortir dan stemper, batang pengaduk (rofa), sendok tanduk (onii), penangas air (*Thermostat water bath HH-60*), mangkok kaca, cawan porselin, erlenmeyer, gelas ukur (pyrex), cetakan stik, kaca objek (slides) dan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu).

3.2.2. Bahan

Daun teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze), asam stearat, etanol 96%, gliserin, potasium hidroksida (KOH), metil paraben, VCO, Larutan DPPH, NaOH, KI, FeCl₃, H₂SO₄, CCl₄, *alluminium foil* (klin pak), pH universal, kain flanel dan kertas saring.

3.3 Rancangan Penelitian

3.3.1. Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi, variabel bebas pada penelitian ini yaitu variasi konsentrasi asam stearat sebagai bahan pengeras dalam formula *stick antiaging* ekstrak daun teh (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze), kandungan ekstrak daun teh hijau dalam *stick antiaging*.

3.3.2. Variabe Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi, variabel terikat pada penelitian ini adalah hasil dari uji organoleptis, uji pH, uji suhu lebur, uji homogenitas, uji daya oles, uji daya sebar, aktivitas antioksidan dan nilai IC₅₀.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengumpulan Sampel

Daun teh hijau diperoleh dari Desa Bumijawa Kecamatan Bumijawa Kabupaten Tegal, Jawa Tengah.

3.4.2 Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian merupakan tanaman daun teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). Determinasi tanaman daun teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) dilakukan di Laboratorium Bahan Alam di Fakultas Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi Universitas Bhamada Slawi.

3.4.3 Pembuatan Serbuk

Sampel tanaman daun teh hijau yang telah dipetik kemudian dicuci menggunakan air dan ditiriskan. Setelah itu, dilakukan sortasi basah dan ditimbang berat basah nya. Dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60°C. Sampel kering selanjutnya dilakukan sortasi kering dan menimbang berat keringnya. Daun teh hijau yang kering kemudian dihaluskan menggunakan blender. Setelah menjadi serbuk, sampel selanjutnya dimaserasi.

3.4.4 Pembuatan Ekstrak

Maserasi dilakukan dengan memasukkan 500 gram serbuk daun teh hijau ke dalam wadah maserasi lalu direndam menggunakan etanol 96% sebanyak 5000 ml. Setiap 24 jam dilakukan pengadukan untuk memastikan bahwa proses ekstraksi berjalan dengan baik lalu disaring untuk diambil maserat nya. Setelah proses ekstraksi selesai, kemudian disaring menggunakan kain flanel, kertas saring dan corong pisah. Untuk memekatkan ekstrak

dilakukan penguapan di atas penangas air, sehingga hasil akhirnya akan berupa ekstrak yang pekat.

3.4.5 Uji Standardisasi Ekstrak

1. Penetapan Susut Pengeringan

Timbang 1 g ekstrak ke dalam cawan yang telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan timbang. Ratakan dengan cara mengocok hingga terbentuk lapisan tebal (5-10 mm). Kemudian dikeringkan pada suhu penetapan sampai bobot tetap. Tutup cawan dibuka dan biarkan cawan dalam desikator hingga suhu kamar. Berat padatan yang diperoleh kemudian dicatat (Marpaung & Septiyani, 2020). Nilai yang baik untuk susut pengeringan adalah kurang dari 10%, karena susut pengeringan juga merepresentasikan kandungan air yang diuapkan (Maryam et al., 2020). Persentase penyusutan pengeringan dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

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

2. Penetapan Kadar Air

Sebanyak 1 g ekstrak ditimbang dalam cawan yang telah ditara. Kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C ± 3 jam. Cawan tersebut kemudian dimasukkan dalam desikator hingga suhu kamar dan dicatat bobot tetap yang diperoleh (Marpaung & Septiyani, 2020). Kadar air tergantung pada jenis ekstrak, dengan ekstrak kering kadar air <10%. Kadar air menentukan stabilitas ekstrak, biasanya kadar air lebih

dari 10% berisiko (Maryam et al., 2020). Rumus untuk menentukan kadar air adalah:

$$\text{Kadar air} = \frac{A - B}{A} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Bobot sampel sebelum dipanaskan

B = Bobot sampel setelah dipanaskan

3. Penetapan Kadar Abu Total

1 g ekstrak ditimbang dan ditempatkan dalam wadah silikat yang sebelumnya telah dibakar dan ditimbang. Ekstrak kemudian dibakar secara perlahan di dalam tanur hingga arang habis. Kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang sampai berat tertentu (Marpaung & Septiyani, 2020). Kadar abu harus memiliki nilai yang kecil, karena parameter ini mengindikasikan adanya cemaran logam berat yang tahan terhadap suhu tinggi (Maryam et al., 2020). Syarat kadar abu total yaitu tidak lebih dari 7,6% (Kemenkes, 2017). Kadar abu total, dinyatakan dalam % (b/b), kemudian dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

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

3.4.6 Skrining Fitokimia

1. Flavonoid

Uji alkalin digunakan untuk menguji kandungan flavonoid. 1 ml dari ekstrak diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian beberapa tetes larutan natrium hidroksida (NaOH) ditambahkan dan dikocok. Munculnya warna kuning pekat yang

berubah menjadi tidak berwarna setelah penambahan asam encer menunjukkan adanya flavonoid (Abubakar & Haque, 2020).

2. Alkaloid

Uji Wagner digunakan untuk menguji kandungan alkaloid. 1 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 ml larutan kalium iodida (KI) dan dikocok perlahan. Jika terbentuk endapan coklat kemerahan, sampel mengandung alkaloid (Abubakar & Haque, 2020).

3. Saponin

Pengujian kandungan saponin dilakukan dengan 1 ml sampel ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian 1 ml air suling ditambahkan dan dikocok perlahan selama 30 detik. Jika terbentuk busa, sampel mengandung saponin (Abubakar & Haque, 2020).

4. Tanin

Pengujian kandungan tanin dilakukan dengan 1 ml sampel ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 10% dan dikocok perlahan selama 30 detik. Jika terbentuk warna hitam kebiruan, maka sampel mengandung tanin (Abubakar & Haque, 2020).

5. Fenol

Pengujian kandungan fenol dilakukan dengan 1 ml sampel ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 1 ml FeCl_3 5% dan dikocok perlahan. Jika terbentuk warna hijau, maka sampel mengandung fenol (Abubakar & Haque, 2020).

6. Triterpenoid

Pengujian kandungan terpenoid dilakukan dengan 1 ml ekstrak ditambahkan ke dalam larutan CCl_4 (karbon tetraklorida) dan kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan H_2SO_4 . Jika larutan berwarna coklat kemerahan, sampel mengandung triterpenoid (Abubakar & Haque, 2020).

3.4.7 Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia Sinensis* (L.) Kunzte)

1. Pembuatan Larutan Induk DPPH

Ditimbang DPPH (*2,2-difenil-1-picrylhidrazil*) sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dalam etanol dengan menggunakan labu ukur 100 mL (1000 ppm), lalu ditempatkan dalam botol kaca berwarna gelap dan dihomogenkan (Apitalau et al., 2021).

2. Pembuatan Larutan Blanko DPPH

Larutan DPPH diambil sebanyak 1 mL dimasukkan kedalam labu ukur 5 mL, kemudian dilarutkan dengan etanol hingga tanda batas dan dihomogenkan. Kemudian didiamkan selama 30 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm (Apitalau et al., 2021).

3. Pembuatan Larutan Pembanding Vitamin C

Serbuk vitamin C ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL dan dilarutkan dengan etanol sampai tanda batas, Pengujian dilakukan dengan cara membuat pengenceran 5 seri konsentrasi larutan pembanding vitamin C, 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, 2 ppm dan 2,5 ppm. Dari larutan stok masing-masing dipipet 0,25 mL, 0,5 mL, 0,75 mL, 1 mL dan 1,25 mL masing-masing

ditambahkan dengan etanol dalam labu ukur 5 mL sampai tanda batas, kemudian disetiap konsentrasi diambil 1 mL dan ditambahkan 2 mL larutan DPPH. Kemudian masing-masing larutan tersebut diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm sebanyak 3 replikasi (Apitalau et al., 2021).

4. Pembuatan Uji Efektivitas Antioksidan DPPH

Sampel ekstrak daun teh hijau ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian ditambahkan dengan etanol dalam labu ukur 100 mL diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan stok yang telah selesai dibuat kemudian diambil dengan konsentrasi 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm, 70 ppm, 90 ppm yang akan dihitung dengan menggunakan rumus pengenceran. Berikut rumus pengenceran yang digunakan : $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$

Kemudian pada kelima konsentrasi masing-masing hasil yang didapatkan, dipipet 0,05 mL, 0,15 mL, 0,25 mL, 0,35 mL, 0,45 mL, dicukupkan volumenya dengan etanol sampai tanda batas dalam labu ukur 5 mL, kemudian disetiap konsentrasi diambil 1 mL dan ditambahkan 2 mL larutan DPPH. Kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Setelah absorbansi didapat, dapat dihitung dengan menggunakan parameter yang biasa digunakan untuk menginterpretasikan hasil dari uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah nilai IC_{50} . Untuk menghitung nilai IC_{50} memakai persamaan regresi linear $y = a + bx$. Diperlukan data persen inhibisi dari pengujian yang dilakukan

(Apitalau et al., 2021). Persen inhibisi dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Ghosal & Mandal, 2012).

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi Blanko} - \text{Absorbansi Uji}}{\text{Absorbansi Blanko}} \times 100$$

3.4.8 Formulasi *Stick Antiaging* Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze)

Tabel 3.1. Formulasi *Stick Antiaging*

Bahan	Formulasi (%)				Fungsi
	F1	F2	F3	Range	
Ekstrak Daun Teh Hijau	5	5	5	-	Zat aktif
Asam stearat	10	15	20	1-20	<i>Hardener</i>
Gliserin	1	1	1	1-15	Humektan
Potasium Hidroksida	1	1	1	0,1-1	Penstabil pH
Metil Paraben	0,4	0,4	0,4	0,4	Pengawet
VCO	6	6	6	1-25	Pengikat
Aquadest	ad 100	ad 100	ad 100	-	Pelarut

Keterangan : Tiap Formula Dibuat Sebanyak 15 gram

3.4.9 Pembuatan Sediaan *Stick Antiaging* Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze)

Pada pembuatan *stick antiaging* ekstrak daun teh hijau ini dibagi menjadi 3 massa. Massa 1 berisi metil paraben yang dilarutkan dengan sedikit etanol. Massa 2 berisi KOH yang dilarutkan dengan aquadest. Pada massa 3 cawan berisi asam stearat dileburkan hingga suhu 60-85°C. Setelah lebur, tambahkan VCO ke dalam massa 3 dan tambahkan gliserin. Tambahkan massa 1 ke dalam massa 3. Tambahkan massa 2 ke dalam massa 3. Selanjutnya masukkan semua sisa etanol ke dalam massa 3, aduk hingga homogen. Angkat cawan dari *hot plate* lalu tambahkan ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) sambil diaduk dan di dinginkan hingga suhu 55°C kemudian dituangkan ke dalam cetakan dibiarkan memadat pada suhu kamar.

3.4.10 Evaluasi Sediaan *Stick Antiaging* Ekstrak Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze)

1. Uji Organoleptis

Uji organoleptik dilakukan dengan mengamati perubahan bentuk, warna dan bau dari sediaan *stick antiaging* ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) (Saryanti et al., 2019) .

2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan mengoleskan sediaan pada sekeping kaca kemudian ditutup dengan kaca lainnya kemudian diamati homogenitasnya (Saryanti et al., 2019) .

3. Uji pH

Pengukuran pH dilakukan dengan mencelupkan pH universal kedalam sediaan *stick antiaging* yang telah dibuat (Saryanti et al., 2019). Persyaratan nilai pH untuk kulit pada manusia yaitu 4,5-6,5 (I Komang Ary Werdhi Widnyana et al., 2021).

4. Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan dengan meletakkan 0,5 gram sampel diatas kaca arloji, kaca lainnya diletakkan diatasnya. Ditambahkan 125 gram beban tambahan dan didiamkan selama 1 menit (I Komang Ary Werdhi Widnyana et al., 2021). Nilai daya sebar yang baik yaitu 5-7 cm (Kiptiah et al., 2022).

5. Uji Daya Oles

Untuk menentukan daya oles dilakukan secara visual dengan cara mengoleskan *stick antiaging* pada kulit punggung tangan kemudian mengamati banyaknya warna yang menempel dengan perlakuan 5 kali

pengolesan. Sediaan *stick* dikatakan mempunyai daya oles yang baik jika terlihat mengkilap dan merata (Risnawati et al., 2012).

6. Uji Suhu Lebur

Uji suhu leleh dilakukan dengan *stick antiaging* dimasukkan dalam oven dengan suhu awal 50°C selama 15 menit, diamati apakah *stick antiaging* meleleh atau tidak, setelah itu suhu dinaikkan 1°C setiap 15 menit dan diamati pada suhu berapa *stick antiaging* mulai meleleh (Risnawati et al., 2012).

3.5 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan dengan cara deskriptif yang menggunakan aplikasi *Statistical Product dan Service Solution* (SPSS). Di mana data deskriptif diperoleh dengan pengamatan uji organoleptik dan uji homogenitas. Uji yang dilakukan selanjutnya adalah analisis *One Way ANOVA* yaitu untuk mengetahui apakah ada perbedaan bermakna pada sediaan *stick antiaging* formulasi 1, formulasi 2 dan formulasi 3. Apabila hasil yang diperoleh $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara formulasi masing-masing sediaan.