

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan selama lebih kurang 3 bulan, dari bulan Januari sampai bulan Maret 2024 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 Penelitian

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 (*Miyako*), oven dan aluminium foil.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan adalah ekstrak daun teh hijau, aquadest, Na-CMC, HPMC, Karbopol, magnesium, HCl pekat, asam sulfat, asam klorida, metanol p.a , FeCl_3 , serbuk DPPH, dan vitamin C.

3.3 Rancangan Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

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

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah serbuk daun teh hijau (*Camellia Sinensis*).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi karena adanya variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah sifat fisik masker organik serbuk teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan kombinasi basis gel yang meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji pengukuran pH, uji waktu kering, uji daya sebar, uji daya lekat dan uji iritasi.

3.3.3 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 daun teh hijau.

3.4 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah serbuk daun teh hijau. Daun teh hijau diperoleh dari Perseroan Terbatas Perkebunan Nusantara, Semugih (Moga-Pemalang).

3.3.2 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi Program Studi Farmasi S1 Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Bhamada Slawi. Determinasi tanaman

dilakukan untuk memastikan kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian ini (Rubiyanti et al., 2023).

3.3.3 Pembuatan Serbuk daun teh hijau

Simplisia yang digunakan pada penelitian ini adalah daun teh hijau yang masih muda. Kriteria teh hijau yang diambil yang masih segar, kemudian bersihkan dengan dicuci menggunakan air lalu dipisahkan antara kotoran dengan daun, lalu dilakukan sortasi basah setelah itu diangin-anginkan pada suhu kamar tidak boleh terkena sinar matahari langsung selama 3-5 hari sampai kering. Lakukan sortasi kering untuk memastikan simplisia bebas dari kotoran, setelah itu daun teh hijau kering dibuat simplisia dengan dirajang hingga terbentuk serbuk kasar, lalu di blender hingga halus (Depkes RI, 2000).

3.3.4 Standarisasi Simplisia

1. Penetapan Susut Pengerinan

1 g 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 (Depkes RI, 2000).

Persentase susut pengeringan dihitung dengan rumus:

$$\text{susut pengeringan} = \frac{\text{bobot serbuk kering (g)}}{\text{bobot serbuk basah (g)}} \times 100\%$$

Persyaratan yang baik untuk susut pengeringan adalah kurang dari 10%, karena susut pengeringan juga mewakili kandungan air yang menguap (FHI).

2. Kadar Air

Sebanyak 0,5 gram serbuk ditimbang dalam aluminium yang telah ditara. Lalu dikeringkan pada suhu 105° C selama 16 menit didalam oven. Tujuan dari uji kadar air untuk menentukan ukuran kandungan kadar air dalam kemurnian dan kemungkinan adanya kontaminasi. Persyaratan kadar air tidak lebih dari 10% (Depkes RI, 2000).

3. Penetapan Kadar Abu

1 g 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. Kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang hingga bobot tetap (Depkes RI, 2000). Berdasarkan FHI kadar abu total tidak lebih dari 2. Lalu dihitung kadar abu total yang dinyatakan dalam % (b/b) dengan rumus:

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

Sumber : Marpaung & Septiyani, (2020)

3.3.5 Skrining Fitokimia

a. Uji Flavonoid

Sampel serbuk daun teh hijau 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. Terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada larutan menunjukkan adanya flavonoid (Novisa et al., 2021).

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 (Gustavina et al., 2017).

c. Uji Saponin

Serbuk daun teh hijau 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. Jika buih stabil menandakan positif saponin (Novisa et al., 2021).

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 (Novisa et al., 2021).

3.3.6 Parameter

1. Identifikasi Simplisia

Pendeskripsi tata nama, khususnya nama simplisia dan ekstrak, nama latin tumbuhan, bagian tumbuhan yang digunakan dan nama tumbuhan dalam bahasa Indonesia (Depkes RI., 2000).

2. Penetapan Organoleptik Simplisia

Pemeriksaan organoleptik simplisia meliputi bentuk, bau, rasa dan warna (Depkes RI., 2000).

3.3.7 Formulasi

Tabel 3.1. Formulasi Masker Organik Antioksidan Serbuk Daun Teh Hijau (*Camellia Sinensis*) Dengan Kombinasi Basis Gel

Bahan	F1	F2	F3	Range	Kegunaan	Literatur
	(%)	(%)	(%)			
Teh hijau	40	40	40	-	Zat aktif	(Andaryekti et al., 2015)
Beras ketan hitam	11	11	11	8-15	Bahan pengisi	(Supartiningsih et al., 2021)
HPMC	13	-	-	11-15	Basis gel	(Supartiningsih et al., 2021)
Na.CMC	-	13	-	12-15	Basis gel	(Supartiningsih et al., 2021)
Karbopol 940	-	-	13	40	Basis gel	(Supartiningsih et al., 2021)
Aquadest	Ad	Ad	Ad	-	Pembasah	(Supartiningsih et al., 2021)
	100	100	100			

3.3.8 Pembuatan Formula

Pembuatan serbuk masker dilakukan dengan metode granulasi basah dengan cara ditimbang semua bahan. Dibuat mucilago Na.CMC dengan mengembangkannya dalam air panas. Pati beras ketan hitam dan serbuk daun teh hijau dicampur hingga homogen, kemudian ditambahkan mucilago, massa dikepal, kemudian diayak dengan 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 mess 100. Diulangi dengan cara yang sama pada pengikat HPMC, dan Karbopol 940.

3.3.9 Uji Evaluasi

Tahap uji evaluasi sediaan masker organik daun teh hijau dengan kombinasi basis gel dilakukan sebagai berikut :

1. Uji Organoleptis

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

2. 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).

3. 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).

4. 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).

5. Uji Daya Sebar

Uji ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan penyebaran masker didalam kulit. dilakukan dengan menggunakan kaca transparan dan anak timbangan. Digunakan sampel sebanyak 1gr diletakan pada kaca transparan kemudian diberi 200gr beban anak timbangan. setelah itu diukur diameter

penyebarannya. Daya sebar masker yang baik antara 5-7 cm (Saputra et al., 2019).

6. 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 gram, dan dilakukan dengan cara melekatkan krim secukupnya diatas kaca transparan yang lain diatas krim tersebut. kemudian ditekan dengan beban 0,5 kg selama 5 menit, lalu pasang beban seberat 20 g. Dicatat waktunya hingga kedua objek tersebut terlepas. nilai uji daya lekat yang baik untuk masker yaitu 2-300 detik (Syifa Intan Lutfiana, 2021).

3.3.10 Uji Antioksidan

1. Pembuatan larutan blanko

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

2. Pembuatan larutan DPPH

Timbang seksama kurang lebih 39, 5 mg DPPH (BM 394,32) dan larutkan dalam 100 ml methanol pro analisis, lalu ditempatkan dalam botol gelap.

3. Persiapan Larutan Uji

Timbang seksama lebih kurang 10 mg sample ekstrak teh hijau dan larutkan dalam metanol pro analisis hingga 10 ml

sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$ (sebagai larutan induk). Pipet 25 μl , 50 μl , 125 μl , 250 μl dan 1 ml larutan induk kedalam setiap tabung yang telah dikalibrasi. 5 ml untuk mendapatkan konsentrasi 5 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 25 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$, dan 100 $\mu\text{g/ml}$.

4. 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 $\mu\text{g/ml}$ (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 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 25 $\mu\text{g/ml}$, dan 50 $\mu\text{g/ml}$.

5. Uji Aktivitas

Kedalam setiap tabung larutan uji dan larutan pembanding ditambahkan 1 ml larutan DPPH 1mM dan methanol pro analisis hingga 5,0 ml. Tutup mulut tabung dengan alumunium foil dan homogenkan. Larutan DPPH tanpa penghambatan (larutan blangko). Larutan uji dan larutan kontrol positif. Segera diinkubasi 30 menit pada 37⁰ C. Kemudian ukur serapannya pada panjang gelombang 515 nm.

Tentukan aktivitas antioksidan dengan menghitung % inhibisi dan IC₅₀.

Rumus Inhibisi :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absoraban blanko} - \text{Absorban sampel}}{\text{Absorban Blanko}} \times 100\%$$

3.5 Analisis Data

Data penelitian formulasi masker organik antioksidan serbuk daun teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan kombinasi basis gel yang dilakukan dengan uji statistika yaitu uji *one-way* Anova dengan menggunakan *statistical Product and Servis Solution (SPSS) for window*.