

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Januari-April 2025 di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi Prodi Farmasi S1 Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Bhamada Slawi.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan yaitu batang pengaduk, cawan porselin 60 mL, tabung reaksi, corong kaca (*pyrex*), beaker glass 100 mL (*pyrex*), gelas ukur 100 mL (*pyrex*), pipet tetes (*pyrex*), kertas perkamen, kain flannel, stik pH, kertas saring, sendok tanduk, blender (Phlips), timbangan analitik, *rotary evaporator*, *waterbath* (biobase), mortir dan stamper, oven (Getra), pisau, spatula, kompor listrik, *moisture analyzer*, *stirrer mixer*.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini ekstrak etanol buah wortel yang diperoleh pemasok yang ada di Pegunungan Guci, kulit buah jeruk yang diperoleh dari perkebunan daerah tuwel guci, beras putih, gliserin, metil paraben, propilen glikol, *sodium lauryl sulfat*, trietanolamin, asam stearat, propil paraben, aquadest, essence jasmine, etanol 96%, stik pH, HCl pekat, HCl 2N, FeCl₃ 1%, serbuk magnesium, pereaksi mayer, pereaksi *Dragendroff*, pereaksi *Wagner*, metilen blue.

3.3 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan penelitian eksperimental variabel bebas adalah variabel yang sengaja dibuat secara berbeda agar mempelajari pengaruhnya terhadap variabel terikat.

1. Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat mempengaruhi atau menjadi sebab perubahan variabel terikat (Purwanto, 2019). Variabel dalam penelitian ini variasi konsentrasi ekstrak wortel dan kulit buah jeruk pada sediaan *body scrub*.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi atau menjadi akibat karena adanya variabel bebas (Purwanto, 2019). Variabel dalam penelitian ini yaitu uji stabilitas fisik dan uji iritasi sediaan *body scrub*.

3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol atau variabel kontrol suatu variabel yang diduga sebagai variabel lain yang kemungkinan dapat menguji hubungan variabel independent dan dependent (Purwanto, 2019). Variabel dalam penelitian ini yaitu tempat pengambilan sampel, metode ekstraksi, metode pembuatan sediaan dan metode pengujian.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan identitas pada tanaman yang akan digunakan serta menghindari kesalahan dalam pengambilan bahan tersebut. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Farmasi Universitas Bhamada Slawi.

3.4.2 Pembuatan Serbuk Simplisia

a. Buah Wortel

Buah wortel sebanyak 4 kg yang digunakan masih segar, berwarna orange cerah, memiliki rasa manis dan aroma segar, serta memiliki tekstur yang keras kemudian dikumpulkan, dilakukan sortasi basah dengan cara wortel dikupas dan dicuci dengan air mengalir sampai terpisah dari kotoran-kotoran yang melekat dilakukan sebanyak 3 kali, selanjutnya dilakukan perajangan, lalu dikeringkan dengan cara di oven menggunakan oven selama 32 jam. Kadar air maksimal dalam simplisia yang akan digunakan yaitu tidak lebih dari 10%. Kemudian wortel dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk dan diayak menggunakan ayakan mesh no 18.

b. Kulit Buah Jeruk Manis

Kulit buah jeruk manis yang digunakan sebanyak 2 kg diambil dari buah jeruk yang masih segar, berwarna hijau sampai kuning cerah, memiliki tekstur yang lentur dan tidak kering, pada kulitnya tidak layu dan tidak memiliki bercak atau kerusakan kemudian dikumpulkan, dilakukan sortasi basah dengan cara jeruk dikupas dan diambil kulitnya kemudian kulit jeruk dicuci dengan air mengalir sampai terpisah dari kotoran-kotoran yang melekat sebanyak 3 kali, selanjutnya dilakukan perajangan dan dikeringkan menggunakan oven 60°C selama 72 jam kemudian dihaluskan

menggunakan blender hingga menjadi serbuk dan diayak menggunakan ayakan mesh no 18.

3.4.3 Pembuatan Ekstrak

a. Buah wortel

Serbuk halus wortel sebanyak 500 gram ditambahkan pelarut etanol 95% sebanyak 2.200 mL dan dimasukkan dalam wadah yang tertutup, dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya dan dilakukan pengadukan setiap harinya secara teratur 3 sampai 4 kali selama kurang lebih 15 menit. Setelah 5 hari ekstrak disaring dan hasil penyaringan yang diperoleh, diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan tekanan 70 rpm dan suhu 70°C sehingga akan diperoleh ekstrak yang kental (Ummah, 2019).

b. Kulit Buah Jeruk Manis

Serbuk halus kulit jeruk manis sebanyak 320 gram dicampur dengan 2.400 mL etanol 96% , kemudian aduk sesekali selama 3 hari sebanyak 3 sampai 4 kali selama kurang lebih 15 menit. Ekstrak yang dihasilkan selanjutnya diuapkan dengan waterbath suhu 60°C sehingga diperoleh ekstrak yang kental (Angelia *et al.*, 2022).

c. Perhitungan Rendemen

Rendemen dihitung menurut AOAC, (1999) dalam Aristyanti. dkk, (2017) dengan rumus sebagai berikut:

$$\frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat bahan baku}} \times 100\%$$

3.4.4 Uji Standarisasi Ekstrak

3.4.4.1 Uji Parameter Spesifik

Uji parameter ekstraksi dibagi menjadi dua, identitas dan organoleptik. Identitas tersebut berisi nama ekstrak, nama lain tumbuhan, bagian tumbuhan yang digunakan dan nama tumbuhan dalam bahasa Indonesia. Kesadaran indrawi dilakukan dengan mengamati bentuk, warna, dan bau menggunakan panca indera (Hataruk, 2020).

3.4.4.2 Uji Parameter Non Spesifik

1. Kadar Air

Pengukuran kadar air ekstrak, dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 gram sampel pada suhu 105°C menggunakan *moisture analyzer* diatas pan kemudian ditutup kembali dan tunggu hingga kadar air sampel muncul. Alat ini akan memanaskan sampel sehingga menunjukkan nilai kadar air yang konstan (Astuti *et al.*, 2024). Persyaratan kadar air yaitu <10% (Depkes RI 2000).

2. Kadar Abu Total

Sebanyak 1 gram ekstrak ditimbang dalam krus porselen dengan berat konstan yang diketahui, kemudian dipijarkan selama 30 menit dalam furnace pada suhu 600°C. Pijarkan hingga arang habis, dinginkan dan timbang. Bobot abu yang tersisa digunakan sebagai dasar untuk menghitung kadar abu (Astuti *et al.*, 2024).

Persyaratan kadar abu total yaitu <10% (Depkes RI, 2000).

$$\text{Kadar abu total} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan:

W_0 = bobot cawan kosong (gram)

W_1 = bobot ekstrak awal (gram)

W_2 = bobot cawan + ekstrak setelah diabukan (gram)

3. Susut Pengeringan

Sebanyak 1 gram ekstrak dimasukkan kedalam botol timbang yang sebelumnya telah dipijarkan dengan suhu 105°C selama 30 menit hingga diperoleh bobot konstan. Penimbangan dilakukan setelah bobot timbang dan ekstrak dimasukkan kedalam desikator selama 15 menit hingga suhu kamar (Agustien *et al.*, 2024). Persyaratan pada kadar susut pengeringan yaitu <10% (Depkes RI, 2000).

$$\%SP = \frac{(\text{bobot ekstrak})_1 - (\text{bobot ekstrak})_2}{(\text{bobot ekstrak})_1} \times 100\%$$

Keterangan:

(bobot ekstrak) = bobot ekstrak sebelum penetapan

(bobot ekstrak) = bobot ekstrak setelah penetapan

4. Uji Bebas Etanol

Sebanyak 1 gram ekstrak kental dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 tetes H_2SO_4 dan 2 tetes asam asetat, kemudian dipanaskan. Ekstrak dianggap bebas

etanol jika tidak tercium aroma ester yang khas dari etanol (Tivani *et al.*, 2021).

3.4.5 Skrining Fitokimia

3.4.5.1 Flavonoid

Ekstrak 0,5 gram dilarutkan dengan aquadest 2,5 mililiter, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,2 miligram serbuk Mg dan tiga tetes HCl pekat. Setelah itu, dipanaskan selama 15 menit di atas penangas air dan dikocok dengan kuat hingga terpisah (Pratiwi *et al.*, 2023). Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga (Depkes RI, 1995).

3.4.5.2 Alkaloid

Untuk menguji alkaloid, sampel sebesar 1 gram ditimbang ditambahkan 1 mL HCl 2M dan 9 mL aquadest. Kemudian dipanaskan di atas penangas air selama sekitar dua menit, kemudian didinginkan dan disaring. Uji alkaloid dilakukan dengan menggunakan filtrat. Dua tabung reaksi diambil, dan 1 mL filtrat dimasukkan ke dalam masing-masing tabung. Ditambahkan 5 tetes pereaksi *Dragendorff* ke dalam tabung reaksi pertama dan 5 tetes pereaksi *Wagner* ke tabung reaksi kedua, endapan berwarna jingga pada tabung reaksi pertama (pereaksi *Dragendorff*) dan endapan cokelat

pada tabung reaksi kedua (pereaksi *Wagner*) menunjukkan hasil positif (Gustiana *et al.*, 2022).

3.4.5.3 Saponin

Sampel uji 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dicampur dengan 10 mL air panas. Setelah dingin, dikocok dengan kuat selama 15 menit. Sampel mengandung senyawa saponin jika busa tetap menetap selama 10 menit, tingginya antara 1-10 cm, dan masih apabila ditetesi asam klorida 2N (Sulistiyana *et al.*, 2022).

3.4.5.4 Tanin

Sebanyak 0,5 g ekstrak direbus di dalam 10 mL aquadest di dalam tabung reaksi. Saring dan tambahkan beberapa tetes 0,1 % FeCl_3 hingga warnanya berubah (Kumalasari & Andiarna, 2020). Jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Depkes RI, 1995).

3.4.6 Pembuatan Bahan *Scrub*

Pada pembuatan bahan *scrub* menggunakan beras putih terlebih dahulu di oven pada suhu 60°C selama 2 jam untuk mengurangi kelembaban airnya. Beras kemudian ditumbuk atau dihaluskan dengan menggunakan mortir dan stamper lalu setelah dihaluskan, diayak menggunakan ayakan mesh no 16 (Y. Yunita *et al.*, 2021).

3.4.7 Pembuatan Sediaan *Body Scrub*

Sediaan *body scrub* ekstrak etanol wortel (*Daucus carota* L.) dan kulit jeruk manis (*Citrus x sinensis* (L.) Osbeck) dibuat sebanyak

100 gram. Formulasi pembuatan *body scrub* dapat dilihat pada tabel

3.1.

Tabel 3. 1 Formulasi Sediaan *Body Scrub* Kombinasi Ekstrak Wortel (*Daucus carota* L.) dan Kulit Jeruk Manis (*Citrus x sinensis* (L.) Osbeck)

Bahan	Komposisi (%)				Fungsi Bahan	Range	Literatur
	F0	F1	F2	F3			
Ekstrak wortel	-	3	5	7	Zat aktif	-	(Kusumawati dkk, 2024)
Ekstrak kulit jeruk	-	7	5	3	Zat aktif	-	(Haerun dkk, 2022)
Beras putih	20	20	20	20	Scrub	10-20%	(Yunita <i>et al.</i> , 2021)
Gliserin	3,3	3,3	3,3	3,3	Humektan	≤30%	<i>Handbook of excipient ed VI : 283</i>
Metil Paraben	0,3	0,3	0,3	0,3	Pengawet	0,02-0,03%	<i>Handbook of excipient ed VI : 390</i>
<i>Sodium lauryl sulfat</i>	1	1	1	1	Surfaktan	1%	<i>Handbook of excipient ed VI : 651</i>
Trietanolamin	2	2	2	2	Emulgator	2-4%	<i>Handbook of excipient ed VI : 754</i>
Asam stearat	20	20	20	20	Emulgator	1-20%	<i>Handbook of excipient ed VI : 494</i>
Propil paraben	0,5	0,5	0,5	0,5	Pengawet	0,02-0,18%	<i>Handbook of excipient ed VI : 596</i>
Propilen glikol	2	2	2	2	Humektan	≤15%	<i>Handbook of excipient ed VI : 592</i>
Aquadest	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	Pelarut	-	-
Oleum citri	qs	qs	qs	qs	Pengaroma	-	-

Pembuatan *body scrub* selanjutnya dilakukan dengan cara menimbang masing-masing bahan kemudian dipisahkan bahan antara fase minyak (asam stearat, propil paraben, propilenglikol) dan fase air

(gliserin, metil paraben, *sodium lauryl sulfat*, trietanolamin dan air), setelah bahan di lebur sesuai dengan sifat fasenya diatas kompor pada suhu 60°C, kemudian fase minyak diaduk secara rata sampai homogen, selanjutnya fase air dimasukkan kedalam mortir hangat yang telah berisi fase minyak secara sedikit-demi sedikit lalu diaduk selama kurang lebih 10 menit. Setelah terbentuk, ekstrak wortel dimasukkan dalam mortir sedikit-demi sedikit, lalu ditambahkan ekstrak kulit jeruk dan diaduk sampai homogen, kemudian ditambahkan serbuk beras putih dan beberapa tetes oleum citri. Setelah homogen *body scrub* dapat didinginkan, lalu dituang dalam wadah. Selanjutnya dilakukan uji stabilitas fisik sediaan *body scrub* (Kristianingsih & Munawaroh, 2021).

3.4.8 Pengujian Mutu Fisik Sediaan *Body Scrub*

1. Uji Organoleptis

Untuk menilai ketidakstabilan fisik sediaan yang berkaitan dengan kenyamanan konsumen, uji organoleptis digunakan untuk mengukur perubahan warna, bau, dan bentuk sediaan *body scrub* (Latifah *et al.*, 2022).

2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan untuk memastikan secara visual bahwa semua bagian telah digabungkan secara menyeluruh. Mengoleskan sediaan pada kaca objek untuk memastikan homogenitasnya. Selanjutnya, dilakukan pemeriksaan langsung untuk mengamati partikel-partikel yang teragregasi serta tersebar

secara merata (Laila Rahma & Suryanti, 2023). Tidak adanya gumpalan pada sediaan dan warnanya merata menunjukkan bahwa sediaan itu homogen (Depkes RI, 1995).

3. Uji pH

Nilai pH produk dapat diketahui menggunakan pH meter pada suhu ruangan, dengan menyelamkan elektroda pH meter ke dalam produk krim lalu menunggu sampai nilai pH tampak di layar, kemudian catat pH yang telah muncul (Laila Rahma & Suryanti, 2023). Sediaan yang baik adalah 4,5-6,5 atau sesuai dengan nilai pH kulit manusia (Depkes RI, 1979).

4. Uji Daya Sebar

Untuk mengukur daya sebar 0,5 gram sediaan diletakkan pada kaca transparan dan ditumpuk kaca transparan lainnya diatas sediaan. Kemudian, ditambahkan 150 gram beban tambahan dan dibiarkan selama 1 menit, lalu di ukur diameter yang konstan (Halid *et al.*, 2023). Syarat standar pada daya sebar yang baik berkisar antara 5-7 cm (Depkes RI, 1979).

5. Uji Daya Lekat

Tujuan dari uji daya lekat adalah untuk menentukan kapasitas sediaan untuk melekat pada kulit. Mengambil 0,5 gram sediaan dan meletakkannya pada alat dan diberi beban 150 gram di atasnya selama 5 menit. Setelah itu, hitung waktu yang dibutuhkan pada alat untuk terlepas. Persyaratan daya lekat yang efektif adalah lebih dari 4 detik (Latifah *et al.*, 2022)

6. Uji Tipe Emulsi

Uji tipe emulsi ini dilakukan untuk mengetahui jenis produk yang digunakan. Pengujian ini dapat menggunakan cara penambahan warna dengan metilen blue. Produk krim *body scrub* diletakkan di atas cawan porselen, kemudian ditambahkan metilen blue dan diamati perubahan warna yang terjadi. Jika metilen blue dapat menyebar dengan merata, maka tipe krim adalah M/A, tetapi jika metilen blue terpisah, ini menunjukkan A/M (Laila Rahma & Suryanti, 2023).

7. Uji Kelembapan Kulit

Uji kelembaban *body scrub* dilakukan selama 3 minggu menggunakan dengan menggunakan alat uji *skin analyzer*. Ini dilakukan dengan mengoleskan pada lengan bagian bawah dan membandingkan kondisi kulit sebelum dioleskan dan sesudah penggunaan *body scrub* di minggu ke 1,2 dan 3. Dalam penelitian ini, sebanyak 12 panelis perempuan dipilih dengan kriteria usia 18-25 tahun dan memiliki kondisi kulit yang normal dan menerima sampel sebanyak 0,2 g. Cara penggunaan alat tersebut cukup sederhana, pertama buka tutup alat hingga terlihat probe logamnya. Tekan tombol *start*, lalu letakkan probe pada kulit lengan bawah panelis, memastikan kontak yang baik dengan kulit. Setelah beberapa detik, alat akan mengeluarkan bunyi “bip” yang menandakan bahwa pengujian telah selesai, dan skor kelembapan kulit dapat dibaca dengan mudah (Pratama *et al.*, 2023).

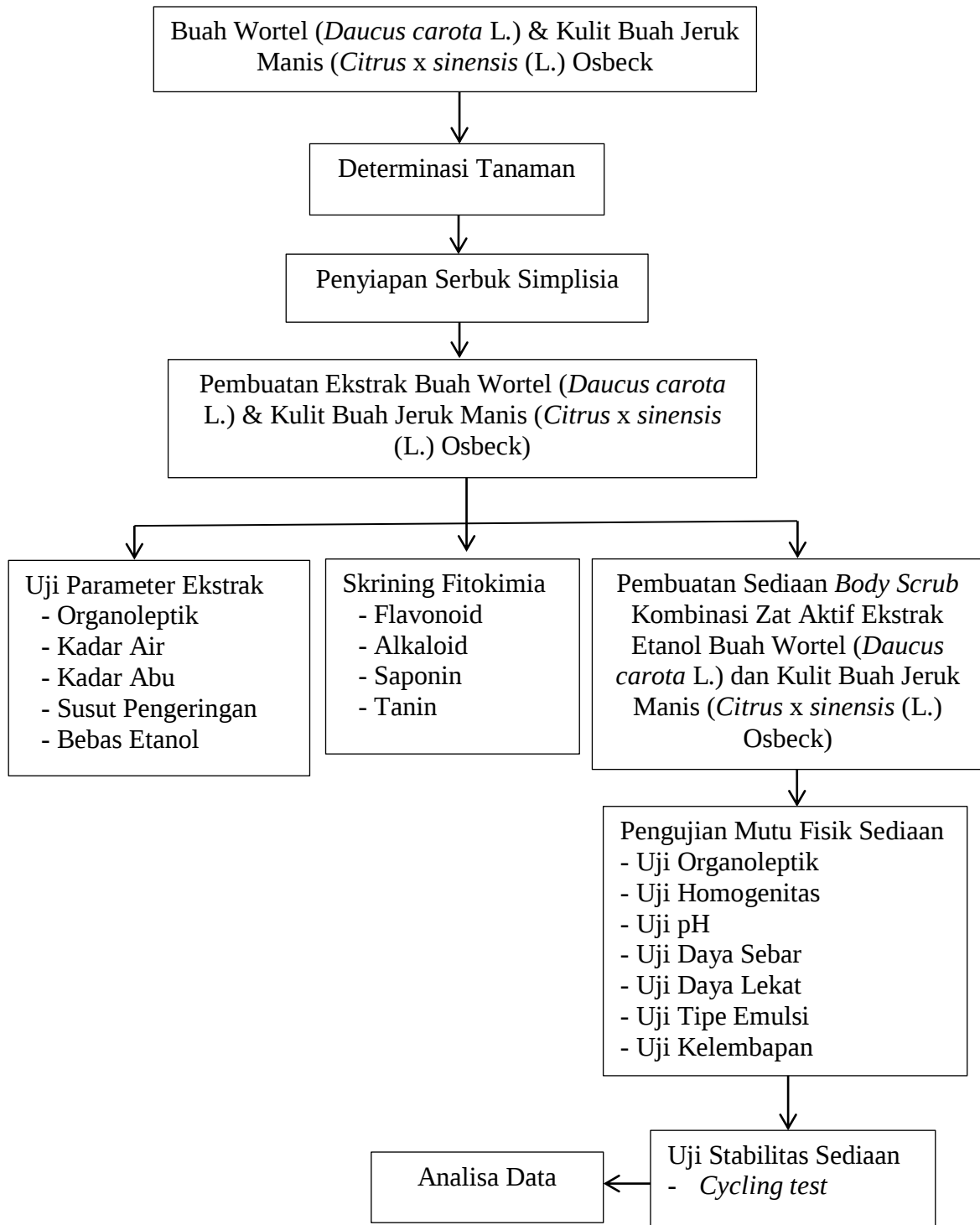
3.4.9 Uji Stabilitas Sediaan *Body Scrub*

Pengujian ini dilakukan dengan metode *cycling test*, uji stabilitas dapat dievaluasi dengan dilakukan melihat kestabilan sediaan (Latifah *et al.*, 2022). Tujuan dari pengujian ini adalah untuk mengamati dan menentukan perubahan fisik pada sediaan lulur ketika diuji pada suhu tertentu. Sediaan lulur pertama disimpan di dalam kulkas pada suhu 4°C selama 24 jam. Kemudian, disimpan di dalam pengering pada suhu 40°C selama 24 jam, proses ini disebut sebagai 1 siklus. *Cycling test* ini dilakukan sebanyak 6 siklus atau kurang lebih selama 12 hari. Hasil pemeriksaan meliputi organoleptis, homogenitas, nilai pH, daya sebar dan daya lekat sediaan lulur (Iskandar *et al.*, 2023).

3.5 Analisis Data

Data hasil uji stabilitas fisik dianalisis dengan menggunakan program pengolahan data SPSS meliputi uji normalitas dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* dan *Saphiro-wilk*, dan uji homogenitas menggunakan uji *Levene Statistic*, dan uji *One Way Anova* untuk menentukan perbedaan rata-rata diantara kelompok. Data dikatakan terdistribusi normal apabila nilai uji normalitas dan homogenitas $p > 0,05$, sementara data dikatakan tidak terdistribusi normal dan homogen jika $p < 0,05$. Kemudian jika data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan analisis uji *One Way Anova* dan jika tidak terdistribusi normal maka menggunakan uji *Kruskall-Wallis* untuk mengetahui formulasi yang memiliki perbedaan signifikan. Jika pada uji ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan maka dilanjutkan uji *Post Hoc LSD*.

3.6 Bagan Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian