

## BAB 3

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari sampai April 2025 di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi, Laboratorium Bahan Alam, dan Laboratorium Farmakologi Prodi Farmasi S1 Fakultas Ilmu Kesehatan Bhamada Slawi.

#### 3.2 Alat dan Bahan

##### 3.2.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi oven (*getra*), *rotary evaporator* (*biobase*), viskometer brookfield (NDJ-85), kompor listrik (*maspion*), neraca analitik (*ohaus*), blender (*cosmos*), mortir dan stemper, *skin analyzer* (SK-8), toples maserasi, *chamber*, stik pH (*suncare*), erlenmeyer (*pyrex*), gelas ukur (*pyrex*), beaker glass (*pyrex*), tabung reaksi (*pyrex*), ayakan 50 mesh, rak tabung reaksi, pipet tetes (*pyrex*), kaca arloji, batang pengaduk, sendok tanduk, cawan porselen, sudip, plat silica gel, kertas saring, tisu dan gunting.

##### 3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu ekstrak wortel, etanol 96% (*Cv. Kimia Jaya Labora*) alkohol 70% (*Cv. Kimia Jaya Labora*), Gliserin (*Cv. Surya Artathama*), butilen glikol (*Cv. Subur Kimia Jaya*), xantan gum (*Cv. Subur Kimia Jaya*), nipagin (*Cv. Subur Kimia Jaya*), PEG-40 (*Cv. Subur Kimia Jaya*), oleum rosae (*Cv. Kimia Jaya Labora*), aquadest (*Cv. Kimia Jaya Labora*), HCl 2N (*Cv. Kimia Jaya Labora*), HCl pekat (*Cv. Kimia Jaya Labora*), asam asetat (*Cv. Kimia Jaya Labora*), pereaksi dragendroff (*Cv. Kimia Jaya Labora*), pereaksi mayer (*Cv. Kimia Jaya Labora*), logam Mg (*Cv. Kimia Jaya Labora*), FeCl<sub>3</sub> (*Cv. Kimia Jaya Labora*), kloroform (*Cv. Kimia Jaya Labora*), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (*Cv. Kimia Jaya*

*Labora*), eter (*Cv. Kimia Jaya Labora*), benzen (*Cv. Kimia Jaya Labora*), *sheet mask non-woven* kosong (*hayylife*), *foil bag*.

### **3.3 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental laboratorium untuk mengetahui formulasi dan uji efektivitas sediaan *sheet mask* ekstrak wortel sebagai pelembab kulit. Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu :

#### **3.3.1 Variabel bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu variasi konsentrasi ekstrak wortel terhadap sediaan *sheet mask*.

#### **3.3.2 Variabel terikat**

Variabel terikat dalam penelitian ini yaitu uji kelembaban sediaan *essence sheet mask* ekstrak wortel.

#### **3.3.3 Variabel Terkontrol**

Variabel terkontrol pada penelitian ini yaitu proses pembuatan ekstrak wortel, serta pembuatan *essence sheet mask* ekstrak wortel.

### **3.4 Prosedur Penelitian**

Dalam prosedur penelitian akan dilakukan beberapa tahapan, yaitu determinasi tanaman, proses pengolahan simplisia, pembuatan ekstrak, parameter ekstrak, skrining fitokimia, pembuatan sediaan, dan evaluasi sediaan.

#### **3.4.1 Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Farmasi S1 Universitas Bhamada Slawi dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman yang diinginkan.

### 3.4.2 Proses Pengolahan Simplisia

Wortel yang akan digunakan diambil dari Desa Tuwel, Kecamatan Bojong, Kabupaten Tegal, Jawa Tengah. Pemilihan sampel wortel yang digunakan adalah wortel yang masih segar dan tidak diserang hama sebanyak 5 kg. Kemudian melakukan sortasi basah dengan cara dipisahkan dari bahan pengotor dan bagian tanaman yang tidak digunakan, setelah itu dicuci dengan menggunakan air mengalir hingga bersih, lalu dilakukan pemotongan dengan lebih kecil atau secara tipis. Wortel yang sudah dipotong kemudian dikeringkan dengan oven dengan suhu 50°C kurang lebih 32 jam. Setelah kering kemudian diblender hingga menjadi serbuk dan disaring dengan ayakan 50 mesh (Syakri *et al.*, 2020).

### 3.4.3 Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode maserasi, dengan cara menimbang sebanyak 500 gram serbuk wortel, kemudian dimasukkan kedalam wadah kaca bening dan menambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 2500mL (1:5), setelah itu ditutup rapat dan dilakukan pengadukan. Proses maserasi dilakukan selama 3 hari. Selanjutnya disaring filtrat yang diperoleh dari maserasi kemudian ditampung untuk diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60°C sehingga pelarutnya menguap dan didapatkan ekstrak kental (Febri & Rosa, 2022).

### 3.4.4 Uji Parameter Ekstrak

#### 1) Uji Organoleptis

Uji organoleptis pada sampel yang akan digunakan dengan cara mengamati bentuk, bau, dan warna dari sampel (Maryam *et al.*, 2020).

## 2) Perhitungan Rendemen

Perhitungan rendemen ekstrak yaitu yang diperoleh dengan presentase bobot (b/b) antara ekstrak yang dihasilkan dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan (Andasari *et al.*, 2021).

Rumus perhitungan rendemen sebagai berikut :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Jumlah ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Jumlah simplisia yang digunakan}} \times 100\%$$

## 3) Susut Pengerinan

Sebanyak 2 gram ekstrak dimasukkan kedalam kurs porselin tertutup yang sebelumnya telah dipanaskan selama 30 menit pada suhu 105°C. Kemudian ekstrak diratakan dalam kurs dengan menggoyangkan kurs hingga terbentuk lapisan dengan tebal 5-10mm, kemudian ditimbang dan dimasukkan kedalam oven, setelah itu bagian tutupnya dibuka, lalu dikeringkan pada suhu 105°C hingga diperoleh bobot tetap. Didinginkan dalam desikator dan dihitung nilai persentasinya (Purwoko *et al.*, 2020).

Rumus susut pengeringan sebagai berikut :

$$\text{susut pengeringan} = \frac{\text{Bobot sampel basah} - \text{Bobot sampel kering}}{\text{Bobot sampel basah}} \times 100\%$$

## 4) Kadar Air

Ekstrak ditimbang sebanyak 1 gram diletakkan pada lempeng aluminium foil lalu dimasukkan kedalam alat *Halogen Moisture Analyzer* dengan suhu 105°C selama 10 menit sehingga munculnya hasil pada alat secara otomatis. Kadar air memenuhi syarat apabila nilai persen kadar air yang diperoleh <10% (Dayanti *et al.*, 2023).

## 5) Kadar Abu Total

Diambil sebanyak 1 gram ekstrak kemudian ditimbang (W1) dan diletakkan kedalam krus silikat yang telah dipanaskan dan ditimbang (W0),

panaskan perlahan-lahan sampai suhu yang mengakibatkan senyawa organik dan turunannya terdestruksi serta menguap sampai sisa unsur mineral dan anorganik saja pada suhu  $\pm 25^{\circ}\text{C}$ , selanjutnya didinginkan dengan desikator dan ditimbang kembali (W2). Menurut parameter standar yang berlaku kadar abu total yang baik dalam ekstrak tidak boleh lebih dari 16,6% (Utami *et al.*, 2017).

Hitung kadar abu total menggunakan rumus dibawah ini:

$$\text{Kadar abu total} = \frac{W2 - W0}{W1} \times 100\%$$

Keterangan :

W0 : Bobot cawan kosong (gram)

W1 : Bobot ekstrak awal (gram)

W2 : Bobot cawan + ekstrak setelah diabukan (gram)

### 3.4.5 Skrining Fitokimia

Adapun beberapa skrining fitokimia yang dilakukan, yaitu :

#### 1) Uji Identifikasi Senyawa Alkaloid

Identifikasi senyawa alkaloid dilakukan dengan cara masukkan ekstrak kedalam tabung reaksi, tambahkan 1 mL HCl 2N. Larutan dibagi menjadi 2 tabung, pada tabung pertama ditambah 2-3 tetes reagen Mayer, dan pada tabung kedua ditambah 2-3 tetes reagen Dragendroff. Hasil positif alkaloid apabila terbentuk endapan putih atau kekuningan (reagen Mayer) dan endapan merah bata, merah, jingga (reagen Dragendroff) (Lestari *et al.*, 2022).

#### 2) Uji Identifikasi Senyawa Flavonoid

Diambil ekstrak sebanyak 1 gram masukkan kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan 0,5 mg serbuk Mg dan HCl pekat sebanyak 1 mL, kemudian dikocok. Hasil positif apabila terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga (Syakri *et al.*, 2020).

#### 3) Uji Identifikasi Senyawa Saponin

Diambil ekstrak dan ditambahkan 10 mL air panas, kemudian dinginkan, lalu dikocok kuat selama 10 detik, apabila terbentuk busa yang stabil 10 menit lalu ditambahkan HCl 2N 1 tetes. Hasil positif apabila terbentuk busa yang stabil (Lestari *et al*, 2022).

#### 4) Uji Identifikasi Senyawa Tanin

Diambil ekstrak sebanyak 1 gram, ditambahkan dengan 10 mL air panas dan ditambahkan 2-3 tetes FeCl<sub>3</sub> 1%. Hasil positif apabila terjadi terbentuknya warna hijau kecoklatan atau biru kehitaman (Pangamanan, 2020).

#### 5) Uji Identifikasi Senyawa Steroid/Terpenoid

Diambil ekstrak sebanyak 1 gram, kemudian ditambah 5-10 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Hasil positif mengandung senyawa steroid apabila terbentuknya warna hijau kebiruan, senyawa terpenoid cincin berwarna coklat (Setyawati *et al.*, 2024).

### 3.4.6 Kromatografi Lapis Tipis

Identifikasi senyawa menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan *plat silica gel* GF<sub>254</sub> dengan ukuran 10 cm × 2 cm yang diaktivasi terlebih dahulu pada suhu 105°C selama 30 menit. Kemudian 0,01 gram ekstrak wortel dan β-karoten murni sebagai pembanding dilarutkan dengan 1 mL pelarut etanol, selanjutnya ditotolkan pada lempeng KLT dan dimasukkan dalam *chamber* yang berisi fase gerak eter : benzen (9:1) yang sebelumnya sudah dijenuhkan dengan kertas saring, lalu plat KLT dibiarkan hingga terelusi dengan baik. Bercak diamati dibawah sinar UV pada Panjang gelombang 254 nm (Agustina *et al.*, 2019).

### 3.4.7 Rancangan Formulasi

**Tabel 3. 1** Rancangan Formulasi *Essence Sheet Mask* (Verawaty *et al.*, 2020)

| Bahan          | Formula (%) |     |     |     | Range | Fungsi         | Literatur                     |
|----------------|-------------|-----|-----|-----|-------|----------------|-------------------------------|
|                | F0          | F1  | F2  | F3  |       |                |                               |
| Ekstrak Wortel | 0           | 15  | 20  | 25  | -     | Zat aktif      | (Furqan <i>et al.</i> , 2023) |
| Gliserin       | 5           | 5   | 5   | 5   | ≤30%  | Emulien        | (Rowe. R, 2009)               |
| Butilen Glikol | 5           | 5   | 5   | 5   | 8%    | Humektan       | (Rowe. R, 2009)               |
| Xantan Gum     | 0,2         | 0,2 | 0,2 | 0,2 | ≤15%  | Agen penstabil | (Rowe. R, 2009)               |
| Nipagin        | 0,2         | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2%  | Pengawet       | (Rowe. R, 2009)               |
| Etanol 70%     | 3           | 3   | 3   | 3   | 3%    | Pelarut        | (Nabilah & Mentari, 2023)     |
| PEG-40         | 0,1         | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1%  | Co-solvent     | (Nabilah & Mentari, 2023)     |
| Oleum Rosae    | Qs          | Qs  | Qs  | Qs  | -     | Pelarut        | (Rowe. R, 2009)               |
| Aquadest ad    | 100         | 100 | 100 | 100 | -     | Pelarut        | -                             |

Keterangan :

Setiap formula dibuat sebanyak 20 gram

F0 : Sediaan tanpa ekstrak

F1 : Sediaan dengan konsentrasi ekstrak wortel 5%

F2 : Sediaan dengan konsentrasi ekstrak wortel 10%

F3 : Sediaan dengan konsentrasi ekstrak wortel 15%

### 3.4.8 Pembuatan *Essence Sheet Mask*

Dalam pembuatan *essence sheet mask*, langkah awal yang dilakukan yaitu menyiapkan alat dan bahan, menimbang bahan sesuai formula yang dibutuhkan. Xantan gum dikembangkan dengan aquadest secukupnya dalam lumpang (massa I). Nipagin dilarutkan dalam air panas (massa II), campurkan massa I dan massa II secara perlahan di dalam lumpang (massa III). Masukkan butilen glikol, gliserin, dan PEG-40 kedalam cawan penguap dan dihomogenkan (massa IV). Tambahkan massa IV kedalam lumpang yang berisikan massa III, tambahkan etanol dan *oleum rosae* lalu digerus hingga homogen. Ekstrak wortel ditambahkan sesuai dengan variasi yang telah ditentukan (Verawaty *et al.*, 2020).

### 3.4.9 Pengemasan *Essence Sheet Mask*

*Sheet mask* kosong dimasukkan ke dalam *foil bag* sesuai ukuran. Setelah itu ditimbang 20 gram *essence* dan dituang ke dalam *foil bag* yang sudah berisikan *sheet mask* kosong. Kemudian disegel kemasan menggunakan alat penyegel dan diberi label (Rini *et al.*, 2022).

### 3.4.10 Evaluasi Sediaan

Sediaan yang telah diperoleh dilakukan evaluasi sediaan, dengan tujuan mengetahui dan memperoleh mutu fisik sediaan yang baik. Adapun beberapa evaluasi sediaan yang dilakukan, yaitu :

#### 1) Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan secara visual. Parameter yang dievaluasi yaitu bentuk, warna dan aroma sediaan (Rini *et al.*, 2022).

#### 2) Uji pH

Pengukuran pH menggunakan kertas pH. Rentang pH ideal untuk kosmetik pada kulit wajah normal antara 4-6 (Chan *et al.*, 2021).

#### 3) Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan dengan mengoleskan 1 mL *essence sheet mask* pada kaca, menutupnya dengan kaca transparan, lalu berikan beban 100 gram dan diamkan selama 1 menit. Setelah itu, diukur diameter penyebarannya. Syarat daya sebar yang baik untuk sediaan topikal yaitu antara 4-7,5 cm (Ulfa *et al.*, 2022).

#### 4) Uji Homogenitas

Dilakukan dengan ditempatkan *essence* sebanyak 0,1 gram pada lembaran kaca atau bahan transparan, kemudian diamati sediaan. Komposisi sediaan harus homogen dan bebas dari partikel kasar (Anggraeni *et al.*, 2024).

### 5) Uji Viskositas

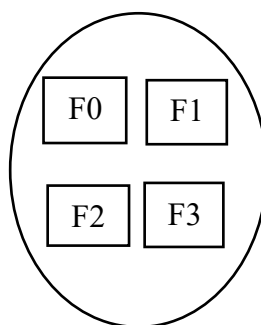
Pengukuran viskositas menggunakan alat *Viskometer Brookfield* dengan *spindel* nomor 4 dan kecepatan 60 rpm. Sediaan diletakkan di wadah kemudian turunkan *spindel* hingga terendam (Erni Johan *et al.*, 2022). Viskositas yang baik untuk sediaan *essence sheet mask* antara 230-1150 cPs (Hanifah *et al.*, 2023).

#### 3.4.11 Uji Iritasi

Pengujian iritasi mengacu pada Peraturan Badan Pengawasan Obat dan Makanan Nomor 10 Tahun 2022. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci albino jantan. Hewan uji diaklimatisasi untuk penyesuaian atau adaptasi terhadap lingkungan baru di ruang percobaan kurang lebih 5 hari dan hewan ditempatkan pada kandang individual (1 kandang untuk 1 ekor) (BPOM RI, 2022).

Kriteria inklusi pada uji iritasi hewan kelinci yaitu yang berjenis kelinci albino jantan dalam keadaan sehat, berat badan sekitar 2 kg, memiliki usia 8 – 9 bulan. Bulu hewan dicukur pada daerah punggung untuk tempat pemaparan sediaan uji, sekurang-kurangnya 24 jam sebelum pengujian (BPOM RI, 2022).

Pengujian dilakukan dengan menggunakan 3 hewan uji, masing-masing dibuat 4 tempelan, sisi kiri atas (KiA) untuk F0, sisi kanan atas (KaA) untuk F1, sisi kiri bawah (KiB) untuk F2, dan sisi kanan bawah (KaB) untuk F3.



**Gambar 3. 1** Lokasi Pemaparan Sediaan Uji

Sediaan uji dipaparkan di area kulit yang sudah dicukur sekitar 3 cm<sup>2</sup>. Sebelum dioleskan dibersihkan terlebih dahulu tiap sisi dengan alkohol 70%, kemudian dioleskan 0,5 mL sediaan *essence sheet mask* pada area kulit punggung hewan uji yang sudah dicukur dan ditandai, ditutup dengan kasa dan di plester. Dibiarkan selama 24 jam. Setelah 24 jam plester dibuka dan gunakan air untuk membersihkan sisa bahan uji yang masih menempel pada kulit hewan uji. Amati bagian yang diberikan sampel uji. Tutup kembali area tersebut dengan plaster yang sama, dan lakukan pengamatan ulang setelah 48 jam dan pengamatan berikutnya dilakukan setelah 72 jam. Jika kerusakan kulit tidak dapat diidentifikasi pada iritasi atau korosi pada jam ke 72, pengamatan dapat dilanjutkan sampai hari ke 14 untuk menentukan reversibilitas (BPOM RI, 2022).

**Tabel 3. 2** Penilaian Reaksi Pada Kulit (BPOM RI, 2022)

| <b>Reaksi Kulit</b>                                                                      |                                                                                           | <b>Skor</b> |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>Eritema</b>                                                                           | <b>Udema</b>                                                                              |             |
| Tidak ada eritema                                                                        | Tidak ada udema                                                                           | 0           |
| Eritema yang sangat kecil (hampir tidak dapat dibedakan)                                 | Udema sangat kecil (hampir tidak dapat dibedakan)                                         | 1           |
| Eritema terlihat jelas                                                                   | Udema kecil (batas area terlihat jelas)                                                   | 2           |
| Eritema sedang sampai parah                                                              | Udema tingkat menengah (luasnya bertambah sekitar 1 mm)                                   | 3           |
| Eritema parah (merah daging) sampai pembentukan eschar yang menghambat penilaian eritema | Udema parah (luas bertambah dari 1 mm dan melebar melebihi area paparan oleh sediaan uji) | 4           |

**Tabel 3. 3** Kategori Respon Iritasi Pada Kelinci (BPOM RI, 2022)

| Nilai Rata-rata | Kategori respon                        |
|-----------------|----------------------------------------|
| 0,0 – 0,4       | Sangat ringan<br>( <i>negligible</i> ) |
| 0,5 – 1,9       | Iritan ringan<br>( <i>slight</i> )     |
| 2,0 – 4,9       | Iritan sedang<br>( <i>moderate</i> )   |
| 5,0 – 8,0       | Iritan kuat ( <i>severe</i> )          |

Data hasil uji iritasi akut dermal dianalisis menggunakan skor iritasi kulit untuk eritema dan udemata tiap hewan pada jam ke 24, 48, dan 72 setelah tempelan dibuka. Skor iritasi (indeks iritasi primer) sediaan uji adalah kombinasi dari seluruh observasi dari pengujian. Indeks iritasi primer dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (BPOM RI, 2022).

$$\text{Indeks iritasi primer} = \frac{A-B}{C}$$

Keterangan :

A : Jumlah ekor eritema dan udemata seluruh titik pengamatan sampel pada jam ke 24, 48, dan 72 dibagi jumlah pengamatan.

B : Jumlah ekor eritema dan udemata seluruh titik pengamatan kontrol pada jam ke 24, 48, dan 72 dibagi jumlah pengamatan.

C : Jumlah hewan.

### 3.4.12 Uji Efektivitas Kelembaban

Pengujian efektivitas kelembaban dilakukan terhadap 12 panelis dengan kriteria, wanita berusia 18 hingga 25 tahun, kondisi tubuh sehat, memiliki kulit kering, tidak memiliki riwayat penyakit alergi, serta bersedia menjadi sukarelawan. Pengujian kelembaban berlangsung selama 10 hari kemudian pengecekan menggunakan alat *skin analyzer* untuk mengukur tingkat kelembaban kulit. Lokasi uji yaitu bagian kulit lengan panelis. Sebelum memulai pengujian, kelembaban kulit wajah sukarelawan diukur terlebih dahulu sebagai data awal, kemudian gunakan *sheet mask* pada punggung tangan selama 15 menit pada malam hari, setelah itu diukur kelembaban pada pagi harinya menggunakan *skin analyzer*

(Suryani *et al.*, 2024). Dengan pembagian panelis yaitu Kelompok I (3 panelis untuk F0), Kelompok II (3 panelis untuk F1), Kelompok III (3 panelis untuk (F2), Kelompok IV (3 panelis untuk F3).

**Tabel 3. 4** Skala Kelembaban (Aryani, 2019)

| Kelembaban (%) | Deskripsi     |
|----------------|---------------|
| <40            | Kurang lembab |
| 40-60          | Lembab        |
| >60            | Sangat lembab |

### 3.5 Analisis Data

Hasil data uji efektivitas kelembaban yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan program SPSS (*Statistical Product and Service Solution*). Apabila hasil data penelitian terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji *Oneway Anova* (Anova satu arah) untuk menentukan perbedaan rata-rata di antara kelompok. Jika terdapat perbedaan, dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD (Least Significant Difference)* untuk melihat perbedaan antara perlakuan.