

## **BAB III METODOLOGI PENELITIAN**

### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi adalah objek utama yang menjadi sasaran penelitian yang akan dilakukan. Populasi dalam penelitian ini adalah sediaan emulgel dari ekstrak etanol daun stroberi dengan vitamin E.

Sampel merupakan bagian terkecil dari populasi yang akan diteliti. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sediaan emulgel dari ekstrak etanol daun stroberi dengan penambahan vitamin E dengan berbagai variasi konsentrasi.

### **B. Variabel Penelitian**

#### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah daun stroberi. Variabel utama kedua adalah ekstrak etanol daun stroberi. Variabel utama ketiga adalah emulgel ekstrak etanol daun stroberi. Variabel utama keempat adalah variasi konsentrasi vitamin E pada sediaan emulgel. Variabel utama adalah mutu fisik emulgel. Variabel utama ketujuh adalah stabilitas sediaan.

#### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel bebas adalah variabel yang diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi vitamin E.

Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian ini. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol daun stroberi, stabilitas, dan mutu fisik emulgel ekstrak etanol daun stroberi diantaranya organoleptis, homogenitas, viskositas, daya lekat, daya sebar, dan pH.

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah metode pengeringan, metode ekstraksi, proses pembuatan sediaan emulgel, kondisi peralatan, komposisi emulgel, bahan yang digunakan di laboratorium.

#### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, daun stroberi adalah helai daun bersusun tiga (*trifoliate*), bagian tepi daun bergerigi, berwarna hijau, dan berstruktur tipis.

Kedua, ekstrak etanol daun stroberi adalah ekstrak kental yang diperoleh dari proses maserasi serbuk daun stroberi dengan penyari etanol 96% selama 5 hari kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator*.

Ketiga, emulgel ekstrak etanol daun stroberi adalah sediaan emulgel yang mengandung ekstrak etanol daun stroberi yang dibuat dengan mencampurkan fase emulsi dan fase gel.

Keempat, variasi konsentrasi vitamin E pada emulgel adalah sediaan emulgel yang mengandung ekstrak etanol daun stroberi diberikan penambahan vitamin E dengan konsentrasi 0%, 3%, 4%, dan 5%.

Kelima, mutu fisik adalah sifat-sifat fisik sediaan yang menunjukkan mutu sediaan dan berpengaruh terhadap kestabilan fisik dari formula emulgel.

Keenam, stabilitas adalah kemampuan sediaan untuk menciptakan suatu keadaan yang tetap. Uji stabilitas sediaan emulgel ekstrak etanol daun stroberi dilakukan selama penyimpanan dan terhadap suhu menggunakan metode *cycling test*.

## C. Bahan dan Alat

### 1. Bahan

**1.1. Bahan sampel.** Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun stroberi.

**1.2. Bahan kimia.** Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah vitamin E, etanol 96% sebagai penyari, *hydroxylpropyl methylcellulose* (HPMC), paraffin cair, tween 80, span 80, propilenglikol, metil paraben, propil paraben, HCl encer LP, kloroform, *toluene*, besi (III) klorida 10%, pereaksi *Dragendorff*, pereaksi *Mayer*, asam asetat anhidrat, asam sulfat P, asam klorida 2N, dan aqua destilata.

### 2. Alat

Alat yang digunakan dalam membuat simplisia adalah pisau untuk merajang, timbangan analitik, blender, dan ayakan nomor 60. Alat yang digunakan dalam penyarian adalah timbangan, botol kaca gelap, alat-alat gelas, kain *flannel*, dan *rotary evaporator*. Alat yang digunakan untuk pembuatan sediaan emulgel mortar stemper dan wadah sediaan. Alat yang digunakan untuk uji aktivitas dan stabilitas adalah *viscometer*, pH meter, *cycling test*, dan alat-alat kaca.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Determinasi tanaman**

Determinasi dan identifikasi dilakukan untuk menetapkan kebenaran daun stroberi (*Fragaria x ananassa* var Duchesne) yang akan digunakan dalam penelitian ini. Determinasi dilakukan berdasarkan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman stroberi (*Fragaria x ananassa* var Duchesne) terhadap kepustakaan yang telah dibuktikan oleh Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat Tradisional Tawangmangu.

### **2. Pengumpulan dan pemilihan bahan**

Bahan baku yang digunakan tidak mengandung kapang, tidak dimakan serangga, dan tidak terkena kotoran hewan. Bahan baku yang digunakan adalah daun stroberi yang segar, bersih, tidak busuk, dan masih dalam keadaan baik yang diperoleh dari Tawangmangu, Jawa Tengah dan vitamin E yang diperoleh dari PT. Brataco Chemika, Surakarta.

### **3. Pembuatan serbuk daun stroberi**

Daun stroberi yang sudah melewati proses pencucian diiris tipis-tipis kemudian dikeringkan. Daun stroberi yang sudah kering kemudian diblender. Serbuk yang didapat diayak dengan ayakan nomor 60 hingga didapat serbuk yang seragam dan halus.

### **4. Susut pengeringan serbuk daun stroberi.**

Serbuk daun stroberi ditimbang sebanyak 2 gram. Alat *moisture balance* dinyalakan dan dipanaskan selama 10 menit. Serbuk kemudian dimasukkan ke dalam wadah sampel alat *moisture balance* dan diratakan. *Moisture balance* ditutup kemudian tunggu hingga lampu mati dan catat hasilnya. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali dan hasilnya dirata-rata. Uji ini memberikan batas maksimal tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Sediarso *et al.*, 2018).

### **5. Pembuatan ekstrak etanol daun stroberi.**

Serbuk daun stroberi diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi. Serbuk kering daun stroberi sebanyak 700gram dimasukkan ke dalam bejana, kemudian ditambahkan 75 bagian pelarut (5,25L). Serbuk direndam selama 3 hari sambil sesekali diaduk, maserat yang diperoleh dipisahkan dengan penyaringan. Maserasi dilakukan kembali dengan menambahkan 25 bagian pelarut etanol 96% (1,75L) selama 2 hari. Ekstak etanol yang diperoleh

dijadikan satu dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dengan kecepatan 45 rpm sehingga diperoleh ekstrak pekat etanol 96%. Randemen dihitung antara randemen dengan bobot serbuk simplisia (May, 2019).

## 6. Karakterisasi ekstrak etanol daun stroberi

**6.1. Uji organoleptis.** Pemeriksaan organoleptik dilakukan menggunakan panca indera. Pemeriksaan dilakukan terhadap serbuk meliputi warna, bau, bentuk, dan rasa.

**6.2. Uji penetapan kadar air.** Penetapan kadar air ekstrak dilakukan dengan metode destilasi. Toluena 100 ml dijenuhkan menggunakan aquadest 10 ml kemudian menimbang ekstrak 20 gr dimasukkan dalam labu alas bulat. Toluena jenuh dimasukkan dalam labu alas bulat kemudian labu tersebut dipanaskan 15 menit hingga semua air tersuling. Volume air dibaca sesaat setelah toluena dan air memisah sempurna. Dikatakan memenuhi syarat jika kadar air dalam ekstrak tidak lebih dari 10% (Depkes RI, 2020).

**6.3. Uji penetapan susut pengeringan.** Ekstrak daun stroberi ditimbang sebanyak 2 gram. Alat *moisture balance* dinyalakan dan dipanaskan selama 10 menit. Serbuk kemudian dimasukkan ke dalam wadah sampel alat *moisture balance* dan diratakan. *Moisture balance* ditutup kemudian tunggu hingga lampu mati dan catat hasilnya. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali dan hasilnya dirata-rata. Uji ini memberikan batas maksimal tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Sediarso *et al.*, 2018).

## 7. Identifikasi kandungan kimia

### 7.1. Uji Tabung.

**7.1.1. Pemeriksaan alkaloid.** Sebanyak 1 g larutan ekstrak dilarutkan dalam 10 ml kloroform dan 4 tetes NH<sub>4</sub>OH, kemudian disaring dan filtrat yang diperoleh dimasukkan dalam tabung reaksi bertutup. Ekstrak kloroform dalam tabung reaksi dikocok dengan 6 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 M. Lapisan asam yang terbentuk kemudian diteteskan pada lempeng tetes lalu ditambahkan pereaksi Mayer, Bouchardat dan Dragendorf (Harborne, 2006).

**7.1.2. Pemeriksaan flavonoid.** Larutan ekstrak sebanyak 10 ml ditambah 0,5 g serbuk Mg, 2 ml HCl pekat dan 20 ml amil alkohol kemudian dikocok. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning, dan jingga (Harborne, 2006).

**7.1.3. Pemeriksaan saponin.** Sebanyak 10 ml larutan ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi tertutup kemudian dikocok selama 10 detik lalu didiamkan selama 10 menit. Saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil pada sampel (Harborne, 2006)

**7.1.4. Pemeriksaan steroid dan triterpenoid.** Larutan ekstrak ditambah 25 ml etanol panas 50°C kemudian disaring dan diuapkan hingga kering. Residu yang tersisa dilarutkan dengan eter lalu ditambah 3 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Hasil steroid positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru atau hijau sedangkan triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau ungu. (Harborne, 2006).

**7.1.5. Pemeriksaan tanin.** Sampel ditambah 100 ml air panas dan dididihkan selama 5 menit kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambah larutan FeCl<sub>3</sub> 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kehijauan. (Harborne, 2006).

**7.2. Uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis).** Penyiapan fase diam silica gel G60 F254/plat KLT dengan panjang 7 cm dan lebar 3 cm lalu diaktivikasi dengan oven pada suhu 100°C selama 10 menit. Sebanyak 10 mg ekstrak dilarutkan dalam 1ml etanol kemudian ditotolkan pada fase diam.

**7.2.1. Flavonoid.** Fase gerak n-heksan: etil asetat: methanol: air (3: 4,5: 2: 0,5) reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuk noda berwarna kuning coklat pada pengamatan dengan sinar tampak dan berwarna biru pada UV 366 nm menegaskan adanya kandungan flavonoid (Marliana, 2005).

**7.2.2. Tanin.** Fase gerak methanol: air (7: 3) reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna hitam (Banu dan Nagarajan, 2014)

## **8. Pembuatan emulgel**

**8.1. Formula.** Formula emulgel ekstrak etanol daun stroberi terdiri fase emulsi dan fase gel. Fase emulsi terbagi dari fase minyak dan fase air. Fase minyak mengandung vitamin E, span 80, dan paraffin cair. Fase air mengandung tween 80. Fase gel terdiri dari *gelling agent* (HPMC), propilenglikol, metil paraben, dan propil paraben. Emulgel tanpa ekstrak etanol daun stroberi dan tana vitamin untuk formula 0 digunakan sebagai kontrol negatif dan ekstrak etanol daun stroberi ditambahkan dalam emulgel untuk keempat formula yaitu dengan konsentrasi 0,5% dan untuk variasi konsentrasi penambahan vitamin E

adalah 0% untuk formula 1, 3% untuk formula 2, 4% untuk formula 3, dan 5% untuk formula 4.

Konsentrasi ekstrak etanol daun stroberi 0,5% digunakan karena pada penelitian yang dilakukan oleh Petrick (2021) pada konsentrasi 0,5% pada sediaan krim menghasilkan dan penelitian yang dilakukan oleh May (2019) pada konsentrasi 0,5% pada sediaan krim menghasilkan. Berikut merupakan rancangan formula sediaan emulgel ekstrak etanol daun stroberi dengan variasi konsentrasi vitamin E:

**Tabel 1. Rancangan formula emulgel ekstrak etanol daun stroberi (*Fragaria x ananassa* var *Duchesne*)**

| Bahan          | Satuan | F1   | F2   | F3   | F4   |
|----------------|--------|------|------|------|------|
| Ekstrak        | %      | 0,5  | 0,5  | 0,5  | 0,5  |
| Vitamin E      | %      | -    | 2,00 | 4,00 | 6,00 |
| HPMC           | Gram   | 2,5  | 2,5  | 2,5  | 2,5  |
| Paraffin cair  | mL     | 5    | 5    | 5    | 5    |
| Tween 80       | Gram   | 1,08 | 1,08 | 1,08 | 1,08 |
| Span 80        | Gram   | 0,42 | 0,42 | 0,42 | 0,42 |
| Propilenglikol | mL     | 10   | 10   | 10   | 10   |
| Metil paraben  | Gram   | 0,18 | 0,18 | 0,18 | 0,18 |
| Propil paraben | Gram   | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,02 |
| Aquadest ad    | mL     | 100  | 100  | 100  | 100  |

**8.2. Pembuatan emulgel.** Menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan kemudian ditimbang semua bahan sesuai dengan perhitungan. Basis emulsi dibuat dengan membuat fase minyak dan fase air. Fase minyak dibuat dengan mencampurkan vitamin E, span 80, paraffin cair, dan propil paraben. Fase air dibuat dengan mencampurkan tween 80 dengan air panas. Fase minyak ditambahkan ke dalam fase air di dalam mortir panas sambil terus diaduk sampai terbentuk emulsi.

Basis gel dibuat dengan cara mendispersikan HPMC sedikit demi sedikit dengan air panas dan diaduk sampai terbentuk gel. Metil paraben ditambahkan propilenglikol lalu diaduk sampai larut kemudian dicampur dengan gel yang sudah dibuat. Basis emulsi dan gel dicampur kemudian digerus sampai terbentuk emulgel yang homogen. Ekstrak daun stroberi dimasukkan dalam emulgel sampai homogen.

## 9. Identifikasi uji mutu fisik dan uji stabilitas emulgel ekstrak etanol daun stroberi

**9.1. Uji organoleptis.** Pemeriksaan organoleptik meliputi bau, warna, konsistensi, dan homogenitas. Masing-masing formula dilakukan pengujian sebanyak 3 kali.

**9.2. Uji homogenitas.** Pengujian dilakukan dengan menimbang 0,1gram emulgel kemudian dioleskan tipis-tipis pada

object glass secara merata. Emulgel yang homogen bebas dari butiran-butiran kasar. Masing-masing formula dilakukan sebanyak 3 kali.

**9.3. Uji viskositas.** Pengujian ini dilakukan menggunakan alat *viscometer*. Rotor dipasang pada *viscometer* dan dikunci melawanan arah jarum jam. Cup diisi dengan 100gram emulgel, kemudian rotor dicelupkan tepat berada di tengah-tengah cup hingga tanda batas dan alat dihidupkan. Rotor akan berputar dan setelah stabil nilai viskositas dapat dibaca pada layar

**9.4. Uji daya sebar.** Emulgel sebanyak 0,5gram diletakkan pada tengah-tengah kaca bundar berskala, kemudian ditutup dengan kaca bundar lainnya yang sudah ditimbang kemudian dibiarkan selama 1 menit dan dihitung diameter sebaranya. Beban 50gram ditambahkan diatas kaca dan dibiarkan selama 1 menit lalu dihitung diameter sebaranya. Beban diberikan dengan kelipatan 50gram sampai skala stabil lalu diukur diameter dan luas sebaranya.

**9.5. Uji daya lekat.** Emulgel sebanyak 0,5gram diletakkan ditengah *object glass* dan satu *object glass* lainnya digun akan untuk menutup. Beban 50gram diletakkan diatas *object glass* tersebut selama 5 menit. Ujung dua *object glass* dijepit pada alat uji, kemudian penyangga beban dilepas. Waktu lekat sediaan dihitung dari lamanya dua *object glass* terlepas dari alat uji.

**9.6. Uji pH.** Uji ini dilakukan menggunakan pH meter. Sediaan emulgel ditimbang sebanyak satu gram dilarutkan dalam 10 ml aquadest. Elektroda yang telah dikalibrasi dicelupkan pada larutan uji tersebut selama 10 menit dan biarkan alat menunjukkan hasil yang konstan. Masing-masing formula dilakukan sebanyak 3 kali.

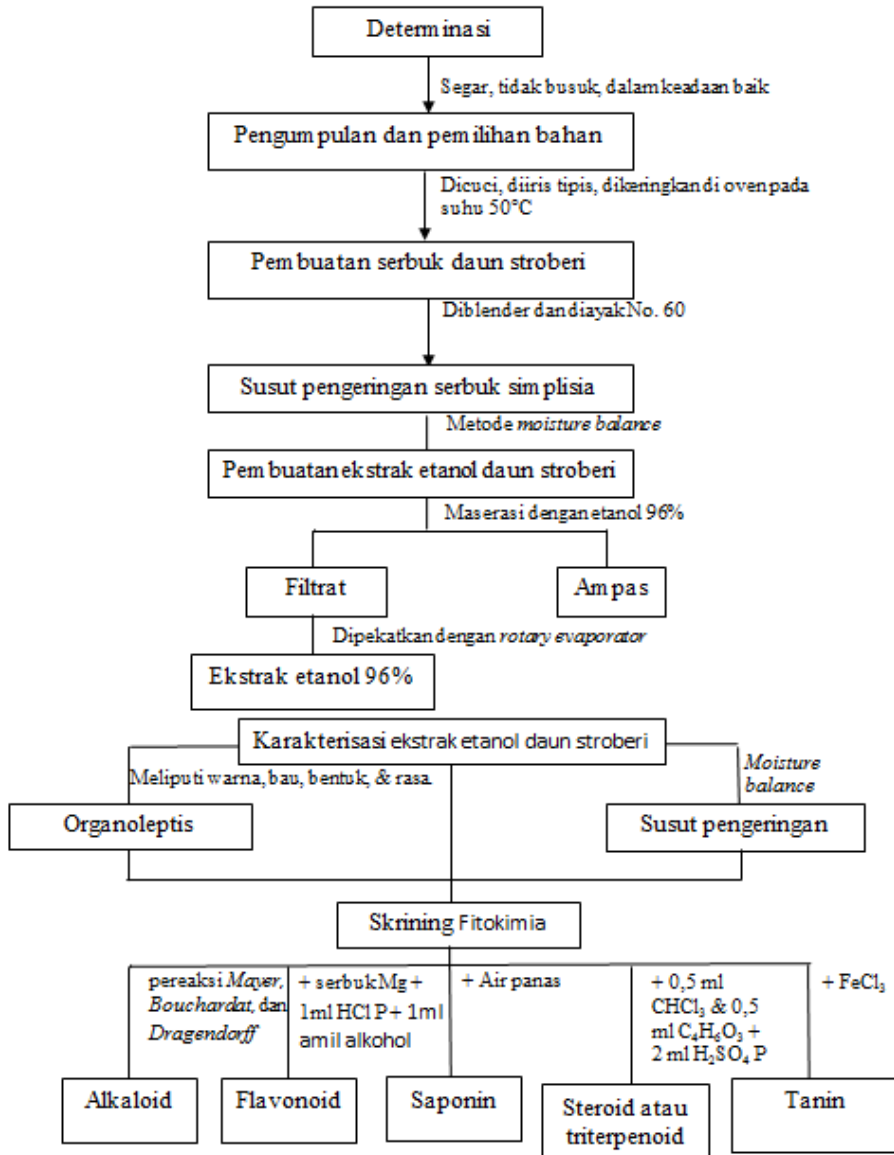
**9.7. Uji stabilitas.** Metode *cycling tes* dilakukan dengan cara sediaan disimpan pada suhu 4° C selama 24 jam, kemudian dipindah pada suhu 40° C selama 24 jam. Waktu penyimpanan dengan 2 variasi suhu tersebut dianggap 1 siklus. Pengujian stabilitas ini dilakukan sebanyak 6 siklus. Hasil data yang diperoleh kemudian diolah secara statistik menggunakan *Paired Sampel T-Test*. Emulgel dinyatakan stabil apabila tidak terdapat perbedaan signifikan ( $p\text{-value} > 0,05$ ) terhadap parameter yang diamati.

## E. Analisis Hasil

Analisis data dilakukan dengan pendekatan statistik menggunakan aplikasi *Statistical Package for the Social Sciennes* (SPSS). Analisis data uji mutu fisik dilakukan menggunakan *One Way*

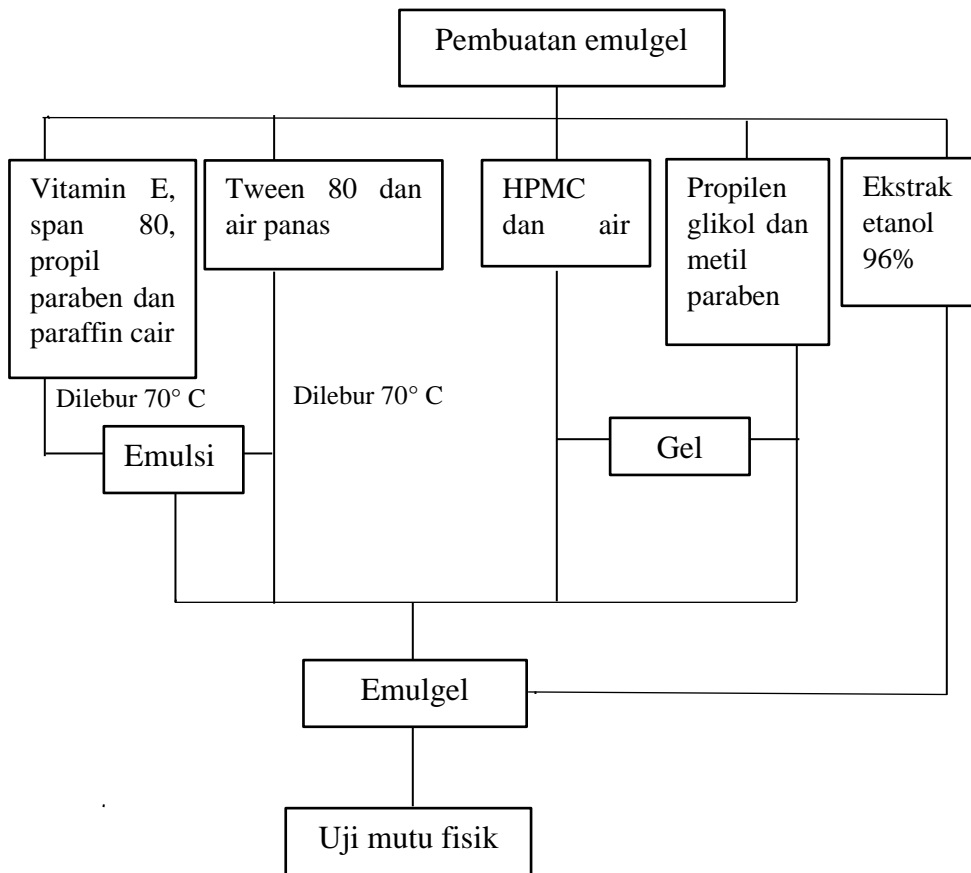
Anova dan *Paired T-Test* sedangkan data uji stabilitas dianalisis menggunakan *Paired T-Test* (Pramiastuti, 2019).

## F. Skema Penelitian



Gambar 4. Skema ekstraksi dan skrining fitokimia.





**Gambar 5. Pembuatan emulgel**