

BAB III METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi ialah bagian daripada objek yang dipergunakan teruntuk persyaratan yang ada dalam suatu penelitian. Populasi yang dipergunakan yakni daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) yang asalnya itu di daerah Sabrang Lor, Kabupaten Boyolali, Jawa Tengah.

Sampel ialah bagian kecil dari suatu populasi yang diteliti serta juga dipergunakan dalam sebuah penelitian. Sampel yang dipergunakan pada riset ataupun penelitian ini yakni daun katuk yang memiliki warna hijau, masih segar, dan juga terbebas dari adanya serangga yang diperoleh dari daerah Boyolali, Jawa Tengah.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama yang ada pada penelitian ini yakni formulasi serta uji mutu fisik sediaan gel ekstrak etanol daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.).

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama bisa diklasifikasikannya jadi 3 macam bagian, diantaranya ada variabel bebas, variabel tergantung, serta variabel terkendali.

Variabel bebas yakni variabel yang secara sengaja digantikan yang bertujuan untuk bisa mempelajari efek ataupun pengaruhnya dalam variabel tergantung. Variabel bebas yang ada pada penelitian ini yakni xanthan gum yang diformulasi ke dalam sediaan gel dengan konsentrasi berturut-turut 0,8; 1; serta 1,2%.

Variabel tergantung ialah variabel yang jadi salah satu pokok permasalahan berupa standar yang ada pada penelitian. Variabel tergantung yang ada di dalam riset ini yakni pengamatan organoleptik dan homogenitas, viskositas, pengujian pH, stabilitas, serta daya sebar.

Variabel terkendali ialah jenis variabel yang memberi efek kepada variabel tergantung, maka daripada itu adanya penetapan supaya mendapat hasil yang spesifik hingga bisa dilakukannya riset ulang oleh penelitian yang lain. Variabel terkendali yang ada pada riset ini ialah konsentrasi xanthan gum sebagai *gelling agent*, kualitas bahan, alat, serta juga waktu stabilitas serapan.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Pertama, daun katuk ialah daun katuk yang dipanenkannya dari pucuk yang bagus, memiliki warna hijau tua, dan juga terbebas dari adanya serangga yang diperoleh dari kawasan Sabrang Lor, Kabupaten Boyolali, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun katuk ialah daun katuk yang sudah dicucikan di bawah air yang mengalir dan lalu dilakukan penjemuran secara langsung di bawah sinar matahari sampai mengering, selanjutnya akan dilakukan tindakan penghalusan dan akan diayak dengan cara mempergunakan ayakan bernomor 60 *mesh*.

Ketiga, ekstraksi dari daun katuk ialah hasil dari tahapan ekstraksi simplisia yang dilakukan dengan cara mempergunakan metode maserasi serta etanol 96% sebagai pelarut, lalu dilakukannya pemekatan dalam *rotary evaporator* dan suhu 40°C sampai didapatkannya ekstraksi yang kental.

Keempat, sediaan gel ialah sediaan gel dengan bahan aktif xanthan gum sebagai pembentuk massa gel dan formulasi dari bahan yang lainnya.

Kelima, evaluasi fisik sediaan gel ialah tindakan pengujian yang dipergunakan teruntuk mendapatkan mutu fisik sediaan gel dengan cara mempergunakan uji organoleptik, pH, homogenitas, viskositas, serta daya sebar.

Keenam, stabilitas fisik sediaan gel ialah tindakan pengujian yang dilakukannya dengan cara mempergunakan metode *cycling test* guna melihat kestabilan dari sediaan gel pada masa periode penyimpanan.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang dipergunakan pada riset ini ialah ayakan nomor 60 *mesh*, bejana maserasi, kertas saring *whatman* nomor 42, kain flanel, beaker glass (pyrex), gelas ukur (pyrex), corong *Buchner*, tabung reaksi (pyrex), batang pengaduk (pyrex), pipet ukur (pyrex), pipet volume (iwaki), labu tentukur (pyrex), stamper (one med) dan mortir, sudip, cawan penguap (pyrex), vial, spuit (one med), lempeng kaca, chamber, objek glass, pH meter, blender, kuvet, stopwatch, oven, *water bath* (Memert), timbangan analitik, *moisture balance*, *vacuum rotary evaporator* (IKA® RV 10), serta juga viskometer *cup and bod*.

2. Bahan

Bahan yang dipergunakan pada riset ini ialah daun katuk yang didapatkan dari daerah Sabrang Lor, Boyolali, Jawa Tengah serta bahan yang dipergunakan ialah propilen glikol, etanol 96%, metil paraben, xanthan gum, aquades, natrium metabisulfit, reagen Mayer, larutan H_2SO_4 pekat, HCl pekat, $HgCl_2$, $FeCl_3$ 0,1% dan reagen Dragendorff.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukannya teruntuk mengetahui kebenaran dari sebuah tanaman. Determinasi yang dilakukan mencakup ciri-ciri makroskopis, mikroskopis, dan juga morfologi yang terdapat di dalam tanaman katuk yang disesuaikan dengan kepustakaan, hingga bisa melakukan penghindaran terhadap kesalahan dalam hal pemilihan tanaman. Tanaman daun katuk didapat dari daerah Sabrang Lor, Boyolali, Jawa Tengah. Tanaman berikutnya yakan akan dilakukan determinasi di dalam Laboratorium Biologi, Kemenkes RS Sardjito.

2. Persiapan Bahan

Daun katuk dipetik dengan jumlah sebanyak 8 kg yang lalu dilakukannya tindakan sortasi basah dengan melakukan pemisahan terhadap berbagai macam kotoran ataupun bahan asing dari simplisia. Kotoran yang ada pada daun katuk dibersihkan serta juga dicuci dengan mempergunakan air mengalir sampai benar-benar bersih dan kemudian dilakukan tindakan penirisan. Daun katuk dipotong maupun dirajang jadi jauh lebih kecil serta pengeringan yang ada pada daun katuk dilakukannya dengan mempergunakan alat oven dengan suhu $50^{\circ}C$ sampai daunnya mengering. Jika sudah kering simplisia dilakukan sortasi kering teruntuk melakukan pemisahan terhadap adanya kotoran yang tertinggal.

3. Pembuatan Serbuk

Daun katuk yang telah mengering kemudian akan diblender sampai dengan menjadi serbuk. Pengayakan dilakukan dengan cara mempergunakan ayakan nomor 60 *mesh* yang bertujuan supaya serbuk yang dihasilkan mempunyai kesamaan dalam hal ukuran. Serbuk yang sudah diayak kemudian dilakukan penyimpanan ke dalam wadah yang tertutup serta juga kering rapat guna dikemudian bakal dipergunakan pada penelitian.

3.1 Pemeriksaan susut pengeringan. Penetapan susut pengeringan serbuk daun katuk dilakukannya dengan cara mempergunakan *moisture balance*, serbuk daun katuk yang dimasukkan dengan jumlah sebanyak 2 gram di suhu yang mencapai 105°C dan kemudian ditunggu beberapa saat atau beberapa menit sampai dengan nilai susut pengeringan muncul di dalam alat dengan satuan persen (%) pada bobot awal.

Rumus perhitungan susut pengeringan:

$$\text{Susut pengeringan (\%)} = \frac{a-b}{b} \times 100\%$$

Ket: a = berat awal simplisia (g)

b = berat akhir simplisia (g)

3.2 Pemeriksaan kadar air serbuk. Pemeriksaan kadar air serbuk dilakukan dengan mempergunakan metode destilasi toluen dengan serangkaian alat *sterling-bidwell*. Pengujian dilakukannya dengan cara serbuk dari daun katuk ditimbang dengan jumlah sebanyak 10 g dan lalu ditambahkan pelarut yaitu toluena sebanyak 100 ml (1:10) yang dimasukkan ke dalam labu alas bulat, serta dimasukkannya juga batu didih guna mengurangi gejala pada saat larutan mendidih. Larutan kemudian dipanaskan hingga air yang terkandung dalam serbuk menguap. Volume air yang didapatkan kemudian dihitung dalam % v/b untuk mendapatkan nilai kadar air serbuk.

4. Pembuatan Ekstrak Daun Katuk

Pembuatan ekstrak bisa dibuat dengan cara mempergunakan metode maserasi serbuk yang mana simplisia daun katuk yang telah halus kemudian ditimbangkan dengan jumlah sebanyak 500 gram serta lalu dilarutkannya dengan etanol 96% yang berjumlah 5 liter (1:10). Hasil dari pencampuran, selanjutnya dilakukan perendaman dengan durasi waktu selama 6 jam pertama sambil dengan sesekali digojog-gojog, lalu didiemkannya dengan lama waktu 18 jam. Maserat yang diperoleh, kemudian disaring dengan mempergunakan kertas saring *whatman* no.42 yang bertujuan teruntuk melakukan pemisahan terhadap filtrat serta residu. Tahapan berikutnya yakni melakukan tindakan penyarian yang diulang dengan jumlah sebanyak 2 kali yang jumlah volume pelarut memiliki jumlah sebanyak setengah kali dari penyarian pertama. Hasil dari maserasi disaring hingga didapat filtrat dan lalu dilakukannya penguapan dengan mempergunakan *rotary evaporator* dengan suhu yang mencapai 40°C sampai diperoleh ekstraksi yang

kental, kemidoam melakukan tindakan perhitungan terhadap rendemennya (Kemenkes RI, 2017).

5. Identifikasi Ekstrak Daun Katuk

5.1 Uji pemeriksaan organoleptik ekstrak etanol daun katuk. Pemeriksaan organoleptik dilakukannya dengan cara langsung dengan cara melakukan pengamatan terhadap bau, bentuk fisik, rasa serta warna dari ekstrak daun katuk. Hasil yang didapat dibanding dengan Farmakope Herbal Indonesia (FHI) teruntuk melihat apakah ekstraksi dari daun katuk yang dihasilkan sudah memenuhi persyaratan yang ada (Kemenkes RI, 2017).

5.2 Penetapan kadar air. Kadar air ditentukan dengan memakai metode gravimetri, yang melibatkan penimbangan sekitar 10 gram ekstrak serta menempatkannya dalam wadah yang sudah ditara. Tahap selanjutnya adalah pengeringan selama 5 jam pada suhu kamar, yaitu dengan suhu 105°C, dan dilakukan penimbangan ulang setiap 1 jam untuk mendapatkan 2 perbedaan penimbangan tidak melebihi 0,25% untuk kedua kalinya secara berturut-turut (Kemenkes RI, 2017).

6. Skrining Fitokimia

6.1 Uji alkaloid. Ekstraksi daun katuk diambil dengan jumlah 1 mL, dan lalu dimasukkan sebanyak 1 mL HCl 2N dengan 9 mL aquades, yang setelah itu dilakukan pemanasan di atas bunsen dengan durasi waktu sekitar 5 menit lamanya, lalu dilakukannya tindakan pendinginan dan juga penyaringan sampai dengan didapatkan filtrat. Filtrat dibaginya jadi 3 macam bagian dalam tabung reaksi dengan tiap-tiapnya ditambah pereaksi *Mayer*, *Wagner*, serta *Dragendorff*. Hasil positif dari adanya alkaloid terhadap adanya tambahan *Wagner* ditandainya dengan adanya sebuah endapan *coklat*, *Mayer* membentuk endapan putih, serta *Dragendorff* membentuk endapan yang memiliki warna jingga.

6.2 Uji flavonoid. Ekstrak daun katuk akan dilakukan penimbangan dengan jumlah sebanyak 0,1 gram yang dimasukkannya ke dalam tabung reaksi, lalu ditambah dengan metanol 4 mL kemudian dilakukan pemanasan. Filtratnya ditambah dengan H₂SO₄. Lalu didiamkan untuk beberapa saat saja. Apabila terbentuknya warna merah menunjukkan adanya flavonoid.

6.3 Uji saponin. Ekstrak daun katuk ditimbang dengan jumlah 0,1 gram yang dimasukkannya ke dalam tabung reaksi, lalu ditambah dengan 5 ml air, lalu juga ditambah dengan 1 tetes HCl, setelah itu dikocok dengan durasi waktu selama 20 detik dan lau mengamati adanya

suatu perubahan yang muncul. Kalau mulai terbentuk suatu busa (tidaklah hilang dengan durasi waktu 20 menit), hasilnya itu memperlihatkan adanya saponin.

6.4 Uji tanin. Ekstrak daun katuk ditimbang dengan berat 0,1 gram yang dimasukkannya ke dalam tabung reaksi, lalu ditambah sebanyak 10 mL air kemudian dilakukan pendidihan dalam durasi waktu selama 5-10 menit. Lanjut campuran akan disaring kemudian filtratnya ditambah dengan FeCl_3 . Selanjutnya didiamkan untuk beberapa saat sampai hasilnya tersebut ditandai dengan adanya kemunculan warna hitam kehijau-hijauan.

7. Pembuatan Sediaan Gel

Pembuatan sediaan gel diawali dengan xanthan gum dikembangkan dalam aquades dengan jumlah sebanyak ± 10 mL di suhu yang mencapai 50°C , lalu dimasukkannya secara perlahan dan diaduk sampai dengan mulai terbentuknya basis (campuran 1). Metil paraben dilarut dengan mempergunakan propilen glikol (campuran 2). Ekstrak etanol daun katuk diencerkan dengan sedikit propilen glikol (campuran 3). Natrium metabisulfit dilarutkan dengan air (campuran 4). Campuran 2 dimasukkannya ke dalam campuran 1 dengan cara perlahan sembari diaduk sampai dengan homogen, lalu ditambah dengan campuran 3 dan mulai diaduk lagi sampai dengan homogen serta dimasukkannya campuran 4 dan juga diaduknya lagi sampai dengan homogen. Wadah dari campuran 2 serta 3 dilakukan pembilasan dengan mempergunakan sedikit *aquadest*, selanjutnya memasukkan hasil dari bilasan tersebut ke dalam semua campuran bahan. Gel ditambah dengan *aquadest* yang mencapai berat sampai 100 gram, serta dilakukan tindakan pengadukan sampai dengan homogen. Sediaan gel dilakukan pengujian terhadap mutu fisik serta stabilitas.

Tabel 1. Formulasi sediaan gel ekstrak daun katuk

Bahan	Kontrol (-)	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)
Ekstrak daun katuk	9	9	9	9
Xanthan gum	-	0,8	1	1,2
Propilen Glikol	10	9,2	9	8,8
Natrium Metabisulfit	0,3	0,3	0,3	0,3
Metil Paraben	0,3	0,3	0,3	0,3
<i>Aquadest</i>	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100

Keterangan:

Basis : Sediaan gel tanpa xanthan gum

F1 : Sediaan gel dengan konsentrasi xanthan gum 0,8%

F2 : Sediaan gel dengan konsentrasi xanthan gum 1%

F3 : Sediaan gel dengan konsentrasi xanthan gum 1,2%

8. Uji Mutu Fisik Dan Stabilitas Sediaan Gel

8.1 Uji organoleptik. Pengujian organoleptik yang dikerjakan yakni diantaranya ialah bentuk, bau, serta warna yang dilakukan dengan cara visual terhadap sediaan gel ekstrak daun katuk.

8.2 Uji homogenitas. Sediaan gel dioles di permukaannya *object glass*, lalu ditutup dengan mempergunakan *object glass* yang lain, selanjutnya melakukan tindakan observasi maupun pengamatan dengan memakai alat mikroskop. Hasil dari pengujian memperlihatkan yakni tidaklah adanya butiran kasar maupun gumpalan yang menunjukkannya hasil yang homogen.

8.3 Uji pH. Uji pH sediaan yang dibuat dengan cara mempergunakan pH meter yang dicelup ke dalam sediaan dan kemudian didiamkannya selama sebentar sampai dengan munculnya angka di layar stabil. Hasil dari uji pH dilakukannya secara *triplo*. Nilai dari pH kulit wajah memiliki nilai dengan berkisar dari angka 4,5-6,5 yang dianggap baik teruntuk dipergunakan dan tidaklah membuat terjadinya iritasi di kulit (Tranggono *et al.*, 2007).

8.4 Uji viskositas gel. Uji viskositas dilakukannya dengan cara mempergunakan alat viskometer *Brookfield* dengan melakukan tindakan menuang sampel ke dalam gelas ukur 50 mL, dan lalu dipasangkan *spindle* yang sesuai teruntuk sediaan tersebut, putar sampai dengan *spindle* menjadi masuk terendam seluruhnya ke sampel yang dituang tadi. Kemudian mengatur kecepatan di 50 rpm serta melakukan tindakan pencatatan nilai yang kerap kali timbul ataupun muncul di dalam layar. Sediaan gel yang dianggap baik mempunyai nilai viskositas dari 230-1150 cPs (Wijayanti dan Faizatun, 2011).

8.5 Uji daya sebar gel. Pengujian ini dibuat dengan cara melakukan penimbangan sejumlah 0,5 gram sampel yang kemudian diletakkannya di tengah cawan petri yang posisinya itu terbalik. Cawan petri lain diletak di atas dari sampel, lalu dibiarkan dan didiamkannya dengan durasai waktu selama 1 menit yang berikutnya diukurkan diameter dari penyebaran di berbagai macam sisi. Sesudah 1 menit, lalu ditambah beban dengan berat 50 gr, dan didiamkannya dengan durasi waktu 1 menit serta diukurkan daya sebaranya. Perihal yang sama akan dilakukan kembali di tiap-tiap 1 menit dengan adanya tambahan berat sejumlah 50 gr hingga menacapi total berat seberat 150 gram. Daya sebar yang baik memiliki panjang kisaran dari 5-7 cm, menunjukkan

bahwasanya sediaan tersebut mempunyai tekstur yang lembut di kulit saat dioleskan ke wajah (Garg *et al.*, 2002).

8.6 Uji stabilitas gel. Uji stabilitas gel dengan menggunakan metode *cycling test* untuk melihat kestabilan sediaan terhadap variasi suhu selama periode waktu tertentu. Gel diendapkan dalam pot gel dan dikemas pada suhu 40°C dengan lama waktu yang mencapai 24 jam sebelum dipindah ke dalam suhu 4°C dengan durasi 24 jam. Periode pada penyimpanan kedua dari suhu tersebut dipergunakan teruntuk melakukan perhitungan terhadap satu siklus uji. Tes tersebut dilakukan pengulangan dengan jumlah 6 kali, dengan stabilitas fisik yang dinilainya dari sebelum maupun juga sesudah tiap-tiap siklus.

E. Analisis Hasil

Data survei dianalisis mempergunakan metode statistik serta program aplikasi SPSS. Analisis dari hasil pengujian pada bermacam-macam parameter berupa formulasi gel, pH, homogenitas, viskositas, daya sebar, serta stabilitas bakal dianalisis dengan cara melakukan perbandingan terhadap hasil dengan berbagai macam literatur maupun pendekatan statistik yang mempergunakan program aplikasi SPSS. Hasil data dari riset dilakukannya analisis secara statistik dengan mempergunakan program aplikasi SPSS yang melakukan metode *one way ANOVA* serta *Paired-samples T Test*.