

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **A. Populasi Dan Sampel**

#### **1. Populasi**

Seluruh hal yang menjadi dasar penelitian ini adalah populasi. Penelitian ini memanfaatkan populasi tanaman aloe vera yang dikumpulkan di wilayah Karanganyar Tawangmangu oleh Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional B2P2TOOT. Tanaman yang digunakan untuk sampel adalah aloe vera, yang mudah dikenali dari warna hijau mudanya dan daunnya yang tebal dan berdaging.

#### **2. Sampel**

Sampel merupakan Sebagian kecil dari populasi yang dipakai pada penelitian. Sampel pada studi ini memakai tanaman lidah buaya (*Aloe vera* L.) yang segar dengan pelepah daun berdaging tebal dan berwarna hijau muda.

### **B. Variabel penelitian**

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

Ekstrak etanol aloe vera merupakan variabel utama dalam penelitian ini. Formulasi gel yang mengandung aloe vera dan disiapkan dengan konsentrasi basa yang berbeda merupakan variabel kunci kedua dalam penelitian ini. Dengan menggunakan kelinci *Selandia* Baru sebagai probandus, penelitian ini meneliti efek anti-penuaan dari gel ekstrak etanol aloe vera, variabel utama ketiga.

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

Setiap variabel tunggal yang diperiksa secara langsung dimasukkan ke dalam variabel utama. Variabel yang terdeteksi akan dikategorikan sebagai variabel dependen atau terikat, atau sebagai variabel independen atau terkontrol.

Variabel yang nilainya memengaruhi variabel dependen atau terikat disebut variabel independen. Konsentrasi karbopol 940 (0,6, 1,2, dan 1,8 persen) adalah variabel independen dalam penelitian ini. Variabel terkontrol, yang memengaruhi variabel dependen dan terikat secara independen dari variabel independen, harus diidentifikasi agar hasilnya dapat direproduksi secara andal dalam penelitian mendatang. Strain kelinci, serta usia, jenis kelamin, genetika, pola makan, tingkat aktivitas,

kehatan, dan berat badannya, berfungsi sebagai variabel terkontrol dalam penyelidikan ini.

Nilai variabel dependen atau terikat bergantung pada nilai variabel independen. Dalam penelitian ini, variabel terikat dan terikat adalah uji kelinci untuk kualitas fisik dan iritasi primer, serta hasil probandus untuk aktivitas anti-penuaan, kehalusan kulit, dan kerutan yang diukur dengan alat analisis kulit EH-900U

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

Pertama, tanaman lidah buaya adalah tanaman yang memiliki pelepah berdaging tebal berwarna hijau muda dan memiliki kandungan sebagai *antioksidan*.

Kedua, sediaan gel lidah buaya adalah sediaan gel yang mengandung lidah buaya yang dibuat dengan cara mencampurkan ekstrak etanol lidah buaya sebanyak 1% dari hasil maserasi yang ditambahkan pada formulasi basis gel yang telah dibuat.

Ketiga, konsentrasi basis Carbopol 940 adalah konsentrasi yang telah diformulasikan ke dalam sediaan gel adalah F1: 0,6%,F2: 1,2%,F3: 1,8%.

Keempat, ukuran stabilitas fisik yang memengaruhi kualitas sediaan gel adalah kualitas fisiknya. Organoleptik, homogenitas, viskositas, daya sebar, daya rekat, dan stabilitas merupakan semua aspek kualitas fisik sediaan gel.

Kelima, parameter kelima adalah iritasi utama sediaan gel. Parameter ini menunjukkan indeks iritasi dan memberi Anda gambaran umum tentang seberapa aman sediaan gel dengan melihat karakteristik edema dan eritema.

Terakhir, alat analisis kulit EH-900U digunakan untuk mengukur parameter berikut: peningkatan kadar air (kelembapan), kehalusan kulit (evenness), ukuran pori (pore), bintik (spots), dan kerutan (wrinkles). Data ini menunjukkan aktivitas anti-penuaan sediaan gel.

## **C. Alat dan Bahan**

### **1. Alat**

Alat yang dipakai dalam studi ini adalah *skin analyzer EH-900U*, kendang kelinci, alat cukur bulu, ph meter digital, viskometer , botol kaca, timbangan digital.

### **2. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam studi ini adalah tanaman lidah buaya (*Aloe vera L.*) diambil Tanaman Obat dan Obat Tradisional

(B2P2TOOT) di daerah Karanganyar Tawangmangu. Bahan kimia untuk melakukan studi ini meliputi Carbopol 940, propilenglikol, metil paraben, propil paraben, TEA, dan aquades. Bahan yang dipakai sebagai kontrol positif uji aktivitas anti aging adalah wardah nature *daily aloe vera multifuction gel*.

### **3. Hewan uji**

Pengujian hewan pada studi ini adalah kelinci putih *New Zealand* berumur 2-3 bulan dengan berat 3-4 kg, kondisi kelinci tidak dalam keadaan udema ataupun punggung terjadi eritema, dikarenakan kelinci tersebut akan dipakai untuk uji iritasi krim.

## **D. Jalan Penelitian**

### **1. Pengambilan sampel**

Tanaman lidah buaya (*Aloe vera* L.) diambil Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) di daerah Karanganyar Tawangmangu. Tanaman lidah buaya diambil yang memiliki pelepah bergading tebal dan berwarna hijau muda segar.

### **2. Determinasi tanaman**

Determinasi tanaman lidah buaya pada studi ini adalah menetapkan kebenaran sampel tanaman lidah buaya, yang berkaitan dengan ciri ciri makroskopis dan mencocokkan morfologi yang ada pada tanaman yang akan di teliti di laboratorium Universitas Setia Budi.

### **3. Pembuatan ekstrak etanol lidah buaya**

Menurut ( DepKes RI, 2000). Tanaman lidah buaya dilakukan penyortiran lalu dicuci dengan air mengalir yang bersih supaya menghindari debu atau kotoran yang menempel di tanaman lidah buaya. Setelah di cuci bersih pisahkan duri dan kulit luar daun lidah buaya untuk mendapatkan daging lidah buaya segar. Kemudian haluskan ukuran daging lidah buaya dengan cara di potong kecil kecil. Daging lidah buaya yang telah halus ditimbang memakai timbangan digital. Daging lidah buaya kemudian melakukan maserasi memakai pelarut etanol 96% (Prastyoningsih, 2024).

Masukan kedalam wadah gelap atau botol maserasi kemudian tambahkan pelarut etanol 96% dengan perbandingan (1 : 10) dan direndam selama 2x24 jam. Penyaringan ekstrak hasil maserasi tersebut dengan memakai flannel dan kedua memakai kertas saring. Evaporasi

dilakukan pada. Filtrat dalam bentuk cair lalu dipisahkan dengan rotary evaporator untuk dihilangkan pelarut etanol 96%.

#### 4. Susut pengeringan ekstrak

**4.1 Ekstrak kental etanol lidah buaya.** Bila beratnya antara 1 dan 2 gram, pindahkan isinya ke dalam botol timbang tertutup yang telah dipotong dan dimasak dalam oven dengan suhu 105 derajat Celsius selama setengah jam. Setelah botol berisi ekstrak mendingin hingga mencapai suhu ruangan, masukkan ke dalam desikator. Setelah dingin, ukur dengan hati-hati hingga mencapai berat yang stabil. Persentase penyusutan pengeringan kemudian dapat ditentukan. Penimbangan dilakukan hingga mencapai kondisi stabil (Kulsum, 2020).

$$\text{Susut pengeringan} = \frac{\text{bobot awal} - \text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100$$

#### 5. Identifikasi kandungan kimia

Identifikasi kandungan kimia adalah metode berbasis reaksi untuk mempelajari komponen kimia asli aloe vera, seperti tanin, saponin, dan flavonoid.

**5.1 Identifikasi flavonoid.** Untuk melakukan uji flavonoid, larutkan 0,1 ml ekstrak dalam etanol 96%. Kemudian, tambahkan reagen H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Flavonoid hadir ketika muncul rona jingga kemerahan.

**5.2 Identifikasi saponin.** Uji saponin memerlukan waktu 10 menit untuk merebus 0,2 ml bahan dengan 10 ml air panas. Setelah ekstrak disaring, 10 mililiter FeCl<sub>3</sub> 1% dapat ditambahkan ke dalamnya. Warna biru kehijauan gelap ditunjukkan oleh hasil positif.

**5.3 Identifikasi tanin.** Untuk uji tanin, kami merebus 10 mililiter air dengan 0,1 gram ekstrak di dalamnya selama 10 menit. Kemudian, kami menutup tabung reaksi dan mengocoknya selama 10 detik. Setelah 10 menit, kami menambahkan 1 mililiter asam klorida 2N. Pembentukan busa yang stabil merupakan tanda adanya tanin.

**5.4 Identifikasi antarkuinon.** Untuk percobaan, kami menggabungkan 0,2 mililiter ekstrak gel aloe vera dengan 5 mililiter larutan asam sulfat 2N; kita panaskan sebentar, biarkan dingin, lalu tambahkan 10 mililiter benzena dan 2 mililiter larutan NaOH 2N. Kemudian kita diamkan. Interquinone positif ditandai dengan adanya dua lapisan, yaitu lapisan merah dan lapisan benzena yang tidak berwarna.

## 6. Formulasi sediaan gel

Formula sediaan gel lidah buaya mengacu pada salah satu penelitian Matsna Yuliana Rohiyati (2020). dengan memodifikasi rancangan formula yang mengganti basis HPMC menjadi carbopol 940, berlandaskan penelitian Benni Iskandar (2021). Penambahan carbopol 940 dalam sediaan gel memiliki mutu fisik yang baik. Formula dibuat dalam empat rancangan variasi basis serta terdapat penambahan ekstrak lidah buaya sebesar 1%. Berikut rancangan formulasi gel yang terdiri basis carbopol 940 dengan F1; konsentrasi 0,6%, F2; dengan konsentrasi 1,2%, F3; dengan konsentrasi 1,8%, dan kontrol negatif (formula hanya basis tanpa penambahan ekstrak). Rancangan formula gel ekstrak lidah buaya pada studi ini disajikan dalam tabel 4 berikut.

**Tabel 4. Rancangan formula gel ekstrak lidah buaya**

<b>FORMULA GEL</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>
Ekstrak lidah buaya	1%	1%	1%	-
Carbopol 940	0,6%	1,2%	1,8%	1,8%
TEA	0,5%	0,5%	0,5%	0,5%
Propilenglikol	15%	15%	15%	15%
Metil paraben	0.2%	0.2%	0.2%	0.2%
Aquadest	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100

Keterangan :

F1: basis dengan konsentrasi 0,6%

F2: basis dengan konsentrasi 1,2%

F3: basis dengan konsentrasi 1,8

F4 : kontrol negatif (tanpa ekstrak)

## 7. Pembuatan gel

Gel dibuat dengan prosedur tahap awal melakukan pengembangan Carbopol 940, dengan cara memasukan aquadest kedalam mortir, taburkan serbuk Carbopol 940 ke dalam mortir, diamkan selama 15 menit sampai sediaan mengembang, diaduk sampai tidak adanya partikel gumpalan atau larut sempurna, larutkan TEA dengan memakai aquadest kemudian masukan kedalam campuran basis Carbopol 940, lalu diaduk hingga homogen. Larutkan metil paraben sebagai pengawet dengan memakai propilenglikol sampai homogen, masukan campuran kedalam carpobol 940 sampai terbentuknya gel yang gernih dan kental. Masukan ekstrak etanol lidah buaya sebanyak 1%, dalam campuran sediaan gel kemudian aduk hingga terbentuk sediaan gel lidah buaya.

## 8. Pengujian mutu fisik dan stabilitas Gel

Uji organoleptik, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, dan daya lekat merupakan bagian dari pengujian mutu fisik produk gel aloe

vera. Menurut Rohiyati (2020), uji daya lekat digunakan untuk mengetahui kestabilan larutan gel aloe vera.

**8.1 Uji organoleptis.** Sebagai bagian dari evaluasi organoleptik sediaan gel, kami melihat bagaimana tampilan dan rasa sediaan gel di kulit, serta aroma, warna, dan konsistensinya. Sediaan gel menjalani pengujian organoleptik dengan memperhatikan perubahan warna, bau, dan bentuk saat dibiarkan pada suhu ruangan. Formulasi gel harus mempertahankan sifat organoleptiknya selama jangka waktu tertentu dalam penyimpanan (Iskandar, 2021).

**8.2 Uji pH.** Untuk memastikan bahwa sediaan gel sesuai untuk digunakan pada kulit, pH-nya harus diukur. Jika pH terlalu tinggi, kulit akan tampak bersisik, dan jika terlalu rendah, dapat menyebabkan iritasi. Kulit biasanya memiliki pH antara 4,5 dan 6,5. Untuk melakukan uji pH, digunakan bench meter—alat yang mengukur dan menampilkan nilai pH. Sepuluh gram sediaan gel ekstrak lidah buaya dimasukkan ke dalam gelas kimia. Kemudian, gel diuji (Iskandar, 2021).

**8.3 Uji homogenitas.** Untuk menentukan apakah komponen sediaan gel ekstrak lidah buaya (*Aloe Vera L.*) tercampur merata, uji homogenitas dilakukan dengan mengoleskan gel ke sepotong kaca bening. Ini adalah salah satu uji fisik terpenting yang digunakan dalam sediaan farmasi. Dengan melakukan uji ini, kita dapat memastikan bahwa bahan-bahan sediaan terdistribusi secara merata dan bebas dari gumpalan apa pun. Sediaan yang lebih stabil tercapai ketika ukuran dan bentuk partikel diperkecil dan konsisten (Iskandar, 2021).

**8.4 Uji viskositas.** Secara umum, cairan akan lebih sulit mengalir melalui material dengan viskositas yang lebih tinggi, oleh karena itu, mengukur sifat ini merupakan bagian penting dari uji viskositas. Dalam penelitian ini, uji viskositas gel dilakukan menggunakan viskometer Brookfield yang memiliki kecepatan spindel 30 rpm dan nomor spindel 6. Masukkan setiap sampel yang telah disiapkan ke dalam gelas kimia terpisah. Lanjutkan dengan mengalirkan sampel melalui viskometer Brookfield. Ukur kedalaman sampel dengan memasukkan spindel ke dalamnya. Kemudian, gunakan arus listrik untuk memutar spindel ke dalam hingga jarum bergerak dan viskometer menampilkan angka yang ditentukan (Iskandar, 2021).

**8.5 Uji daya sebar.** Untuk mengetahui seberapa merata gel terdistribusi saat dioleskan ke kulit, para ilmuwan melakukan uji daya sebar. Setelah mengukur setengah gram gel, gel tersebut diletakkan pada

alat ukur kaca. Setelah meletakkan benda kaca lain dan sejumlah beban (tanpa beban, 50g, 100g, 150g, 200g, atau 250g) di atas gel, dibiarkan selama 60 detik. Selanjutnya, dilakukan perhitungan daya sebar. Daya sebar gel harus berada di antara 5 dan 7 sentimeter, sesuai dengan standar yang ditetapkan oleh Kementerian Kesehatan Indonesia pada tahun 1979 (Iskandar, 2021).

**8.6 Uji daya lekat.** Untuk melakukan uji daya lekat, pertamanya lapisi satu permukaan kaca dengan sediaan gel secukupnya. Kemudian, letakkan permukaan kaca kedua di atas permukaan kaca pertama. Berikan tekanan sebesar 0,5 kg selama 5 menit untuk memadatkan lapisan-lapisan tersebut. Dengan benda kaca yang masih terikat, angkat beban seberat 0,5 kilogram dan catat momen yang tepat saat kedua potongan kaca dilepaskan (Iskandar, 2021).

## 9. Uji stabilitas metode *cycling test*

Suatu sediaan dianggap stabil jika dapat mempertahankan kualitasnya selama masa penggunaan dan penyimpanan. Pengamatan pemisahan fasa dan sineresis merupakan bagian dari metode uji siklus untuk mengevaluasi kestabilan mutu fisik. Sineresis adalah terjadinya keluarnya air dari gel saat gel menyusut akibat keluarnya air dari gel. Efek akhirnya adalah gel tampak lebih padat dan tipis. Lamanya uji siklus ini adalah enam siklus. Setiap siklus terdiri dari pengeluaran sediaan gel dari lingkungan penyimpanan dinginnya ( $\pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) dan penempatannya pada suhu  $\pm 40\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam (Setyawan, 2023).

## 10. Uji iritasi gel lidah buaya

Percobaan yang melibatkan iritasi dilakukan dengan metode draize pada kelinci albino New Zealand jantan dewasa. Setelah dicukur bersih, punggung kelinci dipotong menjadi empat bagian yang sama. Formula FI, FII, FIII, dan kontrol negatif selanjutnya dioleskan pada setiap komponen menggunakan gel aloe vera. Sehari penuh sebelum perawatan, pasien dicukur. Setelah punggung kelinci dicukur, sampel gel sebanyak 0,5 gram dioleskan pada masing-masing bagian. Kemudian, kasa steril diletakkan di atasnya dan plester dipasang. Setelah 24 jam, plester dilepas dan dibiarkan selama 1 jam sebelum diamati. Kemudian, bagian tersebut ditutup kembali dengan plester yang sama dan diamati lagi setelah 48 dan 72 jam (Ermawati, 2018).

Rumus perhitungan indeks iritasi primer adalah sebagai berikut :

$$\frac{\text{Jumlah critema 24/48/72 jam} + \text{Jumlah edema 24/48/72 jam}}{\text{Jumlah hewan}}$$



Keterangan:

- 1 : Formula I carbopol 0.6%
- 2 : Formula II carbopol 1.2%
- 3 : Formula III carbopol 1.8%
- 4 : Kontrol negatif basis 1.2% (tanpa ekstrak lidah buaya)

**Gambar 7. Skema Uji iritasi pada kelinci**

## 11. Uji Aktivitas anti-aging

Uji aktivitas sediaan gel ekstrak lidah buaya memakai hewan uji kelinci sebagai probandus, semua hewan uji kelinci diukur terlebih dahulu kondisi kulit awal bagian punggung dengan berbagai parameter uji, seperti kadar air (*moisture*), kehalusan (*evenness*), besar pori (*pore*), dengan memakai alat *skin analyzer*.

Penyinaran dilakukan dengan memakai sinar UV-A selama 6jam/ hari dalam kurun waktu 1 minggu guna menurunkan parameter kulit yang akan di uji, kemudian dicek persen kolage, persentase moisture dan persentase elastis dengan memakai alat *skin analyzer*. Pemakaian gel mulai dilakukan dengan pengolesan F1: carbopol 0,6%, F2: carbopol 1,2%, F3: carbopol 1,8%, F4: kontrol negatif, dan F5: kontrol positif, hingga merata setiap satu kali sehari yaitu pada pagi hari selama 30 hari pada daerah punggung kelinci. Perubahan kondisi kulit diukur setiap minggu dengan memakai *skin analyzer*.

## 12. Pengamatan aktivitas anti-aging.

Parameter kerutan diamati sebelum dan sesudah pemberian, pada hari ke-0 (sebelum diberikan sediaan gel) dan pada hari ke 4 minggu (sesudah diberikan sediaan gel). Parameter kerutan yang diamati antara lain persen kolagen, persen kelembaban, dan persen elastisitas memakai alat *skin analyzer*. Parameter uji, seperti kolagen, kadar air (*moisture*), dan kehalusan (*evenness*), dapat langsung dilihat pada komputer yang sudah diinstal aplikasi *skin analyzer* untuk menunjukkan persentase tersebut.

### E. Analisis data

Data yang telah terkumpul dianalisis memakai program *statistikal product and service solution (SPSS)*. Data dianalisis dengan langkah langkah berikut :

1. Data uji stabilitas sediaan gel yang diperoleh dianalisis statistic dengan memakai *Test of Normality* untuk melihat distribusi normal data. Kemudian untuk data uji mutu fisik dilakukan uji statistic dengan *Paired sampel t-Test* untuk melihat perbedaan keseluruhan.
2. Hasil uji aktivitas anti-aging memakai skin analyzer dengan parameter persen kelembapan dan persen elastisitas sebelum dan sesudah diberikan sediaan gel dianalisis memakai *uji independent sample T-Test* dilanjutkan uji statistic dengan *uji post hoc (uji Turkey)* untuk melihat perbedaan keseluruhan.

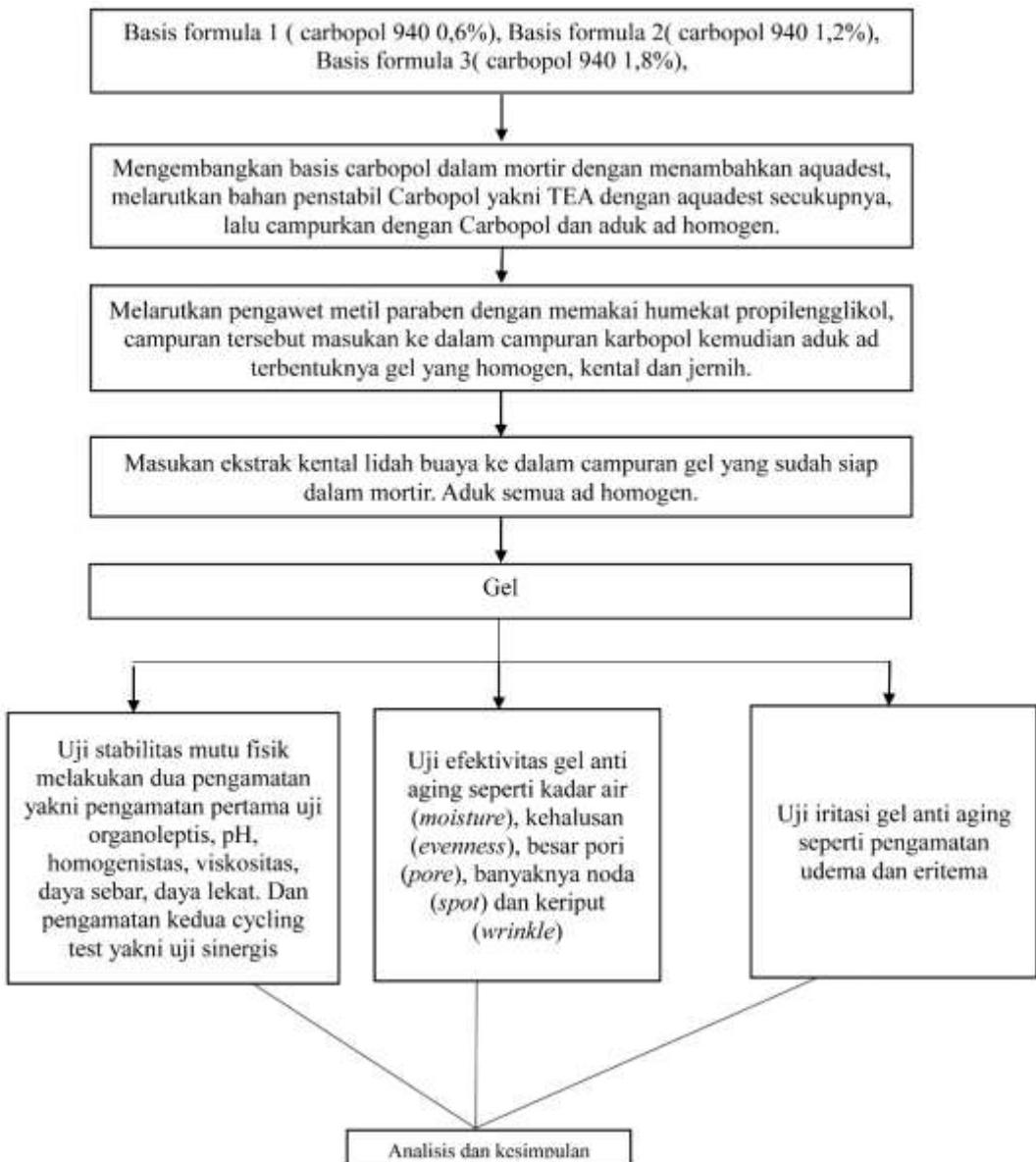
### F. Skema jalannya penelitian

- Pembuatan Ekstrak Etanol Lidah Buaya



Gambar 8. Skema Jalannya Penelitian

- Pembuatan Formula Gel Lidah Buaya



Gambar 9. Skema pembuatan gel ekstrak lidah buaya