

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

##### **1. Populasi**

Populasi adalah semua objek yang menjadi sasaran dari penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan krim ekstrak daun jati (*Tectona grandis* L.) yang dibuat dengan kombinasi asam stearat dan trietanolamin.

##### **2. Sampel**

Sampel adalah suatu bagian dari populasi yang ada atau bagian yang dengan kriteria tertentu, sehingga memenuhi syarat random dan representatif. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan krim ekstrak daun jati (*Tectona grandis* L.) dengan menggunakan variasi konsentrasi trietanolamin dan asam stearat sebagai emulgator.

#### **B. Variabel Penelitian**

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

Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstrak daun jati muda (*Tectona grandis* L.) sebagai pigmen warna alami kosmetik pada sediaan *eyeshadow* krim.

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

Dalam penelitian, variabel diklasifikasikan menjadi variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkontrol.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dari penelitian ini adalah formulasi dalam pembuatan *eyeshadow* krim ekstrak daun jati muda (*Tectona grandis* L.) dengan variasi konsentrasi asam stearat dan trietanolamin

dengan perbandingan konsentrasi asam stearat : trietanolamin (10:6,67, 13,33:5, 16,67:3,33).

Variabel tergantung adalah titik pusat permasalahan yang merupakan kriteria penilaian. Variabel tergantung dari penelitian ini adalah mutu fisik sediaan krim meliputi uji organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, daya oles, viskositas, dan uji stabilitas. Keamanan sediaan dilakukan dengan uji iritasi dan tanggapan kesukaan terhadap sediaan *eyeshadow* krim dengan uji hedonik. Aktivitas antioksidan yang terkandung pada sediaan *eyeshadow* krim.

Variabel terkendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya. Variabel terkendali dari penelitian ini adalah proses pembuatan ekstrak, proses pembuatan sediaan *eyeshadow* krim, alat dan bahan yang digunakan, proses pengolesan pada uji iritasi, laboratorium dan lingkungan.

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

Pertama, daun jati muda (*Tectona grandis* L.) adalah daun yang berwarna merah kecokelatan dari tanaman jati yang diperoleh dengan kondisi segar dari perkebunan jati di desa Sidodadi, kecamatan Masaran, kabupaten Sragen, Jawa Tengah.

Kedua, ekstrak daun jati diperoleh dengan proses ekstraksi pada daun jati muda dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dan larutan asam sitrat sebagai cairan penyari kemudian dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator*.

Ketiga, *eyeshadow* krim adalah sediaan perona mata dalam bentuk sediaan krim dibuat dengan variasi konsentrasi basis trietanolamin dan asam stearat serta ekstrak daun jati muda (*Tectona grandis* L.) sebagai sumber pigmen warna alami pada kosmetik.

Keempat, evaluasi mutu fisik sediaan adalah parameter yang digunakan untuk mengetahui kualitas sediaan *eyeshadow* krim melalui uji organoleptis, uji homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, daya oles, viskositas, dan uji stabilitas.

Kelima, evaluasi keamanan adalah parameter yang menyatakan keamanan pada sediaan *eyeshadow* krim ekstrak daun jati muda (*Tectona grandis* L.) melalui uji iritasi.

Keenam, uji kesukaan adalah pengujian dari sejumlah panelis terhadap sediaan *eyeshadow* krim ekstrak daun jati muda (*Tectona grandis* L.) yang disebut dengan uji hedonik.

Ketujuh, aktivitas antioksidan adalah efek yang ditimbulkan dari sediaan *eyeshadow* krim ekstrak daun jati yang ditunjukkan dalam persentase peredaman radikal DPPH yang dinyatakan dalam IC<sub>50</sub>.

### **C. Alat dan Bahan**

#### **1. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi neraca digital, gelas ukur, erlenmeyer, corong kaca, corong pisah, piknometer, stemper, kertas saring, kain flanel, mortir, sendok tanduk, sudip, batang pengaduk, pH meter, cawan porselen, blender, gelas beaker, labu takar, botol maserasi, labu alas bulat, kondensor, tabung reaksi, ayakan mesh 40, oven, *vacum rotary evaporator*, *sterling bidwell*, *moisture balance*, dan spektrofotometri UV, Kaca bekstensometer, gelas obyek, viskometer, kertas label, pot krim.

#### **2. Bahan**

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jati muda (*Tectona grandis* L.) yang diperoleh dari perkebunan jati Desa Sidodadi, Masaran, Sragen, Jawa Tengah, Indonesia.

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini meliputi etanol 96%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CHCl<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>OH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2M, HCl pekat, FeCl<sub>3</sub> 1%, buffer KCl, buffer Na-Asetat, aquadest, asam sitrat, toluen, asam asetat, amil alkohol, pereaksi dragendorff, pereaksi Liebermann bouchardat, tween 80, span 80, setil alkohol, gliserin, asam stearat, trietanolamin, metil paraben, propil paraben, oleum rosae, serbuk DPPH, n-butanol, aquadest, etanol pa.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Identifikasi daun jati muda (*Tectona grandis* L.f)**

Identifikasi tanaman daun jati muda (*Tectona grandis* L.) bertujuan untuk mengetahui identitas dari tumbuhan yang belum diketahui. Identifikasi dilakukan dengan mengamati ciri morfologi daun jati muda (*Tectona grandis* L.) dengan mendeskripsikan secara mendetail. Identifikasi tanaman dilakukan di Unit Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan Universitas Setia Budi Surakarta.

### **2. Pengambilan bahan**

Daun jati (*Tectona grandis* L.) yang digunakan adalah daun jati muda segar yang ditandai dengan warna daun hijau kecoklatan dan semu merah pekat yang biasanya terletak di ujung ranting tanaman jati.

### **3. Pembuatan serbuk simplisia**

Daun jati muda yang sudah terkumpul di sortasi basah dengan air mengalir sampai bersih, kemudian ditiriskan, dirajang dan dikeringkan dengan sinar matahari yang di atasnya dilapisi kain hitam agar kandungan daun jati tidak rusak oleh sinar matahari secara langsung. Simplisia yang sudah dikeringkan kemudian dihaluskan dengan diblender dan diayak menggunakan ayakan mesh 40. Hasil penyerbukan simplisia ditimbang kemudian disimpan dalam wadah yang kering dan ditutup rapat (Rahmawati *et al.*, 2015).

$$\% \text{ rendemen serbuk} = \frac{\text{Bobot serbuk (g)}}{\text{Bobot daun kering (g)}} \times 100\%$$

### **4. Pembuatan ekstrak daun jati muda (*Tectona grandis* L.f)**

Pembuatan ekstrak daun jati muda (*Tectona grandis* L.) menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 1200 gram kemudian dimasukkan ke dalam bejana maserasi, ditambahkan 10 bagian pelarut etanol 96% yang sudah ditambahkan dengan asam sitrat sebanyak 2% (Hermawati *et al.*, 2015). Serbuk direndam dan disimpan dalam ruangan yang terhindar dari sinar matahari selama 3 hari, kemudian disaring menggunakan kain flanel. Ampas dengan filtrat disaring menggunakan

kertas saring. Proses penyarian diulang dengan ampas pada penyarian pertama ditambahkan pelarut etanol 96% dengan jumlah volume sebanyak setengah kali dari jumlah pelarut pada penyarian pertama. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental (Kemenkes RI, 2017).

$$\% \text{ rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh (g)}}{\text{Bobot awal simplisia yang ditimbang (g)}} \times 100\%$$

## 5. Identifikasi serbuk daun jati muda (*Tectona grandis* L.)

**5.1. Pemeriksaan organoleptis.** Pemeriksaan dilakukan untuk mengetahui sifat fisik dari serbuk daun jati muda (*Tectona grandis* L.f). Pemeriksaan organoleptis meliputi bentuk, warna, bau, rasa (Indrasuari *et al.*, 2014).

**5.2. Pemeriksaan susut pengeringan.** Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Serbuk ditimbang sebanyak 2 gram dan dimasukkan kedalam plate. Dilakukan pemanasan sampel pada suhu 105°C, kemudian ditunggu hingga alat memberikan tanda bunyi. *Moisture balance* akan menunjukkan hasil dalam satuan persen. Proses pengeringan dilanjutkan dan ditimbang kembali selama 1 jam hingga perbedaan penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Indrasuari *et al.*, 2014).

## 6. Identifikasi ekstrak daun jati muda (*Tectona grandis* L.)

**6.1. Pemeriksaan organoleptis.** Pemeriksaan dilakukan untuk mengetahui sifat fisik dari ekstrak daun jati (*Tectona grandis* L.f.) meliputi pemeriksaan bentuk, warna, rasa, dan bau (Elisma *et al.*, 2011).

**6.2. Penetapan susut pengeringan.** Ekstrak ditimbang sebanyak 2 gram, dimasukkan dalam cawan penguap yang sudah ditara, kemudian dilakukan pemanasan ekstrak pada suhu 105°C dan ditunggu hingga pemanasan selesai, kemudian botol dibiarkan dalam eksikator hingga suhu ruang. Botol berisi ekstrak ditimbang dan dicatat hasil pada setiap jarak satu jam sampai perbedaan berat berturut-turut tidak lebih dari 10% (Elisma *et al.*, 2011).

**6.3. Uji bebas etanol.** Identifikasi dilakukan dengan cara ekstrak dilarutkan dengan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan asam asetat dan ditutup dengan kapas, selanjutnya dipanaskan sampai mendidih selanjutnya diidentifikasi bau ester pada kapas, jika ekstrak tidak mengandung etanol maka tidak tercium bau ester (Raymon *et al.*, 2016).

## **7. Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun jati muda (*Tectona grandis* L.)**

Identifikasi kandungan kimia digunakan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam ekstrak daun jati (*Tectona grandis* L.). Identifikasi senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, steroid dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

**7.1. Identifikasi alkaloid.** Sebanyak 0,1 gram sampel dilarutkan dalam 10 ml  $\text{CHCl}_3$  (kloroform) dan 4 tetes  $\text{NH}_4\text{OH}$  kemudian disaring dan filtratnya dimasukkan kedalam tabung reaksi tertutup. Ekstrak  $\text{CHCl}_3$  dalam tabung reaksi kemudian dikocok dengan ditambah 10 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 M, sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan asam yang berada di atas dipisahkan ke dalam tabung reaksi yang lain dan ditambahkan preaksi mayer yang menghasilkan endapan warna putih sedangkan penambahan pereaksi dragendorff sebanyak 2-3 tetes. Reaksi positif apabila menimbulkan endapan warna kuning jingga (Januarti *et al.*, 2017).

**7.2. Identifikasi flavonoid.** Ditimbang 1 gram sampel dipanaskan dalam 100 ml aquadest dan dididihkan selama 15 menit, kemudian disaring dan diperoleh ekstrak dan filtrat. Sebanyak 5 ml filtrat A dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah dengan serbuk magnesium 0,1 gram,  $\text{HCl}$  pekat sebanyak 1 ml, dan amil alkohol sebanyak 1 ml. Campuran dikocok kuat dan didiamkan beberapa saat hingga larutan memisah. Hasil positif flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes RI, 1987).

**7.3. Identifikasi tanin.** Ditimbang sebanyak 1 gram ekstrak kental daun jati ditambah dengan 1-2 tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil positif tanin ditunjukkan

dengan larutan menjadi biru kehitaman (tanin galat) atau hijau kehitaman (tanin katekol) (Sukmawati *et al.*, 2014).

**7.4. Identifikasi steroid.** Ditimbang sebanyak 0,5 gram ekstrak kental kemudian dilarutkan dengan 10 ml n-heksan, kemudian disaring dan diperoleh filtrat. Diambil sebanyak 5 ml filtrat dan diuapkan dalam cawan penguap. Ditambahkan beberapa tetes pereaksi Liebermann-Burchard. Hasil positif steroid ditunjukkan dengan adanya warna biru hingga hijau (Hidayah, 2016).

## **8. Identifikasi kandungan antosianin ekstrak daun jati muda (*Tectona grandis* L.f)**

**8.1. Uji kualitatif.** Sampel sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan HCl 2 M sebanyak 3 tetes kemudian dipanaskan pada suhu 78°C selama 5 menit. Adanya antosianin pada sampel ditunjukkan dengan timbulnya warna merah. Selanjutnya ditambahkan NaOH 2 M tetes demi tetes sambil diamati perubahan yang terjadi. Adanya antosianin pada sampel ditunjukkan dengan timbulnya warna hijau biru yang memudar secara perlahan. (Neliyanti dan Nora, 2014).

**8.2. Identifikasi dengan metode kromatografi lapis tipis.** KLT menggunakan plat silika gel GF<sub>254</sub> dengan ukuran 1 cm × 5 cm. Fase gerak yang digunakan untuk pemisahan yaitu n-butanol : asam asetat : air (4:1:5). Ekstrak daun jati muda (*Tectona grandis* L.f) ditotolkan pada jarak 1 cm dari tepi bawah pada plat silika GF<sub>254</sub> dengan pipa kapiler kemudian dikeringkan di udara dan dielusi sejauh 6 cm. jarak pemisahan noda dan jarak eluen kemudian dihitung untuk mendapatkan nilai R<sub>f</sub> (Adrianta, 2016).

## **9. Formula *eyeshadow* krim ekstrak antosianin daun jati (*Tectona grandis* L.f)**

Formula sediaan *eyeshadow* krim menggunakan ekstrak daun jati sebagai pigmen alami kosmetik.

**10.1. Formula sediaan *eyeshadow* krim.** Formula krim ekstrak daun jati (*Tectona grandis* L.) dirancang dengan variasi konsentrasi asam stearat dan

trietanolamin. Formula yang direncanakan pada pembuatan sediaan *eyeshadow* krim tersaji dalam tabel 4.

**Tabel 4. Formula *Eyeshadow* krim ekstrak daun jati muda (*Tectona grandis* L.)**

Bahan	Konsentrasi (%)			
	Kontrol negatif	F1	F2	F3
Ekstrak daun jati muda	-	12,5	12,5	12,5
Tween 80	2	2	2	2
Span 80	1	1	1	1
Setil alkohol	2,5	2,5	2,5	2,5
Gliserin	10	10	10	10
Asam stearat	13,33	10	13,33	16,67
Trietanolamin (TEA)	5	6,67	5	3,33
Metil paraben	0,33	0,33	0,33	0,33
Propil paraben	0,03	0,03	0,03	0,03
Oleum jasminum	-	q.s	q.s	q.s
Aquadest	ad 60	ad 60	ad 60	ad 60

Keterangan :

Kontrol negatif : Basis krim tanpa penambahan ekstrak

F1 : Sediaan krim dengan perbandingan asam stearat : TEA (10 : 6,67)

F2 : Sediaan krim dengan perbandingan asam stearat : TEA (13,33 : 5)

F3 : Sediaan krim dengan perbandingan asam stearat : TEA (16,67 : 3,33)

**10.2. Pembuatan sediaan *eyeshadow* krim.** Dilakukan formulasi sediaan *eyeshadow* krim dari ekstrak daun jati muda (*Tectona grandis* L.) dengan konsentrasi 12,5%. Dalam proses pembuatan *eyeshadow* krim, dileburkan sejumlah fase minyak yaitu asam stearat, setil alkohol, span 80 dan propil paraben dalam cawan porselin diatas penangas air dengan suhu 70°C sambil diaduk hingga homogen. Fase air dibuat dengan meleburkan metil paraben, gliserin, tween 80 dan trietanolamin dalam cawan porselin pada suhu 70°C. Fase minyak dan fase air yang telah melebur dimasukkan kedalam mortir yang sudah dipanaskan dan dilakukan pengadukan sampai homogen hingga terbentuk basis krim. Setelah suhu mortir turun dan terasa hangat, ditambahkan sedikit demi sedikit pigmen warna dari ekstrak daun jati sesuai seri konsentrasi dan oleum rossae secukupnya.



Dilakukan pengadukan kembali sampai krim terbentuk homogen, kemudian masukkan krim ke dalam pot krim (Handayani *et al.*, 2019).

## **10. Evaluasi mutu fisik sediaan *eyeshadow* krim**

**11.1. Pengujian organoleptis.** Pengamatan dilakukan terhadap bentuk, bau, dan warna untuk mengetahui kondisi fisik sediaan. Pengujian dilakukan pada hari ke-1 pembuatan krim dan setelah penyimpanan pada hari ke-21 (Safitri *et al.*, 2016).

**11.2. Pengujian homogenitas.** Pengujian dilakukan pada hari ke-1 dan setelah penyimpanan pada hari ke-21 (Sharon *et al.*, 2013). Sejumlah sediaan dioleskan pada gelas obyek kemudian diamati ada atau tidaknya partikel yang belum tercampur secara homogen. Sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butir-butir kasar (Safitri *et al.*, 2016).

**11.3. Pengukuran pH.** Pengujian dilakukan dengan menggunakan alat pH meter. Alat terlebih dahulu dikalibrasi menggunakan aquadest standar netral dengan pH 7. Elektroda dicuci dengan air suling, lalu dikeringkan dengan tissue. Sampel diencerkan terlebih dahulu dengan ditimbang 1 g sediaan dan dilarutkan dalam 100 ml aquadest, kemudian elektroda dicelupkan dalam larutan tersebut. Dibiarkan alat menunjukkan harga pH sampai konstan. Pengukuran pH diulangi sebanyak 3 kali setiap formula. Pengujian dilakukan pada hari ke-1 dan setelah penyimpanan pada hari ke-21 (Agustin *et al.*, 2013).

**11.4. Pengukuran viskositas.** Pengujian dilakukan dengan menggunakan alat *viscometer Brookfield spindle*. Sediaan dimasukkan dalam wadah yang berukuran 100 ml dan dipasang pada *viscometer Brookfield spindle* dengan kecepatan 6 rpm. Pengujian pertama dilakukan pada hari ke-1 pembuatan sediaan dan dilakukan pengujian viskositas kembali setelah dilakukan penyimpanan pada hari ke-21 (Ulfa dan Besse, 2017).

**11.5. Pengujian daya sebar.** Pengujian ditentukan dengan cara menimbang sediaan sebanyak 0,5 gram dan diletakkan di tengah kaca bundar. Kemudian diatas sediaan diletakkan kaca yang sebelumnya sudah ditimbang dan

dibiarkan selama 1 menit. Diameter sediaan kemudian diukur dengan mengambil panjang rata-rata diameter dari beberapa sisi. Kemudian ditambahkan beban berturut-turut sebesar 50 g, 100 g, dan 200 g sebagai beban tambahan. Setiap penambahan beban didiamkan selama 1 menit dan dicatat diameternya. Pengujian dilakukan pada hari ke-1 dan setelah penyimpanan pada hari ke-21 (Elcistia dan Abdul, 2018).

**11.6. Pengujian daya lekat.** Pengujian dilakukan dengan cara ditimbang sediaan sebanyak 0,25 gram sediaan diletakkan di titik tengah luasan gelas gelas obyek, ditutup dengan gelas obyek lain kemudian diberi beban 1 kg selama 5 menit. Kedua gelas objek yang telah saling melekat 1 sama lain dipasang pada alat uji yang diberi beban 80 gram kemudian dilepaskan dan dicatat waktu pelepasan krim dari gelas obyek.. Pengujian dilakukan pada hari ke-1 dan setelah penyimpanan pada hari ke-21 (Elcistia dan Abdul, 2018).

**11.7. Pengujian daya oles.** Pengujian dilakukan secara visual dengan cara mengoleskan sediaan pada kulit punggung tangan. Pelepasan zat warna yang baik ditunjukkan dengan banyaknya zat warna yang dilepaskan dan menempel dengan baik pada kulit punggung tangan. Pemeriksaan dilakukan terhadap masing-masing sediaan *eyeshadow* krim sebanyak 5 kali pengolesan. Pengujian dilakukan pada hari ke-1 dan setelah penyimpanan pada hari ke-21 (Nur *et al.*, 2012).

**11.8. Pengujian stabilitas.** Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode *cycling test*. Sebanyak 30 gram sediaan disimpan dalam suhu 4°C selama 24 jam, kemudian dimasukkan dalam oven suhu 40°C sehingga terjadi 1 siklus. Pemeriksaan stabilitas dilakukan selama 6 siklus. Pengamatan hasil *cycling test* yaitu organoleptik, homogenitas, pH dan viskositas (Budiman *et al.*, 2020)

## **11. Pengujian aktivitas antioksidan krim dengan metode DPPH**

**12.1. Pembuatan larutan DPPH.** Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 15,8 mg dan dilarutkan dengan etanol p.a dalam labu takar 100 ml hingga tanda batas dan diperoleh konsentrasi 0,4 mM (Amin *et al.*, 2015).

**12.2. Pengukuran panjang gelombang maksimum ( $\lambda$  maks).** Larutan DPPH dipipet sebanyak 1 ml dimasukkan dalam labu takar 5 ml, kemudian di tambahkan etanol p.a sampai tanda batas. Larutan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400-550 nm. Panjang gelombang yang memberikan absorbansi paling besar ditetapkan sebagai panjang gelombang maksimum DPPH (Fitriani, 2017).

**12.3. Pembuatan larutan stok ekstrak daun jati dan vitamin C.** Ekstrak kental daun jati ditimbang sebanyak 0,01 gram dan dilarutkan dalam labu takar 100 ml sampai tanda batas dengan pelarut etanol p.a sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Larutan stok dibuat seri pengenceran 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm.

**12.4. Pembuatan larutan stok sediaan *eyeshadow* krim.** Sediaan krim ditimbang sebanyak 0,01 gram dan dilarutkan dalam labu takar 100 ml dengan pelarut etanol p.a hingga tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Larutan stok krim dengan konsentrasi 100 ppm dibuat beberapa seri pengenceran 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm.

**12.5. Penentuan *operating time* (OT).** Larutan stok DPPH diambil sebanyak 1 ml dimasukkan dalam labu takar 5 ml, kemudian ditambahkan 1 ml larutan stok sampel dan ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas. Penentuan *operating time* dilakukan pada panjang gelombang 516 dari menit ke-0 sampai menit ke-60 dan didapatkan absorbansi yang stabil.

**12.6. Uji aktivitas *eyeshadow* krim terhadap DPPH.** Larutan stok DPPH diambil sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam labu takar 5 ml, kemudian ditambahkan dengan larutan yang sudah dibuat 5 seri pengenceran masing-masing diambil 1 ml. Ditambahkan dengan etanol p.a sampai tanda batas. Larutan dalam labu takar yang sudah tercampur diinkubasi selama waktu *operating time* yang diperoleh sebelumnya. Absorbansi dibaca dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm (Fitriani, 2017). Dihitung peredaman menggunakan rumus :

$$\% \text{ Peredaman} = \frac{\text{serapan kontrol} - \text{serapan sampel}}{\text{serapan kontrol}} \times 100\%$$

## 12. valuasi keamanan (uji iritasi)

**13.1. Penyiapan panel manusia.** Uji iritasi dilakukan pada kulit normal manusia dengan metode *patch test* tertutup terhadap 10 orang relawan sehat dengan jenis kelamin perempuan, usia 18-25 tahun (Pratiwi dan Youstina, 2018).

**13.2. Pengujian terhadap manusia.** Sediaan yang akan diuji adalah sediaan dengan formula terbaik dari hasil evaluasi sediaan. Kulit relawan yang akan diuji dibersihkan terlebih dahulu dan dilingkari dengan diameter 2 cm pada bagian lengan atas bagian dalam, kemudian sebanyak 0,5 g sediaan dioleskan menggunakan *cotton buds* pada tempat yang akan diuji dan ditutup dengan kain kassa dan di plester, lalu dibiarkan selama 30 menit. Kulit tempat aplikasi sampel diamati setelah pengangkatan kassa. Pengamatan dilakukan sebelum dan sesudah dilakukan pengolesan sampel, kemudian diulangi pada 24, 48, dan 72 jam setelah bahan uji dilepas (Febriani *et al.*, 2020).

**13.3. Perhitungan luas edema dan eritema.** Gejala iritasi yang diamati berupa edema dan eritema. Tingkat iritasi diberi skor seperti pada tabel 5 dan 6.

**Tabel 5. Skor derajat edema**

Reaksi kulit	Skor
Tanpa edema	0
Sangat sedikit edema (tidak terlihat)	1
Edema tepi berbatas jelas	2
Edema sedang (tepi naik $\pm$ 1mm)	3
Edema berat (tepi naik lebih dari 1 mm dan meluas keluar dari daerah pejanan)	4

**Tabel 6. Skor derajat eritema**

Reaksi kulit	Skor
Tanpa eritema	0
Sangat sedikit edema (nyaris tidak terlihat)	1
Edema tepi berbatas jelas	2
Edema sedang sampai berat	3
Edema berat sampai sedikit membentuk kerak	4

Masing-masing sampel iritan dihitung jumlah dari indeks edema dan eritema selanjutnya dihitung dengan rumus indeks iritasi primer :

$$\frac{\text{Jumlah eritema 24,48,72 jam} + \text{jumlah edema 24, 48, 72 jam}}{\text{Jumlah relawan}}$$

Indeks iritasi yang diperoleh selanjutnya dibandingkan dengan skor derajat iritasi seperti pada tabel 7.

Tabel 7. skor derajat iritasi	
Evaluasi	Skor
Tidak mengiritasi	0,0
Sangat sedikit mengiritasi	0,1 – 0,4
Sedikit iritasi	0,42 – 1,9
Iritasi sedang	2,0 – 4,9
Iritasi berat	5,0 – 8,0

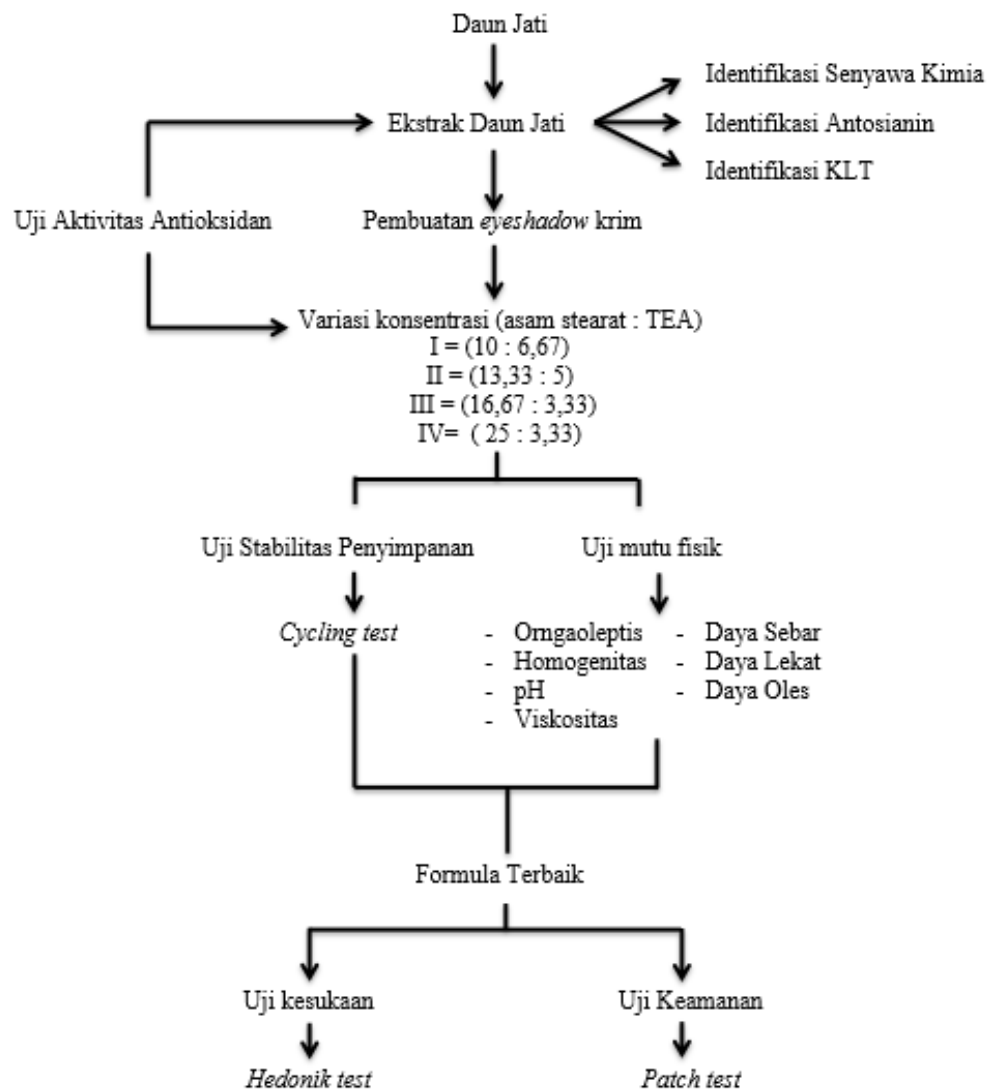
### 13. Evaluasi kesukaan (uji hedonik).

Uji hedonik atau uji kesukaan dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui tingkat kesukaan oleh responden. Uji hedonik dilakukan secara visual terhadap 10 orang panelis. Setiap panelis diminta untuk mengoleskan formula terbaik dari *eyeshadow* krim ekstrak daun jati muda (*Tectona grandis* L.f). Masing-masing formula dioleskan pada kulit punggung tangan para panelis. Panelis kemudian diminta untuk menilai dan mengisi kuisioner dengan (1) bila sangat tidak suka (2) bila tidak suka, (3) bila sedikit suka, dan (4) bila suka (5) bila sangat suka. Kemudian dihitung persentase kesukaan terhadap sediaan terbaik yang sudah ditentukan (Amalia *et al.*, 2017).

### E. ANALISIS HASIL

Analisis data dilakukan terhadap mutu fisik *eyeshadow* krim sebelum dan sesudah dilakukan uji mutu fisik dan analisis data dari uji hedonik. Data yang diperoleh dari evaluasi mutu fisik *eyeshadow* krim (uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji viskositas, daya sebar, daya lekat, daya oles, uji stabilitas). Uji antioksidan menggunakan metode DPPH. Data yang diperoleh kemudian dianalisis nilai mutu fisik dan  $IC_{50}$  dengan aplikasi SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) menggunakan uji One Way ANOVA untuk melihat perbedaan antar formula.

## F. SKEMA JALANNYA PENELITIAN



Gambar 9 skema jalannya penelitian