

## BAB IV METODE PENELITIAN

### 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode penelitian eksperimental dengan membuat sediaan masker gel *peel-off* dengan bahan aktif ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*), serta bahan tambahan yaitu polivinil alcohol (PVA), Hidroksilpropil Metilselulosa (HPMC), gliserin, metilparaben, propilparaben, dan Aquadest. Selanjutnya diukur aktivitas antioksidan sediaan menggunakan metode DPPH dan serapannya akan diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

### 4.2 Variabel Penelitian

#### 4.2.1 Variabel bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah perbedaan penggunaan presentase kadar pilovinil alcohol (PVA) dengan kadar 7%, 9%, 7%, dan 9% dan kadar gelling agent HPMC dengan variasi 2,5%, 2,5%, 3%, dan 3%.

#### 4.2.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dari penelitian ini adalah uji aktivitas antioksidan sediaan masker gel *peel-off*

### 4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

#### 4.3.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Sintesis, Laboratorium Teknologi, dan Laboratorium Kimia Prodi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Malang. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2023.

#### 4.4 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain: ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) diperoleh dari kota Batu-Malang, etanol 76%, Polivinil Alkohol (Shuangxin), HPMC, Glicerin (ChemWorld), metilparaben (Golden Era), propilparaben (Golden Era), aquadest (PT. SMART-LAB INDONESIA), DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) (Sigmaaldrich).

#### 4.5 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi:mortir, stamper, beaker glass, gelas ukur, batang pengaduk, pipet tetes, beaker glass, cawan porselen, sudip, spatula, alumunium foil, erlenmeyer, tabung reaksi, kertas saring, inkubator (Memmert),vortex mixer (Heidolph), sonikator (Branson 2510), spektrofotometer UV-Vis 1700 Shimadzu.

#### 4.6 Metode Kerja

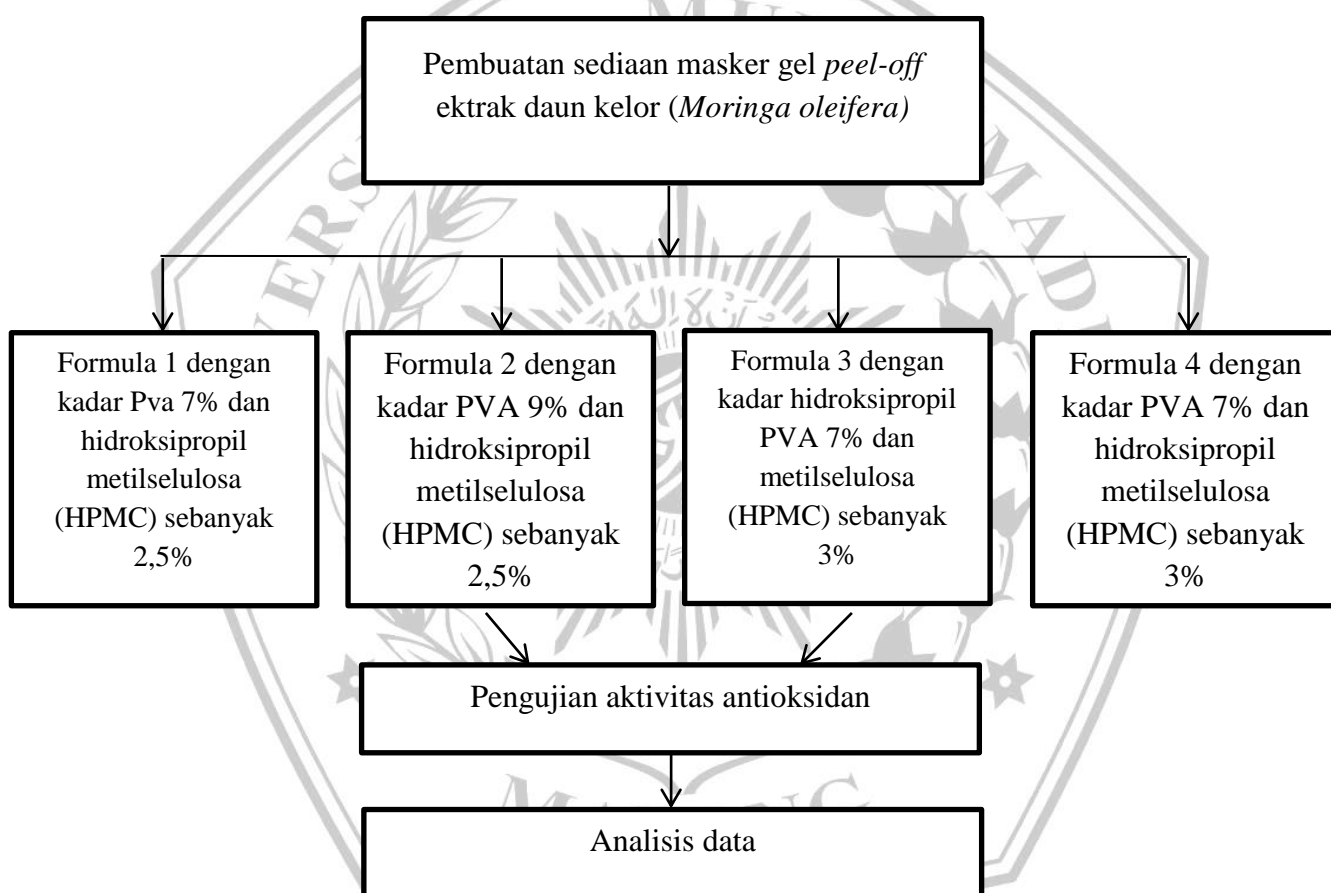
##### 4.6.1 Pembuatan Ekstrak Daun Kelor

Daun kelor yang masih segar dikeringkan terlebih dahulu dengan cara diangin-anginkan tanpa sinar matahari langsung kemudian daun yang sudah kering diserbukkan dengan cara diblender lalu untuk memastikan daun kelor sudah benar-benar kering dilakukan pengovenan menggunakan oven selama kurang lebih 1 minggu dengan suhu 40 derajat celsius kemudian daun kelor diayak hingga memperoleh serbuk yang halus. Kemudian ditimbang serbuk dan dimaserasi perendaman 3 kali 24 jam dengan menggunakan etanol 70% . Filtrak hasil maserasi kemudian disaring. Filtrate kemudian dipekatkan dengan Rotavapor pada suhu 550C hingga memperoleh ekstrak kental.

##### 4.6.2 Pembuatan Masker Gel Peel-off Ekstrak Daun Kelor

Pada penelitian ini dilakukan dengan pembuatan sediaan masker gel *peel-off* ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) menggunakan polivinil alcohol (PVA) sebagai film former agent dan hidroksipropil metilselulosa (HPMC) sebagai gelling agent dengan variasi kadar 2,5%,2,5%, 3%, dan

3%.terdapat 4 formula sediaan masker gel *peel-off* yang akan dibuat dan dilakukan evaluasi aktivitas antioksidan. Meliputi formula 1 menggunakan hidroksipropil metilselulosa (HPMC) sebanyak 2,5%, formula 2 menggunakan hidroksipropil metilselulosa (HPMC) sebanyak 2.5%, formula 3 menggunakan hidroksipropil metilselulosa sebanyak 3%, dan formula 4 menggunakan hidroksipropil metilselulosa (HPMC) sebanyak 3%. Semua uji dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dengan bobot sediaan 100g.

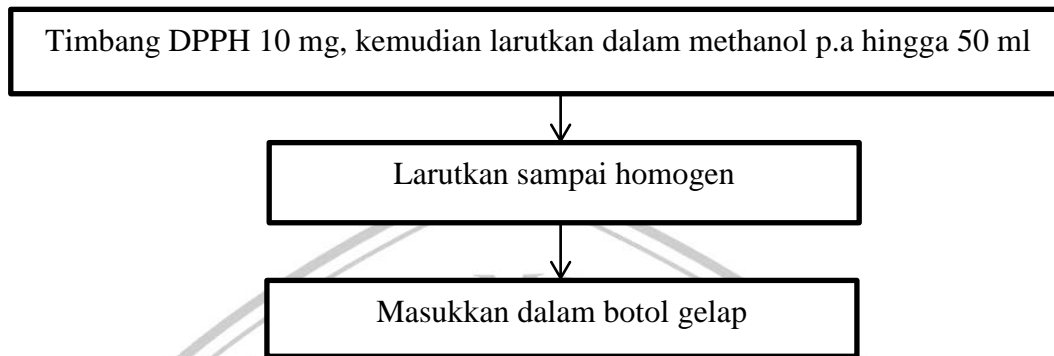


**Gambar 4. 1** Skema Kerja Maker Gel *peel-off* ekstrak daun kelor

#### 4.6.3 Uji Antioksidan Pembuatan Larutan (DPPH 200 ppm)

Dilakukan uji aktivitas antioksidan penangkap radikal DPPH sesuai metode (Brand Williams, 1995) dengan sedikit modifikasi. Pembuatan

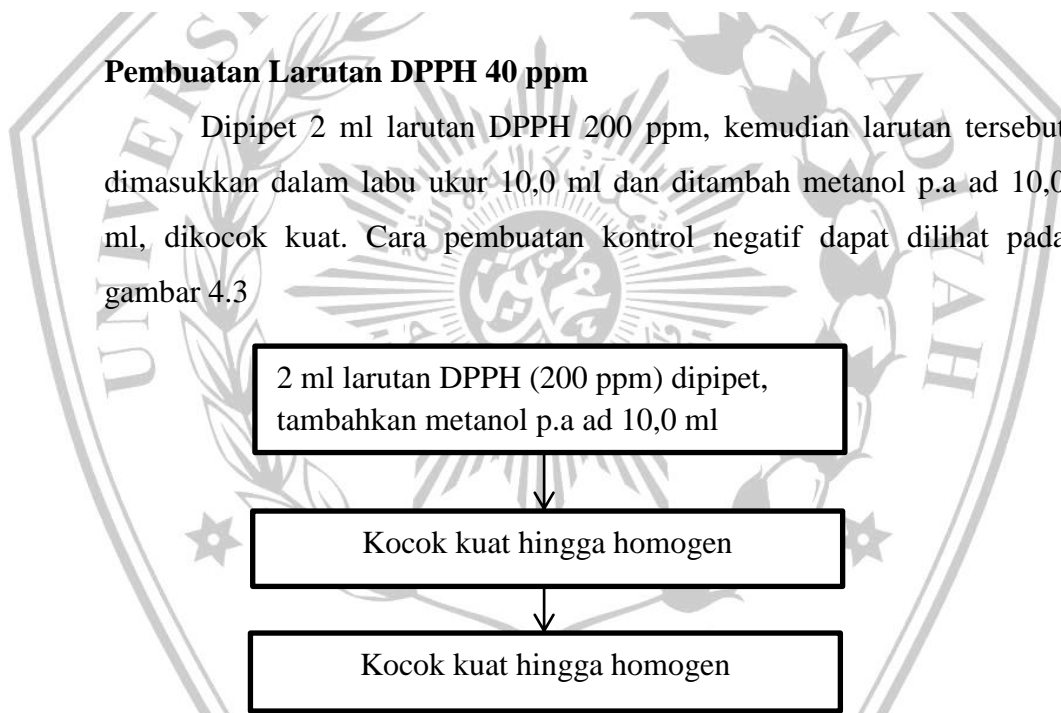
larutan DPPH 200 ppm dilakukan dengan cara menimbang DPPH sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan metanol p.a hingga volumenya 50,0 ml. Masukkan dalam botol gelap. Pembuatan larutan DPPH 200 ppm dapat dilihat pada gambar 4.2



**Gambar 4. 2** Cara pembuatan larutan DPPH

#### **Pembuatan Larutan DPPH 40 ppm**

Dipipet 2 ml larutan DPPH 200 ppm, kemudian larutan tersebut dimasukkan dalam labu ukur 10,0 ml dan ditambah metanol p.a ad 10,0 ml, dikocok kuat. Cara pembuatan kontrol negatif dapat dilihat pada gambar 4.3



**Gambar 4. 3** Cara pembuatan Larutan Kontrol Negatif

#### **Pembuatan Larutan Kontrol Positif (Vitamin C)**

##### 1. Pembuatan Baku Induk 1 (BI 1) 200 ppm

Dibuat larutan baku induk 1 yang mengandung vitamin C konsentrasi 200 ppm dengan cara ditimbang serbuk vitamin C

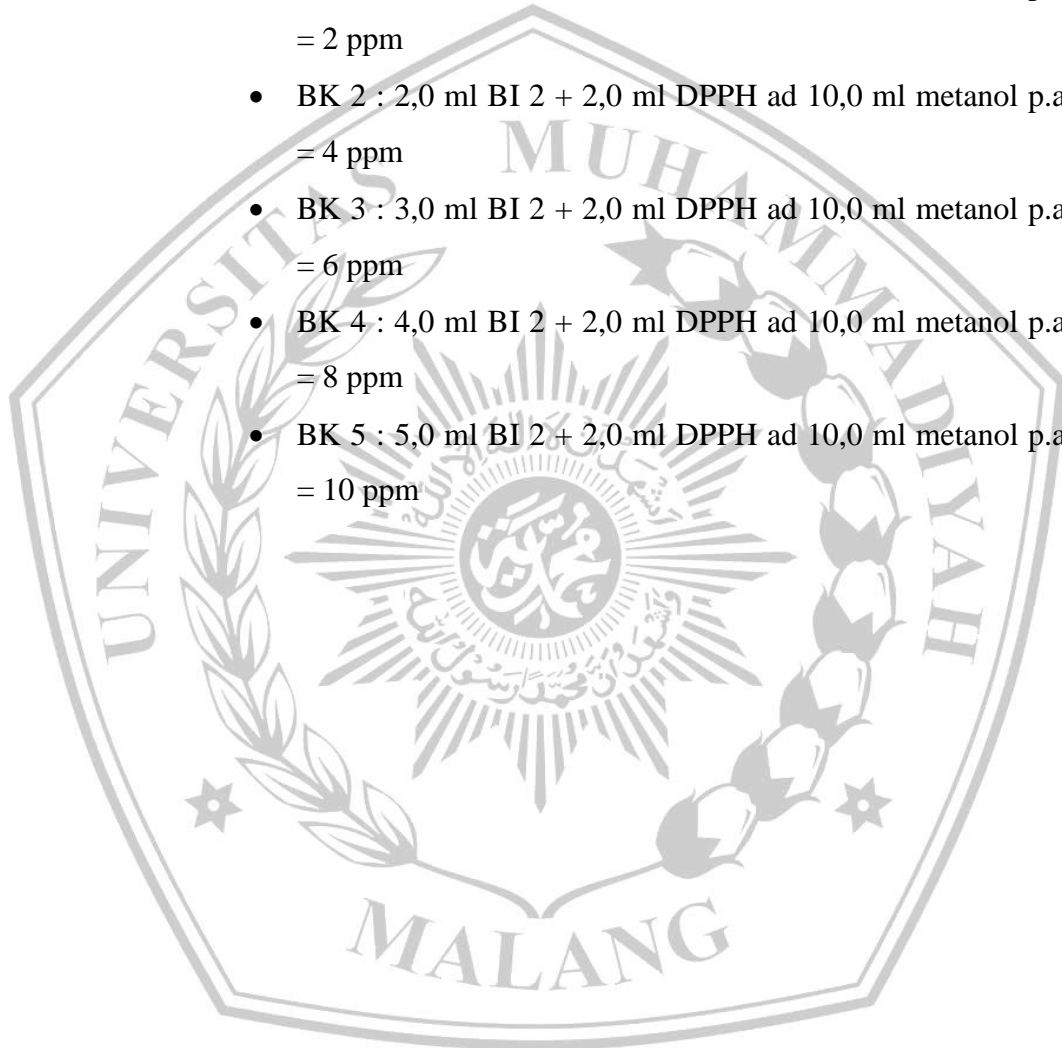
sejumlah 10,0 mg secara kuantitatif dan dilarutkan dalam metanol p.a 50,0 ml pada labu ukur, kemudian kocok ad homogen.

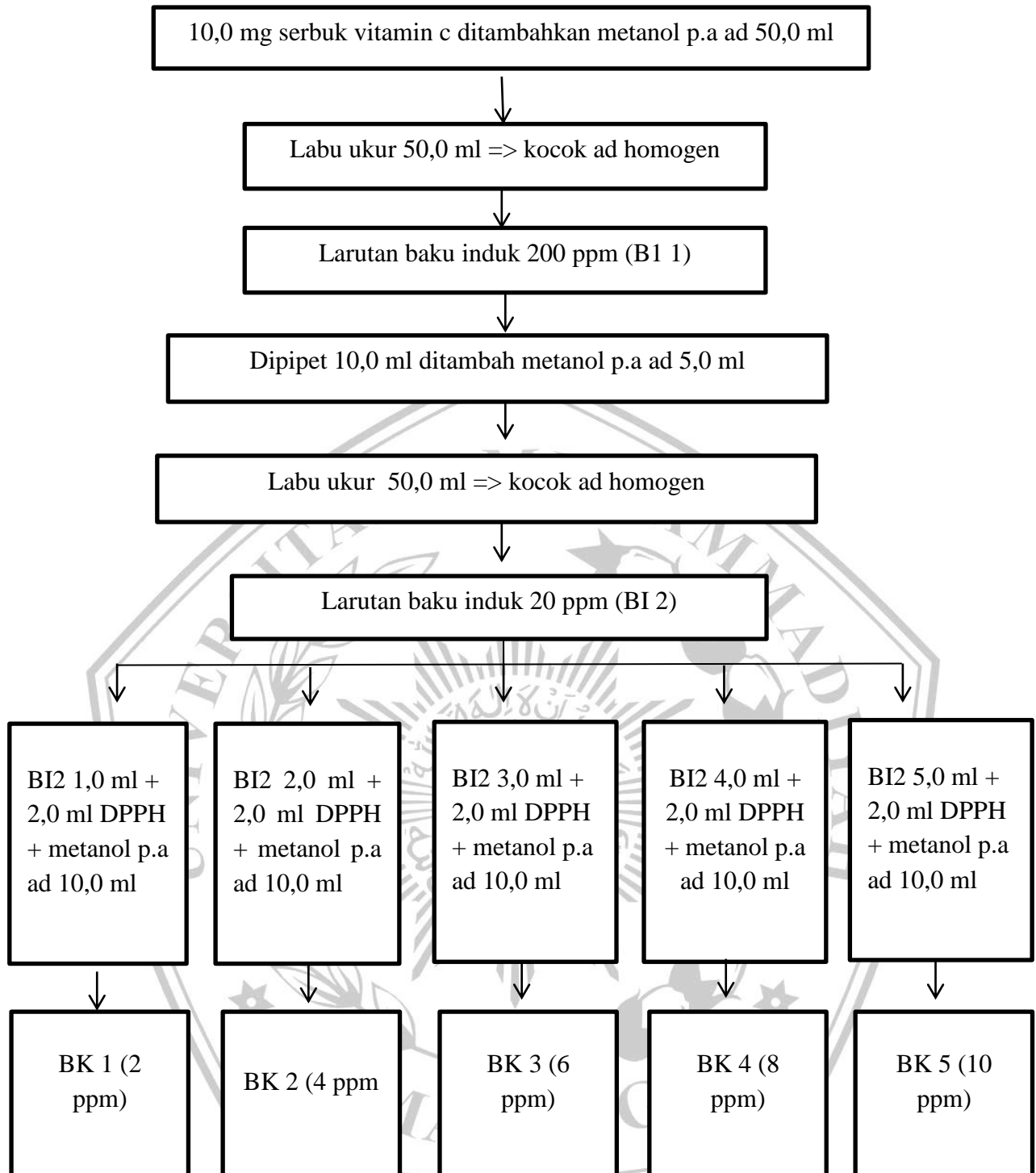
2. Pembuatan Baku Induk 2 (BI 2) 20 ppm

Dipipet larutan baku induk 1 sebanyak 5,0 ml kemudian ditambahkan metanol p.a ad 50,0 ml kocok ad homogen.

3. Pembuatan larutan baku kerja

- BK 1 : 1,0 ml BI 2 + 2,0 ml DPPH ad 10,0 ml metanol p.a  
= 2 ppm
- BK 2 : 2,0 ml BI 2 + 2,0 ml DPPH ad 10,0 ml metanol p.a  
= 4 ppm
- BK 3 : 3,0 ml BI 2 + 2,0 ml DPPH ad 10,0 ml metanol p.a  
= 6 ppm
- BK 4 : 4,0 ml BI 2 + 2,0 ml DPPH ad 10,0 ml metanol p.a  
= 8 ppm
- BK 5 : 5,0 ml BI 2 + 2,0 ml DPPH ad 10,0 ml metanol p.a  
= 10 ppm





**Gambar 4. 4** Cara Pembuatan Larutan Kontrol Positif

## Pembuatan larutan uji

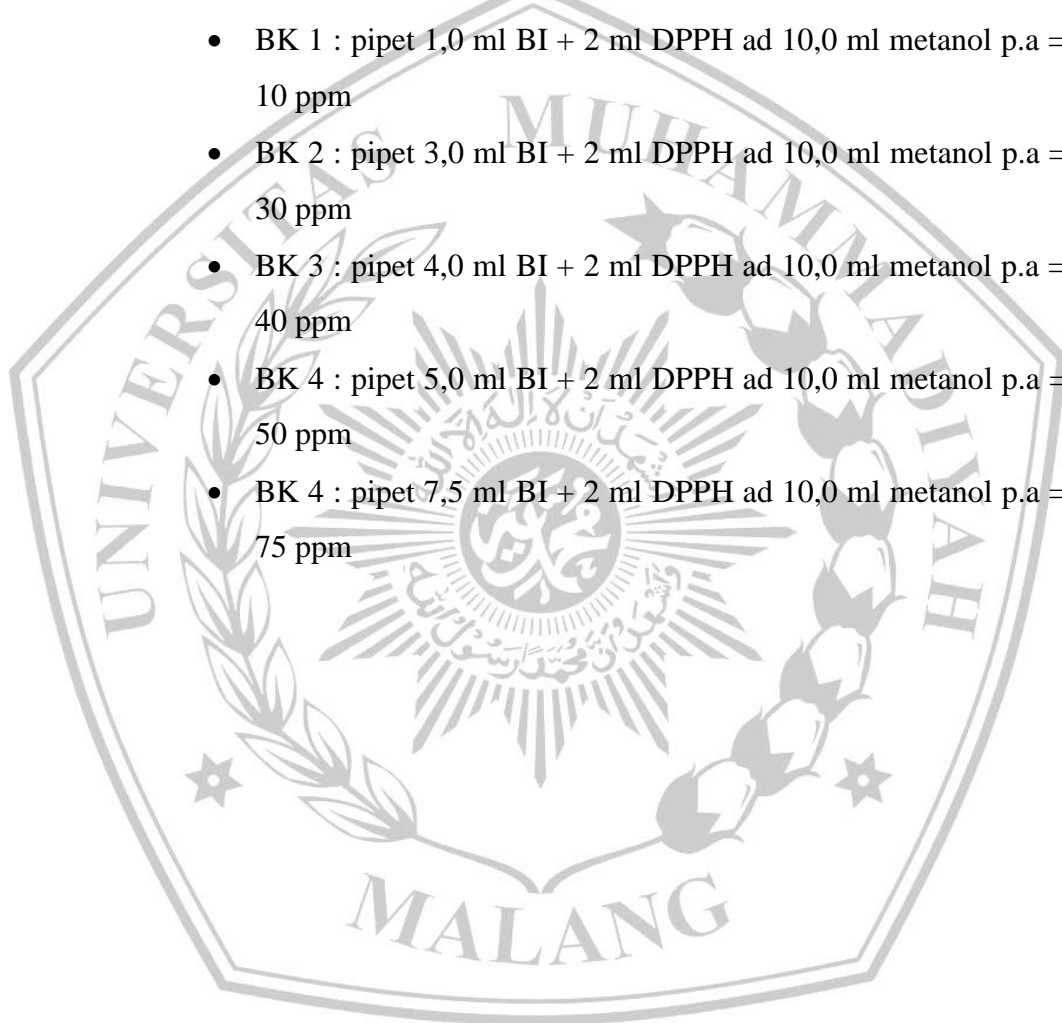
### 1. Pembuatan Baku Induk (100 ppm)

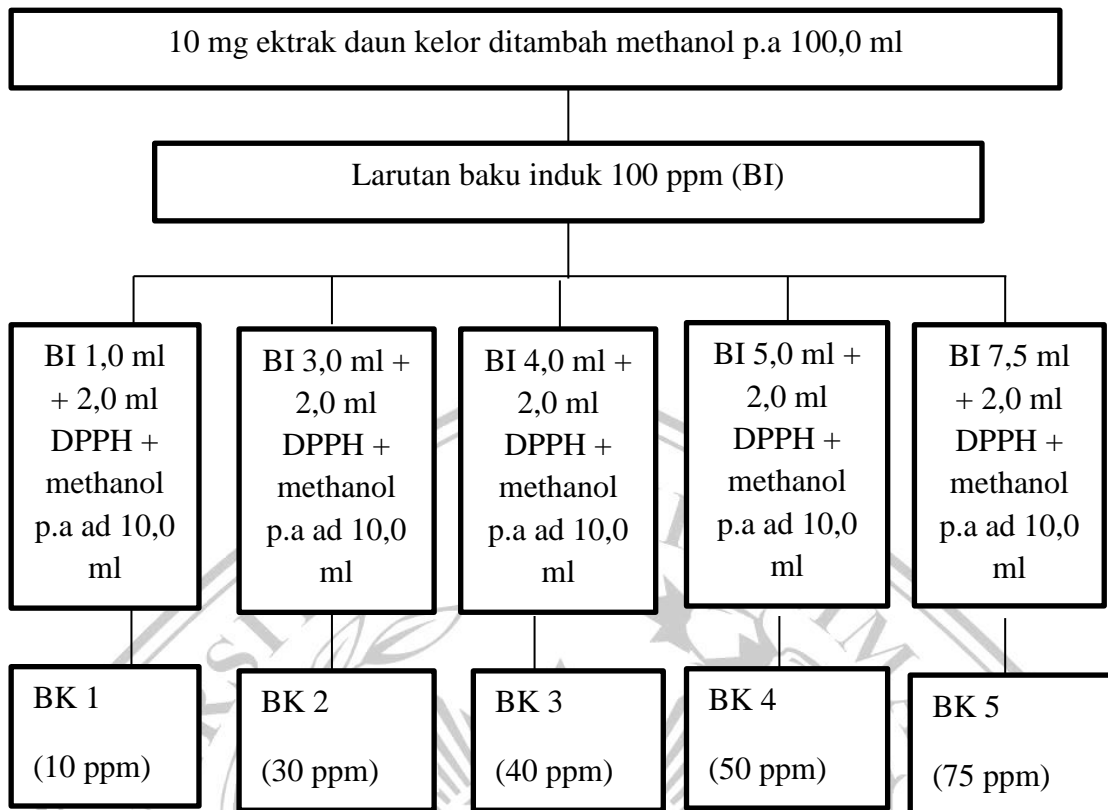
Ditimbang ekstrak daun kelor sejumlah 10,0 mg secara kuantitatif, setelah itu dilarutkan dalam metanol p.a ad 100,0 ml pada labu ukur. Kemudian dikocok ad homogen. Dilakukan replikasi 3x.

### 2. Pembuatan Baku Kerja

Pembuatan larutan baku kerja adalah sebagai berikut :

- BK 1 : pipet 1,0 ml BI + 2 ml DPPH ad 10,0 ml metanol p.a = 10 ppm
- BK 2 : pipet 3,0 ml BI + 2 ml DPPH ad 10,0 ml metanol p.a = 30 ppm
- BK 3 : pipet 4,0 ml BI + 2 ml DPPH ad 10,0 ml metanol p.a = 40 ppm
- BK 4 : pipet 5,0 ml BI + 2 ml DPPH ad 10,0 ml metanol p.a = 50 ppm
- BK 4 : pipet 7,5 ml BI + 2 ml DPPH ad 10,0 ml metanol p.a = 75 ppm





**Gambar 4. 5** Cara Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Daun Sirsak





### Proses Inkubasi

Setelah selesai pembuatan larutan DPPH, larutan DPPH 40 ppm, larutan kontrol positif, dan larutan uji proses selanjutnya adalah dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit (Sutriningsih & Irna, 2016).

### Pengukuran Absorpsi

Setelah di inkubasi kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-VIS (Rahmayani dkk., 2013).

#### 4.1 Rancangan Formula

##### 4.6.4 Formula Sediaan Masker Gel peel-off

Tabel IV. 1 Formula Masker Gel Peel off

Bahan	Fungsi	Konsentrasi (% b/b)			
		F1	F2	F3	F4
Ekstrak daun kelor	Bahan aktif	2,5	2,5	2,5	2,5
Polivinil alcohol (PVA)	<i>Film formel agent</i>	7	9	7	9
Hidroksipropil metilselulosa (HPMC)	<i>Gelling agent</i>	2,5	2,5	3	3
Gliserin	Humektan	5	5	5	5
Metilparaben (Nipagin)	Pengawet	0,18	0,18	0,18	0,18
Propilparaben (Nipazol)	Pengawet	0,02	0,02	0,02	0,02
Aquadest	Pelarut	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100

#### 4.6.5 Cara Pembuatan Sediaan Masker Gel Peel-off

Pembuatan sediaan masker gel peel off diawali dengan membuat aquades panas sebanyak 80% dari PVA yang dipanaskan diatas hotplate dengan suhu 80°C, kemudian masukkan PVA dan dilakukan pengadukan selama 15 menit kemudian diamkan. PVA dikembangkan selama 12 jam agar mengembang dengan sempurna, Pada wadah terpisah HPMC dikembangkan pada aquadest dingin selama 24 jam. Setelah PVA dan HPMC mengembang kemudian HPMC dimasukkan kedalam wadah PVA sambil diaduk hingga homogen. Metil paraben dan Propil paraben dilarutkan dalam gliserin, aduk sampai homogeny. kemudian masukkan dalam campuran PVA dan HPMC kemudian aduk hingga homogeny. Ekstrak kelor dilarutkan dengan aquadest, aduk hingga homogen, kemudian masukkan kedalam campuran basis PVA dan HPMC, sambil diaduk hingga homogen, tambahkan aquadest sedikit demi sedikit ad 100 g aduk sampai terbentuk gel yang homogen. Kemudian dikemas dalam wadah tertutup rapat. Pada *scale up* sediaan dibuat sebanyak 150g.

#### 4.7 Evaluasi Sediaan

Uji aktivitas antioksidan pada sediaan dilakukan setelah selesai proses pembuatan sediaan dan setelah pengujian stabilitas pada sediaan. Prosedur pengujian aktivitas antioksidan yang dilakukan adalah sebagai berikut:

##### 4.7.1 Uji Aktivitas Antioksidan

uji aktivitas antioksidan pada sediaan, dilakukan setelah selesai proses pembuatan sediaan dan setelah pengujian stabilitas pada sediaan. Prosedur pengujian aktivitas antioksidan yang dilakukan adalah sebagai berikut:

##### a. Pembuatan Larutan DPPH 200 ppm

Larutan DPPH 200 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH sejumlah 10 mg secara kuantitatif. Dilarutkan dengan methanol p.a 50 ml setelah itu ditempatkan pada botol gelap

**b. Pembuatan Larutan DPPH (DPPH 40 ppm)**

Larutan DPPH (200 ppm) dipipet 2 ml dan dimasukkan kedalam labu ukur 10,0 ml, ditambahkan methanol p.a ad 10,0 ml kemudian dikocok ad homogen.

**c. Pembuatan Larutan Uji Sediaan Masker Gel *Pell off* Ekstrak Daun Kelor**

Ditimbang 1 gram sediaan masker gel peel off ekstrak daun kelor secara kuantitatif setelah itu dilarutkan dalam metanol p.a ad 50 ml pada labu ukur dan di ultrasonik untuk melepaskan bahan aktif dari basis gel peel off, setelah itu disaring menggunakan kertas saring untuk mengurangi resiko sumbatan dan agar sampel jernih terbebas dari basis gel peel off yang tidak larut (kemudian diperoleh larutan dengan konsentrasi. Selanjutnya dipipet sebanyak 5,0 ml, ditambahkan 2 ml larutan DPPH (200 ppm) kemudian ditambahkan metanol p.a ad 10,0 ml (diperoleh larutan uji dengan konsentrasi 10.000 ppm).

**d. Proses Inkubasi**

Setelah selesai pembuatan larutan DPPH 40 ppm dan larutan uji, larutan tersebut di inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C

**e. Pengukuran Absorbansi**

Setelah dilakukan inkubasi kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516 nm. Dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-VIS.

**4.8 Analisis data**

**4.8.1 Perhitungan inhibisi**

Perhitungan nilai IC50 berdasarkan % inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel. Rumus dari % inhibisi sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi DPPH} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi DPPH}} \times 100 \%$$

Keterangan :

Absorbansi DPPH : serapan radikal DPPH 40 ppm

Absorbansi Sampel : serapan radikal DPPH 40 ppm setelah diberi perlakuan sampel

Setelah diperoleh presentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, kemudian ditentukan persamaan  $y = a + bx$  dengan perhitungan secara regresi linier dimana  $x$  adalah konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ ) dan  $y$  adalah presentase inhibisi (%) (Ambari et al., 2021).

#### 4.8.2 Analisis Data

Analisis data sediaan gel peel off dilakukan dengan program SPSS menggunakan metode Two-way Anova. Dari data yang didapatkan dilakukan analisa statistika dengan derajat kepercayaan  $\alpha=0,05$  untuk mengetahui formula mana yang terdapat perbedaan bermakna, dapat dilihat dari nilai  $p$  dan  $\alpha$ . Jika hasil yang diperoleh  $p < \alpha$  menunjukkan adanya perbedaan bermakna, maka dilanjutkan dengan menggunakan uji Honestly Significant Difference (HSD) untuk mengetahui data mana yang berbeda.

$H_0$  = Tidak terdapat perbedaan bermakna antara variasi konsentrasi basis dalam sediaan masker gel peel off ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap aktivitas antioksidan.  $H_0$  diterima apabila signifikan  $>0,05$

$H_1$  = Terdapat perbedaan bermakna antara variasi konsentrasi basis dalam sediaan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) terhadap aktivitas antioksidan.  $H_1$  diterima apabila signifikan  $<0,05$