

## BAB III METODE PENELITIAN

### A. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental. Penelitian ini dilakukan dengan merancang, membuat formulasi, dan mengevaluasi sediaan gel kombinasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.fil.) sebagai anti jerawat dengan konsentrasi F1(1:1), F2(1:3), F3(3:1) serta menganalisa sifat organoleptis, uji homogenitas, uji daya sebar, uji derajat keasaman (pH), uji viskositas..

Perlakuan yang digunakan, yaitu 3 perlakuan. Rumus untuk menentukan pengulangan, yaitu dengan menggunakan rumus Federer (1997)

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(3-1)(r-1) \geq 15$$

$$2r-2 \geq 15$$

$$r \geq 6,5$$

keterangan:

t: jumlah perlakuan

r: jumlah pengulangan

pada penelitian ini dilakukan 3 perlakuan yaitu F1, F2 dan F3 dengan pengulangan yang dilakukan adalah sebanyak 7 kali pengulangan.

### B. Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah sediaan gel kombinasi ekstrak herba pegagan dan ekstrak kulit jeruk lemon yang dibuat menjadi tiga formula dengan konsentrasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.fil.) dengan perbandingan F1(1:1), F2(1:3), F3(3:1).

### C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasetika Politeknik Kesehatan Tanjungkarang dan dilaksanakan pada bulan Januari sampai dengan Mei 2023.

#### **D. Alat dan Bahan**

##### 1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan neraca analitik, blender, cawan porselen, gelas ukur, kaca arloji, kertas saring, kertas perkamen, kaca objek, pipet tetes, batang pengaduk, spatula, aluminium foil, pH meter, beaker glass, mortir, stamper, viskometer *ostwald*, penggaris, bulb.

##### 2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.), ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.fil.), Na-CMC, metil paraben, propilenglikol, propil paraben, aquadest, etanol 70%, dan tisu.

#### **E. Prosedur Kerja Penelitian**

##### 1. Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Botani Universitas Lampung untuk mengetahui kebenaran sampel herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.fil.).

##### 2. Pembuatan simplisia herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.).

- a. Dipilih herba pegagan yang bagus dan segar.
- b. Dicuci dengan menggunakan air bersih yang mengalir sampai bersih dan ditiriskan.
- c. Dipisahkan herba dengan akarnya lalu dilakukan perajangan herba pegagan.
- d. Diletakkan herba pegagan pada nampan dan dikeringkan dengan diangin anginkan dan ditutupi kain berwarna hitam selama kurang lebih 2 minggu atau sampai sampel kering seutuhnya ditandai dengan perubahan yang terjadi pada sampel seperti warna, dan teksturnya yang mudah dipatahkan atau rapuh.
- e. Dilakukan sortasi kering pada simplisia herba pegagan.
- f. Dihaluskan herba pegagan yang telah kering menggunakan blender.
- g. Disaring herba pegagan untuk menghasilkan serbuk simplisia yang halus.

3. Pembuatan simplisia kulit jeruk lemon
  - a. Dipilih jeruk lemon yang segar dan bagus.
  - b. Pisahkan kulit jeruk lemon dari buahnya.
  - c. Dicuci dengan menggunakan air bersih yang mengalir sampai bersih dan ditiriskan.
  - d. Dilakukan perajangan kulit jeruk lemon.
  - e. Diletakkan kulit jeruk lemon pada nampan dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60° C.
  - f. Sortasi kering untuk memisahkan benda asing atau bagian tanaman yang tidak digunakan dan sampel.
  - g. Dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk.
  - h. Serbuk yang dihasilkan diayak dengan menggunakan ayakan mesh 60, hingga memperoleh serbuk yang halus dan seragam.
4. Pembuatan ekstrak
  - a. Pembuatan ekstrak herba pegagan dengan metode maserasi
    - 1) Ditimbang serbuk kering herba pegagan sebanyak 60 g pada neraca analitik.
    - 2) Dimasukkan serbuk herba pegagan yang telah ditimbang kedalam wadah yang telah disiapkan.
    - 3) Ditambahkan etanol 70% sebanyak 420 mL.
    - 4) Ditungup dan dibiarkan selama 5 hari dan terlindung dari cahaya sambil sering diaduk.
    - 5) Setelah 5 hari perendeman, disaring dengan kertas saring rangkap, dimasukkan filtrat kedalam beaker glass.
    - 6) Setelah 5 hari dikumpulkan semua filtrat lalu diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.
  - b. Pembuatan ekstrak kulit jeruk lemon dengan metode maserasi
    - 1) Ditimbang simplisia kulit jeruk lemon sebanyak 80 g dengan menggunakan neraca analitik.
    - 2) Dimasukkan serbuk simplisia kulit jeruk lemon kedalam wadah yang telah disiapkan.

- 3) Ditambahkan 560 mL etanol 70% sehingga semua simplisia terendam secara sempurna dan diamkan selama 5 hari dan diaduk sesekali.
  - 4) Disaring menggunakan kertas saring dan dipisahkan antara hasil maserat dan ampasnya.
  - 5) Semua maserat dikumpulkan dan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.
5. Formulasi Gel

Pada penelitian ini dilakukan modifikasi sediaan gel dengan kombinasi ekstrak. Berikut adalah formula sediaan gel kombinasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.fil.) sebagai anti jerawat dengan perbandingan F1(1:1), F2(1:3), F3(3:1).

Tabel 3.1 Formulasi Gel Kombinasi Ekstrak Herba Pegagan dan Ekstrak Kulit Jeruk lemon.

Komposisi	Kegunaan	Formula					
		F1 (%)	F1 (gr)	F2 (%)	F2 (gr)	F3 (%)	F3 (gr)
Ekstrak Herba Pegagan	Zat aktif	0,5	0,25	0,25	0,125	0,75	0,375
Ekstrak kulit jeruk lemon	Zat aktif	0,5	0,25	0,75	0,375	0,25	0,125
Na-CMC	Gelling agent	3	1,5	3	1,5	3	1,5
Metil Paraben	Pengawet	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1
Propil Paraben	Pengawet	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1
Propilenglikol	Humektan	15	7,5	15	7,5	15	7,5
Aquadest	Pelarut	Ad 100	Ad 50	Ad 100	Ad 50	Ad 100	Ad 50

Keterangan :

F1: Formula gel dengan konsentrasi ekstrak herba pegagan 0,5% dan ekstrak kulit jeruk lemon 0,5%.

F2: Formula gel dengan konsentrasi ekstrak herba pegagan 0,25% dan ekstrak kulit jeruk lemon 0,75%.

F3: Formula gel dengan konsentrasi ekstrak herba pegagan 0,75% dan ekstrak kulit jeruk lemon 0,25%.

## 6. Penimbangan bahan

- a. Ditimbang ekstrak herba pegagan sebanyak 0,25 g dalam kaca arloji dengan neraca analitik.
- b. Ditimbang ekstrak kulit jeruk lemon sebanyak 0,25 g dalam kaca arloji dengan neraca analitik.
- c. Ditimbang Na-CMC sebanyak 1,5 g dalam kaca arloji dengan neraca analitik.
- d. Ditimbang metil paraben sebanyak 0,1 g dalam kaca arloji dengan neraca analitik.
- e. Ditimbang propil paraben sebanyak 0,1 g dalam kaca arloji dengan neraca analitik.
- f. Ditimbang propilenglikol gram sebanyak 7,5 g dalam kaca arloji dengan neraca analitik.
- g. Diambil aquadest sebanyak 40,3 mL menggunakan gelas ukur.

Cara yang sama dilakukan untuk penimbangan formula F2 dan F3 sesuai dengan berat yang tertera pada tabel 3.1.

## 7. Pembuatan Gel

- a. Disiapkan alat dan bahan yang telah ditimbang sebelumnya.
- b. Na-CMC dikembangkan dalam 20 mL aquadest, tunggu hingga fase terdispersi dan diaduk hingga menjadi gel yang kental (M1).
- c. Dilarutkan metil paraben dan propil paraben dengan aquadest panas (M2).
- d. Ditambahkan M2 ke M1 kedalamnya, ditambahkan propilenglikol lalu dicampurkan dan diaduk hingga homogen.
- e. Ditambahkan ekstrak herba pegagan dan ekstrak kulit jeruk lemon kedalam campuran, diaduk hingga homogen, kemudian ditambahkan aquadest hingga mendapatkan bobot yang telah ditentukan.

## 8. Uji kandungan Kimia

Uji kandungan kimia yang dilakukan dengan cara mengidentifikasi metabolit sekunder dapat memberikan gambaran komponen kimia yang terkandung didalam tumbuhan secara kualitatif (Depkes RI, 2006).

a. Identifikasi Alkaloid.

- 1) Ditimbang sebanyak 0,5 g ekstrak kulit jeruk lemon kemudian ditambahkan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL air suling.
- 2) Dipanaskan dipenangas air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring,
- 3) Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi mayer yang akan menghasilkan endapan putih/kuning.
- 4) Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi bouchardat yang akan menghasilkan endapan coklat-hitam.
- 5) Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi dragendorf yang akan menghasilkan endapan merah bata.
- 6) Alkaloid dapat dikatakan positif jika terjadi endapan atau paling sedikit dua atau tiga dari percobaan diatas.

b. Identifikasi Flavonoid.

- 1) Ditimbang ekstrak kulit jeruk lemon sebanyak 0,5 g kemudian ditambahkan 10 mL air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas.
- 2) Filtrat yang diperoleh kemudian diambil 5 ml lalu ditambahkan 0,1 gr serbuk serbuk Mg dan 1 mL HCL pekat dan 2 mL amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah.
- 3) Flavonoid dikatakan positif jika terbentuk warna merah, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol.

c. Identifikasi Saponin

- 1) Sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 mL air suling panas.
- 2) Didinginkan kemudian kocok kuat-kuat selama 10 detik.
- 3) Terbentuk buih atau busa selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm.
- 4) Ditambahkan 1 tetes larutan HCL 2N, apabila buih tidak hilang maka akan dinyatakan positif saponin

d. Identifikasi Tanin

- 1) Sebanyak 0,5 g sampel diekstrak menggunakan 10 mL aquadest
- 2) Hasil ekstraksi disaring kemudian filtrat diencerkan dengan aquadest sampai tidak berwarna.
- 3) Diambil 2 mL yang telah diencerkan, kemudian ditambahkan 1-2 tetes  $\text{FeCl}_3$ .

- 4) Tanin dikatakan positif jika terbentuk warna hijau kehitaman.
- e. Identifikasi Steroida / Triterpenoid
  - 1) Sebanyak 1 gr sampel dimaserasi dengan 20 mL n-Heksana Selama 2 jam, lalu disaring.
  - 2) Filtrat diuapkan dalam cawan pengup.
  - 3) Pada sisa ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat.
  - 4) Diamati perubahan warna yang timbul, dikatakan positif triterpenoid apabila terbentuk warna ungu atau merah.

#### 9. Evaluasi Gel

Evaluasi Gel yang dilakukan yaitu :

##### a. Uji Organoleptis

Uji organoleptis yang dilakukan oleh peneliti dengan cara:

- 1) Disiapkan gel kombinasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.fil.).
- 2) Dilakukan pengamatan organoleptis yang meliputi warna dan aroma.
- 3) Diambil sedikit gel kombinasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.fil.) lalu dioleskan ditelapak tangan untuk mengamati tekstur gel.
- 4) Dicatat hasil pemeriksaan berdasarkan penilaian uji organoleptis.

##### b. Uji Homogenitas

Uji Homogenitas yang dilakukan oleh peneliti dengan cara:

- 1) Disiapkan gel kombinasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.fil.).
- 2) Diambil sedikit gel kombinasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.fil.) lalu dioleskan diatas kaca objek.
- 3) Diamati ada tidaknya butir-butir kasar pada gel kombinasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.fil.).
- 4) Dicatat hasil pemeriksaan berdasarkan penilaian uji homogenitas.

c. Uji Daya Sebar

Uji Daya Sebar yang dilakukan oleh peneliti dengan cara:

- 1) Disiapkan gel kombinasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.fil.).
- 2) Ditimbang gel kombinasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.fil.) sebanyak 0,5 g pada kaca arloji.
- 3) Diletakkan gel kombinasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.fil.) sebanyak 0,5 g diatas kaca berukuran 20 x 20 cm.
- 4) Ditutup dengan menggunakan kaca lain dengan ukuran 20 x 20 cm.
- 5) Diletakkan pemberat hingga 100 g diatas kaca.
- 6) Didiamkan selama 1 menit.
- 7) Dicatat hasil pengukurannya.
- 8) Dibandingkan dengan persyaratan daya penyebaran yang baik yaitu antara 5-7 cm.

d. Uji pH

Uji pH dilakukan oleh peneliti dengan cara:

- 1) Disiapkan gel kombinasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.fil.).
- 2) Ditimbang gel kombinasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.fil.) sebanyak 1 g dengan kaca arloji.
- 3) Dilarutkan dalam aquadest 10 mL.
- 4) Dilakukan pemeriksaan pH dengan memasukkan pH meter kedalam larutan Gel Kombinasi Ekstrak Herba Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan Ekstrak Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.fil.).
- 5) Dicatat hasil pengamatan berdasarkan penilaian uji pH.
- 6) Dibandingkan dengan persyaratan pH untuk kulit yaitu 4,5-6,5.

e. Uji Viskositas

Uji pH dilakukan oleh peneliti dengan cara:

- 1) Disiapkan viscometer *ostwald*.

- 2) Diukur berat jenis gel kombinasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.fil.) menggunakan piknometer.
- 3) Dimasukkan masing-masing formula gel kombinasi ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan ekstrak kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.fil.) kedalam alat viskometer.
- 4) Diukur waktu yang dibutuhkan dari titik A ke titik B.
- 5) Dihitung viskositas dengan rumus viskositas.

#### **F. Teknik Pengumpulan Data**

Pada penelitian ini dilakukan identifikasi metabolit sekunder pada ekstrak serta evaluasi sediaan gel meliputi, uji organoleptik, uji homogenitas, uji daya sebar, uji pH dan uji viskositas dilakukan oleh peneliti. Teknik pengumpulan data dilakukan menggunakan lembar *checklist*.

#### **G. Pengolahan dan Analisis Data**

##### 1. Pengolahan Data

###### a. *Editing*

Pengecekan kembali data yang diperoleh dari hasil pengamatan. Pengecekan dilakukan pada semua lembar pengujian yang meliputi organoleptis, homogenitas, daya sebar, pH dan viskositas dengan memeriksa kelengkapan data untuk proses lebih lanjut (Notoatmodjo, 2012:176).

###### b. *Coding*

Setelah pengeditan data, dilakukan pengkodean yakni merubah bentuk kalimat atau huruf menjadi data angka atau bilangan yang dimaksudkan untuk memudahkan dalam melakukan analisis. Seperti data organoleptik warna dilakukan pengkodean yaitu 1=Bening, 2=Bening kekuningan dan 3=Kuning gading (Notoatmodjo, 2012:177).

###### c. *Entrying*

Data data yang telah selesai di *editing* dan *coding* selanjutnya dimasukkan kedalam program komputer untuk dianalisis. Data dimasukkan kedalam program komputer pengelola tabel dan data disesuaikan dengan kode yang

sudah diberikan untuk masing-masing evaluasi seperti organoleptik, homogenitas, lalu dianalisis untuk mendapatkan presentase (Notoatmodjo, 2012:177).

d. *Tabulasi*

Setelah data dianalisis, hasil yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel dan grafik. Data pada program komputer pengolah tabel dan data dibuat dalam bentuk tabel agar mempermudah dalam menganalisis dan disajikan dalam bentuk grafik agar lebih mudah dalam pemahaman (Notoatmodjo, 2012:179).

2. Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini menggunakan analisis univariat yang dilakukan terhadap setiap variabel dari hasil penelitian. Analisis univariat menampilkan hasil penelitian berupa nilai rata-rata dari masing-masing variabel untuk menghasilkan distribusi frekuensi dan persentase dari tiap-tiap variabel. Analisis univariat digunakan untuk menggambarkan semua variabel yaitu organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar dan viskositas yang dibandingkan dengan literatur (Notoatmodjo, 2012:182).