

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah wortel (*Daucus carota* L.). Sampel merupakan sebagian dari populasi yang ingin diteliti sampel yang digunakan adalah wortel yang segar berwarna kuning kemerahan atau jingga kekuningan dan berbentuk bulat panjang dengan ujung runcing, diperoleh dari perkebunan Karanganyar, Jawa Tengah.

B. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas didefinisikan sebagai suatu kondisi atau nilai yang apabila terjadi akan menghasilkan atau mengubah kondisi nilai yang berbeda. Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol wortel.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah aktivitas pelembap kulit dari sediaan gel ekstrak etanol 96% wortel.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Pertama, umbi wortel adalah bagian dari tumbuhan wortel yang segar berwarna kuning kemerahan atau jingga kekuningan dan berbentuk bulat panjang dengan ujung runcing diperoleh dari perkebunan Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk simplisia wortel merupakan serbuk hasil pencucian, perajangan, dan pengeringan dengan menggunakan oven pada suhu 45-50°C, kemudian di haluskan dengan cara di blender dan diayak dengan ayakan nomor 40.

Ketiga, ekstrak etanol wortel adalah hasil ekstraksi wortel yang dibuat dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.

Keempat, hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah kelinci (*Oryctolagus cuniculus*).

Kelima, sediaan gel wortel merupakan sediaan yang sudah diformulasikan menggunakan ekstrak etanol wortel pada berbagai TEA 1 ml.

Keenam, parameter uji yang digunakan pada penelitian ini adalah organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, stabilitas, iritasi, dan kelembapan.

Ketujuh, uji organoleptis merupakan pengetahuan yang menggunakan indera manusia untuk pemeriksaan terhadap sampel meliputi bentuk, warna, konsistensi, aroma dan rasa.

Kedelapan, uji homogenitas merupakan metode uji yang dilakukan untuk mengetahui apakah dua atau lebih sampel dari populasi yang berbeda memiliki distribusi nilai yang sama.

Kesembilan, uji pH merupakan uji yang dilakukan untuk melihat keasaman sediaan gel dan memastikan sediaan gel tidak menimbulkan reaksi iritasi pada kulit.

Kesepuluh, uji viskositas merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui konsistensi sediaan dan menunjukkan tingkat kekentalan pada sediaan.

Kesebelas, uji stabilitas dan mutu fisik gel ekstrak etanol wortel (*Daucus carota* L.) organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, stabilitas, dan uji stabilitas gel.

Keduabelas, uji daya sebar merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan penyebaran gel dengan cepat ketika digunakan pada kulit.

Ketigabelas, uji iritasi merupakan uji yang dilakukan untuk menghindari timbulnya efek samping yang terjadi pada kulit.

Keempatbelas, uji kelembapan merupakan keadaan yang dipengaruhi oleh kadar air di dalam lapisan kulit.

C. Alat, Bahan dan Hewan Uji

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah batang pengaduk, beaker glass, blender, gelas ukur, kertas saring, pipet tetes, *rotary evaporator*, *skin analyzer*, spatula, mortir stamper, tabung reaksi, timbangan analitik, waterbath, ayakan ukuran mesh nomor 40, bejana masreasi, corong, labu erlenmeyer, pot salep.

2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah wortel (*Daucus carota* L.) yang diperoleh dari Kecamatan Karanganyar, Jawa Tengah, pelarut etanol 96%, Carbopol 940 1g, propilen glikon 5ml, metil paraben 0,2g, TEA 1ml dan aquadest 100 ml.

3. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan yaitu kelinci dilakukan dengan mencukur bulu pada punggung kelinci sampai bersih. Sebelum dioleskan sampel, kulit kelinci dibersihkan menggunakan kapas yang dibasahi akuades. Oleskan sediaan pada punggung kelinci selama 24 jam. Setelah 24 jam perlakuan, punggung area uji dibersihkan dengan air untuk menghilangkan sisa bahan uji. Pada jam ke 24, 48 dan 72 setelah pemberian bahan uji, area uji kemudian diperiksa dan diamati perubahannya sebagai reaksi kulit terhadap bahan uji (Draize, 1959).

D. Rencana Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi pada tanaman dilakukan dengan mengamati ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman wortel (*Daucus carota* L.) terhadap kepustakaan dan dibuktikan di Laboratorium Morfologi dan Sistematika Tumbuhan. Pengambilan bahan, Laboraturium Pengujian-UPF Pelayanan Kesehatan Tradisional Tawangmangu.

2. Pembuatan serbuk wortel

Wortel yang telah dikumpulkan di ambil sebanyak 15 kg lalu dibersihkan dengan air mengalir untuk mengeluarkan pengotor yang menempel, setelah di pastikan benar-benar bersih. Kemudian rajangkan tipis-tipis dikeringkan pada oven dengan suhu 45-50°C. Wortel yang telah kering di haluskan dengan menggunakan blender lalu diayak dengan ayakan ukuran mesh 40. Pengecilan ukuran serbuk dilakukan agar proses penyarian lebih mudah karena kontak dengan luas permukaan simplisia yang kecil. Simplisia yang sudah menjadi serbuk halus disimpan dalam wadah tertutup untuk selanjutnya dilakukan proses ekstraksi.

3. Susut pengeringan serbuk

Simplisia wortel (*Daucus carota* L.) diuji dengan alat *moisture balance*. Serbuk wortel (*Daucus carota* L.) ditimbang sebanyak 2 gram kemudian dimasukkan dalam *moisture balance* diatur pemanasan sampai suhu 105°C dan ditunggu sampai pemanasan selesai. Nilai susut pengeringan dinyatakan dalam satuan persen tertera pada *moisture balance* (Setyawati, 2018).

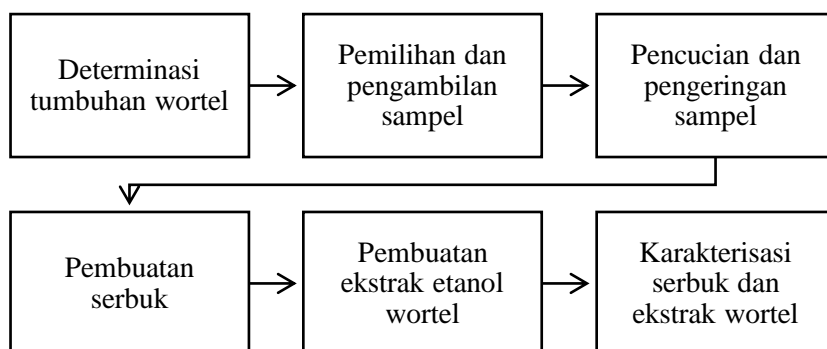
4. Penetapan kadar air

Kadar air dilakukan menggunakan destilasi toluen dengan alat yang dipakai yaitu *Sterling Bidwell*. Kemudian toluen yang akan

digunakan dijenuhkan dengan air menggunakan corong pisah. Sampel ditimbang sebanyak 20 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu alas bulat 200 ml toluen. Kemudian dipanaskan selama kurang lebih 15 menit sampai tidak terjadi penambahan volume. Volume air dibaca setelah air dan toluen memisah sempurna (Lestari, 2019).

5. Pembuatan ekstrak etanol wortel

Pembuatan ekstrak etanol dengan menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Rendam seluruh sampel dengan pelarut etanol, rendam selama 6 jam pertama sambil sekali-sekali diaduk maserasi dilakukan selama 3 hari pada ruangan yang terlindung dari cahaya. Maserasi dilakukan sampai maserat mendekati warna yang transparan atau tidak bewarna.



Gambar 6. Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Wortel

6. Skrining fitokimia

Menurut Debby dkk (2022)

Tabel 1. Skrining Fitokimia

Kandungan Kimia	Pereaksi	Pustaka
Flavonoid	HCl pekat + Logam Mg	Rabima <i>et al.</i> , 2020
Alkaloid	HCl 2N + Pereaksi mayer	Purwati, 2017
Tanin	FeCl 1%	Purwati, 2017
Saponin	HCl 2N	Depkes RI, 1980
Triterpenoid	Liebermann-burchard	Farnsworth, 1966
Beta-Karoten	heksana:aseton:etanol (1:1:4 v/v)	Andarwulan <i>et al.</i> , 1992

Hasil uji skrining fitokimia ekstrak wortel sebanyak 0,5 gram direndam dalam air panas, kemudian dididihkan selama 5 menit, dan disaring untuk dijadikan larutan uji. Ditambah 1 ml HCl pekat dan logam Mg apabila menghasilkan warna merah, jingga atau kuning maka menunjukkan senyawa Flavonoid (Rabima *et al.*, 2020). Uji alkaloid dilakukan dengan pengambilan 1 ml ekstrak wortel ditambahkan beberapa tetes larutan HCl 2N, ditambah pereaksi mayer jika terbentuk

endapan putih menunjukkan reaksi positif alkaloid (Purwati, 2017). Ekstrak wortel sebanyak 1 ml, dimasukan pada tabung reaksi tambahkan 3 tetes larutan FeCl 1%. Jika ada perubahan warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya senyawa tanin (Purwati, 2017). Sebanyak 1 ml ditambahkan air panas, dinginkan kemudian di kocok kuat-kuat selama 10 detik, jika terbentuk busa selama 10 menit tidak hilang setinggi 1-10 cm kemudian ditambah 1 tetes asam klorida 2N busa tidak hilang menandakan positif saponin (Depkes RI, 1980). Uji Triterpenoid dengan memasukan 1 ml ekstrak sampel, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 2 ml Libermann-Burchard yang berisi anhidrida asetat dan asam sulfat pekat (2:1) dikocok, jika terbentuk warna merah sampai ungu menunjukkan positif Triterpenoid (Farnsworth 1966). Uji beta-karoten dengan, dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis, metode Carr-Price (Andarwulan *et al.*, 1992).

7. Penetapan Kadar Air Ekstrak

Kadar air ekstrak dilakukan menggunakan metode *Thermogravimetri*, penentuan kadar air dengan pemanasan kemudian dilakukan penimbangan terhadap sampel sebanyak 10 gram, kemudian dimasukan ke dalam krus yang telah dikeringkan dalam oven suhu 150°C selama 6 jam, AOAC (1995). Nilai susut kadar air dinyatakan dalam satuan persen dan hasil kisaran kadar air tergantung pada jenis ekstraknya, untuk ekstrak kering kadar airnya kurang dari 10% (Voight, 1995). Kadar air menentukan kestabilan ekstrak, pada umumnya kadar air yang berisiko adalah lebih dari 10% (Saifudin, *et al.*, 2021).

8. Pembuatan sediaan gel

Menurut Arum *et al.*, (2019)

Tabel 2. Formulasi gel pelembap kulit

Bahan	K-	F1	F2	F3
Ekstrak Wortel	-	2%	4%	8%
Carbopol 940	1 gram	1 gram	1 gram	1 gram
TEA	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
Propilenglikol	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml
Metil paraben	0,2 gram	0,2 gram	0,2 gram	0,2 gram
Aquadest	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100

Semua bahan disiapkan, bahan ditimbang sesuai dengan formula. Ekstrak konsentrasi 2% dilarutkan diatas waterbath yang sudah dipanaskan dengan suhu $\pm 75^{\circ}\text{C}$, kemudin Carbopol 940 diaduk sampai homogen menggunakan air panas sedikit demi sedikit dalam mortir. Ditambahkan TEA aduk sampai membentuk basis gel, masukan metil

paraben yang sudah dilarutkan dengan propilenglikol sedikit demi sedikit sambil di aduk sampai homogen, masukan ekstrak 2% yang sudah di larutkan di waterbath aduk sampai homogen menjadi gel *ad* 100 ml yang sempurna (Hamzah, 2006). Prosedur yang sama juga dilakukan pada ekstrak dengan konsentrasi 4% dan 8%.

9. Parameter uji

9.1 Pengujian Organoleptis. Uji organoleptis dengan mengamati perubahan-perubahan pada sediaan gel bentuk, warna, dan bau (septiani, 2011).

9.2 Pengujian Homogenitas. Pengujian homogenitas dengan cara diletakkan pada kaca objek kemudian, diamati ada atau tidaknya partikel kasar yang terdapat pada sediaan dari konsentrasi 2%, 4%, 8 % (Kuncari, 2014).

9.3 Pengujian pH. Uji pH gel ekstrak etanol wortel (*Daucus carota* L.) dilakukan menggunakan alat pH meter. Alat dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan larutan dapar pH 4 dan 7 kemudian elektroda pH meter dicelupkan ke dalam gel. Skala dibaca setelah pH meter stabil. (Safitri *et al.*, 2014).

9.4 Pengujian viskositas. Dilakukan dengan cara sebanyak 100ml sediaan gel, dimasukan ke dalam *beaker glass* kemudian dipasang *spindle* yang harus tenggelam kedalam sediaan uji, viskometer dengan kecepatan 60 rpm. Kemudian catat hasil yang tertera pada layar viskometer (Astuti, 2017)

9.5 Pengujian Daya Sebar. Pada pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kecepatan penyebaran gel saat dioleskan pada kulit. 1 gram sediaan gel diletakkan diatas extensometer (kaca bulat), baik konsentrasi 2%, 4%, 8% ditutup menggunakan kaca lain sebagai pemberat hingga mencapai bobot 50 gram, 100 gram dan 200 gram kemudian diukur diameternya setelah 1 menit. Persyaratan daya sebar yaitu antara 5 - 7 cm (Garg A dkk, 2002).

9.6 Pengujian Iritasi. Uji iritasi dilakukan dengan mencukur bulu pada punggung kelinci sampai bersih. Pengujian ini menggunakan 4 kelinci dimana masing-masing perlakuan 1 hewan uji. Uji iritasi dilakukan dengan mencukur bulu pada punggung kelinci sampai bersih. Sebelum dioleskan sampel, kulit kelinci dibersihkan menggunakan kapas yang dibasahi akuades. Oleskan sediaan pada punggung kelinci selama 24 jam. Setelah 24 jam perlakuan, punggung area uji dibersihkan dengan air untuk menghilangkan sisa bahan uji. Pada jam ke 24, 48 dan

72 setelah pemberian bahan uji, area uji kemudian diperiksa dan diamati perubahannya sebagai reaksi kulit terhadap bahan uji (Draize, 1959).

9.7 Pengujian Stabilitas. Pada uji stabilitas gel ekstrak etanol wortel (*Daucus carota* L.) di uji menggunakan suhu secara *Cycling test*. Di uji pada 6 siklus sampel disimpan pada suhu 4°C dalam waktu 24 jam kemudian sampel dipindahkan pada suhu 40°C dalam waktu 24 jam. Proses ini dikatakan sebagai 1 siklus. Sebelum dan sesudah *Cycling test* dilakukan pengujian secara organoleptis, pH, dan viskositas (Dewi, 2010).

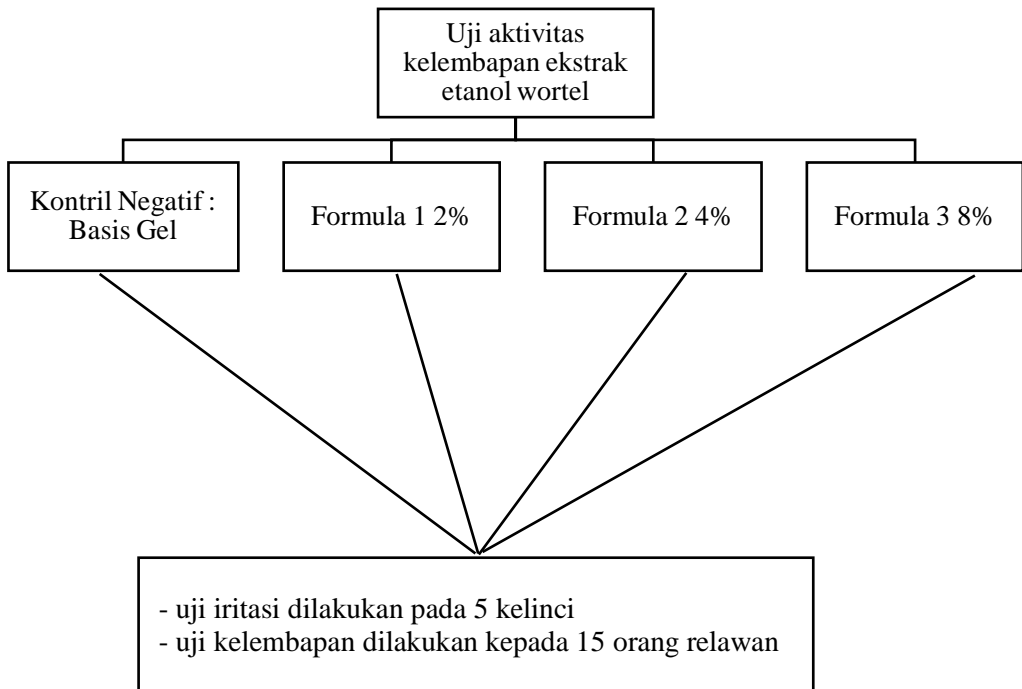
9.8 Pengujian kelembapan. Pada uji ini menggunakan alat Skin Analyzer, untuk melihat tinggal berapa % konsentrasi yang mengandung ekstrak etanol wortel dimana ekstrak mengandung flavonoid yang berfungsi untuk melembapkan kulit. Menurut Purba (2016), kriteria kelembapan kulit adalah <40% kurang lembab, 40-60% lembab, >60% sangat lembap.

10. Uji Aktivitas Kelembapan Gel

Pertama, pada pengujian aktivitas kelembapan gel menggunakan hewan uji kelinci sebanyak 4 ekor umur kelinci berkisar antara 5-6 bulan dengan berat badan antara 1,5-2 kg, dengan mencukur bulu pada punggung dibagi menjadi 5 bagian masing 5x5 cm sampai bersih (Lu, 1995). kulit kelinci dibersihkan menggunakan kapas yang dibasahi akuades, pada kelinci ke 1 punggung kelinci dioles menggunakan basis gel 1g, konsentrasi 2%, 4%, dan 8% masing-masing 1g kemudian dioleskan lagi menggunakan kontrol positif yaitu sediaan gel citra fresh glow 1g pada punggung kelinci, dan pada kelinci ke 2, 3 dan 4 pengulangan replikasi menggunakan kontrol basis gel, gel konsentrasi 2%, 4%, 8% dan juga kontrol positif gel citra fresh glow pada punggung kelinci yang di bagi menjadi 5 bagian. Ditunggu selama 24 jam, setelah 24 jam perlakuan, punggung area uji dibersihkan dengan air untuk menghilangkan sisa bahan uji. Pada jam ke 24, 48 dan 72 setelah pemberian bahan uji, area uji kemudian diperiksa dan diamati perubahannya sebagai reaksi kulit terhadap bahan uji (Draize, 1959).

Kedua, uji kelembapan dilakukan untuk menghidrasi kulit diuji pada relawan berjumlah 15 orang dibagi dengan 5 formula, jadi setiap 3 orang mendapatkan 1 formula dengan menggunakan perangkat *Skin Analyzer*. Kriteria sukarelawan: Wanita atau pria yang memiliki kondisi kulit kering dengan umur 15-25 tahun, tidak memiliki riwayat alergi, dan bersedia jadi sukarelawan. Langkah-langkah yang akan digunakan

sebagai berikut : kulit pertama-tama dibersihkan, kemudian dikeringkan sepenuhnya. Kadar kelembapan kulit diperiksa sebelum sediaan gel diterapkan, dan hasilnya dicatat dalam bentuk persentase pada perangkat tersebut. Sediaan gel kemudian diaplikasikan secara merata pada kulit dibagian lengan tangan dengan luas 5x5 cm setiap malam hari dan di cek kembali pada pagi hari pengujian sampai gel meresap pada kulit selama 8 jam, uji ini dilakukan selama 7 hari dengan pengukuran stiap hari. Kadar kelembapan kulit diperiksa kembali dan hasilnya dicatat ulang pada perangkat *Skin Analyzer*.



Gambar 7. Skema Uji Aktivitas Kelembapan Gel

E. Analisis Data

Hasil uji ekstrak etnaol wortel dianalisis secara statistik menggunakan metode Anova satu arah (*One Way Anova*), untuk melihat nilai probability pelembap gel terhadap tiap perlakuan konsentrasi 2%, 4%, 8% berdasarkan hasil output perbedaan rata-rata kelembapan pada kulit setiap konsentrasi. Dengan taraf kepercayaan 95% yang sebelumnya dilihat hasil normality dan homogenitas sediaan, jika hasil sudah memenuhi syarat $> 0,05$. Data hasil uji pelembap kulit di uji menggunakan uji ANOVA *one way* dan *post hoc test Tukey*.