

BAB III

TATA KERJA

3.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain yaitu oven (*Memmert*[®]), *rotary vaporator* (*IKA*[®]), tabung reaksi (*pyrex*[®]), timbangan analitik (*Henrerr*[®]), Spektrofotometer *UV-Vis* (Thermo Genesis 10s), mikro pipet (*Socorex*[®]), pH meter (Mettler Toledo Seven Compact S220), viscometer (Brookfield LV), sentrifugasi (Hettich Zentrifugen EBA 20[®]), blender (*Philip*), thermometer, mortir, stemper, dan alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium (*Pyrex*).

3.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain yaitu lidah buaya (Manoko), *Tea tree oil* (Happy green), *Aquadest* (Erindo mandiri), metanol p.a (Fulltime), DPPH (Sigma Aldrich), vitamin C (CSPS Weishing Pharmaceutical), asam stearat, trietanolamin (Petronas Chemical), setil alkohol, metil paraben, propil paraben, gliserin, etanol 70%.

3.3. Metode Penelitian

Metode penelitian meliputi proses determinasi tanaman, pengolahan tanaman, skrining fitokimia, karakterisasi simplisia, ekstraksi lidah buaya, pengujian IC₅₀ ekstrak etanol lidah buaya dan *Tea tree oil*, pembuatan sediaan krim, evaluasi fisik dan stabilitas, pengujian IC₅₀ sediaan krim.

3.3.1. Determinasi Tanaman

Tanaman lidah buaya di determinasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Departemen Biologi FMIPA Universitas Padjadjaran.

3.3.2. Pengolahan Tanaman Uji

Pengolahan bahan lidah buaya meliputi sortasi basah, pencucian, penirisan, pengupasan.

3.3.3. Skrining Fitokimia

Dilakukan skrining fitokimia yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, triterpenoid, steroid, kuinon, saponin, monoterpen, dan seskuiterpen:

A. Alkaloid

Sejumlah sampel dalam mortir, dibasakan dengan amonia sebanyak 1 mL, kemudian ditambahkan kloroform dan digerus kuat. Cairan kloroform disaring, filtrat ditempatkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan HCl 2N, campuran dikocok, lalu dibiarkan hingga terjadi pemisahan. Dalam tabung reaksi terpisah:

Filtrat 1 : Sebanyak 1 tetes larutan pereaksi Dragendorf diteteskan ke dalam filtrat, adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan atau kekeruhan berwarna hingga coklat.

Filtrat 2 : Sebanyak 1 tetes larutan pereaksi Mayer diteteskan ke dalam filtrat, adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan atau kekeruhan berwarna putih.

Filtrat 3 : Sebagai blangko atau kontrol negatif (MMI, 1989).

B. Flavonoid

Sejumlah sampel digerus dalam mortir dengan sedikit air, pindahkan dalam tabung reaksi, ditambahkan sedikit logam magnesium dan 5 tetes HCl 2N, seluruh campuran dipanaskan selama 5–10 menit. Setelah disaring panas–panas dan filtrat dibiarkan dingin, pada filtrat ditambahkan amil alkohol, lalu dikocok kuat–kuat, reaksi positif dengan terbentuknya warna merah pada lapisan amil alkohol (MMI, 1989).

C. Tanin

Sebanyak 1 gram sampel ditambahkan 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan pereaksi gelatin akan timbul endapan putih yang menunjukkan adanya senyawa tannin (MMI, 1989).

D. Monoterpen dan Seskuiterpen

Sampel digerus dengan eter, kemudian fase eter diuapkan dalam cawan penguap hingga kering, pada residu ditetesi pereaksi larutan vanilin sulfat atau anisaldehyd sulfat. Terbentuknya warna-warni

menunjukkan adanya senyawa monoterpen dan sesquiterpen (MMI, 1989).

E. Steroid dan Triterpenoid

Sampel digerus dengan eter, kemudian fase eter diuapkan dalam cawan penguap hingga kering, pada residu ditetesi pereaksi Lieberman-Burchard. Terbentuknya warna ungu menunjukkan kandungan triterpenoid sedangkan bila terbentuk warna hijau biru menunjukkan adanya senyawa steroid (MMI, 1989).

F. Kuinon

Sampel ditambahkan dengan air, dididihkan selama 5 menit kemudian disaring dengan kapas. Pada filtrat ditambahkan larutan NaOH 1 N. Terjadinya warna merah menunjukkan bahwa dalam bahan uji mengandung senyawa golongan kuinon (MMI, 1989).

G. Saponin

Sampel ditambahkan dengan air, dididihkan selama 5 menit kemudian dikocok. Terbentuknya busa yang konsisten selama 5-10 menit \pm 1 cm, menunjukkan bahwa bahan uji mengandung saponin (MMI, 1989).

3.3.4. Karakterisasi Lidah buaya

Karakterisasi dilakukan terhadap lidah buaya dilakukan dengan metode yang tertera pada Materia Medika Indonesia. Adapun tahapannya sebagai berikut:

A.. Penetapan Kadar Abu Total

Bahan segar yang sudah ditimbang sebanyak 2 gram dan digerus halus, dimasukkan ke dalam cawan krus. Kemudian dipijarkan hingga arangnya habis, didinginkan dan ditimbang. Jika arangnya tidak dapat hilang, maka abu dipanaskan dalam larutan *aquadest*, kemudian dilakukan penyaringan dengan kertas saring, kertas saring yang berisi sisa abu yang disaring dipijarkan pada cawan krus yang sama. Filtratnya dimasukkan pada cawan krus, diuapkan dan dipijar sampai bobotnya tetap, kemudian ditimbang. Kadar abu

total dihitung terhadap bahan segar yang sudah dikeringkan di udara (Depkes RI, 1989).

B. Penetapan Kadar Sari Larut Air

Bahan segar terlebih dahulu dikeringkan di udara, kemudian 5 gram bahan segar dimaserasi selama 24 jam dengan menggunakan 100 mL air kloroform P (1000:2,5), dalam labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Kemudian disaring, dan 20 ml filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, kemudian dihitung terhadap bobot bahan yang telah dikeringkan (Depkes RI, 1989).

C. Penetapan Kadar Sari Larut Etanol

Bahan segar terlebih dahulu dikeringkan di udara, kemudian 5 gram bahan segar dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL etanol 95% menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Kemudian disaring cepat dengan menghindari penguapan etanol. Kemudian 20 mL filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan dangkal berdasar rata yang telah ditara, kemudian sisa dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Kadar sari larut dalam etanol 95% dihitung terhadap bobot yang sudah dikeringkan (Depkes RI, 1989).

3.3.5. Ekstraksi lidah buaya

Ekstraksi lidah buaya dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Terlebih dahulu lidah buaya dibersihkan dengan air mengalir, kulit daun lidah buaya dikupas diambil daging lidah buaya, dipotong-potong dan bersihkan dengan air mengalir, kemudian lidah buaya dihaluskan dengan cara diblender (Aji, 2004). Lidah buaya yang telah di blender di maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Pelarut ditambahkan sampai bahan terendam, proses maserasi dilakukan selama 3x24 jam, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Setelah itu

Ekstrak di pekatkan menggunakan *rotary vaporator* sampai diperoleh ekstrak kental dan dihitung rendemen ekstrak (Harborne, 1987).

3.3.6. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol lidah buaya dan *Tea tree oil*

Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 5 mg dilarutkan dengan 100 mL metanol p.a dalam labu ukur.

1. Pengukuran daya antioksidan ekstrak etanol lidah buaya, *Tea tree oil*, dan vitamin C (Blois, 1958).

Sampel uji disiapkan dengan berbagai konsentrasi dengan pelarut metanol kemudian ditambahkan dengan larutan DPPH 50 ppm (1:1). Campuran tersebut diinkubasi dan absorbansi diukur pada λ 517 nm (Blois, 1958). Aktivitas antioksidan diukur sebagai persen penurunan absorbansi DPPH pada sampel uji dihitung menggunakan rumus

$$\text{Persen aktivitas} = \frac{(\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel})}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

2. Penetapan IC_{50} Antioksidan dari ekstrak etanol lidah buaya, *Tea tree oil* dan vitamin C.

Sampel uji dibuat dengan 4 variasi konsentrasi, kemudian diambil 1,5 mL dicampurkan dengan 1,5 mL larutan DPPH (1:1). Campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit dan absorbansi diukur pada λ 517 nm. IC_{50} dihitung dengan cara memasukkan nilai 50 ke dalam persamaan linier sebagai y, kemudian dihitung nilai x. Setelah itu didapatkan konsentrasi IC_{50} (Blois, 1958).

3.3.7. Formula Krim Antioksidan

Dalam formula basis krim sediaan antioksidan ekstrak etanol lidah buaya dan *Tea tree oil*, dengan menggunakan emulgator Trietanolamin dan asam stearat.

Tabel 3.1 Formula krim

Formula Krim Antioksidan	Formula (%)		
	F1	F2	F3
Ekstrak etanol Lidah buaya	0,7	1,4	2,1
<i>Tea tree oil</i>	1,4	2,8	4,2
Asam stearat	12	12	12
Setil alkohol	2	2	2
Trietanolamin	2	2	2
Metil paraben	0,1	0,1	0,1
Propil paraben	0,05	0,05	0,05
Gliserin	2	2	2
Aquadest	79,75	77,65	75,55

3.3.8. Pembuatan Krim Antioksidan

Basis krim dibuat dengan cara meleburkan masing-masing fase minyak dan fase air diatas penangas air pada suhu 60-70°C. Fase minyak yaitu asam stearat dan setil alkohol sedangkan fase air yaitu TEA, gliserin, metil paraben, propil paraben dan aquadest. Fase minyak dan fase air dipanaskan pada suhu 70°C setelah semuanya melebur, dimasukkan fase minyak sedikit demi sedikit kedalam mortir yang berisi fase air, kemudian di gerus hingga terbentuk basis krim. Formula basis krim disimpan selama 3 hari di tempat yang terlindung dari cahaya, dan diamati perubahan bentuk, warna, dan bau. Setelah itu ditambahkan ekstrak etanol lidah buaya dan *Tea tree oil* ke dalama basis krim. Kemudian diaduk hingga homogen, dan dimasukkan ke dalam wadah.

3.3.9. Evaluasi Sediaan Krim

A. Pengamatan Organoleptis

Pengamatan organoleptis yang dilakukan secara visual yaitu meliputi perubahan warna, bentuk, bau. Pengamatan dilakukan pada hari ke 1, 7, 14, 21, dan 28 pada suhu kamar (Safitri, 2016).

B. Pengujian Viskositas

Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer Brookfield yaitu dengan memasang spindle no 64 pada alat kemudian dicelupkan kedalam sediaan sampai batas tertentu dan diatur kecepatan 6 rpm. Tiap masing-masing pengukuran skala dibaca ketika jarum merah stabil, nilai viskositas diperoleh dari

hasil perkalian dial reading dengan faktor koreksi pada masing-masing kecepatan spindel (Safitri, 2016).

C. Pengujian pH

Pengujian pH menggunakan alat pH meter yang dikalibrasi menggunakan larutan dapar pH 7, pH 4, dan pH 9. Elektroda pH meter dicelupkan kedalam krim, alat dibiarkan hingga menunjukkan nilai pH yang konstan, kemudian hasilnya dicatat (Safitri, 2016).

D. Pengujian Daya Sebar

Ditimbang 0,5 gram krim, lalu diletakkan krim ditengah kaca transparan dan ditutup dengan kaca yang lain, kemudian dидiamkan selama 1 menit dan ditambahkan beban 50 gram, setelah itu diamati dan diukur diameter (Safitri, 2016).

E. Pengujian Sentrifugasi

Krim dimasukkan ke dalam sentrifugasi kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 10 menit (Setiawan, 2010).

F. Pengujian Antioksidan Sediaan Krim Kombinasi Ekstrak Etanol lidah buaya dan *Tea tree oil*.

Sediaan krim F1, F2, F3 ditimbang sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dalam 10 mL metanol p.a. diperoleh larutan iduk 1000 ppm kemudian dibuat pengenceran 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm. Larutan krim masing-masing diambil 2 mL dimasukkan kedalam vial dan ditambahkan 2 mL DPPH. Diinkubasi selama 30 menit. Kemudian absorbansi DPPH diukur pada panjang gelombang 517. Selanjutnya dihitung IC_{50} .