

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Alat dan Bahan**

##### **3.1.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu alat-alat gelas, hotplate stirrer (Thermolyne-Cimarec), Kaca ukuran 20 x 20 cm, Timbangan analitik (Mettler Toledo), pH meter (Laqua Act-Horiba), Moisture balance (Mettler HB 43), Viscometer (Brookfield DV-I Primer). Peralatan tersebut terdapat di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Islam Indonesia.

##### **3.1.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tepung pati singkong diperoleh dari pembuat pati di Desa Tulung Kabupaten Bantul, *Clay Bentonit* diperoleh dari Brenntag Specialties.Inc, HPMC K4M diperoleh dari PT. Colorcon, propilen glikol dari Dow Chemical Pasific (Singapura) Private Limited, propil paraben dari PT. Brataco, etanol 96% dari PT. Indo Acidatama dan akuades dari Laboratorium Farmasi Universitas Islam Indonesia.

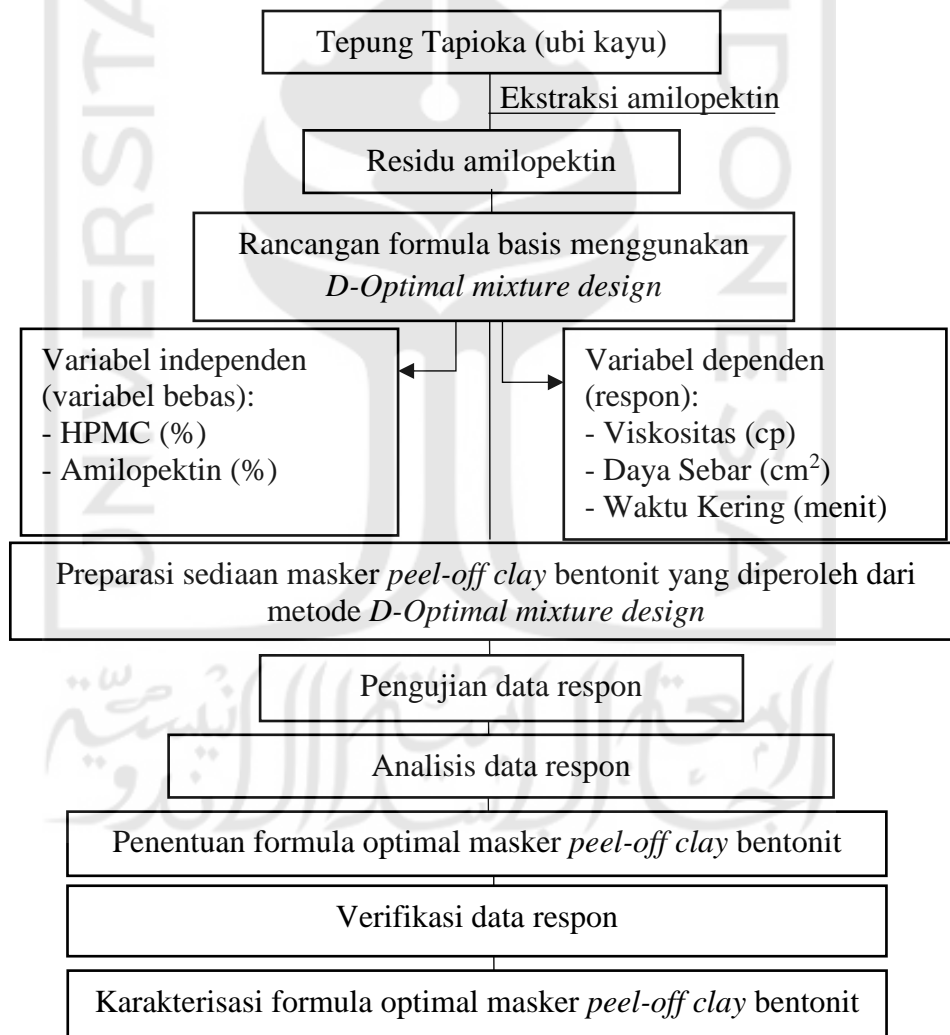
#### **3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia yang dimulai pada Maret 2018.

#### **3.3 Skema Penelitian**

Skema penelitian berguna untuk memberikan gambaran pada suatu rancangan kegiatan penelitian. Diawali dengan melakukan proses ekstraksi amilopektin dari tepung ubi kayu. Kemudian dilakukan rancangan formula sediaan masker menggunakan *D-Optimal mixture design* dengan 2 komponen variabel yaitu variabel independen (variabel bebas) dan variabel dependen (respon).

Selanjutnya, desain akan memberikan rekomendasi beberapa jumlah formula yang akan dibuat berdasarkan batasan yang sudah ditentukan dalam variabel independen. Setelah dilakukan preparasi sediaan, kemudian dilanjutkan dengan pengujian respon. Langkah selanjutnya melakukan analisis hasil pengujian respon dan jumlah komponen variabel independen dengan menentukan model hubungan yang sesuai menggunakan ANOVA. Diperoleh formula optimal dari hasil optimasi formula. Kemudian dilakukan replikasi tiga kali pada formula optimal serta dilakukan pengujian respon. Verifikasi nilai hasil observasi dengan nilai prediksi dari desain. Dilakukan proses karakterisasi pada formula optimal dengan penambahan uji respon yaitu uji pH dan uji organoleptis. Bagan skema penelitian dapat dilihat pada gambar 3.1



**Gambar 3. 1** Skema penelitian secara umum

### 3.4 Metode Penelitian

#### 3.4.1 Ekstraksi Amilopektin

Menimbang 60 gram tepung pati ubi kayu dengan perbandingan 1 : 30 (tepung pati-air). Tepung dilarutkan dengan air pada suhu 50<sup>0</sup>C selama 1,5 jam. Larutan di diamkan hingga dingin, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Residu (amilopektin) yang diperoleh dikeringkan pada waterbath dengan suhu 45<sup>0</sup>C (Christi and Purwoto, 2015).

#### 3.4.2 Uji Kualitatif Amilopektin

Identifikasi fraksi amilopektin dan amilosa dilakukan secara kualitatif. Jika pati berikatan dengan iodium lalu menghasilkan warna ungu coklat, menandakan suatu senyawa amilopektin dan apabila menghasilkan warna biru menandakan suatu senyawa amilosa. Amilosa memiliki karakteristik rantai lurus, menghasilkan gel yang kaku, membentuk film yang kuat (Herawati, 2011). Sehingga apabila semakin banyak kandungan amilosa pada pati, maka pati semakin kering dan kurang lengket (Nisah, 2017). Amilopektin dengan karakteristik membentuk rantai bercabang, dapat menghasilkan gel yang lembek, serta membentuk lapisan film yang elastis (Herawati, 2012). Sehingga amilopektin cocok digunakan sebagai *gelling agent* pada proses gelatinisasi (Anita *et al.*, 2013). Fraksi amilopektin merupakan fraksi yang tidak larut dalam air sehingga amilopektin bersifat lebih nonpolar dibandingkan amilosa. Sedangkan amilosa yang memiliki sifat polar akan lebih mudah larut dalam air (Oktavia *et al.*, 2013).

#### 3.4.3 Pembuatan sediaan masker *peel-off clay bentonit*

Dimulai dengan melakukan preparasi sediaan secara coba-coba pada rancangan formula basis guna untuk memperkecil *range* bahan – bahan yang digunakan dalam pembuatan sediaan masker. *Range* tersebut diperoleh dari jurnal-jurnal terkait masker *peel-off clay bentonit*. Kisaran *range* formula basis dapat dilihat pada tabel 3.1.

**Tabel 3. 1** Kisaran jumlah bahan pada sediaan masker

Variabel Independen	Unit	Level	
		Rendah	Tinggi
HPMC (X <sub>1</sub> )	%	2	4
Amilopektin (X <sub>2</sub> )	%	1	3

Sumber: (Sukmawati *et al.*, 2013)(Christi and Purwoto, 2015)

Setelah percobaan pertama selesai, diperoleh rentang yang baik serta cara pembuatan masker yang tepat. Dibawah ini merupakan batasan dari formula basis yang dimasukkan kedalam *D-Optimal Mixture Design*. Ditunjukkan pada tabel 3.2.

**Tabel 3. 2** Rentang nilai variabel independen

Variabel Independen	Unit	Level	
		Rendah	Tinggi
HPMC (X <sub>1</sub> )	%	1,5	2,5
Amilopektin (X <sub>2</sub> )	%	2	3

Setelah diperoleh rentang yang baik, langkah selanjutnya dilakukan preparasi sediaan masker *peel-off clay* bentonit. Diawali dengan penimbangan semua bahan. Jumlah bahan yang digunakan dalam pembuatan masker *peel-off* dapat disesuaikan dengan jumlah yang ada pada formula ditabel 3.3 yang diperoleh dari beberapa referensi. Tahap awal yang dilakukan yaitu ditimbang HPMC, kemudian HPMC dikembangkan dengan cara dilarutkan dalam akuades sebanyak 45 ml dan didiamkan selama 24 jam atau sehari (Sukmawati *et al.*, 2013). Selanjutnya dilakukan proses gelatinisasi amilopektin dengan cara ditimbang amilopektin, kemudian dikembangkan dalam air panas pada suhu 70°C. Dilakukan pengadukan sampai gel berwarna jernih dan tidak menghasilkan gelembung (Christi and Purwoto, 2015). Setelah membentuk gel yang baik, amilopektin dicampurkan dengan HPMC kemudian diaduk hingga homogen (campuran A). Tahap selanjutnya ditimbang bentonit 1,5 gram kemudian dilarutkan dalam 3 ml gliserin. Dicampurkan larutan bentonit tersebut dengan campuran A, kemudian diaduk hingga tercampur sempurna. Ditimbang propil paraben 0,05 gram kemudian dilarutkan menggunakan 5 ml propilen glikol. Selanjutnya larutan tersebut dicampurkan dengan campuran A, diaduk hingga homogen. Ditambahkan etanol

96% dalam jumlah 10 ml, dilakukan pengadukan hingga tercampur merata. Lalu ditambahkan akuades hingga 100 ml. Kemudian disimpan sediaan dalam wadah yang tertutup.

**Tabel 3. 3** Formula sediaan masker *peel-off clay* bentonit

Bahan	Fungsi	Presentase	Jumlah
Clay Bentonit	Zat Aktif	1 – 2 %	1,5 gram
Amilopektin	Pembentuk film	2 – 3 %	2-3 gram
HPMC	<i>Gelling Agent</i>	1,5-2,5%	1,5-2,5 gram
Propilen glikol	Humektan	10%	5 ml
Propil paraben	Pengawet	0,01-0,6 %	0,05 gram
Etanol 96%	Pelarut	10%	10 ml
Akuades	Pelarut	Hingga 100	Hingga 100 ml

Sumber: (Anonym, 2006; Beringsh *et al.*, 2013; Sukmawati *et al.*, 2013; Christi and Purwoto, 2015; Zhelsiana *et al.*, 2016)

#### 3.4.4 Rancangan Formula Basis menggunakan *D-Optimal Mixture Design*

Rancangan formula sediaan masker *peel-off clay* bentonit dilakukan dengan menggunakan *software Design Expert 10.0.11* pada metode *D-Optimal Mixture Design*. Ada 2 variabel yang digunakan yaitu variabel independen (variabel bebas) dan variabel dependen (respon). Variabel independen dilambangkan dengan huruf (X) yang meliputi HPMC ( $X_1$ ) dan amilopektin ( $X_2$ ), sedangkan variabel dependen dilambangkan dengan huruf (Y) yang mencakup viskositas ( $Y_1$ , cp), daya sebar ( $Y_2$ ,  $cm^2$ ), serta waktu kering ( $Y_3$ , menit). Diawali dengan memasukkan nilai batas minimum dan maksimum persentase bahan baku dari variabel independen (variabel bebas) hasil *trial and error* ke dalam program *D-Optimal Mixture Design*. Batasan nilai tersebut dapat dilihat pada tabel 3.2.

Diperoleh 13 formula yang diberikan oleh desain dari rentang nilai variabel independen yang dimasukkan ke dalam program *D-Optimal Mixture Design*. Formula-formula tersebut dipreparasi sesuai dengan langkah-langkah yang telah ditentukan pada poin 3.4.3. formula optimasi yang disarankan oleh desain, dapat dilihat pada tabel 3.4.

Setelah 13 formula tersebut dibuat, selanjutnya dilakukan pengujian respon atau variabel independen yang melingkupi uji viskositas, daya sebar, dan waktu kering. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *D-Optimal Mixture Design*.

Parameter statistik yang digunakan untuk analisis formula tersebut yaitu nilai P value yang signifikan, nilai *lack of fit* yang tidak signifikan serta tingginya r-squared dan adjusted r2 yang dapat menentukan model yang sesuai dari masing – masing variabel dependen (Borhan *et al.*, 2014).

**Tabel 3. 4** Formula pada *D-Optimal Mixture Design*

Run	HPMC (%)	Amilopektin (%)
1	2,1667	2,3333
2	2,5	2
3	1,8333	2,6667
4	2,5	2
5	1,5	3
6	2,5	2
7	1,5	3
8	1,5	3
9	2	2,5
10	2	2,5
11	2,25	2,25
12	2	2,5
13	1,75	2,75

Dilakukan Optimasi formula – formula yang diperoleh dari *D-Optimal Mixture Design* guna untuk mendapatkan formula optimal. Formula optimal diperoleh dari kriteria – kriteria yang diharapkan. Formula optimal dibuat dengan melakukan tiga replikasi. Kemudian dilakukan pengujian respon dan hasil tersebut diverifikasi dengan hasil prediksi oleh desain. Kriteria formula optimal dapat dilihat pada tabel 3.5.

**Tabel 3. 5** Kriteria Formula Optimal

Variabel Independen / Variabel Dependen	Target	Batas Atas	Batas Bawah
HPMC	Minimal	1,5 %	2,5 %
Amilopektin	Maksimal	2 %	3 %
Viskositas	Rentang 12000 - 15000	7100 cp	83144 cp
Daya Sebar	Maksimal	5,5 cm	6,6 cm
Waktu Mengering	None	-	-

### 3.4.5 Pengujian model respon formula masker *peel-off clay bentonit*

Dilakukan pengujian sebagai berikut:

#### 3.4.5.1 Pengujian Viskositas

Pengukuran tingkat kekentalan sediaan masker dilakukan dengan menempatkan 100 ml sampel dalam viscometer Brookfield DV-E hingga spindel terendam. Viskometer Brookfield DV-E dijalankan kemudian viskositas dari sediaan masker gel *peel-off* akan terbaca (Sukmawati *et al.*, 2013).

#### 3.4.5.2 Pengujian Daya Sebar

Sebanyak 1 gram sediaan masker diletakkan di atas kaca berukuran 20 x 20 cm yang berada di atas sebuah kertas grafik, kemudian ditutup menggunakan kaca lain dan diberi beban sebesar 125 gram lalu diamkan selama 60 detik atau 1 menit. Selanjutnya diukur diameter yang telah terbentuk pada kaca tersebut (Karmilah and Rusli, 2018).

#### 3.4.5.3 Pengujian Waktu Kering

Sediaan masker *peel-off* sebanyak 0,7 gram dioleskan pada punggung tangan orang yang sama dengan area seluas 5,0 x 2,5 cm hingga terbentuk lapisan tipis, guna untuk meniru film yang terbentuk pada wajah saat masker *peel off* diaplikasikan. Sediaan dimonitor sampai pengeringan berjalan sempurna (Septiani *et al.*, 2012).

### 3.4.6 Verifikasi Respon Optimal

Membandingkan hasil yang diperoleh dari formula prediksi dan formula observasi yang optimal dengan menggunakan % bias untuk melihat perbedaan yang signifikan antara keduanya (Zhelsiana *et al.*, 2016). Persentase kesalahan hasil prediksi dan hasil observasi bisa ditunjukkan dengan nilai % bias, yang akan dikatakan baik apabila memiliki nilai % bias kurang dari 10% (Moriassi *et al.*, 2007).

Rumus :

$$\% \text{ Bias} = \frac{\text{Observasi} - \text{Prediksi}}{\text{Prediksi}} \times 100\%$$

### **3.4.7 Karakterisasi formula optimal masker *peel-off clay bentonit***

#### **3.4.7.1 Pengujian Organoleptis**

Uji organoleptis dilakukan dengan melihat secara langsung bentuk, bau, warna serta homogenitas sediaan yang dirasakan dengan indra peraba (Zhelsiana *et al.*, 2016).

#### **3.4.7.2 Pengujian Viskositas**

Karakterisasi viskositas dilakukan dengan cara seperti yang ditunjukkan pada poin 3.4.5.1. Menurut literatur, rentang viskositas untuk menghasilkan gel yang baik yaitu pada kisaran nilai 7100 – 83144 cP (Chandira *et al.*, 2010). Pada rentang tersebut dihasilkan sediaan dengan kekentalan yang baik dalam pembuatan sediaan masker.

#### **3.4.7.3 Pengujian Daya Sebar**

Karakterisasi pengujian daya sebar dilakukan seperti pada poin 3.4.5.2. pada sediaan masker, daya sebar yang diharapkan yaitu sesuai dengan literatur pada rentang 5 – 7 cm (Sulastri and Chaerunisaa, 2017). pengujian daya sebar bertujuan untuk melihat kecepatan penyebaran sediaan masker saat dioleskan pada kulit. Semakin tinggi daya sebar yang dihasilkan, maka akan semakin mudah dioleskan dan lebih cepat merata saat diaplikasikan pada kulit (Karmilah and Rusli, 2018).

#### **3.4.7.4 Pengujian Waktu Kering**

Pengujian waktu kering dilakukan seperti pada poin 3.4.5.3. Waktu kering pada sediaan masker tersebut diharapkan dapat sesuai literatur yaitu berkisar 15 – 30 menit (Ainaro *et al.*, 2015).

#### **3.4.7.5 Pengujian pH**

Elektroda pH meter dicelupkan kedalam sediaan masker. Setelah tercelup dengan sempurna, ditunggu angka pH menjadi konstan. Nilai pH harus berada pada rentang pH kulit yaitu 4,5-6,5. Apabila pH terlalu asam maupun terlalu basa dikhawatirkan dapat menimbulkan permasalahan pada kulit (Karmilah and Rusli, 2018).



### 3.5 Analisis Hasil

Optimasi formula sediaan masker *peel-off clay* bentonit dengan menggunakan metode *D-Optimal Mixture Design* terdiri dari dua variabel yaitu variabel independen (variabel bebas) dan variabel dependen (variabel respon). Desain akan memberikan rekomendasi formula sediaan yang optimal berdasarkan kriteria yang diharapkan. Data hasil pengujian respon yang didapat setelah preparasi sediaan, dianalisis secara ANOVA untuk mendapatkan model yang menggambarkan pola hubungan antara variabel independen dengan variabel dependen.

