

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, batang pengaduk, spatula, aluminium foil, gelas beker, labu ukur, kaca arloji, *waterbath*, pH meter, viskometer *brookfield dV2t*, botol semprot, spektrofotometer UV-Vis.

3.1.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Ekstrak Green Tea (*Camellia sinensis* L.) yang di peroleh dari PT. Lansida, Kab. Sleman, HPMC 60 SH yang di peroleh dari PT. Phapros, Semarang. Aquadest, Asam Asetat, Kitosan, *2,2-Diphenyl-1-pikrilhidrazil* (DPPH), dan Tween 80.

3.2 Prosedur Kerja

3.2.1 Formulasi Serum *Spray Gel*

Formulasi dibuat dengan variasi ekstrak teh hijau sebagai zat aktif yang dilarutkan menggunakan tween 80. HPMC sebagai basis gel yang dilarutkan dengan sebagian aquadest. Kitosan sebagai pengawet dilarutkan dengan asam asetat 0,5%.

Tabel 3.1 Formulasi Serum *Spray Gel* Membandingkan Konsentrasi Ekstrak Teh Hijau^(41,42)

Bahan	Formulasi 1	Formulasi 2	Formulasi 3
Ekstrak Teh hijau	0,6 g	0,75 g	0,9 g
Tween 80	3 ml	3 ml	3 ml
HPMC	3 g	3 g	3 g
Kitosan	0,5 g	0,5 g	0,5 g
Asam asetat	20 ml	20 ml	20 ml
Aquadest	Ad 50 ml	Ad 50 ml	Ad 50 ml

3.2.2 Pembuatan Serum *Spray Gel*

Pembuatan basis gel ditimbang 3 gram HPMC dikembangkan pada aquadest sebanyak 20ml diaduk hingga basis gel terbentuk dan diamkan beberapa saat untuk menghilangkan busa. Kitosan dilarutkan dengan menggunakan larutan asam asetat 0,5% yang sebelumnya telah dibuat terlebih dahulu. Dicampur kitosan dengan ekstrak teh hijau yang sbelumnya telah dilarutkan dengan menggunakan tween 80. Kemudian dicampur ekstrak dan kitosan kedalam basis gel HPMC yang telah terbentuk. Setelah semua tercampur dilakukan ultrasonivikasi untuk mendapatkan serum gel yang homogen.

3.2.3 Uji Antioksidan dengan metode 2,2-Diphenyl-1-pikrilhidrazil (DPPH)

3.2.3.1 Pembuatan Larutan DPPH 35 µg/ml

Sebanyak 2 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan dengan metanol sebanyak 20 ml , lalu pipet 17,5 ml, masukkan dalam labu ukur 50 ml lalu tambahkan metanol sampai tanda batas.

3.2.3.2 Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum 2,2-Diphenyl-1-pikrilhidrazil (DPPH)⁽³⁰⁾

Pipet sebanyak 1 ml larutan DPPH 35 µg/ml yang baru dibuat, dimasukkan kedalam vial, ditambahkan 2 ml campuran aquadest-metanol (1:1), tutup vial dan biarkan selama 30 menit ditempat yang gelap. Serapan larutan diukur dangan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 400-800 nm.

3.2.3.3 Penentuan IC₅₀ Larutan Sampel ekstrak *green tea*

Sebanyak 25 mg sampel ekstrak *green tea* ditimbang, kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 25 ml sampai tanda batas, sehingga didapatkan konsentrasi 1 mg/ml. Dari larutan serum *green tea* dipipet 0,01; 0,03; 0,05; 0,06; 0,07 ml. Kemudian tambahkan metanol : aquades (1:1) dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas. Sehingga diperoleh larutan ekstrak *green tea* dengan konsentrasi 1; 3; 5; 6; 7 µg/ml. Pipet masing-masing konsentrasi

sebanyak 2 ml lalu masukkan ke dalam vial, ditambahkan 1 ml larutan DPPH 35 µg/ml. Diamkan selama 30 menit ditempat gelap. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 524 nm.

3.2.3.4 Penentuan IC₅₀ Larutan Sampel *Spray Gel Green Tea*⁽³⁰⁾

Sebanyak 25 mg sampel *spray gel green tea* ditimbang, kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 25 ml sampai tanda batas, sehingga didapatkan konsentrasi 1 mg/ml. Dari larutan serum *green tea* dipipet 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 ml. Kemudian tambahkan metanol : aquades (1:1) dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas. Sehingga diperoleh larutan *spray gel green tea* dengan konsentrasi formulasi 1 (0,24 ; 0,48 ; 0,72 ; 0,96 ; 1,2 ppm), formulasi 2 (0,3 ; 0,6 ; 0,9 ; 1,2 ; 1,5 ppm) dan formulasi 3 (0,36 ; 0,72 ; 1,08 ; 1,44 ; 1,8 ppm). Pipet masing-masing konsentrasi sebanyak 2 ml lalu masukkan ke dalam vial, ditambahkan 1 ml larutan DPPH 35 µg/ml. Diamkan selama 30 menit ditempat gelap. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 524 nm.

3.2.4 Penentuan Kandungan Total Fenolik

Sebanyak 0,1 mL larutan ekstrak teh hijau dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,1 larutan reagen Folin-Ciocalteu 50% kemudian divortex selama 1 menit. Larutan tersebut ditambahkan 2 mL Larutan natrium karbonat (Na₂CO₃) 2%. Campuran ini disimpan dalam ruangan gelap selama 30 menit. Absorbansi larutan ekstrak dibaca pada panjang gelombang 750 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Hasilnya dinyatakan sebagai mg asam galat/Kg ekstrak⁽³¹⁾.

3.2.5 Evaluasi Sediaan *Spray Gel*

3.2.5.1 Pemeriksaan Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan untuk melihat tampilan fisik sediaan dengan cara melakukan pengamatan warna, bau, dan tekstur dari sediaan yang telah dibuat.

3.2.5.2 Pemeriksaan Homogenitas

Sediaan gel diuji homogenitasnya dengan dioleskan pada kaca preparat. Dilihat ada tidaknya partikel yang belum homogen.

3.2.5.3 Pengukuran Viskositas

Disiapkan sediaan sebanyak 100 ml dalam gelas beker, kemudian pilih spindle dengan nomor tertentu dan atur kecepatan dengan rpm tertentu, celupkan alat ke dalam sediaan sampai alat menunjukkan nilai viskositas sediaan.

3.2.5.4 Pengukuran pH

Sediaan gel diukur pHnya dengan pH meter yang telah dikalibrasi.

3.2.5.5 Pemeriksaan Pola Penyemprotan

Sediaan disemprotkan pada selembur plastik yang sudah diukur beratnya dan sudah diberi nomor dengan jarak 3 cm, 5 cm, 10 cm, 15 cm, dan 20 cm kemudian dihitung waktu mengeringnya dengan stopwatch dan ditimbang setelah disemprotkan.

3.2.5.6 Pengujian Daya Sebar Lekat

Uji ini dilakukan dengan cara menyemprotkan sediaan pada bagian lengan atas pada jarak 3cm. Setelah itu dihitung selama 10 detik untuk melihat apakah sediaan menempel atau tetesan dari hasil semprotan menetes kebawah.

3.2.5.7 Uji Hedonik

Melakukan analisis menurut uji kesukaan (parameter aroma, sensasi di kulit, dan warna sediaan) menggunakan 15 orang panelis yang disugahi contoh sediaan yang mengandung ekstrak teh hijau. Untuk melihat tingkat kesukaan panelis terhadap sediaan berdasarkan masing-masing parameter, digunakan skala numerik yang dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Skala numerik pada uji hedonik

Skala Hedonik	Skala Numerik
Sangat suka	3
Kurang suka	2
tidak suka	1

3.3 Analisis Data

Data mengenai sifat fisik dari spray gel ekstrak teh hijau dapat di peroleh dari pengamatan terhadap organoleptis, homogenitas, viskositas, pH, pola penyemprotan, dan uji daya lekat. Uji antioksidan menggunakan metode DPPH kemudian dilakukan. Data yang di dapat kemudian di analisa nilai IC_{50} dengan baik secara deskriptif untuk menentukan nilai IC_{50} yang paling kuat, sedang ataupun lemah dari perbandingan antara ekstrak *green tea* dan ketiga formulasi serum *spray gel green tea* tersebut. Penilaian sampel pada uji *hedonic test*, di dasarkan atas tingkat kesukaan panelis dan penilaian tersebut dapat di ubah dalam bentuk angka dan selanjutnya di analisis secara deskriptif untuk penarikan kesimpulan.



3.4 Skema Kerja

