# BAB III

# METODE PENELITIAN

## 3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental. Sampel yang digunakan adalah bonggol nanas. Data yang dikumpulkan berupa data kuantitatif dan kualitatif. Penelitian meliputi pengelolaan sampel, pembuatan ekstrak, skrining fitokimia, karakterisasi simplisia, formulasi sediaan masker gel peel-off ekstrak dan nanoekstrak bonggol nanas, uji mutu fisik sediaan masker gel peel-off, aktivitas antioksidan serta aktvitas *anti-aging*.

### **3.1.1 Variabel Penelitian**

Pada penelitian ini terdapat dua jenis variabel. Variabel bebas pada penelitian ini adalah simplisia bonggol nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr), ekstrak bonggol nanas (Ananas comosus (L.) Merr), nanoekstrak bonggol nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr), variasi sediaan masker gel peel-off ekstrak dan nanoekstrak bonggol nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr), sediaan masker gel peel-off yang terbaik. Variabel terikat yaitu karakteristik fisik simplisia, metabolit sekunder, karakteristik nanopartikel, karakteristik fisik sediaan masker gel peel-off, aktivitas antioksidan dan aktivitas *anti-aging*.

### **3.1.2 Parameter Penelitian**

Parameter penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut :

* + - * 1. Parameter karakteristik fisik simplisia : makroskopik, mikroskopik, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, kadar air simplisia.
				2. Parameter skrining fitokimia ekstrak bonggol nanas : senyawa alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoid, tanin, saponin, dan glikosida.
	1. Parameter karakteristik nanoekstrak bonggol nanas : ukuran partikel
	2. Parameter karakteristik fisik sediaan masker gel peel-off : homogenitas, organoleptis, waktu kering, pH, daya sebar, daya lekat.
	3. Parameter aktivitas antioksidan : Nilai $IC\_{50}$
	4. Parameter aktivitas *anti-aging* : kadar Air (*moisture*), elastisitas (*elasticity*), Warna Kulit (*pigment*).

## 3.2 Jadwal dan Lokasi Penelitian

### **3.2.1 Jadwal Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2024.

### **3.2.2 Lokasi Penelitian**

Pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak skrining fitokimia dilakukan di Laboratorium Botani, formulasi sediaan masker gel peel-off dilakukan di Laboratorium Farmasetika, karakterisasi mutu fisik sediaan masker gel peel-off, aktivitas antioksidan dan anti-aging dilakukan di Laboratorium kimia Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah Medan. Pengujian ukuran partikel dilakukan di Laboratorium Nanomedicine Universitas Sumatera Utara.

## 3.3 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisa dan ekstrak Bonggol nanas, aquadest, etanol 70% (teknis), etanol 96% (p.a), polivinil alcohol (e-merck), HPMC, gliserin (onemed), TEA, metil paraben, propil paraben, magnesium, toluena, HCL pekat, $F\_{e}Cl\_{3}$1%, HCL 2N, mayer, bouchardat, asam asetat inhidrat, dragendorf, kloroform (e-merck), isopropanol, timbal (II) asetat, molish, Liebermann-Burchard, *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH), Vitamin C.

## Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kurs porselin, gelas ukur 10mL, gelas ukur (iwaki) 50mL, cawan porselin, gelas ukur (iwaki) 100mL, tabung reaksi (iwaki), pipet tetes, timbangan analitik (Mettler Toledo), beaker glass (iwaki) 100mL, beaker glass (iwaki) 500mL, beaker glass (iwaki) 1L, pH meter, batang pengaduk, erlemeyer (iwaki) 250mL, objek glass (Onelab), cawan petri, blender (Philips), oven (Memmert UN55), hotplate (Thermo), mikroskop, tanur, rotary evaporator (R-3 Buchi), labu tentukur (iwaki) 100mL, labu tentukur (iwaki) 10mL, labu tentukur (iwaki) 50mL, aluminium, *Particle Size Analyer* (Fritsch), Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1700), *ultrasonic homogenizer* (Biostellar Ultrasonic Cell Disrupter) dan wadah 100gr.

## Pengumpulan dan Pembuatan Sampel

### **Pengumpulan Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bonggol nanas (*Ananas comosus* (L.) merr). Sampel diperoleh dari pedagang rujak di Jalan Makamah Kolam Sri Deli, Kecamatan Medan Kota, Sumatera Utara. Metode pengambilan sampel yaitu dengan cara *purposive*. Sampel diambil dari satu wilayah saja dan tidak dibandingkan dengan wilayah lain.

### **Pembuatan Serbuk Simplisia Bonggol Nanas**

Bonggol nanas (*Ananas comosus* (L.)Merr) masing-masing dicuci dengan air mengalir, ditiriskan, dipotong kecil kecil dan ditimbang sebagai berat basah. Kemudian dikeringkan di dalam oven pada suhu 40-50°C. Kemudian dilakukan sortasi untuk memisahkan kotoran dan benda asing. Bonggol nanas yang telah kering ditimbang dan dihaluskan menggunakan blender. Disimpan ke dalam wadah yang tertutup (Depkes RI, 1979).

## Karakterisasi Simplisia

### **Pemeriksaan Makroskopik**

Pemeriksaan makroskopik dilakukan terhadap bonggol nanas (*Ananas comosus* (L.)Merr) dengan mengamati morfologi luar, ukuran, bentuk, bau dan warnanya (Depkes RI, 1979).

### **Pemeriksaan Mikroskopik**

Pemeriksaan mikroskopik dilakukan terhadap serbuk simplisia bonggol nanas *(Ananas comosus* (L.) Merr) dengan cara sampel serbuk simplisia bonggol nanas diletakkan diatas objek glass, lalu ditetesi dengan kloralhidrat ditutup dengan *cover glass*, setelah itu lakukan viksasi sampai jernih kemudian diamati di bawah mikroskop (Depkes RI, 1979).

### **Penetapan Kadar Air**

Penetapan Kadar air diukur dengan metode azeotropi (distilasi toluena). Peralatan tersebut terdiri dari labu alas bulat 500 mL, alat penampung dan pendingin, pipa penghubung, dan penerima 10 mL.

1. Penjenuhan toluene

Sebanyak 200 mL toluene dan 2 mL *aquadest* dimasukkan ke dalam labu alas bulat, dipasang alat penampung dan pendingin, kemudian didestilasi selama 2 jam. Destilasi dihentikan dan dibiarkan dingin selama 30 menit, kemudian volume air dalam tabung penerima dibaca dengan ketelitian 0,05 mL.

1. Penetapan kadar air simplisia

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia yang telah ditimbang, dimasukkan ke dalam labu alas bulat yang berisi toluen jenuh, lalu dipanaskan hati-hati selama 15 menit. Setelah toluen mendidih, kecepatan tetesan diatur 2 tetes untuk tiap detik sampai sebagian besar air terdestilasi, kemudian kecepatan destilasi dinaikkan sampai 4 tetes tiap detik. Setelah semua air terdestilasi, bagian dalam pendingin dibilas dengan toluen. Destilasi dilanjutkan selama 5 menit, kemudian tabung penerima dibiarkan mendingin pada suhu kamar. Setelah air dan toluen memisah sempurna, volume air dibaca dengan ketelitian 0,05 mL. Selisih kedua volume air yang dibaca sesuai dengan kandungan air yang terdapat dalam bahan yang diperiksa. Kadar air dihitung dalam persen (v/b) (Depkes RI, 1989).

Kadar air = $\frac{(volume air akhir-volume air awal)}{berat simplisia}$ × 100%

### **Penetapan Kadar Sari Larut Dalam Air**

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia dimaserasi dengan 100 mL kloroform P (2,5 mL kloroform dalam 100 mL *aquadest*) selama 24 jam menggunakan labu tersumbat sambil sesekali dikocok selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam dan disaring. 20 mL filtrat diuapkan sampai kering dalam cawan penguap kemudian dipanaskan pada suhu 105˚C dan ditimbang hingga diperoleh bobot tetap. Kadar sari yang larut dalam air dihitung dalam persen terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Depkes RI, 1989).

Kadar Sari Larut Dalam Air = $\frac{Berat sari}{Bobot simplisia}$×FP×100%

### **Penetapan Kadar Sari Larut Dalam Etanol**

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL etanol (96%) dalam labu tersumbat sambil sekali-sekali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Kemudian disaring untuk menghindari penguapan etanol, kemudian diuapkan 20 mL filtrat hingga kering dalam cawan penguap kemudian dipanaskan pada suhu 105˚C hingga diperoleh bobot tetap. Kadar dalam persen sari yang larut dalam etanol 96% dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Depkes RI, 1989).

Kadar Sari Larut Dalam Etanol = $\frac{Berat sari}{Bobot simplisia}$ ×FP×100%

### **Penetapan Kadar Abu Total**

Sebanyak 2 gram serbuk simplisia ditimbang dengan seksama, lalu dimasukkan ke dalam krus porselin yang telah dipijarkan dan ditara (ditimbang sampai bobot tetap) kemudian krus dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, pemijaran dilakukan pada suhu 600˚C selama 3 jam kemudian didinginkan dan ditimbang hingga diperoleh bobot tetap. Kadar abu dihitung tehadap bahan yang telah dikeringkan (Depkes RI, 1989).

Kadar Abu Total = $\frac{Berat Abu}{Bobot simplisia}$ × 100%

### **Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam**

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu total, didinginkan dengan 25 mL asam klorida encer, aduk selama 5 menit, bagian yang tidak larut dalam asam dikumpulkan, disaring melalui kertas saring bebas abu, kemudian dicuci dengan air panas, residu dan kertas saring dipijarkan pada suhu 600˚C selama 3 jam kemudian didinginkan dan ditimbang hingga diperoleh bobot tetap. Kadar abu tidak larut dalam asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Depkes RI, 1989).

Kadar Abu Yang Tidak Larut Asam = $\frac{Berat Abu}{Bobot simplisia}$ × 100%

## Pembuatan Ekstrak Bonggol Nanas

Untuk mendapat ekstrak bonggol nanas dengan menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Serbuk simplisia sebanyak 10 bagian (500g) dimasukkan ke dalam bejana kemudian dituangkan 75 bagian (3750 mL) cairan penyari etanol lalu ditutup sambil diaduk sesekali dan dibiarkan selama 5 hari ampasnya di serkai, dan diperas. Ampasnya kemudian dicuci dengan cairan penyari etanol secukupnya hingga diperoleh 100 bagian (5 Liter) maserat. Maserat kemudian dipindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan ditempat sejuk, terlindung dari cahaya selama 2 hari, dan disaring. Maserat lalu dipekatkan dengan alat rotary evaporator lalu ditimbang (Depkes, 1979).

% rendemen = $\frac{Berat ekstrak kental etanol}{berat simplisia kering}$ x 100%

## Pembuatan Nanoekstrak Bonggol Nanas

Ekstrak bonggol nanas diaduk dengan homogenizer dengan kecepatan 1.700 rpm selama 1 jam. Kemudian dimasukkan ke dalam *ultrasonic homogenizer* selama 1 jam (Halim et al., 2020).

## Pembuatan Larutan Pereaksi

### **Larutan Pereaksi Asam Klorida 2N**

Sebanyak 17 mL asam klorida pekat diencerkan dalam *aquadest* hingga 100 mL (Depkes RI, 1989).

### **Larutan Pereaksi Molish**

Sebanyak 3 gram *alfa-naftol* ditambahkan beberapa tetes etanol kemudian dilarutkan dalam asam nitrat 0,5 N hingga 100 mL (Depkes RI, 1989).

### **Larutan Pereaksi Dragendorf**

Sebanyak 8 g bismut (II) nitrat ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 20 mL asam nitrat pekat. Pada wadah lain ditimbang sebanyak 27,2 gram kalium iodida lalu dilarutkan dalam 50 mL *aquadest*. Kemudian kedua larutan dicampurkan dan didiamkan sampai memisah sempurna. Larutan yang jernih diambil dan diencerkan dengan *aquadest* hingga 100 mL (Depkes RI, 1989).

### **Larutan Pereaksi Mayer**

Sebanyak 1,36 gram raksa (II) klorida, dilarutkan dalam 60 mL *aquadest*, kemudian pada wadah yang lain ditimbang sebanyak 5 gram kalium iodida lalu dilarutkan dalam 10 mL *aquadest*. Kedua larutan dicampurkan dan ditambahkan *aquadest* hingga diperoleh larutan 100 mL (Depkes RI, 1989).

### **Larutan Pereaksi Bouchardat**

Sebanyak 4 gram kalium iodida dilarutkan dalam 20 mL *aquadest*, kemudian ditambahkan sedikit demi sedikit 2 gram iodium dan dicukupkan dengan *aquadest* hingga 100 mL (Depkes RI, 1989).

### **Larutan Pereaksi Liberman-burchard**

Sebanyak 20 bagian asam asetat anhidrat dicampurkan dengan 1 bagian asam sulfat pekat dan 50 bagian kloroform. Larutan pereaksi harus dibuat baru (Harborne, 1987).

### **Larutan Pereaksi Besi (III) Klorida**

Sebanyak 1 gram besi (III) klorida dilarutkan dengan *aquadest* hingga 100 mL (Depkes RI, 1989).

### **Larutan Pereaksi Timbal (II) Asetat 0,4 M**

Sebanyak 15,17 gram timbal (III) asetat dilarutkan dalam *aquadest* bebas karbondioksida hingga 100 mL(Depkes RI, 1989)**.**

## Skrining Fitokimia Ekstrak dan Nanoekstrak Bonggol Nanas

### **Pemeriksaan Saponin**

Ekstrak ditimbang sebanyak 0,5 gram sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan *aquadest* panas sebanyak 10 mL, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik, timbul busa/buih yang mantap tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Ditambahkan 1 tetes larutan asam klorida 2N, bila busa tidak hilang menunjukkan adanya saponin. Perlakuan diulangi terhadap nanoekstrak bonggol nanas (Depkes RI, 1995).

### **Pemeriksaan Tanin**

Ekstrak ditimbang 0,5 gram sampel disari dengan 10 mL *aquadest*, lalu filtratnya diencerkan dengan *aquadest* sampai tidak berwarna. Diambil 2 mL larutan lalu ditambahkan 1 sampai 2 tetes pereaksi besi (III) klorida. Terjadinya warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tannin. Perlakuan diulangi terhadap nanoekstrak bonggol nanas (Depkes RI, 1995)**.**

### **Pemeriksaan Steroid/Triterpenoid**

Ekstrak ditimbang sebanyak 1gram sampel dimaserasi dengan 20 mL *n-*heksana selama 2 jam, lalu disaring. Filtrat diuapkan dalam cawan penguap. Pada sisa ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat. Terjadinya warna ungu menunjukkan adanya triterpenoid atau warna hijau menunjukkan adanya steroid. Perlakuan diulangi terhadap nanoekstrak bonggol nanas (Depkes RI, 1995).

### **Pemeriksaan Alkaloid**

Ekstrak ditimbang hingga 0,5 gram, kemudian ditambahkan 1 mL asam klorida dan 9 mL aquadest, dipanaskan dalam air selama 2 menit, didinginkan, lalu disaring. Filtratnya digunakan untuk percobaan berikutnya.

1.Diambil 3 tetes filtrat dan tambahkan 2 tetes reagen Mayer. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih atau kuning.

2. Diambil 3 tetes filtrat lalu tambahkan 2 tetes reagen Bouchardat. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat sampai hitam.

3. Diambil 3 tetes filtrat lalu tambahkan 2 tetes reagen Dragendorff. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna merah atau jingga.

Alkaloid dianggap positif jika pengendapan terjadi setidaknya dalam dua atau tiga pengujian.Perlakuan diulangi dengan menggunakan nanoekstrak bonggol nanas (Depkes RI, 1979).

### **Pemeriksaan Flavonoid**

Ekstrak 10 gram ditimbang kemudian ditambahkan 100 mL air panas, didihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas, filtrat yang diperoleh kemudian diambil 5 mL lalu ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat dan 2 mL amil alkohol, dikocok, dan dibiarkan memisah. Flavonoid positif jika terjadi warna merah, kuning jingga pada lapisan amil alcohol. Perlakuan diulangi terhadap nanoekstrak bonggol nanas (Depkes RI, 1995).

### **Pemeriksaan Glikosida**

Ekstrak ditimbang sebanyak 3 g, kemudian disari dengan 30 mL campuran 7 mL bagian etanol 96% dan 3 bagian *aquadest* ditambah dengan 10 mL HCL 2N. Direfluks selama 30 menit, didinginkan dan disaring. Diambil 20 mL filtrat ditambahkan 25 mL *aquadest* dan 25 mL timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok, lalu didiamkan selama 5 menit dan disaring. Filtrat disari dengan 20 mL campuran 3 bagian kloroform dan 2 bagian isopropanol dilakukan berulang sebanyak tiga kali. Kumpulkan sari air diuapkan pada temperatur tiidak lebih dari 50˚C. Sisanya dilarutkan dalam 2 mL metanol. Kemudian diambil 0,1 mL larutan percobaan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, diuapkan di penangas air. Pada sisa ditambahkan 2 mL air dan 5 tetes pereaksi molish. Kemudian secara perlahan ditambahkan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung, jika terbentuk cincin ungu pada batas kedua cairan menunjukkan adanya glikosida. Perlakuan diulangi terhadap nanoekstrak bonggol nanas (Depkes RI, 1995).

## Karakterisasi Nanoekstrak Bonggol Nanas dan Nanomasker Gel Peel-Off Ekstrak Bonggol Nanas

### **Uji Ukuran Partikel**

Pengukuran nanoekstrak dan nanomasker gel peel-off ekstrak bonggol nanas menggunakan alat *Particle Size Analizer* (PSA) dengan tipe *Dynamic Light Scattering*. Sebanyak 10 mL sediaan diambil lalu dimasukkan ke dalam kuvet yang sebelumnya sudah dibersihkan tujuannya agar tidak mempengaruhi hasil analisis yang diperoleh. Data yang diperoleh adalah ukuran partikel. Adapun syarat mutu yaitu ukuran partikel < 1000nm (Destiyana et al., 2018).

## Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bonggol Nanas

### **Pembuatan Larutan Induk Baku DPPH**

Sebanyak 50 mg serbuk DPPH dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu tentukur 100 mL. Dicukupkan dengan etanol 96% sampai garis tanda. LIB 1 (konsentrasi 500 $µg/mL$ ) (Ridwanto et al., 2022).

### **Pembuatan Larutan Induk Baku II DPPH**

Dipipet 20mL larutan DPPH (konsentrasi 500 $µg/mL$), kemudian dimasukkan kedalam labu tentukur 50 mL, dicukupkan dengan etanol 96% sampai tanda batas (konsentrasi 200 $µg/mL$) (Ridwanto et al., 2022).

### **Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH**

Larutan DPPH konsentrasi 200 µg/mL, dipipet sebanyak 2 mL dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL, dicukupkan dengan etanol 96% sampai garis tanda, diperoleh larutan DPPH konsentrasi 40 µg/mL, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400-800 nm, sehingga diperoleh absorbansi maksium sebagai panjang gelombang maksimum DPPH (Ridwanto et al., 2022).

### **Pembuatan Larutan Induk Baku Sampel**

Ekstrak ditimbang sebanyak 50 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu terukur 50 mL. dilarutkan dengan etanol 96% lalu volumenya dicukupkan dengan etanol 96% sampai garis tanda (konsentrasi 1000 µg/mL) (Ridwanto et al., 2022).

### **Penentuan *Operating Time***

Sebanyak 2 mL larutan DPPH (dari larutan konsentrasi 200 µg/mL), dimasukkan dalam labu tentukur 10 mL, dicukupkan volumenya hingga garis tanda, diperoleh larutan DPPH konsentrasi 40 µg/mL. Lalu diukur absorbansinya dengan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Ridwanto et al., 2022).

### **Pengukuran Absorbansi Sampel**

Dipipet larutan ekstrak etanol 96% (dari konsentrasi 1000 µg/mL) masing-masing sebanyak 0,005; 0,05 dan 0,5 mL, dan dipipet larutan ekstrak etanol 96% (dari konsentrasi 100.000 µg/mL ) masing-masing sebanyak 0,05 dan 0,5mL masing- masing dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 mL, dan ditambahkan dengan 1 mL larutan DPPH (dari larutan konsentrasi 40 µg/mL), lalu volumenya dicukupkan dengan larutan etanol 96% sampai garis tanda, maka diperoleh larutan ekstrak konsentrasi 1; 10; 100; 1000 dan 10000 µg/mL.

Selanjutnya didiamkan beberapa menit, diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Perlakuan diulangi sampai 3 kali, sehingga diperoleh data absorbansi dari campuran DPPH dengan ekstrak bonggol nanas dengan berbagai konsentrasi.

### **Pembuatan Larutan Pembanding Vitamin C**

Ditimbang vitamin C sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan etanol 96% 100 mL, diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 100 ppm. Dari larutan stok masing-masing dipipet 0,05; 0,1; 0,15; 0,2 dan 0,25 mL, kemudian ditambahkan 1 mL larutan DPPH dan dicukupkan volumenya dengan etanol 96% sampai 5 mL sehingga diperoleh konsentrasi vitamin C 1,2,3,4 dan 5 µg/mL, campuran tersebut dikocok dan didiamkan beberapa menit, diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Perlakuan diulangi sampai 3 kali, sehingga diperoleh data absorbansi dari campuran DPPH dengan vitamin c dengan berbagai konsentrasi (Ridwanto et al., 2022).

### **Penentuan Persen Perendaman (% inhibisi)**

Kemampuan antioksidan diperhitungkan dari angka penurunan serapan larutan DPPH (peredaman/penurunan warna ungu DPPH) akibat adanya penambahan larutan ekstrak sebagai bahan uji. Perbedaan nilai serapan larutan DPPH sebelum dan sesudah penambahan larutan uji dihitung sebagai persen peredaman dengan rumus :

%inhibisi = $\frac{A\_{blanko}-A\_{sampel} }{A\_{blanko}}x 100\%$

Keterangan:

$A\_{blanko}$ : Absorbansi pada DPPH tanpa sampel

$A\_{sampel}$ : Absorbansi pada DPPH setelah ditambah sampel

### **Penentuan Nilai** $IC\_{50}$

Nilai $IC\_{50}$ merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji (ppm) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50% (mampu menghambat atau meredam proses oksidasi sebesar 50%). Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya. Konsentrasi sampel (g/mL) digunakan sebagai absis (sumbu X) dan nilai persentase redaman (antioksidan) sebagai ordinat (Y) dalam persamaan regresi untuk memasukkan hasil perhitungan. Nilai antioksidan kemudian ditentukan menggunakan persamaan ini dengan menggunakan nilai $IC\_{50}$.

$$y=ax\pm b$$

Keterangan :

y = % inhibisi

a = intersep

b = koefisien regresi

x = konsentrasi uji

Penilaian kekuatan aktivitas antioksidan dilihat dari Nilai $IC\_{50}.$ Nilai $IC\_{50} $atau *inhibition concentration* 50 adalah konsentrasi antioksidan yang mampu meredam radikal bebas sebanyak 50%, dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis linear. Nilai ini diperoleh dari perpotongan garis antara daya hambatan (y) dan sumbu konsentrasi (x), kemudian dimasukkan ke dalam persamaan y = ax + b, dengan y = 50 dan nilai x menunjukkan $IC\_{50}$ ini juga dimuat dalam bentuk kurva.

Tabel 3. 1 Kategori Nilai $IC\_{50}$ Sebagai Antioksidan

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **No** | **Katagori** | **Konsentrasiµg/mL** |
| 1. | Sangat Kuat | < 50 |
| 2. | Kuat | 50 – 100 |
| 3. | Sedang | 101 – 150 |
| 4. | Lemah | >150 |

## Formula Sediaan Masker Gel Peel-Off

Formula yang digunakan pada pembuatan sediaan masker gel dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.2 dibawah ini.

Tabel 3. 2 Formula Sediaan Masker Gel Peel-Off

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Komposisi** | **Kegunaan** | **Formula (gram)**  |
| **F0****(Blanko)** | **F1****(Ekstrak****konvensional)** | **F2****(Nano ekstrak)** | **F3****(Nano sediaan)** |
| **Ekst Bonggol Nanas** | Zat aktif | - | 1 | 0.1 | 0.1 |
| **Polivinil Alkohol** | *Filming agent* | 11 | 11 | 11 | 11 |
| **HPMC** | *Gelling agent* | 2 | 2 | 2 | 2 |
| **Gliserin** | Humektan | 14 | 14 | 14 | 14 |
| **TEA** | *Alkalizing Agent*  | 2 | 2 | 2 | 2 |
| **Propil Paraben** | Pengawet | 0,050 | 0,050 | 0,050 | 0,050 |
| **Metil Paraben** | Pengawet | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |
| **Essens Nanas** | Pewangi | - | 1 tetes | 1 tetes | 1 tetes |
| **Aquadest (ad)** | Pelarut | 100 | 100 | 100 | 100 |

**Keterangan:**

F0 : Blanko (Basis masker gel peel-off)

F1 : Formula masker gel peel-off ekstrak bonggol nanas

F2 : Formula masker gel peel-off nanoekstrak bonggol nanas

F3 : Formula nanomasker gel peel-off ekstrak bonggol nanas

### **3.13.1 Pembuatan Sediaan Masker Gel Peel-Off**

Ditimbang bahan basis masker gel, kemudian diatas hot plate, dalam beaker glass dimasukkan aquadest dan PVA aduk, lalu masukkan secara bertahap HPMC, gliserin, TEA, propil paraben, metil paraben, aduk hingga homogen, lalu dimasukkan ekstrak dan nanoekstrak bonggol nanas, aduk hingga homogen, setelah homogen, masukan sisa aquadest dan di tambahkan 100gr simpan diwadah sebagai basis masker gel.

### **3.13.2 Pembuatan Nanomasker Gel Peel-Off**

Ditimbang bahan basis masker gel, kemudian diatas hot plate, dalam beaker glass dimasukkan aquadest dan PVA aduk, lalu masukkan secara bertahap HPMC, gliserin, TEA, propil paraben, metil paraben, aduk hingga homogen, lalu dimasukkan nanoekstrak bonggol nanas, aduk hingga homogen, setelah homogen, masukan sisa aquadest dan di tambahkan 100gr simpan diwadah sebagai basis masker gel. , lalu di *homogenizer* dengan kecepatan 1.700 rpm selama 1 jam, lalu dimasukkan ke dalam *ultrasonic homogenizer* selama 1 jam, diukur ukuran partikel (Halim et al., 2020).

## Evaluasi Mutu Fisik Sediaan Masker Gel Peel-Off

1. Uji Homogenitas

Pemeriksaan homogenitas dilakukan dengan menggunakan kaca objek. Pengujian ini dilakukan dengan cara menggunakan 2 kaca objek. Sediaan diperiksa homogenitasnya dengan cara dioleskan pada kaca objek dan kemudian diratakan dengan kaca objek lainnya lalu diamati. Pengamatan dilakukan dengan melihat ada tidaknya partikel yang belum tercampur secara homogen (Istiana et al., 2021).

1. Uji Organoleptis

Pada pengamatan ini meliputi warna yang dilakukan secara visual, lalu pengamatan bau degan cara mencium bau dari sediaan, dan pengamatan bentuk dengan melihat bentuk dari sediaan yang telah diperoleh (Destiyana et al., 2018).

1. Uji Waktu Kering

Pengujian waktu kering dilakukan dengan cara mengoleskan berbagai formula ke object glass dan diamati waktu yang diperlukan sediaan untuk mengering, yaitu waktu dari saat mulai dioleskannya masker gel hingga benar-benar terbentuk lapisan yang kering. Pengujian dilakukan secara triplo (Tanjung & Rokaeti, 2020).

1. Uji pH

pH sediaan 4,5-8,0 (SNI 164399-1996) Pengujian pH dilakukan dengan cara mencelupkan pH meter kedalam sediaan masker gel sebanyak 1 gram sediaan dilarutkan dalam air dengan volume 10 mL, kemudian diukur pH menggunakan pH meter (Septiani et al., 2011).

1. Uji Daya Sebar

Rentang daya sebar sediaan pada 5-7cm (SNI 06-2588). Pengujian daya sebar dilakukan dengan cara masker gel ditimbang sebanyak 0,5 gram diletakkan ditengah kaca dan ditimpa dengan pemberat transparan lain (digunakan cawan petri) kemudian didiamkan selama 1 menit dan diukur diameternya (Istiana et al., 2021).

1. Uji Daya Lekat

Sebanyak 0,5 gram sediaan masker gel peel-off diletakkan pada objek glass, kemudian ditutup dengan objek glass yang dihubungkan dengan alat uji daya lekat, kemudian diberi beban sebanyak 500 g dan dibiarkan selama 1 menit. Selanjutnya, angkat beban dari objek glass, pasang stopwatch, dan tarik tuas alat uji daya lekat, kemudian catat waktu pelepasan dari objek glass. Persyaratan daya lekat yang baik untuk sediaan topikal adalah lebih dari 4 detik (Istiana et al., 2021).

## Uji Aktivitas Antioksidan Masker Gel Peel-Off Nanoekstrak Bonggol Nanas

### **3.15.1 Pembuatan Larutan Induk Baku DPPH**

Sebanyak 20 mg serbuk DPPH dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu tentukur 100 mL. Dicukupkan dengan etanol 96% sampai garis tanda. LIB 1 (konsentrasi 200 $µg/mL$ ) (Pogaga et al., 2020).

### **3.15.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH**

Larutan DPPH konsentrasi 200 µg/mL, dipipet sebanyak 2 mL dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL, dicukupkan dengan etanol 96% sampai garis tanda, diperoleh larutan DPPH konsentrasi 40 µg/mL, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400-800 nm, sehingga diperoleh absorbansi maksium sebagai panjang gelombang maksimum DPPH (Ridwanto et al., 2022).

### **Pembuatan Larutan Induk Baku Sampel**

Sampel ditimbang sebanyak 25 mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu terukur 25 mL. dilarutkan dengan etanol 96% lalu volumenya dicukupkan dengan etanol 96% sampai garis tanda (konsentrasi 1000 µg/mL) (Pogaga et al., 2020).

### **Pengukuran Absorbansi Sampel**

Dipipet larutan sampel (dari konsentrasi 1000 µg/mL) masing-masing sebanyak 0,25; 0,5; 0,75; 1 dan 1,25 mL, masing- masing dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 mL, lalu volumenya dicukupkan dengan larutan etanol 96% sampai garis tanda, maka diperoleh larutan sampel konsentrasi 50; 100; 150.; 200 dan 250 µg/mL.

Kemudian dipipet larutan sampel sebanyak 2 mL dan ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan DPPH sebanyak 2 mL, kemudian ditutup menggunakan *aluminium foil*. Selanjutnya divortex dan didiamkan beberapa menit, kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm dan dihitung presentase inhibisinya (Pogaga et al., 2020).

## 3.16 Uji Aktivitas Anti-aging Masker Gel Peel-Off Ekstrak Bonggol Nanas

Pengujian aktivitas *anti-aging* dilakukan terhadap sukarelawan sebanyak 6 orang yang dibagi kedalam 2 perlakuan. Setiap perlakuan ada 1 orang sukarelawan, masing-masing sukarelawan mendapatkan 1 formula masker gel peel-off yang terbaik pada punggung tangan kiri, sedangkan untuk punggung tangan kanan diberikan pembanding yaitu masker gel peel-off yang beredar dipasaran.

Semua sukarelawan diukur kondisi awal kulit punggung tangan meliputi: kadar air (*moisture*), elastisitas (*elasticity*), warna kulit (*pigment*) dengan menggunakan alat *skin analyzer*. Setelah diukur kondisi awal kulit, kemudian masker gel peel-off mulai dioleskan secara merata pada area punggung tangan kiri. Formula yang terbaik diberikan kepada 6 orang sukarelawan pada punggung tangan kiri. Lalu dioleskan pembanding masker gel peel-off yang beredar dipasaran yaitu merk mustika ratu pada punggung tangan kanan sukarelawan. Kemudian dioleskan secara pengolesan dilakukan sebanyak dua kali sehari yaitu pada pagi dan malam hari sebelum tidur. Pengolesan ini dilakukan setiap hari selama 3 minggu. Perubahan kondisi kulit diukur pada kondisi awal, minggu pertama, minggu ke-2 dan minggu ke-3 dengan menggunakan alat *skin* analyzer. Bandingkan kondisi kulit pada masing-masing sukarelawan (Sakinah, 2023).

## 3.17 Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah analisa dengan menggunakan metode statistik program SPSS (*Statistical Product and Service Solution)* dengan menggunakan metode *One Way Anova* atau Analisis Varian Satu Jalur (Anava Satu Jalur)