

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis desain penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh perbandingan komposisi CMC-Na dan karbopol terhadap sifat fisik gel ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.).

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi, Prodi Farmasi (S-1), Fakultas Kesehatan, Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta. Waktu penelitian dari bulan Juni hingga bulan Agustus 2025.

C. Sampel Penelitian

Sampel dari penelitian ini adalah bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang diperoleh dari budidaya petani bunga rosella di dusun Kerajan 1, RT 02/RW 01, Kiyudan, Majaksingi, Kecamatan Borobudur, Kabupaten Magelang, Jawa Tengah, terletak di ketinggian 265 mdpL. Titik kordinat lokasi adalah 7°36' 28" LS dan 110° 12'13" BT.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas meliputi perbandingan komposisi *gelling agent* CMC-Na dan karbopol.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat meliputi pH, daya sebar, daya lekat dan viskositas.

3. Variabel Terkendali

Variabel terkendali mencakup suhu pengeringan bunga rosella, pelarut maserasi, waktu maserasi, suhu penguapan ekstrak, lama pengadukan maserasi, suhu

pemanasan CMC-Na dan karbopol dan kecepatan *magnetic stirrer* yang digunakan saat pembuatan gel.

E. Definisi Operasional

1. Ekstrak bunga rosella didapatkan melalui proses maserasi menggunakan pelarut etanol 70%.
2. Gel ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan sediaan gel yang diperoleh dari kombinasi CMC-Na dan karbopol sebagai *gelling agent* dengan zat aktif ekstrak bunga rosella.
3. Sifat fisik gel ekstrak bunga rosella yaitu organoleptik, pH, daya sebar, daya lekat dan viskositas.

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Dalam penelitian ini, alat yang digunakan adalah oven, *hotplate* (IKA®C-MAG HS 7), kompor listrik (Maspion S-301), grinder (Fomac), bejana maserasi (DLX glass), wajan stainless steel (Asta homeware), viskometer Brookfield tipe DV-E, alat uji daya lekat, neraca analitik (Ohaus), pH-meter (Hanna), toples kaca, tabung reaksi (Iwaki), cawan porselin, pot plastik, *magnetic stirrer bar*, spatula, saringan, ayakan mesh 40, pipet tetes, corong (Pyrex), kain mori, thermometer, jangka sorong, kaca objek dan alat-alat gelas laboratorium (Iwaki).

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah bunga rosella, karbopol 940 (farmasetis), CMC-Na (teknis), trietanolamin (teknis), propilen glikol (teknis), metil paraben (teknis), akuades (teknis), etanol 70% (teknis), HCl (p.a), magnesium (p.a), Dragendroff (reagen), Mayer (reagen), Wagner (reagen), FeCl₃ (p.a), kertas saring (teknis).

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Pengambilan bahan

Pemanenan bunga rosella dilakukan setiap hari sekali di pukul 06.00-08.00 WIB agar senyawa flavonoid tidak hilang. Bunga rosella dipanen usia 5-6 bulan setelah panen kemudian yang dipilih adalah berwarna merah tua, berukuran besar. Bunga rosella yang sehat ditunjukkan dengan tidak adanya kerusakan pada bentuk bunga. Kemudian dicuci menggunakan air untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Selanjutnya bunga rosella dikeringkan dengan diangin-anginkan agar kadar air berkurang. Sebanyak 6 kg bunga rosella dilakukan proses pengeringan menggunakan oven selama 48 jam dengan suhu 50°C untuk mendapatkan simplisia bunga rosella yang kering (Sam *et al.*, 2016).

2. Determinasi tanaman

Pada penelitian ini dilakukan proses determinasi pada tanaman dan bunga rosella untuk memastikan taksonomi dari bunga rosella yang diperoleh dari tempat budidaya di daerah Magelang. Determinasi dilaksanakan di Laboratorium Pembelajaran Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Terapan, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta. Determinasi dilakukan dengan tujuan mengidentifikasi tanaman yang diteliti serta menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama penelitian.

3. Penyiapan sampel

a. Pengolahan sampel

Bunga rosella yang telah melalui proses pengeringan kemudian dihaluskan menggunakan grinder dan diayak dengan ayakan *mesh* 40 hingga diperoleh serbuk simplisia agak kasar. Penghalusan simplisia bertujuan untuk memperluas permukaan pelarut sehingga proses penarikan senyawa dari simplisia lebih efektif. Selanjutnya serbuk simplisia disimpan pada toples

kaca dan ditutup rapat untuk menjaga kualitasnya sebelum akan digunakan proses maserasi (Cahya *et al.*, 2021).

b. Ekstraksi bunga rosella

Ekstraksi dengan metode maserasi dipilih karena cara penyaringannya sederhana dan tidak merusak zat aktif akibat suhu pemanasan yang tinggi. Maserasi dilakukan dengan merendam 500 g serbuk bunga rosella dalam 5 L pelarut etanol 70% (1:10) yang ditutup rapat wadah kaca lalu dibiarkan selama 3 hari disimpan pada tempat gelap yang terhindar dari cahaya kemudian diaduk setiap 6 jam sekali selama 5 menit. Tujuan dari pengadukan secara berkala adalah mencegah terjadinya penjenuhan sehingga proses ekstraksi lebih sempurna. Selanjutnya memisahkan ampas dan filtrat dengan proses penyaringan 2 kali menggunakan kain mori dan kertas saring. Ampas tersebut diremaserasi menggunakan 2,5 L etanol 70% (1:5) hingga terendam semua sampel. Didiamkan selama 2 hari pada wadah yang tertutup rapat sambil dilakukan pengadukan sesekali. Filtrat dan maserasi digabung kemudian dikentalkan diatas kompor listrik menggunakan wajan pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental kemudian dihitung rendemennya (Sari & Klau, 2020). Rendemen ekstrak dihitung dengan rumus pada persamaan 1.

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak kental (g)}}{\text{Bobot serbuk simplisia (g)}} \times 100\% \dots \dots \dots (1)$$

4. Karakterisasi ekstrak etanol bunga rosella

a. Uji organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan pengamatan menggunakan panca indera atau secara visual antara lain warna, bentuk, dan aroma dari ekstrak bunga rosella (Nafisa *et al.*, 2021).

b. Penetapan *moisture content*

Diambil sebanyak 2 g ekstrak bunga rosella dan diratakan ke dalam *moisture analyzer*. Hasil pengukuran kadar air yang diperoleh dicatat dimana syarat kadar air baik adalah <10% (Sari & Aryantini, 2021).

c. Skrining fitokimia

1. Identifikasi flavonoid

Ekstrak etanol bunga rosella ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian ditambahkan dengan 2 ml etanol 70%. Selanjutnya ditambahkan sedikit serbuk magnesium dan dikocok hingga semua bahan tercampur rata. Setelah itu ditambahkan 4-5 tetes HCl 2 N lalu dikocok kembali hingga merata. Terbentuknya endapan yang berwarna hitam kemerahan atau merah tua menandakan hasil positif flavonoid (Oktapiya *et al.*, 2022).

2. Identifikasi tanin

Identifikasi tanin dilakukan dengan cara ditimbang sebanyak 0,5 g ekstrak bunga rosella. Dilarutkan dalam 5 mL air panas lalu dikocok ditambahkan sebanyak 2-3 tetes FeCl₃ 1%, lalu diamati perubahan warna biru tua atau hitam, maka positif mengandung tanin (Oktapiya *et al.*, 2022).

3. Identifikasi alkaloid

Alkaloid dapat diidentifikasi dengan cara ditimbang 0,5 gram ekstrak bunga rosella dan ditambahkan 10 ml HCl 2 N. Sampel dipanaskan selama 30 menit, kemudian didinginkan dan disaring untuk memperoleh filtrat. Filtrat yang dihasilkan dibagi menjadi 3 bagian lalu ditampung dalam 3 tabung reaksi.

a. Pada tabung pertama filtrat (2ml) ditambahkan 2 tetes pereaksi dragendrof, ekstrak mengandung alkaloid apabila terbentuk endapan berwarna merah jingga.

- b. Pada tabung kedua filtrat (2ml) ditambahkan 2 tetes pereaksi reagen mayer. Hasil positif alkaloid apabila terjadi endapan putih.
- c. Pada tabung ke tiga filtrat (2ml) ditambahkan 2 tetes reaksi wagner dan jika muncul endapan berwarna merah kecoklatan sampai hitam maka mengandung alkaloid.

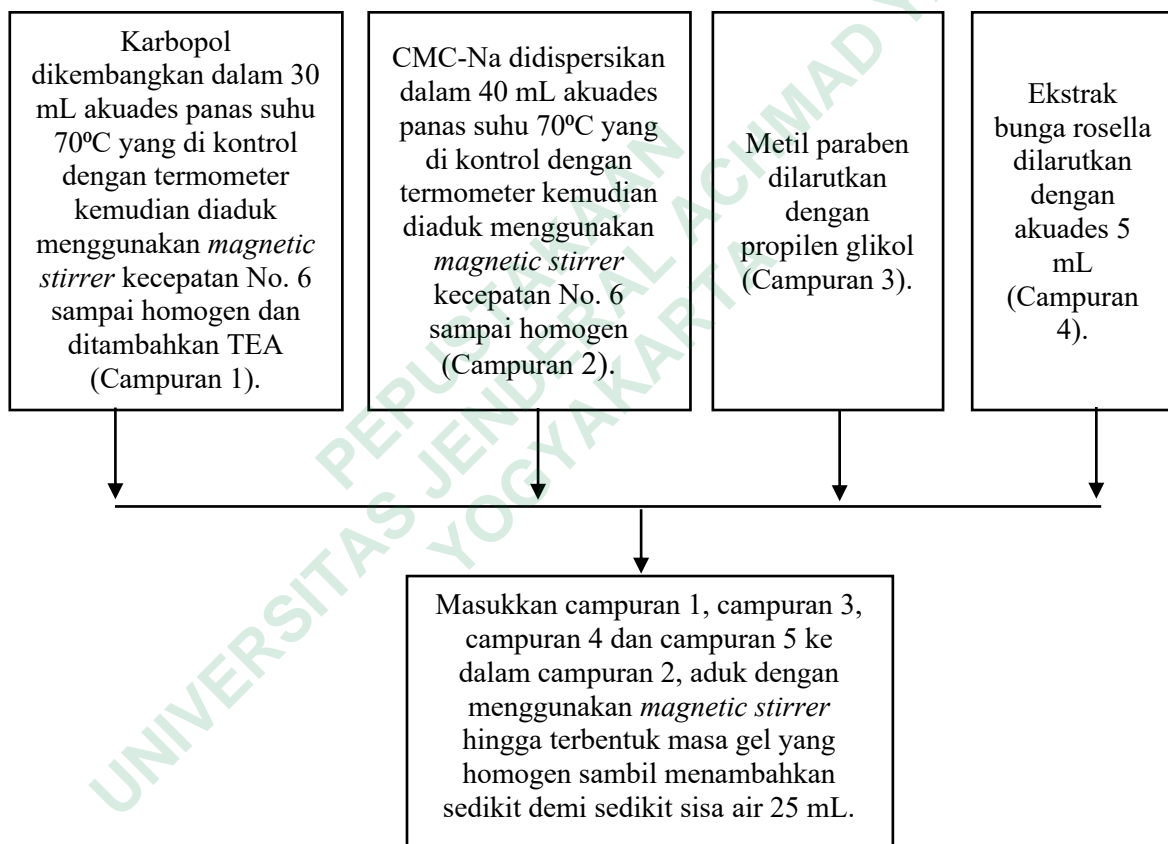
Sampel ekstrak bunga rosella dinyatakan positif menunjukkan senyawa alkaloid apabila minimal terjadi reaksi pembentukan endapan pada dua reagen dari tiga reagen yang dipergunakan dalam pengujian (Oktapiya *et al.*, 2022).

5. Formulasi gel ekstrak bunga rosella

Penelitian ini menggunakan formula gel yang dikembangkan oleh Santoso *et al.*, (2022) dan penggunaan ekstrak bunga rosella mengacu pada Tambunan *et al.*, (2018) ekstrak bunga rosella sebagai zat aktif dan variasi CMC-Na dan karbopol sebagai basis gel. Menurut Sheskey *et al.*, (2017) CMC-Na berfungsi sebagai *gelling agent* pada konsentrasi 3-6% dan karbopol 0,5-2,0%. Pada penelitian yang dilakukan oleh Santoso *et al.*, (2022) sebelumnya melakukan kombinasi *gelling agent* dengan jumlah sebesar 5%, hasil tersebut menyatakan formula terbaik yaitu dengan kombinasi 4% CMC-Na dan 1% karbopol. Berdasarkan acuan formula diatas maka modifikasi dengan penambahan kontrol basis tunggal berupa CMC-Na 5% dan karbopol 5% dalam formula pembuatan gel ekstrak bunga rosella dapat dilihat pada Tabel 2. Bobot ekstrak bunga rosella yang digunakan dalam setiap formula adalah 6 g. Nilai ini diperoleh berdasarkan pada hasil penelitian Adriana & Azisah, (2020) yang menunjukkan bahwa ekstrak bunga rosella dengan konsentrasi 6% menghasilkan diameter hambatan sebesar $16,02 \pm 17,02$ mm. Nilai tersebut termasuk dalam katagori kuat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel 2. komposisi formula gel ekstrak bunga rosella

Bahan	Konsentrasi (%b/b)					Fungsi
	F1	F2	F3	F4	F5	
Ekstrak bunga rosella	6	6	6	6	6	Bahan Aktif
CMC-Na	5	4	3,5	3	0	Basis Gel
Karbopol	0	1	1,5	2	5	Basis Gel
Trietanolamin (TEA)	1	1	1	1	1	Pengalkali
Propilen glikol	15	15	15	15	15	Humektan
Metil Paraben	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	Pengawet
Akuades	100	100	100	100	100	Pelarut



Gambar 9. Cara pembuatan gel ekstrak bunga rosella

6. Evaluasi sediaan gel ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.)

a. Organoleptik

Pengujian organoleptik dilakukan dengan mengamati bentuk, warna, bau dan tekstur gel ekstrak bunga rosella secara visual menggunakan panca indra (Wahidah *et al.*, 2024).

b. Homogenitas

Ditimbang sediaan gel ekstrak bunga rosella sebanyak 0,5 g kemudian diletakkan pada kaca objek dan ditutup pada objek yang lain untuk melihat sediaan yang dioleskan homogen atau tidak (Hosni *et al.*, 2023). Sediaan gel ekstrak bunga rosella yang homogen ditandai dengan warna yang merata tidak ada butiran kasar.

c. pH

Ditimbang 1 g sampel gel ekstrak bunga rosella dan dilarutkan dalam 10 ml akuades. Sebelum dilakukan pengukuran pH meter dilakukan kalibrasi terlebih dahulu. pH meter kemudian dimasukkan kedalam sediaan dan nilai pH yang muncul dicatat. pH yang baik sesuai pH kulit wajah yaitu 4,5-6,5 (Hosni *et al.*, 2023).

d. Daya sebar

Diletakkan 0,5 g sediaan gel ekstrak bunga rosella pada permukaan cawan petri, kemudian ditutup dengan cawan petri yang sudah ditimbang, didiamkan selama 1 menit kemudian diameter penyebaran diukur menggunakan jangka sorong dengan sebanyak 3 sisi (diagonal, horizontal dan vertikal). Selanjutnya menambahkan beban diatas cawan petri sebanyak 50, 100, 150 g. Syarat daya sebar gel yang baik yaitu 5-7 cm (Yasir, A *et al.*, 2020).

e. Daya lekat

Ditimbang sebanyak 0,25 g sediaan gel ekstrak bunga rosella diletakkan di atas objek. Kemudian ditutup dengan kaca objek lainnya. Ditambahkan beban 1 kg selama 5 menit diatas kaca objek. Ujung kaca objek

penutup dan kaca objek bagian bawah dikaitkan dengan penjepit pada alat uji daya lekat kemudian dilepaskan beban 80 g hingga kedua objek gelas terlepas. Catat waktu yang dibutuhkan sampai kedua kaca objek terlepas. Standar daya lekat yang baik adalah lebih dari 1 detik (Wahidah *et al.*, 2024).

f. Viskositas

Uji viskositas dilakukan dengan sediaan gel dicelupkan ke dalam alat viskometer Brookfield sampai batas tertentu pada kecepatan 50 rpm dan *spindle* nomor 7. Hasil formula gel yang baik memiliki nilai viskositas antara 3.000-50.000 cP (Wahidah *et al.*, 2024).

H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

Data hasil pengujian sifat fisik gel ekstrak bunga rosella yaitu pH, viskositas, daya sebar, daya lekat dianalisis secara statistik dengan software SPSS statistika versi 30. Tahapan analisis diawali menggunakan metode *Shapiro-Wilk* dengan ketentuan jumlah sampel kurang dari lima puluh. *Shapiro-Wilk* digunakan untuk melakukan uji normalitas, untuk menentukan apakah data terdistribusi normal atau tidak jika diperoleh nilai $p > 0,05$ maka data dianggap normal. Untuk mengetahui homogenitas data dapat menggunakan *Levene's test*. Jika diperoleh nilai $p > 0,05$ maka data dianggap homogen. Uji *one way ANOVA* dilakukan pada data homogen dan berdistribusi normal untuk mengetahui adanya perbedaan pengaruh kombinasi CMC Na dan karbopol antara formula terhadap sifat fisik sediaan gel ekstrak bunga rosella. Data yang tidak memenuhi syarat normalitas atau homogenitas maka digunakan *Kruskal Wallis* untuk membandingkan sifat fisik gel ekstrak bunga rosella.