

## **BAB II**

### **METODE PENELITIAN**

#### **2.1 Objek Penelitian**

Pada objek penelitian ini adalah Formulasi Sediaan Nano Gel dari Kombinasi Ekstrak Daun Rambai laut (*Sonneratia caseolaris* L) dan *Trigona sp* Propolis, serta Aktivitas Antioksidan dengan menggunakan Metode DPPH.

#### **2.2 Alat dan Bahan**

Penelitian ini menggunakan sampel Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris*) dan Propolis *Trigona sp* yang diperoleh dari daerah Kecamatan Sangkulirang Kabupaten Kutai Timur Kalimantan Timur. Bahan lainnya berupa ekstrak daun rambai, ekstrak propolis, carbopol 940, propilen glikol, TEA, Tween 80, PEG 400, minyak zaitun, larutan dpph dan aquadest. Alat yang digunakan adalah alat maserasi, stemper, gelas ukur, beaker glass, timbangan analitik, aluminium foil, batang pengaduk, blender, pipet tetes, kertas saring, Viskometer Brockfield, pH meter, lemari pendingin dan wadah gel.

#### **2.3 Prosedur Penelitian**

##### **2.3.1 Pembuatan Ekstrak Daun Rambai Laut**

Daun rambai laut dibersihkan dari kotoran yang menempel. Dicuci dan dibersihkan dengan air yang mengalir sebanyak 3 kali. Dilap daun hingga kering tidak ada air yang menempel pada daun. Letakkan daun pada wadah untuk dijemur atau dikeringkan dengan cara diangin-anginkan sambil ditutup dengan kain yang bersih, dikeringkan selama 5 hari (sampai daun kering).

Simplisia yang telah kering kemudian dihaluskan. Lalu simplisia yang telah halus dilakukan maserasi dengan etanol 96% sebanyak 600 ml selama 3 kali pengulangan. Proses maserasi ditempatkan pada tempat yang gelap selama 72 jam, 24 jam dan 24 jam (3 x pengulangan) sambil dilakukan proses penyaringan dengan menggunakan kertas saring. Setelah diperoleh hasil maserasi, kemudian di waterbath dengan suhu 60°C hingga etanol menguap dan terbentuk ekstrak.

##### **2.3.2 Pembuatan Ekstrak *Trigona sp* Propolis**

Propolis dibersihkan dari kotoran. Kemudian, dilakukan maserasi dengan menggunakan methanol 70% selama 3 x 24 jam. Setelah itu, disaring hingga diperoleh filtratnya, lalu diuapkan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental.

##### **2.3.3 Rendemen Ekstrak**

Rendemen ekstrak *Sonneratia caseolaris* yang diperoleh melalui proses ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dan pelarut yang digunakan adalah etanol 96%.

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Bobot Total Ekstrak}}{\text{Bobot Total Simplisia}} \times 100$$

##### **2.3.4 Pembuatan Nano Gel Ekstrak Daun Rambai Laut**

Proses yang dilakukan pada tahap ini menggunakan Tween 80 dan PEG 400 sebagai surfaktan dan kosurfaktan dan diolah menjadi nanoemulsi menggunakan metode emulsifikasi alami. Siapkan semua bahan dan homogenkan Tween 80 dan PEG 400 (8:1), kemudian ditambahkan ekstrak daun rambai laut dan propolis dengan perbandingan berbeda-beda, ditambahkan VCO secara bertahap, dan campuran dihomogenisasi dengan pengaduk pada suhu 60°C selama 30 menit. Campuran kemudian ditambahkan aquadest secara bertahap sesuai takarannya dan dihomogenisasi menggunakan *magnetic stirrer* selama 30 menit dengan suhu 60°C (Ariyani & Wulandari, 2020).

### 2.3.5 Formulasi Sediaan Nano Gel

Bahan	FI	FII	FIII	Konsentrasi (%)	Fungsi
Nanoemulsi	1:1	1:2	2:1	-	Zat aktif
Carbopol 940	2	2	2	0,5 - 2	Gelling agent
Propilen glikol	10	10	10	15	Pengawet
TEA	3	3	3	2 - 4	Zat pengemulsi
Aquadest	ad 100	ad 100	ad 100	-	Pelarut

Tabel 1. Formulasi sediaan nano gel ((Shah et al., 2020)

### 2.3.6 Pembuatan Sediaan Nano Gel

Aquadest sebanyak  $\pm 20$  ml dipanaskan ditemperatur  $\pm 75$  °C, lalu Carbopol dikembangkan hingga 15 menit, kemudian nano ekstrak daun rambai laut dan propolis dengan konsentrasi berbeda yang telah dilarutkan dengan air, lalu ditambahkan propilen glikol sedikit demi sedikit sambil terus digerus sampai homogen, ditambah dengan aquadest dan diaduk hingga homogen, kemudian tambahkan trietanolamin gerus sampai terbentuk gel.

### 2.3.7 Evaluasi Sediaan Gel

#### a. Uji Organoleptik

Evaluasi ini mencakup pengecekan bentuk, warna dan bau gel yang dilakukan secara visual. Hal ini bertujuan untuk melihat perubahan yang terjadi pada sediaan gel selama penyimpanan (Setyawan et al., 2023).

#### b. Uji Homogenitas

Hasil sediaan gel yang bagus ditandai dengan tidak terbentuknya partikel-partikel yang terdapat pada setiap formula gel. Sediaan homogen ditandai dengan tidak adanya partikel menggumpal ataupun terbentuk butiran kasar (Iskandar et al., 2021).

#### c. Uji pH

Tahap pertama. Sejumlah 1 gram gel diencerkan hingga 10 mL dengan air suling. Larutan dikeluarkan dan dimasukkan ke dalam pH meter. Proses pengukuran pH dilakukan selama 2 menit. Setelah itu, pH meter dibersihkan dengan air suling. Menurut SNI No.16-4399-1996, nilai pH kulit berkisar antara 4,5 hingga 8,0 (Badan Standarisasi Nasional, 1996).

#### d. Uji Daya Sebar

Timbang 500 mg gel dan letakkan di tengah cawan petri dan diamkan selama 1 menit. Selanjutnya dilakukan pengukuran diameter gel dengan cara mengukur rata-rata panjang beberapa diameter sisinya. Tambahkan 50 mg beban dan didiamkan selama 1 menit. Diameter gel dicatat (Kharisma & Safitri, 2020). Hasil yang baik untuk formulasi gel adalah 5 - 7 cm (berdasarkan standar SNI) (Sayuti, 2015). Semakin mudah menyebar formulasinya, semakin besar kemampuan bahan aktifnya untuk menyebar dan bersentuhan dengan kulit pada area yang lebih luas.

### 2.3.8 Uji PSA (*Particle Size Analyzer*)

Skala partikel sebagai parameter penting dalam pembuatan formulasi nanoemulsi, karena salah satu sifat formulasi nanoemulsi adalah ukuran partikel 1–100 nm. Untuk menentukan ukuran partikel sediaan nanoemulsi, dilakukan pengukuran partikel menggunakan alat PSA (Jusnita & Nasution, 2019). Ukuran partikel formulasi nanoemulsi dapat mempengaruhi laju pelepasan dan penyerapan obat. Semakin kecil partikel yang terbentuk, semakin cepat obat diserap ke dalam tubuh, sehingga meningkatkan efek terapeutik yang diinginkan.

### 2.3.9 Uji Antioksidan

#### a. Penentuan Panjang Gelombang DPPH

Larutan DPPH 0,5 mM dibuat menggunakan metanol p.a. Kemudian, 1 ml larutan DPPH 0,5 mM yang mengandung metanol ditambahkan. Aduk hingga rata dan biarkan dalam ruangan gelap selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum antara 400 dan 700 nm.

#### b. Pengujian Aktivitas Antioksidan Sediaan Nano Gel

Sejumlah ditimbang gel 0,0100 gram, lalu dilarutkan dengan methanol p.a secukupnya, kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 10ml dan ditambahkan metanol p.a hingga batas atau hingga konsentrasinya mencapai 1000 ppm. Dipipet 0,1µl, 0,2 µl, 0,3 µl, 0,4 µl, atau 0,5 µl dari larutan stok dan isi kembali metanol p.a hingga 10 ml. Capai konsentrasi. Larutan dipipet sebanyak 2 ml, kemudian ditambahkan larutan stok DPPH sebanyak 2 ml, diinkubasi selama 30 menit, dan hasil pengukuran dibaca pada panjang gelombang maksimal. Absorbansinya dicatat (Zaky et al., 2021).

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Keterangan:

Absorbansi blanko = Absorbansi tidak mengandung sampel

Absorbansi sampel = Absorbansi sampel