

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2022 sampai bulan April 2022. Penelitian ini meliputi pemeriksaan karakteristik bahan dan penjemuran yang dilakukan di Laboratorium Budidaya Pendidikan Kelautan dan Perikanan, pembuatan ekstrak rumput laut di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO), Skrining fitokimia dan pengujian kualitatif senyawa aktivitas antioksidan serta pembuatan formulasi sediaan masker gel *peel-off* di Laboratorium Sumberdaya Perikanan dan Kelautan Program Studi Pendidikan Kelautan dan Perikanan Kampus Universitas Pendidikan Indonesia di Serang. Uji hedonik, uji daya mengering dan uji iritasi pada formulasi sediaan masker gel *peel-off* dilakukan oleh panelis di tempat tinggal yang berada di sekitar kampus dengan didampingi oleh peneliti.

3.2 Metode dan Desain Penelitian

Penelitian ini mengacu pada pendekatan deskriptif kuantitatif, metode penelitian deskriptif kuantitatif adalah suatu metode yang bertujuan untuk membuat gambar atau deskriptif tentang suatu keadaan secara objektif yang menggunakan angka, mulai dari pengumpulan data, penafsiran terhadap data tersebut serta penampilan dan hasilnya (Arikunto, 2006). Desain penelitian ini adalah kuantitatif dengan menggunakan rancangan penelitian eksperimen. Penelitian dengan pendekatan eksperimen adalah suatu penelitian yang berusaha mencari pengaruh variabel tertentu terhadap variabel yang lain dalam kondisi yang terkontrol secara ketat (Sugiyono, 2011).

Desain eksperimen digunakan ketika ingin menentukan kemungkinan penyebab dan pengaruh variabel bebas dan variabel terikat, variabel bebas mempengaruhi variabel terikat maka dapat dikatakan bahwa variabel bebas menyebabkan atau mempengaruhi variabel terikat (Creswell, 2011).

3.3 Partisipan

Partisipan pada penelitian ini sebagai subjek penelitian yang akan berkontribusi dalam pengujian organoleptik yaitu panelis. Panelis merupakan

orang-orang yang berperan menilai suatu produk dengan menggunakan alat inderanya masing-masing. Panelis dengan kriteria sebagai berikut :

1. 5 Wanita dan 5 Pria sehat secara fisik (tidak ada gejala reaksi gangguan pada kulit).
2. Usia antara 18-25 tahun.
3. Tidak memiliki riwayat atopi dan penyakit kulit lainnya
4. Tidak sedang menggunakan obat yang dapat mengganggu reaksi kulit (steroid, antialergi, imuno).
5. Panelis adalah orang terdekat dan sering berada disekitarnya, sehingga lebih mudah di awasi dan diamati bila ada reaksi yang terjadi pada kulit yang sedang diamati.
6. Panelis menandatangani surat pernyataan setuju akan menjadi panelis pada penelitian ini (Lampiran I).

3.4 Sampel

Sampel adalah himpunan bagian atau sebagian dari suatu populasi. Sampel adalah bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut (Sugiyono, 2010). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel rumput laut (*Eucheuma cottonii*) yang didapat dari pembudidaya desa Lontar, kecamatan Tirtayasa Serang Banten dan sampel rumput laut (*Sargassum polycystum*) berasal dari perairan dangkal Pantai Carita, banten dengan mengambil secara langsung.

3.5 Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian terdiri dari alat yang digunakan untuk mendapatkan data untuk kepentingan penelitian yang dilakukan. Alat, bahan serta instrumen penelitian yang akan digunakan adalah sebagai berikut :

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan adalah pisau, blender, hotplate, panci masak, talenan, tampi pengering, sendok, timbangan digital, baskom besar, baskom kecil, ayakan 60 mesh, tabung reaksi, gelas beaker, labu ukur, oven, pipet tetes, *rotary evaporator*, *vortex*, inkubator, erlenmeyer, rak tabung, spatula, pipet volume dan *bulb*.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah rumput laut (*Eucheuma cottonii*) 160 gr dan rumput laut (*Sargassum polycystum*) 160 gr, polivinil alkohol, gliserin, nipasol, propilen glikol, triethanolamine, aquades, etanol 60 %, N-heksana, methanol, mg powder, HCL 2N, Fe Cl₃, H₂SO₄, Pereaksi Lieberman Burchard, chloroform, pereaksi mayer, pereaksi wagner, pereaksi dragendorff, air hangat, larutan DPPH, vitamin C, alumunium foil dan kertas saring.

3.5 Prosedur Penelitian

3.6.1 Preparasi Sampel

Sampel rumput laut (*Eucheuma cottonii*) dan rumput laut (*Sargassum polycystum*) diambil dari desa Lontar dan Pantai Carita. Sampel rumput laut dikeringkan dibawah sinar matahari dengan ditutupi menggunakan paranet atau plastik sampai rumput laut *Eucheuma cottonii* bertekstur kering karet dan rumput laut *Sargassum polycystum* kering. Kemudian untuk pembuatan bubur rumput laut, 60 gr rumput laut *Eucheuma cottonii* dan *Sargassum polycystum* di haluskan menggunakan blender dengan 4 kali penghalusan lalu dipanaskan menggunakan *hotplate* dan tambahkan aquades sebanyak 200 ml secara bertahap sehingga tekstur rumput laut menjadi bubur.

3.6.2 Ekstraksi

Ekstraksi sampel dilakukan dengan metode maserasi, ditimbang sebanyak 50 g rumput laut kering, kemudian direndam dalam 500 mL etanol 60% selama 2 X 24 jam disimpan dalam wadah yang kedap udara lalu disaring dengan kertas saring Whatman no. 42 sehingga diperoleh filtrat. Maserasi sampel dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 60 % karena memiliki kemampuan menyaring dengan polaritas yang lebar mulai dari senyawa nonpolar sampai dengan polar (Saifudin, 2011).

Proses maserasi dilakukan dengan 1 kali tahapan penyaringan yaitu penyaringan menggunakan kertas saring sehingga diperoleh hasil sampel yang ditampung dalam wadah yang tertutup dan terhindar dari cahaya matahari langsung. Proses maserasi dilakukan sampai diperoleh hasil

maserasi berwarna jernih atau mendekati jernih (Saraswati, 2015). Hasil maserasi yang sudah jernih lalu dipekatkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 45°C sehingga dapat diperoleh ekstrak rumput laut yang kental dengan pelarut etanol 60 % (Noorhamdani *et. al.*, 2012).

Rendemen dari ekstrak kemudian dihitung dengan rumus

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat bahan yang diekstrak}} \times 100$$

3.6.3 Uji Fitokimia

Pengujian fitokimia ini dilakukan dengan beberapa uji diantaranya uji flavonoid, uji alkaloid, uji tanin, uji saponin, uji triterpenoid dan uji kuinon (Harborne, 1996):

1. Flavonoid

Sebanyak 2 ml ekstrak ditambahkan dengan 2 mL n-heksana, kemudian akan muncul 2 lapisan. Tambahkan metanol sebanyak 1 ml, lapisan yang digunakan untuk uji yaitu lapisan bawah. Tambahkan 5 tetes HCL dan 0,5 g serbuk Mg, kemudian kocok kuat-kuat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

2. Saponin

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan 1 ml air hangat sambil dikocok selama 1 menit, lalu ditambahkan 5 tetes HCl 2 N. Bila busa yang terbentuk tetap stabil ± 7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin.

3. Tanin

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan 20 tetes FeCl₃ 1%. Ekstrak positif mengandung fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat.

4. Alkaloid

- Perekasi Wagner : tambahkan ekstrak sebanyak 2 ml, kemudian tambahkan perekasi Wagner sebanyak 5 tetes.

- Pereaksi Dragendorff : tambahkan ekstrak sebanyak 2 ml, kemudian tambahkan pereaksi Dragendorff sebanyak 5 tetes.
- Pereaksi Mayer : tambahkan ekstrak sebanyak 2 ml dan ditambahkan larutan kloroform 2 ml kemudian kocok perlahan. Tambahkan H₂SO₄ sebanyak 5 tetes. Selanjutnya larutan asam dan basa dipisahkan serta larutan basa ditambahkan pereaksi Mayer.

Apabila terbentuk endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid, dengan pereaksi Mayer memberikan endapan berwarna putih, pereaksi Wagner terbentuknya endapan berwarna coklat muda sampai kuning, dan pereaksi Dragendorff memberikan endapan berwarna kuning-merah.

5. Triterpenoid/Steroid

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan sebanyak 1 ml n-heksana dan 5 tetes larutan Lieberman Burchard. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Steroid memberikan warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu.

3.6.4 Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Pengujian aktivitas antioksidan secara kualitatif dilakukan dengan melakukan pengamatan perubahan warna terhadap larutan, diantaranya dengan langkah-langkah sebagai berikut (Molyneux, 2004) :

1. Prinsip Metode Pemerangkapan Radikal Bebas DPPH

Kemampuan sampel uji dalam meredam proses oksidasi radikal bebas DPPH (1,1 *diphenyl-2-picrylhydrazyl*) dalam larutan metanol (sehingga terjadi perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning).

2. Persiapan Larutan Pereaksi

Sebanyak 9,8 mg DPPH ditimbang, kemudian dilarutkan dalam metanol hingga volume 50 ml (konsentrasi 200 ppm).

3. Persiapan Larutan Vitamin C

Larutkan vitamin C sebanyak 0,5 gr dengan etanol p.a. sebanyak 500 ml. Vitamin C digunakan sebagai control positif dalam pengujian aktivitas antioksidan.

4. Pembuatan Larutan Pengenceran Ekstrak Etanol

Pembuatan larutan pengenceran ekstrak etanol *Saragassum polycystum* dengan pengenceran 10 dan pengenceran 100, untuk pengenceran 10 dengan mencampurkan ekstrak sebanyak 0,1 ml dan 0,9 mL etanol p.a. kemudian dalam membuat pengenceran 100 tambahkan ekstrak sebanyak 0,01 ml dan 0,99 mL etanol p.a.

5. Analisis Kualitatif Aktivitas Antioksidan

Dipipet sebanyak 2 mL larutan sampel murni ekstrak etanol *Saragassum polycystum* dan larutan pengenceran ekstrak etanol 10 Xjuga pengenceran 100 ke dalam masing-masing tabung reaksi, kemudian tambahkan 4 ml larutan DPPH sedikit demi sedikit dan amati perubahan warnanya. Adanya antioksidan ditandai dengan warna yang terbentuk dari masing-masing sampel uji adalah warna kuning (Molyneux, 2004).

3.6.5 Formulasi Sediaan Masker Gel *Peel-off*

Masker gel *peel-off* dibuat dalam empat sediaan yaitu sediaan blanko (dasar masker gel *peel-off*) dan sediaan yang mengandung bubuk rumput laut *Eucheuma cottonii* dan *Sargassum polycystum*. Konsentrasi bubuk rumput laut yang digunakan dalam penelitian ini dengan rasio 1:1, 1:2, 2:1, dan 2:2. Formulasi sediaan masker gel *peel-off* dapat dilihat pada tabel 3.2.

Tabel 3.1
Formulasi Standar Masker Gel *Peel-off* (Riegen, 2000)

Nama Bahan	Konsentrasi
R/Polivinil Alkohol	5-10 %
Humektan	2-10 %
Surfaktan	10-30 %
Alkohol	pH 4-7
pH Buffer	q.s.
Pengawet	q.s.
Parfum	q.s.
Pewarna	q.s.
Air Suling	100

Tabel 3.2
Formulasi Masker Gel *Peel-off* Rumput laut
(*Eucheuma cottonii*) dengan Kombinasi Rumput laut (*Sargassum polycystum*)

Bahan	Fungsi	Jumlah (gr)				
		F0	F1	F2	F3	F4
Bubur RL <i>Eucheuma cottonii</i>	Zat Aktif	-	10	10	20	20
Bubur RL <i>Sargassum polycystum</i>	Zat Aktif	-	10	20	10	20
PVA (Polivinil Alkohol)	Pembentuk Film	10	10	10	10	10
CMC (<i>Carboxy Methyl Cellulose</i>)	Pengemulsi/Penstabil	5	5	5	5	5
Gliserin	Pelembab	5	5	5	5	5
Nipasol	Pengawet	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Propilen Glikol	Humektan	3	3	3	3	3
Triethanolamine	pH Buffer	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Etanol 60%	Pelarut	1	1	1	1	1
Aquades	Pelarut	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Add 100	Ad 100

F0 : Blanko (dasar masker gel peel-off tanpa bubur rumput laut)

F1 : Konsentrasi bubur rumput laut *Eucheuma cottonii*
Sargassum polycystum 1:1

F2 : Konsentrasi bubur rumput laut *Eucheuma cottonii*
Sargassum polycystum 1:2

F3 : Konsentrasi bubur rumput laut *Eucheuma cottonii*
Sargassum polycystum 2:1

F4 : Konsentrasi bubur rumput laut *Eucheuma cottonii*
Sargassum polycystum 2:2

Tambahkan PVA dalam air suling, kemudian dipanaskan pada suhu $\pm 80^{\circ}\text{C}$ sambil diaduk hingga konstan membentuk gel. Dilarutkan CMC dalam air suling dingin secukupnya, dilarutkan nipasol dalam aquades panas. Tambahkan massa PVA ke masa CMC, kemudian ditambahkan larutan nipasol, gliserin, propilen glikol, Triethanolamine dan etanol 60 %. Diaduk konstan hingga homogen, setelah itu rumput laut

kering diblender dan tambahkan aquades lalu dipanaskan hingga menjadi bubur rumput laut, kemudian tambahkan kedalam masker gel *peel-off*.

3.6.6 Evaluasi Formulasi Masker Gel *Peel-Off*

1. Uji Daya Mengering

Pengujian waktu sediaan mengering dengan cara mengoleskan sampel masker gel *peel-off* sebanyak 1 g pada kulit punggung tangan/ kulit belakang telinga, kecepatan mengering masker masker gel *peel-off* ditandai dengan pembentukan lapisan film dari masker dan lama mengeringnya sediaan masker dapat dilihat dengan menggunakan *stopwatch* (Pertiwi, 2012).

2. Uji Organoleptik

a. Uji Hedonik

Pengujian hedonik dilakukan untuk mengetahui tingkat kesukaan atau kelayakan suatu prodak agar dapat diterima oleh konsumen. Pengujian menggunakan skala hedonik dan numerik. Adapun parameter yang diuji adalah aroma, warna, tekstur dan kelembapan pada kulit dengan panelis tidak terlatih yang berjumlah 10 orang (Novitasari, 2009). Tabel uji hedonik dapat dilihat pada tabel 3.6.3 dibawah ini :

Tabel 3.3
Format Penilaian Uji Hedonik

Uji Hedonik (Aroma, Warna, Tekstur, Kelembapan Pada Kulit)	Kode Sampel				
	Kode Sampel 1	Kode Sampel 2	Kode Sampel 3	Kode Sampel 4	Kode Sampel 5
Sangat suka					
Suka					
Biasa					
Tidak suka					
Sangat tidak suka					

Penerimaan secara keseluruhan	Kode Sampel				
	Kode Sampel 1	Kode Sampel 2	Kode Sampel 3	Kode Sampel 4	Kode Sampel 5
Sangat suka					
Suka					
Biasa					
Tidak suka					
Sangat tidak suka					

b. Uji Iritasi

Uji iritasi dilakukan secara tertutup untuk mengetahui keamanan penggunaan masker pada kulit wajah dengan cara dioleskan pada kulit di belakang telinga diameter 2,5 cm selama 20-30 menit. Bahan uji terdiri dari formulasi masker gel *peel-off* Rumput laut (*Eucheuma cottonii*) dengan kombinasi Rumput laut (*Sargassum polycystum*) sediaan, selanjutnya masker dihapus serta kulit tempat aplikasi diamati setelah 12 jam. Penilaian iritasi kulit ditentukan oleh panelis dari timbulnya kegatalan, kemerahan, dan ruam pada kulit yang dioleskan formulasi masker. Selama penilaian sukarelawan diperbolehkan membasuh kulit tempat aplikasi dengan menggunakan air tanpa sabun, deterjen atau produk kosmetik (Sukandar, 2006). Jika tidak menimbulkan gejala seperti diatas maka masker aman digunakan pada kulit wajah.

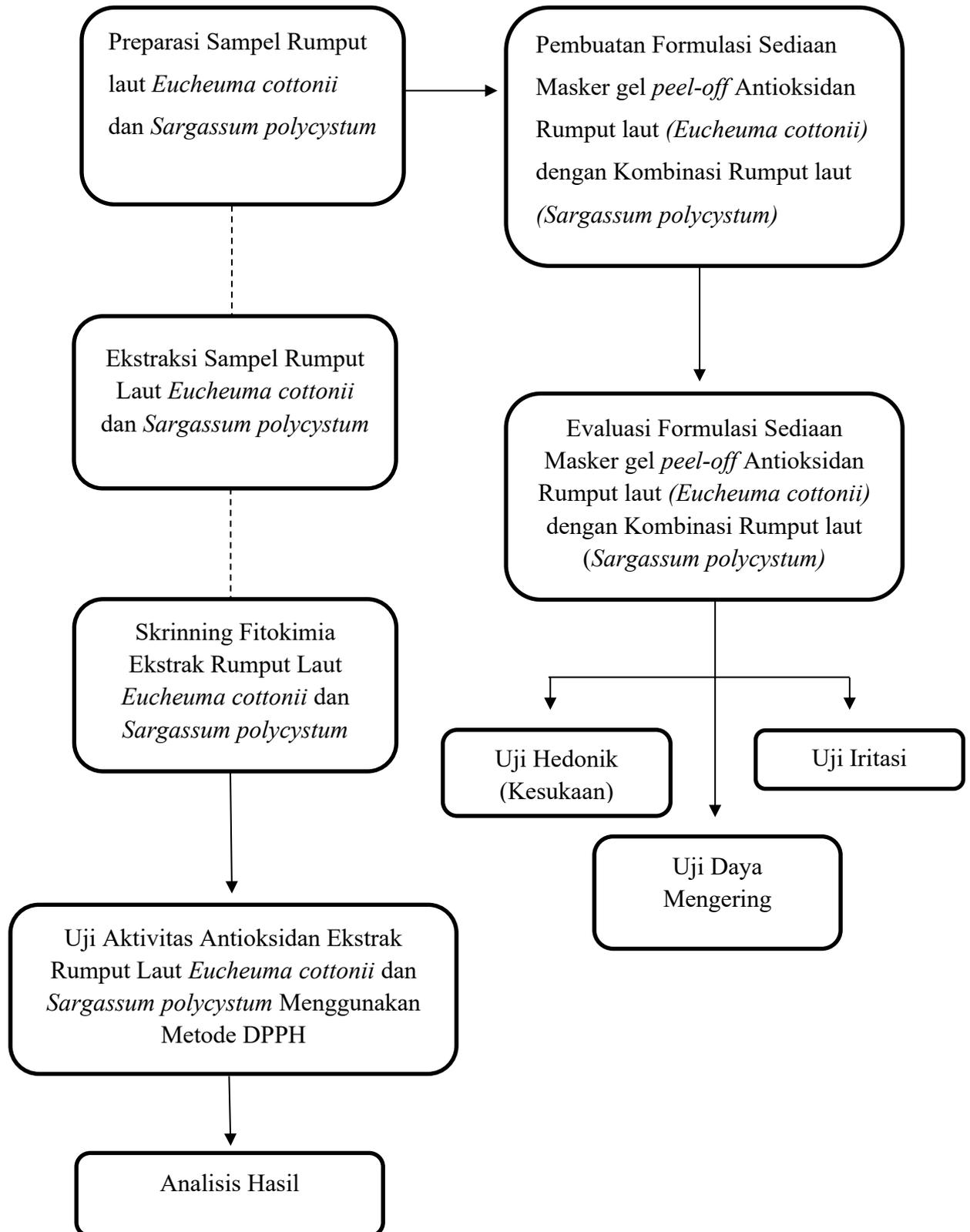
3.6 Analisis Data

Penentuan perbandingan rata-rata formulasi masker rumput Laut *Eucheuma cottonii* dengan kombinasi rumput laut *Sargassum polycystum* terpilih dari hasil analisis uji hedonik menggunakan uji Kolomogrof–Smirnov untuk mengetahui data mempunyai perbedaan signifikan atau tidak dalam setiap perlakuan. Apabila $Asymp.Sig.< 0,05$ yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan dari beberapa kelompok perlakuan maka dilanjutkan dengan uji Post Hoc Duncan untuk menunjukkan analisis data berbeda nyata atau tidak (Santoso, 2013). Analisis dalam pengambilan data

ini adalah mengambil keputusan terbaik dari sejumlah alternatif dengan tujuan menghasilkan perolehan yang optimal.

Tahap akhir adalah perankingan dengan menghitung rata rata dari hasil yang didapatkan dari hasil uji Duncan. Pengambilan keputusan yang optimal akan tercapai bila mempertimbangkan berbagai kriteria. Pemberian perlakuan merupakan kriteria yang perlu dipertimbangkan dalam formulasi masker *Eucheuma cottonii* dengan kombinasi rumput laut *Sargassum polycystum* yang menghasilkan produk yang paling disukai. Dengan uji indeks kinerja didasarkan pada total nilai yang paling tinggi dari setiap perlakuan parameter yang diberikan bobot yaitu karakteristik sensori (aroma, warna, tekstur, kelembapan, dan penilaian secara keseluruhan). Penentuan skor tingkat skor kesukaan dibagi menjadi 5, yaitu (Negara *et al.*, 2016):

1. Sangat suka
Bilamana tingkatan kesukaan panelis dalam mencoba produk dengan tingkat level kesukaan sangat tinggi (dengan skor 5).
2. Suka
Bilamana tingkatan kesukaan panelis dalam mencoba produk dengan tingkat kesukaan tinggi (dengan skor 4).
3. Biasa
Bilamana tingkatan kesukaan panelis dalam mencoba produk dengan tingkat kesukaan sedang (dengan skor 3).
4. Tidak suka
Bilamana tingkatan kesukaan panelis dalam mencoba produk dengan tingkat kesukaan rendah (dengan skor 2).
5. Sangat tidak suka
Bilamana tingkatan kesukaan panelis dalam mencoba produk dengan tingkat kesukaan sangat rendah (dengan skor 1).



Gambar 3.1 Skema Penelitian