

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan yaitu bulan Februari 2024 sampai bulan Mei 2024 di Laboratorium Biologi Farmasi, dan di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi Prodi S1 Universitas Bhamada Slawi.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *ClimeticalChamber*, oven, *furnace*, *moisture balance*, timbangan analitik (HWH DJ203A), Penangas Air, blender (*Philips*), kompor listrik, mortar dan stamper, cawan porselin, beakerglas (*Pyrex*), Erlenmeyer (*Pyrex*), gelas ukur (*Herma*), tabung reaksi (*Pyrex*), corong pisah (*Pyrex*), batang pengaduk, sendok tanduk, spatel logam, kaca objek, plat kaca, lemari pendingin, toples kaca, wadah Balsem, *moisture balance*.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak cocor bebek, parafin liquidum (CV. Kimia Jaya Labora), menthol (CV. Kimia Jaya Labora), oleum menthae (CV. Kimia Jaya Labora) , vaselin album (CV. Kimia Jaya Labora), etanol 96% (CV. Nurul Jaya Medical LabSains), kain lanel, alumunium foil, stik pH, logam Mg, HCl pekat, HCl₂ N, FeCl₃, asam sulfat 2 N, pereaksi mayer, pereaksi dragen

droff, pereaksi wagner, kloroform, pereaksi Liberman buccard, dan aquadest

3.3 Rancangan Penelitian

Variabel Variabel penelitian ini akan menggunakan penelitian eksperimen laboratorium antara lain:

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah untuk mempelajari pengaruh terhadap variabel terikat. Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi basis parafin liquidium.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Variabel terikat dari penelitian ini ialah sifat fisik sediaan balsem meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji Ph, uji daya lekat, uji daya sebar, uji strabilitas, dan uji hedonik.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol adalah variabel yang dibuat konstan, sehingga tidak akan mempengaruhi variabel yang diteliti. Variabel terkontrol dalam penelitian ini ialah tempat pengambilan sampel dan metode pembuatan sediaan balsem.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun cocor bebek dengan kriteria daunnya yang tebal dan Panjang serta permukaan

daun bagian atas terasa halus dan mengkilat dan berwarna hijau muda.

Sampel tersebut diambil dari Desa Bongkok, Kecamatan Kramat, Kabupaten Tegal.

3.4.2 Pengelolaan Sampel

Sampel daun cocor bebek diambil sebanyak 3 kg, kemudian dicuci bersih dengan air mengalir. Daun cocor bebek yang telah dibersihkan kemudian dipotong kecil dan dikeringkan dengan cara dioven dengan 60°C. Daun cocor bebek yang sudah kering, dihaluskan(Qomaliyah *et al.*, 2023).

3.4.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek

Sebanyak 500 gram serbuk daun cocor bebek diambil dan dimasukkan ke dalam wadah ekstraksi. Ekstraksi dilakukan dengan teknik maserasi sederhana, yakni dengan merendam daun cocor bebek menggunakan pelarut etanol 96% 2000 mL (1:10). Wadah ekstraksi ditutup rapat dan disimpan di tempat yang tidak terpapar sinar matahari selama 3 x24 jam, dengan sesekali dilakukan pengadukan. Remaserasi dilakukan selama 2x 24 jam untuk memaksimalkan pengambilan metabolit sekunder dari serbuk daun cocor bebek. Maserat disaring menggunakan kertas saring, kemudian dilanjutkan dengan penguapan pelarut menggunakan rotary evaporator dengan kecepatan 60 rpm pada suhu 60 °C (Qomaliyah *et al.*, 2023).

$$\% \text{ Randemen} = \frac{\text{bobot ekstrak yang didapat (g)}}{\text{bobot sampel yang diekstraksi (g)}} \times 100\%$$

3.4.4 Parameter Ekstrak

3.4.4.1 Susut Pengerinan

Ekstrak ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam kurs porselin tertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditera. Sebelum ditimbang. ekstrak diratakan ke dalam kurs porselin, dengan menggoyangkan kurs hingga membentuk lapisan setebal 5-10 mm. Masukkan ke dalam oven, buka tutupnya. Dinginkan dalam desikator.

$$\% Sp = \frac{(Bobot_{ekstrak})_1 - (Bobot_{Ekstrak})_2}{Bobot_{ekstrak} 2} \times 100\%$$

Keterangan :

(bobot ekstrak) 1 = bobot ekstrak sebelum penetapan

(bobot ekstrak) 2 = bobot setelah penetapan (Depkes RI, 2000).

Persyaratan yang baik untuk susut pengerinan adalah kurang dari 10%, karena susut pengerinan juga mewakili kandungan air yang menguap (Depkes RI, 2000).

3.4.4.2 Kadar Air

Kadar air ditetapkan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Alat yang digunakan sebelumnya ditara terlebih dahulu dengan persisi dan suhu sesuai dengan jumlah ekstrak yang diuji. Ekstrak ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian dimasukkan kedalam alat. Hasilnya kemudian dicatat sebagai

presentasi yang dapat dilihat pada layer *moisture balance* (Putra et al.,2019).

Syarat mutu yang baik yaitu $\leq 10\%$. Ekstrak kental memiliki kadar air antara 5 – 30% (Voight, 1994). Penentuan kadar air juga terkait dengan kemurnian ekstrak. Kadar air yang terlalu tinggi ($> 10\%$) menyebabkan tumbuhnya mikroba yang akan menurunkan stabilitas ekstrak (Utami *et al.*, 2017).

3.4.4.3 Kadar Abu Total

Simplisia dan ekstrak masing-masing sebanyak 2 gram ditimbang dan dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara, pijarkan perlahan-lahan hingga suhu yang menyebabkan senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap sampai tinggal unsur mineral dan anorganik saja yaitu pada suhu $600 \pm 25^\circ\text{C}$, dinginkan dan timbang. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b.

$$\text{Kadar Abu Total} = \frac{x-a}{w} \times 100\%$$

Keterangan :

a: bobot secawan (gram)

w: bobot sampel awal (gram)

x: bobot sampel + abu (gram)

3.4.6 Uji Skrining Fitokimia

1. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 mL ekstrak daun cocor bebek yang telah dilarutkan etanol 70%, kemudian ditambahkan sedikit bubuk logam Mg dan beberapa tetes HCl pekat. Apabila terbentuk warna jingga-kemerahan menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Qomaliyah *et al.*, 2023).

2. Uji Saponin

Ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, air panas sebanyak 10 mL ditambahkan, dinginkan dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Positif mengandung saponin jika terbentuk buih setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit dan pada penambahan 1 tetes HCl₂N, buih tidak hilang (Utami *et al.*, 2017).

3. Uji Tanin

Ekstrak sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan aquadest dan FeCl₃ sebanyak 3 tetes. Jika warna yang dihasilkan biru kehitaman/hijau kehitaman, biru, hijau, dan biru tua menunjukkan positif mengandung tannin (Sylvia *et al.*, 2020).

4. Uji Alkaloid

Ekstrak kental 1 gram dicampurkan dengan 5 ml Hcl 2N . kemudian dipanaskan selama 2 menit dan ditambahkan dengan

pereaksi gragendroff 3 tetes. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna merah jingga hingga merah bata (Handayani *et al.*, 2021).

5. Uji Steroid

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan dengan 3 tetes kloroform dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 10 tetes asam asetat anhidrat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Positif adanya senyawa steroid ditandai dengan Terbentuknya warna merah jingga atau ungu (Qomaliyah *et al.*, 2023).

3.4.7 Formulasi Balsem

Berikut merupakan formulasi yang digunakan untuk membuat sediaan balsem ekstrak etanol daun cocor bebek :

Tabel 3.1 Formulasi Sediaan Balsem

Bahan	Kegunaan	Kosentrasi			Literatur
		F1	F2	F3	
Ekstrak Cocor bebe	Zat aktif	0,033	0,033	0,033	(Alifa & Putri, 2020)
Parafin liquid	Basis	4	8	12	(Rowe <i>et al.</i> , 2009)
Menthol	Aromatik	6	6	6	(Rowe <i>et al.</i> , 2009)
Oleum menthae	Pelarut	6	6	6	(FI III, Hal 456)
Vaselin album	Emolient	ad 40	ad 40	ad 40	(Handayani <i>et.al.</i> , 2023)

3.4.8 Pembuatan Sediaan Balsem

Semua bahan yang sudah disiapkan ditimbang yaitu paraffin liquidum, vaselin album, menthol dan oleum menthae. Dan ekstrak daun cocor bebek. Vaselin album dilebur diatas penangas air. Lumpang dipanaskan lalu dimasukkan parafin liquidum, menthol, oleum menthae dan vaselin album yang telah lebur digerus sampai homogen. Setelah itu dimasukkan ekstrak daun cocor bebek dan diaduk sampai homogen lalu biarkan sampai dingin. Dimasukkan kedalam wadah balsam yang telah tersedia (Handayani *et al.*, 2023).

3.4.9 Evaluasi Sediaan

1. Uji Organoleptis

Pada pengujian organoleptis sediaan balsam ekstrak daun cocor bebek dilakukan dengan cara ditimbang sebanyak 0,5 gram dan diamati bau, warna, bentuk, dan konsistensi/tekstur balsam (Handayani *et al.*, 2023).

2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas ditujukan untuk mengetahui bahwa sediaan yang dibuat bebas dari granul atau butiran-butiran. Pada pengujian sediaan balsam yang telah dibuat dioleskan pada object glass lalu diamati apakah sediaan balsem terdapat bahan yang tercampur dengan baik atau masih terdapat butiran-butiran (Pertwi & Muggi Pangestu, 2020).

3. Uji pH

Larutan uji dibuat dengan cara melarutkan 0,5 gram sediaan dengan aquadest sampai volume 5 mL. Selanjutnya diukur pH larutan uji. Nilai pH larutan uji diharapkan sesuai dengan nilai pH kulit manusia yaitu berkisar antara 4,5-6,5 (Purba *et.al.*, 2020).

4. Uji Daya Sebar

Balsam ditimbang sebanyak 0,5 gram lalu diletakkan ditengah kaca arloji yang berada dalam posisi terbalik. Beri beban pada kaca arloji dengan anak timbangan seberat 100 gram dan ditunggu selama 1 menit, lalu amati perubahan dan ukur diameternya. Nilai daya sebar yang baik untuk sediaan balsem yaitu 5-7 cm (Handayani *et al.*, 2023).

5. Uji Daya Lekat

Uji daya lekat dilakukan dengan menimbang balsem 0,5 gram diatas objek glaas dan diletakkan lagi objek glas yang lain untuk menutupi bagian atas, diletakan beban dengan berat 100 gram diatasnya selama 1 menit. Dipasang objek glass pada alat uji daya lekat balsem dan dilepas beban seberat 80 gram dan dicatat waktunya hingga kedua objek glass terlepas, dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Nilai daya lekat yang baik < 4 detik (Badia et al., 2022).

6. Uji Stabilitas

Uji stabilitas formulasi balsem ekstrak daun cocor bebek dilakukan dengan cara mengamati perubahan fisik sediaan yang

meliputi uji organoleptis. Uji stabilitas dilakukan dengan metode *cycling test*. Sediaan disimpan pada suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam dan kemudian suhu $+ 40^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Pengujian dilakukan selama 6 siklus. Sediaan dikatakan stabil apabila dalam kondisi penyimpanan tidak menunjukkan perubahan sama sekali (Abadi *et al.*, 2022).

7. Uji Hedonik

Pengujian organoleptik dilakukan dengan mengukur tingkat kesukaan panelis terhadap produk dengan menggunakan lembar penilaian (Hermin, 2019). Tingkatan spesifikasi uji hedonik antara lain: 1 = tidak suka, 2 = kurang suka, 3 = suka, 4 = sangat suka. Panelis yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 20 orang. Setiap panelis mendapatkan 3 sampel balsem dan diminta untuk mengoleskan balsem pada bagian kulit. Setelah itu, panelis mengisi penilaiannya pada kuesioner. Adapun uji hedonik bertujuan untuk mengetahui tingkat kesukaan panelis terhadap balsem ekstrak cocor bebek dengan variasi konsentrasi basis *Paraffin liquidium* yang dihasilkan. Uji kesukaan dilakukan dengan cara mengukur, menilai atau menguji mutu komoditas dengan menggunakan indera manusia yaitu penglihatan, penciuman, dan peraba. Uji kesukaan yang dilakukan yaitu dengan cara melihat produk, mencium dengan hidung, dan meraba produk dengan ujung jari kemudian mengolesnya pada tangan (Fajriaty *et al.*, 2018).

3.5 Analisis Data

Analisis data hasil pengujian sediaan balsem meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar, uji daya lekat, uji stabilitas, dan uji hedonik. Data hasil pengujian organoleptis, uji homogenitas akan dipaparkan menggunakan tabel. Uji daya lekat dan uji daya sebar dilakukan uji statistik dengan uji normalitas dan dilanjutkan analisis data menggunakan *independent test*. Data kuantitatif yang diperoleh dari uji pH pada masing-masing formula akan dianalisa dengan metode *One way Analysis of Variant* antara pH terhadap masa waktu penyimpanan menggunakan taraf kepercayaan 95% menggunakan aplikasi IBM SPSS *Statistics*. Sedangkan untuk uji hedonic menggunakan *skala likert*