

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari - Maret 2025 bertempat di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi Program Studi Farmasi Program Sarjana (S-1) di Universitas Bhamada Slawi.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu cawan porselen, timbangan digital (*Fujitsu*), gelas ukir (*pyrex*), tabung reaksi (*pyrex*), mortir dan stamper, pipet tetes, batang pengaduk, sendok tanduk, kertas saring, wadah lip balm, gelas objek, stik pH (*suncare*), *aluminium foil*, corong gelas (*pyrex*), erlenmeyer (*pyrex*), gelas beaker (*pyrex*), mortir dan stamper, *skin analyzer* (CkeyiN Digital Skin Analyzer), *rotary evaporator*.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan antara lain : Ekstrak bunga telang, sari buah jeruk nipis, gliserin, cera alba, nipagin, pewangi anggur, oleum cacao, lanolin, etanol 70%, kertas perkamen, pereaksi mayer, serbuk: FeCl_3 , HCl 2N, H_2SO_4 NaOH 10%, dan aquadest.

3.2.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini dibagi menjadi tiga tahap yaitu: tahap persiapan, tahap pelaksanaan dan tahap akhir dengan variabel sebagai berikut :

1. Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat memengaruhi variabel lain dalam suatu penelitian. Variabel bebas pada penelitian ini yaitu versi konsentrasi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea L*) dan sari buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

2. Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas dan hasilnya diukur dalam penelitian. Variabel terikat pada penelitian ini meliputi uji sifat fisik sediaan, uji organoleptis, uji homogenitas, uji daya sebar, uji daya lekat, uji pH, uji daya oles, uji iritasi, uji kelembaban sediaan *lip balm* ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea L*) kombinasi sari buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

3. Variabel Terkontrol

Variabel terkontrol adalah faktor-faktor yang bisa mempengaruhi hasil penelitian tetapi tidak ingin diukur atau diuji. Variabel terkontrol yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pengambilan sampel, penimbangan bahan, dan metode ekstraksi.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan yaitu ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea L*) yang diperoleh dari Desa Pasar Batang Brebes. Sampel yang kedua yaitu buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang diperoleh dari Desa Pasarbatang Kabupaten Brebes. Kriteria buah jeruk nipis dipilih yang berkualitas baik berwarna hijau kekuningan atau hijau muda , segar, serta memiliki kadar air lebih banyak.

3.3.2 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan dilaboratorium bahan alam Program Studi Farmasi S1 Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Bhamada Slawi. Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian ini.

3.3.3 Pembuatan Ekstrak bunga telang

Bunga telang segar sebanyak 4 kg yang diperoleh dari Desa Pasar Batang Brebes diekstraksi menggunakan metode maserasi. Sebanyak 500 gram bunga telang diremaserasi dengan etanol 70% sebanyak 2L kemudian ditutup dan dibiarkan selama 6 hari terlindung dari cahaya saring kain kasa. Setiap 24 jam sekali dilakukan pengadukan. Setelah itu ekstrak bunga telang

dikumpulkan dipekatkan dengan *rotary evaporator* 50°C selama 1 jam sehingga didapatkan ekstrak kental hal ini bertujuan untuk menguapkan pelarut dan menghasilkan ekstrak pekat bunga telang (Zainedi A *et al.*, 2022).

3.3.4 Pembuatan sari buah jeruk nipis

Sari buah jeruk nipis yang telah ditimbang dan dicuci bersih kemudian dipotong-potong setelah itu jeruk nipis diperas dan disaring menggunakan kain flanel penyaringan sari buah jeruk nipis bertujuan untuk memisahkan serat biji lainnya. Penyaringan dilakukan sebanyak 2 kali penyaringan pertama untuk menghilangkan partikel kasar dan penyaringan kedua untuk menghilangkan partikel yang lebih halus (Berutu *et al.*, 2019).

3.3.5 Uji Parameter Ekstrak

1. Uji Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis dilakukan dengan cara mengamati indera manusia sebagai alat utama untuk pengukuran daya penerimaan terhadap sediaan meliputi bentuk, rasa, warna dan aroma (Maryam *et al.*, 2020).

2. Susut Pengerinan

Susut pengerinan dilakukan untuk mengetahui kadar air senyawa yang terkandung

didalam ekstrak,ditimbang ekstrak bunga telang sebanyak 1 gram dan dimasukkan kedalam botol timbang kemudian timbang bootol yang sebelumnya telah dipijarkan dengan suhu 105°C selama 30 menit hingga diperoleh bobot konstan. Penimbangan dilakukan setelah bobot timbang dan ekstrak dimasukan kedalam desikator selama 15 menit hingga suhu kamar persyaratan pada kadar susut pengeringan <10% (Maryam *et al.*, 2020).

3. Kadar air

Tujuan kadar air adalah untuk mengetahui seberapa banyak air yang ada pada ekstrak. Mengambil 1 gram ekstrak dan menimbanginya dengan hati-hati diatas *alluminium foil* kemudian dimasukan kedalam *moisure analyzer* yang digunakan untuk mengetahui kadar air ekstrak, Kadar air tidak boleh melebihi 10% (Maryam *et al.*, 2020).

4. Kadar abu

Tujuan kadar abu adalah untuk menunjukkan kandungan mineral internal dan eksternal ekstrak, timbang 1 gram ekstrak kemudian dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan. Timbang,

dinginkan, dan pijar hingga arang habis, selanjutnya kadar abu dari bahan yang telah dikeringkan (Maryam *et al.*, 2020).

$$\text{Rumus Kadar abu total} = \frac{w_2 - w_0 \times 100\%}{W_1}$$

Keterangan :

W0: bobot cawan kosong (gram)

W1: bobot cawan awal (gram)

W2: bobot cawan + ekstrak setelah diabukan (gram)

3.3.6 Skrining fitokimia

Ekstrak kental bunga telang dilakukan pengujian skrining fitokimia, Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat dalam ekstrak kental bunga telang. Skrining fitokimia yang dilakukan terhadap bunga telang pada tabung reaksi meliputi uji alkaloid, flavonoid, dan saponin (Purwanto *et al.*, 2022).

1. Uji kandungan Flavonoid

Ambil 1 mL filtrat dan masukkan ke dalam tabung reaksi lakukan pengambilan sampel sebanyak tiga kali dalam tabung reaksi berbeda untuk melakukan uji *Wilstater*, uji *Bate-Smith*, dan uji NaOH 10% berdasarkan penelitian yang dilakukan dengan

modifikasi. Ke dalam tabung pertama uji *Willstatter* saya tambahkan 2-4 tetes HCl dan sesendok batang pengaduk logam Mg. Selanjutnya kocok dengan kuat dan amati perubahan warnanya. Jika sampel berwarna oranye/merah maka sampel mengandung flavonoid. Pada tabung kedua, uji *Batesmith*, tambahkan 2-4 tetes H_2SO_4 pekat dan panaskan dalam penangas air pada suhu 50°C selama 15 menit. Jika warnanya berubah menjadi merah itu adalah sampel mengandung flavonoid. Tambahkan 5-10 tetes larutan NaOH 10% ke dalam dalam tabung reaksi NaOH 10%, kocok kuat-kuat, dan amati perubahan warna yang terjadi (Cahyaningsih *et al.*, 2019).

2. Uji Saponin

1mL filtrat ditampung dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 1-2 tetes HCl 2N dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik diamati ketahanan busa yang menunjukkan adanya senyawa saponin (Cahyaningsih *et al.*, 2019).

3 Uji Alkaloid

Diambil sampel sebanyak 0,1 gram sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan modifikasi. Untuk kedua pengujian tersebut sampel

dengan berat yang sama diambil dua kali dengan 2 tetes pereaksi *Wagner* dan *Dragendorff* pada setiap tabung. Adanya endapan coklat menandakan hasil positif pada uji *Wagner* dan adanya endapan jingga kecoklatan menandakan hasil positif pada uji *Dragendorff* (Cahyaningsih *et al.*, 2019)

3.3.7 Formulasi Sediaan Lip balm

Formulasi sediaan lip balm dibuat dalam 15 gram dengan ekstrak bunga telang sebagai zat aktif dapat dilihat pada table 3.1.

Tabel 2.1 Formulasi sediaan *lip balm* ekstrak bunga telang dan sari jeruk nipis.

Konsentrasi %						
Bahan	F0	F1	F2	F3	Kegunaan	Literatur
Ekstrak Telang	0	10	15	20	Zat aktif	(Budiarti <i>et al.</i> , 2023)
Sari Jeruk Nipis	0	20	15	10	Pelembab	(Diana Maulida, 2022)
Gliserin	5	5	5	5	Humektan	± 30% (Rowe, 2009)
Cera Alba	10	10	10	10	Pengeras	5-20% (Rowe, 2009)
Nipagin	0,3	0,3	0,3	0,3	Pengawet	0,2-0,3 (Rowe, 2009)
Lanolin	10	10	10	10	Emolien	2-10 (Rowe, 2009)
Flavour Grape	q.s	q.s	q.s	q.s	Pewangi	-
Oleum Cacao	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Basis	(Rowe, 2009)

Keterangan :

F0: Formula tanpa ekstrak bunga telang dan sari buah jeruk nipis

F1: Formula dengan konsentrsi bunga telang 10% dan sari jeruk nipis 20%

F2: Formula dengan konsentrasi bunga telang 15% dan sari jeruk nipis 15%

F3: Formula dengan konsentrasi bunga telang 20% dan sari jeruk nipis 10%

3.3.8 Pembuatan sediaan lip balm

Siapkan terlebih dahulu alat dan bahan yang digunakan lalu ditimbang ekstrak bunga telang dan sari jeruk nipis sesuai

dengan formulasi yang dibutuhkan. Kemudian dalam cawan porselen masukan oleum cacao, lanolin dan cera alba. Lalu leburkan diatas penangas air dengan suhu 70°C sambil diaduk,lalu dalam mortir masukkan gliserin lalu digerus tambahkan nipagin dan tambahkan ekstrak bunga telang gerus hingga homogen. tambahkan bahan yang telah dilebur kedalam mortir lalu gerus sampai homogen. Selanjutnya tambahkan sari buah jeruk nipis dan pewangi anggur lalu masukkan kedalam wadah yang telah disiapkan tunggu hingga membentuk massa kemudian diuji sifat fisiknya (Tampubolon 2023).

3.3.9 Uji evaluasi sediaan

Penelitian ini evaluasi terhadap uji sifat fisik sediaan *lip balm* dilakukan melalui beberapa tahap yaitu uji organoleptis, uji homogenitas, uji daya sebar, uji daya lekat, uji pH, uji daya oles, uji iritasi secara *in vivo*, dan uji kelembaban.

1. Uji Organoleptis

Uji ini meliputi pengamatan terhadap perubahan warna, bau ,dan bentuk dari sediaan *lip balm* ekstrak bunga telang kombinasi sari buah jeruk nipis. Selama dilakukan uji stabilitas dicatat visual yang terlihat terjadi perubahan atau tidak, persyaratan uji organoleptik yaitu jika tidak terdapat adanya perubahan padawarna, bau, dan bentuk sediaan (Putri *et al.*, 2023).

2. Uji Homogenitas

Uji ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya butir-butir kasar yang terdapat dalam sediaan yang dilakukan dengan cara mengambil sejumlah sediaan kemudian diletakan dikaca yang transparan sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butir-butir kasar (Putri et al., 2023).

3. Uji Daya Sebar

Sampel sediaan *lip balm* ditimbang sebanyak 0,1 gram diletakkan di atas alat uji daya sebar yang berupa lempengan kaca kemudian tutup dengan kaca pasangannya yang sebelumnya sudah ditimbang dan dibiarkan selama 1 menit diukur diameter penyebaran lip balm dengan cara mengukur dari berbagai sisi dan dihitung rata-ratanya diulang sebanyak 3kali replikasi dengan cara yang sama dengan penambahan beban secara berkala (50 gram, 100 gram, 150 gram, 200 gram) (Putri et al., 2023).

4. Uji Daya Lekat

Uji daya lekat dilakukan dengan menimbang sediaan lip balm 0,5 gram lalu diletakkan pada kaca objek. Kemudian letakkan kaca objek yang lain diatas sediaan sampai melekat dan letakkan beban seberat 1kg selama 1 menit, syarat daya lekat pada *lip balm* yaitu >4 detik semakin lama daya lekatnya

maka efek terapi yang diberikan semakin optimal (Cholis Endriyatno *et al.*, 2024).

5. Uji pH

Uji pH dilakukan untuk mendapatkan nilai pH yang sama atau mendekati pH fisiologis kulit bibir yaitu antara 4,5-6,5. Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang sebelumnya telah dilakukan kalibrasi sampel dibuat dalam konsentrasi 0,1 gram dilarutkan dalam 50 mL aquadest kemudian elektroda dicelupkan dalam larutan tersebut (Putri *et al.*, 2023).

6. Uji Daya Oles

Uji daya oles dilakukan dengan cara mengoleskan sediaan *lip balm* pada punggung tangan. Kemudian diamati sediaan yang telah dioleskan pada punggung tangan, daya oles dapat dikatakan baik jika sediaan *lip balm* merata (Cholis Endriyatno *et al.*, 2024).

7. Uji Iritasi Secara *In-Vivo*

Sediaan *lip balm* dipaparkan di area kulit punggung hewan uji coba kelinci albino (*New Zealand*) area uji pada punggung kelinci $\pm 5 \times 5$ cm. Kemudian lokasi permukaan ditutup dengan kasa dan diplester dosis yang dioleskan sebanyak 0,5 gram, hewan uji harus diamati ada atau tidaknya eritema dan edema. Penilaian respon dilakukan setelah 24 jam, 48 jam, dan 72 jam setelah pembukaan tempelan (untuk

mengetahui apakah sediaan ini bersifat korosif atau iritan) hewan uji yang digunakan adalah kelinci albino jantan atau betina yang sehat dan dewasa dengan berat 2 kg (Bpom 2014).

8. Uji Efektivitas Kelembapan

Uji ini menggunakan 30 panelis pengelompokan dibagi menjadi 4 kelompok 8 orang panelis menggunakan formula F0 6 orang panelis F1 8 orang panelis menggunakan formula F2 8 orang panelis menggunakan formula F3 8 orang panelis menggunakan formula Kriteria inklusi panelis yaitu wanita sehat usia 17-25 tahun tidak memiliki riwayat penyakit yang berhubungan dengan alergi pada kulit dan bersedia menjadi panelis dengan mengisi formulir kesediaan sebagai panelis, pengolesan lip balm dilakukan pada bagian lengan bawah tangan panelis dengan cara mengoleskan sediaan lip balm secara merata, pengolesan dilakukan dua kali sehari selama 3 hari berturut-turut. Pengujian selama 3 hari sudah cukup untuk melihat apakah lip balm bisa melembapkan kulit karena setelah beberapa kali pemakaian kulit langsung merespons dengan meningkatkan kelembapan hal ini sesuai dengan penelitian yang membuktikan bahwa efek pelembap mulai terasa sejak hari pertama hingga ketiga. Pemilihan area lengan bawah didasarkan pada standar pengujian

kelembapan kulit serta minimnya paparan sinar matahari secara langsung, pengamatan hasil dilakukan dengan mengamati langsung perubahan fisik dan menguji kelembapan kulit dengan alat *skin analyzer* (Imani 2022).

3.5 Analisis data

Setelah bahan penelitian diperoleh, dianalisis menggunakan Program SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) ini dilakukan untuk memastikan bahwa hasilnya terdistribusi normal dan homogen. Kemudian untuk mengetahui seberapa efektif kelembaban pada bibir terhadap variasi konsentrasi formula digunakan uji *One Way Anova* yang merupakan *anova* satu arah selanjutnya data dianalisis menggunakan *Kruskal-Wallis Test* untuk mengetahui seberapa efektif kelembaban pada bibir ketika konsentrasi formula berubah-ubah (Desnita *et al.*, 2022).