

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi S1 Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Bhamada Slawi. Waktu yang digunakan dimulai dalam Januari sampai April 2025.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Oven (Gentra), Kain flannel, blender (Philips), gelas ukur (*Pyrex*), beaker glass (*Pyrex*), tabung reaksi (*Pyrex*), Erlenmeyer (*Pyrex*), batang pengaduk, cawan, cetakan *gummy candies*, kertas saring, timbangan analitik (HWT DJ203A), Watterbath, Ayakan 60 mesh mortir dan stamper.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan ekstrak daun pepaya, ekstrak daun kelor, kappa karegenan, konjak glukomanan, kertas saring, alumunium foil, kertas pH, FeCl_3 1%, HCl pekat, Serbuk Mg, etanol 70%, Pereaksi mayer, wagner dan dragendorff, aquadest, alkohol, Asam sitrat, essens strawberry, dan sukrosa (CV. Kimia Jaya Labora).

3.3 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorium untuk mengetahui formulasi sediaan *gummy candies* kombinasi ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L.*) dan daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan variasi *gelling agent* konjak glukomanan dan kappa karagenan.

3.3.1 Variabel Bebas

Variable bebas adalah salah satu variable yang punya pengaruh besar terhadap variable lainnya. Variable bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi *gelling agent* kappa karagenan dan konjak glukomanan.

3.3.2 Variable Terikat

Variable terikat yaitu variable yang menjadi akibat karena adanya variable bebas. Variable terikat dalam penelitian ini adalah hasil evaluasi uji evaluasi meliputi organoleptik, keseragaman bobot, uji pH, uji kadar air, uji kekenyalan, uji hedonik, dan uji stabilitas.

3.3.3 Variable Kontrol

Variable terkendali adalah variable yang dibuat konstan, sehingga tidak akan mempengaruhi variable yang diteliti. Variable terkendali dalam penelitian ini yaitu pengambilan sampel dan maserasi dari ekstrak.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pengambilan Sampel

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah daun pepaya (*Carica papaya L.*) dan daun kelor (*Moringa oleifera Lam*) yang diambil dari Desa Pasarbatang Kecamatan Brebes.

3.4.2 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan digunakan pada penelitian. Determinasi tanaman

dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Farmasi Program Studi Farmasi S1 Universitas Bhamada Slawi.

3.4.3 Pembuatan Simplisia Daun Pepaya Dan Daun Kelor

Sampel daun pepaya 3,5 kg dan daun kelor 4 kg yang telah dikumpulkan kemudian dicuci dengan air mengalir sampai bersih untuk memisahkan kotorannya. Setelah itu, daun pepaya dan daun kelor dipotong kecil-kecil dan dilakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu 50°C sampai kering. Kemudian kedua simplisia kering daun pepaya dan daun kelor dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk halus.

3.4.4 Pembuatan Ekstrak Daun Pepaya Dan Daun Kelor

Pembuatan ekstrak daun pepaya dan daun kelor ditimbang daun pepaya dan daun kelor sebanyak 400gr di ekstraksi menggunakan metode maserasi dimasukkan kedalam toples kaca untuk dilakukan maserasi setelah itu, diambahkan pelarut etanol 70% sampai 2000 ml perbandingan 1:5 sampai terendam semua, perendaman simplisia dilakukan pengadukan selama 3 hari. Kemudian dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan antara cairan dan filtrat. Filtrat setelah itu diuapkan menggunakan alat waterbath hingga diperoleh ekstrak kental.

3.4.5 Standarisasi Ekstrak

1. Uji Organoleptik

Uji sifat fisik dilakukan subyektif dengan pengenalan secara fisik menggunakan panca indera meliputi warna, rasa, aroma, dan tekstur (Khairunnisa *et al.*, 2024).

2. Kadar Abu Total

Timbang dengan teliti 2 hingga 3 gram sampel uji yang telah dihaluskan, lalu masukkan ke dalam krus silikat yang sudah dipijarkan dan ditera. Pijarkan perlahan hingga seluruh arang habis, kemudian dinginkan dan timbang.

Jika arang tidak dapat dihilangkan dengan cara tersebut, tambahkan air panas, aduk, dan saring menggunakan kertas saring bebas abu. Pijarkan kertas saring beserta residu saringannya dalam krus yang sama. Tuangkan filtrat ke dalam krus, uapkan, lalu pijarkan hingga mencapai bobot tetap pada suhu 800 ± 25 °C. Total kadar abu dihitung berdasarkan berat sampel uji dan dinyatakan dalam persen bobot per bobot (% b/b) (FHI, 2017).

3. Kadar Abu Tidak Larut Asam

Penetapan abu yang tidak larut dalam asam diawali dengan mendidihkan abu hasil penetapan abu total bersama 25 mL asam klorida encer LP selama kurang lebih lima menit. Langkah ini bertujuan untuk memisahkan zat-zat yang dapat larut dari yang tidak larut dalam asam. Bagian yang tidak larut kemudian disaring menggunakan kertas saring khusus yang bebas abu, dicuci bersih

dengan air panas, lalu dipijarkan dalam krus pada suhu sekitar $800 \pm 25^{\circ}\text{C}$ hingga diperoleh bobot yang tetap. Nilai akhir dari sisa ini dihitung terhadap berat awal sampel dan dinyatakan dalam bentuk persen berat terhadap berat (% b/b) (FHI, 2017).

4. Susut Pengeringan

Penetapan susut pengeringan adalah persentase senyawa yang hilang selama pemanasan. Ini mencakup air dan senyawa menguap lainnya yang hilang. Sisa zat diukur dengan pengeringan selama 30 menit pada 105°C atau sampai berat konstan, yang ditunjukkan dalam persen (metode gravimetri). Dalam versi lain, susut pengeringan adalah pengukuran sisa zat setelah pengeringan selama 30 menit atau sampai berat konstan, yang ditunjukkan dalam persen. Dalam kasus tertentu, jika bahan tidak mengandung minyak menguap, zat atsiri, atau sisa pelarut organik, kadar air bahan tersebut sama dengan kadar air karena bahan tersebut berada di lingkungan udara terbuka atau atmosfer (Handayani *et al.*, 2017).

3.4.6 Skrining Fitokimia

1. Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan cara mengambil ekstrak daun pepaya dan daun kelor masing-masing 10 tetes, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda. Selanjutnya, ditambahkan 1 mL HCl pekat, 0,1 gram serbuk magnesium, dan 2 mL alkohol, lalu dikocok. Perubahan warna menjadi merah, jingga,

atau kuning pada larutan menunjukkan adanya flavonoid dalam sampel tersebut.(Kirana Jati *et al.*, 2019).

2. Uji Alkaloid

Ekstrak daun pepaya dan daun kelor 0,5 gram dilarutkan dalam etanol, disaring, dan dibagi menjadi tiga bagian (5 mL). Masing-masing bagian ditambahkan dengan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff untuk mendeteksi alkaloid. Hasil positif ditunjukkan dengan pembentukan endapan: putih/kekuningan pereaksi mayer, coklat pereaksi wagner , dan jingga pereaksi dragendorff, yang menandakan adanya alkaloid dalam sampel (Putri *et al.*, 2023).

3. Uji Saponin

Dilakukan pengambilan 1 gram ekstrak etanol daun pepaya dan daun kelor ditimbang dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan 1 mL air panas dan dikocok selama 1 menit. Jika busa yang terbentuk tetap stabil selama kurang lebih 10 menit, maka ekstrak tersebut mengandung saponin (Alzanando *et al.*, 2022).

4. Uji Tanin

Uji tanin dengan 10 tetes larutan ekstrak metanol daun pepaya dan daun kelor dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan kemudian ditambahkan 1 sampai 2 tetes pereaksi FeCl_3 1%. Warna hijau kehitaman atau biru tua pada filtrat menunjukkan adanya tanin (Iskandar *et al.*, 2020).

3.4.7 Formulasi Sediaan *Gummy Candies*

Tabel 3. 1 Formulasi <i>Gummy Candies</i>						
Bahan	%Persen					Fungsi
	FI	FII	FIII	FIV	FV	
Ekstrak daun pepaya	5	5	5	5	5	Zat aktif
Ekstrak daun kelor	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	Zat aktif
Konjak glukomanan	1	1,5	2	3	0	<i>Gelling Agent</i>
Karagenan	2	1,5	1	0	3	<i>Gelling Agent</i>
Asam sitrat	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	Zat pengasam
Essens strawberry	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	Pengaroma
Sukrosa	20	20	20	20	20	Pemanis
Aquades	Ad	Ad	Ad	Ad	Ad	Pelarut
	100	100	100	100	100	

Keterangan :

- F₁ :Formulasi sediaan *Gummy Candies* kombinasi *Gelling Agent* konjak glukomanan 1% kappa karagenan 2%.
- F₂ :Formulasi sediaan *Gummy Candies* kombinasi *Gelling Agent* konjak glukomanan 1,5% kappa karagenan 1,5%.
- F₃ :Formulasi sediaan *Gummy Candies* kombinasi *Gelling Agent* konjak glukomanan 2% kappa karagenan 1%.
- F₄ :Formulasi sediaan *Gummy Candies* kombinasi *Gelling Agent* konjak glukomanan 3%.
- F₅ : Formulasi sediaan *Gummy Candies* kombinasi *Gelling Agent* Kappa Karagenan 3%.

3.4.8 Pembuatan Sediaan *Gummy Candies*

Pembuatan sediaan *gummy candies* diawali dengan memanaskan aquades sambil diaduk, kemudian sukrosa ditambahkan hingga larut sempurna dalam larutan yang sedang dipanaskan tersebut. Proses pemanasan dilanjutkan sampai suhu mencapai sekitar 85–90 °C. Pada suhu tersebut, campuran konjak glukomanan dan kappa karagenan dimasukkan secara perlahan sambil terus diaduk hingga membentuk larutan kental dan homogen.

Setelah campuran *gelling agent* tercampur sempurna, ekstrak daun pepaya dan ekstrak daun kelor ditambahkan ke dalam larutan panas, lalu diaduk secara perlahan selama beberapa menit hingga merata. Setelah itu, larutan didinginkan hingga suhu menurun ke kisaran 60–65 °C, kemudian essens ditambahkan sebagai perisa dan diaduk kembali. Ketika suhu turun lebih lanjut ke sekitar 50– 55 °C, asam sitrat dimasukkan sebagai pengatur pH dan diaduk perlahan hingga tercampur sempurna.

Larutan akhir kemudian dituangkan ke dalam cetakan berbentuk kotak dan didiamkan pada suhu ruang hingga mengeras. Setelah permen gummy terbentuk sempurna, produk dikeluarkan dari cetakan dan disimpan dalam wadah tertutup rapat pada suhu ruang yang sejuk dan kering (Fahamsya *et al.*, 2024).

3.4.9 Evaluasi Sediaan

1. Uji organoleptik

Evaluasi organoleptis dilakukan diamati *gummy candies* secara visual meliputi bentuk, warna, tekstur, aroma dan rasa keseluruhan *gummy candies*.

2. Uji keseragaman bobot

Keseragaman bobot dilakukan dengan cara *gummy candies* sebanyak 20 ditimbang, setelah itu ditimbang satu per satu dengan neraca digital. Kemudian dihitung nilai rata-rata, CV, Standar Deviasi (SD) dan persen penyimpangan bobot. Syarat dari keseragaman bobot seperti yang tertera pada Farmakope Indonesia

yaitu tidak boleh ada dua permen yang beratnya berbeda dari bobot rata-rata 5% dan tidak ada satupun permen yang rata-rata bobotnya melebihi 10%.

3. Uji pH

Menurut SNI 3547.2-2008 nilai pH yang ideal untuk sediaan *gummy candies* berkisar antara 5,00 hingga 5,90. Pengujian pH dilakukan untuk memastikan keamanan sediaan *gummy candies* dengan cara melarutkan 1 gram *gummy candies* dalam aquadest dan mengukur pH menggunakan kertas indikator atau pH meter. (Fonna dan Dalimunthe, 2022).

4. Uji Kadar Air

Menurut SNI 2008, kadar air tidak boleh melebihi 20%. Pengujian kadar air dilakukan untuk menilai kualitas dan ketahanan pangan terhadap potensi kerusakan. Semakin tinggi kadar air dalam bahan pangan, semakin besar risiko kerusakan akibat aktivitas biologis internal atau pertumbuhan mikroba. Pengukuran kadar air dilakukan menggunakan moisture analyzer pada suhu 105°C untuk mendapatkan hasil yang akurat. Metode ini membantu memastikan produk pangan tetap stabil dan aman selama penyimpanan. (asdini tri *et al.*, 2021)

5. Uji Kekenyalan

Uji kekenyalan dilakukan dengan cara menempatkan sediaan di atas kaca yang telah diberi skala menggunakan penggaris, lalu

menarik *gummy candies* dan mengamati sejauh mana *gummy candies* dapat merenggang. Semakin panjang renggangannya yang terjadi, maka semakin kenyal sediaan tersebut (Husni *et al.*, 2020).

6. Uji Hedonik

Akan digunakan skala uji hedonik untuk menilai parameter yang dianggap penting dan menunjukkan karakteristik dari sediaan *gummy candies* yang akan dipilih. 30 Panelis akan mengamati parameter hedonik seperti rasa, warna, aroma, dan bentuk. Untuk melakukan analisis ini, tiga puluh panelis menilai masing-masing varian *gummy candies*. *Skala likert* dengan nilai 1 menyatakan tidak suka, nilai 2 menyatakan agak suka, nilai 3 menyatakan suka dan nilai 4 menyatakan sangat suka (Aditya *et al.*, 2020). Kriteria inklusi dan eksklusi dari panelis yaitu :

1. Inklusi

- a. Sehat jasmani dan Rohani
- b. Jenis kelamin Perempuan dan laki-laki
- c. Usia : pada remaja 16-20, dewasa 21-30 tahun.

2. Eksklusi

- a. Remaja dan dewasa yang tidak bersedia dijadikan sebagai panelis
- b. Balita, anak usia 6-10 tahun, dan 31 tahun sampai lansia.

7. Uji Stabilitas

Pengujian stabilitas produk dilakukan menggunakan metode cycling test atau freeze-thaw test selama 3 siklus. Setiap

siklus terdiri dari penyimpanan pada suhu rendah 25 °C selama 24 jam, diikuti penyimpanan pada suhu tinggi 40°C selama 24 jam, 5 °C selama 24 jam berikutnya. Pada awal dan akhir, dilakukan pengamatan terhadap organoleptis, pH, kekenyalan, dengan metode pengujian yang sama seperti pada uji sifat fisik. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas produk dalam menghadapi perubahan suhu ekstrem (Juliana et al., 2024).

3.5 Analisis Data

Penelitian ini menggunakan program *Statistical Program for Social Science* (SPSS) Data yang diperoleh dari pengujian berbagai parameter pada *gummy candies* dianalisis menggunakan SPSS versi 25. Sebelum analisis dilakukan, dilakukan uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk Test untuk menentukan apakah data terdistribusi normal atau tidak.

Jika data berdistribusi normal, maka analisis perbandingan antar kelompok dilakukan dengan menggunakan uji Shapiro Wilk ini digunakan untuk membandingkan rata-rata parameter uji kekenyalan perlakuan. Namun, jika data tidak terdistribusi normal, analisis dilakukan menggunakan wilcoxon untuk membandingkan perbedaan median antar kelompok. Semua hasil analisis dianggap signifikan jika nilai $\leq 0,05$.