

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental. Penelitian meliputi formulasi sediaan dan evaluasi fisik sediaan seperti pemeriksaan organoleptik, uji pH, suhu lebur, daya lekat, dan aktivitas antioksidan sediaan dengan metode IC50.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan dari bulan Maret - Juli tahun 2022 di Laboratorium Teknologi Universitas Buana Perjuangan Karawang dan Ekstraksi dibuat di Badan Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro).

3.3. Sampel Penelitian

Ekstrak etanol kulit buah pisang kepok (*M.paradisiaca*) digunakan sebagai sampel yang didapatkan dari Badan Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro).

3.4. Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian yaitu formulasi dan aktivitas antioksidan *lip balm* ekstrak etanol kulit buah pisang kepok (*M.paradisiaca*) pada konsentrasi sampel 4%, 6%, dan 8% (Sari *et al*, 2017).

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian yaitu pengujian organoleptik, pengukuran pH, suhu lebur, uji daya lekat, dan uji aktivitas antioksidan.

3.5. Bahan dan Alat

3.5.1 Bahan

Kulit buah pisang kepok (*M.paradisiaca*) yang diekstrak dengan pelarut etanol 70%, lanolin (PT Brataco), *propylene glycol* (PT Brataco), *ethanol pro analyst* (Merck), *aquadest* (Brataco), oleum cacao, *cera alba*, serbuk *ascorbic acid* (Merck), nipagin, tween 80, parfum, DPPH (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil) (Laboratorium UBP Karawang).

3.5.2 Alat

Neraca analitik (Mettler Toledo), batang pengaduk, sendok spatel, kertas perkamen, *object glass*, cawan porselen, pipet, oven (Menmert), waterbath, wadah untuk *lip balm*, pH meter, spektrofotometer UV-Vis (Thermo Scientific Evolution 201), mikropipet, dan alat-alat gelas (Pyrex).

3.6. Formula Sediaan *Lipbalm* Ekstrak Etanol Kulit Buah Pisang Kepok (*M.paradisiaca*) dalam Berbagai Konsentrasi

Konsentrasi ekstrak etanol kulit buah pisang kepok yang digunakan dalam proses formulasi sediaan *lip balm* mengacu pada hasil penelitian oleh (Sari *et al*, 2017) dan formula sediaan *lip balm* yang digunakan dalam proses pembuatan sediaan dari hasil penelitian oleh (Nazliniwaty, 2019).

Tabel 3.1. Formula Sediaan *Lipbalm* Ekstrak Etanol Kulit Buah Pisang Kepok (*M.paradisiaca*)

Bahan	Konsentrasi (%)			
	F ₀	F ₁	F ₂	F ₃
Ekstrak kulit buah pisang kepok	-	4	6	8
Lanolin	15	15	15	15
Cera alba	3	3	3	3
Propilenglikol	5	5	5	5
Nipagin	0,2	0,2	0,2	0,2
Tween 80	2	2	2	2
Parfum	1	1	1	1
Oleum cacao ad	100	100	100	100

Keterangan :

F₀ : Sediaan tanpa ekstrak etanol kulit buah pisang kepok (blanko)

F₁ : Sediaan dengan konsentrasi ekstrak etanol kulit buah pisang kepok 4%

F₂ : Sediaan dengan konsentrasi ekstrak etanol kulit buah pisang kepok 6%

F₃ : Sediaan dengan konsentrasi ekstrak etanol kulit buah pisang kepok 8%

3.7. Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan untuk memastikan kebenaran identifikasi tanaman dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan. Tanaman pisang kepok (*M.paradisiaca*) yang digunakan pada penelitian ini akan dideterminasi di Unit Pelaksana Teknis (UPT) Laboratorium Herbal Materia Medica Batu di Malang.

3.8. Pengolahan Sampel

3.8.1 Proses Ekstraksi

Sampel buah pisang kepok (*M.paradisiaca*) yang telah dipisahkan dari kulit dan bagian dalamnya kemudian kulitnya

dikumpulkan, kulit pisang dibersihkan dengan air mengalir lalu dikeringkan. Sampel kulit buah pisang kepok (*M.paradisiaca*) diiris kecil dan dikeringkan di oven dengan suhu 40⁰C hingga 50⁰C. Kemudian sampel dibuat dalam bentuk serbuk, dan penyimpanan dilakukan pada wadah serta dijauhkan dari sinar matahari langsung. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi, dimana kulit buah pisang kepok (*M.paradisiaca*) yang sudah menjadi serbuk direndam dengan pelarut etanol 70% selama beberapa hari kemudian disaring hingga didapatkan maserat. Hasil dari maserasi diuapkan untuk memperoleh ekstrak kulit buah pisang kepok (*M.paradisiaca*) yang kental dengan menggunakan *rotary evaporator*.

3.8.2 Skrining Fitokimia

a. Alkaloid

Ekstrak kulit buah pisang kepok (*M.paradisiaca*) ditetaskan sebagian ke dalam tabung reaksi. Kemudian pereaksi dragendorf sebanyak 2 tetes ditambahkan. Hasil uji ditandai dengan perubahan yang terjadi berupa terbentuknya warna jingga yang menunjukkan hasil positif setelah 30 menit (Lumowa,S.V.T dan Bardin, S, 2017). Skrining alkaloid dengan pereaksi wagner dilakukan dengan menambahkan pereaksi wagner dengan 1 mL ekstrak. Hasil uji ditandai dengan terbentuknya endapan cokelat yang menunjukkan hasil positif, sedangkan hasil negatif ditandai dengan terjadinya perubahan warna (Ikalinus dkk, 2015).

Pereaksi lain yang dapat digunakan adalah pereaksi mayer dengan mencampurkan pereaksi mayer sebanyak 2 tetes dengan 1 mL ekstrak, hasil uji dinyatakan positif jika terbentuk endapan yang berwarna kuning atau putih (Ikalinus dkk, 2015).

b. Tanin

Ditambahkan 1 mL ekstrak etanol kulit buah pisang kepok (*M.paradisiaca*), lalu ditambahkan pereaksi FeCl_3 1% sebanyak beberapa tetes. Hasil uji positif ditandai dengan adanya warna biru tua atau hitam kehijauan (Lumowa,S.V.T dan Bardin, S, 2017).

c. Flavonoid

Ekstrak etanol kulit buah pisang kepok (*M.paradisiaca*) diambil dan ditambahkan 2 mg magnesium 2 N lalu direaksikan dengan HCl pekat sebanyak 3 tetes (pereaksi *wilstater*). Warna merah, kuning, atau jingga akan menunjukkan bahwa pengujian yang dilakukan positif terhadap flavonoid (Lumowa,S.V.T dan Bardin, S, 2017).

Skrining flavonoid menggunakan pereaksi *bate smite-metcalfe* dengan menambahkan 1 mL ekstrak dengan larutan HCl pekat beberapa tetes kemudian dilakukan pemanasan, hasil uji dinyatakan positif jika terjadi perubahan warna menjadi merah (Ikalinus dkk, 2015).

Pereaksi lain yang digunakan yaitu NaOH 10%, dilakukan dengan menambahkan 1 mL ekstrak dengan pelarut NaOH 10% sebanyak beberapa tetes. Hasil uji dinyatakan positif jika menunjukkan adanya perubahan warna menjadi orange atau jingga (Ikalinus dkk, 2015).

d. Saponin

Ekstrak kulit buah pisang kepok (*M.paradisiaca*) direaksikan dengan air panas pada tabung reaksi. Hasil pengujian menunjukkan adanya busa yang stabil dan bertahan dengan penambahan HCl 2 N sebanyak 1 tetes selama 30 menit (Lumowa,S.V.T dan Bardin, S, 2017).

e. Monosteroid

Ekstrak kulit buah pisang kepok (*M.paradisiaca*) direaksikan dengan larutan CHCl_3 sebanyak 2 tetes pada tabung reaksi dan ditambahkan pelarut lieberman burchard sebanyak 3 tetes. Hasil uji dinyatakan positif steroid dengan adanya perubahan warna larutan menjadi warna biru dan hijau yang sebelumnya berwarna merah, sedangkan perubahan warna menjadi warna merah ungu berarti positif triterpenoid. (Lumowa,S.V.T dan Bardin, S, 2017).

3.9. Definisi Operasional Variabel

Berikut ini adalah tabel definisi operasional variabel pada penelitian ini, yaitu :

Tabel 3.2. Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil ukur
Variabel Bebas					
1	Ekstrak kulit buah pisang kepok (<i>Musa paradisiaca</i>)	Ekstrak diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% kemudian dilakukan penyaringan untuk memisahkan filtrat dari ampas selanjutnya digunakan <i>rotatory evaporator</i> untuk menguapkan hasil ekstrak kulit buah pisang kepok yang bebas dari pelarut dengan konsentrasi 4%, 6%, dan 8%.	Pengujian kimia fisika meliputi organoleptik (warna, bau), suhu lebur, pH, uji iritasi, dan hedonik.		

Variabel Terikat						
2	Warna	Parameter menggunakan mata dalam pengujian sediaan <i>lip balm</i>	fisik indera	Uji organoleptik	Nominal	1. Warna kuning 2. Warna cokelat
3	Bau	Parameter menggunakan penciuman dalam pengujian sediaan <i>lip balm</i>	fisik indera	Uji organoleptik	Nominal	1. Tidak berbau 2. Bau lemah 3. Bau khas
4	Homogenitas	Pengujian dilakukan mengamati <i>balm</i> yang diletakan pada <i>object glass</i> , kemudian ditutup dengan <i>object glass</i> yang lainnya	homogenitas	Uji homogenitas menggunakan <i>object glass</i>	Nominal	1. Kurang Homogen 2. Homogen
5	pH	Nilai pH pada sediaan <i>lip balm</i>		pH meter	Rasio	Angka pada pH meter
6	Suhu lebur	Uji suhu lebur dilakukan dengan memanaskan sediaan pada oven dengan suhu 50°C sebanyak 1		alat pemanas oven	Rasio	°C

gram selama 15 menit, dan dilakukan pengamatan apakah sediaan melebur atau tidak. Kemudian suhu dapat dinaikan sebanyak 1°C setiap 15 menit dan pencatatan suhu lebur dilakukan ketika sediaan *lip balm* melebur.

7	Uji Daya Lekat	Uji daya lekat dilakukan dengan mengoleskan sediaan diatas <i>object glass</i> . Kemudian ditempelkan hingga menyatu dan ditambahkan beban selama 5 menit setelah itu dilepas. Catat waktu saat kedua gelas objeknya terlepas.	Alat uji daya lekat	Rasio	Angkat pada <i>stopwatch</i> (detik)
---	----------------	--	---------------------	-------	--------------------------------------

3.10. Prosedur Penelitian

a) Pembuatan *Lip balm*

Cara pembuatan *lip balm* dari kulit buah pisang kepok yaitu diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol. Ekstrak etanol kulit buah pisang kepok dilarutkan hingga homogen dalam propilenglikon pada cawan bersama dengan lanolin (Campuran A). Oleum cacao dan cera alba ditimbang kemudian dimasukkan dalam cawan penguap dan dilebur diatas penangas air (Campuran B). Campuran A dan campuran B

dicampurkan perlahan dalam cawan, kemudian ditambahkan nipagin, tween 80 dan parfum, aduh hingga homogen. Masukkan sediaan dalam pot sebagai wadah *lip balm* dan biarkan pada suhu ruangan sampai memadat.

b) Uji Antioksidan

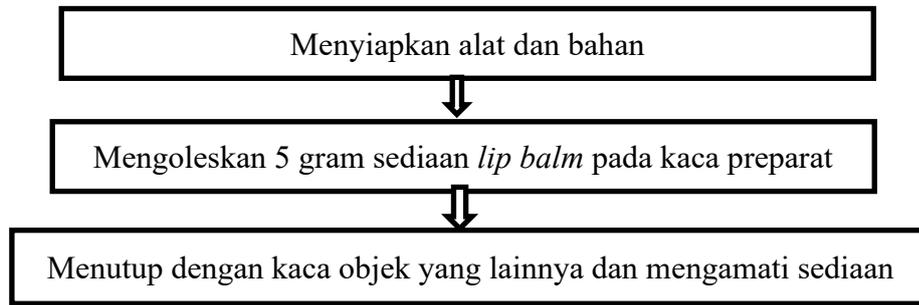
Ekstrak etanol kulit buah pisang kepok dan sediaan *lip balm* yang sudah jadi diuji aktivitas antioksidannya dengan menggunakan metode DPPH. Sampel sebanyak 10 mg diambil dan dicampurkan dalam 100ml pelarut etanol. Konsentrasi dari larutan uji masing-masing dibuat sebesar 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm. Larutan uji pada labu 10 mL diambil sebanyak 0,2 ml dan direaksikan dengan larutan DPPH sebanyak 3,8 mL pada tabung reaksi. Kemudian diinkubasi selama 30 menit dalam tempat gelap dan absorbansi pada panjang gelombang maksimumnya sebesar 517nm diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Nilai IC_{50} atau *Inhibition Concentration* merupakan nilai yang menunjukkan adanya persentase penghambatan antioksidan pada konsentrasi senyawa yang menyebabkan 50% aktivitas DPPH dihilangkan (Rahmi dkk, 2021).

c) Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan menggunakan pancaindera dengan mengamati warna dan bau secara langsung. Hasil pengamatan kemudian dicatat (Nazliniwaty dkk, 2019).

d) Uji Homogenitas

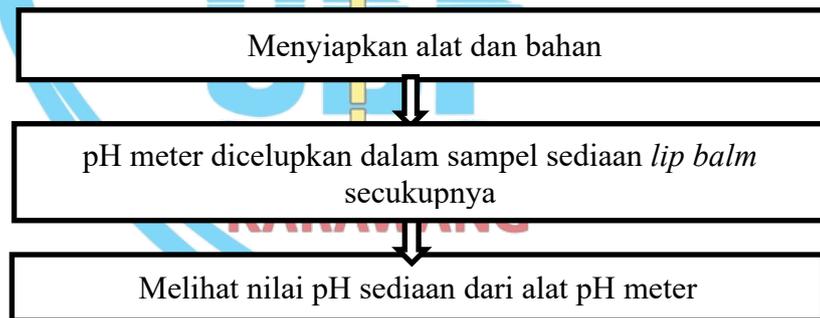
Uji homogenitas dilakukan dengan mengoleskan sediaan *lip balm* pada *object glass*, kemudian dirapatkan dengan *object glass* yang lain. Homogenitas diamati dengan melihat ada tidaknya butir kasar diatas *object glass*, yang menunjukkan sediaan homogen jika tidak terdapat butir kasar. (Nazliniwaty dkk, 2019).



Gambar 3.1. Skema uji homogenitas

e) Uji pH

pH diuji dengan alat pH meter, sampel dimasukkan dalam beaker glass. Elektroda dicelupkan ke dalam sampel dan tunggu hingga alat menampilkan nilai pH sediaan yang stabil dan tetap (Yuniarsih Nia, *et al* 2020).

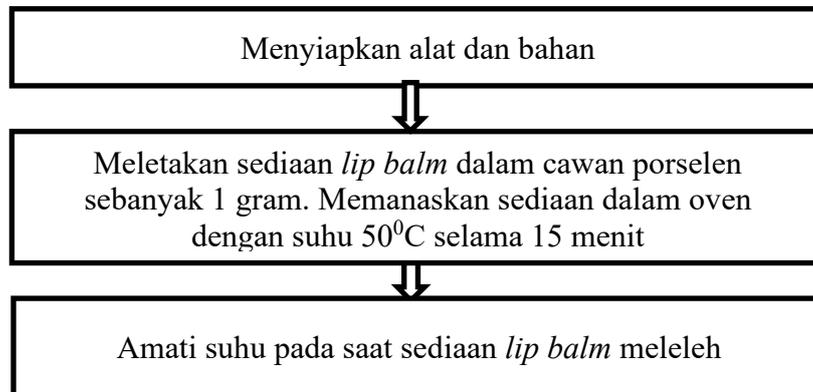


Gambar 3.2. Skema Uji Ph

f) Uji Suhu Lebur

Metode yang digunakan dalam evaluasi fisik ini yaitu untuk memantau suhu lebur pada sediaan *lip balm* dengan memanaskan *lip balm* menggunakan oven. Suhu lebur *lip balm* yang baik yaitu mendekati suhu bibir yang berkisar 36-38⁰C. Namun sediaan *lip balm* harus tahan terhadap suhu cuaca lingkungan yang tinggi, oleh karena itu dibuatlah suhu lebur *lip balm* berkisar 50-70⁰C. Sebanyak 1 gram sediaan *lip balm* dimasukkan kedalam oven pada suhu 50⁰C untuk mengamati pada suhu berapa sediaan akan melebur selama 15 menit. Kemudian suhu dapat ditingkatkan setiap 15 menit sebesar 1⁰C untuk mengamati sediaan *lip*

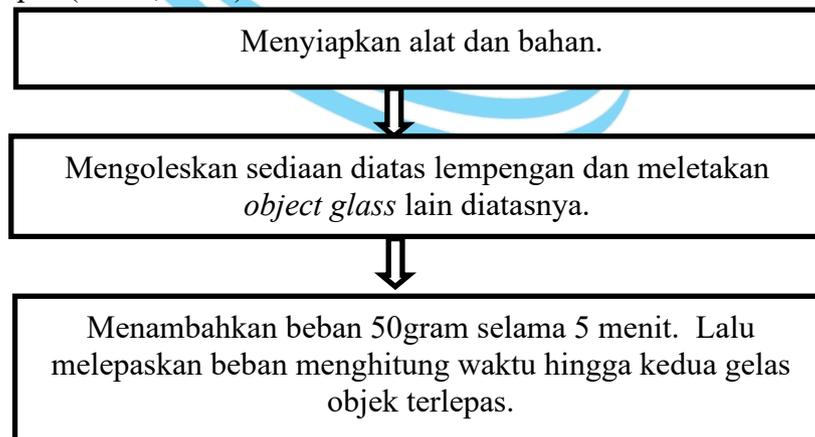
balm mulai meleleh ketika menunjukkan angka berapa (Ratna, 2018).



Gambar 3.3. Skema Uji suhu lebur

g) Uji Daya Lekat

Uji daya lekat berfungsi untuk mengetahui kemudahan melekat saat pengolesan sediaan *lip balm* pada daerah yang diaplikasikan. Beban sebesar 50 gram diletakan diatas *object glass* yang didalamnya terdapat sampel. Kemudian ditempelkan hingga menyatu dan ditambahkan beban selama 5 menit setelah itu dilepas. Catat waktu saat kedua gelas objeknya terlepas (Ratna, 2018).



Gambar 3.4. Skema Uji Daya Lekat

h) Uji Stabilitas

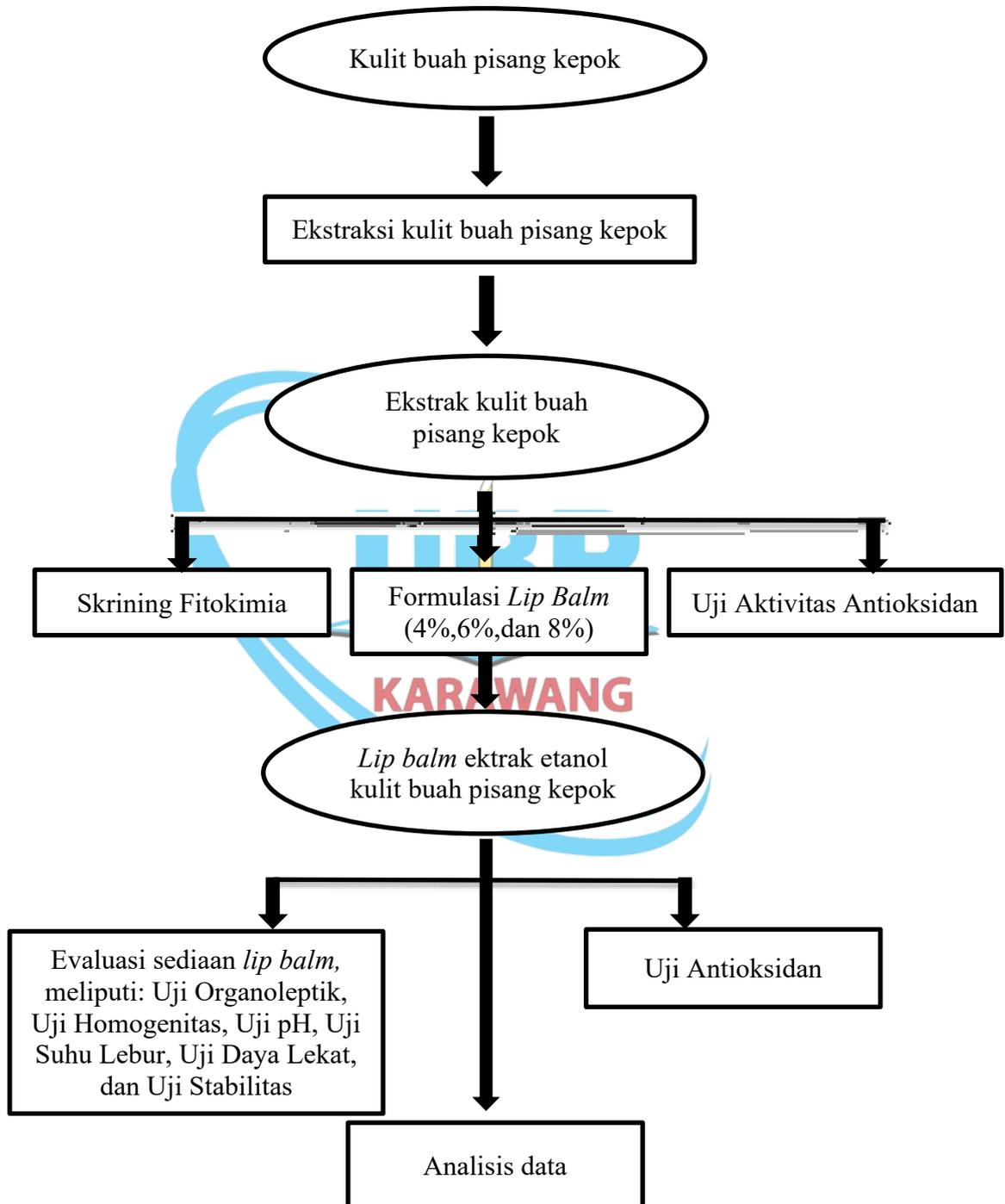
Uji stabilitas sediaan dilakukan dengan mengamati perubahan yang terjadi selama penyimpanan 2 minggu atau 14 hari. Pengujian stabilitas dilakukan dengan mengamati bentuk, warna, bau, pH, dan suhu lebur dari

sediaan pada suhu kamar. Sediaan *lip balm* diharapkan mampu mempertahankan bentuk sediaan yang baik agar tidak berubah menjadi keras atau lembek (Zuhriah dkk, 2021).

3.11. Analisis Data

Hasil dari penelitian ini berupa sifat fisik meliputi organoleptis, homogenitas, uji pH, uji daya lekat, dan uji daya sebar dianalisis menggunakan SPPSS 16. Uji homogenitas dan normalitas yang terlebih dahulu dilakukan pada data diuji dengan metode *Kolmogorov-smirnov*. Jika hasilnya menunjukkan data normal, maka dilanjutkan analisis untuk mengetahui perbedaan antar kelompok percobaan dengan menggunakan *One Way Anova*. Data yang menunjukkan perbedaan dilanjutkan dengan analisis menggunakan uji *post hoc tucey HSD* untuk mengetahui adanya perbedaan antar perlakuan yang nyata. Namun jika hasil menunjukkan data tidak normal, maka dilakukan analisis perbedaan rata-rata kelompok dengan metode *kruskal wallis*. Kemudian dilakukan analisis untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan yang nyata dengan uji *post mann-whitney*.

3.12. Diagram Alir Prosedur Kerja



Gambar 3.6 Diagram alir prosedur kerja sediaan *lip balm* ekstrak etanol kulit buah pisang kepok

