

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental. dengan pengujian aktivitas antioksidan dan evaluasi fisik sediaan *Cleansing Balm* ekstrak etanol bunga telang (*Clitorian ternatea L.*) pada suhu ruang. Pengujian yang dilakukan meliputi pengujian antioksidan terhadap sediaan uji organoleptik, uji pH, uji homogenitas, uji daya sebar, dan uji stabilitas..

3.2 Populasi dan Sampel

Formulasi *Cleansing Balm* ekstrak etanol bunga telang menjadi populasi dalam penelitian ini. Sampel yang ditarik dalam populasi yaitu *Cleansing Balm* ekstrak etanol bunga telang serta uji evaluasi sediaan dan antioksidan pada *Cleansing Balm*.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang dipakai dalam penelitian ini diantaranya adalah neraca analitik (Mettler Toledo), gelas ukur, kertas perkamen, pipet tetes, cawan porselen, spatula, batang pengaduk, sendok tanduk, *hot plate*, wadah *Cleansing Balm*, object glass, spektrofotometri UV-VIS, kuvet kuarsa quartz, alat daya lekat, kaca bulat berskala.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea L.*), white oil, glyserin, polawax, cetyl alcohol, isopropyl, vaseline, nipasol.

3.4. Tempat Dan Waktu Penelitian

3.4.1. Tempat Penelitian

Tempat penelitian dilakukan di Laboratorium Bahan Alam, Laboratorium Riset Fakultas Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang

3.4.2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian dimulai Juli 2024 sampai dengan September 2024

3.5. Variabel Penelitian

3.5.1. Variabel Bebas

Variable bebas yang terlibat pada penelitian ini meliputi empat perbandingan konsentrasi ekstrak etanol bunga telang formula yaitu F0 (Tanpa Ekstrak) F1 (ekstrak etanol bunga telang 0,1%) F2 (ekstrak etanol bunga telang 0,2%) F3 (ekstrak etanol bunga telang 0,3%) (*Clitoria terantea L.*).

3.5.2. Variabel Terkait

Variable terkait pada penelitian ini adalah pengujian antioksidan terhadap sediaan *Cleansing Balm* dan evaluasi sediaan fisik dari sediaan *Cleansing Balm* yang meliputi: organoleptik, pH, homogenitas, daya sebar, titik leleh, iritasi, stabilitas dan pengujian daya bersih pada sediaan *Cleansing Balm* ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea L.*).

3.5.3. Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah jenis bahan, jumlah bahan yang digunakan, alat yang digunakan dan proses pembuatan

3.5.4. Definisi Operasional Variabel

Definisi Operasional Variabel dapat dilihat pada tabel berikut ini :

Tabel 3. 1 Definisi Operasional Variabel

No	Variable	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Variable					
Bebas					
1.	Variasi	Membandingkan		Rasio	F 0%
	perbandingan	variasi tiga			F 0,1%
	sediaan	konsentrasi			F 0,2%
	<i>Cleansing</i>	ekstrak etanol			F 0,3%
	<i>Balm</i> ekstrak	bunga telang			
	etanol bunga				
	telang				
	(<i>Clitoria</i>				
	<i>ternatea L.</i>)				

No	Variable	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Variable					
Terikat					
1.	Uji Organoleptik Warna	Pengujian parameter fisik <i>Cleansing Balm</i> menggunakan indra penglihatan	Panca Indra	Nominal	Putih Kuning
2.	Uji Organoleptik Bentuk	Pengujian parameter fisik <i>Cleansing Balm</i> menggunakan indra peraba	Panca Indra	Nominal	Padat Setengah padat
3.	Uji Organoleptik Bau	Pengujian parameter fisik <i>Cleansing Balm</i> menggunakan indra penciuman	Panca Indra	Nominal	Tidak berbau Bau khas bunga telang
4.	Uji pH	Nilai pH pada sediaan <i>Cleansing Balm</i> menggunakan pH meter	pH meter	Rasio	Angka dalam pH meter 4,0– 7,5
6.	Uji Homogenitas	Pengujian homogenitas sediaan <i>Cleansing Balm</i> dengan cara dioleskan diatas glass object	<i>Glass object</i>	Nominal	Homogen tidak adanya partikel Tidak homogen adanya partikel

No	Variable	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
		kemudian dirapatkan dengan <i>glass</i> <i>object</i> yang lain untuk melihat adanya partikel kasar dari sediaan			
7.	Uji Daya Sebar	Pengujian daya sebar sediaan <i>Cleansing Balm</i> dengan cara meletakkannya sediaan diatas kaca bulat kemudian ditutup dengan kaca lain	Kaca Bulat	Rasio	Cm baik 5-7 cm
8.	Skrining Fitokimia Flavonoid	Parameter fisik dengan menggunakan indra pengelihatan dalam pengujian sediaan <i>Cleansing Balm</i> jika terjadi perubahan warna merah, kuning atau jingga maka hasil positif.	Pereaksi	Nominal	Positif terjadi perubahan warna merah, kuning atau jingga Negatif tidak adanya perubahan warna merah, kuning atau jingga
9.	Skrining	Parameter fisik	Pereaksi	Nominal	Positif

No	Variable	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
	Fitokimia	dengan			pereaksi
	Alkaloid	menggunakan			mayer
		indra			terbentuk
		pengelihatan			endapan wara
		dalam pengujian			putih,
		sediaan			pereaksi
		<i>Cleansing Balm</i>			dragendrof
		jika terjadi			terbentuk
		endapan maka			endapan
		hasil positif			berwana
					coklat
					Negatif
					pereaksi
					mayer tidak
					adanya
					endapan
					warna putih,
					pereaksi
					dragendrof
					tidak adanya
					endapan
					warna coklat
10.	Skrining Fitokimia Saponin	Parameter fisik dengan menggunakan indra pengelihatan dalam pengujian sediaan <i>Cleansing Balm</i> bila menghasilkan	Pereaksi	Nominal	Positif terbentuknya busa Negatif tidak terbentuknya busa

No	Variable	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
		busa yang terbentuk tetap stabil ± 7 menit maka hasil positif			
11.	Skrining Fitokimia Tanin	Parameter fisik dengan menggunakan indra pengelihatan dalam pengujian sediaan <i>Cleansing Balm</i> dengan terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan maka positif	Pereaksi	Nominal	Positif terbentuknya warna biru tua Negatif tidak terbentuknya warna biru tua

3.6. Prosedur Penelitian

3.6.1 Determinasi Tanaman

Determinasi dilaksanakan untuk dapat memastikan kebenaran identifikasi tanaman dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan. Tanaman bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) yang dipakai pada penelitian ini akan di determinasi di Departemen Biologi, FMIPA UNPAD, Jawa Barat.

3.6.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*)

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dan etanol 96% digunakan sebagai pelarutnya. Serbuk simplisia bunga telang dimasukkan kedalam maserator, kemudian pelarut etanol 96% ditambahkan hingga seluruh simplisia terendam. Proses ini dibiarkan selama 3 x 24 jam dengan pengadukan sesekali. kemudian periode tersebut, maserat dikeluarkan dan ditampung, kemudian dilakukan

remaserasi selama 3 hari hingga maserat mencapai kejernihan. Hasil penampungan pelarut dicampurkan, dan selanjutnya dilakukan pemerataan ekstrak menggunakan alat rotar evaporator pada suhu 35°C.(Izzulhaq *et al.*, 2022).

3.6.3 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilaksnakan dengan menguji kandungan terdapatdalam bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) untuk melihat ada atau tidaknya senyawa fitokimia. Pada penelitian ini dilakukan pengujian alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan kuinon dengan mengacu pada (Fikayuniar *et al.*, 2022).

A. Uji Alkaloid

Setiap 1 gram ekstrak dicampurkan dengan campuran 1 mL HCL 2N dan panaskan dalam waktu 2 menit sambil diaduk terus menerus. Setelah larutan dingin, saring ekstrak dan HCL. Filtrat yang diperoleh dari proses penyaringan digunakan untuk pengujian senyawa alkaloid dengan cara memisahkan masingmasing 0,5 mL ke dalam tiga tabung reaksi. Pada tabung yang kesatu, tambahkan pereaksi Mayer sebanyak 2 mL, ditunjukkan dengan hasil endapan berwarna putih atau kuning. Pada tabung kedua, tambahkan 2 mL pereaksi Dragendorff, yang akan menghasilkan endapan berwarna coklat atau jingga kecoklatan, menandakan adanya alkaloid. Tabung ketiga berfungsi sebagai blanko.

B. Uji Flavonoid

Larutkan setiap 50mg ekstrak dalam 50mL air panas, lalu didihkanselama 5 menit, disaringmenggunakan kertas saring. Ambil 5mL dari filtrat yang dihasilkan, lalu tambahkan 0.1 gram magnesium dan 5 mL HCl 2N. Setelah itu, memnambahkan 2 mL amil alkohol, kocok dengan kuat, dan biarkan terpisah. Apabila muncul warna kuning hingga merah (atau warna ekstrak tertentu) yang terlarut dalam amil alkohol, ini menandakan hasil positif untuk flavonoid.

C. Uji Tanin

Setiap 50 mg ekstrak dicampurkan dan siapkan 20 mL air, lalu panaskan selama 15 menit. Setelah proses pemanasan selesai, biarkan larutan tersebut mendingin dan saring. Kemudian, tuangkan larutan ke dalam tabung reaksi dan

tambahkan 1% FeCl₃. Jika muncul warna biru tua, ini menandakan adanya tanin, sedangkan warna hitam kehijauan menunjukkan adanya polifenol.

D. Uji Saponin

Setiap 50 mg ekstrak dipanaskan dalam 50 mL air selama 15 menit, selanjutnya didinginkan dan disaring. Setelah itu, masukkan ke dalam tabung reaksi lakukan pengocokan secara vertikal selama 30 detik. Amati pembentukan buih selama 10 detik setelah penambahan 1 tetes HCL 2N. Jika busa yang terbentuk dapat bertahan selama sekitar 10 menit, ini menandakan adanya hasil positif untuk saponin.

E. Uji Kuinon

Setiap 1 gram ekstrak dicampurkan dengan 20 mL air panas, kemudian disaring dan masukkan ke dalam tabung reaksi. kemudian, tambahkan beberapa tetes NaOH 1 N, jika terjadi perubahan warna menjadi jingga hingga merah, maka dapat dipastikan bahwa ekstrak tersebut mengandung kuinon.

3.6.4 Pengujian Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.)

1. Pembuatan Larutan DPPH

Langkah awal dalam pengujian antioksidan yaitu menggunakan DPPH, harus menyiapkan larutan terlebih dahulu, adapun langkah-langkah pembuatan larutan DPPH adalah sebagai berikut : timbang Serbuk DPPH seberat 4 mg dan masukkan ke dalam labu ukur, lalu larutkan dengan 100 ml etanol p.a. Larutan stok DPPH dibuat dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 mg/L. Pada setiap konsentrasi, ditambahkan etanol p.a sampai mencapai tanda batas. (10ml) (Sibarani *et al.*, 2020).

2. Pembuatan Larutan Uji

Langkah-langkah membuat larutan uji ekstrak bunga telang adalah sebagai berikut : larutan ekstrak bunga telang dipipet sebanyak 10 ml. Setelah itu larutkan dalam 20 ml etanol, lalu kocok hingga tercampur secara homogen. Selanjutnya, siapkan larutan stok dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 mg/L.

3. Pengujian Aktivitas Antioksidan

Langkah untuk menguji aktivitas antioksidan yaitu pada setiap larutan uji + sebanyak 1 ml, lalu masukkan ke dalam tabung reaksi., setelah itu ditambahkan 2 ml etanol dan 1 ml larutan DPPH, kemudian kocok hingga tercampur rata. kemudian, inkubasi larutan tersebut selama 30 menit pada suhu 37°C, setelah itu dilakukan pengukuran serapan menggunakan spektrofotometri UV-VIS.

3.6.5 Formula Sediaan *Cleansing Balm* Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternate L.*)

Berikut merupakan table formulasi *Cleansing Balm* Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternate L.*) adalah sebagai berikut :

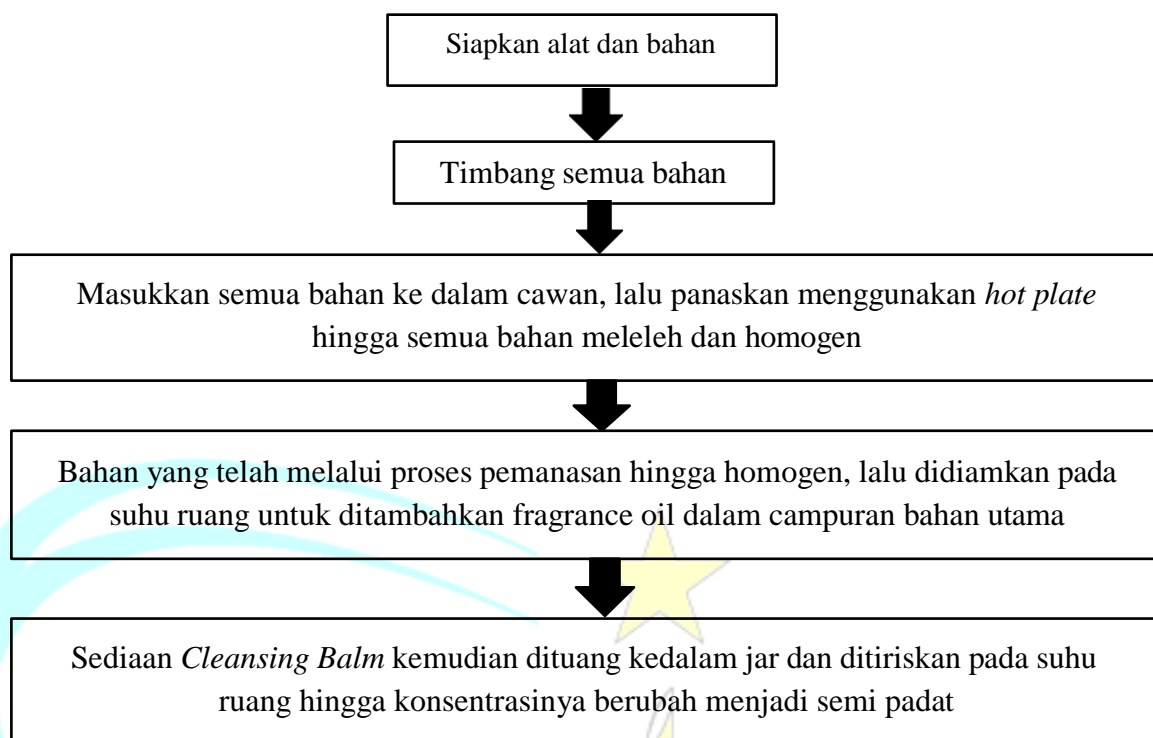
Tabel 3. 2 Formula Sediaan *Cleansing Balm*

Sumber : (D. I. S. Putri, 2023)

Bahan-bahan	F0	F1	F2	F3	Khasiat
Ekstrak etanol bunga telang <i>Clitoria ternate L</i>	0	0,1%	0,2%	0,3%	Zat Aktif
White Oil	55%	55%	55%	55%	Surfaktan
Glyserin	5%	5%	5%	5%	Emolien
Cetyl Alcohol	10%	10%	10%	10%	Emolien
Isopropyl Myristate	10%	10%	10%	10%	Emolien
Polawax	10%	10%	10%	10%	Emulsifier
Vaseline	5%	5%	5%	5%	Humektan
Nipasol	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	Pengawet
Fragrance oil	qs	qs	qs	qs	Pewangi

3.6.6 Pembuatan Sediaan *Cleansing Balm* Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternate L.*)

Berikut merupakan proses pembuatan sediaan *Cleansing Balm* ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternate L.*) :



Gambar 3.1 Diagram pembuatan sediaan

3.7. Pengujian Antioksidan Dengan Metode DPPH

1. Pembuatan Larutan DPPH

DPPH seberat 4 mg ditimbang dan kemudian dilarutkan dalam 100 ml etanol p.a. di dalam labu ukur. Larutan tersebut dikocok hingga homogen, sehingga diperoleh larutan stok DPPH dengan konsentrasi 50 ppm (Sibarani *et al.*, 2020).

2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Pembuatan larutan blanko dilakukan dengan mengambil 3 ml larutan DPPH dan memasukkannya ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, tambahkan 3 ml etanol p.a, tutup tabung dengan alumunium foil, dan homogenkan campuran tersebut. Setelah itu, inkubasi selama 30 menit di tempat yang gelap. Proses berikutnya adalah mengukur serapan menggunakan spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang 517 nm hingga diperoleh nilai panjang gelombang maksimum (Sibarani *et al.*, 2020).

3. Pembuatan Larutan Vitamin C

Timbang 10 mg Vitamin C dan larutkan dalam 100 ml etanol p.a (100 ppm). Dari larutan stok Vitamin C tersebut, buatlah larutan seri dengan konsentrasi

2, 4, 6, 8, dan 10 ppm. Ambil 2 ml dari setiap konsentrasi, lalu tambahkan 2 ml larutan DPPH ke dalam vial. Lengkapi volumenya hingga 5 ml dengan etanol p.a dan homogenkan. Biarkan campuran larutan selama 30 menit, kemudian ukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimum (Hartanto, 2018).

4. Uji Aktivitas Antioksidan *Cleansing Balm* Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*)

Larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm disiapkan dengan cara menimbang 25 mg ekstrak etanol dari bunga telang (*Clitoria ternatea L.*) dan melarutkannya dalam etanol p.a. Selanjutnya, variasi konsentrasi dibuat pada tingkat 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm. Dari setiap konsentrasi tersebut, diambil 2 ml dan dicampurkan dengan 2 ml larutan DPPH, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang antara 514 hingga 517 nm (Cahyaningsih *et al.*, 2019). Aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

5. Pengukuran Nilai IC_{50}

IC_{50} merupakan nilai yang menggambarkan kemampuan suatu senyawa untuk mengurangi 50% aktivitas radikal bebas pada konsentrasi tertentu (ppm). Nilai IC_{50} yang lebih kecil menunjukkan potensi antioksidan yang lebih tinggi. Penghitungan nilai IC_{50} dilakukan melalui analisis kurva regresi linier yang mengaitkan persentase inhibisi sebesar 50% dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol dari bunga telang (*Clitoria ternatea L.*).

$$y = bx + a$$

3.8. Pengujian Evaluasi Fisik *Cleansing Balm* Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*)

1. Uji Organoleptik

Pengujian organoleptik dilakukan menggunakan alat indra yaitu meliputi, bau, warna, tekstur dan daya oles sediaan. Variable-variabel tersebut

digunakan untuk menetapkan nilai target optimal dalam formulasi dan metode pembuatan *Cleansing Balm* (Gusnadi *et al.*, 2021).

2. Uji pH

Pengujian pH dilaksanakan untuk menentukan tingkat kebasaaan yang ada dalam suatu sampel. Nilai pH dari produk kosmetik seharusnya sesuai dengan pH yangsesuai untuk kulit wajah berkisar antara 4,5 sampai 6,5 (Agustina *et al.*, 2022).

3. Uji Homogenitas

Pengujian ini dilaksanakan untuk mengevaluasi sejauh mana campuran bahan aktif dan bahan tambahan dalam sediaan pada kaca preparat. Uji homogenitas dilakukan dengan cara mengaplikasikan sampel pada permukaan kaca, lalu menekannya menggunakan objek kaca yang lain untuk mengamati adanya partikel kasar dalam sediaan tersebut (Astuti *et al.*, 2018).

4. Uji Daya Sebar

Pengujian daya sebar memiliki tujuan untuk mengevaluasi kecepatan menyebarnya sediaan pada permukaan kulit saat dioleskan. Prosedur pengujian dilakukan dengan menimbang sediaan seberat 0,5 gram, kemudian menempatkannya di bawah kaca bulat yang dilengkapi dengan skala berdiameter. Setelah itu, tutup sediaan dengan kaca lainnya. Biarkan selama satu menit, kemudian berikan beban masing-masing 50g, 100g, 150g, dan 200g, dan amati diameter penyebaran yang terjadi (Saryanti *et al.*, 2019).

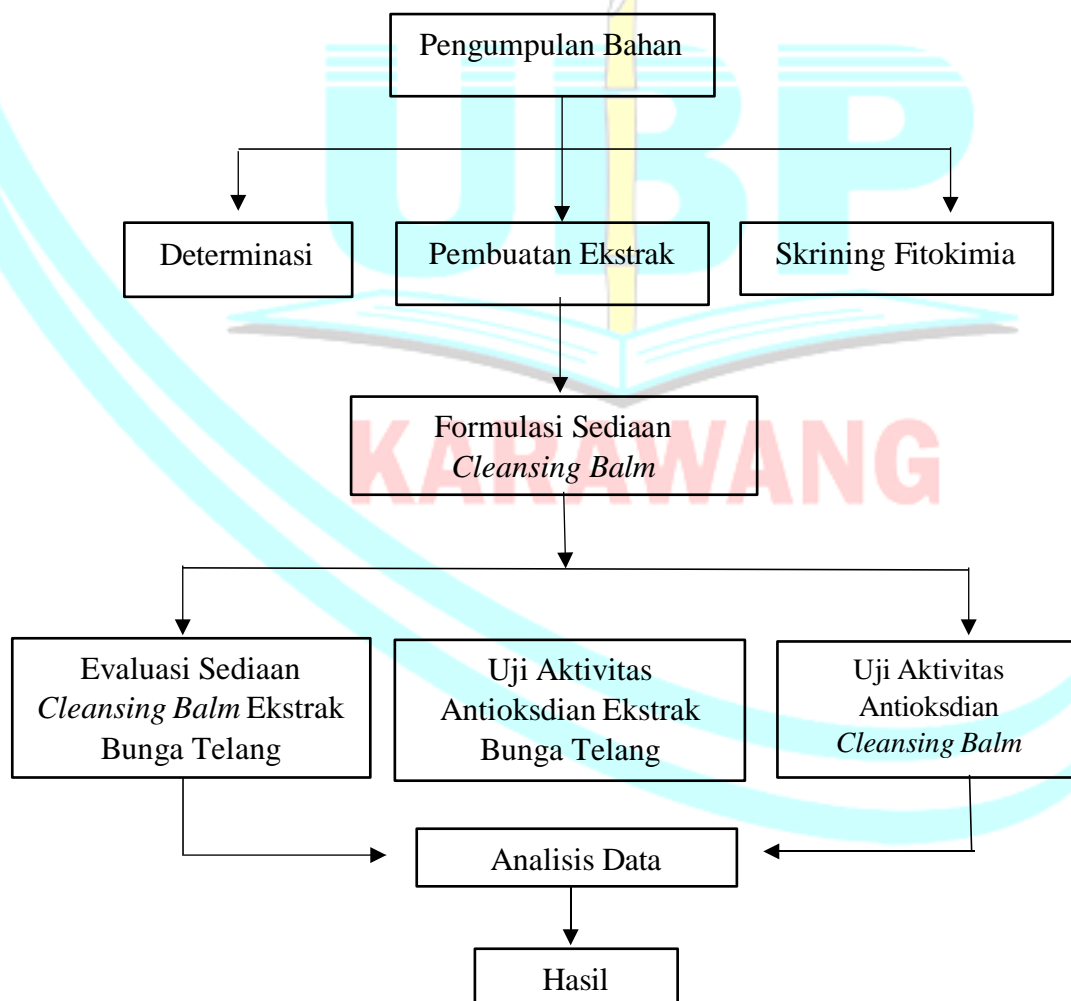
5. Uji Stabilitas

Uji stabilitas adalah parameter kualitas yaang dilakukan untuk mengukur kemampuan suatu sediaan dalam mempertahankan karakteristiknya sesuai dengan batas *spesification* yang telah ditetapkan selama masa penyimpanan dan penggunaan (Primadiamanti1 *et al.*, 2017). Uji stabilitas dilaksanakan menggunakan metode *cyling test*, di mana sediaan disimpan pada suhu 40°C selama 24 jam. Siklus yang diamati mencakup perubahan fisik, termasuk organoleptik, homogenitas, pH, dan daya sebar.

3.9. Analisis Data

Analisis data dari pengujian aktivitas antioksidan bunga telang (*Clitoria ternatea* L). Yang telah dihitung % inhibisi dilanjutkan dengan Pengukuran besarnya aktivitas antioksidan diukur dengan menggunakan nilai IC_{50} , yang menunjukkan konsentrasi larutan sampel yang diperlukan untuk menghambat 50% dari aktivitas radikal bebas. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan Microsoft Excel untuk mendapatkan persamaan dari regresi linier. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas antiosidannya semakin tinggi. Analisis data secara statistik dilakukan menggunakan GraphPad prims versi 10 dengan metode uji *one way* ANOVA taraf kepercayaan 95%.

3.10 Diagram Alir Penelitian



Gambar 3. 2 Diagram Alir Penelitian