# BAB III

# METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Terpadu Universitas Muslim Nusantara Al- Washliyah Medan. Metode penelitian ini adalah eksperimental. Penelitian ini meliputi sediaan pemeriksaan mutu, sediaan uji efektifitas, uji iritasi, terhadap formulasi dan uji kesukaan (*hedonic test)* terhadap variasi sediaan yang dibuat.

## 3.1 Alat Dan Bahan

### 3.1.1 Alat – alat

Alat-alat yang digunakan antara lain : *Rotary evaporator*, neraca digital, penangas air, lumpang dan stamper, batang pengaduk, spatula, sudip, tisu, kaca objek, cawan penguap, pipet tetes, wadah *lip balm.*

### 3.1.2 Bahan – bahan

Bahan – bahan yang digunakan antara lain : ekstrak kulit pisang Raja, minyak jarak *(oleum ricini),* *Propilen glikol*, *cera alba, oleum cacao*, nipagin, gliserin, butil hidroksitoluen (BHT) dan *twenn 80.*

## 3.2 Pengumpulan Dan Pengolahan Bahan Tumbuhan

### 3.2.1 Pengumpulan Tumbuhan

 Pengambilan tumbuhan dilakukan secara purposif yaitu tanpa membandingkan dengan daerah lain. Sampel yang digunakan adalah kulit buah pisang raja masak segar yang di dapat dari pasar simpang limun Medan

### 3.2.2 Identifikasi Tumbuhan

 Identifikasi tumbuhan dilakukan di HERBARIUM MEDANESE (MEDA) Universitas Sumatera Utara.

**3.3** **Karakterisasi Simplisia**

Karakterisasi simplisia meliputi pemeriksaan makroskopik, mikroskopik, penetapan kadar air, penetapan kadar sari larut dalam air, penetapan kadar sari larut dalam etanol, penetapan kadar abu total, dan penetapan kadar abu yang tidak larut dalam asam (Ditjen POM, 1995)

### 3.3.1 Pemeriksaan Makroskopik

Pemeriksaan makroskopik dilakukan dengan cara melihat bentuk, warna, bau, dan rasa dari simplisia kulit pisang raja (*musa paradisiaca* L.)

### 3.3.2 Pemeriksaan Mikroskopik

Pemeriksaan mikroskopik dilakukan serbuk simplisia Kulit Pisang Raja (*musa paradisiaca* L.) dengan cara serbuk simplisia diletakkan diatas objek glass yang ditetesi kloralhidrat dan ditutup dengan deck glass, difiksasi diatas bunsen, kemudian diamati dibawah mikroskop.

### 3.3.3 Penetapan Kadar Air Simplisia

 Penetapan kadar air dilakukan dengan metode Azeotropi (Destilasi Toluen). Kedalam labu kering dari alat untuk penentuan kadar air ditambahkan 200 ml touluene dan 2 ml air suling, lalu didestilasi selama 2 jam. Setelah 2 jam touluene di dinginkan selama 30 menit, kemudian volume air dalam tabung penampung dari alat penentuan kadar air dibaca ketelitian 0,05 ml, selanjutnya dimasukkan 5 gram bahan sampel yang telah ditimbang kedalam labu, lalu dipanaskan selama 15 menit. Setelah touluen mulai mendidih kecepatan diatur 2 tetes tiap detik. Setelah sebagiam terdestilasi kecepatan tetesan menjadi 4 tetes tiap detik dengan cara menaikkan suhu. Setela volume tidak bertambah lagi bagian dalam pendingin dibatasi toluene. Destilasi dilanjutkan kembali selama 5 menit kemudian tabung penerima dibiarkan mendingin sampai suhu kamar. Volume air dibaca setelah air dan toulene memisah campuran. Selisih kedua volume air yang telah dibaca sesuai dengan kandungan air yang terdapat dalam bahan yang diperiks. Kadar air yang dihitung dalam persen terhadap bahan yang telah dikeringkan diudara (Depkes RI, 1989).

Kadar air $=\frac{(Volume air akhir-Volume air awal)}{Berat Simplisia}x 100\%$

### 3.3.4 Penetapan Kadar Sari Larut Dalam Air

 Sebanyak 5 gram simplisia yang telah dikeringkan di udara, dimaserasi selama 24 dalam 100 ml campuran klorofom (2,5 ml kloroform dalam air suling sampai 1L dalam labu tersumbat sambil sesekali dikocok selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam, lalu disaring. Sejumlah 20 ml filtrat diuapkan sampai kering dalam cawan penguap berdasar rata yang telah dipanaskan diantaranya, sisanya dipanaskan diantaranya, sisanya dipanaskan pada suhu 105̊C sampai bobot tetap kadar dalam persen sari yang larut dalam air dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan diudara (Depkes RI, 1995).

 Kadar Sari Larut Dalam Air $=\frac{Berat Sari}{Bobot Simplisia}x100\%$

### 3.3.5 Penetapan Kadar Sari Larut Dalam Etanol

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia yang telah dikeringkan diudara dimaserasi selama 24 jam dalam 100 ml etanol 96% dalam labu bersumbat sambil dikocok sesekali selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam. Lalu disaring cepat untuk menghindari penguapan etanol, sejumlah 20 ml filtrat diauapkan sampai kering dalam cawan penguap berdasar rata yang telah dipanaskan dan ditara. Sisanya dipanaskan pada suhu 105̊C sampai bobot tetap kadar dalam persen sari yang larut dalam etanol 96% dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan diudara (Depkes RI, 1995).

 Kadar Sari Larut Dalam Etanol $=\frac{Berat Sari}{Bobot Simplisia}x100\%$

### 3.3.6 Penetapan Kadar Abu Total

 Sebanyak 2 gram serbuk telah digerus ditimbang seksama, dimasukkan kedalam krus porselin yang telah dipijar dan ditara, kemudian diratakan. Krus dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, pemijaran dilakukan pada suhu 500-600̊C selama 3 jam kemudian didinginkan dan ditimbang hingga diperoleh bobot tetap. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan (Depkes RI, 1995).

 Kadar Abu Total $=\frac{Berat Abu}{Bobot Simplisia}x 100\%$

### 3.3.7 Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Dalam Asam

 Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu total, didinginkan dengan 25 ml asam klorida encer selama 5 menit, bagian yang tidak larur dalam asam dikumpulkan, disaring melalui kertas saring bebas abu, kemudian dicuci dengan air panas, residu dengam kertas dipijarkan sampai bobot tetap, kemudian didinginkan dan ditimbang. Kadar abu tidak larut dalam asam ditimbang terhadap bahan yang telah dikeringkan diudara (Depkes RI, 1995).

 Kadar Abu Tidak Larut Dalam Asam $=\frac{Berat Abu}{Bobot Simplisia}x 100\%$

## 3.4 Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Pisang Raja ( *Musa paradisiaca* L)

Sebanyak 10 bagian serbuk kulit buah pisang raja (*Musa paradisiaca* L) dimasukkan dalam bejana, tuang dengan 75 bagian etanol 96% tutup dan diamkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk, kemudian di enap tuangkan dan dibilas ampas dengan etanol 96% secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Pindahkan dalam bejana tertutup, biarkan ditempat sejuk dan terlindung dari cahaya selama 2 hari, kemudian disaring. Setelah itu dipekatkan dengan cara diuapkan pada *Rotary evaporator* dengan suhu tidak lebih dari 50̊C hingga diperoleh ekstrak kental kulit buah pisang raja (*Musa paradisiaca* L)

## 3.5 Skrininig Fitokimia

Tujuan dilakukan skrining fitokimia adalah untuk mengetahui golongan metabolit sekunder yang terkandung dalam Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca* L) dalam keadaan serbuk dan ekstrak. Adapun golongan senyawa yang diperiksa meliputi pemeriksaan alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid/steroid, tanin, dan glikosida.

### 3.5.1 Uji Alkaloida

Sampel rimpang Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca* L) dalam keadaan serbuk atau ekstrak ditimbang sebanyak 0,5 gram, kemudian kedalam masing-masing sampel ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N (suasana asam) dan ditambahkan aquades sampai 9 ml, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didingankan dan disaring filtrat yang diperoleh diugunakan untuk percobaan alkaloida, keadaan 3 tabung sebagai berikut:

1. 3 tetes filtrat ditambahkan 2 tetes pereaksi mayer akan menghasilkan endapan berwarna putih/kuning.
2. 3 tetes filtrat ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardad akan menghasilkan endapan berwarna coklat sampai hitam.
3. 3 tetes filtrat ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorf akan menghasilkan endapan berwarna merah/jingga.

Alkaloid positif jika terjadi endapan atau kekeruhan paling sedikit dua dari tiga percobaan diatas (Ditjen POM, 1995)

### 3.5.2 Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram serbuk simplisia dan ekstrak kental ditimbang kemudian ditambahkan 10 ml air panas dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas. Kedalam 5 ml filtrat ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium, 1 ml asam klorida pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan timbulnya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes RI, 1995).

### 3.5.3 Uji Saponin

Sebanyak 0,5 gram serbuk simplisia dan ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas didinginkan kocok selama 10 detik. Jika terbentuk busa tinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 N menunjukkan adanya saponin (Depkes RI, 1995).

### 3.5.4 Uji Triterpenoid/Steroid

Sebanyak 5 gram simplisia dan ekstrak kental dimaserasi dalam 20 ml n-Heksan selama 2 jam kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 ml diuapkan dalam cawan penguap sampai kering. Kedalam residu ditambahkan 20 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat (pereaksi Lieberman-Buchardad). Terbentuknya warna ungu atau merah menjadi biru hijau menunjukkan adanya steroida atau triterpenoid (Harbone, 1987).

### 3.5.5 Uji Tanin

Sebanyak 0,5 gram serbuk dan ekstrak kental disari dengan 10 ml air suling lalu disaring. Filtratnya diencerkan dengan air sampai tidak berwarna. Larutan diambil sebanyak 2 ml dan ditambahkan 1-2 tetes pereaksi FeCl3 1%. Jika terjadi warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Depkes RI, 1995).

### 3.5.6 Uji Glikosida

Ditimbang 3 gram serbuk simplisia dan ekstrak kental disaring dengan 30 ml campuran etanol 96% dengan aquades (7:3) dan 10 ml H2So4 2N direfluks selama 2 jam didinginkan dan disaring. Pada 20 ml filtrat ditambahkan 25 ml air dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 N dikocok, didiamkan selama 5 menit lalu disaring. Filtrat disari dengan 20 ml campuran isopropanol dan klorofom (2:3) dilakukan berulang 3 kali. Dikumpulkan sari lalu diuapkan pada temperature tidak lebih dari 59̊C sisanya dilarutkan dalam 2 ml methanol.

Larutan sisa digunakan untuk percobaan sebagai berikut: diambil 0,1 ml larutan percobaan dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian diuapkan diatas penangas air. Pada sisanya ditambahkan 2 ml air suling dan ditambahkan 5 tetes pereaksi molish, kemudian secara perlahan-lahan ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat. Glikosida positif apabila terbentuk cincin berwarna ungu pada larutan cairan (Depkes RI, 1989).

## 3.6 Formulasi Sediaan Pelembab Bibir *(lip balm)*

### 3.6.1 Formulasi Standart

Formula dasar yang yang dipilih pada pembuatan pelmbab bibir (*lip balm*) dalam penelitian ini dengan komposisi sebagai berikut

R/ Ekstrak Kulit Buah Pisang Raja

 Propilen glikol 0,5g

 Cera Alba 1 g

Gliserin 1 g

 Minyak jarak 1,5g

 Tween 80 0,2g

 Nipagin 0,02g

 BHT 0,005g

 Oleum Cacao ad 20g

**Tabel 3. 1 Formula sediaan pelembab bibir (lip balm) ekstrak kulit pisang raja ( *Musa paradisiaca* L) 100 gram pelembab bibir.**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Komposisi  | Kegunaan  | Formula (%) |
| F0 | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 |
| Ekstrak Kulit Pisang Raja | Zat aktif | 0 | 1% | 3% | 5% | 10% | 15% |
| Propilen glikol  | Pelarut | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 |
| Cera alba  | Basis | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Minyak jarak | Pelarut | 12,5 | 12,5 | 12,5 | 12,5 | 12,5 | 12,5 |
| Tween 80  | Pengemulsi | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Nipagin  | Pengawet | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Gliserin  | Humektan | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| BHT | Antioksidan | 0,025 | 0,025 | 0,025 | 0,025 | 0,025 | 0,025 |
| Oleum cacao ad | Basis | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |

### 3.6.2 Prosedur Pembuatan Pelembab Bibir *(Lip Balm )*

Oleum cacao dan cera alba dilelehkan dalam cawan terpisah. kemudian di dalam lumpang panas dimasukkan gliserin, ekstrak kulit buah pisang raja dan tween 80. Kemudian sedikit demi sedikit ditambahkan minyak jarak, propilen glikol, nipagin dan BHT sambil terus di gerus, setelah di gerus hingga homogen di tambahkan cera alba dan basis oleum cacao dan di gerus cepat hingga homogen. Selagi campuran cair dimasukkan ke dalam wadah lip balm.

## 3.7 Evaluasi Sediaan Pelembab Bibir *(Lip Balm)*

Pemeriksaan mutu fisik dilakukan terhadap sediaan pelembab bibir. Evaluasi dilakukan terhadap mutu fisik,keamanan, efektivitas dan tingkat kesukaan sediaan pelembab bibir ektrak kulit pisang raja. Evaluasi mutu fisik meliputi : uji homogenitas, uji titik lebur, uji pH, dan uji stabilitas yang mencakup pengamatan terhadap perubahan bentuk, warna dan bau dari formulasi. Evaluasi keamanan melalui uji iritasi. Evaluasi efektifitas melalui uji kelembaban menggunakan alat *skin analyzer.* Evaluasi tingkat kesukaan melalui uji kesukaan (*hedonic test*).

### 3.7.1 Uji Homogenitas

Masing-masing sediaan pelembab bibir diperiksa homogenitasnya dengan cara mengoleskan sejumlah tertentu sediaan pada kaca transparan, lalu diamati. Sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya warna yang tidak merata (Ditjen POM,1979).

### 3.7.2 Uji Titik Lebur Pelembab Bibir *(Lip Balm)*

Pemeriksaan titik lebur dilakukan dengan cara melebur pelembab bibir. Suhu lebur pada pelembab bibir diatur hingga mendekati suhu bibir, yaitu 36- 38°C. Akan tetapi, karena harus memperhatikan faktor ketahanan terhadap suhu atau cuaca sekelilingnya, maka suhu lebur pelembab bibir dibuat lebih tinggi, yang dianggap lebih sesuai, yaitu ± 62°C, biasanya berkisar antara 55-75 °C (Ditjen POM, 1985).

Pengamatan dilakukan terhadap titik lebur pelembab bibir dengan cara pelembab bibir dimasukkan ke dalam oven dengan suhu awal 50°C selama 15 menit, diamatiapakah pelembab bibir meleleh atau tidak, setelah itu suhu dinaikkan 1°C setiap 15 menit dan diamati pada suhu berapapelembab bibir mulai meleleh. Sediaan pelembab bibir yang baikadalah sediaan pelembab bibir dengan titik lebur dengan suhu di atas 50°C (Vishwakarma,dkk., 2011).

### 3.7.3 Uji Pemeriksaan pH Sediaan

Penentuan pH sediaan dilakukan dengan menggunakan alat pH meter. Cara kerja: Alat terlebih dahulu dikalibrasi dengan menggunakan larutan dapar standar netral (pH 7,01) dan larutan dapar pH asam (pH 4,01) hingga alat menunjukkan harga pH tersebut. Kemudiaan elektroda dicuci dengan air suling, lalu dikeringkan dengan tisu. Sampel dibuat dengan konsentrasi 1% yaitu ditimbang 1 g sediaan dilarutkan dalam air suling yang sudah dipanaskan hingga 100 ml dan biarkan hingga dingin. Kemudian elektroda dicelupkan dalam larutan tersebut. Alat dibiarkan sampai menunjukkan harga pH konstan. Angka yang ditunjukkan pH meter merupakan pH sediaan (Rawlins, 2003).

### 3.7.5 Uji Stabilitas Sediaan

Uji stabilitas sediaan *lip balm* yang mengandung ekstrak kulit pisang raja di evaluasi stabilitasnya meliputi organoleptis (warna, bau, dan bentuk). Stabilitas sediaan *lip balm* dilakukan selama penyimpanan 28 hari pada suhu kamar ,serta diamati pada hari ke 1, 7, 14, 21, dan 28 (Chandira dkk, 2010).

### 3.7.6 Uji Iritasi

Uji iritasi dilakukan dengan cara mengoleskan sediaan uji pada kulit normal panel manusia untuk mengetahui apakah sediaan tersebut dapat menimbulkan iritasi pada kulit atau tidak. Teknik yang digunakan pada uji iritasi ini adalah uji tempel terbuka (*opentest*) pada lengan bawah bagian dalam terhadap 10 orang panelis. Uji tempel terbuka dilakukan dengan mengoleskan sediaan yang dibuat pada lokasi lekatan dengan luas tertentu (2,5 x 2,5 cm), dibiarkan terbuka dan diamati apa yangterjadi. Uji ini dilakukan sebanyak 3 kali sehari selama 3 hari berturut-turut (Tranggono dan Latifah, 2007).

Kriteria panelis uji iritasi (Ditjen POM, 1985) :

1. Wanita
2. Usia antara 20-30 tahun
3. Berbadan sehat jasmani dan rohani
4. Tidak memiliki riwayat penyakit alergi
5. Menyatakan kesediaannya dijadikan panelis uji iritasi

Indeks iritasi (Ditjen POM, 1985) :

1. Tidak ada reaksi -
2. Eritema +
3. Eritema dan papula ++
4. Eritema, papula dan vesikula +++
5. Edema dan vesikula ++++

### 3.7.6 Uji Efektivitas Sediaan Pelembab Bibir *(lip balm)*

Pengujian efektivitas sediaan yang di lakukan terhadap 21 sukarelawan dengan menggunakan alat skin analyzer.Pengujian dengan membandingkan kulit sebelum dan sesudah pemakaian sediaan dengan nilai parameter kandungan minyak (Ratih, 2014).

### 3.7.7 Uji Kesukaan *(Hedonic Test)*

Uji kesukaan atau *hedonic* ini dilakukan untuk mengetahui tingkat kesukaan panelis terhadap sediaan *lip balm* yang di buat dari ekstrak kulit pisang raja. Uji kesukaan dilakukan secara visual terhadap 20 orang panelis yang bersedia. Setiap panelis memberikan penilaian pada lembar penilaian terhadap masing-masing *lip balm* berdasarkan tekstur atau bentuk dan aromanya.

Kriteria panelis uji kesukaan *(hedonic test)* yaitu :

1. Tertarik tehadap uji yang dilakukan dan mau bepartisipasi terhadap pengujian
2. Konsisten dalam mengambil keputusan
3. Bebadan sehat