**BAB III METODE PENELITIAN**

**3.1 Rancangan Penelitian**

Metode penelitian ini adalah metode *True Eksperimental* dan dengan rancangan pnelitian yang digunakan adalah *Post Test Control Grup Design* dimana hasil telah diamati setelah perlakuan selesai. Penelitian ini manggunakan sampel umbi bit dan bunga rosella. Tahapan pada penelitian ini meliputi penyajian sampel, karakterisasi simplisia, skrining fitokimia, pembuatan ekstrak dan nanoekstrak, formulasi pelembab bibir (*lip balm)*, evaluasi mutu fisik dan uji kelembaban.

**3.1.1 Variabel Penelitian**

Variabel penelitian terdiri dari variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas yaitu variasi konsentrasi kombinasi nanoekstrak umbi bit dan bunga rosella dan formulasi *lip balm*. Variabel terikat yaitu karakteristik simplisa, skrining fitokimia, karakteristik keseragaman partikel *lip balm* dan berbagai uji pemeriksaan mutu fisik sediaan *lip balm* dan uji kelembapan*.*

**3.1.2 Parameter Penelitian**

Parameter pada penelitian ini terdiri dari uji metabolit skumder, uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji titik lebur, uji iritasi, uji stabilitas, uji hedonic (kesukaan).

62

**3.2 Lokasi Penelitian dan Jadwal Penelitian**

**3.2.1 Lokasi Penelitian**

Lokasi penelitian dilakukan di laboratorium terpadu fakultas farmasi

Universitas Muslim Nusantara Al- Washliyah Medan

**3.2.2 Jadwal Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan selama 5 bulan dimulai pada bulan Januari

2023 sampai juni 2024

**3.3 Alat dan Bahan**

**3.3.1 Alat-alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu blender (philips), penangas air, spatula (sellaco), kaca objek (slides), cawan penguap (pyrex), pH meter, beaker glass (pyrex), gelas ukur (iwaki), wadah maserasi, batang pengaduk (indolap), *Homogenizer*, *Ultrasonik Homogenizer*, *Skin Moisture Analyzer, Particle size analyzer* (PSA), *Rotary Evaporator* (IKA) *,* Lumpang dan stamper (onemed), pipet tetes dan wadah *lip balm*

**3.3.2 Bahan-bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi bit, dan bunga rosella, gliserin, cera flava, nipagin, lanolin, oleum cacao, tween 80, minyak jarak, propilen glikol, etanol 80%, asam sitrat 3%, aquadest (onemed), asam klorida pekat (merck), asam sulfat pekat (merck), besi (III) klorida (merck), timbal (II) asetat (merck), raksa (II) klorida (merck), kalium iodida (merck), alfa- naftol (merck), asam nitrat pekat (merck), iodium (merck), bismuth (III) nitrat (merck), asam asetat glasial (merck), eter (merck), kloroform P (merck), natrium

sulfat anhidrat P (merck), metanol P (merck), asam kloralhidrat (merck), serbuk magnesium (merck), isopropanol (merck), asam asetat anhidrat (merck), amil alkohol (merck), natrium hidroksida (merck), toluen (merck).

**3.4 Penyiapan Sampel dan Pengolahan Sampel**

**3.4.1 Penyimpan Sampel**

Sampel tumbuhan umbi bit *(Beta vulgaris* L.*)* dan bunga rosella *(Hibiscus sabdarifa* L*.)* diambil dari daerah Kecamatan Kabanjahe, Kabupaten Karo, Sumatra Utara.

**3.4.2 Determinasi**

Determinasi/identifikasi sampel tumbuhan umbi bit *(Beta vulgaris* L.*)* dan bunga rosella *(Hibiscus sabdarifa* L*.)* dilakukan di Laboratorium Herbarium Medanese Universitas Sumatra Utara.

**3.4.3 Pengolahan Sampel**

Sampel umbi bit (*Beta vulgaris* L.) dan bunga rosella *(Hibiscus sabdarifa* L*.)* yang telah dikumpulkan 5 kg, disortasi basah yang bertujuan untuk memisahkan sampel dari kotoran-kotoran atau bahan asing yang ikut dalam pengumpulan sampel. Kemudian sampel dicuci bersih dengan air yang mengalir yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran atau tanah yang melekat. Setelah dicuci ditiriskan kemudian dirajang halus dan dikeringkan dengan cara di angin-anginkan diudara terbuka terlindung dari cahaya matahari langsung (Kemenkes RI, 2017).

Kemudian sampel ditimbang, selanjutnya dimasukkan kedalam lemari pengering dengan suhu 40-50°C. Proses pengeringan dilakukan sampai bahan

baku mudah dipatahkan. Lalu disortasi kering untuk memisahkan simplisia dari benda-benda asing yang ikut dalam proses pengeringan kemudian ditimbang kembali. Selanjutnya simplisia diserbukkan dengan menggunakan blender, kemudian diayak dan ditimbang kembali. Serbuk simplisia yang diperoleh disimpan dalam satu wadah bersih yang tertutup rapat dan disimpan pada suhu kamar dan terlindung cahaya. Selanjutnya serbuk sari umbi bit dan bunga rosella ini digunakan untuk uji skrining fitokimia dan formulasi sediaan *Lip balm* (Kemenkes RI, 2017).

**3.5 Karakterisasi Simplisia**

Pemeriksaan karakterisasi simplisia meliputi: pemeriksaan makroskopik simplisia, pemeriksaan mikroskopik serbuk simplisia, penetapan kadar air, penetapan kadar sari larut dalam air, penetapan kadar sari larut dalam etanol, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam (Kemenkes RI,

2017).

**3.5.1 Pemeriksaan Makroskopik Simplisia**

Analisis makroskopik dilakukan dengan pengamatan secara organoleptis antara lain bentuk, bau, warna dan rasa umbi bit *(Beta vulgaris* L.*)* dan bunga rosella *(Hibiscus sabdarifa* L.*)* (Yulia et al., 2022).

**3.5.2 Pemeriksaan Mikroskopik Simplisia**

Analisis mikroskopik dilakukan dengan mengamati bentuk sel dan jaringan tumbuhan pada penampang melintang dan membujur. Dimana simplisia yang sudah dihaluskan diletakkan diatas kaca objek, ditetesi aquadest, ditutup

dengan kaca penutup dan diamati dengan mikroskop kemudian diambil gambarnya (Yulia et al., 2022).

**3.5.3 Penetapan Kadar Air**

Penetapan kadar air menggunakan metode Azeotropi. Dimana menggunakan alat yaitu labu alas bulat 500 ml, alat penampung, pendingin, tabung penyambung dan penerima 10 ml.

Prosedur:

a. Penjenuhan Toluene

Sebanyak 200 ml toluene dan 2 ml aquadest dimasukkan kedalam labu alas bulat, lalu dipasangkan alat penampung dan pendingin. Kemudian dilakukan destilasi selama 2 jam. Destilasi dihentikan dan dibiarkan dingin selama 30 menit. Setelah itu volume air dalam tabung penerima dilihat dengan ketelitian 0,05 ml.

b. Penetapan Kadar Air

Sebanyak 5 gram serbuk simplisian, dimasukkan ke dalam labu yang berisi toluene jenuh. Kemudian dipanaskan dengan hati-hati selama 15 menit. Setelah toluene mendidih, kecepatan tetesan diatur 2 tetes untuk tiap detik sampai sebagian air terdestilasi. Lalu kecepatan destilasi dinaikkan sampai 4 tetes tiap detik. Setelah semua air terdestilasi, bagian pendingin dibilas dengan toluene. Destilasi dilanjutkan selama 5 menit, kemudian tabung penerima dibiarkan dingin pada suhu kamar. Setelah air dan toluene memisah sempurna, volume air dibaca dengan ketelitian 0,05 ml. Selisih kedua volume air dibaca sesuai dengan kandungan air yang terdapat pada simplisia yang diperiksa. Lalu kadar air

dihitung dalam persen (v/b) (Depkes RI, 1995).

( )

% Kadar Air Simplisia

( )

**3.5.4 Penetapan Kadar Sari Larut Dalam Air**

Sebanyak 5 g serbuk simplisia dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml kloroform P (2,5 ml kloroform dalam 100 ml aquadest) dalam labu bersumbat sambil sekali-sekali dikocok selama 6 jam pertama, kemudian diamkan selama 18 jam. Disaring cepat 20 ml filtrate diuapkan dalam cawan dangkal dasar rata (yang telat ditara) di atas penangas air hingga kering, sisa dipanaskan pada suhu 105˚C hingga bobot tetap. Hitung kadar persen terhadap bahan yang telah dikeringkan di

udara (Depkes RI ,1989).

( )

% Kadar Sari Larut Air

( )

**3.5.5 Penetapan Kadar Sari Larut Dalam Etanol**

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml etanol 96% dalam labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama, lalu dibiarkan selama 18 jam. Setelah itu disaring cepat untuk mengindari penguapan etanol, lalu diuapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan penguap berdasarkan rata yang telah ditara 20 ml. Dipanaskan sisa pada suhu 105℃ hingga bobot tetap. Kadar dalam persen sari yang larut dalam etanol

96% dihitung terhadap simplisia yang dikeringkan diudara (Depkes RI, 1979).

% Kadar Sari Larut Etanol ( ) ( )

**3.5.6 Penetapan Kadar Abu Total**

Sebanyak 2 gram ekstrak dimasukkan kedalam krus porselin yang telah dipijarkan dan ditara, lalu krus dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis. Pemijaran dilakukan pada suhu 500-600℃ selama 3 jam. Setelah didinginkan dan

ditimbang hingga diperoleh bobot tetap. Kemudian kadar abu dihitung terhadap

simplisia yang diuji (Depkes RI, 1979).

% Kadar Abu Total

( )

**3.5.7 Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam**

Hasil abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu total, didinginkan dengan 25 ml asam klorida encer selama 5 menit. Kemudian sebagian yang tidak larut dalam asam dikumpulkan, lalu disaring dengan kertas saring bebas abu. Setelah itu dicuci dengan air panas, residu dengan kertas saring dipijarkan sampai bobot tetap. Kemudian didinginkan dan ditimbang. Dihitung kadar abu tidak larut

asam yang telah dikeringkan diudara (Depkes RI, 1979).

% Kadar Abu Tidak Larut Asam

( )

**3.6 Pembuatan Larutan Preaksi**

**3.6.1 Larutan Preaksi Natrium Hidroksida 2 N**

Sebanyak 8 g natrium hidroksida, dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 ml, lalu dilarutkan dengan aquades hingga volume 100 ml (Depkes RI, 1995).

**3.6.2 Larutan Pereaksi Asam Nitrat 0,5 N**

Asam nitrat pekat sebanyak 44,3 ml dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml, lalu diencerkan dengan aquades sampai garis tanda (Depkes RI, 1995).

**3.6.3 Larutan Pereaksi Asam Sulfat 2 N**

Asam sulfat pekat 10,32 ml dipipet lalu dimasukkan ke dalam gelas kimia

100 ml, lalu diencerkan dengan aquades sampai garis tanda (Depkes RI, 1995).

**3.6.4 Larutan Asam Klorida 2 N**

Asam klorida pekat sebanyak 19,71 ml dipipet, lalu dimasukkan kedalam gelas kimia 100 ml lalu diencerkan dengan aquades sampai garis tanda (Depkes RI, 1995).

**3.6.5 Larutan Pereaksi Timbal (II) Asetat 0,4 M**

Timbal (II) asetat sebanyak 15,17 g dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml, lalu dilarutkan dalam aquades bebas CO2 sampai garis tanda.(Depkes RI,

1995).

**3.6.6 Larutan Pereaksi Besi (III) Klorida 1 %**

Besi (III) klorida sebanyak 1 g dilarutkan dalam aquades dalam labu ukur

100 mL dan dicukupkan sampai garis tand (Depkes RI, 1995).

**3.6.7 Larutan Pereaksi Kloral hidrat 70%**

Kloral hidrat sebanyak 50 g ditimbang lalu dilarutkan dalam 20 ml

Aquades didalam erlenmeyer (Depkes RI, 1995).

**3.6.8 Laratan Pereaksi Molish**

Sebanyak 3 g alfa-naftol dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml lalu dilarutkan dalam asam nitrat 0,5 N sampai garis tanda (Depkes RI, 1995).

**3.6.9 Larutan Pereaksi Liebermann-Burchard**

Asam asetat anhidrat sebanyak 20 ml dipipet lalu dicampurkan dengan 1 ml asam sulfat pekat dalam gelas ukur (Depkes RI, 1995).

**3.6.10 Larutan Pereaksi Mayer**

Raksa (II) klorida sebanyak 1,35 g dilarutkan dengan 60 ml aquades di dalam gelas ukur 100 ml. pada wadah lain dilarutkan 5 g kalium iodide dalam 10

ml aquades. Kedua larutan dicampur dalam labu ukur 100 ml, lalu diencerkan dengan aquades sampai daris tanda (Depkes RI, 1995).

**3.6.11 Larutan Pereaksi Dragendorff**

Sebanyak 20 ml larutan bismuth nitrat 40% b/v dalam asam nitratdicampur dengan 50 ml larutan kalium iodide P 54,4% b/v, diamkan sampai memisah sempurna. Ambil larutan jernih dan encerkan dengan air secukupnya hingga

100 ml (Depkes RI, 1995).

**3.6.12 Larutan Pereaksi Bouchardat**

Ditimbang sebanyak 4 g kalium iodida, dimasukkan dalam labu tentukur

100 ml, dilarutkan dengan akuades secukupnya, kemudian ditimbang 2 g iodida dan dilarutkan dalam larutan kalium iodida, lalu ditambahkan dengan akuades hingga batas tanda (Depkes RI, 1995).

**3.6.13 Larutan Etanol 80%**

Untuk membuat 2 liter etanol 80% diukur sebanyak 1,7 liter etanol 96%

kemudian ditambahkan aquadest sampai 300 ml (Kristiana et al., 2012).

**3.7 Pembuatan Ekstrak Etanol Umbi Bit dan Bunga Rosella**

Perbandingan ekstraksi yang digunakan yaitu 1:4 sebanyak 2.000 ml. Dalam wadah maserasi, serbuk simplisia 500 gram dimasukkan. Proporsi bahan dan pelarut untuk maserasi adalah 85:15. Selanjutnya, encerkan etanol 96% dengan aquadest menjadi etanol 80% sebanyak 1.700 ml. Kemudian, larutkan

9 gram asam sitrat 3% dengan aquadest sebanyak 300 ml. Kemudian kedua pelarut dimasukkan ke dalam wadah maserasi. Kemudian ditutup dan dibiarkan terlindung dari cahaya matahari selama 1×24 jam sambil sering diaduk. Kemudian

di saring, hasil maserat langsung diperiksa dengan pH meter, dengan pH yang diinginkan antara 4,0 dan 6,5. Kemudian, dengan alat *rotary evaporator*, hasil maserat diuapkan pada suhu ± 50°C, dan kemudian maserat di *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental lalu ditimbang (Kristiana et al., 2012).

**3.8 Skrining Fitokimia**

**3.8.1 Pemeriksaan Flavonoid**

Ditimbang sebanyak 10 gram ekstrak simplisia kemudian ditambahkan

100 ml aquadest panas dan dididihkan selama 5 menit. Kemudian saring, filtrat diambil 5 ml lalu dimasukkan dalam tabung reaksi. Ditambahkan 1 ml HCl 2N pekat dan 2 ml amil alkohol, lalu masukkan 0,1 gram serbuk Mg. Diamati perubahan terbentuknya warna merah tua, kuning, jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes RI, 1989).

**3.8.2 Pemeriksaan Alkaloid**

Ditimbang sebanyak 0,5 gram ekstrak simplisia lalu ditambahkan 1 ml HCl 2 N dan 9 ml aquadest. Selanjutnya dipanaskan di atas hot plate magnetic stirrer. Kemudian didinginkan lalu disaring untuk mendapatkan filtrat. Setelah itu dilakukan pemeriksaan alkaloid:

a. Tabung Reaksi I : diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi mayer mengahsilkan endapan putih/kuning.

b. Tabung Reaksi II : diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi bouchardat menghasilkan endapan coklat kehitaman.

c. Tabung Reaksi III : diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi dragendroff menghasilkan endapan merah bata atau jingga kecoklatan.

Diamati perubahan yang terjadi pada ketiga tabung reaksi tersebut (Depkes RI,

1989).

**3.8.3 Pemeriksaan Tanin**

Ditimbang sebanyak 0,1 gram ekstrak lalu dilarutkan dalam 10 ml etanol

96%. Larutan diambil 2 ml dan dimasukkan ke tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 1-2 tetes larutan pereaksi besi (III) klorida 10% dan apabila positif tanin akan terbentuk warna biru atau hijau kehitaman (Depkes RI, 1989).

**3.8.4 Pemeriksaan Saponin**

Ditimbang 0,1 gram ekstrak lalu dilarutkan dalam 10 ml air panas dan dididihkan. Kemudian filtrat disaring, dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Dikocok vertical selama 10 detk. Apabila positif saponin akan terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan buih tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N (Depkes RI, 1989).

**3.8.5 Pemeriksaan Glikosida**

Ditimbang serbuk 3 gram ekstrak ditambahkan 30 ml campuran etanol

96% dengan aquadest (7:3) selama 10 menit, dinginkan lalu saring. Diambil 20 ml filtrat tambahkan 25 ml air dan 25 ml timbal (II) asetat 0, 4 M. Lalu dikocok, diamkan selama 5 menit, saring. Saring filtrat 3 kali, tiap kali dengan 20 ml campuran 3 bagian kloroform P dan 2 bagian isopropanol P. Setelah itu kumpulkan sari tambahkan natrium sulfat anhidrat P, saring dan uapkan pada suhu tidak lebih 50℃. Lalu larutkan sisa dengan 2 ml methanol P (Depkes RI, 1989).

**3.8.6 Pemeriksaan Triterpenoid/Steroid**

Sebanyak 0,1 gram ekstrak dilarutkan dalam 10 ml etanol 96% kemudian ditetesi sebanyak 2ml di atas cawan keramik. Selanjutnya diuapkan di atas hot plate magnetic stirrer. Selanjutnya residu dilarutkan dengan 0,5 ml kloroform lalu ditambahkan 0,5 ml asam asetat glasial. Kemudian diteteskan asam sulfat pekat melalui dinding cawan keramik. Triterpenoid positif apabila terbentuk warna ungu kemerahan . Positif steroid apabi la terbentuk warna ungu kemerahan (Depkes RI, 1995).

**3.8.7 Pemeriksaan Antosianin**

Perlakuan pertama sampel ekstarak umbi bit dan bunga rosella dilarutkan alkohol yang dipanaskan lalu ditambahkan HCl 2M menghasilkan timbul warna merah pada sampel, sehingga dapat dikatakan positif adanya kandungan antosianin pada sampel umbi bit dan bunga rosella (Rahayu et al., 2022).

**3.9 Pembuatan Nanoekstrak Umbi bit dan Bunga rosella**

Ekstrak umbi bit dan bunga rosella yang diperoleh selanjutnya di *homogenizer* dengan kecepatan 1.700 rpm selama 1 jam untuk memperkecil partikel. Kemudian dimasukkan ke dalam *ultasonic homogenizer* selama 1 jam. Selanjutnya pengujian karakterisasi nanoekstrak umbi bit dan bunga rosella menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) untuk mengetahui ukuran partikel dari nanoekstrak umbi bit dan bunga rosella (Ningrum et al., 2021).

**3.10 Formulasi Sediaan *Lip Balm***

Sediaan *lip balm* diformulasikan dengan menggunakan bahan pelembab berupa campuran dari nanoekstrak umbi bit dan bunga rosella dengan perbandingan kombinasi konsentrasi 6:4, 4:6, 5:5.

**3.10.1 Formulasi dasar sediaan *Lip Balm***

Formulasi sediaan *Lip Balm* dibuat dengan menggunkan formula dasar yang dipilih dari formula hasil penelitian sebelumnya (Tampubolon, 2023).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| R/ | Gliserin | 5 |
|  | Cera flava | 11 |
|  | Nipagin | 0,18 |
|  | Lanolin | 15 |
|  | Oleum cacao ad | 100 |

**3.10.2 Modifikasi Formula Nanoekstrak Sediaan *Lip balm***

Setelah dilakukan modifikasi formula, maka formula yang digunakan dalam Formula sediaan *lip balm* pada penelitian ini adalah : (Tampubolon, & Siregar, 2023).

**Tabel 3.1 Rancangan Formula sediaan *lip balm***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Komposisi** | **Kegunaan** | **Formula (g)** |
| **F0** | **NUB :****NBR (6 : 4) F1** | **NEB :****NBR (4 : 6) F2** | **NUB :****NBR (5 : 5) F3** |
| ENUB | Zat aktif | 0 | 6 | 4 | 5 |
| ENBR | Zat aktif | 0 | 4 | 6 | 5 |
| Glycerin | Humektan | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Cera Flava | Pengeras | 11 | 11 | 11 | 11 |
| Nipagin | Pengawet | 0,18 | 0,18 | 0,18 | 0,18 |
| Lanolin | Emolien | 15 | 15 | 15 | 15 |
| Tween 80 | Pengemulsi | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Propilen glikol | Pelarut | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 |
| Propilen glikol | Pelarut | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 |
| Minyak Jarak | Pelarut | 12,5 | 12,5 | 12,5 | 12,5 |
| Oleum cacaoAd | Basis | 100 | 100 | 100 | 100 |

Keterangan : NUB = Nanoekstrak Umbi Bit

NBR = Nanoekstrak Bunga Rosella

**3.10.3 Prosedur Formula Nanoekstrak Sediaan *Lip balm***

Basis sediaan dalam peneltiaan ini yaitu lemak coklat dilelehkan diatas penangas air pada suhu lelehnya yaitu sekitar 31-34℃. Lemak coklat dimasukkan ke cawan penguap sambil diaduk sampai seluruh lemak coklat meleleh sempurna. Cera flava kemudian dilelehkan pada suhu lelehnya yaitu sekitar 62-64℃ diatas penangas air, kemudian dimasukkan kedalam lelehan basis tersebut. Minyak Jarak, lanolin, tween dan Nipagin dimasukkan kedalam lelehan basisis sambil terus diaduk menjadi massa 1. Nanoekstrak umbi bit dan bunga rosella dilrutkan dalam campuran glycerin dan propilen glikol menjadi massa 2 . Setelah itu masukkan massa 2 kedalam massa 1 sambil diaduk sampai homogen. lalu dimasukkan kedalam wadah *lip balm* dan dibiarkan pada suhu ruangan sampai membeku (Tampubolon, 2023).

**3.11 Pemeriksaan Mutu Fisik Sediaan**

Pemeriksaan mutu fisik dilakukan terhadap masing-masing sediaan *Lip balm*, meliputi: uji homogenitas, uji pH, uji iritasi, uji titik lebur, uji daya lekat, uji stabilititas yang mencakup pengamatan terhadap perubahan bentuk, warna, dan bau dari sediaan, dan uji hedonic (kesukaan).

**3.11.1 Uji Organoleptis**

Uji Organoleptik terdiri dari bau, warna dan bentuk, dapat dideteksi dengan panca indra (Iskandar et al., 2021).

**3.11.2 Uji Homogenitas**

Uji homogenitas dilakukan dengan menggunakan objek gelas. Sejumlah tertentu sediaan jika dioleskan pada sekeping kaca atau bahan transparan lain

yang cocok, sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar (Tampubolon, 2023).

**3.11.3 Uji pH**

Penentuan pH sediaan dilakukan dengan menggunakan alat pH meter. Cara kerja: Alat terlebih dahulu dikalibrasi dengan menggunakan dapar standar netral (pH 7,01) dan larutan dapar pH asam (pH 4,01) hingga alat menunjukkan harga pH tersebut. Kemudian elektroda dicuci dengan air suling, lalu dikeringkan dengan tisu. Sampel dibuat dengan konsentrasi 1% yaitu ditimbang 1 g sediaan sampel dilarutkan dalam air suling 100 mL. Kemudian elektroda dicelupkan dalam larutan tersebut. Alat dibiarkan sampai menunjukkan harga pH konstan. Angka yang ditunjukkan pH meter merupakan pH sediaan (Regar et al., 2022).

**3.11.4 Uji Iritasi**

Uji iritasi dilakukan terhadap sediaan yang dibuat dengan tujuan untuk mengetahui sediaan *lip balm* yang dibuat dapat menyebabkan iritasi pada kulit atau tidak. Metode dilakukan kepada 10 sukarelawan yang menyetujui. Pengujian dilakukan dengan cara masing-masing formula *lip balm* dioleskan pada bagian sensitive seperti di belakang telinga sukarelawan, kemudian didiamkan hingga kurang lebih 30 menit tanpa dibilas lalu ditinjau perubahan yang dialami. Jika iritasi ditandai dengan adanya kemerahan, gatal, dan panas pada kulit kemudian diamati gejala yang ditimbulkan, berupa erythema dan edema (Setiani & Endriyatno, 2023)

**3.11.5 Uji Stabilitas**

Stabilitas sediaan dilakukan dengan cara menyimpan sediaan selama 28 hari. Pengamatan sediaan dilihat setiap hari ke- 7, 14, 21 dan 28 di suhu ruang dan diamati adanya perubahan warna, bentuk dan aroma dari sediaan (Putridhika et al., 2022).

**3.11.6 Uji Titik Lebur**

Metode pengamatan titik lebur *lip balm* dilakukan dengan cara memasukkan lip balm ke dalam oven dengan suhu awal 50◦C selama 15 menit, diamati apakah melebur atau tidak, setelah itu dinaikkan 1◦C setiap 15 menit dan diamati pada suhu berapa *lip balm* mulai melebur (Tampubolon, 2023)..

**3.11.7 Uji Hedonic**

Uji kesukaan dilakukan secara visual terhadap 20 orang panelis. Setiap panelis diminta untuk mengoleskan formula sediaan yang dibuat pada pergelangan tangan panelis. Kemudian panelis memilih variasi mana yang paling disukai. Panelis mengisi kuisioner yang diberikan, parameter pengamatan pada uji kesukaan adalah tekstur, aroma dan warna) (Tampubolon, 2023). Dengan kategori skor yaitu:

a. Sangat suka : 4 b. Suka : 3 c. Kurang suka : 2 d. Tidak suka : 1

**3.12 Uji Kelembaban**

Pengujian Selanjutnya adalah pengujian efektifitas sediaan yang dilakukan terhadap 15 sukarelawan dengan menggunakan alat *skin analyzer.* Pangujian

dengan membandingkan keadaan kulit sebelum dan sesudah pemakaian sediaan dengan nilai parameter kelemban *(moist)*, kandungan minyak *(oil)* (Ratih et al., 2014)*.* Pengujian ini dilakukan dengan metode tempel terbuka *(open patch)* yaitu dengan cara mengoleskan sedikit *lip balm* yang telah dibuat pada lokasi lengan bawah bagian dalam sukarelawan. Pengujian ini dilakukan pengolesan pada lengan dengan luas olesan tertentu, serta dibiarkan terbuka kemudian diukur tingkat kelembapannya dengan *skin analyzer test*. Alat tekan tombol start dan tempelkan *probe* sensor pada kulit dengan tekanan lembut untuk memastikan *probe* menempel dengan sempurna pada kulit, tunggu beberapa detik dan akan muncul angka pada layar LCD alat *skin analyzer* (Wirata & Endriyanto, 2024).