

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi dalam penelitian ini sediaan *lip cream* dengan menggunakan ekstrak daun jati (*Tectona grandis* L.f.) sebagai zat warna.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan *lip cream* dengan menggunakan berbagai konsentrasi ekstrak daun jati (*Tectona grandis* L.f.) sebagai zat warna.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstrak daun jati (*Tectona grandis* L.f.) sebagai sumber zat warna alami pada sediaan *lip cream*.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Dalam penelitian, variabel menurut fungsinya dapat diklasifikasikan berdasarkan pola hubungan sebab akibat menjadi variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkontrol.

Variabel bebas merupakan faktor yang dianggap menentukan variabel lainnya. Variabel bebas untuk penelitian ini adalah variasi konsentrasi ekstrak daun jati (*Tectona grandis* L.f.) sebagai zat warna pada sediaan *lip cream*.

Variabel tergantung yaitu variabel akibat dari variabel utama. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah mutu fisik, keamanan, serta tanggapan kesukaan dari sediaan *lip cream*.

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah umur tanaman, waktu panen, kondisi fisik peneliti, cara pembuatan, dan kondisi laboratorium.

##### **3. Definisi operasional**

Pertama, daun jati adalah daun dari tanaman jati yang diperoleh dengan kondisi muda, bersih dan segar dari hutan jati di desa Krowe, kabupaten Magetan, Jawa timur pada bulan Januari 2019.

Kedua, ekstrak daun jati muda adalah ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi daun jati muda segar dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% yang telah dicampur dengan asam sitrat sebagai cairan penyari lalu dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator*.

Ketiga, *lip cream* adalah sediaan pewarna bibir dalam bentuk krim yang dibuat dengan ekstrak daun jati sebagai zat warna.

Keempat, evaluasi mutu fisik adalah parameter yang digunakan untuk mengetahui kualitas sediaan *lip cream* melalui uji organoleptis, homogenitas, pH, daya lekat, daya sebar, daya oles, fotostabilitas, dan stabilitas.

Kelima, evaluasi keamanan adalah parameter yang menyatakan keamanan sediaan *lip cream* melalui uji iritasi.

Keenam, uji kesukaan adalah pengujian dengan penilaian secara subyektif yang diberikan oleh sejumlah panelis terhadap sediaan *lip cream*.

## C. Bahan dan Alat

### 1. Bahan

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jati muda (*Tectona grandis* L.f.) yang diperoleh dari hutan jati di desa Krowe, kabupaten Magetan, Jawa timur.

Bahan kimia yang digunakan antara lain aquadest, etanol 96%, asam sitrat, minyak zaitun, *carnauba wax*, setil alkohol, *dimethicone*, titanium dioksida, BHT, minyak coklat, metil paraben, propil paraben, toluen, besi (III) klorida, serbuk magnesium, HCl pekat, amil alkohol, eter, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, pereaksi Mayer, dan pereaksi Bouchardat.

### 2. Alat

Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi dan pengujian ekstrak dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas laboratorium, botol maserasi, *beaker glass*, *vacuum rotary evaporator*, batang pengaduk, oven, timbangan digital, cawan porselen, kertas saring, oven, tabung reaksi, *moisture balance*, alat *sterling bidwell*, corong pisah, labu alas bulat, kondensor.

Alat yang digunakan untuk pembuatan dan evaluasi sediaan *lip cream* dalam penelitian ini meliputi penangas air, *moisture balance*, sudip, *object glass*, pH meter, alat uji daya lekat, alat uji daya sebar, kassa, plester, piknometer, dan wadah *lip cream*.

#### **D. Jalannya Penelitian**

##### **1. Determinasi**

Determinasi dilakukan di Universitas Setia Budi, Surakarta, Jawa Tengah. Determinasi dilakukan untuk menetapkan kebenaran sampel daun jati dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman jati yang dibuktikan di Universitas Setia Budi, Surakarta, Jawa Tengah.

##### **2. Persiapan bahan tanaman**

Daun jati muda yang muda dan segar diambil secara acak dari desa Krowe, kabupaten Magetan, Jawa Timur pada bulan Januari 2019 dalam keadaan segar. Daun kemudian dicuci dengan air mengalir yang bertujuan menghilangkan kotoran yang masih menempel dan dirajang untuk memperluas permukaannya sehingga reaksi berjalan lebih cepat.

##### **3. Pembuatan ekstrak daun jati**

Pembuatan ekstrak daun jati dilakukan menurut Hermawati *et al.* (2015) dan Irnawati *et al.* (2015). Daun jati muda yang sudah dirajang kemudian ditimbang sebanyak 800 gram dan diekstraksi menggunakan etanol 96% sebanyak 5 liter yang sudah ditambah dengan asam sitrat sebanyak 30 gram. Maserasi dilakukan selama 3 hari dalam bejana tertutup dan terlindung dari cahaya sambil sering diaduk setelah itu dipisahkan antara filtrat dan ampas menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C selanjutnya disebut ekstrak daun jati.

##### **4. Karakterisasi ekstrak**

**4.1. Penetapan susut pengeringan.** Ekstrak ditimbang secara seksama sebanyak 2 gram pada *pan* aluminium yang telah disediakan pada alat *moisture balance*, kemudian dilakukan pemanasan sampel pada suhu 105°C dan ditunggu

hingga pemanasan selesai, lalu dicatat hasil yang tertera pada alat *moisture balance* (Setyawati 2018).

**4.2. Penetapan kadar air secara destilasi.** Disiapkan 150 ml toluen kemudian dituangkan dengan 10 ml air, kemudian dikocok, dibiarkan memisah dan lapisan air dibuang. Ditimbang saksama sejumlah ekstrak daun jati yang diperkirakan mengandung 1-4 ml air, dimasukkan ke dalam labu alas bulat. Dimasukkan toluen jenuh air ke dalam labu alas bulat, dipasang rangkaian alat dan dipanaskan labu selama 15 menit. Setelah semua air tersuling, dibilas bagian dalam pendingin dengan toluen jenuh air dan dilanjutkan penyulingan selama 5 menit. Dibaca volume air setelah air dan toluen memisah sempurna dan dihitung kadar air dalam % v/b (Depkes RI 2013).

**4.3. Penetapan bobot jenis.** Bobot jenis ekstrak ditentukan terhadap hasil pengenceran ekstrak (5%) dengan alat piknometer (Depkes RI 2000). Ditimbang piknometer yang bersih dan kering bersama tutupnya, kemudian diisi piknometer dengan aquadest hingga tidak ada lagi ruang didalam piknometer dan ditimbang. Ekstrak daun jati yang sudah diencerkan sebesar dimasukkan kedalam piknometer hingga penuh, kemudian piknometer ditimbang beserta tutupnya dan dihitung berat jenis ekstrak.

**4.4. Uji bebas etanol.** Identifikasi dilakukan dengan cara ekstrak dilarutkan dengan  $H_2SO_4$  dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan asam asetat dan ditutup dengan kapas, selanjutnya dipanaskan sampai mendidih selanjutnya diidentifikasi bau ester pada kapas, jika ekstrak tidak mengandung etanol maka tidak tercium bau ester (Raymon *et al.* 2016).

## **5. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jati**

Identifikasi kandungan kimia dilakukan untuk menetapkan kandungan kimia dalam ekstrak daun jati dengan pereaksi.

**5.1. Tanin.** Sebanyak 1 gram ditambah dengan 1-2 tetes  $FeCl_3$  1%. Hasil positif tanin ditunjukkan dengan larutan menjadi biru kehitaman (tanin galat) atau hijau kehitaman (tanin katekol) (Sukmawati *et al.* 2014).

**5.2. Flavonoid.** Sebanyak 1 gram ekstrak dipanaskan dalam 100 ml aquadest dan dididihkan selama 15 menit, kemudian disaring dan diperoleh filtrat.

Sebanyak 5 ml filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah dengan serbuk magnesium, HCl pekat, dan amil alkohol. Campuran dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Hasil positif flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (Farnsworth 1966).

**5.3. Steorid / Triterpenoid.** Ekstrak diteteskan dua pada plat tetes. Satu bagian dijadikan kontrol dan satu bagian ditambahkan dengan pereaksi Liebermann-Burchard, sehingga terbentuk warna merah atau violet, hasil ini menunjukkan uji positif untuk terpenoid, terbentuknya warna hijau atau biru menunjukkan hasil uji positif untuk steroid (Faskalia & Wibowo 2014).

**5.4. Alkaloid.** Sebanyak 0,1 gr sampel dilarutkan dalam 10 ml  $\text{CHCl}_3$  (kloroform) dan 4 tetes  $\text{NH}_4\text{OH}$  kemudian disaring dan filtratnya dimasukkan kedalam tabung reaksi tertutup. Ekstrak  $\text{CHCl}_3$  dalam tabung reaksi kemudian dikocok dengan ditambah 10 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 M, sampai terbentuk 2 lapisan. Lapisan asam yang berada di atas dipisahkan ke dalam tabung reaksi yang lain dan ditambahkan pereaksi Mayer yang menghasilkan endapan warna putih sedangkan penambahan pereaksi Dragendorff yang akan menimbulkan endapan warna merah jingga (Nugrahani *et al.* 2016).

## **6. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun jati**

Sampel dipanaskan dengan HCL 2 M sebanyak 2 ml pada suhu  $100^\circ\text{C}$ , kemudian diamati sampel. Apabila warna merah tidak berubah (mantap), maka menunjukkan adanya antosianin (Lestario *et al.* 2011).

## **7. Formulasi dan evaluasi sediaan *lip cream* menggunakan pewarna ekstrak daun jati dalam berbagai konsentrasi**

**7.1. Formula.** Formula dirancang dengan variasi konsentrasi ekstrak daun jati pada tiap formula. Total sediaan yang dibuat untuk satu formula adalah 50 gram. Komposisi formula yang dipilih pada pembuatan sediaan *lip cream* dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel 1.

**7.2. Pembuatan sediaan *lip cream*.** Ditimbang sejumlah fase minyak yaitu minyak zaitun, *carnauba wax*, setil alkohol, *dimethicone*, BHT, dan propil paraben, dimasukan ke dalam cawan porselen dan dilebur pada suhu  $\pm 60^\circ\text{C}$  (Fase 1). Ditimbang metil paraben dan titanium dioksidan. Dipanaskan aquadest, pada

suhu  $\pm 60^{\circ}\text{C}$ , ditambah dengan metil paraben diaduk hingga homogen. Kemudian ditambah dengan titanium dioksida, diaduk hingga homogen. Dipanaskan mortir dan stamper dengan cara menuangkan air panas pada mortir dan stamper mortir dan stamper dg air panas, kemudian dibiarkan beberapa menit hingga dinding luar mortir terasa panas, setelah itu air panas dituang keluar dan keringkan dengan serbet bersih. Fase 1 dan fase 2 dicampurkan secara perlahan-lahan di dalam mortir panas dan dilakukan pengadukan hingga terbentuk emulsi basis *lip cream*. Apabila suhu telah turun menjadi  $\pm 40^{\circ}\text{C}$  dimasukkan ekstrak daun jati, diteteskan minyak coklat, dan diaduk kembali sampai homogen. Sediaan yang sudah jadi dituangkan kedalam wadah *lip cream*.

**Tabel 1. Formula sediaan *lip cream* daun jati**

Bahan	Formula (%)				Fungsi
	I	II	III	IV	
Ekstrak daun jati	-	10	15	20	Zat warna
Minyak zaitun	15	15	15	15	Emolien
<i>Carnauba wax</i>	15	15	15	15	<i>Thickener agent</i>
<i>Dimethicone</i>	5	5	5	5	Emolien
Setil alkohol	7,5	7,5	7,5	7,5	Emolien, Surfaktan
Titanium dioksida	6	6	6	6	Pigmen
BHT	0,1	0,1	0,1	0,1	Antioksidan
Propil paraben	0,1	0,1	0,1	0,1	Pengawet
Metil paraben	0,1	0,1	0,1	0,1	Pengawet
Minyak coklat	0,1	0,1	0,1	0,1	Pewangi
Aquadest ad	100	100	100	100	Pelarut

Keterangan :

- Formula I : Tanpa penambahan ekstrak.
- Formula II : Sediaan dengan penambahan ekstrak sebesar 10%
- Formula III : Sediaan dengan penambahan ekstrak sebesar 15%
- Formula IV : Sediaan dengan penambahan ekstrak sebesar 20%

**7.3. Evaluasi mutu fisik.** Evaluasi mutu fisik dilakukan terhadap masing-masing sediaan *lip cream* dari setiap formula. Pengujian yang dilakukan meliputi : uji organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, daya oles, fotostabilitas, dan stabilitas dengan metode sentrifugasi.

**7.3.1. Uji organoleptis.** Pengamatan dilakukan terhadap tekstur, bau, dan warna dari masing-masing sediaan pada hari ke-1 dan setelah penyimpanan pada hari ke-21 (Sharon *et al* 2013).

**7.3.2. Uji homogenitas.** Pengujian dilakukan pada hari ke-1 dan setelah penyimpanan pada hari ke-21 (Sharon *et al* 2013). Sejumlah sediaan dioleskan pada

kaca yang transparan, kemudian diamati. Sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butir-butir kasar (Depkes RI 1979).

**7.3.3. Uji pH.** Pengujian dilakukan dengan menggunakan alat pH meter. Alat terlebih dahulu dikalibrasi menggunakan larutan 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 tissue. Sampel dibuat dalam konsentrasi 1% yaitu ditimbang 1 g sediaan dan dilarutkan dalam 100 ml air suling, kemudian elektroda dicelupkan dalam larutan tersebut. Dibiarkan alat menunjukkan harga pH sampai konstan. Angka yang ditunjukkan pH meter merupakan pH sediaan (Rawlins 2003). Pengujian dilakukan pada hari ke-1 dan setelah penyimpanan pada hari ke-21 (Sharon *et al* 2013).

**7.3.4. Uji daya sebar.** Pengujian dilakukan dengan cara menimbang sediaan sebanyak 0,5 gram dan diletakkan di tengah kaca bundar. Kemudian diatas sediaan diletakkan kaca yang sebelumnya sudah ditimbang dan dibiarkan selama 1 menit. Diameter sediaan kemudian diukur dengan mengambil panjang rata-rata diameter dari beberapa sisi. Kemudian ditambahkan beban berturut-turut sebesar 50 gram, 100 gram, dan 200 gram sebagai beban tambahan. Setiap penambahan beban didiamkan selama 1 menit dan dicatat diameternya (Ittiqo & Wahid 2018). Pengujian dilakukan pada hari ke-1 dan setelah penyimpanan pada hari ke-21 (Sharon *et al* 2013).

**7.3.5. Uji daya lekat.** Pengujian dilakukan dengan cara sebanyak 0,5 gram sediaan diletakkan di titik tengah luasan gelas objek yang telah ditandai dan ditutup dengan gelas objek lain, kemudian diberi beban 1 kg selama 5 menit. Kedua gelas objek yang telah saling melekat 1 sama lain dipasang pada alat uji yang diberi beban 80 gram. Setelah itu dicatat waktu yang diperlukan hingga terpisahnya 2 gelas objek tersebut (Miranti 2009). Pengujian dilakukan pada hari ke-1 dan setelah penyimpanan pada hari ke-21 (Sharon *et al* 2013).

**7.3.6. Uji daya oles.** Pengujian dilakukan secara visual dengan cara mengoleskan sediaan pada kulit punggung tangan. Pelepasan zat warna yang baik ditunjukkan dengan banyaknya zat warna yang dilepaskan dan menempel dengan

baik pada kulit punggung tangan (Adliani *et al.* 2012). Pengujian dilakukan pada hari ke-1 dan setelah penyimpanan pada hari ke-21 (Sharon *et al.* 2013).

**7.3.7. Uji fotostabilitas.** Pengujian dilakukan pada formula II, III, dan IV yang telah disimpan selama 7 hari. Sebanyak 0,3 gram *lip cream* dimasukkan ke dalam vial bening tertutup kemudian disinari oleh lampu dengan kekuatan 25 watt selama 24 jam kemudian dilakukan pengamatan terhadap absorbansinya pada panjang gelombang maksimum (Neliyanti & Idiawati 2014).

**7.3.8. Uji stabilitas.** Pengujian dilakukan dengan menggunakan metode mekanik (sentrifugasi). Sebanyak 5 gram sediaan ditempatkan dalam tabung sentrifugasi dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 30 menit. Kemudian diamati ada atau tidaknya pemisahan fase (Handali *et al.* 2011). Pengujian dilakukan pada hari ke-1 dan setelah penyimpanan pada hari ke-21 (Sharon *et al.* 2013).

**8.4. Evaluasi keamanan.** Evaluasi keamanan dilakukan terhadap masing-masing sediaan *lip cream* dari setiap formula. Pengujian yang dilakukan meliputi uji iritasi (Erinda 2011).

**8.4.1. Uji iritasi.** Uji iritasi dilakukan dengan metode *patch test*. *Patch test* adalah uji iritasi dan kepekaan kulit yang dilakukan dengan cara mengoleskan sediaan uji pada kulit normal panel manusia dengan maksud untuk mengetahui apakah sediaan tersebut dapat menimbulkan iritasi pada kulit atau tidak. Pengujian dilakukan dengan metode *patch test* tertutup terhadap 10 orang relawan sehat, jenis kelamin perempuan, usia 18-30 tahun. Sediaan yang diuji adalah sediaan dengan penambahan konsentrasi ekstrak daun jati tertinggi yaitu 20%. Uji ini dilakukan dengan cara kulit sukarelawan yang akan diuji dibersihkan dan dilingkari dengan diameter 2 cm pada bagian lengan atas bagian dalam, kemudian sebanyak 1 g sediaan dioleskan menggunakan *cotton buds* pada tempat yang akan diuji dan ditutup dengan kain kasa dan plester, lalu dibiarkan selama 24 jam. Kulit tempat aplikasi sampel diamati pada saat sebelum bahan uji ditempelkan dan pada 24, 48, dan 72 jam setelah bahan uji dilepas. Selama pengujian sukarelawan diperbolehkan untuk membasuh kulit tempat aplikasi dengan menggunakan air tanpa menggunakan sabun, deterjen atau produk kosmetik.



Penilaian derajat iritasi dilakukan dengan cara memberi skor 0-4 tergantung tingkat keparahan reaksi eritema dan edema pada kulit. Tanpa eritema: 0, sangat sedikit eritema (diameter <25 mm): 1, eritema jelas terlihat (diameter 25,1-30 mm): 2, eritema sedang (diameter 30,1-35 mm): 3, eritema berat (gelap merah dengan membentuk eskar, Diameter > 35 mm ): 4. Tanpa edema: 0, sangat sedikit edema (hampir tidak terlihat): 1, edema tepi berbatas jelas (ketebalan < 1 mm): 2, edema sedang (tepi naik  $\pm$  1 mm): 3, edema berat (tepi naik lebih dari 1 mm dan meluas keluar daerah pejanan): 4. Masing-masing bahan uji di hitung indeks iritasi dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Indeks iritasi} = \frac{(\text{skor eritema 24 + 48 + 72 jam}) + (\text{skor edema 24 + 48 + 72 jam})}{\text{jumlah sukarelawan}}$$

Indeks iritasi yang diperoleh dibandingkan dengan skor derajat iritasi untuk mengetahui keparahan reaksi iritasi, tidak mengiritasi: 0,0, sangat sedikit iritasi: 0,1-0,4, sedikit iritasi: 0,41-1,9, iritasi sedang: 2,0-4,9, iritasi parah: 5,0-8,0. (Sukandar 2006; Pansang *et al.* 2010; Atif *et al.* 2013; Laras AAIS *et al.* 2014).

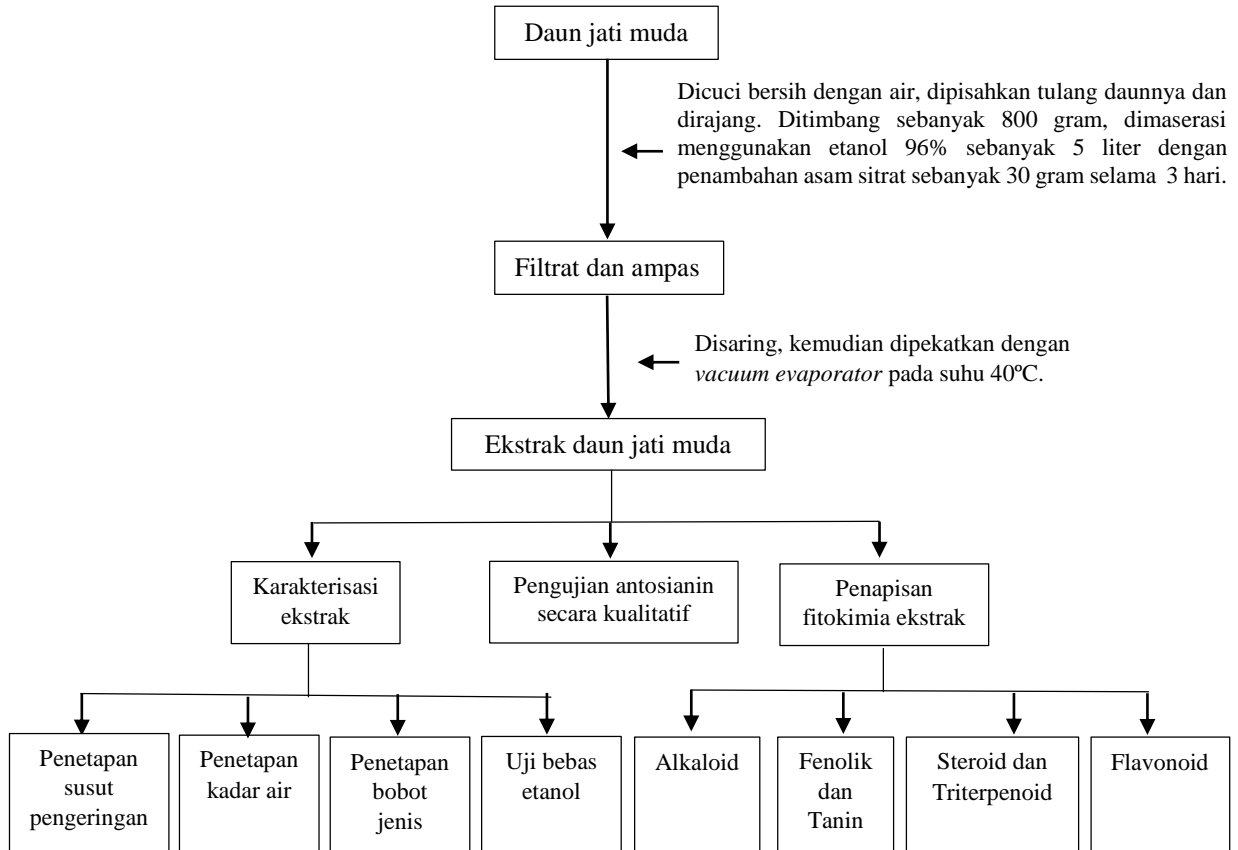
**8.5 Uji kesukaan.** Pengujian dilakukan terhadap masing-masing sediaan *lip cream* dari setiap formula pada 10 panelis yang terdiri atas wanita berumur 18-30 tahun dan dalam kondisi sehat. Panelis mengisi kuisioner dan memberi penilaian meliputi warna, aroma, dan tekstur dari sediaan *lip cream* (Sari *et al.* 2014).

### E. Analisis Data

Analisis hasil pengujian dilakukan dengan pendekatan statistik menggunakan program SPSS. Data hasil pengujian pH, daya sebar, daya lekat, fotostabilitas dianalisa dengan menggunakan metode Kolmogorv-Smirnov. Jika hasil yang diperoleh terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ) dilanjutkan dengan *paired t-test*. Data hasil uji hedonik dianalisis dengan analisis dengan metode *One Way Anova*.

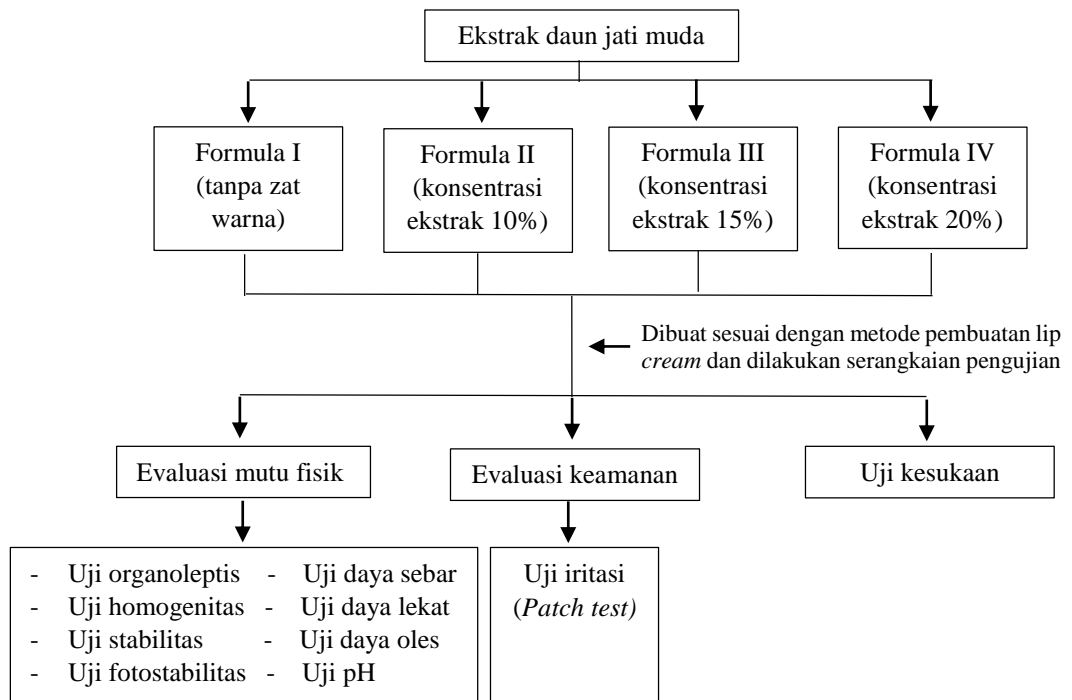
## F. Skema Jalannya Penelitian

### 1. Pembuatan dan pengujian ekstrak daun jati



Gambar 10. Skema pembuatan dan pengujian ekstrak daun jati

## 2. Pembuatan dan pengujian sediaan *lip cream*



Gambar 11. Skema pembuatan dan pengujian sediaan *lip cream*