

BAB III METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah keseluruhan dari objek yang akan menjadi bahan penelitian, sesuai dengan karakteristik yang diinginkan dalam penelitian. Pada penelitian ini populasi yang digunakan adalah tanaman ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) sebagai pewarna alami pada sediaan *eyeshadow cream* yang diperoleh dari Tawangmangu, Jawa Tengah.

Sampel adalah bagian yang mewakili populasi untuk dijadikan sebagai objek dari penelitian. Sampel yang digunakan adalah umbi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) sebagai pewarna alami untuk sediaan *eyeshadow cream* pada dari tanaman ubi jalar ungu.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pada penelitian ini adalah ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*), formulasi sediaan *eyeshadow cream* dengan konsentrasi ekstrak ubi jalar ungu 7%, 9% dan 11%, mutu fisik sediaan, stabilitas sediaan, tingkat keamanan atau uji iritasi, uji kesukaan, kondisi laboratorium dan kondisi peneliti.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama pada penelitian ini dapat diklasifikasikan menjadi menjadi variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkendali.

2.1. Variabel bebas merupakan variabel yang hasilnya akan mempengaruhi variabel lainnya. Variabel bebas yang terdapat pada penelitian ini adalah variasi konsentrasi ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) yaitu konsentrasi ekstrak ubi jalar ungu 7%, 9% dan 11% sebagai zat pewarna untuk sediaan *eyeshadow cream*.

2.2. Variabel tergantung merupakan variabel yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Variabel tergantung yang terdapat pada penelitian ini adalah mutu fisik sediaan, keamanan dan tanggapan atau tingkat kesukaan terhadap sediaan *eyeshadow cream*.

2.3. Variabel terkendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung dan dapat dikendalikan. Variabel terkendali yang terdapat pada penelitian ini adalah waktu panen, umur tanaman, cara pembuatan, kondisi laboratorium dan kondisi fisik dari peneliti.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, ubi jalar ungu adalah umbi yang berasal dari tumbuhan ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) yang diperoleh dari Tawangmangu, Jawa Tengah.

Kedua, ekstrak ubi jalar ungu adalah ekstrak yang diperoleh dengan menghaluskan ubi jalar ungu dengan blender yang ditambahkan pelarut etanol, asam asetat dan air (25:1:5), lalu disaring dengan kain saring sehingga didapatkan filtrat pigmen dan diuapkan dengan *waterbath* pada suhu 40°C untuk menguapkan etanol.

Ketiga, *eyeshadow* adalah sediaan pewarna untuk mata yang dibuat dalam bentuk *cream* dengan ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) sebagai zat warna.

Keempat, mutu fisik adalah evaluasi untuk mengetahui apakah sediaan *eyeshadow cream* ubi jalar ungu menghasilkan sediaan yang memenuhi syarat pada uji organoleptis, daya lekat, daya sebar, homogenitas, viskositas dan pH serta stabil setelah dilakukan uji *cycling test*.

Kelima, iritasi adalah evaluasi untuk mengetahui apakah sediaan *eyeshadow cream* ubi jalar ungu menimbulkan iritasi seperti edema, eritema dan papul pada saat dioleskan pada kulit.

Keenam, tingkat kesukaan adalah evaluasi untuk mengetahui tanggapan atau penilaian dari responden terhadap sediaan *eyeshadow cream* ubi jalar ungu dengan skala hedonik yaitu Nilai 5 = Sangat suka sekali, Nilai 4 = Sangat suka, Nilai 3 = Suka, Nilai 2 = Tidak suka, dan Nilai 1 = Sangat tidak suka.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan untuk melakukan ekstraksi dan pengujian ekstrak pada penelitian meliputi pisau, blender, timbangan digital, jar, aluminium foil, kain flanel, kertas saring, *waterbath*, cawan porselen, tabung reaksi (pyrex), batang pengaduk, *beaker glass* (pyrex), labu ukur (pyrex), *moisture balance* (Ohaus MB25) dan spektrofotometri UV-Vis.

Alat yang digunakan untuk pembuatan dan evaluasi sediaan *eyeshadow cream* pada penelitian meliputi mortir, stamper, cawan porselen, *waterbath*, wadah *eyeshadow cream*, batang pengaduk, timbangan digital, kaca transparan, beban 50 g, beban 100 g, oven,

kulkas, pH meter (Onemed), alat uji daya lekat, alat uji daya sebar, kassa, plaster, sudip, dan *viscometer* DV2TLV *brookfield*.

2. Bahan

Bahan tanaman yang digunakan untuk penelitian adalah umbi ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*). Ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) yang digunakan diambil dari Tawangmangu, Jawa Tengah.

Bahan kimia yang digunakan meliputi etanol 96%, asam asetat, aquadest, H₂SO₄ pekat (merck KGaA), FeCl₃ (merck KGaA), HCl pekat (merck KGaA), serbuk Mg (merck KGaA), asetat anhidrida (merck KGaA), kloroform (merck KGaA), NaOH (merck KGaA), pereaksi *Mayer* (merck KGaA), pereaksi *Wagner* (merck KGaA), pereaksi *Dragendrof* (merck KGaA), KCl, natrium asetat, asam stearat, TEA, gliserin, setil alkohol, metil paraben, propil paraben, *oleum citri* dan *aquadest*.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi

Determinasi tanaman ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) dilakukan dengan melihat morfologi dari tanaman. Determinasi dilakukan secara langsung di tempat pengambilan sampel yaitu di Tawangmangu, Surakarta, Jawa Tengah.

2. Persiapan bahan tanaman

Ubi jalar ungu segar yang didapatkan dari Tawangmangu, Jawa Tengah diikupas kulitnya, kemudian dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel setelah itu dilakukan perajangan dan dihaluskan dengan blender.

3. Pembuatan ekstrak ubi jalar ungu

Ubi jalar ungu segar sebanyak 500 gram yang telah dikupas, kemudian dibersihkan dengan air. Setelah ubi jalar ungu bersih dari kotoran selanjutnya ditiriskan, kemudian dirajang serta dihaluskan dengan blender dan menambahkan pelarut etanol : asam asetat : air (25:1:5). Ekstrak yang telah dihaluskan selanjutnya disaring dengan kain flanel terlebih dahulu lalu disaring dengan kertas saring sehingga didapatkan filtrat pigmen, kemudian dilakukan penguapan menggunakan *waterbath* pada suhu 40°C untuk menguapkan etanol (Rahmatunnisa *et al.*, 2022)

4. Karakteristik ekstrak

4.1 Susut pengeringan ekstrak. Dilakukan dengan alat *moisture balance*. Menyalakan *moisture balance*, lalu dipanaskan 10 menit. Jika sudah 10 menit, alat tersebut diatur dengan menekan menu dan pilih metode yang akan digunakan. Memasukkan ekstrak ubi jalar ungu kedalam wadah sampel yang berada didalam *moisture balance* kemudian diratakan. Menutup *moisture balance*, tunggu hingga lampu mati dan mencatat hasil yang muncul pada display. Mengulangi langkah tersebut sebanyak 3x, kemudian ukur rata-ratanya (Sediarso *et al.*, 2018).

5. Identifikasi kandungan kimia ubi jalar ungu

Dengan menggunakan pereaksi, dilakukan penyelidikan komposisi kimia ekstrak ubi jalar ungu. Identifikasi kandungan kimia yang dilakukan seperti uji tanin, flavonoid, steroid/triterpenoid, dan alkaloid.

5.1 Tanin. Mengambil 1 ml ekstrak ubi ungu lalu ditambahkan FeCl_3 sebanyak 3-4 tetes, jika positif adanya tanin maka akan menghasilkan warna biru tua atau hijau kehitaman (Lumowa & Bardin, 2018).

5.2 Flavonoid. Mengambil 1 ml ekstrak ubi ungu lalu ditambahkan 0,002 g serbuk Magnesium dan 3 tetes HCl pekat. Sampel dikocok dan diamati perubahan yang terjadi, apabila terbentuknya warna merah, kuning atau jingga maka menunjukkan adanya flavonoid (Lumowa & Bardin, 2018).

5.3 Steroid/terpenoid. Mengambil 1 ml ekstrak daun ubi jalar ungu, lalu ditambahkan 3 tetes Asetat Anhidrida dan 1 tetes H_2SO_4 pekat. Jika bewarna merah atau ungu menunjukkan adanya terpenoid dan warna hujau menunjukkan adanya steroid (Lidyawati *et al.*, 2021).

5.4 Alkaloid. Mengambil 5 ml ekstrak ubi jalar ungu, lalu masukkan ke dalam tabung reaksi. Menambahkan 2,5 ml kloroform, beberapa tetes NaOH dan diasamkan dengan 5 tetes H_2SO_4 . Membagi fraksi asam menjadi 3 tabung yang masing-masing ditambahkan pereaksi *Mayer*, *Wagner*, dan *Dragendorff*. Pada reagen *Mayer* akan menghasilkan endapan putih, untuk reagen *Wagner* terbentuk endapan berwarna coklat, dan untuk reagen *Dragendorff* menghasilkan endapan berwarna merah jingga (Lidyawati *et al.*, 2021).

6. Kadar antosianin total ekstrak

Menurut Kemenkes RI, (2017) syarat kadar antosianin total yaitu >0,10% yang dihitung sebagai sianidin-3-O-glukosida. Untuk menghitung kadar antosianin total, terlebih dahulu dilakukan pembuatan larutan pH dan penentuan panjang gelombang, kemudian baru dilakukan pengukuran dan perhitungan konsentrasi antosianin total.

6.1 Pembuatan larutan pH 1,0 dan pH 4,5. Untuk larutan pH 1,0 dibuat dengan melarutkan 0,465 gram KCl dengan aquades ke dalam tabung labu ukur 250 ml sampai dengan tanda batas, kemudian menambahkan HCl sampai mencapai pH 1. Untuk larutan pH 4,5 dibuat dengan melarutkan 8,2 gram natrium asetat dengan aquades ke dalam tabung labu ukur 250 ml sampai dengan tanda batas, kemudian menambahkan HCl sampai mencapai pH 4,5 (Anggraeni *et al.*, 2018).

6.2 Penentuan panjang gelombang maksimum dan penentuan *operating time* (OT) Penentuan panjang gelombang dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Ekstrak dari hasil maserasi diambil sebanyak 2 mL, kemudian dilarutkan dengan ethanol sebanyak 3 mL dan pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 400-800 nm. *Operating time* dilakukan selama 60 menit (Anggraeni *et al.*, 2018).

6.3 Pengukuran kadar antosianin total. Menurut Anggraeni *et al.*, (2018), pengukuran kadar antosianin total dilakukan dengan cara memasukkan 2 mL larutan ekstrak ke dalam masing-masing labu ukur, dimana untuk labu ukur 1 ditambahkan larutan dapar KCl pH 1 sampai tanda batas (5 mL) dan untuk labu ukur 2 ditambahkan larutan dapar natrium asetat pH 4,5 sampai tanda batas (5 mL), kemudian di homogenkan. Pengukuran absorbansi dilakukan setelah *operating time* yang telah ditentukan dengan larutan blanko etanol 96%.

Perhitungan absorbansi larutan sampel (A) sebagai berikut :

$$A = (A_{\text{panjang gelombang maksimal}} - A_{700}) \text{ pH 1} - (A_{\text{panjang gelombang maksimal}} - A_{700}) \text{ pH 4,5}$$

Menurut Putra (2021) rumus untuk perhitungan kadar antosianin total sebagai berikut :

$$\% = \frac{A \times \text{BM} \times f \times 1000}{\epsilon \times b}$$

Keterangan :

A = absorbansi

BM = bobot molekul antosianin sianidin-3-O-glukosida (449,2 g/mol)

f = faktor pengenceran

ϵ = koefisien absorptivitas molar (26900 L/cm/mol)

b = tebal kuvet (1 cm) dan 1000 adalah factor konversi gram ke milligram

7. Formulasi dan evaluasi sediaan *eyeshadow cream*

7.1. Formula. Formula dirancang dengan berbagai konsentrasi ekstrak ubi jalar ungu sebanyak 4 formula dimana pada setiap formula dibuat sebanyak 100 gram. Konsentrasi ekstrak ubi jalar ungu dipilih berdasarkan penelitian sebelumnya dari Rahmatunnisa *et al*, (2022) dengan judul perona mata dalam bentuk compact powder dari ekstrak ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.*) sebagai pewarna alami. Untuk formula dari *eyeshadow cream* yang dibuat dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Formula *Eyeshadow Cream*

Bahan	Formula <i>Eyeshadow Cream</i> (%)				Fungsi
	F0	F1	F2	F3	
Ekstrak ubi jalar ungu	0	7	9	11	Zat pewarna
Asam stearat	13	13	13	13	Pengemulsi
TEA	2	2	2	2	Pengemulsi
Setil alkohol	2	2	2	2	Pengental
Gliserin	9	9	9	9	Pelembab
Metil paraben	0,18	0,18	0,18	0,18	Pengawet
Propil paraben	0,02	0,02	0,02	0,02	Pengawet
<i>Oleum citri</i>	0,01	0,01	0,01	0,01	Pewangi
<i>Aquadest ad</i>	100	100	100	100	Pelarut

Keterangan :

Formula basis : Tanpa penambahan ekstrak

Formula I : Dengan penambahan ekstrak sebesar 7%

Formula II : Dengan penambahan ekstrak sebesar 9%

Formula III : Dengan penambahan ekstrak sebesar 11%

7.2. Pembuatan sediaan *eyeshadow cream*. Pada pembuatan *eyeshadow cream*, formula yang digunakan sesuai dengan yang tercantum didalam tabel 1. Dalam pembuatan terdapat 2 fase, yaitu fase minyak dan fase air untuk fase minyak. Meleburkan fase minyak (asam stearat, setil alkohol, dan propil paraben) diatas *waterbath* pada suhu 70°C dengan menggunakan cawan porselen. Melarutkan fase air (TEA, gliserin dan metil paraben) menggunakan *aquadest* diatas *waterbath* pada suhu 70°C dengan menggunakan *beaker glass*. Memasukkan fase air ke cawan porselen yang berisi fase minyak diatas *waterbath* sampai terbentuk massa *cream*. Masukkan ke dalam mortir digerus hingga homogen. Setelah dingin dan terbentuk massa *cream*, masukkan ekstrak ubi jalar ungu ke dalam mortir, lalu gerus serta tambahkan *oleum citri* dan gerus kembali hingga homogen. Setelah semua bahan sudah tercampur, masukkan ke dalam wadah *eyeshadow cream*.

7.3. Evaluasi mutu fisik. Sediaan *eyeshadow cream* dilakukan evaluasi mutu fisik. Evaluasi yang dilakukan untuk mengetahui mutu dari sediaan *eyeshadow cream* yang dibuat meliputi uji organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, daya lekat, stabilitas, uji iritasi dan uji kesukaan.

7.3.1. Uji organoleptis. Pengujian ini dilakukan dengan melihat atau mengamati warna, bau dan bentuk dari sediaan *eyeshadow cream* yang dibuat. Pengamatan dilakukan pada hari pertama sampai hari ke-12. Semakin tinggi jumlah pewarna pada formula, maka warna yang dihasilkan akan semakin pekat (Pratasik *et al.*, 2019).

7.3.2. Uji homogenitas. Pada uji homogenitas dilakukan dengan mengamati bahan-bahan yang digunakan tercampur dengan rata tanpa adanya gumpalan dan warna yang merata. Pengujian dilakukan dengan cara menimbang 1 gram sediaan *cream* lalu dioleskan pada kaca transparan dan diamati apakah sediaan homogen dengan tidak adanya butiran yang menggumpal atau tidak bercampur (Pratasik *et al.*, 2019).

7.3.3. Uji pH. Pengujian dilakukan dengan cara mengkalibrasi alat dengan larutan dapar standar netral (pH 7) dan larutan dapar asam (pH 4) dahulu sampai menunjukkan pH tersebut. Menimbang 2,5 gram *eyeshadow cream*, masukkan kedalam *beacker glass* kemudian tambahkan 25 ml *aquadest* aduk hingga homogen. Mencelupkan pH meter ke dalam sediaan yang sudah disiapkan dan diamkan sampai konstan, pH yang diperoleh dicatat serta diulang sebanyak tiga kali pada masing-masing formula (Pratasik *et al.*, 2019).

7.3.4. Uji viskositas. Pengujian diselesaikan menggunakan viskometer BrookField LV. Pengujian terdiri dari memasukkan 30 gram ke dalam pot salep, memasang spindel yang sesuai, menjalankan rotor, dan mencatat hasil viskositas untuk setiap formula, yang diulang tiga kali (Pratasik *et al.*, 2019).

7.3.5. Uji daya sebar. Menimbang *cream* sebanyak 0,5 gram, lalu diletakkan diatas plat kaca. Pengukuran diameter sebar dilakukan dengan tanpa beban, beban 50 gram dan beban 100 gram selama 1 menit (Pratasik *et al.*, 2019).

7.3.6. Uji daya lekat. Setelah krim ditimbang sebanyak 0,25 gram dan diratakan di atas piring kaca, pengujian dilakukan dengan cara merekatkan kedua piring hingga tercampur rata. Piring kaca yang sudah diolesi krim diberi timbunan sebanyak 1 kg selama 5 menit. Pelat kaca yang digabungkan dihubungkan ke penganalisis kekuatan semen dan

dihilangkan dengan timbunan 80 gram, setelah itu dicatat waktu pengiriman kedua pelat tersebut (Pratasik et al., 2019).

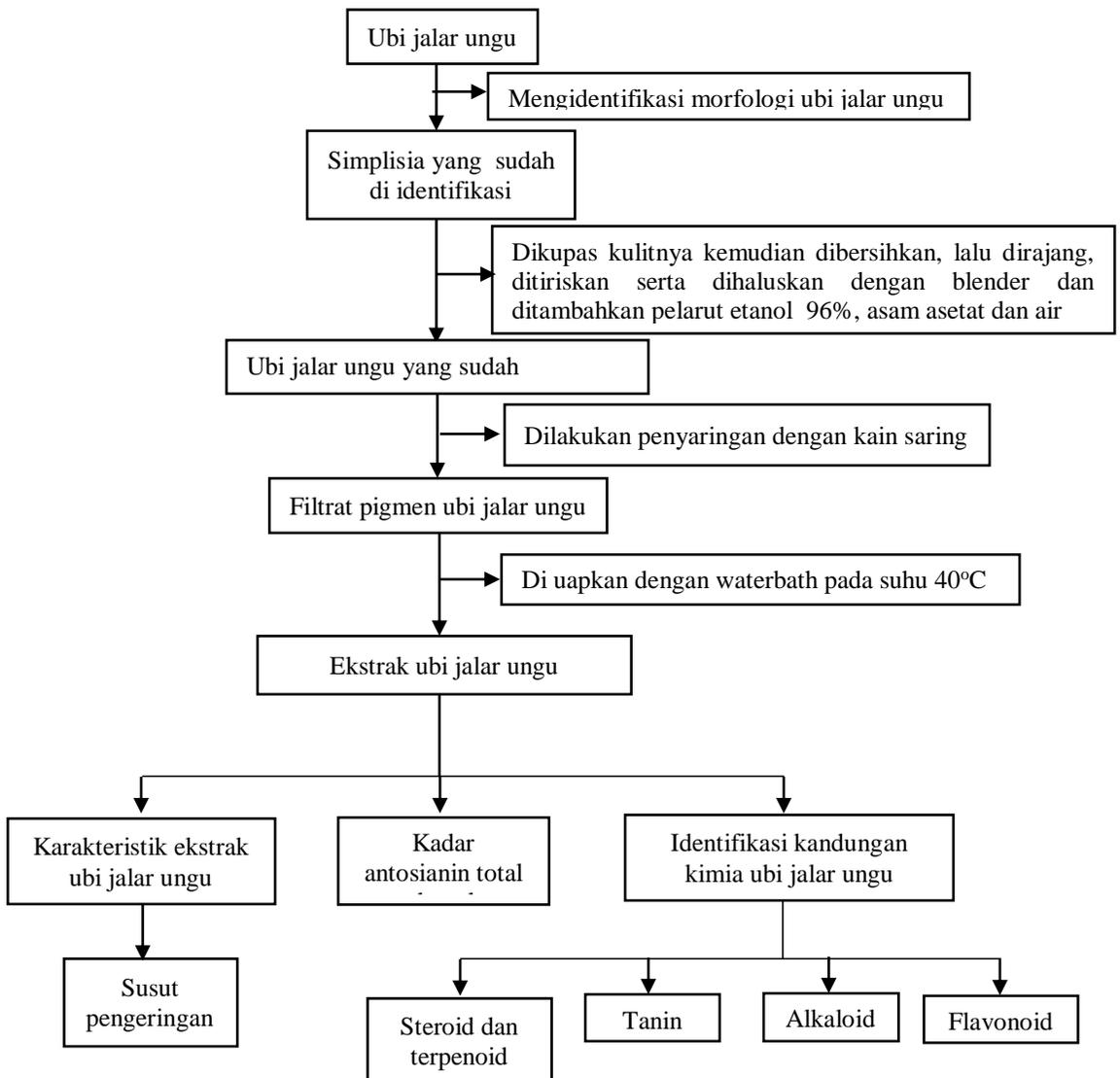
7.3.7. Uji stabilitas dengan metode *cycling test*. Test ini dilakukan selama 6 siklus dengan cara menyimpan sediaan pada suhu dingin $\pm 4^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam dan dikeluarkan lalu ditempatkan pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam (1 siklus). Pada uji ini dilakukan pengamatan pada sediaan *eyeshadow cream* dari awal dan akhir pengujian yang meliputi organoleptis, homogenitas, viskositas dan pH (Pratasik et al., 2019).

7.4. Uji iritasi dengan metode *open test*. Pengujian dengan metode *open test* (uji tempel terbuka) yaitu uji untuk mengetahui adanya iritasi pada kulit atau tidak yang dilakukan dengan mengoleskan sediaan uji pada lengan bagian dalam dengan melibatkan 10 orang sukarelawan (BPOM, 2006). Kriteria sukarelawan untuk melakukan uji ini yaitu sehat (tidak memiliki alergi, penyakit kulit ataupun luka) dan berjenis kelamin perempuan berusia 18-25 tahun (Putri et al., 2020). Uji *open test* dilakukan dengan cara mengoleskan sediaan *eyeshadow cream* (masing-masing formula) pada lengan bawah bagian dalam dengan diameter pengolesan 2,5 x 2,5 cm kemudian dibiarkan terbuka dan diamati perubahan yang terjadi. Uji iritasi diamati selama 30 menit-1 jam, dimana perlakuan ini dilakukan selama 3 hari dengan gejala yang diamati yaitu eritema (kemerahan/iritasi), edema (bengkak) dan papul (beruntusan) (Untari & Robiyanto, 2018).

7.5. Uji kesukaan. Pada uji ini dilakukan dengan meminta pendapat atau tanggapan dari 10 responden yang berjenis kelamin perempuan berusia 18-25 tahun mengenai kesukaan atau ketidaksukaan terhadap warna, bau, dan tekstur pada saat di aplikasikan dari sediaan *eyeshadow cream* yang dibuat. Skala uji hedonik yaitu Nilai 5 = Sangat suka sekali, Nilai 4 = Sangat suka, Nilai 3 = Suka, Nilai 2 = Tidak suka, dan Nilai 1 = Sangat tidak suka (Carsita et al., 2020).

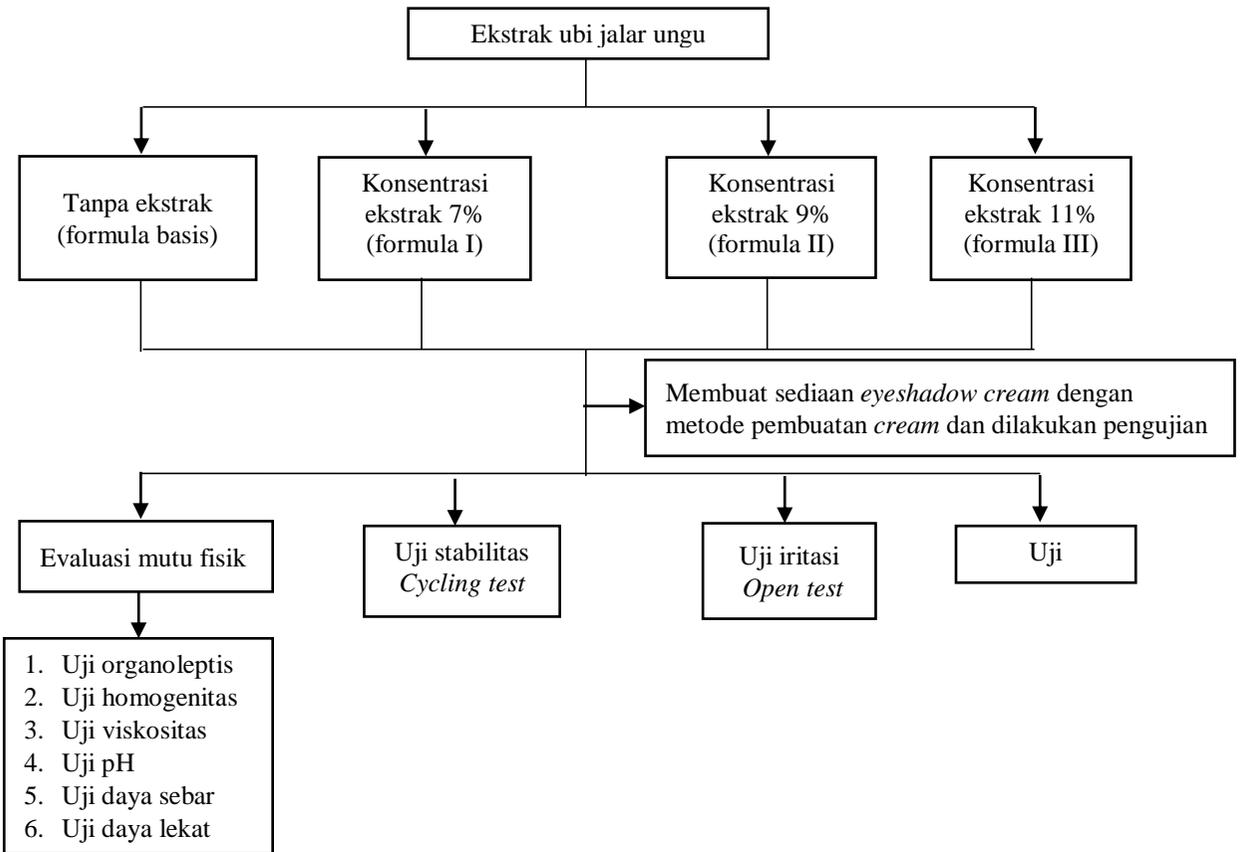
E. Skema Jalannya Penelitian

1. Pembuatan dan pengujian ekstrak ubi jalar ungu



Gambar 10. Skema pembuatan dan pengujian ekstrak ubi jalar ungu

2. Pembuatan dan pengujian sediaan *eyeshadow cream*



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

F. Analisa Data

Analisis hasil dari penelitian dilakukan dengan pendekatan statistik yang menggunakan program SPSS. Hasil data dari uji pH, viskositas, daya lekat dan daya sebar dilakukan analisa normalitas menggunakan metode *Shapiro-Wilk* dengan syarat $\text{sig} > 0,05$ berarti hasil terdistribusi normal. Apabila terdistribusi normal ($p > 0,05$) dilanjutkan dengan analisa *One Way Anova* uji *Post Hoc Test* menggunakan metode *Tukey HSD* dengan tujuan untuk melihat apakah adanya perbedaan signifikan antara satu formula dengan formula yang lainnya, sedangkan hasil yang didapatkan $\text{sig} < 0,05$ berarti hasil tidak terdistribusi normal, maka dianalisa menggunakan metode analisa statistik *Kruskal Wallis*. Hasil data pengujian dari uji stabilitas terhadap pH dan viskositas dilakukan analisa menggunakan metode *Shapiro-Wilk* dengan syarat $\text{sig} > 0,05$ yang berarti hasil terdistribusi normal. Apabila hasil yang didapatkan terdistribusi normal ($p > 0,05$) dapat dilanjutkan dengan *Independen T test*, sedangkan apabila hasil yang didapatkan $\text{sig} < 0,05$ yang berarti hasil tidak terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan metode *Mann Whitney U Test* yang memiliki tujuan untuk melihat adanya pengaruh atau tidak pada uji stabilitas. Hasil dari uji kesukaan dianalisa dengan metode nilai rata-rata (*mean*) dan analisis statistik dengan metode *univariat* yang memiliki tujuan untuk mengetahui persentase setiap variabel penelitian.