

BAB III

METODELOGI PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi merupakan suatu obyek yang terkumpul disuatu tempat yang nantinya akan menjadi sasaran dalam penelitian. Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah daun stroberi (*Fragaria × ananassa* ex Weston Duchesne ex Rozier) yang diperoleh dari Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel merupakan bagian kecil yang berasal dari populasi yang ada terdiri dari sebagian atau keseluruhan objek yang diteliti dan dianggap mewakili seluruh populasi. Sampel yang dipakai pada penelitian ini adalah daun stroberi (*Fragaria × ananassa* ex Weston Duchesne ex Rozier) yang bebas penyakit, masih segar dan tidak berlubang.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama pada penelitian ini yaitu sediaan *loose power* yang dibuat dengan konsentrasi *zinc stearate* yang berturut-turut yaitu 4%, 5% dan 6% untuk kemudian dilakukan uji mutu fisik.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama yang diidentifikasi dapat dibedakan menjadi berbagai macam yaitu variabel pengaruh, variabel terkendali dan variabel terpengaruh. Pengertian variabel pengaruh merupakan variabel yang memengaruhi variabel terpengaruh yang nantinya diteliti. Pengertian variabel terpengaruh yaitu suatu hal yang menyangkut permasalahan yang nantinya akan mempengaruhi suatu penelitian selain variabel pengaruh.

Variable pengaruh dalam penelitian ini yaitu formula sediaan *loose powder* ekstrak daun stroberi (*Fragaria × ananassa* ex Weston Duchesne ex Rozier) dengan variasi konsentrasi *zinc stearate* 4%, 5% dan 6%.

Variabel terpengaruh yaitu gagasan pokok dari persoalan yang dipilih dalam penelitian. Pada penelitian ini variabel terpengaruhnya yaitu evaluasi mutu fisik sediaan *loose powder* (organoleptis,

homogenitas, pH, daya lekat, uji kelembaban, uji kecepatan alir, uji derajat kehalusan, uji iritasi, uji stabilitas sediaan).

Variabel kendali yaitu variabel yang memengaruhi variabel pengaruh, maka harus dibuat suatu kualifikasinya untuk mencegah informasi tentang temuan mereka tersebar dan memungkinkan peneliti untuk mengulangnya secara akurat. Variabel kendali yang terdapat dalam penelitian ini yaitu ekstrak etanol daun stroberi (*Fragaria × ananassa* ex Weston Duchesne ex Rozier), kesehatan peneliti, kondisi dan keadaan laboratorium, dan metode yang dipakai dalam penelitian.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

3.1 Tanaman stroberi. Stroberi adalah tanaman subtropis yang dapat tumbuh di dataran tinggi tropis. Tanaman stroberi dapat hidup dengan suhu 17-20 °C dan disertai curah hujan hujan 600-700 mm/tahun. Tanaman stroberi juga membutuhkan banyak kelembaban. Tanaman stroberi untuk berkembang biak menggunakan stolon.

3.2 Ekstrak etanol daun stroberi. Ekstrak yang diperoleh dari simplisia daun stroberi yang sudah dikeringkan dan diserbuk. Kemudian diekstraksi dengan cara maserasi dengan pelarut etanol 70% selama 24 jam, yang diremaserasi kembali dalam ½ pelarut etanol 70% dan diuapkan dengan *evaporatory* hingga menjadi ekstrak kental.

3.3 Formulasi. Formulasi adalah proses pembuatan dan pengolahan sediaan dengan merencanakan komposisi bahan aktif dan bahan tambahan yang diperlukan.

3.4 Bedak tabur (*loose powder*). Bedak tabur adalah campuran yang homogen dari berbagai jenis bahan yang tidak larut dalam air yang dicampur secara merata dan diayak beberapa kali untuk menghasilkan serbuk yang sangat halus. Sebelum dikemas, pewarna dan pewangi ditambahkan. (Trianti dan Pranita, 2015).

3.5 Evaluasi mutu fisik sediaan *loose powder*. Evaluasi mutu fisik sediaan *loose powder* meliputi (organoleptis, homogenitas, pH, daya lekat, uji kelembaban, uji kecepatan alir, uji iritasi, uji derajat kehalusan, uji stabilitas)

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Penelitian ini banyak menggunakan alat-alat seperti timbangan analitik, cawan porselen, beker gelas, corong, kertas saring, ayakan No. 100, labu ukur, tabung reaksi, kertas perkamen, aluminium foil, batang

pengaduk, kaca arloji, kaca objek, erlenmeyer, pipet tetes, lumpang dan stamper, stopwatch, *pH universal*, *flow tester*, *moisture analyzer*, *sieve shaker*, spektrofotometri UV-Vis, dan oven.

2. Bahan

Pada penelitian ini menggunakan bahan-bahan seperti ekstrak daun stroberi, zink stearat, zink oksida, kalsium karbonat, amilum jagung, besi oksida, metil paraben, propil paraben, talkum, asam klorida, magnesium, amil alkohol, FeCl_3 , kloroform, amoniak, HCl 2 N, reagen Wagner, reagen Mayer, reagen Dragendorff, etanol 70 %, dan aquadest.

D. Jalanya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman stroberi dirancang dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran sampel daun stroberi yang berdasarkan karakteristik secara makroskopik dan juga mikroskopik, dengan membandingkan karakteristik secara morfologi terhadap literature di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) yang berada di Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

2. Pengambilan bahan

Bahan baku simplisia yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun stroberi. Bahan tersebut diperoleh dari Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa tengah. Spesifikasi sampel daun stroberi adalah bentuk daunnya bulat memanjang (lonjong) atau agak bulat dan ujung daun runcing. Bagian daunnya bergerigi serta permukaan daunnya bergelombang dan berbulu. Daun dan tangkai daun berwarna hijau tua dalam kondisi segar dan harus bebas dari penyakit.

3. Pembuatan serbuk daun stroberi

Daun stroberi segar dilakukan sortir basah sebelumnya, tujuan sortasi basah adalah untuk memisahkan pengotor atau benda asing lainnya dari bahan simplisia. Selain itu, daun stroberi dicuci dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada sampel. Setelah dicuci, daun stroberi dilakukan perajangan untuk memudahkan pengeringan. Daun stroberi kemudian dikeringkan selama 3 hari dan dikeringkan dengan oven selama 2 hari. Setelah kering simplisia dihaluskan dengan grinder. Tujuan penyerbukan simplisia adalah untuk meningkatkan luas permukaan simplisia sehingga

memudahkan penyerapan pelarut dan meningkatkan efisiensi proses ekstraksi (Depkes, 2000). Simplisia yang sudah halus selanjutnya diayak menggunakan ayakan No.60.

4. Pemeriksaan fisik serbuk daun stroberi

4.1 Pemeriksaan organoleptis. Pemeriksaan organoleptis adalah pemeriksaan yang dilakukan secara visual dengan menggunakan panca indera atau tanpa menggunakan bantuan alat. Pemeriksaan ini dilakukan dengan mengamati warna, bentuk, rasa dan bau (Depkes RI, 2000).

4.2 Penetapan susut pengeringan. Simplisia yang telah diserbuk dilakukan penetapan kadar air dengan menggunakan alat *moisture balance* dengan batas kadar air untuk simplisia tidak boleh lebih dari 10% (Depkes, 1989). Serbuk ditimbang 2 gram simplisia daun stroberi dimasukan kedalam alat *moisture balance* kemudian catat hasil kadar air yang muncul pada alat.

5. Ekstraksi

Ekstraksi serbuk Simplisia daun stroberi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi, karena metode ekstraksi ini paling sederhana dan paling sering digunakan. Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk simplisia dalam pelarut yang sesuai dalam wadah inert kedap udara pada suhu kamar. Keuntungan dari metode ini adalah kerusakan senyawa yang tidak tahan terhadap panas dapat dihindari (Mukhriani, 2014). Mengenai pemilihan pelarut etanol 70%, berdasarkan kajian Pramudita *et al.* (2020) melaporkan kandungan total flavonoid tertinggi pada ekstrak etanol 70% karena merupakan larutan yang cukup polar. Etanol memiliki gugus OH (hidroksil) yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan gugus OH pada flavonoid. Hal ini dapat menyebabkan peningkatan kelarutan flavonoid dalam etanol.

Sebanyak 500 gram serbuk simplisia kering dimaserasi dengan pelarut etanol 70%, dengan 1 gram simplisia dilarutkan dalam 1000 mililiter pelarut. Setelah itu direndam selama enam jam pertama, diaduk beberapa kali, dan kemudian diamkan selama delapan belas jam. Penyaringan memisahkan maserasi yang dihasilkan. Maserasi ulang dan maserasi kedua dilakukan dengan pelarut yang sama dengan yang pertama. Setelah itu semua maserasi terkumpul, mereka dimasukkan ke dalam *rotary evaporator* untuk menghasilkan ekstrak kental.

5.1 Pemeriksaan organoleptis. Pemeriksaan organoleptis adalah pemeriksaan yang dilakukan secara visual dengan menggunakan panca indera atau tanpa menggunakan bantuan alat. Pemeriksaan ini dilakukan dengan mengamati warna, bentuk, rasa dan bau (Depkes RI, 2000).

5.2 Penetapan kadar air ekstrak. Ekstrak kental daun stroberi dilakukan pengukuran kadar air dengan menggunakan metode gravimetri. Timbang 10 gram ekstrak daun stroberi beri sedikit pelarut etanol 70% kedalam cawan kosong yang telah dipijarkan dan ditara. Selanjutnya keringkan ekstrak dengan *waterbath* hingga kering, lanjutkan pengeringan dengan selang waktu 1 jam oven pada suhu 105°C sampai perbedaan anatara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25%. Syarat batas kadar air untuk ekstrak daun stroberi tidak boleh lebih dari 10% (Depkes, 1989).

6. Uji Fitokimia Ekstrak Daun Stroberi

6.1 Identifikasi Flavanoid. Untuk menguji flavonoid, 0,2 gram ekstrak dilarutkan dalam aquadest, lalu ditambahkan serbuk magnesium dan larutan HCl 2 N. Larutan dipanaskan dengan penagas air selama lima hingga sepuluh menit, hingga dingin, kemudian saring. Setelah amil alkohol ditambahkan ke filtrat, dikocok dengan kuat. Terbentuknya warna merah-jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan bahwa flavonoid memiliki efek positif. (Rachmawaty *et al.* 2017).

6.2 Identifikasi Alkaloid. Uji alkaloid dilakukan dengan 0,3 gram ekstrak larutkan dalam aquadest, 10% amonia hingga basa, dan klorofom untuk mengekstraksi alkaloid. Uji dragendorf dan mayer menunjukkan hasil positif dengan endapan putih, dan uji mayer menunjukkan hasil positif dengan endapan merah jingga. (Rachmawaty *et al.* 2017).

6.3 Identifikasi Saponin. Untuk menguji saponin, 0,2 gram ekstrak dicampur dengan udara secukupnya. Setelah itu, panaskan dengan penagas air selama lima menit. Setelah dingin, saring dan kocok semuanya dengan kuat. Terbentuknya busa stabil selama 30 menit setinggi 1 cm adalah tanda bahwa sampel mengandung tanin. (Rachmawaty *et al.* 2017).

6.4 Identifikasi Tanin. Untuk menguji tanin, 0,2 gram dilarutkan dalam aquadest dan kemudian dipanaskan; warna biru-

kehitaman muncul saat larutan ditambahkan FeCl 31%. (Rachmawaty *et al.* 2017).

6.5 Identifikasi Fenol. Untuk menguji kandungan fenol, ekstrak 0,2 gram dilarutkan dalam metanol dan kemudian dipanaskan dalam air mendidih selama 30 detik. Setelah itu ditambahkan H₂SO₄ sedikit demi sedikit lalu ditambahkan NaOH 10%. Endapan merah coklat muncul sebagai tanda bahwa ada kandungan fenol. (Rachmawaty *et al.* 2017).

7. Pembuatan bedak tabur

Tabel 1. Formulasi Bedak Tabur Ekstrak Daun Stroberi

Bahan	Konsentrasi (%)					Fungsi
	F0	F1	F2	F3	F4	
Ekstrak daun stroberi	0	1	1	1	1	Zat aktif
<i>Zinc Stearate</i>	5	4	5	6	0	Adhesif
Zink Oksida	10	10	10	10	10	Astringen
Kalsium Karbonat	10	10	10	10	10	Absorben
Amilum	20	20	20	20	20	Pelembut
Besi Oksida	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	Pewarna
Metil Paraben	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	Pengawet
Propil Paraben	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	Pengawet
Talkum	Ad 100 %					Basis

Siapkan mortar terlebih dahulu, kemudian ekstrak dimasukkan ke dalam mortar, kemudian ditambahkan talk dihaluskan. Selanjutnya, mortar digerus sampai kering dan homogen, ditambahkan propilparaben dan metilparaben, digerus homogen. Setelah homogen ditambahkan *zinc stearate* dan digerus kembali sampai homogen, ditambahkan *zinc oksida*, yang sudah diayak dan digerus sebelumnya, Setelah itu dicampur dengan kalsium karbonat, digerus hingga homogen, dicampur dengan pati jagung dan digerus sampai homogen. Kemudian diadddkan dengan menambah talkum hingga 100%. Massa serbuk yang dihasilkan kemudian diayak dengan saringan No. 100 selama 10 menit, setelah itu jumlah serbuk diperkirakan dan dilakukan uji mutu fisik.

8. Evaluasi Sediaan Bedak Tabur

8.1 Uji Organoleptik. Uji organoleptik dilakukan dengan melihat sediaan secara makroskopik untuk menilai bau, warna, dan bentuknya. Warna dan aroma unik bahan aktif adalah persyaratan produksi. (Warnida *et al.*, 2017).

8.2 Uji pH. Uji pH sediaan dilakukan dengan menggunakan pH meter. Timbang 1 gram serbuk dan masukkan ke dalam gelas ukur, tambahkan 10 mL air suling pada suhu 27°C dan kocok hingga

terbentuk suspensi. Penetapan *pH* dilakukan dalam waktu 5 menit dengan *pH* meter, *pH* yang baik adalah 4,5-6,5 (Yuliana dan Ambarwati, 2015).

8.3 Uji Homogenitas. Uji homogenitas dilakukan dengan mengamati secara visual campuran ekstrak dan basis bedak. Uji homogenitas dapat dilakukan dengan cara menaburkan serbuk pada kertas putih kemudian diamati dengan kaca pembesar untuk melihat perbedaan jumlah serbuk secara visual (Rasydy *et al*, 2019).

8.4 Uji Daya Lekat. Sediaan ditimbang 100 mg lalu disapukan menggunakan sponge pada permukaan kulit. Permukaan kulit ditiup dengan peniup karet, dan serbuk yang jatuh dikumpulkan pada kertas perkamen kemudian timbang. Untuk menghitung serbuk yang lekat dengan mengurangi berat serbuk awal dan berat serbuk jatuh (Voight, 1994). Kemudian hitung persentase serbuk yang lekat dengan rumus:

$$\% = \frac{\text{serbuk yang lekat}}{\text{Berat serbuk}} \times 100\%$$

8.5 Uji Kelembaban. Pada uji kelembaban dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Alat uji dipanaskan terlebih dahulu selama 10 menit, suhu alat diatur pada 105°C. Sediaan bedak tabur ditimbang 1 gram dan ditaburkan merata pada aluminium, kemudian alat dinyalakan dan dibaca persentase kelembaban yang terlihat pada alat. Bedak tabur dinyatakan memiliki kelembaban yang baik jika persyaratan kelembaban terpenuhi yaitu kurang dari 2% (Akelesh *et al.*, 2010).

8.6 Uji Kecepatan Alir. Uji kecepatan alir dilakukan dengan alat *flow tester* dengan menimbang 10 gram serbuk bedak tabur, kemudian memasukkannya ke dalam alat uji dan mencatat waktu yang dihasilkan pada alat tersebut. Laju alir ditentukan oleh berat serbuk per satuan waktu alir (gram/detik). Alur yang baik adalah waktu yang dibutuhkan untuk 100 gram serbuk kurang dari 10 detik (Novalina, 2016).

$$\text{Kecepatan alir} = \frac{\text{berat serbuk (gram)}}{\text{waktu (detik)}}$$

8.7 Uji Derajat Halus. Dengan menggunakan nomor ayakan 100, serbuk yang dihasilkan diayak. Ini dilakukan selama sekitar tiga puluh menit, atau sampai pengayakan hampir sempurna, atau dengan

menggoyangkan ayakan dengan arah putaran horizontal dan ketukan secara vertikal pada permukaan yang keras (Alta *et al.*, 2019).

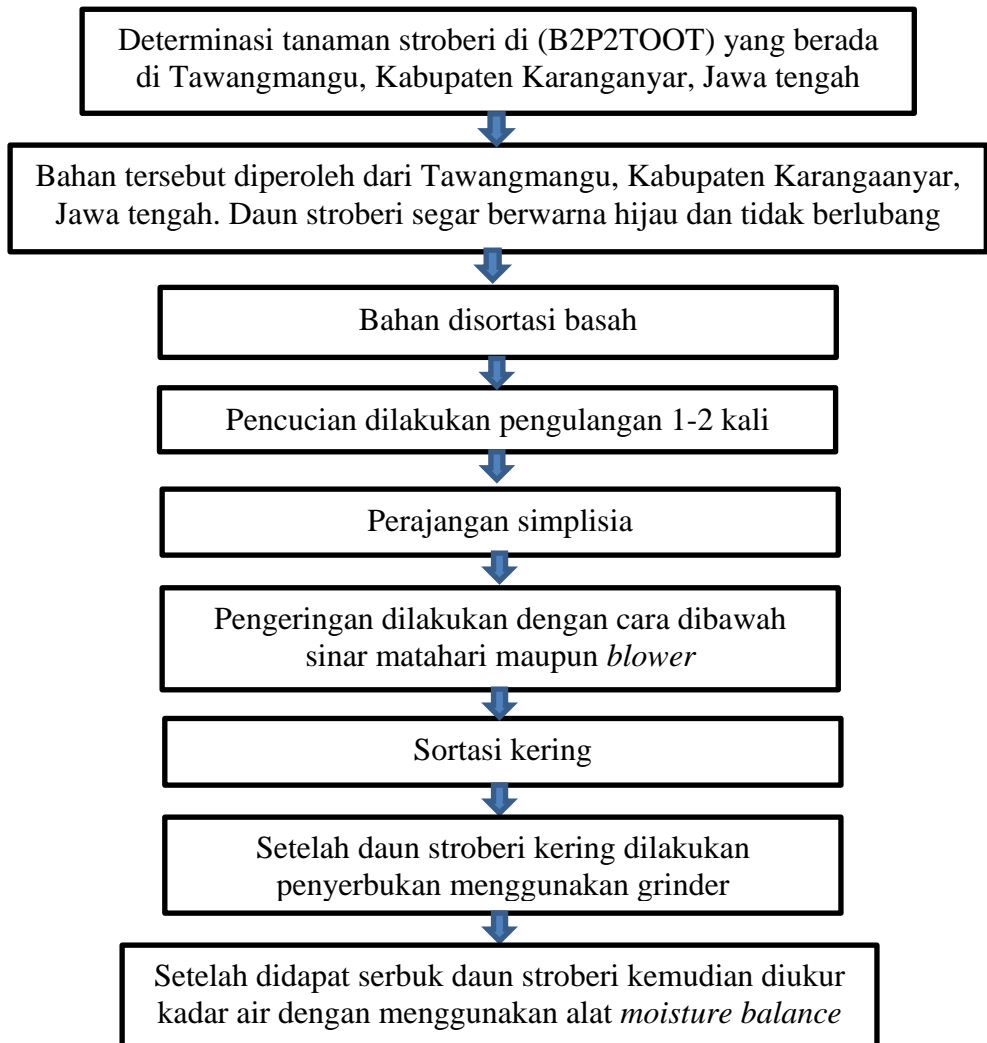
8.8 Uji iritasi. Uji iritasi dilakukan dengan metode tempel terbuka yang bertujuan untuk mengetahui reaksi pemakai sediaan yang dibuat, dengan mengoleskan bedak tabur sebesar 0,1 g pada tangan atau lengan selama 5 jam. (Marlina.S., 2010). Kemudian memastikan bahwa responden tidak terkena air. Selanjutnya, responden mengisi formulir yang berupa *google form* yang telah diberikan oleh peneliti.

8.9 Uji Stabilitas Fisik. Pengujian stabilitas fisik sediaan *loose powder* dilakukan dengan metode penyimpanan dengan suhu berbeda dalam lemari es (4°C), suhu kamar (25°C), dan suhu oven (40°C) selama 4 minggu. Evaluasi yang dilakukan meliputi warna, bau, tekstur, dan kestabilan (Indrawati *et al.*, 2010). Uji stabilitas dipercepat dengan metode *freezer-thaw cycling*. Serbuk ditimbang 20 gram pada masing-masing formula kemudian disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam. Selanjutnya sediaan bedak tabur dipanaskan pada oven dengan suhu 40°C selama 24 jam. Uji stabilitas dilakukan dengan 6 siklus kemudian diamati perubahan fisik (Djajadisastra, 2004).

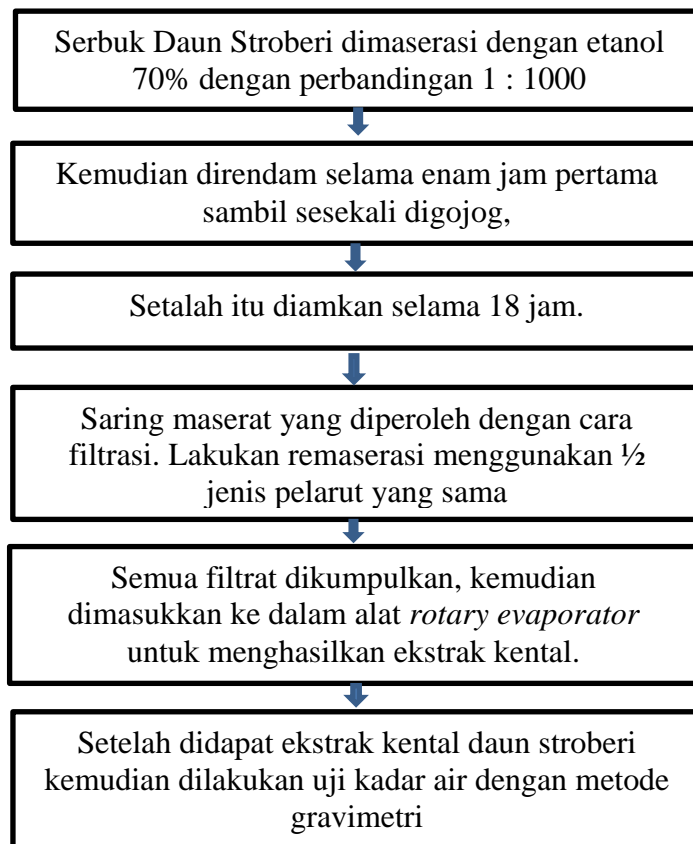
E. Analisis Hasil

Hasil data dari formulasi sediaan *loose powder* ekstrak etanol daun stroberi dapat dilakukan dengan pengujian fisik sediaan berupa data yang diperoleh pada masing-masing konsentrasi pada pengamatan sediaan *loose powder* (organoleptis, homogenitas, pH, daya lekat, uji kelembaban, uji kecepatan alir, uji derajat kehalusan, uji iritasi) disajikan dalam bentuk tabel. Kemudian dilanjutkan dengan uji stabilitas fisik menggunakan cara *freeze-thaw cycling*. Data tersebut dianalisis menggunakan aplikasi SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*). Analisis data menggunakan *One Way Anova* pada aplikasi SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) untuk mengetahui perbedaan rata-rata nilai yang dihasilkan. Hasil data yang diperoleh dianalisis dengan *kolmogorow-smirnov* jika data lebih dari 50 kemudian jika data kurang dari 50 dengan *Saphiro Wilk*. Jika data dinyatakan tidak terdistribusi normal ($<0,05$) maka dilanjutkan dengan *Kruskal-Wallis*.

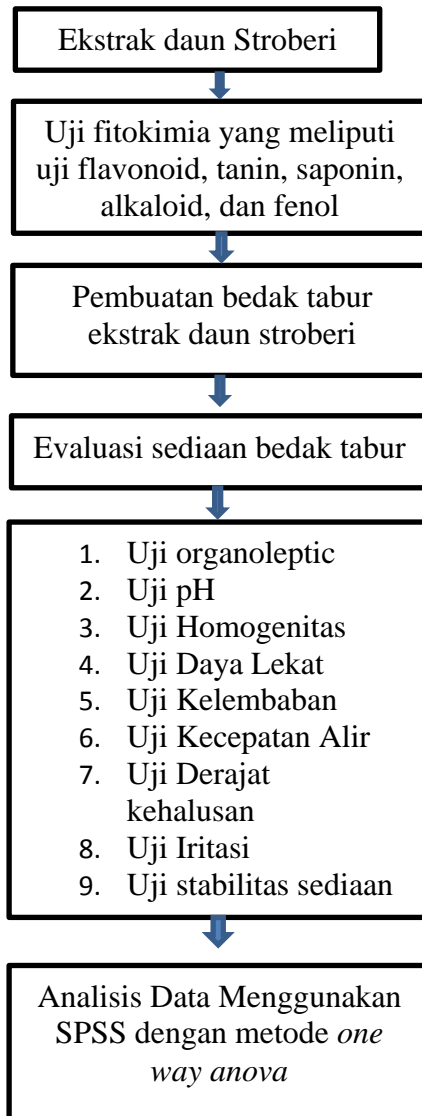
F. Skema Penelitian



Gambar 2. Skema Pembuatan Simplisia Daun Stroberi



Gambar 3. Skema Pembuatan Ekstrak Daun Stroberi



Gambar 4. Skema Alur penelitian