

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang diteliti dalam studi ini terdiri dari buah *strawberry* yang diperoleh dari budidaya di Tawangmangu. *Strawberry* yang dipilih adalah yang sudah matang, memiliki warna merah, dan tidak terinfeksi hama. *Strawberry* ini akan dipanen di wilayah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, pada bulan Maret 2025. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan *lip balm* berbahan dasar etanol dari *strawberry* yang dibuat dengan kombinasi cera flava dan cera carnauba dengan rasio (15%:10%), (7,5%:17,5%), (12,5%:12,5%), (10%:15%), (15%:10%), (5%:20%), (5%:20%), (10%:15%).

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel inti atau utama merupakan variabel yang mencakup semua variabel yang akan diteliti. Dalam penelitian ini, variabel inti terdiri dari konsentrasi cera flava dan cera carnauba yang digunakan sebagai bahan dasar dalam pembuatan *lip balm* yang dikombinasikan. Formulasi ini, cera flava dan cera carnauba akan disiapkan dengan berbagai konsentrasi untuk digunakan sebagai *lip balm*. Selanjutnya, akan dilaksanakan pengujian mutu fisik dan stabilitas pada sediaan *lip balm* ekstrak *strawberry*.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel yang sudah ditentukan kemudian dikelompokkan menjadi beberapa kategori, yaitu variabel independen, variabel terkontrol, dan variabel dependen.

Variabel independen adalah variabel yang dapat memengaruhi hasil dari variabel lainnya dalam sebuah penelitian. Dalam studi ini, yang termasuk dalam kategori variabel independen adalah konsentrasi cera flava dan cera carnauba pada formulasi *lip balm* ekstrak *strawberry*.

Variabel dependen adalah variabel yang diamati untuk mengetahui dampak dari variabel independen. Pada penelitian ini, variabel dependen adalah kualitas fisik dan aktivitas antioksidan dari formulasi *lip balm*. Kualitas fisik *lip balm* mencakup uji organoleptik, uji homogenitas, uji stabilitas, uji kemampuan menyebar, uji daya rekat, dan uji titik lebur.

Variabel terkendali merupakan variabel yang dapat memberikan pengaruh pada variabel tergantung, sehingga perlu ditetapkan karakteristiknya agar tidak terjadi duplikasi oleh peneliti lainnya secara menyeluruh. Variabel terkendali pada penelitian ini adalah tempat pengambilan bahan dan proses ekstraksi.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, *Lip balm* ekstrak *strawberry* adalah sediaan setengah padat yang memiliki kegunaan sebagai pelembab bibir yang dibuat dari ekstrak buah *strawberry*, basis, zat tambahan sesuai dengan formula yang telah ditentukan, dan dibuat sesuai dengan prosedur pembuatan *lip balm*.

Kedua, Ekstrak *strawberry* adalah hasil ekstraksi dari simplisia yang telah diekstraksi dengan etanol 96%.

Ketiga, uji mutu fisik adalah pengujian sediaan *lip balm* yaitu, daya sebar, daya lekat, dan titik lebur.

Keempat, *Software* yang akan digunakan pada optimasi formula adalah *design expert* V.13. Optimasi dengan menggunakan *design expert* dapat digunakan untuk menemukan pengaturan faktor maksimal atau respon minimal.

Kelima, *Simplex lattice design* adalah metode optimasi yang digunakan untuk mengetahui sifat fisik dari dua campuran atau lebih.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Sampel yang dipakai dalam penelitian ini adalah buah *strawberry* yang kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Bahan yang digunakan untuk melakukan skrining fitokimia pada ekstrak *strawberry* adalah asam sulfat pekat, asam asetat pekat, asam klorida pekat, serbuk magnesium, reagen mayer, reagen dragendorff, NaOH 2N, dan FeCl₃ 1%.

Bahan yang diperlukan untuk formulasi yaitu, 2% ekstrak *strawberry*, cera flava, cera carnauba, minyak zaitun, propilen glikol, propil paraben, *essence strawberry lip balm* merek X.

2. Alat

Alat yang digunakan penelitian ini yaitu, seperangkat alat gelas, wadah maserasi, corong kaca, ayakan mesh 40, botol timbang, tabung reaksi, bunsen, pipet tetes, cawan porselen, batang pengaduk, sudip, kaca, wadah *lip balm*, *water bath*, *rotary evaporator*, *stopwatch*, oven,

termometer, alat uji daya lekat, alat uji daya sebar, *skin test analyzer*, kulkas.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman bertujuan untuk memastikan apakah sampel yang diambil merupakan buah *strawberry*. Proses ini dilakukan dengan membandingkan ciri-ciri morfologis menggunakan kunci identifikasi agar tidak jadi kesalahan selama pengambilan sampel. Determinasi akan dilakukan di B2P2TOOT Tawangmangu.

2. Pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk

Buah *strawberry* yang dipetik dari hasil budidaya di daerah Tawangmangu dipilih buah yang segar, telah matang sempurna, tidak terjangkit oleh hama. Buah yang telah dipetik akan disortasi basah, kemudian dipisahkan dari daunnya dan dipilih buah yang paling baik. Buah yang telah disortasi kemudian dicuci menggunakan air mengalir agar kotorannya hilang. Buah yang sudah dibersihkan selanjutnya dipotong dan ditimbang, kemudian dikeringkan menggunakan oven 40°C setelah simplisia kering, lalu diayak dengan mesh 40 (Sumarlan *et al.*, 2018).

3. Penetapan kadar air serbuk buah *strawberry*

Penentuan kandungan air dalam serbuk simplisia *strawberry* dilakukan dengan cara destilasi toluena. Sebanyak 2,0 gram serbuk ditimbang dan selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung destilasi. Sebanyak 200 mL toluena yang telah jenuh dicampurkan dengan 20 mL air. Campuran ini kemudian dipanaskan sampai pelarut menguap dan volume dalam wadah tetap, diulang sebanyak tiga kali (Depkes, 2017).

4. Penetapan susut pengeringan serbuk buah *strawberry*

Penetapan susut pengeringan serbuk *strawberry* dilakukan dengan metode gravimetri. Serbuk ditimbang sebanyak 10 g, kemudian dimasukkan dalam kurs porselen yang sudah ditara. Keringkan pada suhu 105°C selama 5 jam. Lanjutkan pengeringan dengan selang waktu 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Depkes, 2017).

5. Ekstrak *strawberry*

Ekstrak *Strawberry* dihasilkan melalui proses maserasi dengan etanol 96%. Sebanyak 500 gram serbuk *strawberry* ditimbang, lalu dimasukkan ke dalam wadah maserasi, ditambah dengan 500 mL pelarut

etanol 96%. Serbuk ini direndam selama 6 jam dengan sesekali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam. Lakukan pemisahan maserat menggunakan kain flanel, penyaringan dilakukan sebanyak 2 kali. Setelah seluruh maserat dijadikan dalam 1 wadah, selanjutnya maserat dikentalkan dengan *rotary evaporator* hingga menjadi ekstrak kental. Timbang lalu catat hasil rendemen (Depkes, 2017).

6. Penetapan kadar air ekstrak

Penentuan kadar kelembapan pada ekstrak *strawberry* dilakukan dengan metode distilasi toluena. Seberat 2,0 g ekstrak ditimbang lalu dimasukkan ke dalam tabung distilasi. Sebanyak 200 mL pelarut toluena yang sudah dijenuhkan ditambahkan dengan 20 mL air. Larutan kemudian dipanaskan hingga pelarut menguap dan jumlah dalam penampung tidak bertambah, dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali (Depkes, 2017).

7. Identifikasi kandungan senyawa aktif ekstrak *strawberry* dengan uji fitokimia

7.1 Uji flavonoid. Sebanyak 1 g ekstrak dipindahkan ke dalam tabung reaksi kemudian dimasukkan 1 gram bubuk Mg dan 2 mL HCl 2N. Kehadiran flavonoid dapat dilihat dari munculnya warna kuning (Inggrid, 2015).

7.2 Uji Alkaloid. Ekstrak 0,5 g *strawberry* diletakkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 1 mL HCl 2N dan 9 mL aquadest yang dipanaskan. Campuran tersebut dipanaskan selama 2 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Produk yang sudah disaring dibagi menjadi dua tabung reaksi. Pada tabung yang pertama, tambahkan reagen Dragendorff, sedangkan pada tabung yang kedua, tambahkan reagen Mayer. Kehadiran alkaloid dapat ditandai dengan adanya endapan berwarna coklat kemerahan pada tabung yang ditambahkan reagen Dragendorff dan endapan putih pada tabung yang ditambahkan reagen Mayer (Anggraeny, 2021).

7.3 Uji Saponin. Sebanyak 0,5 g ekstrak *strawberry* dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dicampurkan dengan 10 mL air panas, didinginkan dan dikocok dengan kuat selama 10 detik. Dikatakan positif mengandung saponin jika buih yang terbentuk stabil setinggi 1-10 cm selama minimal 10 menit. Buih tersebut tetap ada meskipun ditambahkan asam klorida 2N (Depkes, 2020).

7.4 Uji Tanin. Sebanyak 2 gram ekstrak dimasukkan ke tabung reaksi, lalu ditambahkan etanol 96% sampai ekstrak sepenuhnya

terendam. Sebanyak 1 mL larutan dipindahkan ke tabung reaksi yang berbeda, kemudian ditambahkan 2-3 tetes FeCl₃ 1%. Jika terbentuk warna hijau kebiruan, maka menunjukkan hasil positif adanya tanin (Ambari *et al.*, 2021).

7.5 Uji Antosianin. 1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian beberapa tetes HCl 0,1 N ditambahkan. Hasil positif antosianin terlihat dari munculnya warna merah (Inggrid, 2015).

8. Penentuan Nilai *Lower* Dan *Upper Limit* Dalam Aplikasi *Design Expert*

Penetapan *lower* dan *upper limit* untuk menentukan formula yang akan dioptimalkan. Formula yang akan dioptimalkan adalah cera flava dan cera carnauba. Nilai batas bawah dan batas atas untuk cera flava dan cera carnauba ditetapkan antara 5-20%. Hasil dari nilai batas bawah dan batas atas formula dapat dilihat pada tabel 1. Parameter respon yang akan digunakan adalah daya sebar, daya lekat, dan titik lebur (Widnyana, 2021).

Tabel 1 Running Formula

Bahan	Fungsi	Konsentrasi (%)							
		Run1	Run 2	Run 3	Run 4	Run 5	Run 6	Run 7	Run 8
Cera Flava	Basis	15	7,5	12,5	10	15	5	5	10
Cera Carnauba	Basis	10	17,5	12,5	15	10	20	20	15

9. Formula *Lip balm* Ekstrak *Strawberry*

Sediaan *lip balm* akan dibuat dalam bentuk *stick* dengan berat 5 gr dengan dosis yang digunakan pada formula sediaan *lip balm* ekstrak *strawberry* sebesar 2%. Variasi basis cera flava dan cera carnauba dibuat berdasarkan hasil penentuan nilai *lower* dan *upper limit*. Rancangan formula dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Formulasi lip balm ekstrak strawberry

Bahan	Fungsi	Konsentrasi (%)							
		F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
Ekstrak <i>Strawberry</i>	Zat aktif	2	2	2	2	2	2	2	2
Cera Flava	Basis	15	7,5	12,5	10	15	5	5	10
Cera Carnauba	Basis	10	17,5	12,5	15	10	20	20	15
Minyak Zaitun	Emolien	67,5	67,5	67,5	67,5	67,5	67,5	67,5	67,5
Propilen Glikol	Humektan	5	5	5	5	5	5	5	5
Propil Paraben	Pengawet	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Essence <i>Strawberry</i>	Pengaroma	1	1	1	1	1	1	1	1
Total		100	100	100	100	100	100	100	100

Keterangan :

F1: Formulasi *lip balm* dengan konsentrasi cera flava: cera carnauba (15%:10%)

- F2: Formulasi *lip balm* dengan konsentrasi cera flava: cera carnauba (7,5%:17,5%)
- F3: Formulasi *lip balm* dengan konsentrasi cera flava: cera carnauba (12,5%:12,5%)
- F4: Formulasi *lip balm* dengan konsentrasi cera flava: cera carnauba (10%:15%)
- F5: Formulasi *lip balm* dengan konsentrasi cera flava: cera carnauba (15%:10%)
- F6: Formulasi *lip balm* dengan konsentrasi cera flava: cera carnauba (5%:20%)
- F7: Formulasi *lip balm* dengan konsentrasi cera flava: cera carnauba (5%:20%)
- F8: Formulasi *lip balm* dengan konsentrasi cera flava: cera carnauba (10%:15%)

10. Proses Pembuatan Sediaan *Lip Balm*

Langkah awal dalam pembuatan sediaan dengan menimbang seluruh bahan yang dibutuhkan. Basis cera flava dan cera carnauba dilelehkan pada suhu 60°C, setelah itu ditambahkan minyak zaitun lalu diaduk hingga homogen. Propil paraben dilarutkan dalam sedikit propilen glikol hingga homogen, lalu dituangkan ke dalam basis yang sudah dilelehkan. Ekstrak *strawberry* dilarutkan dengan sisa propilen glikol hingga homogen. Pencampuran seluruh bahan dilakukan pada suhu dibawah 50°C. Bahan yang telah homogen dituangkan ke dalam cetakan lalu biarkan *lip balm* hingga mengeras, lalu disimpan dan dilakukan pengujian mutu fisik pada sediaan (Erdiyanto, 2024).

11. Pengujian Mutu Fisik Sediaan *Lip Balm*

11.1 Uji Organoleptis. Pengujian ini berhubungan dengan sifat fisik produk *lip balm* yang dilakukan menggunakan lima indra manusia. Uji organoleptik mencakup aroma, warna, dan bentuk dari *lip balm*..

11.2 Uji Homogenitas. Pengujian ini dilaksanakan dengan cara memotong sedikit *lip balm* lalu dioleskan pada gelas objek, kemudian ditutup dengan gelas objek yang lainnya. Pada dasar *object glass* akan terlihat sediaan yang telah dioleskan, amati apakah sediaan homogen atau tidak. Jika permukaan halus dan tidak terdapat partikel maka sediaan dinyatakan homogen (Saryanti *et al.*, 2019).

11.3 Uji Daya Sebar. Pengujian daya sebar dilakukan dengan menggunakan kaca transparan. Sediaan *lip balm* ditimbang sebanyak 0,5 gr, kemudian ditutup dengan lempeng kaca transparan lainnya, ditunggu selama 1 menit untuk mendapatkan diameter penyebarannya. Pengujian dilanjutkan dengan cara yang sama dan ditambahkan beban sebesar 50, 100, 150 gr. Mengamati diameter penyebaran yang terjadi (Saryanti *et al.*, 2019).

11.4 Uji Daya Lekat. Pengujian terhadap daya lekat dilakukan menggunakan alat yang dirancang khusus. Sebanyak 0,5 gram sediaan ditimbang, lalu ditempatkan di atas sebuah objek kaca yang ditutupi oleh objek kaca yang lain. Di atasnya, diberi beban seberat 50 gram. Tunggu selama 5 menit, kemudian beban seberat 80 gram dilepaskan. Waktu

yang dibutuhkan hingga kedua objek kaca tersebut terpisah dicatat (Saryanti *et al.*, 2019).

11.5 Uji Titik Lebur. Sebanyak 1 gr sediaan ditimbang menggunakan cawan porselen. Cawan porselen kemudian diletakan diatas *waterbath*. Dimasukan termometer ke dalam cawan porselen, ditunggu hingga sediaan meleleh sempurna. Selama pengujian dilakukan pencatatan suhu awal dan suhu sediaan meleleh sempurna. Suhu lebur pada *lip balm* berkisar pada 50-70°C (Dominica *et al.*, 2023).

11.6 Uji Stabilitas. Pengujian stabilitas dilakukan dengan metode *cycling test*. Mula-mula sediaan diletak di dalam kulkas selama 24 jam dan di 24 jam berikutnya disimpan dalam oven dengan suhu 40°C Peristiwa ini dianggap sebagai 1 siklus. Pengujian dilakukan sebanyak 6x siklus (Ambari *et al.*, 2020). Pencatatan dilakukan terkait perubahan tekstur, warna, bau pada *lip balm* (Ambari *et al.*, 2020).

12. Penentuan Formula Optimum *Lip Balm*

Setiap respons dari formula lipstik dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak *Design Expert* V.13, yang kemudian akan merekomendasikan sebuah formula terbaik. Hasil dari formula terbaik ini kemudian diuji secara fisik dan hasilnya dibandingkan dengan nilai yang diprediksi oleh perangkat lunak.

13. Pembuatan Formula Optimum Sediaan *Lip Balm*

Langkah awal dalam pembuatan sediaan dengan menimbang seluruh bahan yang dibutuhkan. Basis cera flava dan cera carnauba dilelehkan pada suhu 60°C, setelah itu ditambahkan minyak zaitun lalu diaduk hingga homogen. Propil paraben dilarutkan dalam sedikit propilen glikol hingga homogen, lalu dituangkan ke dalam basis yang sudah dilelehkan. Ekstrak *strawberry* dilarutkan dengan sisa propilen glikol hingga homogen. Pencampuran seluruh bahan dilakukan pada suhu dibawah 50°C. Bahan yang telah homogen dituangkan ke dalam cetakan lalu biarkan *lip balm* hingga mengeras, lalu disimpan dan dilakukan pengujian mutu fisik pada sediaan (Erdiyanto, 2024).

14. Evaluasi Mutu Fisik Formula Optimal Sediaan *Lip Balm*

14.1 Uji Organoleptis. Uji ini berhubungan dengan karakteristik fisik dari *lip balm* yang dilakukan dengan menggunakan indra manusia. Uji organoleptik mencakup aroma, warna, dan bentuk dari *lip balm*.

14.2 Uji Homogenitas. Pengujian ini dilakukan dengan mengambil sejumlah kecil *lip balm* dan mengoleskannya pada kaca

objek, kemudian ditutup dengan kaca objek yang lain. Pada dasar kaca objek, sediaan yang telah dioleskan akan terlihat; perhatikan apakah sediaan tersebut bersifat homogen atau tidak. Jika permukaan terasa halus dan tidak ada partikel yang terlihat, maka sediaan tersebut dianggap homogen (Saryanti *et al.*, 2019).

14.3 Uji Daya Sebar. Pengujian sebar dilakukan dengan memanfaatkan kaca bening. Sebanyak 0,5 gram *lip balm* ditimbang, lalu ditutup dengan kaca bening yang lain, dibiarkan selama satu menit untuk mengukur diameter sebarannya. Pengujian diteruskan dengan metode yang sama dan menambahkan beban sebesar 50, 100, serta 150 gram. Memperhatikan diameter sebaran yang terjadi (Saryanti *et al.*, 2019).

14.4 Uji Daya Lekat. Pengujian kekuatan lekat dilakukan menggunakan alat uji yang khusus. Sebanyak 0,5 gram sediaan ditimbang, lalu sediaan tersebut diletakkan di atas objek kaca yang kemudian ditutupi dengan objek kaca lainnya. Sebuah beban seberat 50 gram diletakkan di atasnya. Timer diatur selama 5 menit, setelah itu beban seberat 80 gram dilepaskan. Selanjutnya, dicatat waktu yang dibutuhkan hingga kedua objek kaca terpisah (Saryanti *et al.*, 2019).

14.5 Uji Titik Lebur. Sebanyak 1 gr sediaan ditimbang menggunakan cawan porselen. Cawan porselen kemudian diletakkan diatas *waterbath*. Dimasukan termometer ke dalam cawan porselen, ditunggu hingga sediaan meleleh sempurna. Selama pengujian dilakukan pencatatan suhu awal dan suhu sediaan meleleh sempurna. Suhu lebur pada sediaan *lip balm* sekitar 50-70°C (Dominica *et al.*, 2023).

14.6 Uji Stabilitas. Pengujian stabilitas dilakukan dengan metode *cycling test*. Mula-mula sediaan diletak di dalam kulkas selama 24 jam dan di 24 jam berikutnya disimpan dalam oven dengan suhu 40°C. Peristiwa ini dianggap sebagai 1 siklus. Pengujian dilakukan sebanyak 6x siklus (Ambari *et al.*, 2020). Pencatatan dilakukan terkait perubahan tekstur, warna, bau pada *lip balm* (Ambari *et al.*, 2020).

14.7 Uji Kelembaban. Uji kali ini melibatkan lima orang panelis. Syarat untuk menjadi panelis adalah perempuan, dalam keadaan sehat, berusia antara 20 hingga 25 tahun, tidak memiliki riwayat penyakit yang berkaitan dengan alergi pada kulit, serta bersedia untuk berpartisipasi dengan mengisi formulir persetujuan. Penelitian mengenai kelembaban produk *lip balm* dilakukan dengan semua panelis yang mengukur tingkat kelembaban kulit sebelum menggunakan produk, menggunakan alat *skin test analyzer*. Setelah itu, panelis

mengaplikasikan *lip balm* dan produk *lip balm* merk x pada lengan bawah sebanyak dua kali dan dibiarkan tidak tertutup selama 20 menit. Pengukuran kelembaban dilakukan setelah pemakaian *lip balm* (Devina, 2023). Pengujian ini dilakukan setiap malam selama enam hari dengan waktu aplikasi yang konsisten. Pemantauan hasil dilakukan dengan mengamati secara langsung perubahan fisik serta mengukur kelembaban kulit menggunakan mesin *skin analyzer* (Yusuf *et al.*, 2019).

15. Verifikasi Formula Optimal

Hasil penilaian formula terbaik *lip balm* telah diverifikasi dengan membandingkan respon, kemampuan menyebar, daya rekat, dan titik lebur yang telah diprediksi menggunakan aplikasi *design expert* V. 13 dengan hasil percobaan (Widnyana *et al.*, 2021)

E. Analisis Hasil

Formula pembuatan *lip balm* diuji kualitas fisiknya, termasuk aspek organoleptik, homogenitas, titik leleh, kemampuan sebar, daya lekat, dan stabilitas. Hasil pengujian fisik setiap formula dianalisis dengan metode desain simplex lattice menggunakan aplikasi *Design Expert* V. 13 yang diterapkan dalam program mixture design. Dalam penelitian ini, data mengenai formulasi *lip balm* yang dihasilkan mencakup uji organoleptik, homogenitas, kemampuan sebar, daya lekat, titik leleh, dan stabilitas dari setiap formula. Selanjutnya, data mengenai kualitas fisik diuji normalitasnya ($p>0,05$) dengan metode *Shapiro-Wilk*. Apabila terdistribusi normal maka akan diteruskan dengan uji homogenitas, selanjutnya dilanjutkan uji *One Way* (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 95% dan dilaksanakan uji T-test untuk mengevaluasi apakah konsentrasi kombinasi cera flava dan cera carnauba akan memberikan dampak serupa pada kelompok yang diuji. Syarat untuk uji ANOVA adalah data harus memiliki distribusi normal serta kesamaan varians, dan jika data tidak terdistribusi normal, maka akan dilakukan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* ($p>0,05$) kemudian dilanjutkan dengan uji *Wilcoxon* dengan ($\text{sig.2}>0,05$).