

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental, dengan formulasi dan uji sifat fisik ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan variasi konsentrasi *suspending agent*.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Pembuatan dan penelitian sediaan suspensi dari ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dilakukan di Laboratorium Bahan Alam dan Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi Universitas Borneo Lestari dari bulan Februari sampai dengan bulan April 2024.

3.3. Populasi dan Sampel

3.3.1. Populasi

Populasi adalah semua tumbuhan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) yang diperoleh di daerah Banjarbaru Landasan Ulin, Kalimantan Selatan.

3.3.2. Sampel

Sampel tumbuhan bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari daerah Banjarbaru Landasan Ulin, Kalimantan Selatan. Bagian tanaman bunga telang yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bagian bunga yang bersih, tidak rusak atau sobek, berwarna ungu.

3.4. Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi PGA dan Na-CMC sebagai *suspending agent*.

3.4.2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah uji sifat fisik sediaan suspensi yang meliputi organoleptis, pH, berat jenis, viskositas, sedimentasi, redispersi dan stabilitas fisik.

3.5. Instrumen Penelitian

3.5.1. Alat penelitian

Alat-alat kaca (*Pyrex*®), neraca analitik (*Fujitsu*®), *waterbath* (*Memmert*®), *rotary evaporator* (*Heidolph*®), beker glass (*pyrex*®), blender simplisia (*Maspion*), ayakan nomor 40 (*Pharmlab*®), stopwatch, timbangan analitik (*ohaus*®), gelas ukur (*Pyrex*®), pH meter (*Senz pro scientific*®), Viskometer *brookfield*, dan piknometer.

3.5.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.), PGA (*Jaya Kimia Surabaya*®), Na-CMC (*Alifa Kemika Indonesia*®), natrium benzoat (*kimia jaya abadi*®), asam sitrat (*kimia jaya abadi*®), gliserin (*kimia jaya abadi*®), sirup simpleks dan *aquadest*.

3.6. Prosedur Penelitian

3.6.1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman adalah proses memastikan tanaman yang akan diteliti dan menentukan nama atau jenis tanaman secara spesifik. Determinasi tanaman bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dilakukan di Laboratorium FMIPA Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru.

3.6.2. Pembuatan Simplisia

Bunga telang diambil di kota Banjarbaru Kalimantan Selatan sebanyak yang diperlukan, kemudian disortasi basah dan dicuci dengan air mengalir kemudian dikeringkan di oven dengan suhu 50°C. Setelah dikeringkan bunga telang disortasi kering dan dihaluskan dengan menggunakan *blender* sampai menjadi serbuk dan di ayak dengan ayakan mesh 40. Selanjutnya serbuk ditimbang dan dilakukan perhitungan rendemen simplisia (Andriani *et al.*, 2018).

Rumus perhitungan randemen simplisia:

$$\% \text{ Randemen simplisia} = \frac{\text{bobot akhir simplisia}}{\text{bobot awal bunga segar}} \times 100\%$$

3.6.3. Pembuatan Ekstrak Bunga Telang

Simplisia bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) ditimbang 400 gram, kemudian dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi pada suhu kamar dengan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:5 yaitu 2L pelarut yang digunakan. Kemudian, dilakukan perendaman selama 3 hari dan dilakukan pengadukan setiap hari selama 5 menit. Maserat

berupa ekstrak cair yang diperoleh disaring untuk memisahkan filtrat dan ampas. Proses ini diulang sebanyak satu kali dengan prosedur yang sama tetapi dengan perbandingan 1:2,5 yaitu 1L pelarut yang digunakan. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* suhu <50°C kemudian dimasukkan kedalam *waterbath* dengan suhu <50°C sehingga didapatkan ekstrak kental dan mencapai bobot tetap (Andriani *et al.*, 2018).

Persen randemen ekstrak yaitu:

$$\% \text{ Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{bobot simplisia yang diekstraksi}} \times 100\%$$

3.6.4. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia simplisia dilakukan untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat dalam suatu simplisia. Skrining fitokimia terdiri dari alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, steroid/triterpenoid, dan tanin.

a. Uji Alkaloid

Sampel ekstrak bunga telang sebanyak 0,5 gram dilarutkan dalam 10 mL kloroform dan 4 tetes NH_4OH lalu disaring. Filtrat ditambahkan asam sulfat 2 N sebanyak 10 tetes, kocok kuat, didiamkan sampai larutan asam sulfat dan kloroform memisah. Lapisan asam sulfat diambil, dibagi dalam tiga tabung, dan ditambahkan reagen. Reagen *mayer* membentuk endapan berwarna putih jika mengandung alkaloid, untuk reagen *wagner* apabila positif mengandung senyawa alkaloid dan menghasilkan endapan coklat dan untuk reagen *Dragendorff* akan menghasilkan endapan jingga atau merah apabila mengandung senyawa alkaloid (Radhiah, 2022).

b. Uji Fenol

Sampel ekstrak bunga telang sebanyak 0,5 gram dilarutkan dalam 20 mL etanol 70%, larutan yang dihasilkan diambil sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan FeCl_3 1% sebanyak 2 tetes. Apabila larutan berwarna merah, ungu, biru, atau hitam pekat menunjukkan adanya fenol (Haryati *et al.*, 2015).

c. Uji Flavonoid

Sampel ekstrak bunga telang sebanyak 0,5 gram dilarutkan dengan etanol 70%. Tambahkan 1 mL logam magnesium, 1 mL HCl pekat dan 1 mL amil alkohol. Kemudian dikocok dan biarkan

memisah. Apabila larutan berwarna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol maka positif mengandung senyawa flavonoid (Radhiah, 2022).

d. Uji Saponin

Sampel ekstrak bunga telang sebanyak 0,5 gram dilarutkan dalam 10 ml *aquadest* didalam tabung reaksi. Selanjutnya panaskan selama 5 menit, kemudian dinginkan dan kocok kuat selama 10 detik. Setelah itu, tambahkan 1 tetes HCl 2N hingga terbentuk busa (busa tidak hilang selama 7 menit) maka menandakan adanya senyawa saponin (Radhiah, 2022).

e. Uji Steroid/Triterpenoid

Sampel ekstrak bunga telang sebanyak 0,5 gram dilarutkan dengan etanol 70%. Kemudian ditambahkan pereaksi *LiebermannBurchard*. Selanjutnya apabila terdapat warna biru atau hijau menandakan adanya positif senyawa steroid, sedangkan apabila terdapat warna merah atau ungu menandakan adanya positif senyawa triterpenoid (Radhiah, 2022).

f. Uji Tanin

Sampel ekstrak bunga telang sebanyak 0,5 gram dilarutkan dengan etanol 70%. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes gelatin 1% serta 2-3 tetes NaCl. Selanjutnya apabila terdapat endapan putih maka positif mengandung senyawa tanin (Radhiah, 2022).

3.6.5. Formulasi Sediaan Suspensi

Tabel 1. Formulasi Sediaan Suspensi

Komposisi	Konsentrasi (%) (b/v)				Fungsi
	F1	FII	FIII	FIV	
Ekstrak bunga telang	0,4 gram	0,4 gram	0,4 gram	0,4 gram	Zat aktif
PGA	1,25	2	0	2	<i>Suspending agent</i>
Na-CMC	2	1,25	2	0	<i>Suspending agent</i>
Natrium benzoat	0,5	0,5	0,5	0,5	Pengawet
Asam sitrat	0,1	0,1	0,1	0,1	Pendapar
Gliserin	10	10	10	10	<i>Wetting agent</i>
Sirup simpleks	4	4	4	4	Pemanis
Aquadest add	100	100	100	100	Cairan pembawa

Keterangan :

F1 = PGA : Na-CMC (1,25% : 2%)

F2 = PGA : Na-CMC (2% : 1,25%)

F3 = PGA : Na-CMC (0% : 2%)

F4 = PGA : Na-CMC (2% : 0%)

3.6.6. Pembuatan Sediaan Suspensi

Serbuk PGA dilarutkan dengan air dalam mortir sebanyak 7 kali beratnya. Na-CMC dilarutkan dengan air panas sebanyak 20 kali beratnya dan biarkan sampai mengembang dalam mortir lain. Kemudian PGA dan Na-CMC yang telah dilarutkan dicampur ditambahkan natrium benzoat digerus ad homogen. Kemudian ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) sebanyak 0,4 gram dilarutkan dengan gliserin sedikit demi sedikit diaduk sampai tercampur, selanjutnya ditambahkan asam sitrat aduk sampai tercampur, tambahkan sirup simpleks dan aquadest hingga 100 mL (Wijaya, 2021).

3.7. Evaluasi

Sediaan yang sudah jadi, kemudian diamati secara uji organoleptik meliputi warna, aroma, dan rasa. Kemudian uji pH, uji berat jenis, uji viskositas, uji sedimentasi, uji redispersi, dan uji stabilitas fisik.

3.7.1. Pengujian Organoleptis

Pengujian organoleptis terhadap sediaan suspensi ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dilakukan dengan menilai perubahan warna, bau dan rasa (Sanna *et al.*, 2012). Uji ini dilakukan replikasi tiga kali.

3.7.2. Pengujian pH

Pengujian pH dilakukan menggunakan pH meter digital. Kalibrasi alat, lalu elektroda dari pH meter digital dicelupkan kedalam suspensi, biarkan selama 30 detik, catat nilai pH yang muncul pada layar alat. Syarat pH pada sediaan suspensi yaitu 4-6 yang merupakan pH asam (Aremu *et al.*, 2015). Uji ini dilakukan replikasi tiga kali.

3.7.3. Pengujian Berat Jenis

Pengujian berat jenis dilakukan dengan piknometer kosong yang bersih dan kering ditimbang (A gram). kemudian aquadest dimasukkan kedalam piknometer dan ditimbang beratnya (A1 gram). Piknometer dibersihkan dan dikeringkan. Suspensi kombinasi ekstrak dimasukkan kedalam piknometer kemudian ditimbang beratnya (A2 gram). Syarat bobot jenis suspensi yaitu >1,00 g/ml (Wahyuni, 2017).

Uji ini dilakukan replikasi tiga kali. Massa jenis suspensi kombinasi ekstrak ditentukan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Bobot jenis} = \frac{A^2 - A}{A^1 - A} \times \text{BJ air pada suhu ruang}$$

Keterangan :

A : Bobot piknometer kosong

A1 : Bobot piknometer berisi air (g)

A2 : Bobot piknometer berisi sediaan (g)

BJ : Bobot jenis (g/ml)

3.7.4. Pengujian Viskositas

Pengujian viskositas dilakukan menggunakan alat *viscometer Brookfield* dengan rotasi perputaran 30 rpm. Adapun nilai viskositas suspensi menurut SNI adalah 37cP-396 cP. Viskositas yang terlalu tinggi tidak diharapkan karena menyebabkan masalah penuangan suspensi dari wadah dan sulitnya sediaan untuk terdispersi kembali (Wijaya, 2021). Uji ini dilakukan replikasi tiga kali.

3.7.5. Pengujian Sedimentasi

Tujuan dilakukan uji volume sedimentasi untuk mengetahui rasio pengendapan yang terjadi selama penyimpanan dalam waktu 30 hari. Langkah kerja yang dilakukan yaitu sediaan suspensi yang dihasilkan dimasukkan kedalam tabung reaksi berukuran sama (panjang dan diameter) sebanyak 10 mL, dan tutup dengan aluminium foil. Pengamatan dilakukan dan di catat apakah terjadi endapan atau tidak.

Dilakukan pengukuran tinggi endapan apabila terjadi penurunan sedimen (Wijaya, 2021). Uji ini merupakan salah satu pengujian yang sangat penting karena baik tidaknya suspensi dapat dilihat dari volume pengendapan yang dihasilkan. Uji ini dilakukan replikasi tiga kali. Volume sedimentasi dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$F = \frac{Vu}{Vo}$$

Keterangan :

F : Volume sedimentasi (ml)

Vu : Volume akhir sedimentasi

Vo : Volume awal sediaan (ml)

3.7.6. Pengujian Redispersi

Uji redispersi ini merupakan lanjutan dari uji volume sedimentasi. Uji redispersi bertujuan untuk mengetahui lama waktu yang dibutuhkan oleh sedimen yang terbentuk (jika terjadi pengendapan selama penyimpanan) untuk terdispersi kembali sehingga keseragaman dosis dapat tercapai kembali. Uji ini dilakukan dengan cara memasukan 10ml suspensi ekstrak bunga telang kedalam tabung reaksi berukuran sama (panjang dan diameter), dan alat diputar 360° dengan kecepatan 20 rpm. Waktu yang dibutuhkan untuk endapan terdispersi kembali dicatat sebagai hasil uji redispersi (Wijaya *et al.*, 2021). Uji ini dilakukan replikasi tiga kali.

3.7.7. Pengujian Stabilitas

Uji stabilitas fisik menggunakan metode *cycling test* dengan cara menyimpan sediaan pada suhu 4°C selama 24 jam lalu menyimpannya pada suhu ruang selama 24 jam, waktu penyimpanan pada dua suhu yang berbeda tersebut dianggap sebagai satu siklus. Uji ini dilakukan sebanyak 6 siklus. Uji ini dilakukan replikasi tiga kali. Setelah 6 siklus dilakukan uji evaluasi yang diamati secara organoleptik meliputi warna, aroma dan rasa. Kemudian uji pH, uji berat jenis, uji viskositas, uji sedimentasi dan uji redispersi.

3.8. Analisis Data

Analisis data untuk uji organoleptis dan homogenitas dilakukan secara deskriptif. Analisis data yang diperoleh dari hasil pengujian bobot jenis, viskositas, sedimentasi, dianalisis menggunakan SPSS dengan uji homogenitas dan normalitas, jika data terdistribusi normal maka dapat dilanjutkan dengan uji analisis *One-Way Anova*, sedangkan jika data tidak terdistribusi normal maka dilakukan uji *Kruskal Wallis*. Pengujian stabilitas sebelum dan sesudah dilakukan dengan uji *Paired test*, jika data tidak terdistribusi normal maka dilakukan uji *Wilcoxon*.