

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimental, dengan formulasi dan uji stabilitas fisik sediaan sirup ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.).

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Pembuatan dan penelitian sediaan *sirup* dari ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dilakukan di Laboratorium Bahan Alam dan Laboratorium Teknologi 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, dan berwarna ungu.

3.4. Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi propilen glikol sebagai *co-solvent*.

3.4.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hasil uji stabilitas fisik sediaan sirup berupa uji organoleptis, pH, homogenitas, viskositas, bobot jenis, kejernihan, hedonitas.

3.5. Instrumen Penelitian

3.5.1. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik (*Fujitsu*®), batang pengaduk, bejana maserasi, blender (*Maspion*), cawan penguap, cawan porselin, waterbath, kassa, botol coklat, thermometer, ayakan no. 30, *sentrifuge*, corong kaca, gelas beker (*Pyrex*®), kertas perkamen, kertas saring, mortir, stamper, tabung reaksi (*pyrex*), timbangan analitik (*ohaus*®), gelas ukur (*Pyrex*®), pipet, pH meter (*Senz pro scientific*®), viscometer *brookfield*, piknometer, penjepit kayu, sudip, pipet tetes dan kaca objek.

3.5.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak bunga

telang, propilen glikol, sorbitol, asam sitrat, Na-CMC, Na Benzoat, essence anggur dan aquadest.

3.6. Prosedur Penelitian

3.6.1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman adalah proses memastikan tanaman yang akan di teliti 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 di sortasi kering dan dihaluskan dengan menggunakan *blender* sampai menjadi serbuk dan diayak dengan ayakan mesh 40. Selanjutnya serbuk ditimbang dan dilakukan perhitungan rendemen simplisia.

Rumus perhitungan rendemen simplisia :

$$\% \text{ Rendemen Simplisia} = \frac{\text{Bobot Akhir Simplisia}}{\text{Bobot Awal Bunga Segar}} \times 100\%$$

3.6.3. Pembuatan Ekstrak Bunga Telang

Simplisia bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) ditimbang 400 g, 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. Maserasi 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. Filtrat yang diperoleh dipisahkan dengan menggunakan *rotary evaporator* suhu <50°C kemudian dimasukkan ke dalam *waterbath* dengan suhu <50°C sehingga didapatkan ekstrak kental dan mencapai bobot tetap (Andriani & Murtisiwi, 2018). Persen rendemen ekstrak yaitu:

$$\% \text{ Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Bobot Ekstrak yang diperoleh}}{\text{Bobot Ekstrak yang diekstraksi}} \times 100\%$$

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 tannin.

a. Uji Alkaloid

Sampel ekstrak bunga telang dilarutkan dalam 10 ml kloroform dan 4 tetes NH₄OH 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 akan 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 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 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 dilarutkan dalam 10 ml *aquadest* di dalam 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 dilarutkan dengan etanol 70%, kemudian ditambahkan pereaksi *Liebermann-Burchard*. 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 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 tannin (Radhiah, 2022).

3.6.5. Formulasi Sediaan Sirup

Tabel 1. Formulasi Sediaan Sirup

Komposisi	Konsentrasi %				Fungsi	Referensi
	F I	F II	F III	F IV		
Ekstrak Bunga Telang	0,6	0,6	0,6	0,6	Zat Aktif Antioksidan	(Andriani & Murtisiwi, 2020)
Propilen Glikol	15	20	25	30	Co Solvent	(Malkin, 2006)
Sorbitol	30	30	30	30	Pemanis	(Malkin, 2006)
Asam Sitrat	1	1	1	1	Pendapar	(Nuzzaibah & Ermawati, 2023)

Komposisi	Konsentrasi %				Fungsi	Referensi
	F I	F II	F III	F IV		
Na Benzoat	0,06	0,06	0,06	0,06	Pengawet	(Rashati et al., 2022)
Essense Anggur	0,3	0,3	0,3	0,3	Pewangi	(Sugarda et al., 2019)
Aquadest	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Pelarut	(Rashati et al., 2022)

3.6.6. Pembuatan Sediaan Sirup

Semua bahan ditimbang sesuai dengan formula. Ekstrak dimasukkan ke dalam gelas beker yang berbeda, kemudian ditambahkan propilen glikol bersama dengan asam sitrat dalam wadah yang sama sambil dilakukan pengadukan disertai pemanasan hingga terbentuk larutan homogen. Sorbitol dilarutkan dalam aquadest panas dalam beker terpisah. Kemudian Natrium benzoat dilarutkan dengan aquadest sebanyak 1 ml ad homogen. Kemudian tambahkan campuran ekstrak dan sorbitol sedikit demi sedikit lalu tambahkan larutan natrium benzoat gerus ad homogen. Masukkan essence anggur ke dalam campuran, gerus ad homogen. Saring menggunakan corong bucher dan masukkan ke dalam botol (Hidayati *et al.*, 2020).

3.7. Evaluasi

3.7.1. Uji Organoleptis

Uji organoleptis pada sediaan sirup meliputi rasa, bau, dan warna dapat dijadikan sebagai indikator sifat fisika yang bersifat

subjektif (Nuzzaibah & Ermawati, 2023).

3.7.2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan terhadap sirup yang sudah jadi yang diberikan hingga 50 ml dalam wadah. Wadah yang dikocok kemudian diamati apakah homogen. Replikasi tiga kali. Sirup yang baik harus stabil, homogen, bebas dari kekeruhan dan bebas dari kontaminasi dan pertumbuhan mikroba (Nuzzaibah & Ermawati, 2023).

3.7.3. Uji Viskositas

Alat yang digunakan adalah viskometer ostwald. Gelas beker diisi dengan cairan yang akan dilakukan pengujian. Cairan dihisap dengan bola pipet sampai tanda batas pipa kapiler, lepaskan bola pipet dan waktu yang dihabiskan cairan untuk turun ditulis. Syarat viskositas sirup 1,811cps (Y. P. Rahayu et al., 2023)

3.7.4. Uji pH

Uji pH dilakukan untuk mengukur keasaman suatu larutan menggunakan pH Meter. Tingkat keasaman (pH) merupakan faktor penting dalam formulasi karena mempengaruhi potensi, kelarutan, penyerapan, stabilitas dan kenyamanan pasien. Sehingga, obat yang bersifat asam lemah akan mudah larut d dalam lingkungan (Nuzzaibah & Ermawati, 2023). Nilai pH yang dianjurkan untuk sirup adalah berkisar antara 4-7.

3.7.5. Uji Kejernihan

Uji kejernihan dilakukan secara visual dengan mengamati sediaan. Hasil uji sediaan sirup harus jernih, dan bebas dari kotoran (Nuzzaibah & Ermawati, 2023).

3.7.6. Uji Bobot Jenis

Uji bobot jenis dilakukan dengan menggunakan piknometer. Pikno dibilas dengan aquadest, kondisikan pikno pada suhu 15-20°C, kemudian dikeringkan. Pegang pikno dengan dilapisi tisu. Pikno kering lengkap dengan tutupnya di timbang saat suhu mencapai 25°C, kemudian masukan aquadest hingga penuh dan tutup pikno. Atur suhu piknometer yang telah diisi hingga suhu 20°C, apabila terjadi penyusutan aquadest maka tambahkan aquadest hingga penuh. Keringkan bagian luar pikno, kemudian timbang saat suhu mencapai 25°C.

$$\text{Rumus perhitungan BJ (Bobot Jenis) : } \rho = \frac{m}{v} \quad (1)$$

Keterangan :

ρ = bobot jenis (g/mL)

m = bobot zat uji (g)

v = volume (mL)

Karena bobot per ml (kerapatan) air pada 25°C adalah 0,99602 g/mL, maka volume pikno dapat dihitung dengan :

$$\text{Volume pikno} = \text{volume air} = \frac{m_{\text{air}}}{\rho_{\text{air}}} \quad (2)$$

Dengan demikian bobot jenis cairan uji dapat dihitung dengan rumus :

$$\rho \text{ cairan uji} = \frac{m \text{ cairan uji}}{\text{vol pikno}} \text{ (g/mL)} \quad (3)$$

$$BJ = \frac{\rho \text{ cairan uji}}{\rho \text{ air}} \quad (4)$$

Syarat untuk uji bobot jenis sirup yaitu lebih dari 1,2.

3.7.7. Uji Volume Terpindahkan

Uji volume terpindahkan dilakukan dengan cara botol sirup 100 ml yang sebelumnya telah di kalibrasi. Sediaan sirup yang telah jadi kemudian dimasukkan ke dalam 100 ml sampai batas kalibrasi. Tuang kembali sirup dalam gelas ukur untuk mengetahui volume terpindahkannya serta ketepatan dalam melakukan kalibrasi (Fickri, 2019).

3.7.8. Uji Stabilitas Fisik

Uji stabilitas fisik menggunakan metode *cycling test* dengan cara menyimpan sediaan pada suhu 4° 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 organoleptic meliputi warna, bau dan rasa. Kemudian uji homogenitas, uji viskositas, uji pH, uji kejernihan, uji bobot jenis dan uji waktu tuang (Rahmayanti *et al.*, 2023).

3.8. Analisis Data

Analisis data evaluasi dilakukan secara deskriptif dan statistik. Data hasil dari uji organoleptis dan homogenitas dianalisis secara deskriptif. Data hasil berat jenis, pH dan viskositas dari sirup ekstrak bunga telang dianalisis secara statistik menggunakan software SPSS (analisis parametrik *One Way ANOVA* dan analisis non-parametrik secara *Kruskal-Wallis*). (Fitriana *et al.*, 2022). Pengujian stabilitas sebelum dan sesudah dilakukan dengan uji *Paired test* dan jika tidak normal menggunakan *Wilcoxon* (Hatidjah *et al.*, 2023).