

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental yaitu dengan membuat sediaan krim mengukur parameter fisiknya dan menguji aktivitas antioksidan sediaan krim yang mengandung sari buah tomat (*Solanum lycopersicum* L.)

B. Lokasi Penelitian

- 1 Pembuatan sari buah tomat (*Solanum lycopersicum* L.) di Laboratorium Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.
- 2 Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro (UNDIP) untuk mengetahui kebenaran buah tomat (*Solanum lycopersicum* L.).
- 3 Uji stabilitas fisik dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Ngudi Waluyo.
- 4 Pembuatan krim sari buah tomat (*Solanum lycopersicum* L.) di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.

C. Sampel Penelitian

Sampel dari penelitian adalah formula dari krim yang terdiri dari sari buah tomat (*Solanum lycopersicum* L.) diambil dari Hidroponik Agrofarm di daerah Kabupaten Bandungan, Jawa Tengah.

D. Defisini Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini yaitu:

- 1 Sampel buah tomat *cherry* diambil dari Hidroponik Agrofarm di daerah Kabupaten Bandungan, Jawa Tengah.
- 2 Konsentrasi sari buah tomat yang digunakan adalah 15%, 32,5% dan 50%.
- 3 Karakteristik mutu fisik meliputi: uji organoleptis, homogenitas, tipe emulsi, pH, viskositas, daya lekat, daya sebar, stabilitas mekanik dan aktivitas antioksidan.
- 4 Metode DPPH digunakan sebagai metode untuk menguji aktivitas sediaan krim sari buah tomat (*Solanum lycopersicum* L.).

E. Variabel Penelitian

1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah faktor yang dapat mempengaruhi hasil atau penyebab utama perbedaan. Variabel bebas pada penelitian ini adalah sari buah tomat dengan konsentrasi 15%, 32,5%, dan 50% dalam formula sediaan krim.

2 Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian merupakan hasil kestabilan fisik sediaan krim meliputi uji organoleptis, homogenitas, pH, tipe krim, viskositas, daya sebar, daya proteksi, sentrifugasi dan aktivitas antioksidan.

3 Variabel terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel tergantung/terikat selain variabel bebas, sehingga perlu ditetapkan kualitasnya agar hasil yang diperoleh

dapat diulang dalam penelitian lain secara tepat. Variabel terkendali pada penelitian ini adalah formulasi sediaan krim sari buah tomat (*Solanum lycopersicum* L.). Pada proses pencampuran sediaan antara lain suhu dan waktu pengadukan. Suhu pada saat pencampuran bahan-bahan sediaan krim harus dijaga karena dapat mengurangi terjadinya pematatan bahan yang terlalu cepat pada saat proses pembuatan sediaan krim.

F. Alat dan Bahan

1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender (*juicer*), neraca analitik (*Balance ohaus RE-2000E*), viskometer *Brookfield DV2T*, kertas saring, mortir dan stamper, *stopwatch*, *beaker glass* (awaki 100 mL), pipet volume (pyrex 10 mL), penangas air (*Faithrull Watherbath 2 long*), *object glass*, *deck glass*, gelas ukur (awaki 100mL), pH meter (starter 3100), sentrifugator (*Centrifuge PLC Series*), pisau, batang pengaduk, cawan porselen, mikroskop dan alat spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu uv-vis UV-1900i*)

2 Bahan

Bahan yang digunakan yaitu tomat *cherry* (Hidroponik Agrofarm Kabupaten Bandungan), setil alkohol, gliserin, asam stearat, trietanolamin, metil paraben, propil paraben, aquadest, NaOH, serbuk magnesium, etanol p.a, Penolpthalein, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, asam klorida, paraffin padat, methylene *blue*.

G. Prosedur Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Buah tomat (*Solanum lycopersicum* L.) di determinasi di Laboratorium Ekologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang, dengan tujuan mengetahui kebenaran dari buah tomat agar dapat menghindari kesalahan pengumpulan bahan penelitian dan mencegah kemungkinan tercampur dengan tanaman lain.

2. Penyiapan Bahan

Buah tomat bisa dipanen saat usia 4-5 bulan saat berubah warna dari hijau menjadi kuning kemerahan. Buah tomat (*Solanum lycopersicum* L.), dipetik saat pagi atau sore hari karena pada siang hari tanaman masih melakukan fotosintesis. Pada saat itu, penguapan sedang tinggi, sehingga buah tomat yang dipetik akan cepat layu (Nilawati *et al.*, 2017)

3. Pembuatan Sari Buah Tomat

Pembuatan sari buah tomat diawali dengan mencuci buah tomat hingga bersih, diiris lalu dimasukkan dalam blender tanpa penambahan air, kemudian disaring 2 kali penyaringan, menggunakan saringan biasa dan kertas saring untuk memisahkan residu dan filtratnya. Sari buah tomat berupa cairan yang telah dipisahkan dari residunya (Mudhana & Pujiastuti, 2021).

4. Identifikasi triterpenoid

Identifikasi triterpenoid dilakukan dengan pereaksi Liberman-Bouchard. Pereaksi Liberman Burchard digunakan untuk identifikasi

senyawa golongan triterpenoid dengan muncul warna merah jingga. Cara pengujiannya yaitu dengan cara 5 mL sari buah tomat diuapkan dalam cawan porselin. Residu hasil penguapan ditambahkan pereaksi Liberman-Bouchard. Pereaksi Liberman Burchard, yaitu 2 tetes asam asetat anhidrat dan 2 tetes H₂SO₄ pekat. Warna merah-jingga menunjukkan adanya triterpenoid.

5. Formula Krim

Formulasi krim sari buah tomat (*Solanum lycopersicum* L) dibuat 3 formula dengan bobot krim 100 gram. Formula I, II, III, menggunakan sari buah tomat dengan konsentrasi 15%, 32,5%, dan 50%.

Tabel 3. 1 Formulasi Krim Sari Buah Tomat Tabel 3.1 Formulasi Krim Sari Bua(*Solanum lycopersicum* L.).

Nama Bahan	Jumlah bahan (%)		
	FI	FII	FIII
Sari buah tomat	15	32,5	50
Gliserin	15	15	15
Asam stearat	5	5	5
Setil alkohol	4	4	4
Trietanolamin	2	2	2
Metil paraben	0,2	0,2	0,2
Propil paraben	0,02	0,02	0,02
Aquades	ad 100	ad 100	ad 100
Parfum Juicy	2 tetes	2 tetes	2 tetes

Keterangan;

FI : Konsentrasi sari buah tomat 15%
FII : Konsentrasi sari buah tomat 32,5%
FIII : Konsentrasi sari buah tomat 50%

6. Pembuatan Krim Sari Buah Tomat

Pembuatan sediaan krim sari buah tomat diawali dengan penentuan fase air dan fase minyak. Fase minyak terdiri dari asam stearat, setil alkohol, dan propil paraben. Fase air terdiri dari metil paraben, trietanolamin, gliserin, sari buah tomat dan aquades. Metil paraben dilarutkan dengan ad aquades hingga larut, kemudian dicampurkan trietanolamin, gliserin, sari buah tomat hingga homogen diatas *waterbath* sampai suhu 70°C.

Fase minyak yaitu asam stearat dilelehkan diatas *waterbath* pada suhu 70°C hingga meleleh sempurna, kemudian dimasukkan setil alkohol dan propil paraben selanjutnya diaduk hingga homogen, setelah fase minyak melebur semua dimasukkan ke dalam mortir panas, kemudian fase air dimasukkan sedikit demi sedikit, lalu diaduk hingga homogen.

7. Evaluasi Sediaan Krim Sari Buah Tomat (*Solanum lycopersicum L.*)

a. Organoleptis

Uji organoleptis berkaitan dengan karakteristik fisik sediaan yang dilakukan dengan bantuan panca indra, meliputi bentuk, warna, bau dan rasa saat dioleskan pada kulit (Yulia *et al.*, 2021).

b. Homogenitas

Sediaan krim ditimbang 0,1 g dan dioleskan pada *object glass*, kemudian diratakan dan ditutup menggunakan *deck glass*.

Homogenitas krim dinyatakan homogen jika tekstur krim tampak rata dan tidak menggumpal. Apabila diraba harus terasa halus, tidak terasa ada partikel-partikel kasar (Yulia *et al.*, 2021).

c. Tipe krim

Pemeriksaan tipe krim dilakukan dengan meletakkan sedikit krim pada *object glass*, ditambahkan 1 tetes metilen blue, kemudian dicampur hingga homogen, ditutup dengan *deck glass* dan diamati dibawah mikroskop. Fase eksternal akan terwarnai biru, jika krim bertipe minyak dalam air (M/A) (Mudhana & Pujiastuti, 2021).

d. pH

Pengujian pH sediaan krim sari buah tomat menggunakan alat pH meter. Satu gram krim dilarutkan dalam 10 mL aquades. Elektroda pH meter dimasukkan ke dalam krim yang sudah diencerkan. pH larutan akan terbaca dan muncul di layar pH meter (Mudhana & Pujiastuti, 2021).

e. Viskositas

Pengujian viskositas krim menggunakan viskometer *Brookfield* dengan *spindle* nomer 64. Krim yang akan diuji viskositasnya dimasukkan dalam *beaker glass* 100 mL, kemudian *spindle* diletakkan ditengah *beaker glass*. Viskositas sediaan krim akan terbaca setelah menekan “*run*” dan ditunggu sampai muncul hasilnya pada display alat (Sharon, Anam dan Yuliet, 2013).

f. Daya sebar

Sediaan krim ditimbang 0,5 g diletakkan ditengah alat uji daya sebar. Kaca penutup ditimbang, kemudian diletakkan di atas massa krim dan dibiarkan selama 1 menit. Diameter sediaan krim yang menyebar diukur dari 2 sisi (vertikal dan horisontal). Beban 50 g ditambahkan, didiamkan selama 1 menit kemudian diameter diukur. Percobaan dilakukan dengan beban tambahan 50 g pada tiap pengukuran hingga diameter konstan, dan didiamkan 1 menit serta diukur diameternya (Hastuti *et al.*, 2020).

g. Daya lekat

Sediaan krim sebanyak 0,5 diletakkan diatas *object glass* yang telah ditentukan luasnya (oleskan pada bagian yang halus) pada alat uji. *Object glass* yang lain (bagian permukaan yang halus) diletakkan di atas krim tersebut, kemudian diletakkan beban 1 kg selama 5 menit. Beban seberat 80 g dilepaskan sehingga menarik *object glass* terlepas) (Hastuti *et al.*, 2020). Syarat daya lekat pada sediaan krim adalah > 4 detik (Lumentut *et al.*, 2020)

h. Daya proteksi

Kertas saring dengan diameter 10 x 10 cm dibasahi dengan larutan phenolphthalein sebagai indikator hingga seluruh permukaannya terbasahi, kemudian dikeringkan. Kertas tersebut diolesi dengan 0,5 g krim pada satu sisi permukaan secara merata seperti lazimnya menggunakan krim, kemudian ditutup dengan kertas saring 2,5 x 2,5 cm yang sudah diberi pembatas paraffin padat yang

telah dicairkan. Kertas saring 2,5 x 2,5 cm ditetesi dengan 1 tetes Natrium Hidroksida. Timbulnya noda kemerahan diamati pada bagian kertas yang dibasahi dengan larutan NaOH, kemudian dicatat waktunya (Mudhana & Pujiastuti, 2021)

i. Stabilitas mekanik

Pengujian stabilitas dilakukan dengan cara 10 mL krim dimasukkan ke dalam tabung alat sentrifugator dan diatur pada kecepatan 4.000 rpm selama 30 menit. Perlakuan tersebut sama dengan perlakuan adanya gaya gravitasi selama 1 tahun. Sediaan krim yang telah diuji diamati terjadinya pemisahan. Pengujian ini dilakukan berdasarkan modifikasi dari penelitian (Sucitawati *et al.*, 2021)

8. Uji Aktivitas Antioksidan

Uji DPPH (*2,2-Difenyl-1-picryl hydrazil*) metode pengujian aktivitas antioksidan menggunakan DPPH (*2,2- Difenil-1-pikrilhidrazil*). Sebanyak 10 mg DPPH dilarutkan dalam 100 mL etanol p.a, kemudian campuran tersebut diinkubasi dalam ruangan yang gelap selama 30 menit. Kemudian sampel dan larutan DPPH yang telah dibuat tadi lalu diukur menggunakan Spektrofotometri Visible pada panjang gelombang 517 nm.

Nilai serapan larutan DPPH terhadap sampel tersebut dinyatakan dalam persen inhibisi (% inhibisi) dengan persamaan sebagai berikut :

$$\frac{Abs\ Kontrol - Abs\ Sampel}{Abs\ Kontrol} \times 100 \%$$

Dari data % inhibisi tersebut dapat digunakan sebagai perhitungan selanjutnya yaitu IC₅₀. IC₅₀ merupakan konsentrasi larutan sampel yang

dibutuhkan untuk menghambat 50 % radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC₅₀ maka antioksidan itu semakin kuat dalam menangkal radikal bebas atau dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang semakin kuat (Maryam, 2015).

a. Pembuatan larutan DPPH

Larutan DPPH dibuat dengan konsentrasi 100 µg/mL, dengan cara ditimbang DPPH sebanyak 10 mg dilarutkan dengan 100 mL metanol labu ukur (Azizah *et al.*, 2017).

b. Pengukuran Serapan Maksimum DPPH (*2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl*)

Pengujian dilakukan dengan cara dipipet 4 mL larutan DPPH konsentrasi 25 µg/mL, Kemudian didiamkan pada suhu 37° C pada ruangan gelap (terlindung dari sinar matahari). Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 400-800 nm (Azizah *et al.*, 2017).

c. Pembuatan Blanko

Cara ditambahkan dengan 4mL etanol p.a di dalam labu ukur 5mL, pembuatan larutan blanko yakni dengan menambahkan 1 mL larutan DPPH yang kemudian kemudian didiamkan selama waktu pengoperasian ditempat gelap. Serapan larutan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Sami & Rahimah, 2015).

d. Penentuan *Operating Time*

Penentuan *operating time* dilakukan dengan cara, 1 mL baku DPPH 0,4 mM lalu ditambahkan etanol p.a hingga tanda pada dalam labu 5mL. Lalu dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan pada interval waktu 1 menit dalam durasi 0-30 menit hingga diperoleh absorbansi yang stabil (Patria & Soegihardjo, 2013).

e. Pembuatan Larutan Vitamin C

Pembuatan larutan stok vitamin C dilakukan dengan cara melarutkan 10 mg vitamin C dilarutkan dalam etanol p.a hingga 50 mL, sehingga diperoleh larutan stok 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Mulangsri *et al.*, 2017).

f. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Pembuatan kurva kalibrasi dengan membuat seri larutan baku dalam berbagai konsentrasi kemudian absorbansi tiap konsentrasi diukur lalu dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi. Kurva kalibrasi yang lurus menandakan bahwa hukum *Lambert-Beert* terpenuhi (Darwis *et al.*, 2018)

g. Pembuatan Larutan Sampel Induk

Masing masing sampel diambil sebanyak 2 mL kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquades dalam labu ukur 100 ml sehingga didapatkan konsentrasi 2%. Pembuatan uji sampel uji sampel dengan larutan seri konsentrasi 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm, 90 ppm, dan 100 ppm. (Darwis *et al.*, 2018).

h. Pengujian IC_{50}

IC_{50} peroleh dengan masing-masing larutan uji yang bisa menghasilkan hambatan radikal bebas (% inhibisi) sebesar 50 % berdasarkan persamaan garis regresi linear korelasi menggunakan rumus:

$$Y = a + b x$$

Dimana : Y = Persen Inhibisi (%)

X = Konsentrasi

(Darwis *et al.*, 2018)

H. Analisis Data

Hasil dari formulasi sediaan krim sari buah tomat (*Solanum lycopersicum* L.) dapat dilakukan dengan pengujian fisik sediaan berupa data yang diperoleh dengan replikasi tiga kali pada pengamatan pH, daya sebar, daya lekat, viskositas. Analisis data dilakukan juga secara statistik dengan pengujian *analysis of variance* (anova) menggunakan *software Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) dan menggunakan uji *post hoc tukey* yang bertujuan untuk melihat perbedaan secara signifikan dari masing-masing sampel. Hasil pengujian rata-rata dibandingkan dengan uji mutu fisik yang dipersyaratkan. Krim yang terbaik dipilih pada formula yang memiliki mutu fisik yang baik dan aktivitas antioksidan yang kuat.