

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium. Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan rancangan *Post Test Control Group Design*. Pada tahap pertama dilakukan proses penyarian sari buah tomat *cherry* menggunakan juicer, saringan dan kertas saring. Tahap kedua membuat formulasi sediaan *hand and body lotion* sari buah tomat *cherry* (*Solanum lycopersicum*). Tahap ketiga yaitu uji triterpenoid menggunakan pelarut Lieberman-Burchard (Asam asetat anhidrat-asam sulfat pekat). Tahap keempat evaluasi sifat fisik pada sediaan *hand and body lotion* sari buah tomat *cherry* (*Solanum lycopersicum*) berdasarkan pada uji organoleptis, homogenitas, tipe emulsi, nilai pH, daya lekat, daya sebar, dan stabilitas. Tahap kelima uji antioksidan pada sediaan *hand and body lotion* sari buah tomat *cherry* (*Solanum lycopersicum*). Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Teknologi dan Fitokimia Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo Ungaran.

B. Waktu dan Lokasi Penelitian

1. Lokasi Penelitian

- a. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang.
- b. Pembuatan sari buah tomat *cherry* (*Solanum lycopersicum*), pembuatan *hand and body lotion*, evaluasi sifat fisik dan stabilitas mekanik dan pengujian antioksidan dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Progran Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.

2. Waktu Pelaksanaan

Proses penelitian dilakukan pada periode Desember 2022 sampai Januari 2023.

C. Subjek Penelitian

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah bagian buah tomat *cherry* (*Solanum lycopersicum*). Sampel diperoleh dari Agrofarm Hidroponik Bandungan, Kabupaten Semarang. Sampel tersebut selanjutnya diformulasikan dalam bentuk sediaan *hand and body lotion*. *Hand and body lotion* dimaksudkan sebagai sediaan antioksidan penangkal radikal yang aman untuk kulit dan badan. Dengan menggunakan 3 formula dengan variasi konsentrasi asam stearat yang berbeda yaitu 2%, 4% dan 6%.

D. Defisini Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini meliputi:

1. Sampel buah tomat cherry didapatkan dari Hidroponik Agrofarm di Bandungan, Jawa Tengah.
Konsentrasi sari buah tomat cherry yang digunakan adalah 50%.
2. Konsentrasi emulgator asam stearat yang digunakan adalah 2%,4 dan 6%.
3. Pereaksi Lieberman-Burchard (Asam asetat anhidrat-asam sulfat pekat) yang digunakan uji triterpenoid.
4. Metode DPPH digunakan sebagai metode untuk menguji aktivitas sediaan *hand and body lotion* sari buah tomat *cherry* (*Solanum lycopersicum*).
5. Pengujian yang dilakukan pada sediaan lotion adalah evaluasi sifat fisik, organoleptis, homogenitas, tipe emulsi, uji pH uji daya lekat, daya sebar, stabilitas, serta uji aktivitas antioksidan.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau sebab perubahan timbulnya variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi asam stearat dalam sediaan *hand and body lotion* 2%, 4%, dan 6%.

2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung adalah variabel penelitian yang diukur untuk mengetahui efek atau pengaruh variabel lain. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah sifat fisik, stabilitas dan aktivitas antioksidan *hand and body lotion* sari buah tomat *cherry* (*Solanum lycopersicum*).

3. Variabel Terkendali

Variabel terkendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya supaya hasil yang ditetapkan tidak tersebar dan dapat diulangi oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkendali pada penelitian ini adalah pembuatan atau formulasi sediaan *hand and body lotion* sari buah tomat *cherry* (*Solanum lycopersicum*).

F. Pengumpulan Data

1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, gelas ukur, *beaker glass*, cawan porselin, mortir stamper, pengaduk gelas, botol *pump* 50 mL, tabung reaksi, labu takar, *object glass*, *stopwatch*, alat uji daya sebar, alat uji daya lekat, viskometer DV2T Brookfield spindle no 64, *waterbath*, kertas saring, mikroskop (Olympus), *juicer*, pisau,

pH universal, sentrifugator dan alat uji antioksidan yaitu Spektrofotometer UV-VIS (*Shimazu uv-vis UV-1900i*).

2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sari buah tomat *cherry*, asam stearat, tween 80, paraffin liquidum, aquadest, setil alkohol, propelengikol, natrium *benzoate*, indicator phenolphtalein, paraffin padat, dan kalium hidroksida 0,1 N, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, serbuk vit c, serbuk DPPH dan parfum *juicy*.

6. Prosedur Penelitian

1. Pengumpulan Bahan

Buah tomat *cherry* (*Solanum lycopersicum*) yang digunakan sebagai penelitian dipetik langsung dari Hidroponik Agrofarm Bandungan.

2. Determinasi Tanaman

Tanaman tomat *cherry* di determinasi di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Fakultas Sains dan Matematika Biologi Universitas Diponegoro Semarang, dengan tujuan mengetahui kebenaran dari buah tomat *cherry* (*Solanum lycopersicum*). untuk menghindari kesalahan pengumpulan bahan penelitian.

3. Pembuatan Sari Buah Tomat *Cherry*

Sari buah tomat *cherry* merupakan cairan yang jernih atau hampir jernih yang tidak mengalami proses fermentasi, diperoleh dengan cara pengepresan atau penghancuran buah tomat *cherry* yang telah masak dan segar. Pembuatan sari buah tomat *cherry* diawali dengan mencuci buah, diiris lalu dimasukkan dalam blender tanpa penambahan air, kemudian disaring 2x penyaringan, menggunakan saringan dan kertas saring untuk

memisahkan filtrat dan residunya. Sari buah tomat *cherry* berupa cairan yang telah dipisahkan dari residunya.

3. Identifikasi Triterpenoid

Identifikasi triterpenoid dilakukan dengan cara 5mL sari buah tomat diuapkan dalam cawan porselin. Residu hasil penguapan ditambahkan pereaksi *Liberman-Bouchard*, yaitu 2 tetes *asam asetat anhidrat* dan 2 tetes asam sulfat pekat. Warna merah sampai ungu yang terbentuk menunjukkan adanya triterpenoid (Fathurrachman, 2014).

4. Formula *Hand and Body lotion*

Hand and body lotion sari buah tomat *cherry* dibuat 3 formula dengan 3 konsentrasi yaitu 50%, 50% dan 50% dan variasi konsentrasi asam stearat 2%, 4% dan 6%. Setiap formula *Hand and Body lotion* dibuat sebanyak 50 gram. Formula *hand and body lotion* sari buah tomat *cherry* dapat dilihat pada tabel 3.1

Tabel 3. 1 Formula Hand and Body Lotion Sari Buah Tomat *Cherry*

| Nama bahan | Jumlah bahan (%) | | |
|-------------------------------|------------------|---------|---------|
| | FI | FII | FIII |
| Sari buah tomat <i>cherry</i> | 50 | 50 | 50 |
| Asam stearate | 2 | 4 | 6 |
| Tween 80 | 10 | 10 | 10 |
| Paraffin liquidum | 10 | 10 | 10 |
| Setil alkohol | 8 | 8 | 8 |
| Propilen glikol | 10 | 10 | 10 |
| Natrium benzoate | 0,3 | 0,3 | 0,3 |
| Aquadest sampai | 100 | 100 | 100 |
| Parfum juicy | 2 tetes | 2 tetes | 2 tetes |

Formula *hand and body lotion* sari buah tomat *cheery* merupakan hasil dari modifikasi penelitian yang dilakukan oleh (Pujiastuti & Kristiani, 2019) dijelaskan bahwa

stabilitasnya kurang baik karena konsentrasi asam stearat dan sari buah tomat, maka pada penelitian ini dilakukan modifikasi asam stearat sebagai emulgator.

5. Pembuatan *Hand and Body Lotion* Sari Buah Tomat

Pembuatan sediaan *hand and body lotion* sari buah tomat *cherry* diawali dengan penentuan fase air dan fase minyak. Fase minyak terdiri dari setil alkohol, asam stearat dan paraffin liquidum. Fase air terdiri dari sari buah tomat *cherry*, tween 80, propilenglikol, natrium benzoate dan aquadest. Natrium benzoate dilarutkan dalam sari buah tomat hingga larut, kemudian dicampurkan dengan sari buah tomat *cherry*, propilen glikol dan tween 80 hingga homogen diatas *waterbath* sampai suhu 70°C.

Asam stearat dilelehkan diatas *waterbath* pada suhu 70°C hingga meleleh sempurna, kemudian dimasukkan setil alkohol dan paraffin liquidum selanjutnya diaduk hingga homogen. Fase minyak dicampur menjadi satu dengan fase air dalam cawan pada suhu 70°C sambil diaduk dan dicukupkan hingga menghasilkan sediaan *hand and body lotion* sebanyak 50 gram. Sediaan *hand and body lotion* di diamkan pada suhu ruang sambil dilakukan pengadukan supaya homogen. Pengadukan dilakukan di mortir sampai terbentuk massa yang kental dan homogen (Pujiastuti & Kristiani, 2019). Kemudian ditambahkan parfum untuk memberi wangi *hand and body lotion* yang menarik.

6. Evaluasi Sifat Fisik Sediaan *Hand and Body lotion*

a. Organoleptis

Pengujian organoleptis sediaan *hand and body lotion* dilakukan dengan mengamati sediaan meliputi warna, bau, dan rasa *hand and body lotion* ketika dioleskan pada kulit (Syam & Marini, 2020).

b. Homogenitas

Pengujian homogenitas diawali dengan menimbang sebanyak 0,1 gram *hand and body lotion* sari buah tomat *cherry*. *Hand and body lotion* diletakkan ditengah *object glass* kemudian diratakan dan ditutup dengan *object glass* lainnya. Pengujian homogenitas diamati menggunakan kaca pembesar, dan diperhatikan ada tidaknya partikel- partikel kasar atau ketidakhomogenan pada sediaan. (Pujiastuti & Kristiani, 2019).

c. Tipe Emulsi

Pengujian tipe emulsi dilakukan dengan meletakkan sedikit *lotion* 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 *lotion* bertipe minyak dalam air (M/A) (Pujiastuti & Kristiani, 2019).

d. pH

Pengujian pH sediaan sari buah tomat *cherry* dilakukan menggunakan pH universal. Sediaan *hand and body lotion* dioleskan pada kertas pH universal dan dilakukan pengamatan terjadinya perubahan warna pada kertas pH. Warna yang muncul pada kertas pH universal selanjutnya dicocokkan dengan warna pada indikator pH yang terdapat pada kemasan pH universal dan dicatat hasilnya. (Pujiastuti & Kristiani, 2019).

e. Viskositas

Pengujian viskositas sediaan *hand and body lotion* sari buah tomat *cherry* dilakukan dengan memasukkan 50 gram sediaan ke dalam botol lotion atau pot krim, kemudian diukur viskositasnya menggunakan viskometer Brookfield tipe DV2T. Pengukuran dimulai dengan melakukan pemasangan *spindle* nomor 64 dengan memutar pengunci spindle searah jarum jam. Kecepatan spindle pada kecepatan 10 rpm. Pengukuran viskositas dicatat dari angka yang muncul pada layar ketika spindle berhenti berputar atau pada waktu 1 menit dengan persentase (%) *torque* kurang lebih 50% (Pujiastuti & Kristiani, 2019).

f. Daya Lekat

Hand and body lotion sari buah tomat *cherry* ditimbang sebanyak 0,1 g diletakkan di tengah *object glass* dan ditutup dengan *object glass* lainnya. Anak timbangan 1 kg diletakkan di atas *object glass* penutup selama 5 menit. Ujung *object glass* penutup dan ujung *object glass* bagian bawah dikaitkan dengan penjepit pada alat uji daya lekat, lalu penyangga beban dilepas. Lama waktu kedua *object glass* terlepas dari alat uji dicatat sebagai waktu lekat sediaan (Pujiastuti & Kristiani, 2019).

g. Daya Sebar

Pengujian daya sebar dilakukan dengan menimbang *hand and body lotion* sari buah tomat *cherry* sebanyak 0,5 g diletakkan di tengah kaca bundar berskala, di atas sediaan diletakkan kaca bundar lain yang telah ditimbang lalu didiamkan selama 1 menit dan dicatat diameter penyebarannya. Beban seberat 50 g ditambahkan diatas kaca penutup dan didiamkan selama 1 menit lalu dicatat diameter penyebarannya. Pemberat ditambahkan dengan kelipatan 50 g hingga mencapai 300 g atau sampai tidak ada

penyebaran. Kemudian diukur diameter dan luas penyebarannya (Pujiastuti & Kristiani, 2019).

7. Pengujian Stabilitas Mekanik

Hand and body lotion Pengujian stabilitas mekanik *hand and body lotion* sari buah tomat *cherry* dilakukan dengan metode uji mekanik. Metode ini dilakukan dengan cara sebanyak 10 mL *hand and body lotion* dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi. Sentrifugator diatur dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit pada suhu ruang (Ernawati, *et al.*, 2017). Uji sentrifugasi dilakukan untuk mengetahui terjadinya perubahan yang mana hasilnya ekuivalen dengan gaya gravitasi selama 1 tahun (Sinaga, *et al.*, 2015).. Sediaan *lotion* yang telah diuji diamati terjadinya pemisahan. Pengujian ini dilakukan berdasarkan modifikasi dari penelitian (Pratasik, *et al.*, 2019).

8. Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini ditentukan dengan metode *diphenyl picryl hidrazyl* (DPPH) dengan cara 2,5mg DPPH dilarutkan dalam 100mL etanol p.a, kemudian larutan tersebut diinkubasi dalam ruangan yang gelap selama 30 menit. Sampel dan larutan DPPH yang telah dibuat diukur menggunakan Spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 517 nm.

Nilai absorbansi 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. 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 (Inggrid & Santoso, 2014).

a. Pembuatan larutan stok DPPH

Dilakukan dengan menimbang serbuk DPPH sebanyak 10 mg pada botol timbang kemudian di tambahkan 2 mL etanol p.a lalu dicukupkan volumenya sampai tanda pada labu takar 100 mL sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. (Mulangsri et al., 2017).

b. Pembuatan larutan stok 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 ppm (Mulangsri *et al.*, 2017).

c. Penentuan Panjang Gelombang

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang dimana terjadi absorbansi maksimum. Untuk memperoleh panjang gelombang absorbansi maksimum dapat diperoleh dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari satu larutan baku dengan konsentrasi tertentu (Darwis *et al.*, 2018). Pengukuran panjang gelombang maksimal dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan DPPH 0.4 mg pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 500–525 nm. Panjang gelombang maksimal diperoleh dari nilai absorbansi yang maksimum (Mulangsri *et al.*, 2017).

d. Operating time

Penentuan *operating time* dilakukan dengan cara mengambil 50 ppm larutan uji ditambah 4,0 mL larutan DPPH 0.4 mM kemudian divortex dan diukur pada menit ke

0 sampai menit ke 30 pada panjang gelombang maksimum yang telah di peroleh dari penentuan panjang gelombang sebelumnya. Menit yang menghasilkan absorbansi perendaman radikal bebas DPPH paling stabil merupakan operating time (Mulangsri *et al.*, 2017).

e. 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 (Fathurrachman, 2014).

f. Pembacaan Absorbansi Sampel

Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,8 atau 15-70 % jika dibaca sebagai transmittan. Hal ini disebabkan karena pada kisaran nilai absorbansi tersebut kesalahan fotometrik yang terjadi adalah paling minimal (Rohman, 2007).

g. Pengujian IC50

$$\text{Data perhitungan dari } \frac{\text{inhibisi Abs.blangko} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. blangko}} \times 100\%$$

yang diperoleh dengan terlebih dahulu membuat persamaan garis yang menghubungkan antara % inhibisi terhadap konsentrasi larutan uji masing-masing sampel 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm, 90 ppm dan 100 ppm. IC50 diperoleh dengan masing-masing larutan uji yang bisa menghasilkan hambatan radikal bebas (% inhibisi) sebesar 50 % berdasarkan persamaan garis regresi linear menggunakan

$$\text{rumus : } Y = a + b x$$

Keterangan :

Y = Persen Inhibisi (%)

X = Konsentrasi (K) (Darwis *et al.*,2018).

9. Analisis Data

Hasil dari formulasi sediaan *hand and body lotion* sari buah tomat *cherry* dapat dilakukan dengan evaluasi sifat fisik sediaan berupa data yang diperoleh dengan replikasi tiga kali pada pengamatan organoleptis, pH, daya lekat, daya sebar, viskositas, tipe emulsi yang disajikan dalam bentuk tabel dan grafik. Analisis data dilakukan juga secara statistik dengan pengujian *analysis of variance* (anova) dan *shapiro wilk* menggunakan *software Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) dan menggunakan uji *kruskal wallis* dan *post hoc tukey* LSD yang bertujuan untuk melihat perbedaan kekuatan aktivitas antioksidan dari tiap sampel dan membandingkan sampel mana yang memiliki aktivitas antioksidan paling kuat.. Rata-rata hasil uji tersebut dibandingkan dengan evaluasi sifat fisik yang dipersyaratkan. Formula dengan hasil memenuhi persyaratan dipilih sebagai sediaan *hand and body lotion* sari buah tomat *cherry* terbaik.