

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental bertujuan untuk mengetahui suatu gejala atau pengaruh yang timbul sebagai akibat dari adanya perlakuan tertentu (eksperimen). Penelitian eksperimen adalah untuk menyelidiki kemungkinan saling hubungan sebab akibat dengan cara mengadakan intervensi atau mengenakan perlakuan kepada satu atau lebih kelompok eksperimen, kemudian hasil (akibat) dari intervensi tersebut dibandingkan dengan kelompok yang lain (Notoatmodjo, 2018).

Penelitian ini dilakukan dengan merancang formula sediaan sirup, mengevaluasi sediaan, dan uji aktivitas antioksidan pada sediaan sirup sari buah semangka merah berbiji (*Citrullus lanatus*). Penelitian ini menggunakan 3 variasi konsentrasi sari buah semangka merah berbiji (*Citrullus lanatus*) yaitu 25%, 30%, dan 35% dalam sediaan sirup dengan 3 kali pengulangan.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

- a. Determinasi tanaman buah semangka merah berbiji (*Citrullus lanatus*) dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro.

- b. Pembuatan sari buah semangka merah berbiji (*Citrullus lanatus*), pembuatan sirup, evaluasi karakteristik fisik sediaan dan pengujian antioksidan dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi, Farmasetika, dan Kimia Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.

2. Waktu Penelitian

Proses penelitian dilakukan pada periode Mei – Juli 2023.

C. Subjek Penelitian

Subjek pada penelitian ini adalah formula dan produk sari buah semangka merah berbiji (*Citrullus lanatus*) dalam sediaan sirup dengan variasi konsentrasi 25%, 30%, dan 35%

D. Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini meliputi:

1. Zat aktif pada sediaan sirup sari buah semangka merah berbiji (*Citrullus lanatus*) adalah buah semangka merah berbiji diperoleh dari Pertanian Purwodadi, Jawa Tengah.
2. Sirup sari buah semangka merah berbiji (*Citrullus lanatus*) adalah sirup yang mengandung sari buah semangka merah berbiji dengan konsentrasi 25%, 30%, dan 35%.
3. Metode uji aktivitas antioksidan sirup sari buah semangka merah berbiji (*Citrullus lanatus*) adalah metode DPPH

4. Evaluasi sirup sari buah semangka merah merah (*Citrullus lanatus*) adalah uji organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, bobot jenis, dan aktivitas antioksidan.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang dapat mempengaruhi dan menjadi sebab timbulnya perubahan pada variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi 25%, 30%, dan 35% sari buah semangka merah (*Citrullus lanatus*) dalam sediaan sirup.

2. Variabel Terikat

Variabel tergantung adalah variabel yang dipengaruhi akibat dari adanya variabel bebas. Variabel tergantung dalam penelitian ini yaitu karakteristik fisik sediaan sirup sari buah semangka merah berbiji (*Citrullus lanatus*) yang meliputi uji organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, bobot jenis dan aktivitas antioksidan dengan parameter IC_{50} .

3. Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah alat, bahan, dan metode pembuatan sediaan.

F. Pengumpulan Data

1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi neraca analitik (Excellent scale HZY), *slow juicer* manual, nampan, pisau, pH meter (Ohaus

ST3100), termometer (HIA Medika), viskometer Brookfield (DV2TLVTTJ0), ultra turax (IKA T25 D), piknometer (Pyrex), *beaker glass* (Pyrex), gelas ukur (HERMA), tabung reaksi (IWAKI), labu ukur (IWAKI), pipet tetes, kompor listrik (Maspion S301), cawan penguap, *aluminium foil*, saringan, spatula, kaca arloji, batang pengaduk, mortir dan stamper, kemasan sirup, dan spektrofotometer UV-VIS (Shimazu uv-vis UV-1900i).

2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sari buah semangka merah berbiji (*Citrullus lanatus*) yang diperoleh dari kabupaten Purwodadi, sukrosa (*food grade*), natrium CMC (*food grade*), asam sitrat (*food grade*), natrium benzoat (*food grade*), aquadest (*food grade*), etanol 96% (farmasetis), etanol (pro analisis), DPPH (por analisis), dan vitamin C (farmasetis).

G. Prosedur Penelitian

1. Pengumpulan Bahan

Buah semangka merah (*Citrullus lanatus*) yang digunakan sebagai penelitian didapatkan di pertanian semangka Purwodadi, Jawa Tengah.

2. Determinasi Tanaman

Tanaman semangka di determinasi di Laboratorium Ekologi dan Biosistemik Fakultas Sains dan Matematika Biologi Universitas Diponegoro Semarang.

3. Pembuatan Sari Buah Semangka

Sari buah semangka merah diperoleh dengan cara pengepresan atau penghancuran. Pembuatan sari buah semangka merah diawali dengan mencuci buah dengan air mengalir, dipisahkan daging buah semangka merah dengan kulitnya. Dipisahkan biji semangka dengan dagingnya, lalu diiris kecil – kecil daging buah semangka, lalu diperas dengan *slow juicer* manual tanpa penambahan air. Setelah itu, dilakukan penyaringan untuk memisahkan filtrat dan residunya. Sari buah semangka berupa cairan yang telah dipisahkan residunya ditampung ke dalam botol bersih.

4. Formula Sirup Sari Buah Semangka

Formula sirup sari buah semangka merah terdiri dari sari buah dan dasar sirup hasil yang dibuat merupakan modifikasi penelitian (Yanuarto *et al.*, 2022) terdapat pada tabel 3.1. Dasar sirup dibuat 800 mL untuk 3 formula dengan 3 kali replikasi.

Tabel 3. 1 Formula Dasar Sirup Sari Buah

Komposisi	Bahan		Kegunaan
	%	gram	
Sukrosa	65	520	Zat pemanis
Na CMC	1	8	Zat pengental
Asam Sitrat	0,1	0,8	Buffer
Na benzoat	0,5	4	Zat pengawet
Aquadest ad	100	800 mL	Zat pembawa dan pelarut

Pembuatan dasar sirup dengan cara disiapkan semua bahan yang akan digunakan, kemasan sirup dikalibrasi terlebih dahulu. Bahan – bahan yang telah disiapkan kemudian ditimbang sesuai dengan formula yang telah ditentukan. Dibuat dasar sirup, dipanaskan air 300 mL di atas kompor listrik sampai mendidih, lalu dibuat *mucillago* dengan cara melarutkan Na CMC

sebanyak 8 gram dengan air panas 160 mL dibiarkan selama 15 menit, kemudian diaduk sampai terbentuk *mucillago* (M1). Asam sitrat dilarutkan ke dalam aquadest 10 mL (M2). Na benzoat dilarutkan ke dalam aquadest 10 mL (M3). Sukrosa dilarutkan ke dalam air panas 120 mL (M4). Dimasukkan M2 ke dalam *beaker glass*, lalu ditambahkan M3 dan M1 sedikit demi sedikit sekali – kali diaduk, ditambahkan M4 diaduk sampai homogen. Setelah itu, ditambahkan aquadest ad 800 mL diaduk hingga homogen.

Formula sirup sari buah semangka merah berbiji (*Citrullus lanatus*) hasil dari modifikasi penelitian (Yanuarto *et al.*, 2022) terdapat pada tabel 3.2. Sediaan sirup sari buah semangka merah (*Citrullus lanatus*) dibuat 120 mL tiap formula.

Tabel 3. 2 Formula Sediaan Sirup Sari Buah Semangka Merah

Komposisi	Bahan (mL)			Kegunaan
	F1	F2	F3	
Sari buah semangka merah	30	36	42	Zat aktif
Dasar sirup ad	120	120	120	Zat tambahan

Keterangan:

F1 : Formula sirup dengan konsentrasi sari buah semangka merah 25%

F2 : Formula sirup dengan konsentrasi sari buah semangka merah 30%

F3 : Formula sirup dengan konsentrasi sari buah semangka merah 35%

Dibuat sirup sari buah semangka merah dengan cara dimasukkan sari buah semangka merah masing – masing variasi konsentrasi 25 %, 30 %, dan 35 % ke dalam *beaker glass*. Dasar sirup ad 120 mL ditambahkan ke dalam *beaker glass* diaduk sampai homogen. Sediaan sirup yang telah homogen dimasukkan ke dalam botol.

5. Evaluasi Sediaan Sirup Sari Buah Semangka

a. Uji Organoleptik

Pengujian organoleptik dilakukan uji pemeriksaan dengan panca indera yang mengamati bau, rasa, dan warna sesuai persyaratan SNI 3544:2013 yaitu normal jika tidak tercium bau asing dan tidak terasa rasa asing serta warna yang merata pada sediaan.

b. Uji Homogenitas

Pengujian homogenitas dilakukan dengan cara menggunakan kertas putih sebagai latar belakangnya dan diamati dengan bantuan senter untuk melihat distribusi partikel. Sirup yang baik tidak keruh, tidak terdapat gumpalan dan endapan, serta bebas dari kontaminasi (Syakri & Putra, 2017).

c. Uji pH

Pengujian pH menggunakan alat pH meter. pH meter dikalibrasi dengan larutan standar *buffer* pada pH 4, 7, dan 10. Pengukuran nilai pH dilakukan dengan menggunakan pH meter pada larutan sampel 10% yang dibuat dengan melarutkan 1 gram sampel ke dalam 9 mL air, pengukuran dilakukan dengan cara mencelupkan elektroda pH meter yang telah dibilas dengan air suling ke dalam larutan. Nilai pH sirup yang baik 4 – 7 (Ratnapuri *et al*, 2019).

d. Uji Viskositas

Pengujian viskositas sediaan sirup menggunakan viskometer *Brookfield* dengan *spindle* nomor 61. Langkah pertama uji viskositas

dengan memasang *spindle* pada gantungan spindel terlebih dahulu. Sampel yang diuji viskositasnya dimasukkan dalam *beaker glass* 100 mL, kemudian *spindle* diletakkan ditengah *beaker glass* dan dibiarkan sampai tercelup. Selanjutnya menekan tombol “on” sampai terlihat hasilnya. Kecepatan alat diatur 50 rpm (Yanuarto *et al*, 2022).

e. Uji Bobot Jenis

Pengujian bobot jenis menggunakan piknometer yang bersih dan kering. Ditimbang piknometer kosong (W_0), lalu isi dengan aquadest, bagian luar piknometer dilap hingga kering dan ditimbang (W_1). Aquadest dibuang dan dikeringkan piknometer, kemudian dimasukkan dengan sediaan yang akan diukur bobot jenisnya pada suhu yang sama pada saat pengukuran aquadest dan ditimbang (W_2) (Fickri, 2018). Nilai bobot jenis sirup yang baik yaitu lebih dari 1,2. Nilai bobot jenis air pada suhu 25°C sebesar 0,9971 (Kemenkes RI, 2020). Bobot jenis sediaan dihitung dengan rumus :

$$BJ = \frac{\rho \text{ Sediaan}}{\rho \text{ Air}} \text{ atau } BJ = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \times BJ \text{ air } 25^\circ\text{C}$$

Keterangan:

- ρ = Bobot jenis
- W_0 = Berat piknometer kosong (g)
- W_1 = Berat piknometer kosong + aquadest (g)
- W_2 = Berat piknometer kosong + sampel (g)

6. Uji Aktivitas Antioksidan

Perlakuan uji aktivitas antioksidan dalam Wulandari (2021) sebagai berikut:

a. Pembuatan Larutan DPPH

Sebanyak 10 mg serbuk DPPH ditimbang dan dilarutkan dengan 100 mL etanol p.a ke dalam labu ukur sehingga diperoleh larutan induk DPPH 100 ppm. Larutan induk diencerkan menjadi 20 ppm dengan cara dipipet 20 mL ditambahkan etanol p.a hingga 100 mL ke dalam labu ukur.

b. Pembuatan Larutan Pembanding Vitamin C

Vitamin C ditimbang sebanyak 10 mg. Kemudian, vitamin C dilarutkan dalam aquadest sebanyak 100 mL, dibuat larutan stok dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm dihitung dengan menggunakan rumus pengenceran, yaitu:

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

Keterangan:

- V_1 = Volume sebelum pengenceran
- M_1 = Konsentrasi sebelum pengenceran
- V_2 = Volume setelah pengenceran
- M_2 = Konsentrasi setelah pengenceran

Pada konsentrasi seri masing- masing hasil yang didapatkan dipipet sebanyak 0,2 mL, 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, dan 1,0 mL ditambahkan aquadest hingga mencapai tanda batas (10 mL).

c. Pembuatan Larutan Sampel

Sebanyak 100 mg sampel dilarutkan dalam aquadest ad 100 mL (konsentrasi induk 1000 ppm). Larutan induk di pipet 2,5 mL

ditambahkan aquadest hingga mencapai tanda batas 25 mL (konsentrasi 100 ppm). Masing-masing konsentrasi 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm dan 60 ppm dengan dipipet 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, dan 6 mL ditambahkan masing-masing larutan dengan aquadest mencapai tanda batas (10 mL).

d. Pembuat Larutan Blanko DPPH

Sebanyak 2,0 mL larutan DPPH dipipet ke dalam labu ukur 5 mL, ditambahkan aquadest 1,0 mL, kemudian dihomogenkan, ditutup dengan *aluminium foil*.

e. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 2,0 mL larutan DPPH dipipet ke dalam labu ukur 5 mL, ditambahkan aquades 1,0 mL dihomogenkan kemudian ditutup dengan aluminium foil. Diukur absorbansi pada panjang gelombang 450 – 600 nm. Panjang gelombang maksimum diperoleh dari panjang gelombang yang dimiliki absorbansi maksimal.

f. Penentuan *Operating Time*

Sebanyak 1,0 mL vitamin C 100 ppm ditambah larutan DPPH sebanyak 2,0 mL. Ditutup dengan *aluminium foil* dan homogenkan. Diukur absorbansi selama 30 menit. Penentuan dimulai dari menit ke-0 sampai menit ke-30 dengan interval 1 menit pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Waktu peredaman radikal DPPH yang menghasilkan absorbansi paling stabil merupakan *operating time* sampel dan vitamin C.

g. Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Sebanyak 1,0 mL larutan uji sampel dan vitamin C ditambahkan masing-masing 2,0 mL larutan DPPH dalam etanol p.a. Berubahnya warna ungu menjadi warna kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Diukur absorbansi pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang yang telah ditentukan, setelah diinkubasi kemudian diamati perbandingannya dengan vitamin C p.a sebagai standar pengukuran aktivitas antioksidan larutan kontrol.

h. Perhitungan Persentase Penghambatan (% Inhibisi) dan IC₅₀

Persentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari larutan sampel dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorban kontrol} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban kontrol}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ dapat dihitung dengan persamaan kuadrat $y = bx + a$ yang terbentuk dari persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi. Nilai x merupakan konsentrasi zat yang diukur dan nilai y merupakan persentase inhibisi dari sampel yang diuji.

H. Analisis Data

Hasil dari formulasi sediaan sirup sari buah semangka merah (*Citrullus lanatus*) pengujian mutu fisik sediaan berupa data yang diperoleh dengan replikasi tiga kali pada pengamatan organoleptis dan homogenitas, disajikan dalam bentuk tabel. Analisis data dilakukan juga secara statistik menggunakan *software IBM Statistical Product and Service Solutions (SPSS) 26*

diawali dengan uji normalitas, uji homogenitas, uji *Analysis of Variance* (ANOVA) dilanjutkan uji *Post Hoc Tukey* (parametik) dan uji *Kruskall – Wallis* dilanjutkan uji *U Mann Whitney* (non parametik) untuk melihat perbedaan aktivitas antioksidan, pH, viskositas, dan bobot jenis dari tiap sampel dan membandingkan sampel yang memiliki aktivitas antioksidan paling kuat serta karakteristik mutu fisik sediaan yang terbaik (Santjaka, 2015). Rata-rata hasil uji tersebut dibandingkan dengan uji karakteristik fisik yang sesuai persyaratan. Formula dengan hasil memenuhi persyaratan dipilih sebagai sediaan karakteristik sirup terbaik.