

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium. Pada tahap pertama membuat rimpang sari temulawak (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb) dengan memblender temulawak sampai halus yang kemudian diperas dan di ambil sarinya. Tahap kedua membuat formulasi sediaan *gummy candy* temulawak (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb). Tahap ketiga uji mutu fisik pada sediaan *gummy candy* temulawak (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb) meliputi uji organoleptis, keseragaman bobot, pH, kekenyalan, stabilitas fisik dan pengujian aktivitas antioksidan. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi dan Laboratorium Instrumen Program Studi S1 Farmasi Universitas Ngudi Waluyo Ungaran.

B. Lokasi Penelitian

1. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Semarang (UNDIP).
2. Pembuatan sari temulawak (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb) dan *gummy candy* dilakukan di Laboratorium Teknologi dan Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.
3. Uji mutu fisik dan uji antioksidan dilakukan di Laboratorium Teknologi dan Instrumen Program Studi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo.

C. Subjek Penelitian

Sampel rimpang temulawak (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb) diperoleh dari Pasar Bandarejo Ungaran, Kecamatan Ungaran Barat, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah. Kemudian sampel tersebut diformulasikan menjadi sediaan *gummy candy* sari temulawak (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb).

D. Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini meliputi :

1. Rimpang temulawak (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb) yang menjadi sampel pada penelitian ini diperoleh dari Pasar Babadan Ungaran, Kecamatan Ungaran Barat, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah.
2. Pembuatan sari temulawak dilakukan dengan memblender rimpang temulawak sampai halus dan di ambil sarinya sebesar ± 15 mL.
3. Konsentrasi gelatin yang digunakan 20 g, 25 g, 30 g.
4. Aktivitas antioksidan DPPH digunakan sebagai metode untuk menguji sediaan *gummy candy* temulawak (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb).
5. Pengujian yang dilakukan pada sediaan *gummy candy* temulawak (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb) adalah uji keseragaman bobot, organoleptis, pH, kekenyalan, stabilitas fisik serta uji antioksidan.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang memiliki pengaruh atau menyebabkan perubahan dalam variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini adalah variasi konsentrasi gelatin yaitu 20 g, 25 g, 30 g.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi akibat adanya variabel bebas. Variabel terikat dari penelitian ini adalah aktivitas antioksidan dengan parameter nilai IC_{50} dan uji mutu fisik sediaan *gummy candy* temulawak (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb) meliputi uji keseragaman bobot, organoleptis, pH, dan kekenyalan, yang dilakukan sebelum dan sesudah uji stabilitas fisik.

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu timbangan analitik (ohaus) , gelas ukur (piex), beaker glass (Pirex), batang pengaduk (pirex), kompor (Maspion), panci, cetakan permen, blender (cosmos), pipet tetes, saringan, spektrofotometer UV-Vis (Shimatsdzu), labu ukur (pirex), tabung reaksi (pirex), pH meter (Ohaus), penggaris (Butterfly), kertas perkamen, alumunium foil (Klinpak).

2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu air, minyak jagung (Tropicanaslim), gelatin (farmasetis), tepung maizena, sari temulawak,

daun pandan, sereh, gula pasir, gula jawa , perisa leci, kayu manis, manitol (farmasetis), vanili, asam sitrat (farmasetis), DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*) (farmasetis), etanol p.a (farmasetis), dan vitamin C (farmasetis).

G. Prosedur Kerja

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman temulawak (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb) dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistemika Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang.

2. Pengambilan Sampel

Sampel rimpang temulawak (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb) diperoleh dari Pasar Babadan Ungaran, Kecamatan Ungaran Barat, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah. Rimpang temulawak (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb) yang digunakan masih segar, tidak busuk, berwarna jingga.

3. Pembuatan Sari Rimpang Temulawak

Rimpang temulawak dilakukan sortasi basah untuk memilih rimpang yang berkualitas. Proses setelah sortasi, rimpang dicuci di air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel pada rimpang. Selanjutnya rimpang temulawak di kupas yang kemudian dilakukan pencucian kembali di air mengalir. Rimpang yang sudah di cuci bersih kemudian dilakukan perajangan. Perajangan dilakukan untuk memudahkan proses memblender, setelah dilakukan perajangan rimpang

temulawak sebanyak 25 g dengan tambahan air 10 mL diblender sampai halus. Rimpang temulawak yang sudah halus kemudian di saring sambil diperas hingga menghasilkan sari rimpang temulawak.

4. Formula *Gummy Candy* Sari Rimpang Temulawak

Formula dasar yang digunakan pada pembuatan sediaan *gummy candy* temulawak (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb) ini berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya yang sudah di modifikasi dengan mengganti dan menambahkan beberapa bahan (Firdaus *et al.*, 2015). Formula *gummy candy* sari temulawak dapat dilihat pada tabel 3.1.

Tabel 3. 1 Formula *Gummy Candy* Temulawak

Bahan	Jumlah bahan			Keterangan
	F1	F2	F3	
Sari temulawak	15 mL	15 mL	15 mL	Zat aktif
Air	80 mL	80 mL	80 mL	Pelarut
Minyak jagung	10 mL	10 mL	10 mL	Agen pengisi pembentuk tekstur
Gelatin	20 g	25 g	30 g	Pengikat, pengental
Tepung maizena	3 g	3 g	3 g	Pengental
Daun pandan	1 helai	1 helai	1 helai	Penambah aroma
Sereh	1 batang	1 batang	1 batang	Penambah aroma
Gula pasir	40 g	40 g	40 g	Pemanis
Gula jawa	10 g	10 g	10 g	Pemanis
Perisa leci	1 sdm	1 sdm	1 sdm	Penambah rasa
Kayu manis	1 ruas	1 ruas	1 ruas	Penambah rasa, aroma
Manitol	2 g	2 g	2 g	Pemanis
Vanili	2 g	2 g	2 g	Perasa
Asam sitrat	1 g	1 g	1 g	Penambah rasa. Pengawet

Keterangan :

F1 = Formula dengan konsentrasi Gelatin 20 gram

F2 = Formula dengan konsentrasi Gelatin 25 gram

F3 = Formula dengan konsentrasi Gelatin 30 gram

5. Pembuatan *Gummy Candy* Sari Rimpang Temulawak

Pembuatan formula 1, 2, dan 3 diawali dengan mengembangkan gelatin dengan air 25 mL dan melarutkan tepung maizena dengan air 5 mL. Langkah selanjutnya merebus sari temulawak sebanyak ± 15 mL dengan daun pandan 1 helai, sereh 1 batang, kayu manis 1 ruas dengan air 40 mL sampai mendidih, kemudian hasil rebusan di saring dipisahkan dari bahan-bahan yang lain hingga tersisa air rebusan temulawaknya saja. Selanjutnya air rebusan temulawak dimasak kembali, lalu ditambahkan minyak jagung 10 mL. Penambahan minyak ini harus dalam keadaan panas, yaitu dengan suhu 80°C atau lebih untuk mendapatkan hasil akhir *gummy candy* yang kenyal dan mudah dikunyah (Firdaus & Kresnanto, 2013). Setelah itu diatur api dalam keadaan sedang untuk menambahkan manitol, gula pasir, gula jawa, perisa leci, vanili, asam sitrat dan diaduk secara perlahan hingga larut. Setelah larut, lalu ditambahkan tepung maizena dan gelatin yang sudah dikembangkan sebelumnya dan aduk sampai larut. Semua bahan tambahan yang dimasukkan ke dalam campuran diaduk secara perlahan tanpa menimbulkan adanya buih (Firdaus & Kresnanto, 2013). Selanjutnya campuran tersebut dituang ke dalam cetakan selama 1 jam yang kemudian dimasukkan dalam kulkas dengan suhu 8°C selama 24 jam. Langkah terakhir, setelah 24 jam *gummy candy* didiamkan pada suhu ruang hingga sudah tidak dingin lalu siap untuk dilakukan evaluasi sediaan.

6. Pengujian Mutu Fisik Sediaan.

a. Uji organoleptis

Uji tekstur permukaan dan penampilan dilakukan dengan cara diamati langsung penampakan fisik dari sediaan meliputi warna, bau, rasa dan tekstur (Husni *et al.*, 2020).

b. Uji Keseragaman bobot

Uji keseragaman bobot sediaan dilakukan untuk mengetahui bobot sediaan yang seragam dan uji ini dijadikan parameter produksi yang merupakan pengukuran secara rutin untuk mendapatkan bobot sediaan yang diinginkan. Keseragaman bobot secara tidak langsung menunjukkan keseragaman kandungan zat di dalam sediaan (Firdaus & Kresnanto, 2013). Sejumlah 20 *gummy candy* ditimbang, dihitung bobot rata-rata tiap sediaan, jika ditimbang satu per satu tidak boleh lebih dari dua sediaan yang bobotnya menyimpang lebih besar dari bobot rata-rata yang ditetapkan kolom A dan tidak satu pun yang bobotnya menyimpang dari bobot rata-rata yang ditetapkan pada kolom B (Firdaus & Kresnanto, 2013).

c. Uji pH

Uji pH dilakukan dengan cara melarutkan 1 gram *gummy candy* dalam 100 mL aquadest, kemudian diukur pH menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi (Ginting *et al.*, 2022).

d. Uji kekenyalan

Gummy candy diuji satu persatu (dilakukan 3 kali Replikasi) dengan cara dipegang masing-masing pada ujungnya kemudian ditarik perlahan ke arah yang berlawanan dan dicatat panjang rentang sampai *gummy candy* hampir terputus (Husni *et al.*, 2020).

e. Uji stabilitas fisik

Uji stabilitas dilakukan untuk mengetahui stabilitas *gummy candy* dengan variabel pembanding suhu pada media penyimpanan antara lain suhu kulkas (4-8°C), suhu ruang (15-30°C). Penyimpanan dilakukan di Laboratorium Farmakoterapi Farmasi Universitas Ngudi Waluyo. Kemudian stabilitas fisik sediaan di amati dengan parameter ada tidaknya perubahan organoleptis, keseragaman bobot, pH, dan kekenyalan. Uji stabilitas dilakukan pengamatan setelah 14 hari (Rashati & Eryani, 2019).

7. Pengujian Antioksidan *Gummy Candy* Sari Rimpang Temulawak

Pembuatan larutan baku DPPH 50 ppm dengan cara menimbang 5 mg serbuk DPPH yang dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan etanol p.a hingga tanda batas (Azizah *et al.*, 2017). Kemudian dikocok hingga homogen sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 50 ppm (Ambari *et al.*, 2021).

Penentuan panjang gelombang DPPH dilakukan dengan cara diambilnya 3 mL dari larutan induk DPPH. Larutan DPPH kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 5 mL dan ditambahkan etanol p.a hingga

tanda batas. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400 – 800 nm (Susiloningrum *et al.*, 2021).

Penentuan *operating time* dilakukan dengan cara diambil 3 mL larutan DPPH 50 ppm dan dimasukkan kedalam labu ukur 5 mL, selanjutnya ditambahkan etanol p.a hingga tanda batas. Kemudian dibaca panjang gelombang maksimum yang optimal selama durasi 30 menit hingga diperoleh absorbansi yang stabil (Sholikhah *et al.*, 2023).

Kurva baku vitamin C pada penelitian ini digunakan sebagai pembanding, langkah pertama adalah menimbang 10 mg vitamin C. Selanjutnya, vitamin C yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam labu ukur berukuran 100 mL, dan kemudian ditambahkan etanol p.a hingga mencapai tanda batas, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 100 ppm. Selanjutnya, larutan vitamin C 100 ppm dibuat menjadi serangkaian larutan seri dengan konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm (Latu & Suleman, 2023). Setelah itu, dilakukan pencampuran 3 mL larutan DPPH 100 ppm dengan 1 mL masing-masing larutan seri kemudian didiamkan selama waktu *operating time* dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh (Rusli *et al.*, 2023).

Pengujian aktivitas antioksidan DPPH dengan spektrofotometer UV-Vis. Pertama larutan sampel 100 ppm dibuat dengan cara menimbang 10 mg sediaan *gummy candy* selanjutnya dimasukan ke dalam labu ukur 100 mL dan diberikan etanol p.a hingga tanda batas yang kemudian dikocok hingga homogen. Larutan sampel 100 ppm dibuat seri konsentrasi

20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. (Ambari *et al.*, 2021). Masing-masing seri larutan sampel diambil 2 mL setelah itu dicampurkan 3 mL larutan DPPH 50 ppm (Latu & Suleman, 2023). Hasil absorbansi dibaca pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dan didiamkan selama waktu *operating time* (Rusli *et al.*, 2023).

Aktivitas antioksidan dihitung berdasarkan besarnya persentase. Hasil data absorbansi masing-masing sampel digunakan untuk mencari persentase inhibisinya. Berikut rumus untuk mencari inhibisinya adalah :

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{A_{\text{blanko}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{blanko}}} \times 100\%$$

Keterangan :

A_{blanko} = Absorbansi DPPH tanpa sampel (blanko)

A_{sampel} = Absorbansi setelah ditambahkan sampel uji

Setelah didapatkan nilai persen inhibisi masing-masing konsentrasi sampel. Hasil perhitungannya kemudian dibuat dalam suatu persamaan linier $y = ax + b$. Persamaan linier digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} . Untuk menghitung nilai IC_{50} menggunakan rumus berikut $50 = ax + b$, dimana x adalah IC_{50} dengan menggunakan satuan ppm. Dari persamaan $y = ax + b$, nilai IC_{50} ; (x) dapat dihitung dengan menggunakan rumus pada persamaan sebagai berikut (Then Septian *et al.*, 2022).

$$IC_{50} = \frac{50 - b}{a}$$

Keterangan :

a = Intersep (perpotongan garis sumbu y)

b = Slope (kemiringan)

H. Analisis Data

Untuk hasil evaluasi fisik sediaan *gummy candy* dianalisis statistik menggunakan SPSS diuji normalitas data dengan uji kolmogorov-smirnov dan uji homogenitas data dengan uji levene dengan nilai signifikan ($p > 0,05$). Jika data hasil yang didapatkan normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji parametrik *one way ANOVA* maka uji lanjutan yaitu *Post Hoc LSD*. Jika data hasil yang didapatkan tidak normal dan tidak homogen dengan nilai signifikan ($p < 0.05$), maka dilakukan analisis uji non parametrik yaitu *kruskal wallis* dan dilanjutkan dengan *Mann Whitney*. Pada uji stabilitas sediaan *gummy candy* dianalisis statistik menggunakan SPSS diuji normalitas data dengan uji *kolmogorov-smirnov*. Jika nilai normalitas diperoleh nilai signifikan ($p > 0,05$) maka dilanjutkan dengan *paired samples t test* dan jika diperoleh nilai signifikan ($p < 0.05$) maka dilanjutkan *wilcoxon signed ranks test*.