

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian ini bersifat eksperimental yakni membuat formulasi sediaan lotion dengan zat aktif buah takokak (*Solanum torvum* Swartz) dengan tahap pertama yaitu melakukan pembuatan simplisia, kemudian di ekstraksi dengan pelarut etanol 70%. Metabolit sekunder yang di uji menggunakan metode skrining fitokimia mencakup flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin.

Pembuatan sediaan lotion menggunakan konsentrasi 0,5%, 1,5%, dan 2,5%. Karakteristik fisik sediaan lotion ekstrak buah takokak dianalisis melalui parameter organoleptis, pH homogenitas, daya sebar, daya lekat, dan viskositas. Uji stabilitas dilakukan dengan metode *cycling test* selama 12 hari yang terdiri dari 6 siklus. Analisis karakteristik fisik dilakukan pada awal dan akhir siklus uji *cycling test*.

#### **B. Lokasi Penelitian**

1. Uji determinasi tanaman dilakukan di laboratorium Ekologi dan Biosistematik jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro.
2. Ekstraksi dan uji skrining fitokimia dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Universitas Ngudi Waluyo.
3. Formulasi sediaan lotion, uji karakteristik fisik, dan uji stabilitas fisik pada sediaan lotion buah takokak (*Solanum torvum* Swartz) dilakukan di Laboratorium Teknologi Universitas Ngudi Waluyo.

## C. Subjek Penelitian

### 1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah buah takokak (*Solanum torvum* Swartz) diperoleh di wilayah Gedanganak, Ungaran Timur.

### 2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak buah takokak (*Solanum torvum* Swartz) dengan variasi konsentrasi 0,5%, 1,5%, 2,5%.

## D. Definisi Operasional

Variabel	Definisi operasional	Indikator	Skala pengukuran	Alat ukur
Simplisia buah takokak	Buah takokak segar yang telah dikeringkan dengan sinar matahari selama 1 bulan	Waktu pengeringan, bentuk simplisia, warna, bau	Waktu (bulan), kategori (bentuk, warna, bau)	Timer, alat observasi visual
Ekstrak buah takokak	Ekstrak yang diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%	Waktu ekstraksi, metode ekstraksi, jenis pelarut	Waktu (jam), kategori (metode, pelarut)	Alat ekstaksi, timbangan, pelarut etanol
Konsentrasi ekstrak dalam lotion	Variasi konsentrasi ekstrak buah takokak dalam sediaan lotion (0,5%; 1,5%; 2,5%)	Presentase ekstrak dalam lotion	Presentase (%)	Timbangan, alat pengukur, konsentrasi
Karakteristik fisik lotion	Uji fisik sediaan lotion yang mencakup organoleptis, pH, homogenitas, daya sebar, daya lekat, dan viskositas	Warna, bau, rasa, pH, homogenitas, daya sebar, daya lekat, viskositas	Skala ordinal (1-5), pH (angka), cm (sebar), mPas (viskositas)	Alat uji pH, alat uji viskositas, alat uji homogenitas
Stabilitas fisik lotion	Uji stabilitas fisik sediaan lotion dengan metode <i>cycling test</i> menggunakan alat Climatic chamber pada suhu 4°C dan 40°C	Perubahan fisik lotion (warna, bau, tekstur) selama penyimpanan pada suhu 4°C dan 40°C	Skala ordinal (1-5), kategori (warna, bau, tekstur)	Chamber suhu, alat observasi visual

## **E. Variabel penelitian**

Variabel dalam penelitian ini dibagi menjadi tiga bagian yaitu:

### **1. Variabel bebas**

Variabel bebas adalah variabel yang muncul bersama variabel lain dan mempengaruhi atau menjadi penyebab perubahan variabel lain. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah formulasi lotion ekstrak buah takokak dengan konsentrasi yang bervariasi yaitu 0,5%, 1,5%, dan 2,5%.

### **2. Variabel tergantung**

Variabel tergantung adalah variabel yang berubah karena dipengaruhi oleh variabel bebas. Variabel tergantung dalam penelitian ini yaitu pengujian skrining fitokimia meliputi uji flavonoid, uji alkaloid, uji saponin, dan uji tanin. Karakteristik fisik sediaan lotion berdasarkan parameter organoleptis, pH, homogenitas, daya sebar, daya lekat, dan viskositas. Stabilitas fisik dengan metode *cycling test*.

### **3. Variabel terkendali**

Variabel terkendali adalah variabel yang harus dilakukan agar variabel bebas dapat mempengaruhi variabel tergantung. Variabel terkendali dalam penelitian ini yaitu alat, waktu, dan suhu.

## **F. Pengumpulan data**

### **1. Alat dan Bahan**

#### **a. Alat**

Oven, blender, toples kaca, *rotary evaporator* (ika), *climatic chamber* (memmert), *ultra turax* (ika), *waterbath* (memmert), pH

meter (ohaus), timbangan analitik (ohaus px 224 E), viskometer (brookfield DV2T), ayakan 60 mesh, rak tabung, tabung reaksi (iwaki), sendok tanduk, batang pengaduk (iwaki), spatula, cawan porselin (ika), mortir dan stamper (iwaki), sudip, corong kaca 90mm (pyrex), jangka sorong (vernier calipers), pipet tetes, aluminium foil, wadah lotion (diperoleh di toko kimia indrasari, semarang), label, kompor listrik (maspion S300), kertas perkamen, beaker glass 100 ml, 250 ml, dan 500 ml (iwaki). Gelas ukur 10 ml dan 100 ml (iwaki)

b. Bahan

Buah takokak segar (diperoleh di wilayah Gedanganak, Ungaran Timur). TEA, asam stearat, setil alkohol, gliserin, nipagin (metil paraben), nipasol (propil paraben), aquades, dan etanol 70% (diperoleh di toko kimia indrasari). Logam magnesium, asam klorida pekat, asam klorida 2N, pereaksi mayer, pereaksi bouchardat, pereaksi dragendorff, dan larutan besi (III) klorida.

## **G. Prosedur penelitian**

### **1. Determinasi tanaman**

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik, Jurusan Biologi, Fakultas Sains, Universitas Diponegoro Semarang Jawa Tengah, untuk memastikan kebenaran dan keaslian dari tanaman buah takokak (*Solanum torvum* Swartz).

### **2. Tahapan Pembuatan simplisia**

Buah takokak (*Solanum torvum* Swartz) dalam kondisi masih segar berwarna hijau di panen dan dikumpulkan menjadi satu dalam

wadah, kemudian disortasi dipisahkan tangkai dengan buahnya, cuci sampai bersih dengan air mengalir. Buah takokak dipotong tipis-tipis dengan tujuan agar memudahkan proses pengeringan, buah yang sudah di potong kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C dan ditutupi kain hitam dibawah sinar matahari dari pagi sampai sore. Setelah selesai pengeringan, dilakukan pemisahan komponen buah takokak kering disortasi dan akan dilanjutkan ke tahap uji selanjutnya. Buah takokak yang sudah kering kemudian di blender hingga menjadi serbuk simplisia dan di ayak dengan ukuran 60 mesh untuk memastikan serbuk simplisia sudah benar benar halus.

### **3. Standarisasi simplisia**

#### **a. Parameter spesifik**

Parameter spesifik dilakukan dengan mendeskripsikan tanaman termasuk nama latin, bagian yang digunakan, dan nama Indonesia dari tanaman. Selain itu mengamati karakteristik fisik simplisia seperti pengamatan organoleptis dilakukan dengan mengambil sedikit simplisia dan amati dengan pancaindera untuk menentukan bentuk, warna, bau, dan rasa (Evifania *et al.*, 2020).

#### **b. Parameter non spesifik**

##### **1) Uji kadar abu**

Uji kadar abu total dilakukan dengan cara menimbang bobot krus kemudian tambahkan 2 gram bubuk simplisia dan ratakan. Pijarkan bubuk simplisia pada suhu 600°C selama 3 jam sampai

menjadi abu. Hasil tersebut kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang berat (Nurhidayah & Erviani, 2019).

## 2) Uji kadar air

Masukkan 3 gram simplisia ke dalam alat *moisture analyzer* yang telah ditara sebelumnya. Tunggu sampai proses pengujian selesai. Kemudian baca dan catat hasil kadar air yang tertera pada layar alat (Santoso *et al.*, 2023).

## 4. Pembuatan ekstrak buah takokak

Sampel tanaman yang digunakan pada penelitian ini yaitu buah takokak (*Solanum torvum* Swartz). Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi. Serbuk simplisia buah takokak di ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% selama 4 hari dengan sesekali di aduk secara perlahan. Pemilihan pelarut etanol 70% yaitu karena etanol dapat menarik senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan dengan jenis pelarut organik lainnya. Etanol memiliki titik didih 79°C sehingga memerlukan panas yang lebih sedikit untuk proses pemekatan (Novian, 2020).

Pada ekstraksi pertama perbandingan simplisia dan pelarut berbanding 1:10. Serbuk simplisia buah takokak yang digunakan sebanyak 200 gram kemudian dimasukkan ke dalam toples kaca dengan menambahkan 2 liter etanol 70%. Maserasi ini dilakukan 4x24 jam dan dilanjutkan dengan proses remaserasi selama 1 hari. Ekstrak buah takokak kemudian disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan residu

dan filtrat. Residu yang dihasilkan kemudian diremaserasi dengan perbandingan simplisia dan pelarut 1:3 (Dina *et al.*, 2024). Filtrat yang dihasilkan dikumpulkan menjadi satu kemudian diuapkan sebagian pelarutnya menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu 45°C. Setelah sebagian pelarut diuapkan, kemudian tempatkan ekstrak di cawan porselin untuk diuapkan kembali di waterbath dengan suhu 70°C sampai memperoleh ekstrak kental (Munira *et al.*, 2021).

Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dihitung nilai rendemen yang didapatkan. Rendemen ekstrak merupakan perbandingan antara berat ekstrak yang diperoleh dengan berat simplisia awal yang digunakan dalam proses ekstraksi yang dinyatakan dalam bentuk persen. Rendemen ekstrak digunakan untuk menentukan efisiensi proses ekstraksi dalam memperoleh kandungan senyawa aktif dari bahan alam. Rumus perhitungan rendemen (Syamsul *et al.*, 2020) :

$$\text{Rendemen ekstrak \%} = \frac{\text{bobot ekstrak kental}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

## 5. Skrining fitokimia

### a. Uji flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan menimbang sebanyak 0,5 g ekstrak kental, campurkan dengan 2 mL metanol 50%, dipanaskan hingga suhu 50°C setelah itu didinginkan. Tambahkan logam magnesium dan 5 tetes asam klorida (HCl) pekat. Jika muncul warna merah atau jingga, maka hasilnya positif menunjukkan adanya flavonoid (Aljanah *et al.*, 2022).

**b. Uji alkaloid**

Uji alkaloid dilakukan dengan menimbang sebanyak 0,5 gram ekstrak kental, kemudian tambahkan 1 mL asam klorida 2N dan 9 mL air suling. Campuran tersebut dipanaskan menggunakan penangas air selama 2 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk uji kualitatif alkaloid. Sebanyak 0,5 mL filtrat dimasukkan ke dalam tiga tabung reaksi. Pada tabung reaksi pertama, ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer yang ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna putih atau kuning. Pada tabung reaksi kedua, ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat yang menghasilkan endapan berwarna coklat. Pada tabung reaksi ketiga, ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff yang menghasilkan endapan berwarna putih. Sampel dinyatakan mengandung alkaloid apabila terbentuk endapan atau kekeruhan pada minimal dua dari tiga uji yang dilakukan (Djoko *et al.*, 2020).

**c. Uji saponin**

Uji saponin dilakukan dengan menimbang sebanyak 0,5 gram ekstrak kental, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 mL air panas. Setelah didinginkan, larutan dikocok kuat selama 10 detik. Adanya saponin dalam sampel ditandai dengan terbentuknya busa yang tetap stabil setelah ditambahkan asam klorida 2N (Djoko *et al.*, 2020).

#### d. Uji tanin

Uji tanin dilakukan dengan menimbang sebanyak 0,5 gram ekstrak kental, larutkan dalam 10 ml akuades, kemudian disaring. Filtrat yang dihasilkan diencerkan kembali dengan akuades hingga tidak berwarna. Setelah itu, diambil 2 ml larutan dan ditambahkan 1-2 tetes larutan besi (III) klorida. Jika muncul warna biru atau hijau kehitaman menandakan adanya kandungan tanin (Aljanah *et al.*, 2022).

### 6. Formulasi Lotion

Berikut formulasi sediaan lotion antinyamuk ekstrak buah takokak (*Solanum torvum* Swartz):

**Tabel 3.1 Formulasi sediaan *lotion* ekstrak buah takokak (*Solanum torvum* Swartz) (Suprianto *et al.*, 2021).**

Nama bahan	F0 (%)	FI (%)	FII (%)	FIII (%)	Peran
Ekstrak buah takokak	-	0,5	1,5	2,5	Zat aktif
TEA	4	4	4	4	Zat Alkali
Asam Stearat	8	8	8	8	Emulgator
Setil Alkohol	2	2	2	2	Emolien
Gliserin	5	5	5	5	Emolien
Nipagin	0,12	0,12	0,12	0,12	Pengawet
Nipasol	0,12	0,12	0,12	0,12	Pengawet
Aquadest ad	100	100	100	100	Pelarut

**Ket :**

F0 : Basis lotion

FI : Sediaan mengandung ekstrak buah takokak 0,5%

FII : Sediaan mengandung ekstrak buah takokak 1,5%

FIII : Sediaan mengandung ekstrak buah takokak 2,5%

### 7. Pembuatan lotion ekstrak buah takokak (*Solanum torvum* Swartz)

Pada pembuatan lotion ekstrak buah takokak ini di buat menjadi tiga formulasi yaitu FI, FII, dan FIII dengan masing masing konsentrasi

menggunakan 0,5%, 1,5%, dan 2,5% yang dimana sediaan lotion memiliki tipe fase minyak dalam fase air (O/W). Langkah pertama yaitu menimbang bahan bahan fase minyak seperti asam stearat, setil alkohol, dan nipasol, kemudian dipanaskan menggunakan beaker glass di atas *waterbath* hingga mencair sempurna. Langkah kedua yaitu menimbang bahan bahan fase air seperti TEA, gliserin, dan nipagin, kemudian di tambahkan aquades dan dipanaskan menggunakan *beaker glass* di atas kompor hingga mendidih dan nipagin larut sempurna. Setelah itu, campurkan fase minyak ke dalam fase air dan aduk secara perlahan hingga membentuk korpus emulsi. Campurkan ekstrak buah takokak dengan terus diaduk. Kemudian homogenkan menggunakan alat *ultra turax* dengan kecepatan 30 rpm. Lotion yang dihasilkan kemudian dimasukkan ke dalam wadah dan dilakukan evaluasi terhadap sediaan (Suprianto *et al.*, 2021).

## **8. Karakteristik fisik**

### **a. Uji organoleptis**

Pengujian organoleptis dilakukan dengan cara mengamati karakteristik lotion meliputi tekstur, warna, aroma, dan bentuk saat di aplikasikan pada kulit (Hidayati *et al.*, 2021).

### **b. Uji pH**

Uji pH dilakukan dengan cara mencelupkan kertas indikator pH ke dalam sediaan lotion dan di amati pH yang di hasilkan. Syarat mutu pH standar untuk sediaan lotion menurut SNI 16-3499-1996 antara 4,5-8,0 (Hidayati *et al.*, 2021).

**c. Uji homogenitas**

Uji homogenitas dilakukan dengan menimbang 100 mg sediaan lotion kemudian letakkan pada objek glass dan ditutup dengan objek glass lainnya, lalu gesek gesekan objek glass yang menempel berisi sediaan dan amati apakah ada partikel kasar atau tidak (Aljanah *et al.*, 2022).

**d. Uji daya lekat**

Uji daya lekat dilakukan dengan menimbang sediaan lotion sebanyak 100 mg, kemudian dioleskan pada bagian tengah objek glass dan ditutup dengan objek glass lainnya. Letakkan beban (anak timbang) diatas objek glass penutup dan tunggu sampai 5 menit, kemudian siapkan dan pasang beban pelepasan seberat 80 gram untuk pengujian. Ujung kaca objek penutup dan ujung kaca objek bagian bawah dihubungkan dengan penjepit pada alat uji daya lekat, lalu penyangga beban dilepaskan. Waktu yang diperlukan hingga kedua kaca objek terlepas dari alat uji dicatat sebagai lama lekatnya sediaan (Aljanah *et al.*, 2022).

**e. Uji daya sebar**

Uji daya sebar dilakukan dengan menimbang 500 mg sediaan lotion, kemudian tempatkan di tengah kaca bulat berskala. Di atas sediaan tersebut, diletakkan kaca bundar lain yang sudah ditimbang sebelumnya, kemudian tunggu sampai 1 menit, ukur dan catat

diameter penyebarannya. Selanjutnya, beban seberat 50 g diletakkan di atas kaca penutup dan tunggu sampai 1 menit, lalu ukur dan catat kembali diameter penyebarannya. Beban ditambahkan secara bertahap sebesar 50 g sampai 200 g dan setiap kali diameter serta luas penyebaran diukur (Aljanah *et al.*, 2022).

**f. Uji viskositas**

Uji viskositas dilakukan dengan memasukkan 120 g sediaan ke dalam wadah, lalu ukur viskositas menggunakan alat viskometer. Proses pengukuran dimulai dengan memasang spindle nomor 64 dan memutar penguncinya searah jarum jam. Kecepatan spindle disetel pada 10 rpm, hasil viskositas diambil dari angka yang paling stabil dan sering muncul pada layar viskometer (Aljanah *et al.*, 2022).

**9. Stabilitas Fisik**

Uji stabilitas dilakukan dengan metode *cycling test* selama 12 hari yang terdiri dari 6 siklus. Sediaan lotion disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam, kemudian dipindahkan ke suhu 40°C selama 24 jam, proses tersebut dihitung sebagai 1 siklus. Analisis dilakukan pada awal dan akhir siklus (Azzahra & Qatrunnada, 2023).

**H. Analisis data**

Pada penelitian ini, data yang diperoleh di analisis secara deskriptif yaitu hasil uji karakteristik fisik diantaranya pengamatan organoleptis, pH, homogenitas, daya sebar, daya lekat dan viskositas. Dari hasil karakteristik fisik tersebut, dilakukan uji stabilitas fisik menggunakan metode *cycling test*

dengan variasi konsentrasi dari ekstrak buah takokak. Hasil kondisi awal dan kondisi akhir dari uji *cycling test* dibandingkan dengan syarat fisik sediaan lotion yang baik yaitu meliputi parameter pH, tekstur, warna, bau, bentuk, homogenitas. Kemudian dilakukan pengujian berbeda menggunakan SPSS untuk mengevaluasi bagian *Normalitas*, *Homogenitas*, dan *Anova*. Data tidak terdistribusi normal, dilanjutkan ke pengujian *Kruskal Wallis*. Setelah itu dilakukan uji banding sebelum dan setelah *cycling test* dengan menggunakan uji *Paired Sampel T-Test* untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan antara sebelum dan setelah pengujian *cycling test*. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi ekstrak buah takokak yang sesuai sebagai lotion antinyamuk dan memenuhi persyaratan sebagai sediaan topikal yang sesuai.