

BAB III

TATA KERJA

3.1 Alat

Alat yang digunakan adalah tabung maserator, blender, krus porselin, kertas saring, neraca analitik (*Ohaus*), gelas kimia (*Pyrex*), cawan penguap, mortir, tabung reaksi (*Pyrex*), rak tabung, tanur (*Branstead Thermolyne*), oven (*Memmert*), desikator, spatel, penjepit tabung, pipet tetes, spektrofotometri UV-VIS (*Thermo Genesis 10s*), rotary vaporator (*IKA Basic 05*), pH meter (*Mettler Toledo*), viskometer (*Brookfield LV*).

3.2 Bahan

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Forberg) berwarna kuning yang diperoleh dari daerah Kopo, Bandung.

Bahan kimia yang digunakan adalah akuades, kloroform, n-heksan, etil asetat, etanol 70%, metanol p.a (Fulltime), ammonia, HCl 2 N, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, logam magnesium, amil alkohol, pereaksi besi (III) klorida, eter, pereaksi Lieberman-Burchard, NaOH 1 N, propilenglikol, metil paraben, *dimethyl sulfokside*, natrosol, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Sigma Aldrich), vitamin C.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Determinasi Tumbuhan

Determinasi sukun dilakukan di Laboratorium Taksonomi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Padjadjaran Jatinangor.

3.3.2 Pengumpulan dan Pengolahan Bahan

Daun sukun kuning nempel dikumpulkan, dicuci, disortasi, dikeringkan pada suhu ruangan 25-30 °C, terlindung cahaya matahari secara langsung dan diblender (Riasari, 2015).

3.3.3 Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi dilakukan terhadap simplisia daun sukun kuning nempel yang meliputi :

A. Penetapan Kadar Air

Penentuan kadar air dilakukan dengan cara destilasi, yaitu dengan memasukkan 5 gram serbuk simplisia, ditambahkan 200 mL toluen jenuh air ke dalam labu yang telah berisi sampel uji, lalu dididihkan sampai toluen mendidih. Kemudian dilakukan penyulingan dengan kecepatan kurang lebih 2 tetes perdetik, pada awal penyulingan dan dinaikkan 4 tetes perdetik. Penyulingan dihentikan setelah seluruh air tersuling. Untuk mengantisipasi masih adanya air yang belum tersuling, maka dilakukan penyulingan kembali selama 5 menit. Setelah air dan toluen pada tabung penerima memisah, maka dilakukan perhitungan kadar air dengan cara menghitung volume air terhadap bobot kering simplisia (DepKes RI, 1989).

B. Penetapan Kadar Abu

Sebanyak 3 gram simplisia dimasukkan ke dalam krus yang telah ditara. Kemudian dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, didinginkan dan ditimbang. Dihitung kadar abu terhadap simplisia (Depkes RI, 1989).

C. Penetapan Kadar Sari Larut Air

Serbuk simplisia sebanyak 5 gram, dimaserasi dengan 100 mL (air:kloroform) menggunakan botol sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama kemudian dibiarkan selama 18 jam. Lalu disaring dan diupkan 20 mL filtrat hingga kering dalam cawan penguap yang telah ditara, dipanaskan sisa pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam persen, sari yang larut dalam air terhadap simplisia (Depkes RI, 1989).

D. Penetapan Kadar Sari Larut Etanol

Serbuk simplisia sebanyak 5 gram, dimaserasi dengan 100 mL etanol menggunakan botol sambil berkali-kali dikocok selama 6

jam pertama kemudian dibiarkan selama 18 jam. Disaring cepat dan diuapkan 20 mL filtrat hingga kering dalam cawan penguap yang telah ditara, lalu dipanaskan sisa dalam oven pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam persen, sari yang larut dalam etanol terhadap simplisia (Depkes RI, 1989).

E. Susut Pengerinan

5 gram simplisia dimasukkan kedalam wadah yang telah ditara. Dikeringkan dalam oven pada suhu 105 °C selama 5 jam, kemudian ditimbang. Dilanjutkan pengeringan dan ditimbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara dua jam penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Ditjen POM, 2000).

3.3.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak dan simplisia daun sukun kuning nempel yang meliputi alkaloid, flavonoid, tannin, fenolat, triterpenoid, steroid, kuinon, saponin.

A. Alkaloid

Sejumlah sampel dalam mortir, dibasakan dengan amonia sebanyak 1 mL, kemudian ditambahkan kloroform dan digerus kuat. Cairan kloroform disaring, filtrat ditempatkan dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan HCl 2 N, campuran dikocok, lalu dibiarkan hingga terjadi pemisahan. Dalam tabung reaksi terpisah: Filtrat 1 : Sebanyak 1 tetes larutan pereaksi Dragendorff diteteskan ke dalam filtrat, adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan atau kekeruhan berwarna hingga coklat.

Filtrat 2 : Sebanyak 1 tetes larutan pereaksi Mayer diteteskan ke dalam filtrat, adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan atau kekeruhan berwarna putih.

Filtrat 3 : Sebagai blangko atau kontrol negatif (DepKes RI, 1989).

B. Flavonoid

Sejumlah sampel digerus dalam mortir dengan sedikit air, pindahkan dalam tabung reaksi, tambahkan sedikit logam magnesium dan 5 tetes HCl 2 N, seluruh campuran dipanaskan

selama 5–10 menit. Setelah disaring panas–panas dan filtrat dibiarkan dingin, kepada filtrat ditambahkan amil alkohol, lalu dikocok kuat–kuat, reaksi positif dengan terbentuknya warna merah pada lapisan amil alkohol (DepKes RI, 1989).

C. Fenolat

Sampel ditambahkan air dalam tabung reaksi, kemudian dipanaskan dan disaring. Kemudian filtrat ditambahkan pereaksi FeCl_3 . Adanya senyawa fenolat ditandai dengan terbentuknya warna hijau-biru gelap hingga hitam. Dilakukan pengujian terhadap blangko (DepKes RI, 2000).

D. Tanin

Sampel dalam tabung reaksi dipanaskan di atas penangas air kemudian disaring. Kemudian filtrat ditambahkan larutan gelatin 1% adanya senyawa tanin ditandai dengan adanya endapan berwarna putih. Dilakukan pengujian terhadap blangko (DepKes RI, 2000).

E. Steroid dan Triterpenoid

Serbuk simplisia digerus dengan eter, kemudian lapisan eter diuapkan. Pada residu ditetesi larutan pereaksi Liebermann Burchard. Terbentuknya warna ungu menunjukkan adanya senyawa triterpenoid, sedangkan bila terbentuk warna hijau-biru menunjukkan adanya golongan senyawa steroid (Fransworth, 1966).

F. Monoterpen dan Seskuiterpen

Serbuk simplisia digerus dengan eter, kemudian lapisan eternya diambil dan diuapkan hingga kering. Pada residu ditetesi pereaksi vanilin sulfat (Vanilin 10% dalam H_2SO_4 P). Terbentuknya warna-warna menunjukkan adanya senyawa monoterpen dan seskuiterpenoid (Fransworth, 1966).

G. Kuinon

Serbuk simplisia dipanaskan dengan air suling, kemudian disaring. Setelah dingin, filtrat ditetesi larutan KOH 5%. Terbentuknya warna kuning hingga merah menunjukkan adanya golongan senyawa kuinon dalam simplisia tersebut (Farnsworth, 1966).

H. Saponin

Serbuk simplisia dipanaskan dengan air, kemudian disaring. Setelah dingin filtrat dikocok kuat-kuat selama \pm 30 detik. Terbentuknya busa yang persisten selama beberapa menit menunjukkan adanya golongan senyawa saponin dalam simplisia tersebut (DepKes RI, 2000).

3.3.5 Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat. Pelarut yang digunakan adalah pelarut dengan kepolaran makin meningkat yaitu n-heksan, etil asetat, dan etanol 70%. Masing-masing pelarut yang digunakan sebanyak 2 liter (1:10). Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 200 gram, dimaserasi dengan 75 bagian pelarut n-heksan (1500 mL) selama 24 jam sambil sesekali dikocok, setelah 24 jam filtrat dipisahkan dan residu dimaserasi kembali dengan 25 bagian (500 mL) n-heksan selama 24 jam sambil sesekali dikocok, setelah maserasi dengan n-heksan selesai, simplisia dikeringkan kemudian dimaserasi dengan pelarut yang berbeda pada kepolaran yang meningkat yaitu etil asetat dan etanol 70%. Ekstrak cair yang diperoleh dipekatkan dalam rotary evaporator sampai didapatkan ekstrak kental.

3.3.6 Uji Aktivitas Antioksidan

A. Pembuatan Larutan DPPH

Pembuatan larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 5 mg dilarutkan dengan 100 mL metanol dalam labu terukur (Brand-William, *et al.*, 1995).

B. Pembuatan Larutan Pembanding

Pembuatan larutan pembanding dibuat dengan cara menimbang sebanyak 2,5 mg vitamin C, kemudian dilarutkan dalam metanol

sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 100 ml. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi (Brand-William, *et al.*, 1995).

C. Pembuatan Larutan Sampel

Ekstrak kental n-heksan, etil asetat dan etanol daun sukun kuning nempel, masing-masing dilarutkan dalam methanol sambil diaduk dan dihomogenkan lalu dicukupkan volumenya hingga 50 mL. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi (Brand-William, *et al.*, 1995).

D. Pengukuran Absorbansi DPPH

Pengukuran absorbansi DPPH dilakukan dengan memipet 4 mL DPPH menggunakan spektrofotometri UV-VIS.

E. Pengukuran Larutan Pembanding

Pengujian larutan pembanding dilakukan dengan memipet 1 mL larutan vitamin C dari berbagai konsentrasi. Kemudian masing-masing ditambahkan 2 ml DPPH dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 516 nm, pengukuran dilakukan secara triplo (Brand-William, *et al.*, 1995;Riasari, 2014).

F. Pengukuran Absorbansi Sampel

Pengujian sampel dilakukan dengan memipet 1 mL larutan sampel dari berbagai konsentrasi. Kemudian masing-masing ditambahkan 2 mL DPPH dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 516 nm, pengukuran dilakukan secara triplo (Brand-William, *et al.*, 1995;Riasari, 2014).

Kapasitas antioksidan ditentukan berdasarkan pengurangan absorbansi DPPH dengan menghitung persentase aktivitas antioksidan (Riasari, 2015). Nilai serapan larutan DPPH terhadap sampel tersebut dinyatakan dengan persen inhibisi (% inhibisi) dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{(\text{Abs kontrol} - \text{Abs sampel}) \times 100\%}{\text{Abs kontrol}}$$

Abs control

Ket:

Abs kontrol = Absorbansi kontrol setelah 30 menit

Abs sampel = Absorbansi sampel setelah 30 menit

3.4 Pembuatan *Spray Serum* Antioksidan

3.4.1 Formula Sediaan *Spray Serum*

Tabel 3.1 Formula *spray serum* ekstrak daun sukun kuning nempel

Bahan	Fungsi	Konsentrasi (%)			
		B1	B2	F1	F2
Ekstrak	Antioksidan	-	-	0,00474	0,00474
Natrosol	<i>Gelling Agent</i>	0,1	0,1	0,1	0,1
Propilenglikol	Humektan	5	3	5	3
Metil paraben	Pengawet	0,3	0,3	0,3	0,3
DMSO	Penetran	1	1	1	1
Aqua DM	Pelarut	136 ml	139 ml	136 ml	139 ml

Keterangan :

B1 : Basis 1 *spray serum*

B2 : Basis 2 *spray serum*

F1 : Formula 1 *spray serum* ekstrak etil asetat

F2 : Formula 2 *spray serum* ekstrak etil asetat

3.4.2 Prosedur Pembuatan

Natrosol dikembangkan didalam Aqua DM diaduk hingga basis gel terbentuk, kemudian ditambahkan ekstrak daun sukun yang telah dilarutkan dalam DMSO, lalu ditambahkan metil paraben yang telah dilarutkan dengan Propilenglikol, diaduk kembali hingga homogen dan ditambahkan Aqua DM diaduk hingga homogen.

3.5 Evaluasi Sediaan

3.5.1 Pemeriksaan Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan untuk melihat tampilan fisik sediaan dengan cara melakukan pengamatan warna, bau, dan tekstur dari sediaan yang telah dibuat (Putri, 2017).

3.5.2 Pengamatan Homogenitas

Sediaan diperiksa organoleptiknya dengan cara visual, yaitu mengoleskan sediaan pada preparat kaca, kemudian diratakan dengan

menempelkan preparat kaca yang lain dan diamati. Pengamatan dilakukan dengan melihat ada atau tidaknya partikel yang belum tercampur secara homogen (Aponno, dkk., 2014; Depkes RI, 1995).

3.5.3 Pengukuran pH

Uji pH dilakukan menggunakan pH meter. Mula-mula elektroda dikalibrasi dengan dapar standar. Kemudian elektroda dicelupkan kedalam sediaan. Nilai pH yang muncul dilayar dicatat. Pengukuran dilakukan pada suhu ruang (Iswandana dan Sihombing, 2017).

3.5.4 Pengukuran Viskositas

Disiapkan sediaan sebanyak 100 mL dalam gelas beker kemudian dipilih spindel dengan nomor tertentu dan atur kecepatan dengan rpm tertentu, celupkan alat ke dalam sediaan sampai alat menunjukkan nilai viskositas sediaan (Putri, 2017).

3.5.5 Pemeriksaan Pola Penyemprotan

Pemeriksaan pola penyemprotan dan bobot per semprotan dilakukan dengan cara disemprotkan sediaan dari botol dengan jarak 3, 5, 10, dan 15 cm pada selembar plastik mika. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali dan diamati pola pembentukan semprotan, diameter dari pola semprot yang terbentuk dan bobot per semprotan (Sukhbir, dkk., 2013).

3.5.6 Pemeriksaan Daya Sebar Lekat

Sediaan disemprotkan sebanyak satu kali ke kulit bagian lengan atas dari jarak 3 cm. Setelah disemprotkan, kemudian dihitung selama 10 detik untuk melihat apakah sediaan menempel atau tetesan dari hasil semprotan menetes kebawah (Suyudi, 2014).

3.5.7 *Cycling Test*

Sediaan disimpan pada suhu ($4 \pm 2^{\circ}\text{C}$) lalu dipindahkan kedalam oven yang bersuhu ($40 \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 24 jam (1 siklus). Uji dilakukan sebanyak 6 siklus dan diamati terjadinya perubahan fisik dari sediaan pada awal dan akhir pengujian yang meliputi

organoleptik, homogenitas, viskositas dan pH (Iswandana dan Sihombing, 2017).

3.5.8 Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Sampel dilarutkan dalam metanol p.a kemudian ditambahkan larutan stok DPPH dengan perbandingan volume (1:1), kemudian di inkubasi selama 30 menit pada suhu kamar menggunakan wadah gelap dan dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 516 nm. Selanjutnya persen hambat masing-masing larutan diketahui dengan menggunakan rumus (Molyneux, 2004).