

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 3 bulan yaitu pada bulan Januari hingga Maret 2025 di laboratorium Farmasetika Farmasi, Program Studi Farmasi S-1 Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Bhamada Slawi.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan analitik (aeADM), *waterbath* (dss), oven (Gentra), kompor listrik (Maspion), *hot plate* (Nesco Lab), blender (Maspion), pipet mikro (ecopippette), pH meter (Hanna), dan alat gelas (*pyrex*) meliputi erlenmeyer, tabung reaksi, batang pengaduk, corong, dan *beaker glass*. Kemudian alat lain yang tidak bermerek meliputi mortar dan stamper, toples kaca, rak tabung reaksi, kain flannel, plastik wrap, krush porselen, baskom, kandang nyamuk, pensil, dan penggaris.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya yaitu temu blenyeh, etanol 96% (PT. Brataco), aquadest (PT. Brataco), asam stearate (PT. Brataco), parafin liquid (PT. Brataco), *butylated hydroxytoluene* (PT. Brataco), gliserin (PT. Brataco), *trietanolamin* (PT. Brataco), nipagin (PT. Brataco), serbuk magnesium (PT.

Brataco), asam klorida pekat (PT. Brataco), pereaksi mayer (PT. Brataco), FeCl_3 1% (PT. Brataco), asam sulfat encer P (PT. Brataco), kertas label (Panda), dan kertas saring (Whatman).

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental, objek yang digunakan adalah ekstrak etanol rimpang temu blenyeh (*Curcuma purpurascens* Blume) pada uji efektivitas sebagai *repellent* terhadap nyamuk.

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah perbedaan konsentrasi ekstrak etanol rimpang temu blenyeh (*Curcuma purpurascens* Blume).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah *repellent* nyamuk dalam 5 menit dari awal pengolesan *lotion*.

3.3.3 Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu dalam penelitian ini adalah umur nyamuk, kualitas kandang, tempat hidup, dan suhu.

3.4 Prosedur Penelitian

Pada penelitian uji efektivitas sediaan *lotion* antinyamuk ekstrak etanol rimpang temu blenyeh (*Curcuma purpurascens* Blume) meliputi:

3.4.1 Determinasi Tanaman Asal dan Hewan Uji

Determinasi tanaman dan hewan uji dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Farmasi Program Sarjana, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Bhamada Slawi.

3.4.2 Pemilihan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu nyamuk jenis *aedes aegypti* yang di puasakan selama 24 jam dalam kandang uji (Boesri et al., 2015).

3.4.3 Persiapan Sampel

Sampel yang digunakan yaitu rimpang temu blenyeh (*Curcuma purpurascens* Blume) ditimbang seberat 5 kg simplisia basah (Maria *et al.*, 2018) blenyah yang telah dipanen dipisahkan antara batang dan rimpang kemudian disortir. Selanjutnya dicuci dengan air mengalir sampai bersih (Zulfiah *et al.*, 2020) kemudian dipotong kecil dan keringkan dengan oven suhu 55°C (Almasyhuri *et al.*, 2012).

3.4.4 Pembuatan Ekstrak Rimpang Temu Blenyeh

Pembuatan ekstrak temu blenyeh menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dilakukan dengan cara serbuk rimpang temu blenyeh ditimbang sebanyak 500 gram, dimasukkan dalam wadah maserasi, kemudian ditambahkan cairan pengekstraksi dengan menggunakan etanol 96% dengan perbandingan 1:5, kemudian diaduk selama 1 jam dalam keadaan tertutup setelah

itu didiamkan dengan waktu 3x4 jam sambil sesekali diaduk (tiap 6 jam). Setelah 3x24 jam, filtrat disaring dengan menggunakan kertas saring whatman No. 1 untuk memisahkan antara ampas dan filtrat. Kemudian hasil filtrat diuapkan menggunakan *waterbath* sampai diperoleh ekstrak etanol kental. Setelah didapatkan ekstrak kental kemudian ditimbang hasil ekstrak (Fadhilah *et al.*, 2021).

Rendemen dari ekstrak dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{Bobot sampel yang diekstrak}} \times 100\%$$

(Mangirang *et al.*, 2024)

3.4.5 Standardisasi Ekstrak

1. Uji Parameter Spesifik

Uji parameter spesifik dilakukan secara organoleptik dengan menggunakan panca indra yaitu pengamatan terhadap warna, bentuk, dan bau dari ekstrak etanol rimpang temu blenyeh (*Curcuma purpurascens* Blume) (Mustapa, Abdulkadir & Halid, 2020).

2. Uji Parameter Non Spesifik

a. Uji Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan dengan menimbang ekstrak etanol rimpang temu blenyeh sebanyak 1gram pada cawan petri yang telah ditimbang bobotnya. Kemudian dilakukan pengeringan dengan waktu 2 jam pada suhu 105°C, selanjutnya didinginkan dengan desikator, Setelah itu

dilakukan penimbangan. Pengujian ini dilakukan secara berulang untuk mencapai berat yang konsisten (Korompis, Yamlean & Lolo, 2020).

b. Uji Susut Pengeringan

Ekstrak etanol rimpang temu blenyeh ditimbang sebanyak 2 gram kemudian dimasukkan kedalam krus porselin tertutup yang sudah dipanaskan dan ditara sebelumnya. Setelah itu krus porselin yang berisi ekstrak tersebut dipanaskan pada suhu 105°C dengan waktu 30 menit dalam keadaan terbuka, selanjutnya dinginkan pada desikator dan ditimbang hingga dihasilkan bobot yang tetap. Replikasi dilakukan sebanyak tiga kali selanjutnya dihitung nilai persentasenya (Y. P. Utami *et al.*, 2017).

c. Uji kadar abu

Ekstrak etanol rimpang temu blenyeh ditimbang 1 gram kemudian masukkan kedalam krus silikat yang sebelumnya telah dipijarkan sebelumnya dan ditara. Selanjutnya dipijarkan dengan menggunakan alat *furnace* dengan menaikkan suhu secara bertahap sampai suhu $600 \pm 25^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit hingga menjadi abu dan didinginkan dengan desikator sampai krus tidak panas dan kembali ditimbang. Syarat standar kadar abu adalah tidak lebih dari 16,6% (Aulia *et al.*, 2018).

d. Uji Bebas Etanol

Timbang 1gram ekstrak etanol rimpang temu blenyeh kering ditambahkan dengan $\text{H}_2\text{SO}_4(\text{p})$ dan CH_3COOH kemudian panaskan diatas bunsen. Jika ekstrak masih tercium bau ester maka mengandung etanol (Kurniawati, 2015).

e. Penetapan bobot jenis

Ditimbang piknometer yang kosong kemudian piknometer diisi dengan etanol dan ditimbang. Selanjutnya etanol dalam pikometer dikeluarkan dan keringkan untuk memasukkan ekstrak cair dan suhu piknometer yang telah diisi oleh air diatur dengan suhu sekitar 25°C (Depkes RI, 2012). Dilakukan penimbangan dengan cara dibagi bobot ekstrak terhadap bobot air menggunakan suhu 25°C pada piknometer dengan rumus:

$$\text{Bobot jenis} = \frac{\text{Bobot ekstrak cair (g)}}{\text{Bobot air (g)}} \times 100\%$$

3.4.6 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya metabolit sekunder atau komponen bioaktif yang terkandung dalam rimpang temu blenyeh.

a. Uji senyawa alkaloid

Ekstrak ditimbang 0,05 gram dan masukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,5 Ml HCL kemudian larutan ditambahkan reagen dragendroff 2-3 tetes. Selanjutnya dilakukan pengocokan agar tercampur sempurna. Hasil positif alkaloid dengan reagen dragendroff apabila terbentuk endapan berwarna merah bata, merah, dan jingga (Shaikh & Patil, 2020).

b. Uji senyawa flavonoid

Uji ini dilakukan dengan cara menimbang ekstrak sebanyak 0,05 gram dimasukan dalam tabung reaksi dan diuapkan sampai kering. Ekstrak dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas kemudian ditambahkan logam Mg dan 4-5 tetes HCL pekat. Jika dihasilkan warna merah sampai jingga maka positif adanya senyawa flavon, flavonol dan flavonon positif jika menghasilkan warna merah tua (Mukhriani *et al.*, 2019).

c. Uji senyawa tanin

Uji ini dilakukan dengan cara menimbang ekstrak etanol rimpang temu blenyeh sebanyak 0,5 gram kemudian ditambahkan 3 tetes FeCl_3 5% . Hasil positif pada uji ini jika menghasilkan warna biru tua atau hijau kehitaman pada ekstrak yang diteliti (Lestari & Cahyadi, 2022).

d. Uji senyawa triterpenoid/steroid

Ditimbang 0,05 gram ekstrak kemudian masukkan dalam tabung reaksi dan tambahkan 2-3 tetes reagen liebermann buchard. Jika terbentuk cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut maka ekstrak tersebut menunjukkan hasil positif adanya triterpenoid (Muthmainnah, 2017).

3.4.7 Formulasi lotion

Tabel. 3.1 Formulasi Sediaan *Lotion* (M. O. Ningrum & Wahyuni, 2018).

Bahan	Jumlah %					Fungsi	Range (Handbook rowe edisi 6) (%)
	I	II	III	IV	V		
Ekstrak rimpang temu blenyeh	5	10	15	-		Zat Aktif	-
Asam stearate	8	8	8	8	<i>Lotion</i> merek	Emulgator	1-20
Parafin liquid	4	4	4	4	Lavenda	Emollient	-
BHT	0,1	0,1	0,1	0,1		Antioksidan	0,0075- 0,1
Gliserin	5	5	5	5		Humektan	≤30
TEA	1	1	1	1		Emulgator	1-4
Nipagin	0,5	0,5	0,5	0,5		Pengawet	0,02-0,3
Aquadest			Add 100			Pelarut	-

Keterangan : Bobot formulasi 100 mL

3.4.8 Pembuatan Formulasi

Proses pembuatan *lotion* dimulai dengan meleburkan fase hminyak (asam sitrat, parafin liquid, dan BHT) dalam cawan porselen A. Kemudian fase air (gliserin, nipagin, aquadest, dan TEA) dileburkan. Setelah fase minyak dan air terlebur, disiapkan mortir yang telah dipanaskan. Masukkan fase minyak dan air ke dalam

mortir panas secara bersamaan dan masukkan ekstrak etanol rimpang temu blenyeh, aduk dengan kecepatan konstan sampai massa lotion terbentuk atau hingga suhu mortir turun. Langkah terakhir masukkan sediaan lotion ke dalam wadah (M. O. Ningrum & Wahyuni, 2018).

3.4.9 Evaluasi Sediaan Lotion

a. Uji organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan pengamatan secara langsung melihat bentuk, warna, dan bau dari sediaan (Mulyani *et al.*, 2018).

b. Uji homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan cara mengoleskan sediaan sejumlah tertentu pada kaca transparan. Sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butir-butir kasar (Amanda *et al.*, 2024).

c. Uji pH

Uji pH dilakukan dengan menggoreskan pada pH stick (pH universal). Dilihat nilai pH sediaan dari perubahan warna stick (Slamet & U, 2019). Syarat sediaan *lotion* menurut SNI 16-3499-1996 pH yang baik untuk kulit adalah 4,5-8 (Hidayati *et al.*, 2021).

d. Uji tipe emulsi

Uji tipe emulsi dilakukan dengan mengoleskan sediaan pada *object glass*, kemudian ditambahkan 1 tetes metilen *blue*. Jika warna tersebar merata, maka sediaan termasuk dalam tipe emulsi minyak dalam air (M/A), jika hanya bintik-bintik biru menandakan sediaan termasuk dalam tipe emulsi air dalam minyak (A/M) (Utami *et al.*, 2021).

e. Uji daya sebar

Ditimbang sediaan seberat 0,5 gram diletakkan di atas kaca kemudian diberi kaca bagian atasnya dan beban (50 gram – 200 gram), dengan rentang waktu 1- 2 menit kemudian diukur diameter penyebaran pada setiap penambahan beban (Amin *et al.*, 2018).

f. Uji daya lekat

Ditimbang 0,1 gram sediaan kemudian dioleskan diatas objek gelas, bagian atas sediaan diletakkan objek gelas dan ditindih dengan beban 1 kg selama 5 menit. Kemudian dipasang objek gelas pada alat uji, dilepaskan beban seberat 50 gram lalu catat waktunya sampai kedua objek gelas lepas (Arizona & Zulkarnain, 2018).

g. Uji viskositas

Ditimbang sebanyak 50 gram untuk mengukur kekentalan dengan alat *viscometer brookfield* menggunakan

spindle nomor 4 yang dipasang pada alat lalu celupkan kedalam cairan *lotion* yang ada di dalam beaker *glass* (Taswin & Toyibah, 2020).

h. Uji hedonik

Uji ini menggunakan skala hedonik dengan panelis berjumlah 20 orang. Parameter yang diamati antara lain penampilan, warna, dan aroma. Untuk mengukur kesukaan atau tidak suka terhadap *lotion* yang digunakan yaitu dengan skala hedonik menggunakan tingkatan 1-4 yang berturut-turut mewakili perasaan sangat suka, suka, kurang suka, dan tidak suka (Barus *et al.*, 2024).

3.4.10 Uji Efektivitas Anti Nyamuk

Uji efektivitas anti nyamuk dilakukan untuk melihat seberapa efektif sediaan *lotion* untuk menghalau/menolak nyamuk saat dioleskan di kulit. Uji efektivitas *repellent* dilakukan pada *lotion* dengan formulasi terbaik berdasarkan hasil evaluasi sediaan fisik, sediaan tanpa ekstrak rimpang blenyeh sebagai kontrol negatif, dan *lotion repellent* dengan kandungan DEET sebagai kontrol positif.

Pengujian efektivitas *repellent* dilakukan dengan cara mengoleskan sampel *lotion* pada lengan bawah relawan yang berusia 20-22 tahun. Objek uji yang digunakan adalah bagian lengan sebatas persendian tangan hingga siku dan telapak tangan hingga pergelangan ditutup dengan menggunakan sarung tangan karet.

Lengan dimasukkan ke dalam kandang nyamuk yang berisi 25 ekor nyamuk *Aedes aegypti* betina dalam keadaan lapar, kedua tangan dimasukkan dalam kurungan secara bergantian selama 5 menit setiap 60 menit dan dilakukan selama 6 jam (Adiyasa et al., 2014).

. Kemudian dihitung jumlah nyamuk yang hinggap menggunakan rumus (Boesri et al., 2015) :

$$DP(\%) = \frac{k-P}{K} \times 100\%$$

Keterangan:

DP : Daya tolak terhadap gigitan nyamuk

K :Jumlah nyamuk yang hinggap di tangan kontrol / tanpa perlakuan (kontrol negatif)

P :Jumlah nyamuk yang hinggap di tangan yang diberi olesan (kontrol positif)

Pengujian terhadap sampel dikatakan efektif jika daya tolak terhadap gigitan nyamuk $> 80\%$, dan dinyatakan tidak efektif jika daya tolak $< 80\%$ (Sundari et al., 2022).

3.5 Analisis Data

Data hasil penelitian yang diperoleh selanjutnya dianalisis secara statistik dengan menggunakan analisis SPSS 27. Uji data statistik menggunakan uji One Way Anova.