BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah : Ekstrak kacip fatimah, Asam stearat, *Cetyl alkohol*, *olive oil*, Butil Hidroksi Toluen (BHT), Trietanolamina (TEA), Gliserin, Metil paraben, Propil paraben, Na_4EDTA, Carbopol, Phenil trimethicone, Beeswax, Parfum, Isopropil miristate, air demineral, metanol p.a, DPPH (1,1 *Diphenyl -2- picrylhidraxyl*).

3.2 Peralatan Penelitian

Adapun peralatan yang digunakan untuk penelitian ini adalah : Pipet ukur, rubber bulb, timbangan analitik (ae - ADAM®), kaca arloji, beaker glass (PYREX®), gelas ukur (PYREX®), homogenizer (WiseTis®), viskometer (Lamy rheology©), ph meter (iSTEK), spatula, batang pengaduk, labu ukur 25 ml (PYREX®), labu ukur 50 ml (PYREX®), corong kaca (PYREX®), spektrofotometer Uv – *Visible* (Thermo scientific), mikropipet (Fisherbrand™), dan kuvet (Purshee®)

3.3 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan pengujian aktivitas antioksidan dengan zat aktif ekstrak kacip fatimah (*Labisia pumila*) dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer Uv – *Visible*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang dengan waktu yang diberikan selama 4 bulan terhitung mulai pada bulan Maret 2020 sampai dengan bulan Juli 2020.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan Formula *Body butter*

Tabel 3. 1 Formula *Body butter* Ekstrak Kacip Fatimah

Bahan	Formula (% b/v)			Fungsi Penggunaan
	F1	F2	F3	
Ekstrak Kacip Fatimah	1	1,5	2	Zat aktif
Asam Stearat	5	5	5	Emulsifying
Cetyl Alkohol	2	2	2	Emolien
BHT	0,1	0,1	0,1	Antioksidan
TEA	0,5	0,5	0,5	Alkalizing
Gliserin	2	2	2	Humektan
Nipagin	0,2	0,2	0,2	Pengawet
Nipasol	0,1	0,1	0,1	Pengawet
Na4EDTA	0,1	0,1	0,1	Chelating agent
Carbopol	0,2	0,2	0,2	Emulsifying
Olive oil	0,5	0,5	0,5	Pelarut
Phenyl trimethicone	2	2	2	Emolien
Isoprophyl miristat	3	3	3	Moisturizing
Beeswax	1	1	1	Stabilizing
Parfum	0,5	0,5	0,5	Pewangi
Air	81,8	81,3	80,8	Pelarut
TOTAL	100	100	100	

3.4.2 Pembuatan Ekstrak Kacip Fatimah

Ekstrak kacip fatimah (*Labisia pumila*) yang didapatkan pada penelitian ini yaitu dari PT. Phytochemindo reksa yang berada di kawasan Gunung Putri, Kabupaten Bogor.

3.4.3 Skrining Fitokimia Simplisia Kacip Fatimah (*Labisia pumila*)

A. Uji Alkaloid

Sampel dibasakan terlebih dahulu dengan ammonia encer, digerus dalam mortir kemudian ditambahkan beberapa ml kloroform sambil terus digerus. Lalu disaring dan filtratnya dikocok dengan asam klorida (HCl) 2 N. Kemudan lapisan asam dipisahkan dan dibagi menjadi tiga bagian, bagian pertama digunakan sebagai blanko, bagian kedua ditetesi pelarut pereaksi *Mayer*, kemudian diamati warna yang muncul ada atau tidaknya endapan putih,bagian ketiga ditetesi larutan

pereaksi *Dragendorf*, lalu diamati kembali ada atau tidak endapan jingga coklat (Harborne, 1987)

B. Uji Flavonoid

Sampel ditimbang sebanyak 1 gram selanjutnya dipanaskan sampai mendidih dengan air 10 ml. Setelah itu, sampel yang telah dipanaskan disaring menggunakan kertas saring. Selanjutnya filtrat diambil sebanyak 1 ml dan di kocok serta ditambahkan serbuk Mg dan diteteskan HCl. Jika sampel positif senyawa flavonoid maka akan timbul warna kuning/merah/jingga yang dapat ditarik oleh amil alkohol (Agustina W, Nurhamidah, 2017).

C. Uji Fenolik

Filtrat diambil sebanyak 1 ml disimpan dalam tabung reaksi direaksikan dengan $FeCl_3$ 1%. Jika sampel positif mengandung senyawa fenolik, maka terdapat perubahan warna menjadi hijau, ungu, biru dan hitam (Agustina W, Nurhamidah, 2017).

D. Uji Saponin

Sampel dicampur dengan air di dalam tabung reaksi dan dipanasakan diatas penangas air beberapa saat, kemudian disaring. Lalu filtrat dikocok kuat selama kurang lebih 30 detik.hingga terbentuknya busa sekurang- kurangnya 1 cm dan persisten selama beberapa menit serta tidak hilang setelah penambahan 1 tetes asam klorida encer menunjukan adanya senyawa saponin (Harborne, 1987).

E. Uji Terpenoid

Sampel disari dengan eter, kemudian sari eter diuapkan hingga kering. Setelah terbentuk residu ditetesi pereaksi *Libermann - Buchard* membentuk warna ungu menunjukan adanya senyawa triterpenoid (Harborne, 1987).

3.4.4 Pengukuran Aktivitas Antioksidan

A. Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara menimbang DPPH terlebih dahulu sebanyak 5 mg yang selanjutnya dilarutkan dengan metanol absolut 100 ml dalam labu ukur.

B. Pembuatan Larutan Sampel Ekstrak Kacip Fatimah

Dibuat larutan induk 100 ppm ekstrak kacip fatimah dengan menggunakan pelarut metanol absolut sebanyak 10 ml. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, dan 80 ppm.

C. Pembuatan Larutan Pembanding

Dibuat larutan stok 100 ppm vitamin C yang dilarutkan dengan metanol absolut 10 ml. Selanjutnya dibuat variasi konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm dan 8 ppm.

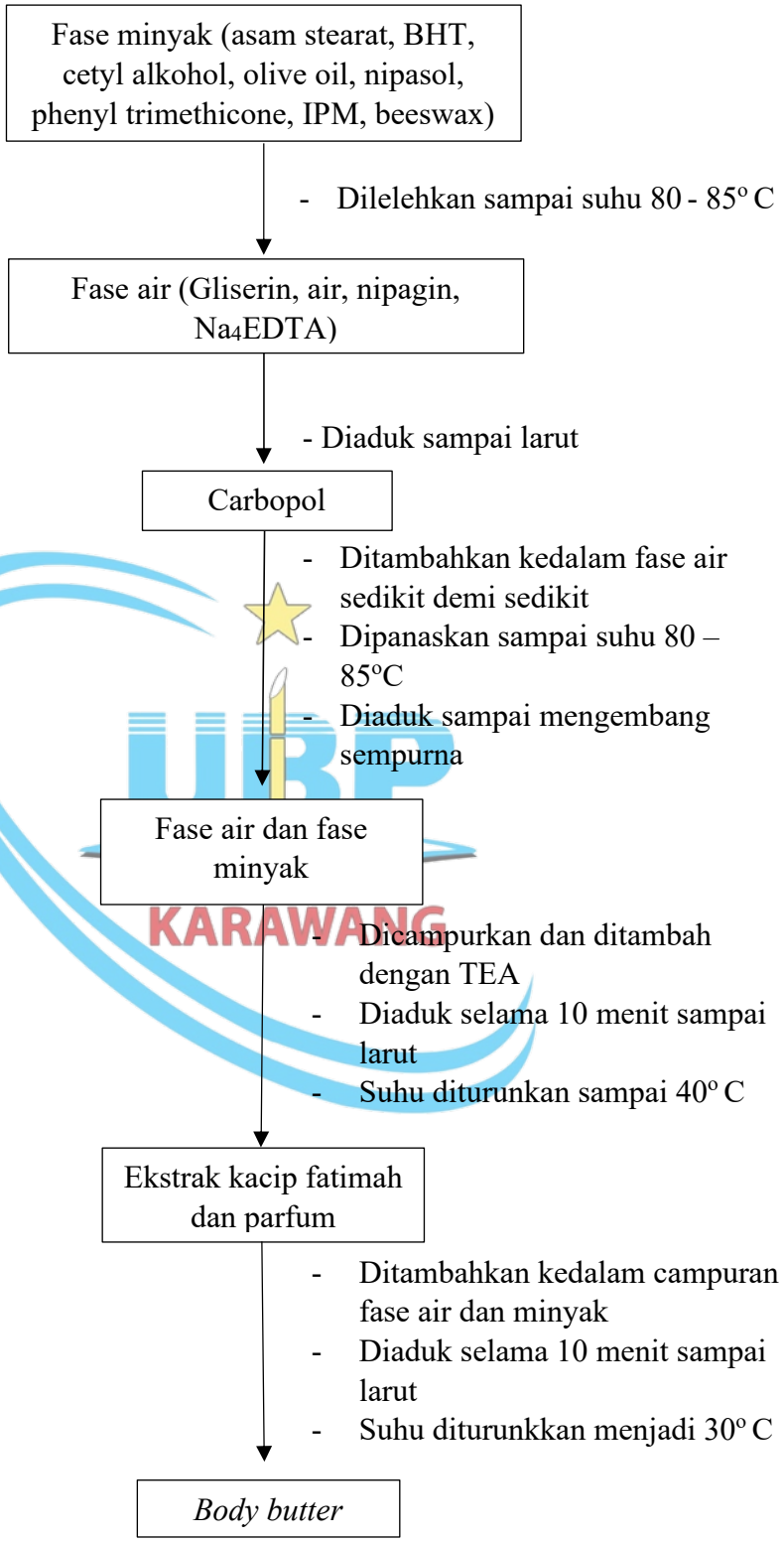
D. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kacip Fatimah

Ekstrak yang telah dilarutkan dengan metanol absolut di pipet sebanyak 2 ml dari berbagai variasi konsentrasi (20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm). Kemudian masing – masing ditambahkan larutan DPPH 50 ppm sebanyak 2 ml. Setelah keduanya dicampurkan, selanjutnya diinkubasi selama 30 menit di ruangan gelap dan tertutup. Setelah itu absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer Uv-*Visible* dengan panjang gelombang 517 nm.

E. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Sampel Pembanding

Sampel pembanding yang telah dilarutkan dengan metanol absolut di pipet sebanyak 2 ml dari berbagai variasi konsentrasi (20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm). Kemudian masing – masing ditambahkan larutan DPPH 50 ppm sebanyak 2 ml. Setelah keduanya dicampurkan, selanjutnya diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37^{o}C di ruangan gelap dan tertutup. Setelah itu absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer Uv-*Visible* dengan panjang gelombang 517 nm.

3.4.5 Pembuatan *Body butter* dari Ekstrak Kacip Fatimah



3.4.6 Evaluasi Fisik Sediaan *Body butter*

Evaluasi sediaan *body butter* yang dilakukan meliputi uji sifat fisik yaitu :

A. Uji Organoleptis

Sediaan *body butter* diamati bentuk, warna dan bau nya (Dewi *et al.*, 2014).

B. Uji Homogenitas

Pengujian ini dilakukan dengan cara mengoleskan sediaan *body butter* pada gelas objek yang kemudian ditempelkan dengan gelas objek lainnya. Selanjutnya dilihat secara visual ada atau tidaknya partikel jika terjadi pemisahan fase (Dewi *et al,* 2014)

C. Uji pH

Pengujian pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang didiamkan beberapa saat pada sediaan *body butter* sampai mendapatkan hasil. Pengujian pH dilakukan sebanyak 3 kali untuk mengetahui hasil rata – rata dari pengujian pH yang diperoleh (Dewi *et al.*, 2014)

D. Uji Viskositas

Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan viskometer *Lamy Rheology* dengan menggunakan spindel nomor 6. Caranya adalah dengan memasukkan *body butter* ke dalam wadah gelas kemudian spindel yang telah dipasang diturunkan hingga batas spindel tercelup ke dalam *body butter*. Alat dipasang dengan kecepatan 100 rpm selama 1 menit. Kemudian skalanya dibaca dan dicatat (Dewi *et al.,* 2014).

E. Uji Daya Lekat

Sebanyak 0,25 gram sediaan *body butter* diletakkan diantara 2 gelas obyek,. Alat uji ini diberi beban 80 gram dan waktu pelepasan *body butter* dari gelas obyek dicatat (Made *et al.*, 2017).

F. Uji Daya Sebar

Sediaan *body butter* diambil sebanyak 0,5 gram dan diletakkan hati – hati diatas kaca berukuran 10x10 cm^2 dan tutup dengan kaca penutup lalu diberikan beban diatasnya hingga bobot mencapai 125

gram. Diameter yang dihasilkan kemudian di catat setelah terbentuknya selama 1 menit (Garg *et al.*, 2002).

H. Uji Stabilitas Sediaan *Body butter*

H.1 Pada Suhu 40^{o}C

Penyimpanan *body butter* dengan suhu 40^{o} C selama 3 bulan. Amati perubahan sediaan *body butter* pada hari ke 1, hari ke 7, hari ke 15, hari ke 30, hari ke 60 dan hari ke 90.

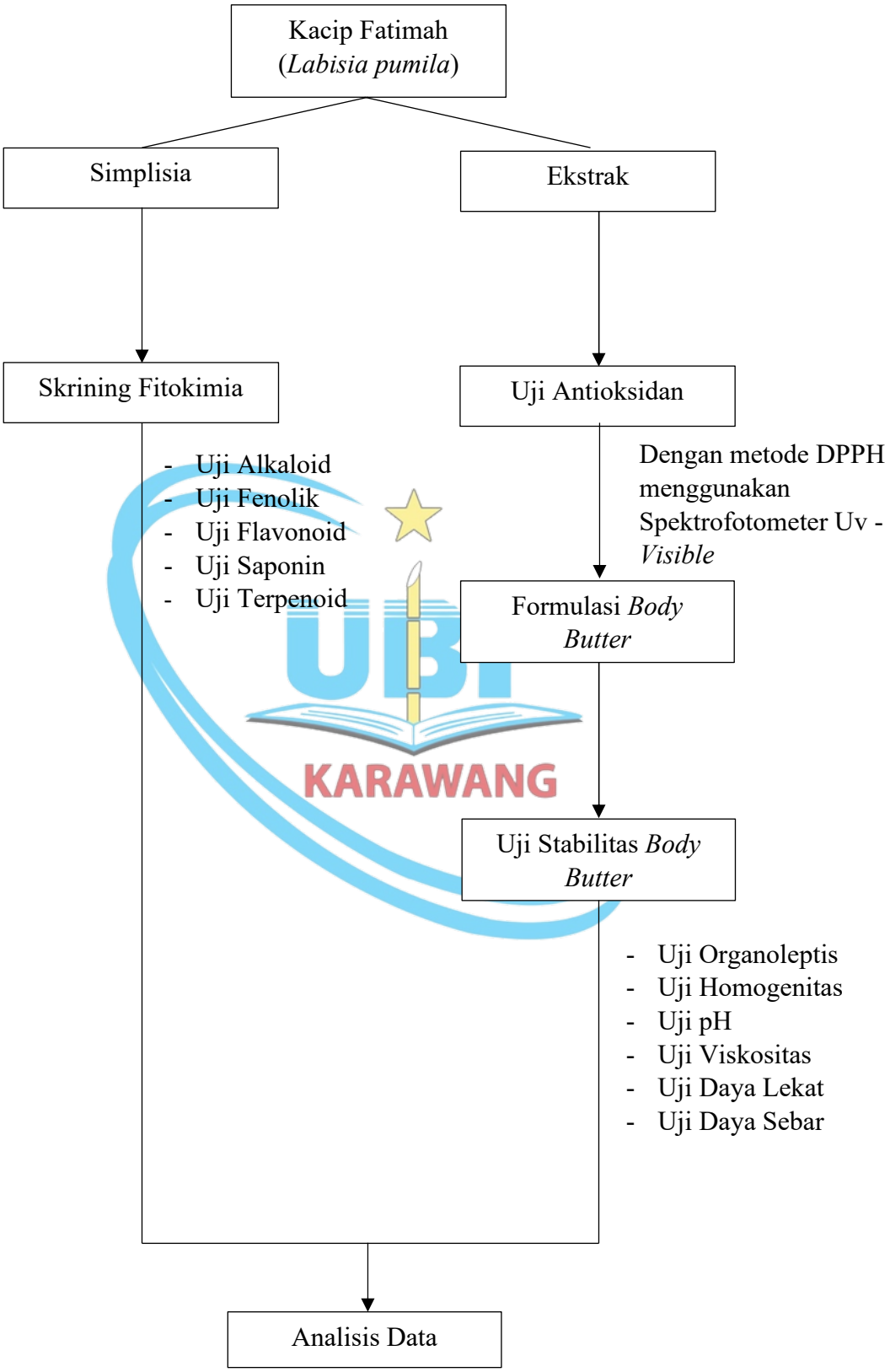
H.2 Pada Suhu Ruang

Penyimpanan *body butter* dengan suhu ruang selama 3 bulan. Amati perubahan sediaan *body butter* pada hari ke 1, hari ke 7, hari ke 15, hari ke 30, hari ke 60 dan hari ke 90.

H.3 Dengan Sinar Matahari

Penyimpanan *body butter* dengan sinar matahari selama 3 bulan. Amati perubahan sediaan *body butter* pada hari ke 1, hari ke 7, hari ke 15, hari ke 30, hari ke 60 dan hari ke 90.

3.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil evaluasi uji fisik sediaan *body butter* (organoleptis, uji pH, uji homogenitas, uji viskositas, uji daya sebar, uji daya lekat dan uji stabilitas serta uji aktivitas antioksidan) akan di analisis dengan menggunakan statistika SPSS. Analisis yang dilakukan adalah uji normalitas (kolmogorov – smirnov) dan uji homogentitas dengan *Test of Homogenity of Variance*. Jika data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen, selanjutnya dilanjutkan dengan uji ANOVA. Jika data yang diperoleh tidak terdistribusi normal dan tidak homogen maka dilakukan uji *Post Hoc – Scheffe* untuk melihat perbedaan yang bermakna antara peningkatan konsentrasi dan lama penyimpanan.

3.6 Diagram Alir Penelitian