

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang akan digunakan antara lain ketan hitam (*Oryza sativa var glutinosa*), etanol 96%, asam stearat, setil alkohol, paraffin liquid, tween 80, span 80, trietanolamin, gliserin, natrium benzoat, parfume dan aquadest.

3.2 Peralatan Penelitian

Peralatan penelitian yang akan digunakan antara lain *Rotary evaporator* (CECIL), *water bath* (CECIL), spektrofotometer uv-vis (THERMO SCIENTIFIC), neraca analitik (ADAM SCIENTIFIC), gelas ukur (PYREX), corong, *beaker glass* (BOMEX), tabung reaksi, cawan porselin, batang pengaduk, mortir dan stamper, *viskometer* (LAMMYRHEOLOGY), pH meter (ISTEK).

3.3 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bahan Alam, laboratorium Teknologi Sediaan Semisolid Universitas Buana Perjuangan Karawang dengan waktu penelitian mulai Februari sampai dengan Juli 2020.

3.4 Prosedur Percobaan

Prosedur Percobaan meliputi :

3.4.1 Determinasi Tanaman

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini dideterminasi terlebih dahulu untuk memastikan kebenaran dari tanaman yang dipakai. Determinasi dilakukan di Institut Teknologi Bandung.

3.4.2 Pembuatan Ekstrak Ketan Hitam (*Oryza sativa var glutinosa*)

Pembuatan ekstrak ketan hitam menggunakan metode ekstraksi maserasi. Simplisia dimaserasi dengan etanol 96 % selama 3 hari dengan

pengadukan beberapa kali. Ekstrak ditampung dan pelarut etanol 96 % diganti dengan yang baru. Hasil maserasi dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan pengentalan ekstrak yang dilakukan dengan menggunakan *waterbath*.

3.4.3 Skrining Fitokimia

Skrining Firokimia menurut (Harbone, 1987) meliputi :

a. Uji Alkaloid

Ekstrak ditambahkan pada tabung reaksi lalu ditambahkan dengan pereaksi Dragendorf dan Mayer. Terbentuknya endapan jingga menunjukkan adanya dragendorf, dan adanya endapan putih menunjukkan adanya mayer.

b. Uji Flavonoid

Ekstrak ditambahkan kedalam tabung reaksi dengan 0,2 g Serbuk Mg dan 2 tetes HCl, terbentuk warna jingga sampai merah menunjukkan adanya Flavonoid.

c. Uji Tanin

Ekstrak ditambahkan kedalam tabung reaksi ditetaskan larutan besi (III) klorida terbentuknya warna biru-hitam menunjukkan adanya tanin.

d. Saponin

Ekstrak ditetaskan pada tabung reaksi didihkan dengan 20 ml air dalam penangas air. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa menunjukkan adanya saponin.

e. Uji Triterpenoid dan steroid

Ekstrak ditambahkan pada tabung reaksi ditambahkan pereaksi Lieberman-Burchard terbentuk warna merah atau violet menunjukkan adanya triterpenoid dan terbentuknya warna hijau menunjukkan adanya steroid.

3.4.4 Standarisasi Ekstrak

Standarisasi Ekstrak menurut (DepKes RI, 2000) meliputi :

a. Parameter Spesifik

1. Organoleptis

Uji organoleptis yang dilakukan diantaranya bau, rasa, dan warna.

2. Penentuan kadar senyawa terlarut dalam pelarut tertentu

a. Kadar senyawa yang larut dalam air

Ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 10ml air-kloroform, menggunakan labu bersumbat sambil dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian didiamkan selama 18 jam, lalu disaring. Diuapkan 10 ml hasil saringan hingga kering dalam cawan penguap, residu dipanaskan pada suhu 105 °C hingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam persen senyawa yang larut dalam air.

$$\% \text{ Kadar senyawa larut dalam air} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times \frac{100}{10} \times 100 \%$$

Keterangan :

W_0 = Berat cawan kosong

W_1 = Berat Sampel yang digunakan

W_2 = Berat cawan + Hasil pengeringan

b. Kadar senyawa yang larut dalam etanol

Ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 10 ml etanol 95 % menggunakan labu tersumbat sambil dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam, disaring. Diuapkan 10 ml hasil penyaringan hingga kering dalam cawan penguap, residu dipanaskan pada suhu 105 °C hingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam persen senyawa yang larutan dalam etanol.

$$\% \text{ Kadar senyawa larut dalam etanol} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times \frac{100}{10} \times 100 \%$$

Keterangan :

W_0 = Berat cawan kosong

W_1 = Berat Sampel yang digunakan

W_2 = Berat cawan + Hasil pengeringan

b. Parameter Non Spesifik

1. Parameter Kadar Air (Metode Gravimetri)

Ekstrak dimasukkan kedalam cawan yang telah ditara. Dikeringkan pada suhu 105 °C selama 5 jam dan ditimbang.

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{w_1 - w_2}{w_1} \times 100 \%$$

Keterangan :

W_1 = Berat sebelum pengeringan

W_2 = Berat akhir

2. Susut Pengeringan

Ekstrak dimasukkan kedalam cawan yang telah dipanaskan pada suhu 105 °C selama 30 menit dan ditara. Kemudian dikeringkan pada suhu 105 °C selama 30 menit, keluarkan, lalu masukan kedalam desikator lalu ditimbang. Ulangi perlakuan sampai didapatkan bobot tetap.

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{(W_1) - (W_2 - W_0)}{W_1} \times 100 \%$$

Keterangan :

W_0 = Berat cawan kosong

W_1 = Berat ekstrak

W_2 = Berat cawan + Hasil Pengeringan

3. Penetapan Kadar Abu

Ekstrak dimasukkan kedalam kurs porslen yang telah dipijarkan dan ditimbang terlebih dahulu, dipijarkan perlahan-lahan. Kemudian suhu dinaikan secara bertahap hingga $\pm 25^{\circ}\text{C}$ sampai bebas karbon, Lalu dinginkan dalam desikator dan ditimbang berat abu.

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \times 100 \%$$

Keterangan :

W_0 = Bobot cawan kosong (gram)

W_1 = Bobot Ekstrak Awal (gram)

W_2 = Bobot cawan + ekstrak yang telah diabukan (gram)

3.4.5 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji Aktivitas Antioksidan meliputi :

a. Pembuatan Larutan Sampel

Dibuat larutan uji dengan konsentrasi 100 ppm, 80 ppm, 60 ppm, 40 ppm, 20 ppm, dan dibuat larutan uji vitamin c dengan konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, dan 4 ppm, larutan uji vitamin c digunakan sebagai pembanding.

b. Pembuatan Larutan DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 0,005 g dilarutkan dalam methanol p.a sampai 50 ml. larutan dijaga pada suhu rendah, terlindung dari cahaya untuk segera digunakan.

c. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Ketan Hitam (*Oryza sativa var. glutinos*).

Pengujian aktivitas antioksidan larutan DPPH ditambahkan kedalam larutan uji ekstrak ketan hitam (*Oryza sativa var. glutinosa*) dihomogenkan kemudian diinkubasi selama 30 menit

dan diamati absorbansinya menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. Aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{Ab_{kontrol} - Ab_{Sampel}}{Ab_{kontrol}} \times 100 \%$$

Keterangan :

AbKontrol = Nilai Absorbansi blanko

AbSampel = Nilai Absorbansi sampel

d. Pengukuran IC₅₀

Nilai IC₅₀ dihitung dari kurva *regresi linear* antara % inhibisi dengan berbagai konsentrasi ekstrak. Menurut Badarinath (2010) tingkatan kekuatan antioksidan diklasifikasikan menjadi:

Tabel 3.1 Tingkatan Aktivitas Antioksidan

Nilai IC ₅₀	Sifat antioksidan
≤ 50 ppm	Sangat kuat
50-100 ppm	Kuat
100-150 ppm	Sedang
150-200 ppm	Lemah



3.4.6 Pembuatan Formula

Tabel 3.2 Formula Sediaan *Body Cream* Ekstrak Ketan Hitam

Bahan	Rentang Konsentrasi			Fungsi	
	F1	F2	F3		
Ekstrak Ketan Hitam	0,5 %	1 %	2 %	-	Zat Aktif
Asam Stearat	3 %	6 %	12%	1 - 20 %	Pengemulsi
Setil Alkohol	2 %	4 %	8 %	-	Pengental
Trietanolamin	0,8 %	0,8 %	0,8 %	-	<i>Alkalazing Agent</i>
Paraffin Liquid	3 %	3 %	3 %	1 - 20 %	Pelembab
Tween 80	15 %	15 %	15 %	1 - 15 %	Elmugator
Span 80	4,3 %	4,3 %	4,3%	1 - 15 %	Elmugator
Gliserin	5 %	5 %	5 %	≤ 30 %	Humektan
Natrium Benzoat	0,1 %	0,1 %	0,1 %	0,1 - 0,2 %	Pengawet
Parfume	qs	qs	qs	-	Pewangi
Aquadest	50ml	50ml	50ml	-	Pembawa

3.4.7 Pembuatan sediaan *Body Cream* Ekstrak Ketan Hitam

Pembuatan *Body Cream* diawali dengan penentuan fase minyak dan fase air. Fase minyak terdiri dari (Asam stearat, paraffin liquid, setil alkohol, tween, span). Fase air (TEA, Gliserin, Sodium Benzoat, dan Aquadest). Fase minyak dibuat dengan melebur bersama-sama (massa 1). Fase air dibuat dengan memanaskan bersama-sama sambil diaduk terus menerus hingga homogen (massa 2). Campurkan fase air (massa 2) kedalam fase minyak (massa 1) sedikit demi sedikit, tambahkan sedikit demi sedikit ekstrak ketan hitam (*Oryza sativa var glutinosa*) hingga homogen.

3.4.8 Evaluasi Sediaan

Evaluasi Sediaan *Body Cream* yang dilakukan meliputi uji sifat fisik yaitu :

a. Uji Organoleptik

Menurut (Dhase dkk. 2014) “Pengujian organoleptik dilakukan dengan mengamati sediaan *Body Cream* ekstrak ketan hitam (*Oryza sativa var glutinosa*) yang dilakukan secara visual meliputi warna, bau, dan tekstur sediaan *Body Cream*”

b. Uji Homogenitas

Dengan menggunakan *objek glasss*, sediaan dihimpit dengan dua *objek glass* dan memastikan bahwa sediaan sudah homogen dan tidak adanya butiran kasar (Ansel, 1989)

c. Uji Viskositas

Sediaan dimasukan kedalam *beaker glass* 100 ml kemudian diukur viskositasnya dengan viscometer, kemudian diatur spindel 6 dan kecepatan 100 rpm. Viskositas yang baik 2.000 – 50.000 cPs.

d. Uji pH

Uji pH sediaan diukur dengan menggunakan pH meter. Sediaan dimasukan kedalam wadah, kemudian masukan elektroda kedalam wadah tersebut. Angka yang ditunjukkan pH meter merupakan nilai pH sediaan tersebut. (Voigth, 1995). pH kulit 4,5 – 6,5

e. Daya Sebar

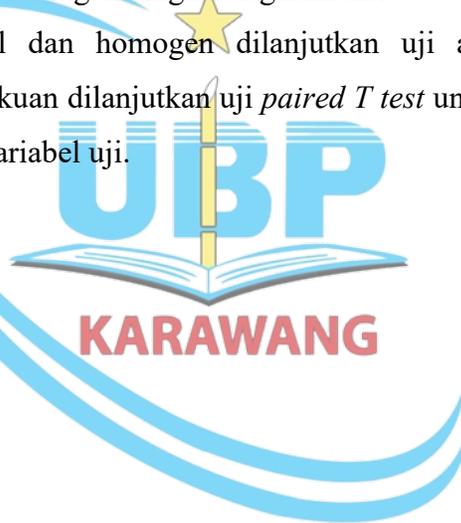
Sediaan ditimbang sebanyak 0,5 g diletakan ditengah kaca yang telah diberi millimeter block kemudian ditutup dengan kaca yang sama selama 60detik, diulang dengan penambaha beban 50g, 100g, 150g dan 200g setiap 60detik. Diukur penyebaran pada beberapa sis. Kriteria penyebaran 5 – 7 cm (Wasiaatmadja, 1997).

f. Daya Lekat

Sediaan ditimbang sebanyak 0,1 g diletakan diatas gelas objek, diletakan gelas objek yang lain diatas sediaan tersebut kemudian ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit. Kemudian dilepaskan beban seberat 80 g dan dicatat waktunya hingga kedua gelas objek terlepas. (HS Hana dan Karim Az, 2013).

3.5 Analisis Data

Analisis data menggunakan metode ANOVA. Sebelum dilakukan uji ANOVA melakukan uji normalitas (shapiro-wilk) dan uji homogenitas dengan Levene Test dengan tingkat signifikansi 5 % atau 0,05 jika data terdistribusi normal dan homogen dilanjutkan uji anova untuk melihat hubungan tiap perlakuan dilanjutkan uji *paired T test* untuk melihat hubungan dan pengaruh tiap variabel uji.



3.6 Diagram Alir Penelitian

