

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Penelitian ini bersifat eksperimental, yaitu pembuatan formulasi *handbody lotion* daun kelor dengan tahap pembuatan simplisia, ekstraksi, pembuatan formulasi *handbody lotion* menggunakan konsentrasi 1%, 3%, 5% dan pengujian karakteristik fisik pada parameter organoleptis, pH, homogenitas, viskositas, daya lekat dan daya sebar.

Metabolit sekunder dengan uji fitokimia meliputi flavonoid, tannin, saponin, dan alkaloid. Penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Karakteristik fisik sediaan *handbody lotion* daun kelor dilihat pada parameter organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, uji viskositas. Stabilitas fisik sediaan dilakukan perlakuan dengan uji *cycling test* sebanyak 12 hari (6 siklus). Sediaan *lotion* disimpan pada suhu dingin 4°C selama 24 jam lalu dikeluarkan dan ditempatkan pada suhu 40°C selama 24 jam, proses ini dihitung 1 siklus. Pengujian dilakukan pada siklus awal dan akhir.

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

Penelitian determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistemika Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang Jawa Tengah. Penelitian ekstraksi uji fitokimia dilaksanakan di Laboratorium fitokimia dan uji stabilitas fisik pada *handbody lotion* daun kelor (*Moringa oleifera* L.) dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Universitas Ngudi Waluyo.

## C. Subjek Penelitian

### Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian formulasi *handbody lotion* ekstrak daun kelor (*Moringa oliefera* L.) dengan menggunakan variasi konsentrasi ekstrak daun kelor 1%, 3% dan 5% (A. S. Ulandari & Sugihartini, 2020).

## D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau sebab perubahan timbulnya variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini yaitu formulasi *handbody lotion* ekstrak daun kelor dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 1%, 3%, 5%.
2. Variabel tergantung adalah variabel yang di pengaruhi, akibat adanya variabel bebas. Variabel tergantung pada penelitian ini yaitu pengujian skrining fitokimia meliputi flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Penetapan kadar flavonoid total dengan metode spektrofotometer UV-Vis. Karakteristik fisik *handbody lotion* pada parameter organoleptis, pH, homogenitas, uji daya sebar, uji daya lekat, uji viskositas. Stabilitas fisik menggunakan metode *cycling test* sebanyak 12 hari (6 siklus). Sediaan lotion disimpan pada suhu dingin 4°C selama 24 jam lalu dikeluarkan dan ditempatkan pada suhu 40°C selama 24 jam, proses ini dihitung 1 siklus.
3. Variabel terkontrol variabel lain yang ikut berpengaruh yang dibuat sama pada setiap media percobaan dan terkontrol. Variabel terkontrol pada penelitian ini meliputi pembuatan simplisia dengan metode pengeringan oven pada suhu. Pembuatan ekstrak daun kelor dengan metode maserasi pada rotary evaporator pada suhu 45°C *water batch*. Pembuatan formulasi dipanaskan pada suhu 70°C. Stabilitas fisik *Cycling test* dengan suhu 40°C dan 4°C

## **E. Pengumpulan Data**

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

#### **a. Alat**

Timbangan digital 100g (ohrus). Mortir dan stamper (iwaki), blender (*Philip*), water batch (*memmert*), cawan penguap 250 ml (ika). viscometer Brookfield LV (DV2T), Cup diperoleh ditoko kosmetik, spatula (iwaki), *climatic chamber* (*memmert*), *ultra turax* (ika) dan pH universal. Erlenmeyer 50 ml, gelas ukur 10 ml, dan 100 ml, tabung reaksi, gelas beker 100 ml, 250ml, 500 ml, corong, labu ukur 10 ml, dan 25 ml, sudip, pipet tetes, dan batang pengaduk (iwaki). Label sediaan, rotary evaporator (Ika), spektrofotometer UV-Vis (*shimadzu*).

#### **b. Bahan**

Daun kelor (*Moringa oliefera* L.) diperoleh dari kebun warga di ungaran timur. Asam stearate, parafin cair, setil alkohol, metil paraben, propyl paraben, gliserin dan trietanolamin, etanol 70% grade A diperoleh dari toko kimia indrasari semarang. Aquades ad, asam sulfat pekat , HCl 2 N, besi (III) klorida 1%, Mg, HCl 2%, asam asetat anhidrat, dan reagen wagner diperoleh dari laboratorium kimia Universitas Ngudi Waluyo.

## **F. Prosedur Penelitian**

### **1. Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematika Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang Jawa Tengah.

### **2. Pembuatan Simplisia**

Daun Kelor (*Moringa Oleifera* L.) diperoleh dari daerah Ungaran daun dipanen dalam kondisi segar dan berwarna hijau muda. Daun kelor dicuci dengan air mengalir sampai bersih kemudian daun kelor dimasukan kedalam oven atur suhu 50°C didiamkan selama 150 menit. Daun kelor kemudian dihaluskan menjadi serbuk dengan menggunakan blender dan kemudian di ayak agar sampel dapat dipastikan sudah benar-benar halus.

### **3. Pembuatan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.).**

Sampel diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Perbandingan antara simplisia dan pelarut yang digunakan pada ekstraksi pertama adalah 1:10. Ekstraksi Sebanyak 100 gram serbuk daun kelor dimasukkan ke dalam gelas beaker kemudian ditambahkan 1000 mL etanol 70%. Daun kelor direndam selama 1 hari sambil sesekali diaduk. Ekstrak daun kelor dipisahkan maserat dengan filtrasi. Perbandingan antara simplisia dan pelarut yang digunakan pada remaserasi adalah 1:5. Remaserasi merupakan metode ekstraksi yang terjadi pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya. Ekstrak daun kelor kemudian diremaserasi dengan jenis pelarut yang sama 500 mL etanol 70%. Daun kelor yang sudah di remaserasi direndam selama 1 hari sambil sesekali diaduk. Ekstrak daun kelor di pisahkan maserat dengan filtrasi. Ekstak daun kelor lalu dikumpulkan semua maserat dan diuapkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 45°C hingga diperoleh ekstrak kental (Munira et al., 2021).

### **4. Skrining Fitokimia**

#### **a. Uji flavanoid**

Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan cara yaitu ekstrak dari hasil maserasi sampel diambil sepucuk spatula, kemudian ditambahkan sepucuk spatula serbuk Mg dan empat tetes HCl 2%. Keberadaan flavonoida akan ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna filtrat menjadi jingga-merah (Daun & Moringa, 2016).

**b. Uji Saponin**

Uji saponin diambil sejumlah sampel dan dilarutkan dengan akuades kemudian dipanaskan selama 15 menit lalu dikocok selama 10 detik. Jika terbentuk buih yang stabil selama kurang lebih 10 menit dan ditambahkan beberapa tetes asam klorida 2 N, maka sampel tersebut positif mengandung saponin.

**c. Uji Tanin**

Uji tanin diambil ekstrak sebanyak 1 mL dan ditambahkan beberapa tetes larutan besi (III) Klorida 1%. Pengujian tanin diamati perubahan yang terjadi, adanya senyawa tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan.

**d. Uji Alkaloid**

Ekstrak daun kelor sebanyak 10 mg ditambah 10 ml HCl dan dipanaskan selama 2 menit sambil terus diaduk. Saring campuran ekstrak daun kelor dan HCl setelah dingin. Filtrat ditambahkan HCl 5 ml dan reagen wagner (yodium dan kalium iodida). akan menghasilkan warna kuning kecoklatan dan terdapat endapan berwarna kecoklatan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kemangi mengandung senyawa alkaloid (Kumalasari & Andiarna, 2020).

#### e. Uji Kuantitatif

Uji kuantitatif kadar flavonoid total dilakukan dengan menggunakan pembanding kuersetin. Flavonoid total dinyatakan sebagai kuersetin equivalen per 100 gram bahan (mg QE/100 g) (Pujiastuti et al., 2022). Uji kuantitatif dilakukan dengan cara:

##### 1) Pembuatan larutan induk kuersetin

Pembuatan larutan induk kuersetin dilakukan dengan cara menimbang secara seksama lebih kurang 10 mg kuersetin kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan etanol p.a sampai tanda batas sehingga dihasilkan konsentrasi 100 ppm.

##### 2) Pembuatan larutan baku kuersetin

Larutan baku kuersetin dibuat dari larutan induk kuersetin konsentrasi 100 ppm. Larutan induk kuersetin diambil 2,5 mL, 5 mL dan 7,5 mL, masing-masing ditambah dengan etanol p.a hingga 10 mL untuk konsentrasi 100 ppm langsung diambil 10 mL. Seri pengenceran larutan baku kuersetin dihasilkan dengan kadar berturut-turut 25, 50, 75 dan 100 ppm.

##### 3) Penentuan *operating time* (OT)

Larutan baku kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL  $AlCl_3$  2% dan 8 mL asam asetat 5%. Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum teoritis 414,5 nm hingga diperoleh absorbansi yang stabil. Larutan baku kuersetin diamati kurva hubungan absorbansi, waktu, dan ditentukan *operating time*.

4) Penentuan panjang gelombang serapan maksimum ( $\lambda$  maks)

Larutan baku kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL ditambahkan dengan 1 mL  $\text{AlCl}_3$  2% dan 8 mL asam asetat 5%. Larutan baku kuersetin diuji dengan spektrofotometri Uv-Vis pada panjang gelombang 370-450 nm. Hasil panjang gelombang maksimum tersebut digunakan untuk mengukur serapan dari sampel ekstrak buah labu kuning.

5) Penentuan kurva baku kuersetin

Larutan baku kuersetin dihasilkan dengan kadar berturut-turut 25, 50, 75 dan 100 ppm diambil sebanyak 1 mL tiap konsentrasi dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan dengan 1 mL  $\text{AlCl}_3$  2% dan 8 mL asam asetat 5% dan didiamkan selama 21 menit berdasarkan hasil *operating time*. Larutan baku kuersetin yang diperoleh selanjutnya melakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang yang telah diperoleh yaitu pada 414,5 nm.

6) Penentuan kadar flavonoid total

Penetapan kadar flavonoid total dimulai dengan membuat larutan uji dengan cara menimbang secara seksama lebih kurang 0,8 g ekstrak daun kelor, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan 25 mL etanol 70%. Campuran tersebut selanjutnya diekstraksi selama 30 menit dengan pengaduk magnetik. Campuran yang telah diaduk disaring ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan etanol 70% melalui penyaring sampai tanda batas. Prosedur pengujian kadar flavonoid total dengan mengambil 1 mL larutan uji ekstrak daun kelor ke dalam tabung reaksi secara terpisah. Setiap

larutan dalam tabung reaksi ditambahkan 1 mL AlCl<sub>3</sub> 2% dan 8 mL asam asetat 5%. Larutan dalam tabung reaksi dikocok dan didiamkan selama 21 menit pada suhu ruang sesuai *operating time*. Selanjutnya setiap larutan diukur serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum. Larutan blanko dibuat dengan cara mencampurkan 1 mL AlCl<sub>3</sub> 2% dan 8 mL asam asetat 5% hingga homogen. Pengukuran panjang gelombang blanko dilakukan dengan cara yang sama. Penentuan nilai flavonoid total dihitung berdasarkan rumus (Mukhriani et al., 2019) :

$$\text{Flavonoid total} = \frac{c \cdot v \cdot fp}{g}$$

Ket :

c = konsentrasi sampel

v = volume ekstrak yang digunakan

fp = faktor pengenceran

g = berat sampel

## 5. Formulasi *Handbody Lotion*

Formulasi yang digunakan dalam pembuatan *handbody lotion* ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) sebagai berikut:

**Tabel 3. 1 Formulasi Sediaan *Handbody Lotion* (A. S. Ulandari & Sugihartini, 2020)**

Nama bahan	Kegunaan	Basis lotion(g)	F1 (g)	F2(g)	F3(g)
<b>Ekstrak daun kelor</b>	Zat aktif	-	1	3	5
<b>Asam stearate</b>	Emulgator	7	7	7	7
<b>Paraffin cair</b>	Emolient	3	3	3	3
<b>Setil alcohol</b>	Emulgator	5	5	5	5
<b>Metil paraben</b>	Preservative	0,15	0,15	0,15	0,15

<b>Profil paraben</b>	Preservative	0,15	0,15	0,15	0,15
<b>Gliserin</b>	Humektan	5	5	5	5
<b>Trietanoalamin</b>	Zat alkali	2	2	2	2
<b>Aquadest</b>	Solvent	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

Ket:

Basis handbody lotion :

F1 : Sediaan mengandung ekstrak daun kelor 1 g

F2 : Sediaan mengandung ekstrak daun kelor 3 g

F3 : Sediaan mengandung ekstrak daun kelor 5 g

## 6. Pembuatan *handbody lotion* ekstrak daun kelor

*Lotion* ekstrak daun kelor dibuat pada tiga formulasi yaitu F1, F2, dan F3 dengan perbandingan konsentrasi ekstrak daun kelor yaitu 1g:3g:5g. Tipe *lotion* adalah minyak dalam air (O/W). *Handbody lotion* dibuat dengan cara menggunakan dua fase secara terpisah yaitu fase minyak (asam stearat, setil alkohol, parafin cair dan propil paraben) dan fase air (gliserin, metil paraben, TEA dan aqua destilata). Fase minyak ditambahkan ke dalam fase air sambil terus diaduk. Ekstrak daun kelor ditambahkan ke dalam basis lotion kemudian diaduk hingga homogen (Subaidah et al., 2020).

## 7. Stabilitas Fisik

### a. Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan cara mengamati secara visual terhadap bentuk, warna, dan bau sediaan.

### b. Uji pH

Kertas indikator pH dicelupkan ke dalam lotion dan diamati pH-nya. Syarat mutu pH standar pelembab kulit menurut SNI 16-4399-1996 yaitu berkisar antara 4,0-8,0 (Rahayu, 2016).

**c. Uji Homogenitas**

Uji homogenitas dilakukan pengamatan sediaan lotion dibuktikan pada obyek glass tidak terasa adanya bahan padat atau butiran-butiran kasar, hal ini menunjukkan pada saat proses pencampuran sudah baik

**d. Uji Viskositas**

Uji viskositas dilakukan menggunakan viscometer Brookfield LV DV2T (Natalia Lumetut, 2020). Sediaan dimasukkan ke dalam cup dan dipasang spindle. Rotor dijalankan dengan kecepatan 30 rpm selama 3 menit. Rentang nilai kisaran viskositas yang baik disyaratkan oleh SNI 16-4399-1996 yaitu 2000-50000 Cp (centipoise) (Rahayu, 2016).

**e. Uji Daya Lekat**

Sebanyak 0,5 g lotion diletakkan diatas objek gelas dengan luas tertentu. Kemudian ditutup objek gelas lain, ditekan dengan menggunakan beban seberat 1 kg selama 5 menit. Objek gelas dipasang pada alat uji, dilepaskan dengan beban seberat 80 g dan dicatat waktu yang diperlukan untuk memisahkan kedua objek tersebut (A. S. Ulandari & Sugihartini, 2020).

**f. Uji Daya Sebar**

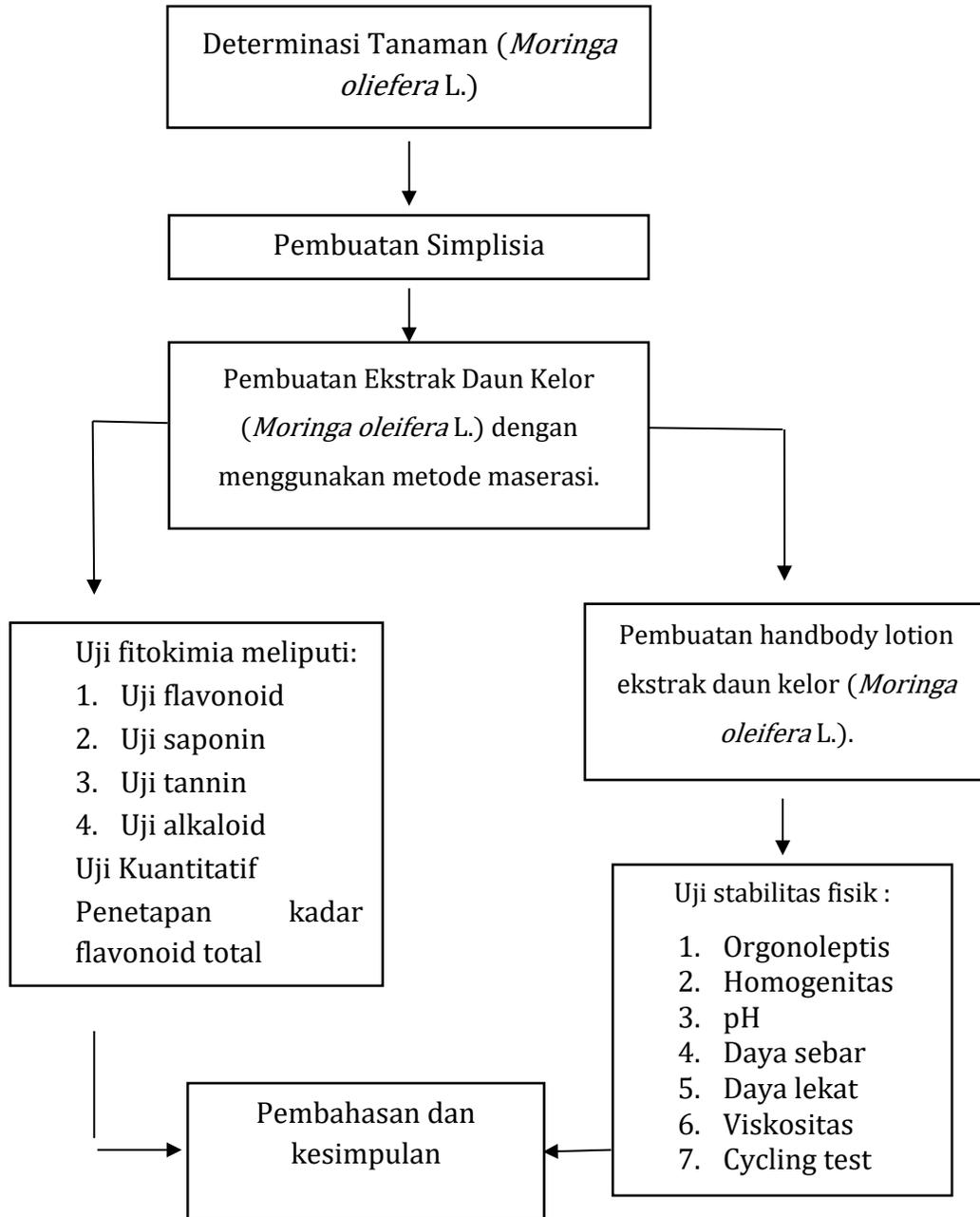
Sebanyak 0,5 g sediaan diletakkan diatas kaca bulat berskala kemudian ditutup dengan menggunakan kaca bulat yang telah ditimbang dan diketahui bobotnya selama 5 menit serta dicatat diameter penyebarannya. Beban seberat 50

g, 100 g, 150 g, 200 g, 250 g ditambahkan secara bergantian selama 1 menit dan dicatat diameter penyebarannya (A. S. Ulandari & Sugihartini, 2020).

**g. Uji *Cycling test***

Uji stabilitas dilakukan dengan metode *cycling test* sebanyak 12 hari (6 siklus). Sediaan lotion disimpan pada suhu dingin 4°C selama 24 jam lalu dikeluarkan dan ditempatkan pada suhu 40°C selama 24 jam, proses ini dihitung 1 siklus. Pengujian dilakukan pada siklus awal dan akhir (Zamzam & Indawati, 2020).

**Proses penelitian skematis**



**Bagan 3. 1 Proses penelitian skematis**

## G. Analisis Data

Dalam penelitian ini dilakukan analisa deskriptif data yang diperoleh yakni hasil uji *Cycling test* meliputi pengamatan organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar dan daya lekat, viskositas. Data hasil uji kemudian dibandingkan dengan syarat fisik sediaan lotion yang baik yaitu Uji organoleptis dilakukan dengan cara melakukan pengamatan secara visual terhadap sediaan meliputi warna, bau, konsistensi dan homogenitas sediaan. maka dilakukan stabilitas sifat fisik lotion dengan variasi konsentrasi ekstrak daun kelor. Data kondisi awal dan kondisi setelah pengujian *cycling test* lalu dilakukan pengujian beda melalui SPSS untuk melihat pada bagian homogenitas, normalitas serta *one-way Anova*. Penelitian ini akan memberikan informasi tentang konsentrasi ekstrak daun kelor dalam lotion yang memenuhi syarat sediaan topikal yang baik.