

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari–Mei 2024 di Laboratorium Teknologi Farmasi Program Studi Farmasi-S1 Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Bhamada Slawi.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat Penelitian**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah gelas ukur (Pyrex), *rotary evaporator* (Biobase), erlenmeyer (Pyrex), pH meter, bejana maserasi, neraca analitik (Ohaus), waterbath, blender, pipet tetes, sendok tanduk, gelas beaker (Pyrex), mortir, stamper, batang pengaduk (Pyrex), cawan petri, labu ukur (Pyrex), oven (Getra), tabung reaksi (Pyrex), kaca transparan, sudip, dan kompor listrik (Maspion).

##### **3.2.2 Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun mangrove, kulit singkong yang diperoleh dari Desa Randusanga, Kabupaten Brebes, gliserin, trietanolamin, white oil, asam stearate, setil alkohol, metil paraben, oleum rosae, dan aquadest.

#### **3.3 Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian ini menggunakan penelitian eksperimental.

##### **1. Variabel Terikat**

Variabel terikat merupakan variable yang tergantung pada variabel

lainnya. Variable terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak daun mangrove dan ekstrak kulit singkong.

## 2. Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang tidak tergantung pada variabel lainnya. Variable bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan *body lotion* kombinasi ekstrak mangrove dan ekstrak kulit singkong.

## 3. Variabel Terkontrol

Variabel terkontrol adalah variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan sehingga pengaruh variabel terikat tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti (Khasanah, 2019). Variable terkontrol yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode pembuatan ekstrak dan metode pembuatan sediaan *body lotion*.

### 3.4 Prosedur penelitian

#### 3.4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan untuk memastikan kebenaran identitas tanaman yang akan digunakan serta untuk menghindari kesalahan dalam pengambilan bahan. Determinasi dilakukan di laboratorium Farmasi Bahan Alam, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Bhamada Slawi.

#### 3.4.2 Pembuatan Serbuk simplisia

##### 3.4.2.1 Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Mangrove

Daun mangrove diambil dari desa Randusanga Kab. Brebes. Daun mangrove muda yang telah dipetik dibersihkan terlebih dahulu dengan cara dicuci menggunakan air mengalir

kemudian ditiriskan. Daun dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 38°C. Daun yang sudah kering diremas kecil-kecil kemudian dihaluskan dengan cara diblender dan diayak menggunakan ayakan no. 18 mesh untuk memperoleh simplisia daun mangrove muda yang lebih halus (Sulistiyani, Ridlo, dan Faoziyah, 2017).

#### **3.4.2.2 Pembuatan Serbuk Simplisia Kulit Singkong**

Kulit singkong yang didapatkan dari Desa Randusanga Kecamatan Brebes. Kulit singkong disortasi basah, dicuci menggunakan air mengalir, dipotong, dikeringkan menggunakan lemari pengering pada suhu 38°C dan diserbukkan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan no 18 mesh (Asiah, Mulkiya, dan Syafnir, 2019).

### **3.4.3 Pembuatan Ekstrak**

#### **3.4.3.1 Pembuatan Ekstrak Daun Mangrove**

Serbuk simplisia 500 gram direndam menggunakan etanol 96 % sebanyak 3500 mL selama 3 x 24 jam dengan sesekali diaduk. Ampas dan filtrat dipisahkan dengan menggunakan kain flanel kemudian disaring menggunakan kertas saring sampai jernih. Ekstrak cair diuapkan dengan menggunakan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak kental. Hasil ekstraksi kemudian dihitung rendemennya (Sulistiyani, Ridlo, dan Faoziyah, 2017). Rendemen dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot total ekstrak}}{\text{bobot total simplisia}} \times 100\%$$

### **3.4.3.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Singkong**

Sebanyak 500 gram simplisia direndam dalam 2500 mL etanol 96% sampai simplisia terendam semua, kemudian dimaserasi selama 3 hari dengan sesekali diaduk. Saring maserat menggunakan kain flanel dan kertas saring kemudian hasil maserat yang didapat dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai didapat ekstrak kental (Ratna, Rahmatullah, dan Rofiqoh, 2020).

## **3.4.4 Skrining Fitokimia**

### **3.4.4.1 Uji Flavonoid**

Sebanyak 0,5 g ekstrak daun mangrove dan kulit singkong masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 mL etanol dan dipanaskan selama 5 menit dalam tabung reaksi. Setelah dipanaskan, ditambahkan 10 tetes asam klorida (HCl) pekat. Kemudian ditambahkan 0,2 g serbuk magnesium (Mg). Adanya flavonoid ditunjukkan oleh timbulnya warna merah (Manopo, Fatimawali, dan Datu 2023).

### **3.4.4.2 Uji Alkaloid**

Sejumlah 2 mL ekstrak ditambahkan 2 mL HCl dan 4 mL metanol dipanaskan selama 5 menit kemudian didinginkan dan disaring. 1 mL filtrat ditambahkan 2 tetes reagen mayer. Hasil Positif ditandai terbentuknya endapan putih (Sulasiyah, Sarjono, dan Aminin, 2018). Sejumlah 0,5 gram Ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi. Dilarutkan dengan 2 mL etanol 96%.

Ditambahkan 1 mL HCl 2 N. Ditambahkan 2-3 tetes reagen wagner. Hasil positif terbentuk endapan jingga hingga cokelat (Reiza, Rijai, dan Mahmudah, 2019).

#### **3.4.4.3 Uji Tanin**

Sebanyak 0,5 g ekstrak daun mangrove dan kulit singkong masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan dengan 10 mL air panas, kemudian ditetesi besi (III) klorida ( $\text{FeCl}_3$ ), keberadaan tanin dalam sampel ditandai dengan munculnya warna hijau kehitaman (Manopo, Fatimawali, dan Datu, 2023).

#### **3.4.4.4 Uji Saponin**

Sebanyak 0,5 g ekstrak daun mangrove dan kulit singkong masing-masing ditambahkan dengan 10 mL akuades kemudian dikocok selama kurang lebih 1 menit. Selanjutnya didiamkan selama 10 menit dan diamati buih atau busa yang terbentuk. Keberadaan senyawa saponin dalam sampel ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil selama 10 menit (Manopo, Fatimawali, dan Datu 2023).

### **3.4.5 Standarisasi Ekstrak**

#### **3.4.5.1 Uji Standarisasi Spesifik**

##### **1. Uji Organoleptik**

Uji organoleptik terhadap ekstrak dilakukan dengan cara yaitu: mencium bau dari ekstrak, mengetahui rasa ekstrak, melihat warna ekstrak dan melihat bentuk ekstrak (Depkes RI, 2000).

## 2. Penetapan Kadar Sari Larut Air

Sebanyak 5 g serbuk simplisia yang telah dikeringkan dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml air-kloroform (2,5 ml kloroform dalam 1 liter) menggunakan labu erlenmeyer bertutup sambil dikocok sesekali selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam lalu disaring, 20 ml filtrat dipipet, diuapkan sampai kering dalam cawan penguap yang telah ditara dan dipanaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap. Kadar sari yang larut dalam air dihitung dalam persen terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Sari & Mambang, 2022). Kadar sari larut air dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar sari larut air} = \frac{a - b}{c} \times 100\%$$

Keterangan:

a = Berat krus + sari

b = Berat krus kosong

c = Berat simplisia

## 3. Penetapan Kadar Sari Larut Etanol

Sebanyak 5 g serbuk yang telah dikeringkan dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml etanol 96 % menggunakan labu Erlenmeyer bertutup sambil dikocok sesekali selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam. Disaring, 20 ml filtrat dipipet, diuapkan sampai kering dalam cawan penguap yang telah ditara dan dipanaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap. Kadar sari yang larut dalam etanol dihitung dalam

persen terhadap bahan yang telah di udara (Sari & Mambang, 2022). Kadar sari larut etanol dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar sari larut air} = \frac{a - b}{c} \times 100\%$$

Keterangan:

a = Berat krus + sari

b = Berat krus kosong

c = Berat simplisia

### 3.4.5.2 Standarisasi Ekstrak Non Spesifik

#### 1. Uji Susut Pengerinan

Satu gram ekstrak ditimbang dalam cawan yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C selama 30 menit dan ditimbang. Ratakan dengan menggoyangkan hingga merupakan lapisan setebal (5-10 mm). Lalu dikeringkan pada suhu penetapan hingga bobot tetap. Buka tutupnya, biarkan cawan dalam desikator hingga suhu kamar. Kemudian dicatat bobot tetap yang diperoleh (Depkes RI, 2000). Persentase susut pengerinan dihitung dengan rumus:

$$\text{Susut pengerinan} = \frac{\text{bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{bobot awal}} \times 100\%$$

#### 2. Uji Kadar Air

Uji kadar air dilakukan dengan menggunakan alat bernama *moisture analyzer*, caranya dengan menghidupkan alat dan dinolkan angkanya. Kemudian ambil sebanyak 1 g Ekstrak dan diratakan di atas cawan aluminium. Selanjutnya alat ditutup dan ditunggu hingga memberikan tanda. Angka

yang muncul pada alat dapat dicatat dan diketahui kadar air Ekstrak (Maharisti, Wasnah, Slamet, dan Rahmasari, 2022).

### 3. Uji Kadar Abu Total

Satu gram ekstrak ditimbang dan dimasukkan dalam krus silikat yang sebelumnya telah dipijarkan dan ditimbang. Kemudian ekstrak dipijar dengan menggunakan tanur secara perlahan-lahan hingga arang habis. Kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang hingga bobot tetap (Depkes RI, 2000). Lalu dihitung kadar abu total yang dinyatakan dalam % (b/b) dengan rumus:

$$\text{Kadar abu total} = \frac{\text{bobot abu (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\%$$

### 4. Uji Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu yang diperoleh dari penetapan kadar abu total dididihkan dengan 25 mL asam sulfat encer selama 5 menit. Kemudian dikumpulkan bagian yang tidak larut asam. Lalu disaring dengan kertas saring bebas abu dan residunya dibilas dengan air panas. Abu yang tersaring dan kertas saringnya dimasukkan kembali ke dalam krus silikat yang sama. Setelah itu, ekstrak dipijar dengan menggunakan tanur secara perlahan-lahan hingga bobot tetap dan ditimbang (Depkes RI, 2000). Penetapan kadar abu tidak larut asam dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kadar abu tidak larut asam} = \frac{\text{bobot abu (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\%$$

#### 5. Uji Bobot Jenis

Penetapan bobot jenis menggunakan ekstrak yang sudah diencerkan pada konsentrasi 5%. Piknometer ditimbang dalam keadaan kosong. Selanjutnya piknometer diisi penuh dengan air dan ditimbang, sehingga kerapatan air ditetapkan. Dengan cara yang sama, ditetapkan juga kerapatan ekstrak. Kemudian dilakukan perhitungan dengan rumus:

$$\text{Bobot jenis} = \frac{W3 - W1}{W2 - W1}$$

Keterangan:

W1 : Bobot piknometer kosong

W2 : Bobot piknometer + aquadest

W3 : Bobot piknometer + ekstrak

#### 6. Uji Cemar Mikroba

Ekstrak sebanyak 1 g dilarutkan dalam 10 mL pengencer yaitu larutan NaCl, dikocok hingga homogen didapatkan pengenceran 10-1. Tabung sebanyak 3 buah disiapkan, lalu 9 mL pengencer dimasukkan pada masing-masing tabung. Pengenceran 10-1 dipipet sebanyak 1 mL ke dalam tabung pertama, kocok hingga homogen sehingga pengenceran 10-2 didapatkan, selanjutnya pengenceran 10-3 dan 10-4 dilanjutkan (Utami, Umar, Syahrani, dan Kadullah, 2017).

#### 7. Uji Angka Lempeng Total

Tiap pengenceran dipipet sebanyak 1 mL dengan pipet steril ke dalam masing-masing cawan petri, kemudian tuang 15 mL media NA (Nutrien Agar) yang telah dicairkan pada suhu 45°C ke dalam tiap cawan petri, lalu digoyang agar suspensi tersebar merata. Setelah media memadat, cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi terbalik. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung dan dikalikan dengan faktor pengenceran. Replikasi dilakukan sebanyak dua kali dan dilakukan uji blangko. Persyaratan menurut BPOM RI (2014) cemaran bakteri  $\leq 10.000$  koloni/g (Utami, Umar, Syahrani, dan Kadullah, 2017).

#### 8. Uji Angka Kapang Khamir

Tiap pengenceran dipipet sebanyak 1 mL dengan pipet steril ke dalam masing-masing cawan petri yang berisi 15 mL medium PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang masih cair pada suhu 45°C lalu digoyang agar suspensi tersebar merata, lalu diinkubasi pada suhu 25°C selama 3 hari. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung dan dikalikan dengan faktor pengenceran. Replikasi dilakukan sebanyak dua kali dan dilakukan uji blangko. Persyaratan menurut BPOM RI (2014) cemaran bakteri  $\leq 1.000$  koloni/g (Utami, Umar, Syahrani, dan Kadullah, 2017).

### 3.4.6 Pembuatan *Body Lotion*

*Body lotion* antioksidan di buat dengan 4 formula dimana formula 1, 2, dan 3 menggunakan ekstrak daun mangrove dan kulit singkong dengan kosentrasi yang berbeda kemudian formula 0 tanpa penambahan ekstrak daun mangrove dan kulit singkong. Berikut formula yang di gunakan:

**Tabel 3.1 Formulasi *Body Lotion* Antioksidan**

Bahan	Formulasi (%)				Fungsi	Literatur	Range
	F 0	F I	F II	F III			
Ekstrak daun mangrove	-	2	3	5	Zat aktif	(Ridlo et al., 2017)	-
Ekstrak kulit singkong	-	4	3	1	Zat aktif	(Ratna, Rahmatullah, Rofiqoh, dan 2020)	-
Gliserin	5	5	5	5	Humektan	(Rowe, Sheskey, dan Quenn, 2009)	≤ 30%
Trietanolamin	0,3	0,3	0,3	0,3	Pengemulsi	(Rowe, Sheskey, dan Quenn, 2009)	0,02-0,3%
White oil	5	5	5	5	Emolien	(Rowe, Sheskey, dan Quenn, 2009)	1,0-20,0%
Asam stearate	3	3	3	3	Pengemulsi	(Rowe, Sheskey, dan Quenn, 2009)	1-20%
Setil alcohol	2	2	2	2	Pengemulsi	(Rowe, Sheskey, dan Quenn, 2009)	2-5%
Metil paraben	0,03	0,03	0,03	0,03	Pengawet	(Rowe, Sheskey, dan Quenn, 2009)	0,02-0,03%
Oleum rosae	0,1	0,1	0,1	0,1	Pewangi	(Barel, Paye, dan Mibach, 2001)	0,05-0,10%
Aquadest ad	100 mL	100 mL	100 mL	100 mL	Pelarut	(Rowe, Sheskey, dan Quenn, 2009)	-

Keterangan:

- F0 : (Formulasi 0) tidak menggunakan ekstrak daun mangrove dan kulit singkong  
 FI : (Formulasi 1) dengan konsentrasi ekstrak daun mangrove 2% dan ekstrak kulit singkong 4%  
 FII : (Formulasi 2) dengan konsentasi ekstrak daun mangrove 3% dan ekstrak kulit singkong 3%  
 FIII : (Formulasi 3) dengan konsentasi ekstrak daun mangrove 5% dan ekstrak kulit singkong 1%

Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan kemudian ditimbang semua bahan, setiap bahan dilebihkan 10% untuk mencegah kekurangan bobotnya. Kemudian dipisahkan bahan menjadi dua bagian yaitu fase air (gliserin, metil paraben dan aquadest) dan fase minyak (asam stearat, *white oil*, dan setil alkohol). Selanjutnya dimasukkan masing-masing fase tersebut ke dalam cawan yang berbeda. Dipanaskan kedua fase tersebut pada kompor lalu diaduk campuran bahan tersebut. Dicampurkan kedua fase tersebut sampai homogen. Lalu ditambahkan trietanolamin, oleum rosae dan zat aktif, diaduk sampai homogen dengan homogenizer (Ratna, Rahmatullah, dan Rofiqoh, 2020).

### **3.4.7 Uji Fisik Sediaan**

#### **3.4.7.1 Uji Organoleptis**

Uji organoleptis dilakukan dengan menggunakan panca indera dalam mendeskripsikan bentuk, bau, warna, dan rasa (Fadillah, Burhanuddin, dan Deby 2020).

#### **3.4.7.2 Uji Homogenitas**

Uji homogenitas dilakukan dengan cara diambil masing-masing formula secukupnya kemudian dioleskan pada plat kaca diraba dan digosokkan, massa *body lotion* harus menunjukkan susunan homogen yaitu tidak terasa adanya bahan padat pada kaca petri tidak terasa adanya bahan padat pada cawan petri. Sediaan dikatakan homogen apabila tidak adanya agregasi partikel sekunder, penghalusan partikel primer yang besar, serta distribusi yang merata dari fase terdispersi (Voight, 1995).

### 3.4.7.3 Uji PH

Uji pH dilakukan dengan menggunakan kertas indikator pH yang dicelupkan ke dalam *body lotion* dan diamati pH-nya. Menurut SNI 16-4399-1996 persyaratan pH sediaan *hand body lotion* yaitu 4,5-8,0. (Diba, Afra, dan Tavita, 2023).

### 3.4.7.4 Uji Daya Sebar

Pengujian ini dilakukan dengan meletakkan ditengah kaca transparan sebanyak 0,5 gram. Kaca transparan laian diletakkan diatasnya kemudian diberikan pemberat sebesar 150 gram, setelah 1 menit didiamkan, diameter penyebaranya dicatat (Liandhajani, Fitria, dan Ratu, 2022). Berdasarkan (SNI 16- 4399-1996) standart daya sebar *body lotion* berdiameter antara 5,4-6,4 (Damayanti, Meylina, dan Rusli, 2017).

### 3.4.7.5 Uji Daya Lekat

Uji daya lekat berguna untuk mengevaluasi sejauh mana sediaan *body lotion* dapat menempel pada kulit sehingga efek terapi yang diharapkan dapat tercapai bila memiliki daya lekat yang kuat akan menghambat pernafasan kulit dan apabila daya lekat yang terlalu lemah akan mempengaruhi efek terapi (Voight,1995). Sampel sebanyak 0,25 gram diletakkan diantara 2 gelas objek pada alat uji daya lekat, kemudian ditekan beban 1 kg selama 5 menit, beban diangkat dan diberi beban 80 gram pada alat dan dicatat waktu pelepasannya. Daya lekat dikatakan baik apa bila lebih dari 4 detik (Slamet & Wisnu, 2020).

### **3.4.8 Uji Aktivitas Antioksidan *Body Lotion***

#### **3.4.8.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM**

Ditimbang serbuk DPPH (BM 394,32 g/mol) 4 mg, dilarutkan dengan sedikit metanol p.a kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, lalu dicukupkan volumenya sampai tanda batas dengan metanol p.a dan dihomogenkan (DPPH 0,4 mM) (Rahmatika, 2017).

#### **3.4.8.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH 0,4 mM**

Diambil 2 mL larutan DPPH 0,4 mM, dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan dengan metanol p.a sampai tanda batas, dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit pada suhu 37°C. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 400 - 800 nm dengan menggunakan spektrofotometer *visible* (Rahmatika, 2017).

#### **3.4.8.3 Penentuan *Operating Time* (OT)**

Larutan DPPH 0,4 mM dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 3 mL. Diukur waktu stabilnya pada menit 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, dan 60 terhadap panjang gelombang maksimum yang didapatkan dari penentuan Panjang gelombang sebelumnya. Menit yang menghasilkan absorbansi radikal bebas DPPH paling stabil merupakan *operating time* (Kiromah, Husein, dan Rahayu, 2021).

#### **3.4.8.4 Pembuatan Larutan Blanko**

Diambil 2 mL larutan DPPH 0,4 mM, dimasukkan dalam labu ukur 10mL, ditambahkan dengan metanol p.a sampai tanda batas, kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 27,5 menit

pada suhu 37<sup>0</sup>C. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 514 nm (Rahmatika, 2017).

#### **3.4.8.5 Pembuatan Larutan Pembanding Vitamin C sebagai Kontrol Positif**

Ditimbang 10 mg vitamin C, dilarutkan dengan sedikit metanol p.a lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, volume dicukupkan dengan metanol p.a sampai tanda batas dan dihomogenkan (1000 ppm). Kemudian dilakukan pengenceran larutan induk (ppm) menjadi 1, 2, 3, 4 dan 5 ppm. Larutan induk dipipet masing-masing 10, 20, 30, 40 dan 50  $\mu$ L, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,4 mM ke dalam labu ukur tersebut, dicukupkan volumenya sampai tanda batas dengan metanol p.a dan dihomogenkan (Rahmatika, 2017).

Larutan uji dari masing-masing konsentrasi didiamkan selama selama 27,5 menit pada suhu 37<sup>0</sup>C pada ruang gelap dan diukur serapannya pada panjang gelombang 514 nm dengan menggunakan spektrofotometer *visible* (Rahmatika, 2017)

#### **3.4.8.6 Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Daun Mangrove dan Kulit Singkong**

Ditimbang 1,5 g ekstrak dilarutkan dengan sedikit metanol p.a lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, volume dicukupkan sampai tanda batas dan dihomogenkan. Kemudian dilakukan pengenceran larutan induk menjadi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm (Rahmatika, 2017).

Larutan induk dipipet masing-masing 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, dan, 0,5 mL, dimasukkan dalam labu ukur 10 ml. Kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,4 mM ke dalam labu ukur tersebut, dicukupkan volumenya sampai tanda batas dengan metanol p.a dan dihomogenkan (Rahmatika, 2017).

Larutan uji dari masing-masing konsentrasi didiamkan selama selama 27,5 menit pada suhu 37°C pada ruang gelap dan diukur serapannya pada panjang gelombang 514 nm dengan menggunakan spektrofotometer *visible* (Rahmatika, 2017).

#### **3.4.8.7 Pembuatan Larutan Uji *Body Lotion* Kombinasi Ekstrak Daun Mangrove dan Kuit Singkong**

Ditimbang 1,5 g sediaan *body lotion* dilarutkan dengan sedikit metanol p.a lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, volume dicukupkan sampai tanda batas dan dihomogenkan. Kemudian dilakukan pengenceran larutan induk menjadi 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm (Rahmatika, 2017).

Larutan induk dipipet masing-masing 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, dan, 0,5 mL, dimasukkan dalam labu ukur 10 ml. Kemudian ditambahkan 2 mL larutan DPPH 0,4 mM ke dalam labu ukur tersebut, dicukupkan volumenya sampai tanda batas dengan metanol p.a dan dihomogenkan (Rahmatika, 2017).

Larutan uji dari masing-masing konsentrasi didiamkan selama selama 27,5 menit pada suhu 37°C pada ruang gelap dan diukur serapannya pada panjang gelombang 514 nm dengan menggunakan spektrofotometer *visible* (Rahmatika, 2017).

#### 3.4.8.8 Perhitungan Nilai IC<sub>50</sub>

Persentase inhibisi adalah persentase yang menunjukkan aktivitas radikal tersebut. Perhitungan nilai % inhibisi dapat menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Konsentrasi sampel dan % inhibisi diplotkan masing-masing pada sumbu x dan y untuk mendapatkan persamaan regresi linear. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC<sub>50</sub>. Nilai IC<sub>50</sub> merupakan konsentrasi efektif yang dibutuhkan untuk mereduksi 50% dari total DPPH. Dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan nilai 50 sebagai sumbu y (Rahmatika, 2017).

### 3.5 Analisis Data

Metode analisa data pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode ANOVA (*Analysis of Variance*) satu arah, yang bertujuan untuk mengetahui apakah ada pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak daun mangrove dan kulit singkong yang digunakan pada masing- masing formula *body lotion* terhadap aktivitas antioksidan.