

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi merupakan objek yang diteliti, Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan *lotion* antioksidan.

Sampel merupakan komponen kecil yang termasuk dalam populasi suatu penelitian. Penelitian ini menggunakan sampel berupa sediaan *lotion* ekstrak kulit manggis dengan proporsi asam stearat sebesar 3%, 4%, 4% dan trietanolamin dengan proporsi sebesar 1%, 1,5%, 2%.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama penelitian ini yaitu sediaan *lotion* ekstrak kulit manggis dengan proporsi asam stearat sebesar 3%, 4%, 4% dan trietanolamin dengan proporsi sebesar 1%, 1,5%, 2%, dengan pengujian mutu fisik *lotion*, serta pengujian DPPH untuk mengetahui kemampuan sediaan sebagai antioksidan.

2. Klasifikasi variabel utama

Pada penelitian ini terdapat tiga variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung, variabel terkontrol.

Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung dengan dilakukan variasi. Penelitian ini menggunakan variabel bebas berupa variasi konsentrasi asam stearat dengan proporsi sebesar 3%, 4%, 4% dan TEA dengan proporsi sebesar 1%, 1,5%, 2% pada formulasi sediaan *lotion* ekstrak kulit manggis.

Variabel tergantung merupakan suatu bentuk akibat dilakukannya variasi oleh variabel utama. Penelitian ini menggunakan variabel tergantung berupa uji mutu fisik *lotion* ekstrak kulit manggis, yaitu terdiri dari : uji organoleptis, uji homogenitas, uji tipe emulsi, uji pH, uji viskositas, *cycling test*, uji daya sebar, uji daya lekat, serta dilakukan uji aktivitas antioksidan.

Variabel terkontrol merupakan variabel yang memberi pengaruh terhadap variabel tergantung maka harus dilakukan secara tepat, seperti prosedur formulasi sediaan *lotion* serta proses penelitian.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, serbuk kulit manggis adalah serbuk yang di peroleh dari B2P2TOT yang digunakan untuk proses pengekstraksian.

Kedua, ekstrak kulit manggis adalah hasil dari maserasi kulit manggis setelah dihaluskan. Maserasi dilakukan selama 24 jam hari menggunakan etanol 96%, kemudian selanjutnya dilakukan penyaringan dan pemekatan.

Ketiga, variasi konsentrasi asam stearat dengan proporsi sebesar 3%, 4%, 4% dan TEA dengan proporsi sebesar 1%, 1,5%, 2% pada formulasi sediaan *lotion* ekstrak kulit manggis.

Keempat, uji mutu fisik sediaan *lotion* kulit manggis adalah organoleptis, uji homogenitas, uji tipe emulsi, uji pH, uji viskositas, *cycling test*, uji daya sebar, uji daya lekat.

Kelima, pengujian aktivitas antioksidan sediaan *lotion* adalah pengujian DPPH untuk mengetahui tingkat antioksidan sediaan *lotion* dari kulit manggis.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan adalah timbangan analitik, oven, spektrofotometer UV-Vis *Shimadzu*, labu tentukur (*pyrex*), *rotary evaporator*, alat maserasi, viscometer *brookfield*, pH meter, Erlenmeyer (*pyrex*), tabung reaksi (*pyrex*), gelas ukur(*pyrex*), *Beaker glass* (*pyrex*), mortir, stamper, *moisture balance*, pipet tetes, batang pengaduk, sendok tanduk, cawan porselin, botol maserasi, ayakan mesh 60, *water bath*, pipet volume (*pyrex*), dan alat-alat yang menunjang penelitian ini.

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah kulit manggis, etanol 96%, aquadest, serbuk DPPH, asam stearat (*merck*), cetil alkohol (*merck*), paraffin cair (*merck*), glycerin (*merck*), trietanolamin (*merck*), asam benzoate (*merck*), dan parfum (*merck*), propilen glikol (*merck*), reagen mayer, reagen dragendorff, reagen bouchardat, serbuk magnesium, HCl pekat, asam asetat anhidrat, H₂SO₄pekat, metilen blue, FeCl 1%, spiritus.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Penetapan kebenaran sampel maka harus dilakukan determinasi pada kulit manggis yang akan digunakan untuk penelitian. Identifikasi

dilakukan dengan mengamati ciri morfologi kulit manggis dengan mendeskripsikan secara mendetail. Identifikasi tanaman dilakukan di unit laboratorium 5 morfologi sistematika tumbuhan Universitas Setia Budi.

2. Pengambilan bahan

Pengambilan buah manggis dilakukan pada buah yang masih segar. Buah manggis diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu (B2P2TOOT) Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah, Indonesia.

3. Pembuatan serbuk kulit buah manggis

Buah manggis yang sudah dikumpulkan disortasi basah dengan air mengalir sampai bersih dan ditiriskan, kemudian dipotong untuk memisahkan isi manggis dari kulitnya, kulit manggis dipotong-potong dan dijemur dibawah sinar matahari sampai mengering, kemudian dilakukan sortasi kering. Simplisia yang diperoleh kemudian dilakukan penyerbukan dengan cara diblender dan diayak dengan mesh nomor 60. Kemudian dihitung rendemen serbuk kulit manggis (Darmirani dan Delima, 2022).

$$\% \text{ rendemen serbuk} = \frac{\text{bobot serbuk (g)}}{\text{bobot kulit kering (g)}} \times 100\%$$

3.1 Pemeriksaan organoleptis. Pemeriksaan organoleptis dilakukan dengan cara dilihat dan diamati dengan indra, pemeriksaan yang dapat dilakukan dengan cara ini yaitu pengamatan pada bentuk, warna, bau, dan rasa (Ardianti, 2021).

3.2 Pemeriksaan susut pengeringan. Uji susut pengeringan pada alat *moisture balance* pada suhu 105°C. Pengukuran susut pengeringan dengan cara menimbang 2 g serbuk kulit buah manggis ke dalam alat *moisture balance*, kemudian nilai susut pengeringan dilihat pada alat (Kemenkes, 2017).

4. Pembuatan ekstrak etanol kulit buah manggis

Ekstrak kulit manggis dibuat dengan cara metode maserasi. Pelarut yang digunakan dalam proses penyarian adalah etanol 96%. Serbuk kulit manggis sebanyak 700 g dimasukkan ke dalam botol maserator, kemudian ditambahkan etanol 96% sebanyak 7000 mL. Serbuk yang sudah dilarutkan, kemudian direndam selama 6 jam dan sesekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Setelah 24 jam direndam, kemudian disaring untuk memisahkan maserat dengan cara

menyaring filtrat menggunakan kain flanel. Sisa filtrat dimasukkan kembali ke dalam botol maserator untuk proses pengulangan pengujian yang dilakukan sekurang-kurangnya satu kali dengan etanol 96% sebanyak 3,500 mL dan direndam selama 1 hari, kemudian disaring kembali (Kemenkes RI, 2017).

$$\% \text{ rendemen serbuk} = \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh (g)}}{\text{bobot awal simplisia yang diperoleh (g)}} \times 100\%$$

Maserat yang sudah terkumpul, selanjutnya dilakukan penguapan dengan alat *rotary evaporator*, sampai diperoleh ekstrak kental. Hitung rendemen yang diperoleh. Syarat rendemen yaitu angka tidak kurang dari 8,2% (Kemenkes RI, 2017).

5. Pemeriksaan ekstrak kulit buah manggis

5.1 Pemeriksaan organoleptis. Pemeriksaan organoleptis dilakukan dengan cara dilihat dan diamati dengan indra, pemeriksaan yang dapat dilakukan dengan cara ini yaitu pengamatan pada bentuk, warna, bau, dan rasa (Ardianti, 2021).

5.2 Uji susut pengeringan. Uji susut pengeringan dilakukan dengan alat *moisture balance* pada suhu 105°C. Pengukuran susut pengeringan dengan cara menimbang 2 g ekstrak kulit buah manggis ke dalam alat *moisture balance*, kemudian nilai susut pengeringan dilihat pada alat (Kemenkes, 2017).

5.3 Pemeriksaan kadar air ekstrak kulit manggis secara gravimetri. Pengukuran kadar air dengan cara gravimetri, yaitu ditimbang 10 g ekstrak, selanjutnya dimasukkan ke dalam kurs yang sudah ditara. Kemudian dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 105°C tunggu selama 5 jam, setelah 5 jam kemudian ditimbang. Lakukan pengeringan selang waktu 1 jam secara berturut-turut dengan cara dimasukkan kembali kurs yang sudah dikeringkan tadi ke dalam oven selama 1 jam, setelah 1 jam selanjutnya ditimbang. Lakukan cara tersebut hingga memperoleh hasil penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 10,8% (Kemenkes RI, 2017).

6. Identifikasi kandungan kimia pada serbuk

6.1 Filtrat A. Sebanyak 1 g serbuk dimasukkan ke dalam Erlenmeyer kemudian ditambahkan dalam 100 mL aquadestillata dan didihkan selama 15 menit, kemudian disaring dan diperoleh filtrat A (Fransworth, 1966).

6.1.1 Fenolik dan Tanin. Sebanyak 5 mL filtrat A dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan besi (III) klorida (FeCl_3), jika mengandung fenolik maka hasil ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau, violet, biru sampai hitam, sedangkan hasil positif tanin ditandai dengan terbentuknya larutan menjadi biru kehitaman (tanin galat) atau hijau kehitaman (tanin katekol) (Fransworth, 1966).

6.1.2 Flavonoid. Metode yang digunakan adalah uji Sianidin/Shinoda/Shibata atau sering disebut dengan Willstatter. Sebanyak 5 mL filtrat A dimasukkan pada tabung reaksi dan ditambahkan serbuk Mg, HCl pekat dan amil alkohol. Kemudian setelah semuanya dicampur, selanjutnya dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Jika mengandung flavonoid ditandai dengan perubahan warna pada tabung yaitu warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol. Jingga sampai merah positif flavon, merah sampai merah tua positif flavonol, merah tua sampai merah keunguan positif flavanon (Fransworth, 1966).

6.2 Filtrat B. Ditimbang 5 g serbuk ditambahkan 20 mL n-heksan dan ditunggu selama 1 jam, kemudian disaring dan diperoleh filtrat B (Fransworth, 1966).

6.2.1 Steroid/Triterpenoid. 5 mL filtrat B diuapkan dalam cawan penguap. Kemudian setelah dipanaskan ditambahkan pereaksi *Liebermann-Burchard* yang berisi anhidrat asetat dan HCl pekat (2:1). Jika mengandung steroid ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi warna biru sampai hijau. Positif triterpenoid ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi warna merah sampai warna ungu (Fransworth, 1966).

6.2.2 Identifikasi alkaloid. 5 mL sampel dimasukkan ke tabung reaksi, pada tabung reaksi pertama ditambahkan reagen mayer sebanyak 2 tetes, kemudian pada tabung reaksi kedua ditambahkan reagen Bouchardat sebanyak 2 tetes. Jika mengandung alkaloid, pada tabung reaksi yang diberi reagen mayer akan menghasilkan endapan putih atau kuning, jika dengan reagen Bouchardat akan menghasilkan endapan berwarna coklat sampai hitam (Fransworth, 1966).

6.2.3 Identifikasi saponin. 5 mL sampel ditambahkan 2 tetes HCl_2N , kemudian digojok 10 detik. Kemudian selanjutnya diamkan selama 10 menit dan diamati busa yang terbentuk. Mengandung

saponin dalam sampel ditandai dengan terbentuknya buih atau busa yang stabil selama 10 menit (Fransworth, 1966).

7. Identifikasi kandungan kimia pada ekstrak

7.1 Filtrat A. Sebanyak 1 g ekstrak dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dilarutkan dengan etanol 96% hingga larut, kemudian ditambah dalam 100 mL air suling dan dididihkan selama 15 menit, kemudian disaring dan diperoleh filtrat A (Fransworth, 1966).

7.1.1 Fenolik dan Tanin. Sebanyak 5 mL filtrat A dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan besi (III) klorida (FeCl_3), jika mengandung fenolik maka hasil ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau, violet, biru sampai hitam, sedangkan hasil positif tanin ditandai dengan terbentuknya larutan menjadi biru kehitaman (tanin galat) atau hijau kehitaman (tanin katekol) (Fransworth, 1966).

7.1.2 Flavonoid. Metode yang digunakan adalah uji Sianidin/Shinoda/Shibata atau sering disebut dengan Willstatter. Sebanyak 5 mL filtrat A dimasukkan pada tabung reaksi dan ditambahkan serbuk Mg, HClpekat dan amil alkohol. Kemudian setelah semuanya dicampur, selanjutnya dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Jika mengandung flavonoid ditandai dengan perubahan warna pada tabung yaitu warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol. Jingga sampai merah positif flavon, merah sampai merah tua positif flavonol, merah tua sampai merah keunguan positif flavonon (Fransworth, 1966).

7.2 Filtrat B. Ditimbang 5 g ekstrak dilarutkan dengan etanol 96% hingga larut, kemudian ditambahkan 20 mL n-heksan dan ditunggu selama 1 jam, kemudian disaring dan diperoleh filtrat B (Fransworth, 1966).

7.2.1 Steroid/Triterpenoid. 5 mL filtrat B diuapkan dalam cawan penguap. Kemudian setelah dipanaskan ditambahkan pereaksi *Liebermann-Burchard* yang berisi anhidrat asetat dan HClpekat (2:1). Jika mengandung steroid ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi warna biru sampai hijau. Positif triterpenoid ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi warna merah sampai warna ungu (Fransworth, 1966).

7.2.2 Identifikasi alkaloid. 5 mL sampel dimasukkan ke tabung reaksi, pada tabung reaksi pertama ditambahkan reagen mayer sebanyak 2 tetes, kemudian pada tabung reaksi kedua ditambahkan

reagen Bouchardat sebanyak 2 tetes. Jika mengandung alkaloid, pada tabung reaksi yang diberi reagen mayer akan menghasilkan endapan putih atau kuning, jika dengan reagen Bouchardat akan menghasilkan endapan berwarna coklat sampai hitam (Fransworth, 1966).

7.2.3 Identifikasi saponin. 5 mL sampel ditambahkan 2 tetes HCl_2N , kemudian digojok 10 detik. Kemudian selanjutnya diamkan selama 10 menit dan diamati busa yang terbentuk. Mengandung saponin dalam sampel ditandai dengan terbentuknya buih atau busa yang stabil selama 10 menit (Fransworth, 1966).

7.3 Identifikasi bebas etanol. 1 ml ekstrak etanol kedalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 tetes H_2SO_4 dan 2 tetes asam asetat kemudian dipanaskan. Ekstrak dikatakan bebas etano bila tidak ada bau ester yang khas dari etanol (Tivani *et al*, 2021).

8. Rancangan formulasi lotion ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Formulasi *lotion* ekstrak kulit manggis mengacu pada penelitian Rizikiyan *et al* 2021. Dimana pada penelitian tersebut telah dikembangkan sediaan *lotion* dari ekstrak kulit manggis dan menghasilkan sediaan yang baik. Berikut formulasi *lotion* antioksidan dari kulit manggis.

Tabel 2. Formulasi sediaan *lotion* ekstrak kulit buah manggis (Rizikiyan, 2022)

Bahan	Konsentrasi %			
	K(-)	F1	F2	F3
Ekstrak kulit manggis	-	1,5	1,5	1,5
Asam stearat	4	3	4	4
Cetil alkohol	0,5	0,5	0,5	0,5
Paraffin cair	2	2	2	2
Propilen Glikol	1	1	1	1
Gliserin	2	2	2	2
TEA	2	1	1,5	2
Methyl Paraber	0,2	0,2	0,2	0,2
Propil Paraben	0,2	0,2	0,2	0,2
Oleum rosea	1 tetes	1 tetes	1 tetes	1 tetes
Aquadest	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

Keterangan:

Kontrol negatif : basis *lotion* tanpa penambahan ekstrak dengan asam stearat : TEA (4% : 2%)

F1 :*Lotion* ekstrak kulit manggis dengan asam stearat : TEA (3% : 1%)

F2 :*Lotion* ekstrak kulit manggis dengan asam stearat : TEA (4% : 1,5%)

F3 :*Lotion* ekstrak kulit manggis dengan asam stearat : TEA (4% : 2%)

9. Pembuatan sediaan lotion antioksidan

Pembuatan sediaan *lotion* yaitu dengan cara melakukan pencampuran bahan fase air dan fase minyak. Bahan fase minyak yaitu asam stearat, parafin cair, setil alkohol dan propil paraben, sedangkan bahan fase air terdiri dari aquadest, trietanolamin, gliserin, metil paraben, propilen glikol. Fase minyak dimasukkan ke dalam beaker glass, kemudian dilakukan peleburan menggunakan penangas air dengan suhu 65°C-75°C. Fase air dimasukkan ke dalam cawan penguap yang terpisah, kemudian dilakukan peleburan menggunakan penangas air dengan suhu 65°C-75°C. Pembentukan emulsi dilakukan dengan cara menghomogenkan bahan fase air ke dalam fase minyak, pencampuran dilakukan dengan alat *beaker glass* dengan cara diaduk hingga homogen. Selanjutnya ditambahkan ekstrak kulit manggis ke dalam campuran tersebut, diaduk hingga homogen. Terakhir ditambahkan parfum ke dalam sediaan *lotion*. Sediaan *lotion* dimasukkan ke dalam 3 wadah, yang pertama untuk uji mutu fisik, kedua uji antioksidan (Febrianto *et al.*, 2021).

Pembuatan *lotion* ekstrak kulit manggis dilakukan dengan cara yang sama pada variasi asam stearat dengan proporsi sebesar 3%, 4%, 4% dan TEA dengan proporsi sebesar 1%, 1,5%, 2%. Pembuatan *lotion* kontrol negatif tidak ditambahkan ekstrak kulit manggis.

10. Pengujian mutu fisik

Pengujian mutu fisik sediaan *lotion* dilakukan sebelum dan sesudah *cycling test*, yang artinya dilakukan pada hari ke-1 dan hari ke-12.

10.1 Uji Organoleptis. Pemeriksaan organoleptis dilakukan dengan cara dilihat dan diamati dengan indra, pemeriksaan yang dapat dilakukan dengan cara ini yaitu pengamatan pada bentuk, warna, bau dan adanya pemisahan fase dari sediaan *lotion* ekstrak kulit buah manggis (Rizikiyan, 2022).

10.2 Uji pH. Pengujian pH dilakukan dengan menggunakan alat pH meter yang dikalibrasi menggunakan pH 7. Diambil sediaan *lotion* sebanyak 10 g dimasukkan ke dalam beaker glass untuk dilakukan pengujian pH. Elektroda pH meter dicelupkan pada sediaan *lotion*, lalu ditekan tombol (*read*) pada keypad, proses pengukuran berlangsung, ditunggu sampai hasil muncul atau angka tetap. Dicatat hasil pembacaan skala, selanjutnya setelah selesai pengujian dikeluarkan elektroda dan bilas menggunakan aquades dan dikeringkan

menggunakan tisu bersih secara pelan-pelan agar elektroda tidak rusak (Zamzam dan Indawati, 2018). SNI 16-4399-1996, bahwa nilai pH produk pelembab kulit disyaratkan berkisar antara 4,5-8,0.

10.3 Uji homogenitas. Uji homogenitas untuk mengamati susunan partikel kasar atau ketidakhomogenan dari sediaan *lotion*. Pengujian dilakukan dengan diletakkan sedikit sampel di antara dua kaca objek, kemudian diamati jika terdapat butiran butiran kecil maka belum homogen. Uji homogenitas dilakukan pada setiap formulasi sediaan *lotion* (Rizikiyan, 2022).

10.4 Uji viskositas. Uji viskositas *lotion* dilakukan dengan menggunakan alat viskometer *brookfield*. Diambil sebanyak 100 g sediaan *lotion*, lalu dimasukkan ke alat, kemudian alat dinyalakan. Dicatat hasil nilai kekentalan *lotion* setelah jarum menunjukkan angka yang stabil. Pengujian viskositas diulangi sebanyak tiga kali untuk tiap formula (Voigt, 1994). Syarat nilai viskositas 2.000-50.000 cPs.

10.5 Uji daya lekat. Diambil sedikit sediaan *lotion*, Diletakkan diatas objek glass dan ditutup menggunakan objek glass satunya, ditambahkan beban diatas objek glass dengan beban 500 g selama 5 menit, kemudian dilepaskan beban dan dicatat waktunya hingga kedua objek terlepas. Diulangi cara diatas pada setiap formula masing-masing tiga kali (Voigt, 1994).

10.6 Uji daya sebar. Sediaan *lotion* sebanyak 0,5 g diletakkan di tengah kaca bundar, di atas kaca diberi anak timbang seberat 50 g, 100 g, 200 g sebagai beban dan didiamkan selama 1 menit, kemudian diameter *lotion* yang menyebar diukur panjang rata-rata diameter dari beberapa sisi, setelah itu dicatat diameter yang menyebar (Voigt, 1994). Rentang daya sebar sediaan topikal ditetapkan pada SNI 16-4399-1996 ialah 5-7 cm.

10.7 Uji tipe emulsi. Pengujian tipe emulsi dilakukan dengan cara 3 metode yaitu metode pengenceran, metode pewarnaan, metode konduktivitas listrik (Lachman, 1994).

10.7.1 Metode pengenceran *lotion*. Sediaan diambil sebanyak 1 g dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian diencerkan dengan aquadestilata. Hasilnya dapat dilihat dengan adanya penyatuan antara sediaan dengan air maka tipe emulsi pada sediaan adalah minyak dalam air begitupun sebaliknya (Lachman, 1994).

10.7.2 Metode pewarnaan *lotion*. Metode ini dilakukan dengan cara diberi pewarnaan menggunakan *methylene blue* dan sudan

III. Sediaan diambil sedikit kemudian dioleskan pada objek glass, objek glass pertama ditetesi dengan *methylene blue* dan objek glass kedua ditetesi sudan III. Hasil dapat dilihat jika sediaan tipe emulsi air dalam minyak ketika jika ditetesi sudan III maka hasil akan berwarna merah, jika tipe emulsi minyak dalam air ketika ditetesi *methylene blue* maka hasilnya akan berwarna biru kemudian dilihat hasilnya (Lachman, 1994).

10.7.3 Metode konduktivitas listrik. Berdasarkan metode konduktivitas listrik, *lotion* diberikan aliran listrik untuk melihat tipe *lotion* M/A atau A/M, sediaan diambil 25 ml dan dimasukkan ke dalam wadah kemudian diuji dengan alat multitester, jika jarumnya berjalan maka tipe emulsi pada sediaan adalah minyak dalam air (Lachman, 1994).

10.8 Cycling test. Pengujian *cycling test* dilakukan sebelum dan sesudah penyimpanan dipercepat. Metode *cycling test* dilakukan 6 siklus, sediaan *lotion* disimpan selama 24 jam pada suhu 4°C dan 40°C untuk 6 siklus yaitu pengamatan sebanyak 12 hari. Kemudian diuji mutu fisik *lotion* yaitu organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, tipe emulsi (Zamzam, 2018).

11. Pengujian antioksidan dengan metode DPPH

11.1 Pembuatan larutan stok DPPH 0,4 mM. Ditimbang DPPH sebanyak 15,78 mg (BM 394,32 g/mol), lalu dilarutkan dengan etanol p.a dalam 100 mL dalam labu tentukur, dikocok sampai homogen sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 0,4 mM (Adnyani *et al*, 2017).

11.2 Pembuatan larutan kurva baku. Larutan seri kadar dibuat dengan kuersetin yang digunakan sebagai baku standar. Ditimbang 100 mg kuersetin, dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 mL, kemudian ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas dan diperoleh konsentrasi 1000 ppm, untuk mendapatkan konsentrasi 100 ppm, larutan kuersetin dipipet 10 mL dan ditambah etanol p.a hingga 100 mL dan didapatkan konsentrasi 100 ppm. Larutan dibuat seri pengenceran dengan konsentrasi 3, 5, 6, 8, 10 ppm. Diamkan sesuai OT yang didapatkan, absorbansi seri kadar dibaca dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang tertentu.

11.3 Pembuatan larutan stok ekstrak kulit manggis. 1,5 g ekstrak etanol kulit manggis dilarutkan dengan etanol p.a hingga 100 mL hingga diperoleh konsentrasi 15000 ppm untuk mendapatkan

konsentrasi 100 ppm, larutan stok ekstrak kulit manggis dipipet 0,6 mL dan ditambah etanol p.a hingga 100 mL dan didapatkan konsentrasi 100 ppm, larutan kemudian dibuat seri pengenceran sebanyak 10, 20, 30, 40, dan 50 ppm.

11.4 Pembuatan larutan stok *lotion*. 100 mg *lotion* dilarutkan dengan etanol p.a sebanyak 100 mL untuk mendapatkan konsentrasi 100 ppm, larutan dipipet 10 mL dan ditambah etanol p.a hingga 100 mL dan didapatkan konsentrasi 100 ppm. Larutan dibuat seri pengenceran dengan konsentrasi 60, 70, 80, 90 dan 100 ppm.

11.5 Penentuan panjang gelombang maksimum (λ maks). Larutan DPPH 0,4 mM dipipet 1 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 mL. Kemudian ditambahkan etanol p.a sebanyak 4 mL. Selanjutnya diukur panjang gelombang maksimumnya antara 400-550 nm, cara tanda λ maks diketahui dengan munculnya nilai absorbansi pada panjang gelombang 400-550 nm (Saputra dan Yudhantara, 2019).

11.6 Penentuan *operating time* (OT). Larutan DPPH 0,4 mM sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam labu tentukur berukuran 5 mL, kemudian tambahkan 4 mL etanol p.a. Penentuan *operating time* dilakukan pada λ maksimal DPPH yang diperoleh yaitu 516. Kemudian diperoleh absorbansi yang stabil dengan interval dari menit ke 0 sampai diperoleh absorbansi (Saputra Yudhantara, 2019).

11.7 Uji aktivitas antioksidan. Ekstrak dan *Lotion* diuji aktivitas radikal bebasnya diukur pada panjang gelombang yang diperoleh dari hasil *operating time*. Dilakukan preparasi dengan cara diambil 1 mL larutan DPPH, kemudian ditambah 4 mL etanol p.a, selanjutnya diinkubasi selama *operating time* selesai, dan terakhir diukur absorbansinya (Saputra dan Yudhantara, 2019).

11.8 Penentuan nilai IC_{50} . Penentuan IC_{50} dilakukan dari hasil pengukuran absorbansi (serapan) dari variasi konsentrasi sehingga menghasilkan % inhibisi. Berikut cara menghitung % inhibisi (Andrian, 2020).

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

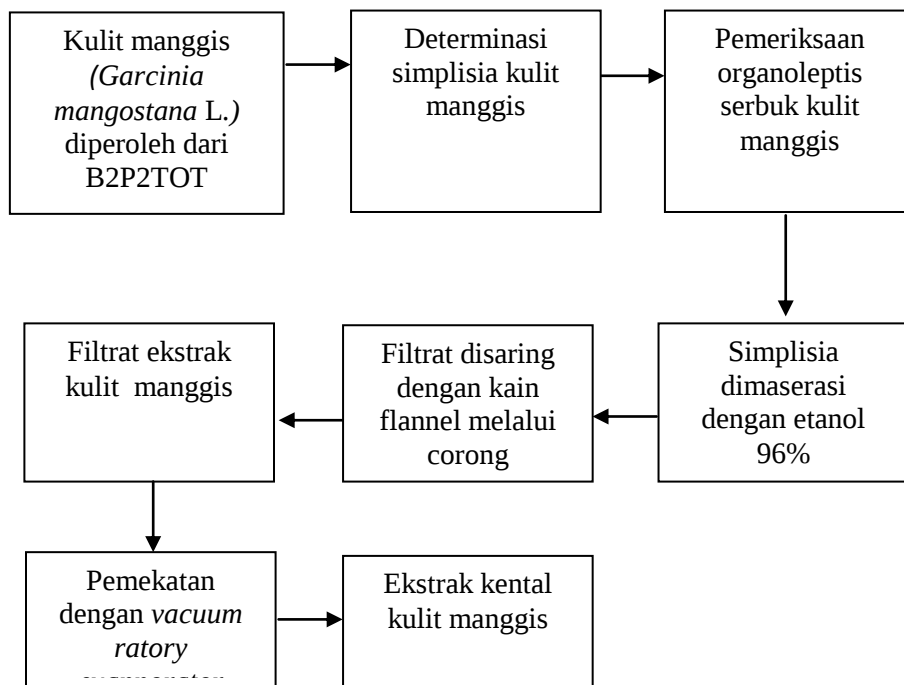
11.9 Penentuan nilai AAI. Pentuan AAI diperoleh dengan cara membagi konsentrasi DPPH yang digunakan dengan nilai IC_{50} . Berikut cara menghitung AAI (Sawiji dan Eisabeth, 2022).

$$AAI = \frac{\text{konsentrasi DPPH } (\mu\text{g/mL})}{IC_{50} (\mu\text{g/mL})}$$

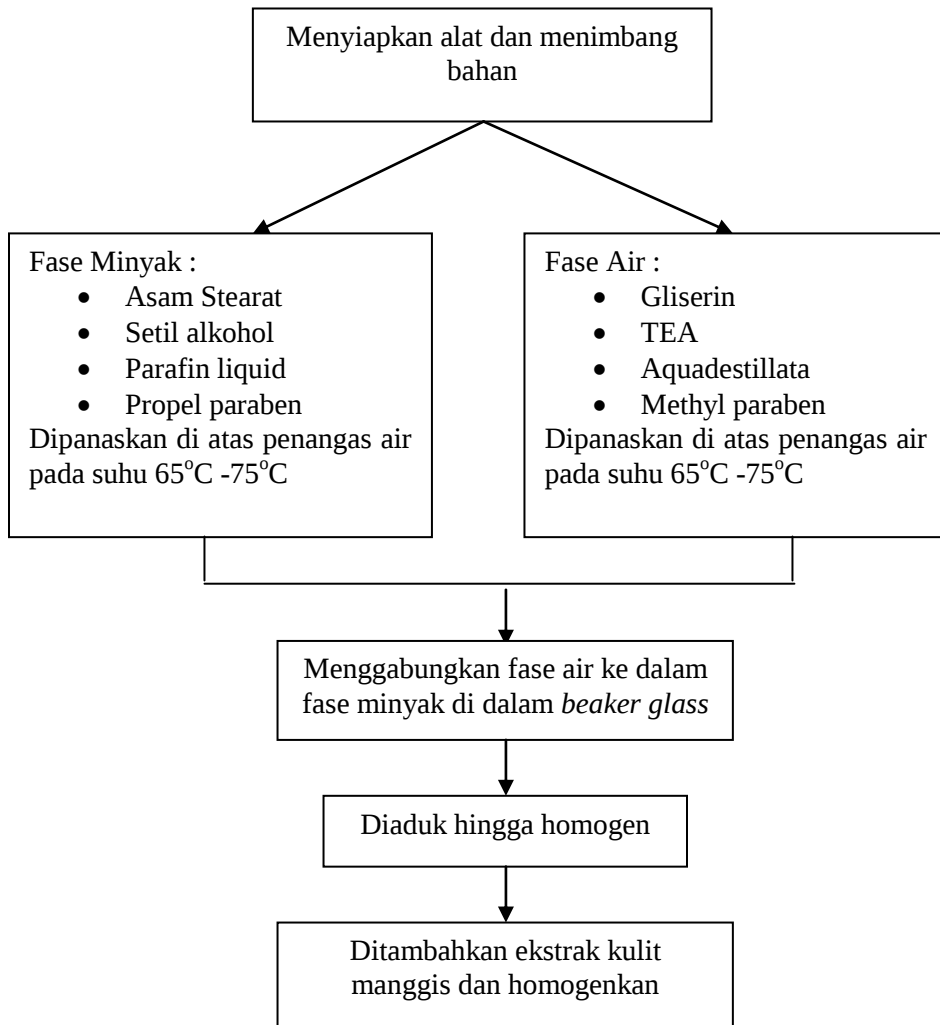
E. Analisis Hasil

Data mutu fisik dari *lotion* kulit manggis diperoleh dari uji organoleptis, uji homogenitas, uji tipe emulsi, uji pH, uji viskositas, *cycling test*, uji daya sebar, dan uji daya lekat. Data hasil pengamatan tersebut dilakukan analisis statistik dengan aplikasi SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versi 21. Analisis data yang digunakan yaitu *Shapiro-Wilk*, kemudian data yang terdistribusi normal dianalisis dengan *One-Way ANOVA*, kemudian diuji lanjutan dengan *Post Hoc*. Namun, data yang tidak terdistribusi normal dianalisis dengan *Kruskal Wallis*. Data dari pengujian aktivitas antioksidan dengan uji DPPH pada sediaan *lotion* ekstrak kulit manggis dihitung menggunakan metode probit dari persamaan regresi linier dan perhitungan IC_{50} untuk menentukan nilai IC_{50} yang paling baik, sediaan dikatakan memiliki aktivitas antioksidan baik yaitu nilai IC_{50} kecil

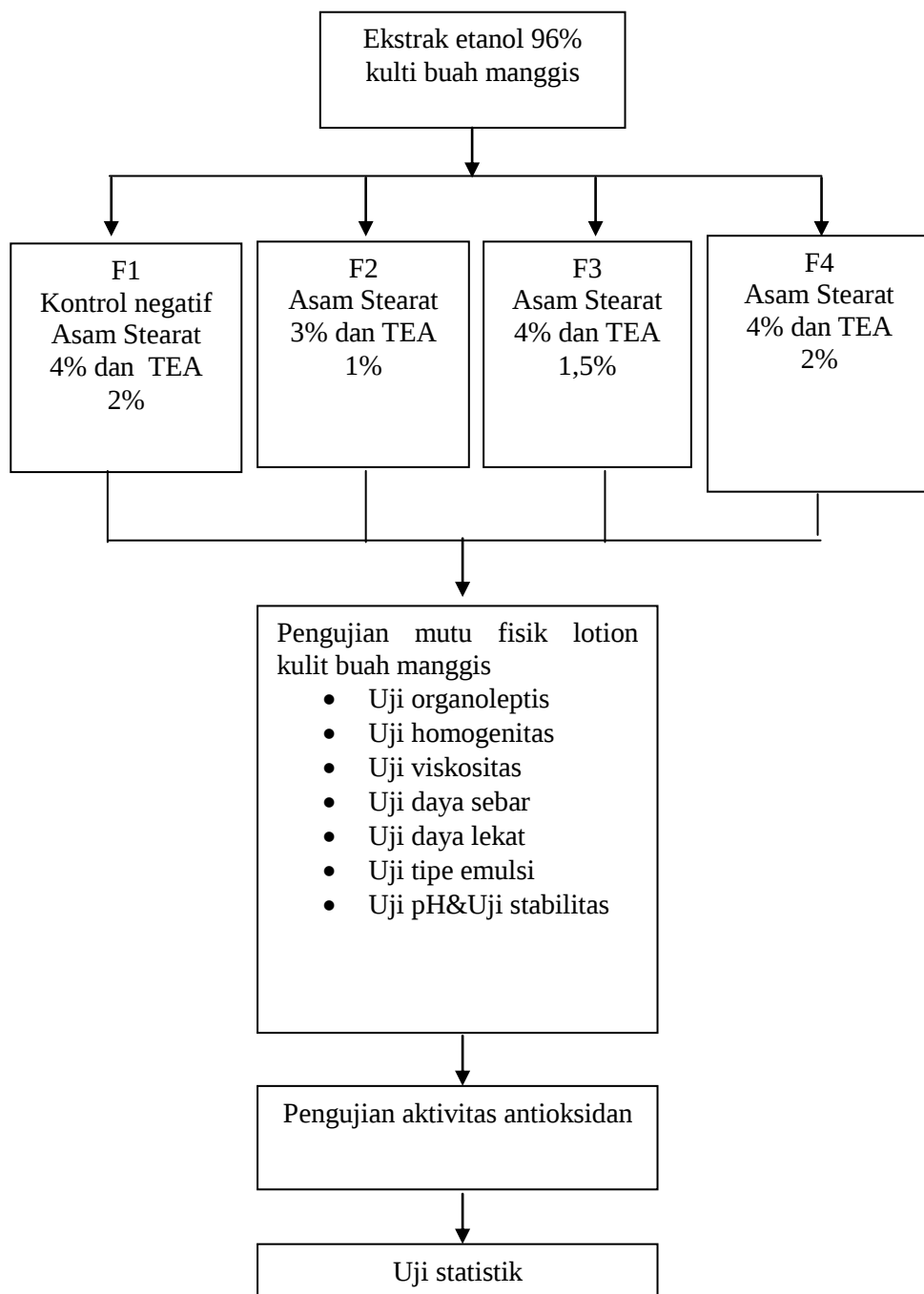
F. Skema Kegiatan Penelitian



Gambar 11. Pembuatan ekstrak kental kulit manggis



Gambar 12. Pembuatan *Lotion* Ekstrak Kulit Manggis



Gambar 13. Pengujian Mutu Fisik Sediaan Lotion Ekstrak Kulit Manggis