

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Metode Penelitian

Jenis penelitian ini dilakukan secara eksperimen. Fraenkel dan Wallen (2009) menyatakan bahwa eksperimen berarti mencoba, mencari, dan mengkonfirmasi. Penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan pemanfaatan rumput laut *Eucheuma cottonii* dan garam laut dalam sediaan lulur. Penelitian ini meliputi pengeringan rumput laut *Eucheuma cottonii*, pembuatan ekstrak rumput laut *Eucheuma cottonii*, skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak rumput laut *Eucheuma cottonii*, pembuatan sediaan lulur dari ekstrak rumput laut *Eucheuma cottonii* dan garam laut, pengumpulan panelis serta pengujian hedonik dan uji iritasi kepada panelis. Teknik perhitungan data pada uji hedonik akan di analisis dengan aplikasi SPSS 25. Hasil dengan nilai skoring terbesar yang menjadi perolehan produk yang terbaik.

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.2.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Sumberdaya Kelautan dan Perikanan Prodi Pendidikan Kelautan dan Perikanan UPI Kampus di Serang untuk pengujian Fitokimia dan aktivitas antioksidan. Pengujian organoleptik dan uji iritasi pada formulasi sediaan lulur dilakukan oleh peneliti kepada panelis di tempat tinggal yang berada di sekitar kampus.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam kurun waktu 2 bulan pada awal penyusunan penelitian bulan februari sampai april 2022.

3.3 Partisipan

Partisipan pada penelitian ini sebagai subjek penelitian yang akan berkontribusi dalam pengujian organoleptik yaitu panelis atau probandus. Panelis merupakan orang-orang yang berperan menilai suatu produk dengan menggunakan alat indera nya masing-masing, sedangkan probandus adalah

orang yang akan berperan menjadi pasien. Panelis atau probandus dengan kriteria sebagai berikut :

1. 5 Wanita dan 5 Pria sehat secara fisik.
2. Usia antara 18-25 tahun.
3. Tidak memiliki riwayat atopi
4. Tidak sedang menggunakan obat yang dapat mengganggu reaksi kulit (steroid, antialergi, imuno).
5. Panelis adalah orang terdekat dan sering berada disekitarnya, sehingga lebih mudah di awasi dan diamati bila ada reaksi yang terjadi pada kulit yang sedang diamati.
6. Panelis menandatangani surat pernyataan setuju akan menjadi panelis ataupun probandus pada penelitian ini

3.4 Sampel Penelitian

Sampel adalah himpunan bagian atau sebagian dari suatu populasi. Sampel adalah bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut (Sugiyono, 2010). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel rumput laut (*Eucheuma cottonii*) yang didapat dari pembudidaya desa Lontar, kecamatan Tirtayasa Serang Banten dan sampel garam laut komersial.

3.5 Bahan dan Alat

3.5.1 Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam pembuatan lulur ini adalah rumput laut jenis *Eucheuma cottonii* yang bisa didapatkan di pasar lontar dan Garam Laut komersial serta bahan penyusun lainnya yaitu tepung beras, *olive oil*, *propylrnr glycol*, *gliserin*, dan *aquades*, etanol 60%, larutan H₂SO₄ pekat, pereaksi Mayer dan Dragendorff, kloroform, HCl pekat, pereaksi *Liebermen – Buchard*, FeCl₃, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), kertas saring whatman no 24, aluminium foil.

3.5.2 Alat

Alat yang digunakan adalah sudip, blender, *beaker glass*, timbangan analitik, tabung reaksi, labu ukur, pipet tetes, evaporator, erlenmeyer, rak tabung, hotplate.

3.6 Ekstraksi

Ekstraksi sampel dilakukan secara maserasi, ditimbang sebanyak 50 g serbuk rumput laut *Eucheuma cottonii*, kemudian direndam dalam 500 mL etanol 60% selama 5 hari lalu disaring dengan kertas saring Whatman no 42 sehingga diperoleh filtrat. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi untuk mendapatkan ekstrak etanol. Ekstrak hasil evaporasi dimasukkan ke dalam oven sampai menjadi ekstrak kental lalu didinginkan dalam desikator sebelum analisis lebih lanjut. Hasil pemekatan dioven dengan suhu 50°C untuk memperoleh ekstrak kering setelah itu ditimbang (Saleh., *et al*, 2012). Maserasi sampel dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 60 % karena memiliki kemampuan menyaring dengan polaritas yang lebar mulai dari senyawa nonpolar sampai dengan polar (Saifudin., *et al* 2011)

3.7 Uji Fitokimia (Hayati, 2020)

Skrining fitokimia kualitatif untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman. Prinsip dasarnya yaitu adanya reaksi penguji warna dengan suatu reaksi.

3.7.1 Flavonoid

Sebanyak 2 ml ekstrak ditambahkan dengan 2 mL n- heksana kemuadian akan muncul 2 lapisan yaitu lapisan asam dan lapisan basa. Tambahkan metanol sebanyak 1 mL, lapisan yang digunakan untuk uji yaitu lapisan asam. Tambahkan 5 tetes HCL dan 0,5 serbuk mg, kemudian kocok kuat kuat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga.

3.7.2 Saponin

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan 2 mL air sambil dikocok selama 1 menit, lalu ditambahkan 2 tetes HCl. Bila busa yang terbentuk tetap stabil \pm 7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin.

3.7.3 Tanin

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan 10 tetes FeCl₃ 1%. Ekstrak positif mengandung fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah kecoklatan, biru atau hitam pekat.

3.7.4 Alkaloid

tabung reaksi dimasukkan ekstrak masing masing sebanyak 1 ml. Untuk tabung reaksi 1 ditambahkan pereaksi dragendorff sebanyak 5 tetes. Tabung reaksi 2 diberikan pereaksi wagner sebanyak 5 tetes. Tabung reaksi 3 ekstrak terlebih dahulu ditambahkan 3 sampai 5 tetes H₂SO₄ pekat lalu dikocok hingga terbentuk dua lapisan. Fraksi asam diambil, kemudian ditambahkan pereaksi *Mayer*. Apabila terbentuk endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid, dengan pereaksi *Mayer* memberikan endapan berwarna putih – kekuningan, pereaksi *Dragendorff* memberikan endapan berwarna kuning-merah atau jingga dan pereaksi wagner memberikan endapan berwarna coklat.

3.7.5 Steroid/ Triterpenoid

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan cloroform. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Setelah itu ditambahkan pereaksi Lieberman – Buchard sebanyak 10 tetes. Steroid memberikan warna biru atau hijau, sedangkan triterpenoid memberikan warna merah atau ungu.

3.8 Uji Aktivitas Antioksidan Kualitatif

Prinsip metode penangkapan radikal adalah pengukuran penangkapan radikal bebas sintetik dalam pelarut organik polar seperti metanol pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan.

3.8.1 Prinsip Metode Pemerangkapan Radikal Bebas DPPH

Kemampuan sampel uji dalam meredam proses oksidasi radikal bebas DPPH (1,1 diphenyl-2-picrylhidrazyl) dalam larutan metanol (sehingga terjadi perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning) (Molyneux, 2004)

3.8.2 Persiapan Larutan Pereaksi

Sebanyak 9,8 mg DPPH ditimbang, kemudian dilarutkan dalam metanol hingga volume 50 mL (konsentrasi 200 ppm). Larutan tersebut akan menjadi pereaksi untuk uji aktivitas antioksidan

3.8.3 Persiapan Larutan Kontrol Positif

Vitamin C sebagai kontrol positif dilarutkan dengan etanol 1 : 1. Lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 2 ml. setelah itu direaksikan dengan larutan DPPH sebanyak 4 ml. larutan akan bereaksi menimbulkan warna kuning jernih ditandakan karena vitamin C mengandung aktivitas antioksidan tinggi

3.8.4 Persiapan Pengenceran Ekstrak Etanol

Pembuatan larutan pengenceran ekstrak etanol *Eucheuma cottonii* dengan pengenceran 10 x dan pengenceran 100 x. Untuk pengenceran 10 x dengan mencampurkan ekstrak sebanyak 0,1 ml dan 0,9 ml etanol p.a. kemudian dalam pengenceran 100 x ditambahkan ekstrak sebanyak 0,01 ml dan 0,99 ml etanol p.a.

3.8.5 Analisis Kualitatif Aktivitas Antioksidan

Dipipet sebanyak 2 mL larutan sample murni ekstrak etanol *Eucheuma cottonii* dan larutan pengenceran ekstrak etanol 10 x dan pengenceran 100 x kedalam masing- masing tabung reaksi, kemudian tambahkan 4 mL larutan DPPH sedikit demi sedikit dan amati perubahan warnanya. Adanya antioksidan ditandai dengan warna yang terbentuk dari masing masing sampel uji adalah warna kuning (Molyneux, 2004).

3.9 Sediaan Lulur

Formulasi lulur untuk menjaga kesehatan kulit yang sesuai standar menurut Rowe.,et al dibuat dengan bobot 100 ml adapun komposisinya adalah :

Tabel 3. 1 Sediaan lulur Rumput Laut *Eucheuma cottonii* dan garam laut

Bahan	D1	D2	D3	D4
Bubur Rumput Laut <i>Eucheuma cottonii</i>	0	30 g	30 g	60 g
Garam Laut	30 g	30 g	60 g	30 g
Tepung Beras	5 g	5 g	5 g	5 g
<i>Olive Oil</i>	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
<i>Propylene glycol (skin conditioning)</i>	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
<i>Glyserin (humectant)</i>	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
<i>Aquades</i>	Sampai 100 mL	Sampai 100 mL	Sampai 100 mL	Sampai 100 mL

Keterangan:

D1 : Formula 1 sebagai kontrol

D2 : Formula 2 dengan perbandingan rumput laut *Eucheuma cottonii* :
garam laut 1 : 1

D3 : Formula 3 dengan perbandingan rumput laut *Eucheuma cottonii* :
garam laut 1 : 2

D4 : Formula 4 dengan perbandingan rumput laut *Eucheuma cottonii* :
garam laut 2 : 1

3.10 Preparasi Bubur Rumput Laut *Eucheuma cottonii*

Sampel yang diteliti adalah Rumput Laut jenis *Eucheuma cottonii* yang diambil dari daerah Lontar Kabupaten Serang dan juga Garam Laut murni . Sampel Rumput Laut jenis *Eucheuma cottonii* dibersihkan dari pengotor lalu potong potong sekitar 3- 4 cm . Selanjutnya dikering anginkan selama 3 hari ditutup menggunakan paranet sampai kering karet. Setelah itu, rendam kembali rumput laut menggunakan aquades 1 : 1 untuk lebih steril. Lalu dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi simplisa bubuk rumput laut *Eucheuma cottonii*.

3.11 Prosedur Pembuatan Formulasi Lulur

Pembuatan sediaan lulur pada penelitian ini sebagai berikut

- 1 Menyiapkan alat dan bahan
- 2 Masukkan tepung beras yang sudah di timbang lalu tambahkan air 1 : 1 aduk hingga merata didalam beakerglass lalu panaskan dalam suhu 75° C selama 1 menit hingga tepung beras mengental
- 3 Ditimbang semua bahan fase air (*propelin glycol, gliseryn, aquadest*)
- 4 fase air dilarutkan Bersama tepung beras yang sudah dipanaskan
- 5 Tambahkan minyak zaitun sebagai aroma
- 6 Masukkan bubuk rumput laut, garam laut, sesuai dengan konsentrasi yang sudah ditentukan kedalam beaker glass yang sudah terisi bahan bahan sebelumnya
- 7 Dimasukan kedalam wadah sediaan lulur diberi label dan tulisan

3.12 Evaluasi Krim Lulur

3.12.1 Uji Organoleptik

a. Uji Hedonik

Panelis yaitu orang yang bertindak sebagai instrumen dalam menilai sifat organoleptik (Rahayu, 2001). Panelis yang di pilih dalam uji coba ini adalah panelis konsumen, Sedangkan panelis konsumen orang yang tergantung pada target pemasaran suatu komoditi dan dapat ditentukan (Rahayu, 2001). Untuk pengujian hedonik dibutuhkan minimal 30 orang untuk menjadi panelis yang diantaranya 15 orang Wanita dan 15 orang pria. Berdasarkan daerah atau kelompok tertentu, maka Wanita atau pria berusia 18- 25 tahun sebagai panelis dianggap sebagai panelis kategori konsumen. Hasil jawaban dari panelis akan diberikan penilaian berdasarkan interval intrepretasi pada lampiran 9.

b. Uji iritasi

Uji iritasi dilakukan secara tertutup, Bahan uji terdiri dari sediaan *lulur* dengan kadar rumput laut dan garam laut yang berbeda . Bahan uji ditempelkan pada kulit belakang telinga karena memiliki kulit yang tipis dan kesensitifan yang tinggi lalu dibiarkan selama 4 jam. Kulit tempat aplikasi diamati pada setiap jam nya . Penilaian iritasi kulit akan ditentukan oleh panelis atau panelis dari kegatalan dan kemerahan yang didapatkan.

10 panelis uji pria dan Wanita dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi: berumur 18-25 tahun, sehat secara fisik, dan menyetujui dan/atau menandatangani *informed consent* pada lampiran 8 yang berisi tentang informasi kepada panelis sebelum melakukan suatu Tindakan yang dilakukan untuk panelis mengetahui resiko dan manfaat dari Tindakan yang akan dijalaninya. Kriteria eksklusi: tidak memiliki Riwayat atopi, menggunakan obat yang mungkin dapat mengganggu reaksi kulit (seperti steroid, antialergi, imuno), tidak memiliki kulit yang sensitif

Prosedur pemberian perlakuan krim *lulur* pada sukarelawan

1. Sebelum panelis diberikan perlakuan penggunaan *lulur*, peneliti meminta persetujuan terlebih dahulu kepada panelis dengan menandatangani *informed consent*
2. Sebelum krim *lulur* digunakan panelis akan di kompres terlebih dahulu menggunakan anduk yang diberi air hangat di area kulit yang akan diberi perlakuan yang berguna untuk membuka pori pori kulit panelis agar krim *lulur* bekerja dengan maksimal membersihkan pori pori
3. Krim *lulur* akan digunakan pada punggung tangan panelis

4. Sebelum dioleskan, dokumentasikan area punggung tangan sebelum diberikan perlakuan
5. Oleskan krim lulur pada punggung tangan kanan dan pada punggung tangan kiri dengan formula yang berbeda
6. Gosokan krim lulur perlahan sampai sel kulit mati terangkat
7. setelah krim lulur digosokan pada area ulit yang ditentukan diamkan hingga 15 menit lalu bilas menggunakan air (tanpa menggunakan sabun)
8. dokumentasikan hasil sesudah diberikan perlakuan
9. setelah diberikan perlakuan, jika selama 4 jam kedepan kulit tidak memberikan reaksi gatal- gatal, kemerahan, ruam – ruam dan lain lain, berarti kulit tidak mengalami iritasi setelah diberikan krim lulur.
10. Pemakaian krim lulur dilakukan selama 1 minggu 2 kali dengan selisih 3 hari (senin dan kamis) saat petang (sore menjelang malam) setelah panelismelakukan aktivitas dan sebelum panelismembersihkan diri (mandi)

3.12.2 Analisis Data

Penentuan perbandingan Rumput Laut *Eucheuma cottonii* dan garam laut (*Sea salt*) terilih dari hasil analisis uji hedonik menggunakan uji Kolomogrof – Smirnov untuk mengetahui penyebaran data terdistribusi normal atau tidak. Maka didapatkan hipotesis

H0 : jika tidak ada perbedaan yang nyata

H1 : adanya perbedaan yang nyata

Jika sampel yang diujikan berbeda nyata terhadap skor kesukaan pada taraf kepercayaan 0,05, maka dilakukan uji lanjutan (post hoc).

Dilanjutkan dengan uji Duncan untuk menunjukkan analisis data berbeda nyata atau tidak. analisis dalam pengambilan data ini adalah mengambil keputusan terbaik dari sejumlah alternatif dengan tujuan menghasilkan perolehan yang optimal. Tahap akhir adalah perankingan dengan menghitung rata rata dari hasil yang didapatkan dari hasil uji Duncan. Pengambilan keputusan yang optimal akan tercapai bila mempertimbangkan berbagai kriteria. Pemberian perlakuan merupakan kriteria yang perlu dipertimbangkan dalam penelitian lulur (*bodyscrub*) dengan perbandingan rumput laut *Eucheuma cottonii* dengan garam laut (*seasalt*) yang menghasilkan produk yang paling disukai. Dengan uji indeks kinerja didasarkan pada total nilai yang paling tinggi dari setiap perlakuan parameter yang diberikan bobot yaitu karakteristik sensori (aroma, warna, tekstur, kelembapan, dan penilaian secara keseluruhan). Penentuan skor tingkat skor kesukaan dibagi menjadi 5, yaitu :

1. Sangat suka
Bilamana tingkatan kesukaan panelisdalam mencoba produk dengan tingkat level kesukaan sangat tinggi (dengan skor 5)
2. Suka
Bilamana tingkatan kesukaan panelisdalam mencoba produk dengan tingkat kesukaan tinggi (dengan skor 4)
3. Biasa
Bilamana tingkatan kesukaan panelisdalam mencoba produk dengan tingkat kesukaan sedang (dengan skor 3)
4. Tidak suka
Bilamana tingkatan kesukaan panelisdalam mencoba produk dengan tingkat kesukaan rendah (dengan skor 2)
5. Sangat tidak suka
Bilamana tingkatan kesukaan panelisdalam mencoba produk dengan tingkat kesukaa sangat rendah (dengan skor 1).