

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian yang dilakukan yaitu penelitian kuantitatif yang dilakukan secara eksperimen bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan krim *antiaging* pada bunga telang dengan metode DPPH menggunakan alat spektrofotometri UV-VIS. Penelitian meliputi 3 tahapan yaitu tahapan persiapan, tahapan pelaksanaan dan tahapan akhir. Tahapan persiapan meliputi pengambilan sampel bunga telang kering, persiapan alat dan bahan yang akan digunakan dalam proses pengujian.

Tahap pelaksanaan meliputi pembuatan simplisia bunga telang kering, kemudian ekstraksi bunga telang dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%, lalu diuapkan menggunakan evaporasi sehingga memperoleh ekstrak kental bunga telang. Ekstrak kental digunakan sebagai bahan aktif dalam pembuatan krim *antiaging*. Pengujian antioksidan dengan metode DPPH untuk mengetahui aktivitas antioksidan krim *antiaging* bunga telang.

Tahap akhir meliputi analisis data yang diperoleh berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, pembahasan serta kesimpulan dari aktivitas antioksidan krim *antiaging* bunga telang (*Clitoria ternatea L*).

## **3.2 Populasi dan Sampel**

### **3.2.1 Populasi**

Populasi pada penelitian ini adalah krim *antiaging* ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea L*)

### **3.2.2 Sampel**

Sampel pada penelitian ini adalah sebagian krim *antiaging* ekstrak bunga telang (*Clitoria ternatea L*)

## **3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian**

### **3.3.1 Lokasi Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Laboratorium Instrumen Akademi Analis Farmasi dan Makanan Putra Indonesia Malang.

### **3.3.2 Waktu Penelitian**

Waktu penelitian mulai dari bulan Maret sampai April 2022.

## **3.4 Definisi Operasional Variabel**

Dalam penelitian ini terdapat variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah krim bunga telang (*Clitoria ternatea L*). Sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan krim bunga telang (*Clitoria ternatea L*).

Definisi operasional variabel pada penelitian ini diklasifikasikan sebagai berikut :

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Sub Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala Ukur	Hasil Ukur
Bunga telang kering	Ekstrak bunga telang	Hasil ekstraksi simplisia bunga telang	Neraca	Nominal	Rendemen
Aktivitas antioksidan	Krim bunga telang	Penentuan konsentrasi IC <sub>50</sub> dengan metode DPPH	Spektrofotometer UV-VIS	Nominal	Absorbansi

### 3.5 Alat dan Bahan

#### 3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, mortar dan stamper, batang pengaduk, sudip, sendok tanduk, bola hisap, botol coklat gelap, blender, cawan penguap, beakerglass 100 mL, penangas air, *waterbath*, pipet tetes, *sentrifuge*, *vaccum filter*, *rotary evaporator*, spektrofotometri UV-VIS, kuvet, gelas ukur 100 mL, 10 mL, inkubator, oven, pipet volume 0,5 mL, 2 ml, 3 mL, labu ukur 100 mL, 5 mL, 10 mL

#### 3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga telang kering, aquadest, serbuk DPPH, kertas saring, etanol 70%, etanol *p.a*, alumunium foil, asam stearat, setil alkohol, trietanolamin, gliserin, metil paraben, parafin cair.

### 3.6 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1 Ekstraksi Bunga Telang Metode Maserasi

Bunga telang (*Clitoria ternatea L*) yang sudah kering memblender sampai halus. Menimbang bunga telang (*Clitoria ternatea L*) sebanyak 100 g dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 0,75 L selama 3 hari. Ekstrak yang diperoleh diuapkan pelarutnya menggunakan *waterbath* sehingga mendapatkan ekstrak kental dan menghitung rendemennya (Andriani dan Murtisiwi 2018).

#### 3.6.2 Skrining Fitokimia

Sebanyak 40 mg ekstrak melarutkan dengan 100 mL air panas, lalu mendidihkan selama 5 menit dan menyaring filtratnya. Filtrat diukur sebanyak 5 mL, menambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl<sub>(p)</sub> dan mengocok kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan larutan menjadi warna merah, kuning atau jingga (Wijaya dkk, 2014).

#### 3.6.3 Pembuatan Krim *Antiaging* Ekstrak Bunga Telang

Tabel 3.2 Formula krim ekstrak bunga telang (Apitalau, 2021)

<b>Bahan</b>	<b>Fungsi</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>
Ekstrak etanol bunga telang	Zat aktif	0,25%	0,75%	1,25%
Asam stearat	Pengemulsi	4%	4%	4%
Setil alkohol	Emulgator	0,5%	0,5%	0,5%
Gliserin	Humektan	2,125%	2,125%	2,125%
Trietanolamin	Emulgator	1,75%	1,75%	1,75%
Parafin cair	Emolient	2,5%	2,5%	2,5%
Metil paraben	Pengawet	0,05%	0,05%	0,05%
Aquadest	Pelarut	Add 25	Add 25	Add 25

Menimbang semua bahan yang digunakan. Memisahkan antara fase minyak dan fase air. Fase minyak terdiri dari asam stearat, setil alkohol dan parafin cair meleburkan di atas *waterbath* dengan suhu 70°C (Campuran I). Fase air terdiri dari gliserin, trietanolamin dan metil paraben melarutkan dalam air panas yang telah ditakar dengan suhu 70°C (Campuran II). Mortar dan stamper yang digunakan merendam dengan air panas. Mortar dan stamper yang sudah kering, lalu campuran I dimasukkan ke dalam mortar. Dimasukkan campuran II kedalam mortar yang telah berisi campuran I. Mengaduk hingga homogen sampai terbentuk massa krim, Ekstrak kental bunga telang (*Clitoria ternatea L*) memasukkan ke dalam massa krim sedikit demi sedikit, dan mengaduk sampai homogen.

#### 3.6.4 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

##### 3.6.4.1 Pembuatan Larutan DPPH

Menimbang DPPH sebanyak 13,5 mg melarutkan dengan etanol *p.a* dan memasukkan ke dalam labu ukur 100 mL sampai tanda batas. Menginkubasi dengan suhu 35-37°C selama 30 menit (Hamzah dkk, 2014)

##### 3.6.4.2 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum ( $\lambda_{maks}$ )

Larutan DPPH sebanyak 1 mL menambahkan etanol *p.a* dalam labu ukur 5 mL dan menghomogenkan. Setelah itu menginkubasi dengan suhu 35-37°C selama 30 menit. Kemudian mengukur serapannya dengan panjang gelombang 450-545 nm terhadap blanko 5 mL etanol *p.a* menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

##### 3.6.4.3 Pembuatan Larutan Krim Ekstrak Bunga Telang

Menimbang krim sebanyak 10 mg melarutkan dengan etanol *p.a*, memasukkan kedalam labu takar 10 mL, disentrifuge selama 10 menit. Hasil ekstraksi disaring dengan kertas saring dan ditampung filtratnya. Ampasnya dilarutkan kembali dengan etanol *p.a* dan diambil filtratnya, hal ini dilakukan sebanyak 3 kali. (Hamzah dkk, 2014) Lalu filtrat disatukan dilarutkan dengan etanol *p.a* 10 mL. Diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm. Dengan variasi konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm 400 ppm dan 600 ppm. Pada kelima konsentrasi dipipet masing-masing 0,5 mL diadddkan 5 mL, 2 mL diadddkan 10 mL, 3 mL diadddkan 10 mL, 2 mL diadddkan 5 mL, dan 3 mL diadddkan 5 mL menggunakan etanol *p.a* sampai tanda batas.

#### 3.6.4.4 Penentuan IC<sub>50</sub> Ekstrak dan Krim Bunga Telang

Larutan krim yang telah dibuat dengan beberapa konsentrasi diambil 2 mL lalu ditambahkan larutan DPPH sebanyak 2 mL dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Setelah dinkubasi dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum yang ditentukan (Rumangu, 2019).

Nilai presentase hambatan DPPH dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Rumus persamaan regresi linear yang digunakan adalah sebagai berikut :

$$y = ax + b$$

Keterangan :

y = persentase peredaman

x = konsentrasi

a = gradient

### **3.7 Teknik Analisis Data**

Teknik analisis data pada penelitian ini dilakukan setelah data terkumpul, kemudian dikelompokkan sesuai variabel yang diteliti. Analisis data yang dilakukan adalah data yang disajikan dalam bentuk nilai  $IC_{50}$  dengan standar deviasi dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali.