

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian ini yaitu jenis penelitian deskriptif yang diuji dengan cara kuantitatif meliputi tahapan persiapan, tahapan pelaksanaan dan tahapan akhir. Tahapan persiapan yaitu persiapan alat dan bahan yang digunakan dalam proses pengujian. Pertama yaitu pembuatan simplisia kering bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa L.*). Kemudian diekstraksi dengan metode maserasi yang dilakukan dengan cara menimbang 100 g simplisia bunga rosella merah kemudian diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% (Nursalam, 2014). Hasil ekstraknya dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* atau waterbath, kemudian hasil ekstraknya akan digunakan sebagai bahan aktif dalam pembuatan krim *antiaging*. Tahap pelaksanaan yaitu formulasi krim dari ekstrak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa L.*). Formulasi bertujuan untuk menambahkan ekstrak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa L.*) sebagai bahan aktif krim *antiaging* pada wajah. Tahap akhir yaitu pengujian, pada tahap pengujian ini dilakukan uji antioksidan dengan metode DPPH ( $\alpha$  diphenyl picryl hydrazil) dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-VIS. Uji antioksidan ini mempunyai tujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari krim *antiaging* bunga rosella merah

#### **3.2 Populasi dan Sampel**

##### **3.2.1 Populasi**

Populasi pada penelitian ini adalah krim *antiaging* dari ekstrak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa L.*).

### 3.2.2 Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah sebagian krim *antiaging* dari ekstrak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa 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 terdiri atas variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah krim *antiaging* dari ekstrak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa L.*), sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah uji antioksidan dengan menggunakan metode DPPH ( $\alpha$  diphenyl picryl hydrazil).

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
Simplisia bunga rosella merah	Ekstrak bunga rosella merah	Hasil ekstraksi simplisia bunga rosella merah	Neraca	Nominal	Rendemen

Aktivitas antioksidan	Krim bunga rosella merah	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 rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* L), aquadest, serbuk DPPH, kertas saring, etanol 70%, etanol *p.a.*, aluminium foil, asam stearat, setil alkohol, trietanolamin, gliserin, metil paraben, parafin cair.

### 3.6 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1 Pembuatan Ekstrak Bunga Rosella Merah Dengan Metode Maserasi

Simplisia bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* L) harus diblender supaya halus. Selanjutnya ditimbang bubuk bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* L) sebanyak 100 g. Kemudian dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70% 0,50 L selama 3x24 jam. Proses ekstraksi metode maserasi harus disimpan

ditempat yang terlindung dari cahaya matahari sambil dilakukan sesekali pengadukan. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* atau menggunakan *waterbath* sehingga mendapatkan hasil ekstrak kental bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* L) (Damaranie dkk, 2014)

### 3.6.2 Skrining Fitokimia

Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan dengan 100 mL air panas, lalu dididihkan selama 5 menit dan disaring. Filtrat diukur sebanyak 5 mL, ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl<sub>(p)</sub> dan dikocok kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan larutan menjadi warna merah, kuning atau jingga (Fita sari dkk,2014)

### 3.6.3 Formula Sediaan Krim Ekstrak Bunga Rosella Merah

**Tabel 3.2 Formula Krim Ekstrak Bunga Rosella (Awwalina, 2016)**

Bahan	Fungsi	F1	F2	F3
Ekstrak etanol bunga rosella merah	Zat aktif	0,5 g	1 g	1,5 g
Asam stearate	Pengemulsi	4 g	4 g	4 g
Setil alcohol	Emulgator	0,5 g	0,5 g	0,5 g
Gliserin	Humektan	2, 125 g	2, 125 g	2, 125 g
Trietanolamin	Emulgator	1,75 g	1,75 g	1,75 g
Parafin Cair	Emolient	2,5 g	2,5 g	2,5 g
Metil Paraben	Pengawet	0,05 g	0,05 g	0,05 g
Aquadest	Pelarut	Add 25	Add 25	Add 25

Langkah pertama yaitu menyiapkan alat dan bahan yang akan digunakan. Selanjutnya, ditimbang bahan-bahan yang dibutuhkan. Terdapat dua fase dalam pembuatan krim *antiaging* ekstrak bunga rosella merah . Fase minyak dibuat dengan cara meleburkan setil alcohol, adeps lanae, paraffin cair, dan asam stearate. Lalu ditambahkan propil paraben, suhu harus distabilkan pada 70°C. Kemudian membuat fase air dengan cara melarutkan metil paraben dalam air panas suhu 90°C, lalu penambahan gliserin dan TEA suhu distabilkan pada suhu 70°C. Selanjutnya sediaan krim dibuat dengan cara mencampurkan fase minyak ke dalam fase air sambil diaduk selama 3 menit. Setelah dicampur, sediaan krim didiamkan selama 20 detik, lalu dilakukan pengadukan kembali sampai membentuk sediaan krim yang homogen. Tahap selanjutnya menambahkan ekstrak bunga rosella merah (*Hibiscus sabdariffa* L) dan diaduk sampai terbentuk sediaan yang homogen (Awwalina dkk, 2014)

### 3.6.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

#### 3.6.3.1 Pembuatan Larutan DPPH

Larutan DPPH dapat dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 0,0135 g kemudian dilarutkan menggunakan 100 ml etanol *p.a* dalam labu ukur 100 ml. Penetapan panjang gelombang maksimum dapat dilakukan dengan cara memipet larutan DPPH sebanyak 1 ml di add kan dengan etanol 5 ml dalam labu ukur dan dihomogenkan. Ditunggu selama 30 menit ditempat gelap kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-VIS, dan panjang gelombang maksimum yaitu 520 nm (Hamzah dkk., 2014).

### 3.6.3.2 Pembuatan Larutan Krim Ekstrak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa* L)

Sediaan krim sebanyak 5 g ditambahkan 5 mL etanol *p.a* kemudian disentrifuge selama 10 menit. Kemudian dari hasil ekstraksi dapat dilakukan penyaringan dengan kertas saring dan ditampung filtratnya. Ampas dari penyaringan dapat dilarutkan kembali dengan etanol *p.a* dan diambil filtratnya. Dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Filtrat disatukan dan dipekatkan kemudian di ad hingga 5 mL (Hamzah dkk., 2014).

### 3.6.3.3 Uji Penentuan IC<sub>50</sub>

Filtrat ditambahkan dengan 2 mL DPPH 0,343 mM, kemudian di add kan volumenya hingga 10 mL, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Kemudian mengukur serapannya menggunakan alat spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 520 nm. 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.