

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis eksperimen laboratorium, bertujuan untuk mengidentifikasi aktivitas antioksidan pada formulasi sediaan kosmetik *face mist*. Penelitian ini menerapkan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) secara spektrofotometri UV-Vis.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Tempat yang digunakan pada penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia dan Laboratorium Kimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-Mei 2026.

3.3. Populasi dan Sampel

3.3.1. Populasi Penelitian

Penelitian ini menggunakan populasi, yaitu semua formulasi *face mist* yang dikembangkan dalam penelitian, termasuk formulasi dengan menggunakan vit E, ekstrak daun pandan wangi dalam berbagai konsentrasi, dan tidak mengandung ekstrak daun pandan wangi.

3.3.2. Sampel Penelitian

Sampel yang diambil pada penelitian ini adalah formulasi *face mist* yang dibuat dalam penelitian yang terdiri dari F0, F1, F2, F3, F4, dan F5 untuk diuji evaluasi mutu fisikokimia, dan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.

3.4. Bahan dan alat

3.4.1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pandan wangi, aquades, etanol 70%, metanol p.a, DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*), asam askorbat, gliserin, PVP, vitamin E, kertas saring, dan alumunium foil.

3.4.2. Alat

Pada penelitian ini menggunakan alat oven, neraca analitik, loyang, *water bath*, grinder, batang pengaduk, gelas ukur, plastik mika, rak tabung, tabung reaksi, pipet ukur 10 mL, bola hisap, pipet ukur 1 mL, pipet tetes, toples, corong gelas, gunting, botol *spray*, piknometer 10 mL, spatula, labu ukur 10 mL, labu ukur 100 mL, labu ukur 5 mL, pH meter, dan spektrofotometer UV-Vis.

3.5. Variabel Penelitian

3.5.1. Variabel Bebas (Independent Variable)

Variabel bebas adalah variabel yang menjadi sebab atau mempengaruhi timbulnya atau perubahan pada variabel dependen (terikat). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak daun pandan dalam formulasi *face mist* (0%; 0,5%; 1%; dan 2%).

3.5.2. Variabel Terikat (Dependent Variable)

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat, karena adanya variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan.

3.6. Definisi Operasional Variabel

Tabel 3. 1 Tabel Definisi Operasional Variabel

No.	Variabel	Definisi Operasional	Metode dan Alat Ukur	Skala Ukur
1.	Variasi formulasi	<i>Face mist</i> yang diformulasikan daun pandan dengan berbagai konsentrasi (F0, F1, F2, F3, F4, dan F5).	-	Nominal
2.	Aktivitas antioksidan	Aktivitas antioksidan dari formulasi <i>face mist</i> daun pandan yang dinyatakan dengan % inhibisi yang diukur menggunakan Spektrofotometri UV-Vis.	Uji DPPH dan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis	Rasio

3.7. Prosedur Penelitian

3.7.1. Pembuatan Simplisia

Daun pandan wangi disortasi basah dengan memilih daun pandan yang tua, daun dicuci dengan air mengalir, dan dirajang secara melintang dengan ukuran 2 cm. Setelah itu, pengeringan dilakukan pada 60°C menggunakan pemanasan oven. Daun pandan wangi yang sudah kering ditandai dengan dapat diremah. Setelah itu, dilakukan sortasi kering dan penyerbukan menggunakan grinder (Setiyanto dkk., 2024).

3.7.2. Pembuatan Ekstrak Daun Pandan

Metode yang digunakan yaitu maserasi (Setiyanto, Amalia, dkk., 2024) dengan cara sebanyak 400 gram simplisia daun pandan yang telah halus dimasukkan ke dalam

toples dan ditambah 4 L Etanol 70%. Campuran didiamkan selama 72 jam sambil diaduk sesekali. Pada tahap selanjutnya, penyaringan ekstrak menggunakan kertas saring dan corong gelas. Setelah itu, filtrat diuapkan menggunakan *waterbath* hingga mengental. Suhu yang digunakan pada saat penguapan yaitu 45°C.

3.7.3. Pembuatan Formulasi *Face Mist*

Proses pembuatan sediaan *face mist* dimulai dengan menimbang seluruh bahan yang digunakan sesuai formulasi pada tabel 3.2. Ekstrak daun pandan sebagai bahan aktif ditimbang sesuai konsentrasi masing-masing formulasi, yaitu 0,5%, 1%, dan 2% untuk formula F2, F3, F4, dan F5. Formulasi kontrol negatif tidak mengandung ekstrak. Sedangkan, formula F2 tidak menggunakan vitamin E, formula F1 menggunakan vitamin E tanpa ekstrak daun pandan. Formulasi *face mist* kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass dengan diaduk menggunakan batang pengaduk (Nofita dkk., 2024).

Bahan-bahan tambahan seperti gliserin sebagai pelembab sebanyak 10 mL, PVP sebagai stabilisator sebanyak 1 gram, Vit E sebagai pengawet sebanyak 0,02 gram, dan ekstrak daun pandan pada masing-masing formula. Setelah itu ditambah aquades sebagai pelarut sampai volume 100 mL. Kemudian masukkan ke dalam botol spray (Nofita dkk., 2024). Tabel berikut menyajikan formulasi pembuatan *face mist*:

Tabel 3. 2 Formulasi *face mist*

Kode	Ekstrak daun pandan	Vit E (Pengawet)	Gliserin (Pelembab)	PVP (Stabilisator)	Aquades (Pelarut)
F0	-	-	10%	1%	Add 100 mL
F1	-	0,02%	10%	1%	Add 100 mL
F2	0,5%	-	10%	1%	Add 100 mL
F3	0,5%	0,02%	10%	1%	Add 100 mL
F4	1%	0,02%	10%	1%	Add 100 mL
F5	2%	0,02%	10%	1%	Add 100 mL

Keterangan:

- F0 = Formulasi *face mist* tanpa vit E
- F1 = Formulasi *face mist* dengan vit E
- F2 = Formulasi *face mist* dengan ekstrak daun pandan 0,5% tanpa vit e
- F3 = Formulasi *face mist* ekstrak daun padan 0,5%
- F4 = Formulasi *face mist* ekstrak daun pandan 1%
- F5 = Formulasi *face mist* ekstrak daun pandan 2%

3.7.4. Evaluasi Fisikokimia *Face Mist*

a. Organoleptik

Pengujian organoleptik meliputi pengamatan bau, warna, dan bentuk dari formulasi yang telah diformulasikan (Rahmawati dkk., 2025).

b. Uji Homogenitas

Pengujian homogenitas dilaksanakan dengan cara mengambil sedikit sediaan kemudian digojok untuk melihat apakah sediaan yang dibuat terdapat endapan dan gumpalan (Nofita dkk., 2024). Setelah itu, *face mist* disemprotkan pada mika bening, sediaan harus menunjukkan tidak ada partikel kasar (Asjur dkk., 2023)

c. pH

Alat yang digunakan untuk menguji pH adalah pH meter. Menggunakan alat tersebut sediaan diuji setelah dilakukan kalibrasi. Agar aman digunakan pada kulit, formulasi *face mist* disyaratkan berada pada rentang pH antara 4,5 hingga 6,5 karena rentang ini diharapkan dapat mencegah iritasi kulit (Asjur dkk., 2023).

d. Bobot jenis

Pengujian bobot jenis dilakukan dengan penimbang piknometer kosong (W0), penimbang piknometer dengan air (W1), dan penimbangan pinometer dengan sampel (W2). Setelah memperoleh hasil penimbangan dilakukan

perhitungan kerapatan sampel dan air. Kerapatan (P) merupakan suatu besaran yang menyatakan perbandingan antara massa (g) dengan volume (mL), sehingga satuan kerapatan (P) g/mL (Nofita dkk., 2024). Kemudian bobot jenis diperoleh dari perbandingan antara kerapatan sampel dengan kerapatan air. Sediaan *face mist* harus memenuhi persyaratan sesuai SNI 16-4949-1998 tentang *eau de cologne, eau de toilette, eau de parfum*, yaitu 0,7-1,2.

e. Daya Sebar

Pengujian daya sebar dilakukan dengan mengaplikasikan *face mist* melalui penyemprotan pada plastik mika dengan jarak 5 cm dan diukur menggunakan penggaris. Sediaan *face mist* yang baik memiliki kemampuan daya sebar 5-7 cm (Herliningsih & Anggraini, 2021).

f. Waktu kering

Pengujian waktu kering dilakukan dengan mengaplikasikan *face mist* pada kulit lengan bagian dalam dan tunggu waktu hingga mengering sepenuhnya yang diukur menggunakan stopwatch. Waktu kering yang baik adalah kurang dari 5 menit (Kusumasedya dkk., 2025).

3.7.5. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

a. Pembuatan Larutan Induk DPPH

Menurut metode yang dikembangkan oleh (Tristantini dkk., 2016) untuk menguji aktivitas antioksidan, metode yang digunakan oleh penelitian tersebut adalah DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Pembuatan larutan induk DPPH dibuat melalui tahap-tahap berikut, langkah pertama timbang sebanyak 5 mg DPPH. Selanjutnya, masukkan ke dalam labu ukur 100 mL yang terlindungi cahaya menggunakan aluminium foil. Kemudian, larutkan dengan metanol p.a hingga mencapai tanda batas pada labu ukur. Terakhir, kocok hingga homogen dan diperoleh larutan induk 50 ppm.

b. Pembuatan Larutan Blanko

Larutan blanko dibuat dengan cara memipet sebanyak 1 mL larutan induk DPPH 50 ppm ke dalam labu ukur 5 mL yang sebelumnya telah dilapisi

dengan aluminium foil. Volume larutan kemudian dicukupkan dengan metanol p.a hingga tanda batas labu ukur. Kemudian, dikocok hingga homogen. Sebelum dilakukan pengukuran nilai absorbansi, larutan tersebut terlebih dahulu diinkubasi selama 30 menit.

c. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Prosedur diawali dengan memipet 2 mL larutan induk DPPH 50 ppm ke dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya, dilakukan pengenceran menggunakan metanol p.a hingga mencapai tanda batas labu ukur dan dihomogenkan. Kemudian, larutan tersebut dimasukkan ke dalam kuvet untuk diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 200-600 nm (Nofita dkk., 2024).

d. Pembuatan Larutan Induk Asam askorbat 100 ppm

Pembuatan asam askorbat 100 ppm dibuat dengan menimbang 1 mg asam askorbat, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a dan dimasukkan dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya dicukupkan volume hingga tanda batas (Kusumasedya dkk., 2025).

e. Pengukuran Kurva Kalibrasi dengan Standar Asam Askorbat

Pembuatan deret konsentrasi asam askorbat 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm dilakukan melalui pemipetan larutan induk 100 ppm masing-masing sebanyak 0,2 mL, 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL, dan 1,0 mL ke dalam labu ukur 10 mL yang terpisah. Pada setiap labu, ditambahkan 1 mL larutan DPPH. Kemudian, volume dicukupkan dengan metanol p.a hingga tanda batas labu ukur. Larutan tersebut dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit di dalam ruang gelap. Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Abdullah dkk., 2020).

f. Pembuatan larutan sampel

Persiapan larutan sampel dengan konsentrasi 100 ppm dilakukan melalui pemipetan masing-masing 2,5 mL *face mist* formulasi F0-F5 ke dalam labu ukur 100 mL. Kemudian, larutan tersebut ditambahkan dengan metanol p.a hingga tanda batas dan kocok sampai homogen.

g. Pengukuran Kadar Antioksidan Sampel

Dari larutan sampel 100 ppm kemudian dibuat seri konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm dengan dipipet sebanyak 0,2 mL, 0,4 mL, 0,6mL, 0,8 mL, dan 1 mL. Kemudian masing-masing larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambakahkan 1 mL larutan induk DPPH, selanjutnya dilarutkan dengan metanol p.a hingga tanda batas. Masing-masing labu ukur ditutupi alumunium foil dan sampel diinkubasi selama 30 menit. Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan sebanyak 3 replikasi. Aktivitas antioksidan disajikan dalam persen inhibisi.

3.8. Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

Penelitian ini menggunakan analisis data kuantitatif dan kualitatif deskriptif, khususnya dengan meneliti hasil uji fisikokimia dan aktivitas antioksidan pada *face mist* ekstrak daun pandan wangi. Hasil data pengujian fisikokimia disajikan dalam bentuk tabel dan dideskripsikan secara kualitatif. Data aktivitas antioksidan berupa nilai absorbansi dari hasil pengukuran formulasi *face mist* F0, F1, F2, F3, F4, dan F5 masing-masing terhadap radikal bebas menggunakan spektrofotometri UV-Vis yang disajikan dalam bentuk tabel.

Nilai absorbansi digunakan untuk menghitung persentase inhibisi yang dikalkulasikan dengan rumus:

$$\%Inhibisi = \frac{Absorbansi\ Blanko - Absorbansi\ Sampel}{Absorbansi\ blanko} \times 100\%$$

Keterangan:

Abs Blanko = Absorbansi DPPH + metanol p.a

Abs Sampel = Absorbansi DPPH + sampel

Hasil perhitungan pesentase inhibisi disajikan dalam bentuk tabel. Dari perhitungan persentase inhibisi dapat dibuat grafik hubungan antara konsentrasi sampel (x) dengan persentase inhibisi (y) yang menghasilkan persamaan regresi linear $y=bx+a$. Dari

persamaan tersebut dapat dihitung nilai IC_{50} perhitungan ini menggunakan rumus sebagai berikut:

$$IC_{50} = \frac{(50-a)}{b}$$

Hasil perhitungan IC_{50} disajikan dalam bentuk tabel dan dianalisis secara deskriptif untuk mengkategorikan kekuatan aktivitas antioksidan dari masing-masing formulasi. Berikut tabel penyajian dan analisis data:

Tabel 3. 3 Penyajian data absorbansi deret larutan standar asam askorbat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	IC_{50}
Blanko		
2		
4		
6		
8		
10		

Tabel 3. 4 Penyajian data hasil absorbansi larutan uji

Formula	Konsentrasi	Absorbansi		
		Rep 1	Rep 2	Rep 3
F0	Blanko			
	2 ppm			
	4 ppm			
	6 ppm			
	8 ppm			
	10 ppm			
F1	Blanko			

	2 ppm			
	4 ppm			
	6 ppm			
	8 ppm			
	10 ppm			
F2	Blanko			
	2 ppm			
	4 ppm			
	6 ppm			
	8 ppm			
	10 ppm			
F3	Blanko			
	2 ppm			
	4 ppm			
	6 ppm			
	8 ppm			
	10 ppm			
F4	Blanko			
	2 ppm			
	4 ppm			
	6 ppm			
	8 ppm			
	10 ppm			
F5	Blanko			
	2 ppm			
	4 ppm			
	6 ppm			
	8 ppm			
	10 ppm			

Tabel 3. 5 Penyajian data %inhibisi

Formula	Konsentrasi	%inhibisi		
		REP 1	REP 2	REP 3
F0	2 ppm			
	4 ppm			
	6 ppm			
	8 ppm			
	10 ppm			
F1	2 ppm			
	4 ppm			
	6 ppm			
	8 ppm			
	10 ppm			
F2	2 ppm			
	4 ppm			
	6 ppm			
	8 ppm			
	10 ppm			
F3	2 ppm			
	4 ppm			
	6 ppm			
	8 ppm			
	10 ppm			
F4	2 ppm			
	4 ppm			
	6 ppm			
	8 ppm			

	10 ppm			
F5	2 ppm			
	4 ppm			
	6 ppm			
	8 ppm			
	10 ppm			

Tabel 3. 6 Penyajian data hasil IC₅₀

Formulasi	Replikasi	Nilai IC₅₀ (ppm)	Rata- rata (ppm)	Kesimpulan
F0	1			
	2			
	3			
F1	1			
	2			
	3			
F2	1			
	2			
	3			
F3	1			
	2			
	3			
F4	1			
	2			
	3			
F5	1			
	2			
	3			

Tabel 3. 7 Penyajian data uji organolpetis

Formula	Replikasi	Bentuk	Warna	Bau
F0	1			
	2			
	3			
F1	1			
	2			
	3			
F2	1			
	2			
	3			
F3	1			
	2			
	3			
F4	1			
	2			
	3			
F5	1			
	2			
	3			

Tabel 3. 8 Penyajian data uji homogenitas, pH, bobot jenis, daya sebar, dan waktu kering

Formulasi						
Replikasi	F0	F1	F2	F3	F4	F5
1						
2						
3						