

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental, yaitu penelitian yang keseluruhan pengerjaannya mulai dari persiapan bahan hingga pengujian sampel dilakukan dalam laboratorium.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April sampai Mei 2026 di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang dilakukan untuk proses pembuatan ekstrak dan formulasi *face mist*. Selanjutnya dilakukan proses evaluasi dan pengujian aktivitas antioksidan *face mist* di Laboratorium Kimia Analitik Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang

3.3. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi merupakan keseluruhan objek yang akan diteliti, sedangkan suatu objek yang dianggap mewakili populasi dan akan dijadikan objek penelitian disebut dengan sampel. Dalam jenis penelitian eksperimental yang dilakukan di laboratorium, objek penelitian yang digunakan berupa bahan yang akan diujikan. Sehingga, populasi dalam penelitian ini adalah seluruh formula *face mist* dari kombinasi ekstrak bengkuang dan mentimun yang dapat dikembangkan. Kemudian sampelnya adalah sediaan *face mist* yang diformulasikan berdasarkan variasi perbandingan ekstrak bengkuang dan ekstrak mentimun sebanyak 5 formulasi (0:1, 2:1, 1:1, 1:2, dan 1:0) serta 2 formulasi tambahan (tanpa ekstrak dan tanpa ekstrak + vitamin E).

3.4. Alat dan bahan

3.4.1. Alat

Alat – alat yang dibutuhkan dalam penelitian ini, diantaranya grinder, neraca analitik, spatula, batang pengaduk, wadah kaca maserasi, gelas ukur 100 ml, pipet tetes, pipet ukur (1 ml, 2 ml, 10 ml), pipet pump, botol semprot, corong gelas, rotary evaporator, cawan porselin, waterbath, beaker glass (50 ml, 100 ml, dan 250 ml), hotplate stirrer, magnetic stirrer, botol spray, kaca arloji, botol timbang, tabung

reaksi, rak tabung reaksi, stopwatch, pH meter, piknometer 10 ml, labu ukur (5 ml, 10 ml, 25 ml), kuvet, dan spektrofotometri UV-Vis.

3.4.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain umbi bengkuang, buah mentimun, etanol 70%, akuades, asam askorbat, DPPH, akuades, gliserin, PVP (*Polyvinyl pyrrolidone*), Vitamin E, metanol p.a, aluminium foil dan silika gel.

3.5. Variabel Penelitian

3.5.1. Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan faktor yang mengubah atau mempengaruhi nilai variabel terikat (Agustian dkk., 2019). Sehingga, dalam penelitian ini variabel bebasnya adalah formulasi *face mist* dengan perbandingan konsentrasi ekstrak bengkuang dan mentimun (0:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:0, formulasi tanpa ekstrak, serta formulasi tanpa ekstrak dan vitamin e).

3.5.2. Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan suatu faktor yang dipengaruhi atau yang berubah karena adanya variabel bebas (Agustian dkk., 2019). Sehingga, dalam penelitian ini variabel terikatnya adalah aktivitas antioksidan yang ada dalam formulasi *face mist*.

3.6. Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional Variabel

No	Nama Variabel	Definisi	Metode dan Alat Pengukuran	Skala Pengukuran
1.	Formula <i>Face mist</i>	<i>Face mist</i> yang diformulasikan dengan penambahan ekstrak bengkuang dan mentimun dalam jumlah yang berbeda	-	Rasio
2.	Aktivitas Antioksidan	Hasil antioksidan pada formulasi <i>face mist</i> yang	Menggunakan metode DPPH dan diukur menggunakan	Rasio

No	Nama Variabel	Definisi	Metode dan Alat Pengukuran	Skala Pengukuran
	Formulasi <i>Face mist</i>	mampu menetralkan radikal bebas dari DPPH	spektrofotometer uv-vis untuk memperoleh nilai IC ₅₀	

3.7. Prosedur Penelitian

3.7.1. Pengolahan Sampel

Simplisia kering umbi bengkuang diperoleh dari toko Nature Farm yang dibeli secara online. Selanjutnya simplisia ini dihaluskan menggunakan grinder dan disimpan dalam wadah tertutup yang sudah diberi silika gel untuk menyerap kelembaban. Sedangkan untuk buah mentimun diperoleh langsung dalam bentuk serbuk dari toko Mustika Djamue yang dibeli secara online. Kemudian serbuk simplisia ini disimpan dalam wadah tertutup dan diberi silika gel.

3.7.2. Pembuatan Ekstrak

Ekstrak bengkuang dan mentimun diperoleh dari proses maserasi, dimana sampel ditimbang sebanyak 300 gram. Kemudian ditambah pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10 atau sebanyak 3000 ml. Proses maserasi ini dilakukan dalam wadah tertutup berbahan kaca selama 3x24 jam dengan dilakukan pengadukan sesekali. Setelah didapatkan ekstrak dalam bentuk cair, dilakukan proses penguapan pelarut menggunakan rotary evaporator dan waterbath pada suhu 60°C sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental ini kemudian disimpan dalam wadah tertutup dan dihitung rendemen ekstraknya (Adah dkk., 2025).

3.7.3. Pembuatan Formulasi *Face mist*

Ekstrak bengkuang dan mentimun ditimbang sesuai dengan rancangan formulasi *face mist* menggunakan neraca analitik. Selanjutnya ekstrak dilarutkan menggunakan akuades hangat sampai larut sempurna. Sementara itu, disiapkan gliserin sebanyak 10 ml dan dimasukkan dalam beaker glass lalu tambah sedikit akuades. Kemudian gliserin dipanaskan diatas hotplate sampai larutan gliserin menjadi hangat. Setelah larutan gliserin hangat, ditambahkan vitamin e sebanyak 0,02 gram dan aduk kuat sampai vitamin e larut. Sesudahnya tambahkan PVP 1 gram yang sebelumnya sudah dilarutkan dengan akuades panas. Kemudian angkat

beaker glass dari hot plate baru ditambahkan larutan ekstrak dan aduk hingga homogen. Setelah semua bahan tercampur sempurna cukupkan *face mist* dengan akuades dalam labu ukur 100 ml dan homogenkan. Setelahnya, *face mist* yang sudah jadi dimasukkan dalam botol spray dan diberi label (Safitri dkk., 2025; Wahyuningsih dkk., 2023).

Tabel 3. 2 Formulasi *Face mist*

Nama Bahan	Fungsi	Formulasi						
		0	1	2	3	4	5	6
Ekstrak Umbi Bengkuang	Bahan aktif	-	-	2 g	1,5 g	1 g	3 g	-
Ekstrak Buah Mentimun	Bahan aktif	-	3 g	1 g	1,5 g	2 g	-	-
Gliserin	Pelembab dan pelembut	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml
PVP (<i>Polyvinyl pyrrolidone</i>)	Stabilisator	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g	1 g
Vitamin E	Pengawet	-	0,02 gram	0,02 gram	0,02 gram	0,02 gram	0,02 gram	0,02 gram
		Ad	Ad	Ad	Ad	Ad	Ad	Ad
Akuades	Pelarut	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml

3.7.4. Evaluasi Mutu Sediaan *Face mist*

Beberapa evaluasi mutu pada sediaan *face mist* yang telah dibuat, diantaranya:

a. Uji Organoleptik

Pengujian organoleptik pada formulasi ini dilakukan dengan melakukan pengamatan bau, warna, dan bentuk dari sediaan *face mist* yang dibuat (Rahmawati dkk., 2025).

b. Uji Homogenitas

Pengujian homogenitas dilakukan dengan mengocok sediaan secara perlahan lalu dilihat ada tidaknya gumpalan dalam larutan (Nofita dkk., 2024).

c. Uji pH

Pengujian pH dilakukan menggunakan pH meter yang sudah dikalibrasi dengan larutan buffer standar pH 4 dan pH 7. Formulasi *face mist* ini harus memenuhi persyaratan rentang pH kulit, yaitu antara 4,5-6,5. Sehingga, apabila formulasi berada pada rentang ini diharapkan tidak menyebabkan iritasi pada kulit (Herliningsih dan Anggraini, 2021).

d. Uji Bobot Jenis

Pengujian bobot jenis dilakukan dengan membandingkan rasio berat suatu zat (sampel) dengan zat baku (akuades) dalam volume dan suhu yang sama. Langkah pertama yang dilakukan adalah menghitung densitas sampel dan akuades dengan menimbang piknometer kosong (w_0), piknometer yang berisi akuades (w_1), serta piknometer yang berisi akuades (w_2). Hasil densitasnya nanti akan dicatat dan dihitung dengan membandingkan densitas sampel dan densitas akuades. Formulasi *face mist* ini diharapkan memenuhi SNI 16-4949-1998 tentang sediaan *eau de cologne*, *eau de toilette*, dan *eau de parfum*, yaitu pada rentang 0,7-1,2 (Badan Standardisasi Nasional, 1998).

Rumus Densitas

$$\rho = \frac{w_{1/2} - w_0}{w_0}$$

Rumus Bobot Jenis

$$\text{Bobot jenis} = \frac{\rho_{\text{sampel}}}{\rho_{\text{aquades}}}$$

e. Uji Daya Sebar

Pengujian daya sebar dilakukan dengan menyemprotkan *face mist* dengan jarak sekitar 5 cm pada kertas mika. Kemudian diukur diameter sebaran semprotannya menggunakan penggaris. Hasil daya sebar diharapkan memenuhi rentang daya sebar *face mist*, yaitu sekitar 5-7 cm (Herliningsih dan Anggraini, 2021).

f. Uji Waktu Kering

Pengujian waktu kering dilakukan dengan menyemprotkan sediaan pada sisi dalam lengan, lalu hitung waktu yang diperlukan hingga *face mist* kering. Hasil waktu kering *face mist* yang memenuhi kriteria baik adalah kurang dari 5 menit (Kusumasedya dkk., 2025).

3.7.5. Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan pada formulasi *face mist* menggunakan metode DPPH dilakukan dengan mengikuti penelitian yang sudah dilakukan oleh Kusumasedya dkk. (2025).

a. Pembuatan Larutan Induk DPPH 50 ppm

Padatan DPPH ditimbang sebanyak 5 mg menggunakan neraca analitik, lalu dimasukkan dalam labu ukur 100 ml yang sudah dibungkus dengan aluminium foil untuk menghindari cahaya. Selanjutnya tambahkan larutan metanol p.a sampai tanda batas dan larutan dihomogenkan. Pembuatan larutan ini harus dilakukan secara cepat dan simpan larutan dalam ruangan gelap. Selain itu, larutan ini harus dibuat fresh atau dengan kata lain langsung dipakai setelah dibuat (Tristantini dkk., 2016).

b. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

Larutan Induk DPPH 50 ppm dipipet sebanyak 1 ml kemudian dicukupkan dengan larutan metanol p.a dalam labu ukur 5 ml yang sudah dibungkus dengan aluminium foil. Selanjutnya ukur absorbansinya dengan rentang panjang gelombang antara 200-400 nm (Nofita dkk., 2024).

c. Pembuatan Larutan Kontrol Negatif (Blanko)

Larutan Induk DPPH 50 ppm dipipet sebanyak 1 ml kemudian dicukupkan dengan larutan metanol p.a dalam labu ukur 5 ml yang sudah dibungkus dengan aluminium foil. Larutan dihomogenkan dan didiamkan dalam ruangan gelap untuk menghindari cahaya selama 30 menit. Selanjutnya ukur absorbansi larutan menggunakan spektrofotometer uv-vis sesuai pengukuran panjang gelombang maksimumnya.

d. Pembuatan Larutan Standar Vitamin C 100 ppm

Asam askorbat serbuk ditimbang sebanyak 1 mg menggunakan neraca analitik, lalu masukkan dalam labu ukur 10 ml. kemudian dilarutkan asam askorbat menggunakan metanol p.a sampai tanda batas dan homogenkan larutan.

e. Pengukuran Kurva Kalibrasi Standar Vitamin C

Larutan induk vitamin C dipipet sebanyak 0,2 ml; 0,4 ml; 0,6 ml; 0,8 ml; dan 1 ml kedalam labu ukur 10 ml. Selanjutnya setiap labu ukur

ditambahkan 1 ml larutan induk DPPH 50 ppm. Kemudian tambahkan metanol p.a sampai tanda batas dan homogenkan larutan. Dari pengenceran ini akan didapatkan konsentrasi vitamin C sebesar 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Selanjutnya larutan didiamkan dalam ruangan gelap untuk menghindari cahaya selama 30 menit, lalu ukur absorbansi larutan seri menggunakan spektrofotometer uv-vis sesuai panjang gelombang maksimum yang didapatkan. Dari hasil pengukuran ini akan diperoleh kurva kalibrasi standar yang berisi persamaan regresi linear ($y = bx + a$) dan nilai koefisien determinasi (r^2) (Abdullah dkk., 2020).

f. Pembuatan Larutan Induk *Face mist* 40 ppm

Pembuatan larutan induk *face mist* dilakukan dengan memipet masing-masing formulasi mulai dari F0, F1, F2, F3, F4, F5, dan F6 sebanyak 2,5 ml ke dalam labu ukur 25 ml. Kemudian ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas dan larutan dihomogenkan. Sehingga, didapatkan larutan induk *face mist* dengan konsentrasi 40 ppm.

g. Pengukuran Kadar Antioksidan Sampel *Face mist*

Larutan induk *face mist* yang sudah dibuat dipipet sebanyak 0,2 ml; 0,4 ml; 0,6 ml; 0,8 ml; dan 1 ml ke dalam labu ukur 10 ml yang sudah dibungkus dengan aluminium foil. Selanjutnya setiap labu ukur ditambahkan 1 ml larutan induk DPPH 50 ppm. Kemudian ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas dan homogenkan larutan. Sehingga, akan diperoleh seri konsentrasi *face mist* sebesar 0,8 ppm, 1,6 ppm, 2,4 ppm, 3,2 ppm, dan 4 ppm. Larutan didiamkan dalam ruangan gelap untuk menghindari cahaya selama 30 menit, lalu ukur absorbansi larutan seri menggunakan spektrofotometer uv-vis sesuai panjang gelombang maksimum yang didapatkan. Selanjutnya lakukan pengujian ini pada setiap formulasi yang sudah dibuat. Dari pengukuran ini akan diperoleh absorbansi sampel, sehingga dapat dilakukan perhitungan % inhibisi menggunakan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel})}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Setelah didapatkan % inhibisi, dilakukan perhitungan nilai IC_{50} sampel *face mist* dengan membuat kurva grafik linear menggunakan

konsentrasi sampel (x) dan % inhibisi (y), sehingga akan didapatkan persamaan regresi linear ($y = bx + a$). Dari hasil persamaan regresi linear ini dihitung nilai IC_{50} menggunakan rumus:

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

3.8. Pengolahan, Penyajian, dan Analisis Data

Pada penelitian ini akan diperoleh beberapa data yang diambil dari pengujian fisik *face mist* dan uji aktivitas antioksidan. Dalam pengujian fisik akan diperoleh beberapa data yang nantinya akan dianalisis secara deskriptif dan dibandingkan dengan persyaratan yang ada. Data-data ini juga disajikan dalam bentuk tabel hasil pemeriksaan seperti berikut:

Tabel 3. 3 Penyajian Data Uji Organoleptik

Formulasi	Replikasi	Bentuk	Warna	Bau
0				
1				
2				
3				
4				
5				
6				

Tabel 3. 4 Penyajian Data Uji Homogenitas

Formulasi	Uji Homogenitas
0	
1	
2	
3	
4	
5	
6	

Tabel 3. 5 Penyajian Data Uji Fisik

Formulasi	Kriteria Pengujian			Keterangan
	R1	R2	R3	
0				
1				

Formulasi	Kriteria Pengujian			Keterangan
	R1	R2	R3	
2				
3				
4				
5				
6				

Keterangan:

Pada kriteria pengujian akan diubah dengan nama pengujian fisik yang dilakukan beserta satuannya, meliputi:

1. Uji pH
2. Uji Bobot Jenis
3. Uji Daya Semprot (satuan cm)
4. Uji Waktu Kering (satuan menit)

Selanjutnya dalam pengujian aktivitas antioksidan akan diperoleh data berupa absorbansi blanko dan absorbansi sampel *face mist* yang akan digunakan untuk menghitung % inhibisi. Dari konsentrasi sampel dan % inhibisi ini akan dibuat kurva regresi linear untuk menghitung nilai IC_{50} . Data-data ini nantinya akan disajikan dalam bentuk tabel untuk mempermudah dalam menilai aktivitas antioksidan mana yang paling baik dalam bentuk IC_{50} . Selanjutnya data ini dianalisis secara statistik menggunakan metode uji one way anova dengan tingkat signifikan $p < 0,05$. Uji ini dilakukan untuk melihat apakah ada perbedaan yang signifikan antar formulasi *face mist* yang sudah dibuat.