

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode penelitian *experimental laboratory*, yang dilakukan secara kuantitatif menggunakan sampel minyak biji bunga matahari (*Helianthus annus L.*). Penelitian diawali dengan melakukan formulasi sediaan *face mist* dari minyak biji bunga matahari (*Helianthus annus L.*), serta dilakukan uji karakteristik fisik sediaan *face mist*. Langkah selanjutnya dilakukan uji antioksidan sediaan *face mist* minyak biji bunga matahari menggunakan metode ABTS.

B. Lokasi Penelitian

1. Penyiapan sampel minyak biji bunga matahari (*Helianthus annus L.*) dan skrining fitokimia dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Program studi Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Ngudi Waluyo.
2. Formulasi *face mist* minyak biji bunga matahari (*Helianthus annus L.*) dilakukan di Laboratorium Teknologi Program studi Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Ngudi Waluyo.
3. Pengujian karakteristik fisik *face mist* minyak biji bunga matahari (*Helianthus annus L.*) meliputi uji organoleptis, uji pH, uji bobot jenis, uji daya sebar semprot, uji waktu kering, uji homogenitas, uji viskositas, dan uji kelembaban wajah yang dilakukan di Laboratorium Teknologi Program studi Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Ngudi Waluyo.
4. Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS dilakukan di

Laboratorium Instrumen, Program Studi Farmasi, Universitas Ngudi Waluyo.

C. Subjek Penelitian

Subjek dalam penelitian ini adalah minyak biji bunga matahari (*Helianthus annus L.*) yang diperoleh dari online shop Darjeeling Official Shop Kota Bandung yang telah mendapatkan izin edar dengan nomor TR236047751 serta nomor BPOM, nomor Halal, serta mendapatkan COA.

D. Definisi Operasional

1. Formulasi *face mist* minyak biji bunga matahari (*Helianthus annuus L.*) merupakan proses pembuatan sediaan kosmetik dalam bentuk *face mist* yang mengandung minyak biji bunga matahari (*Helianthus annuus L.*) dengan konsentrasi 3%, 5%, 7%, serta bahan yang lain meliputi gliserin, PVP, DMDM Hydantoin, Tween 80, dan aquadest. Formulasi ini untuk menciptakan *face mist* yang melembabkan untuk kulit.
2. pH merupakan indikator tingkat keasaman agar tidak mengiritasi kulit sesuai dengan pH kulit 4,5 hingga 8,0. Dilakukan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi dengan larutan buffer pH 4 dan pH 7.
3. Bobot jenis merupakan pengujian untuk mengukur kepadatan sediaan *face mist* menggunakan piknometer untuk memastikan bahwa bobot jenis berada dalam jarak yang sesuai untuk sediaan cair topikal (0,7 - 1,2 g/mL).
4. Daya sebar semprot digunakan untuk mengukur seberapa luas penyebaran sediaan *face mist* setelah disemprotkan pada kulit dengan satu kali semprot dengan jangkauan optimal antara 5 hingga 7 cm.

5. Waktu kering merupakan pengujian yang dilakukan untuk menentukan waktu yang diperlukan *face mist* untuk mengering dipermukaan kulit setelah diaplikasikan dengan waktu ideal tidak lebih dari 5 menit.
6. Uji homogenitas adalah pengujian yang dilakukan untuk melihat sediaan *face mist* tercampur secara merata. Pengujian ini dilakukan dengan cara mengocok (menggojok) sediaan terlebih dahulu, lalu diamati ada atau tidaknya gumpalan, endapan, atau pemisahan lapisan. Sediaan yang baik seharusnya tampak merata dan stabil setelah dikocok.
7. Uji viskositas bertujuan untuk mengukur tingkat kekentalan *face mist*, yang memengaruhi kenyamanan saat digunakan. Pengukuran dilakukan menggunakan viskometer Brookfield dengan spindle nomor 1 pada kecepatan 30 rpm. Syarat viskositas yang baik untuk sediaan spray yaitu kurang dari 150 cP.
8. Uji kelembaban merupakan pengujian yang dilakukan menggunakan alat *Skin Analyzer* untuk mengukur kelembaban kulit sebelum dan setelah aplikasi *face mist*.
9. Aktivitas antioksidan adalah kemampuan sediaan *face mist* untuk menetralkan radikal bebas, diukur menggunakan metode ABTS, yang menunjukkan seberapa efektif sediaan dalam melindungi kulit dari kerusakan oksidatif. IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%*) merupakan konsentrasi senyawa antioksidan yang dapat menghambat 50% proses oksidasi.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Independen (Bebas)

Variabel bebas pada penelitian ini adalah formulasi sediaan *face mist* minyak biji bunga matahari dengan konsentrasi 3%, 5%, 7%.

2. Variabel Dependen (Terikat)

Variabel terikat pada penelitian ini adalah karakteristik fisik dari sediaan *face mist* meliputi meliputi uji organoleptis, uji pH, uji bobot jenis, uji daya sebar semprot, uji waktu kering, uji homogenitas, uji viskositas, uji kelembaban serta uji aktivitas antioksidan metode ABTS.

3. Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini meliputi panelis, konsentrasi bahan baku utama dan tambahan, suhu, dan waktu.

F. Pengumpulan Data

1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan analitik (ohaus px 224 E), label, beaker glass (iwaki), kompor listrik (maspion S300), pH meter (ohaus), piknometer (pyrex), batang pengaduk, plastic mika, penggaris, botol spray, *skin analyzer*, viskometer brookfield (brookfield DV2T), tabung reaksi, pipet tetes, pipet volume, ball pipet. labu ukur, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1800).

2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu minyak biji bunga matahari (*Helianthus annus L.*) yang diperoleh Darjeeling Official Shop

Kota Bandung, gliserin, PVP (Polivinilpirolidon), DMDM hydantoin, tween 80, aquadest (*technical grade*), HCl, pereaksi dragendorff dan mayer, H₂SO₄ pekat, metanol, Etanol p.a (*analytical grade*), feriklorida 1%, asam asetat glasial, serbuk ABTS (*analytical grade*), kalium persulfat (*Laboratory Grade*), kuersetin (*Laboratory Grade*).

3. Skrining Fitokimia Minyak Biji Bunga Matahari

a. Alkaloid

Minyak biji bunga matahari dilarutkan dalam 10 mL HCl, kemudian larutan tersebut dibagi ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung pertama digunakan sebagai blanko, tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff, dan tabung ketiga ditambahkan 3 tetes pereaksi Mayer. Adanya endapan jingga pada tabung kedua dan endapan putih hingga kekuningan pada tabung ketiga menunjukkan keberadaan alkaloid (Rubianti *et al.*, 2022).

b. Flavonoid

Minyak biji bunga matahari sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditetesi dengan H₂SO₄ pekat. Reaksi positif ditunjukkan dengan munculnya perubahan warna menjadi hijau kekuningan atau hijau kehitaman, yang mengindikasikan adanya kandungan flavonoid (Rukmini *et al.*, 2020).

c. Saponin

Minyak biji bunga matahari ditambahkan 15 mL air panas, kemudian didinginkan dan dikocok kuat selama 15 detik. Buih yang stabil dengan

ketinggian 1-15 cm terbentuk dan bertahan selama setidaknya 15 menit.

Setelah penambahan HCl (Rubianti *et al.*, 2022).

d. Tanin

Sebanyak 2 mL sampel ditambahkan 1 mL metanol dan beberapa tetes larutan feriklorida 1%. Munculnya warna coklat kehijauan menandakan adanya kandungan tanin (Adolph, 2016).

e. Triterpenoid dan Steroid

Sebanyak 1 ml sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan asam asetat glasial dan didiamkan selama sekitar 15 menit. Enam tetes larutan sampel diambil menggunakan pipet, kemudian dimasukkan ke tabung reaksi lain dan ditambahkan 2-3 tetes H₂SO₄. Munculnya warna kecoklatan atau violet menunjukkan keberadaan triterpenoid, sedangkan warna biru kehijauan menandakan adanya steroid (Khafid *et al.*, 2023).

4. Formulasi *Face mist* Minyak Biji Bunga Matahari

Formulasi *face mist* minyak biji bunga matahari yang dimodifikasi menurut (A. N. Sari *et al.*, 2023) dapat dilihat pada tabel 3.1 berikut:

Nama Bahan	Konsentrasi Formula (%)				Kegunaan
	F0	F1	F2	F3	
Minyak Biji Bunga Matahari	-	3	5	7	Zat aktif
Gliserin	5	5	5	5	Pelembab dan pelembut
PVP	0,5	0,5	0,5	0,5	Polimer
DMDM Hydantion	0,1	0,1	0,1	0,1	Pengawet
Tween 80	4	4	4	4	Surfaktan
Aquadest	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Pelarut

Pembuatan *face mist* diawali dengan melarutkan PVP (Polivinilpirolidin) dengan air hangat kemudian mengaduknya hingga larut. Selanjutnya gliserin dimasukkan dalam beaker glass, lalu menambahkan PVP yang telah dilarutkan sebelumnya serta DMDM hydantoin, kemudian mengaduk campuran tersebut hingga homogen. Setelah itu, menimbang tween 80 dan menambahkan minyak biji bunga matahari sesuai konsentrasi masing-masing masukkan ke dalam beaker glass. Kemudian mencampurkan tween 80 dan minyak biji bunga matahari ke dalam beaker glass yang berisi gliserin, PVP, dan DMDM hydantoin, lalu mengaduknya hingga homogen. Terakhir menambahkan aquadest sampai volume mencapai 50 ml dan memasukkan campuran tersebut ke dalam botol spray.

5. Evaluasi Karakteristik Sediaan *Face mist*

a. Uji Organoleptis

Pengujian organoleptis dilakukan dengan mengamati bentuk, warna, dan aroma dari sediaan yang telah dibuat (Rizikiyan *et al.*, 2024).

b. Uji pH

Pengukuran pH *face mist* dilakukan menggunakan pH meter dengan mencelupkan elektroda ke dalam sediaan. Nilai pH yang ditampilkan oleh alat kemudian dicatat. Pengujian ini dilakukan sebanyak tiga kali untuk memastikan konsistensi hasil. Uji pH dilakukan menggunakan pH meter dan hasilnya harus berada dalam rentang pH kulit, yaitu antara 4,5 hingga 6,5 (Herliningsih & Anggraini, 2021).

c. Uji Bobot Jenis

Pengukuran bobot jenis dilakukan menggunakan piknometer. Berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI), bobot jenis yang memenuhi syarat untuk sediaan cair topikal berada dalam rentang 0,7–1,2 g/mL. Bobot jenis masing-masing sediaan dihitung dengan rumus sebagai berikut (A. N. Sari *et al.*, 2023):

$$\text{Bobot jenis} = \left(\frac{W_3 - W_1}{W_2 - W_1} \right)$$

Keterangan :

W1 : Berat Piknometer Kosong (g)

W2 : Berat Piknometer dan Aquadest (g)

W3 : Berat Piknometer dan Sampel (g)

d. Uji Daya Sebar Semprot

Pengujian dilakukan dengan menyemprotkan sediaan ke permukaan plastik mika dari jarak 5 cm, kemudian mengukur luas sebarannya menggunakan penggaris. Diameter hasil semprotan menjadi parameter utama dalam uji ini, dengan daya sebar yang ideal berada pada rentang 5-7 cm (Hayati *et al.*, 2019).

e. Uji Waktu Kering

Pengujian dilakukan dengan menyemprotkan sediaan pada bagian dalam lengan bawah, kemudian menghitung waktu yang diperlukan hingga cairan benar-benar kering. Waktu pengeringan yang ideal adalah tidak lebih dari 5 menit (Wahyuningsih *et al.*, 2023).

f. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan cara menggojog sediaan terlebih dahulu, lalu diamati apakah terdapat gumpalan atau endapan dalam larutan (Imtitsal Nabila & Indah Safitri, 2024).

g. Uji Viskositas

Pengujian viskositas dilakukan dengan menggunakan alat viskometer brookfield dengan memasukkan spindle nomor 1 ke dalam sediaan *face mist* dengan kecepatan 30 rpm. sediaan spray yang baik umumnya memiliki viskositas di bawah 150 cP agar tetap mudah disemprotkan dan nyaman saat digunakan (Indriastuti *et al.*, 2023).

h. Uji Kelembaban

Uji kelembaban dalam penelitian ini dilakukan menggunakan alat *Skin Analyzer*. Penyemprotan *face mist* pada lengan bawah panelis dilakukan satu kali semprotan pada bagian yang telah ditandai sebelumnya. Pengujian dilakukan pada pagi, siang, sore atau malam. Cara penggunaan alat *skin analyzer* adalah dengan membuka tutup alat untuk memperlihatkan probe logam. Setelah menekan tombol start, probe logam ditempatkan dengan lembut pada kulit panelis. Beberapa detik kemudian, suara "bip" akan terdengar sebagai tanda bahwa pengujian telah selesai, dan skor kelembaban kulit wajah dapat dibaca. Pengukuran dilakukan sebelum dan setelah pengaplikasian sediaan *face mist* spray pada wajah (Maria *et al.*, 2023)

6. Uji Aktivitas Antioksidan *Face mist* Metode ABTS

a. Pembuatan Larutan Stok ABTS

Serbuk ABTS ditimbang sebanyak 19 mg dilarutkan dengan 5 ml aquadest dan 2,7 mg kalium persulfat dalam 5 ml aquadest. Setelah itu, kedua larutan dicampurkan kemudian volumenya dicukupkan dengan etanol p.a. sampai 25 ml. Larutan diinkubasi dalam kondisi gelap selama 12–16 jam hingga terbentuk larutan biru kehijauan (Setiawan *et al.*, 2018).

b. Persiapan Larutan Blanko untuk Optimasi Panjang Gelombang ABTS

Sebanyak 0,5 mL larutan stok ABTS dipipet dan ditambahkan 5 ml etanol p.a. Larutan diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang antara 600-800 nm (Delyla Irma Safarina Savitri, Khoirul Anwar, 2024).

c. Penentuan *Operating Time*

Larutan baku kuersetin 6 ppm dipipet 0,5 ml dan ditambahkan 0,5 ml larutan stok ABTS kemudian dicukupkan volumenya dengan etanol p.a. hingga 5 ml. Campuran larutan diukur absorbansinya dan interval waktu 1 menit selama 60 menit (Wicaksono, 2021).

d. Pembuatan Larutan Induk Kuersetin

Untuk membuat larutan induk kuersetin 1000 ppm, ditimbang 10 mg kuersetin lalu dilarutkan menggunakan etanol p.a hingga mencapai volume 10 mL dalam labu ukur. Kemudian, sebanyak 1 mL dari larutan induk tersebut diambil dan diencerkan kembali dengan etanol p.a sampai 10 mL dalam labu ukur untuk menghasilkan larutan intermediet dengan konsentrasi 100 ppm (Wicaksono, 2021).

e. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Larutan Pembanding

Larutan kuersetin 100 ppm tersebut dibuat seri konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm ke dalam labu ukur 10 ml kemudian ditambahkan dengan etanol p.a. Masing-masing larutan diambil 0,5 ml dan ditambahkan 0,5 ml larutan stok ABTS selanjutnya dicukupkan volumenya sampai 5 ml dengan etanol p.a. Larutan di inkubasi selama operating time kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan sebelumnya (Sari *et al.*, 2022).

f. Pengukuran Aktivitas Antioksidan *Face mist*

Masing-masing larutan sampel dibuat 1000 ppm dengan menimbang sampel sebanyak 25 mg dilarutkan dengan etanol p.a di labu ukur 25 ml. Kemudian dibuat seri konsentrasi 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm ke dalam labu ukur 10 ml dengan ditambahkan etanol p.a. Sebanyak 0,5 mL dari masing-masing konsentrasi dipipet dan ditambahkan 0,5 larutan ABTS dilarutkan dengan etanol p.a hingga mencapai volume 5 ml dalam labu ukur. Larutan di inkubasi selama operating time yang telah ditentukan, kemudian diukur pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan (Nuari & Maulida, 2020).

g. Pengukuran Nilai % inhibisi

Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian dihitung menggunakan rumus % inhibisi, dan selanjutnya dibuat kurva standar atau kurva baku yang menghubungkan konsentrasi (ppm) dengan %

inhibisi. Persentase hambatan (% inhibisi) untuk masing-masing larutan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Nuari & Maulida, 2020):

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

Keterangan:

Abs blanko : absorbansi radikal bebas sebelum direaksikan dengan sediaan

Abs sampel : absorbansi radikal bebas sesudah direaksikan dengan sediaan

Persamaan regresi linier yaitu $y = ax + b$. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai IC50 dari masing-masing sampel (Muthia, 2024).

G. Analisis Data

Evaluasi sediaan *face mist* minyak biji bunga matahari dilakukan berdasarkan pendekatan teoritis melalui berbagai pengujian seperti uji, organoleptis, uji pH, uji bobot jenis, uji daya sebar semprot, uji waktu kering, uji iritasi, uji kelembaban wajah sesuai persyaratan dan referensi lainnya. Analisis karakteristik fisik uji organoleptis *face mist* biji bunga matahari disajikan secara deskriptif. Kemudian untuk analisis data *face mist* minyak biji bunga matahari seperti uji pH, uji bobot jenis, uji daya sebar semprot, uji waktu kering, uji homogenitas, uji viskositas, uji kelembaban wajah dan uji antioksidan disajikan secara statistic dengan uji Normality, Anova, Kruskal wallis, *Post hoc tukey*, Paired t-test, wilcoxon menggunakan SPSS versi 26.