

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian non-eksperimental deskriptif di laboratorium pada sampel krim *anti-aging* mengandung Vitamin C yang beredar di *e-commerce* dan tidak memiliki izin edar BPOM. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi aktivitas antioksidan dari sampel. Penelitian dilaksanakan dengan tahapan berurutan yaitu persiapan sampel dan diikuti uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl).

B. Lokasi dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta dilaksanakan pada bulan Mei-Juni 2025.

C. Sampel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh produk krim *anti-aging* yang beredar di Indonesia dan tersedia di Shopee. Populasi ini mencakup berbagai merek dan formulasi yang mengklaim memiliki efek anti-penuaan serta dijual melalui *platform e-commerce* resmi. Untuk memperoleh sampel yang representatif, dilakukan seleksi berdasarkan kriteria berikut:

1. Kriteria Inklusi

- a. Krim *anti-aging* yang tersedia dan dijual di *platform e-commerce* Shopee dengan kata kunci pencarian “Krim *anti aging* Vitamin C”.
- b. Krim yang diklaim memiliki efek anti-penuaan pada produknya dan mengandung Vitamin C (asam askorbat) yang tertera pada produk.
- c. Krim *anti-aging* yang tidak memiliki izin edar BPOM.
- d. Krim *anti-aging* yang memiliki kisaran harga di bawah Rp. 100.000 dengan penjualan lebih dari 100 unit, dan rating produk 4-5 bintang.
- e. Krim *anti-aging* dengan merek yang berbeda-beda.

2. Kriteria Eksklusi

- a. Krim *anti-aging* yang memiliki izin edar BPOM.
- b. Krim *anti-aging* yang tidak dalam kemasan asli (*Repack/Share in jar Product*).
- c. Krim *anti-aging* yang melebihi tanggal kadaluwarsa serta dalam kondisi rusak.
- d. Sediaan *anti-aging* selain krim (serum, toner, kapsul).
- e. Krim *anti-aging* yang tidak menuliskan klaim *anti-aging* pada kemasan atau pada situs *e-commerce* dan tidak mengandung bahan vitamin C (asam askorbat) berdasarkan informasi yang tertera pada produk,

Sampel penelitian dipilih dengan metode *purposive sampling*, yaitu teknik pengambilan sampel berdasarkan kriteria atau pertimbangan khusus yang telah ditetapkan. Dalam hal ini, sampel dipilih dari populasi produk krim *anti-aging* yang tersedia di Shopee dan telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan. Berdasarkan survei awal, ditemukan bahwa jumlah produk yang memenuhi kriteria inklusi di Shopee sebanyak 5 produk. Dengan demikian, 5 krim *anti-aging* mengandung vitamin C yang tidak memiliki izin edar BPOM, serta memenuhi kriteria inklusi serta eksklusi dipilih sebagai sampel penelitian.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas yang dianalisis dalam penelitian ini yaitu merek sampel krim *anti-aging* yang mengandung Vitamin C (asam askorbat).

2. Variabel terikat

Variabel terikat yang dianalisis dalam penelitian ini yaitu aktivitas antioksidan pada sediaan krim *anti-aging*.

3. Variabel terkendali

Variabel terkendali yang dianalisis dalam penelitian ini yaitu izin edar BPOM, harga sampel, merek krim, tempat pembelian sampel, jumlah sampel, metode analisis, *operating time*, dan waktu pengujian.

E. Definisi Operasional Variabel

1. Sampel merupakan krim *anti-aging* yang sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi yang diperoleh melalui Shopee.
2. Analisis aktivitas antioksidan pada sampel krim dilakukan dengan metode DPPH menggunakan instrument Spektrofotometer UV-Vis dan hasilnya dinyatakan dalam nilai IC_{50} .

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan adalah alat gelas (Iwaki), propipet, mikropipet (Ohaus), rak tabung reaksi, timbangan analitik (Ohaus), sendok spatula, sendok tanduk, sonikator (GT Sonic), kuvet dan spektrofotometri UV-Vis (Thermo scientific Genesys).

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah sampel krim, DPPH *p.a* (Himedia), metanol *p.a* (Merck), kertas saring Whatman no. 41, asam askorbat *p.a* (Merck), *white tip*, *blue tip* dan kertas aluminium.

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Uji aktivitas antioksidan metode DPPH

a. Pembuatan larutan DPPH

Sejumlah 5 mg serbuk DPPH ditimbang dan dilarutkan dengan metanol *p.a* secukupnya dalam gelas beker. Setelah itu, larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan metanol *p.a.* hingga mencapai tanda batas lalu digojog hingga larutan homogen berubah menjadi warna violet, dan ditutup rapat labu ukur dengan penutupnya. Sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 50 ppm (Komala & Husni, 2021).

b. Pembuatan Larutan Stok Vitamin C

Ditimbang 10 mg Vitamin C dan dilarutkan dengan metanol *p.a.* secukupnya dalam gelas beker. Setelah itu, larutan dipindahkan ke labu ukur 100 mL dan ditambahkan metanol *p.a.* hingga mencapai tanda batas sehingga diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 100 ppm. Kemudian dibuat seri pengenceran

dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm dalam 5 mL labu ukur (Wardiyah, Safrina & Amadha, 2022).

c. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Larutan standar Vitamin C sebanyak 1 mL direaksikan dengan 4 mL larutan DPPH di tabung reaksi, lalu dihomogenkan selama 1 menit. Absorbansi larutan DPPH diukur pada rentang λ 400–600 nm. Dimana panjang gelombang maksimum ditentukan berdasarkan puncak absorbansi tertinggi (Wardiyah, Safrina & Amadha, 2022).

d. Penentuan *Operating Time*

Sejumlah 1 mL larutan standar Vitamin C direaksikan dengan 4 mL larutan DPPH lalu dihomogenkan selama 1 menit dan absorbansinya diukur pada λ maksimum DPPH selama 60 menit dengan interval waktu 1 menit. *Operating time* ditetapkan ketika absorbansi mencapai kondisi stabil (Wardiyah, Safrina & Amadha, 2022).

e. Penentuan Absorbansi Vitamin C

Sejumlah 1 mL larutan standar Vitamin C berbagai seri konsentrasi direaksikan dengan 4 mL larutan DPPH di dalam tabung reaksi. Kemudian dihomogenkan dan diinkubasi hingga waktu *operating time* di tempat yang gelap, lalu dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum (Wardiyah, Safrina & Amadha, 2022).

2. Preparasi sampel

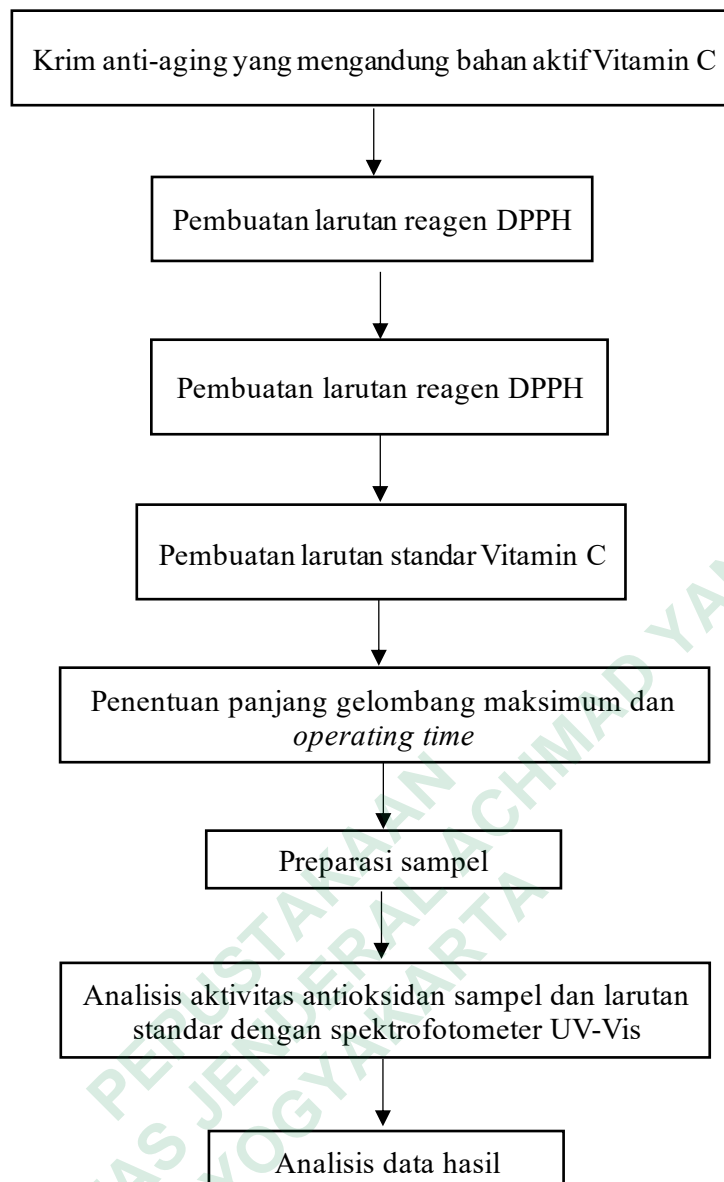
a. Pembuatan Larutan Sampel

Ditimbang 3 gram sampel dan dilarutkan dengan metanol *p.a.* secukupnya dalam gelas beker. Larutan kemudian disonikasi selama 15 menit hingga homogen. Setelah homogen, larutan sampel dipindahkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan metanol *p.a.*, hingga mencapai tanda batas, dan diperoleh konsentrasi 120.000 ppm. Kemudian larutan disaring menggunakan kertas Whatman no 41. Dari larutan induk sampel tersebut disiapkan lima seri konsentrasi (240, 480, 720, 960, dan 1200 ppm) (Kusmanto & Qonitah., 2020).

b. Analisis Aktivitas Antioksidan Larutan Sampel

Sejumlah 1 mL larutan sampel direaksikan dengan 4 mL larutan DPPH di dalam tabung reaksi, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi hingga waktu *operating time* di tempat yang gelap. Absorbansi sampel diamati pada panjang gelombang maksimum (λ maks) dengan menggunakan instrument spektrofotometer UV-Vis (Kusmanto & Qonitah., 2020).

PEPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI
YOGYAKARTA



Gambar 9. Skema Jalannya Penelitian

H. Metode Pengolahan dan Analisis Data

Data absorbansi yang telah diperoleh kemudian dihitung untuk menentukan persentase penangkapan radikal bebas, menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Penangkapan radikal} = \frac{\text{Abs larutan blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs larutan blanko}} \times 100\%$$

Keterangan:

Abs larutan blanko = Larutan DPPH tanpa penambahan sampel

Setelah diperoleh persentase penangkapan radikal bebas untuk setiap konsentrasi, Langkah berikutnya adalah menghitung regresi linier (x, y), dengan x sebagai konsentrasi (ppm) dan y menunjukkan persentase penangkapan radikal (%).

Persamaan regresi linier yang dihasilkan berbentuk $y = bx + a$, yang kemudian nilai y digantikan dengan 50 (Rumondor *et al.*, 2024). Berdasarkan persamaan tersebut, dihitung nilai *Inhibiton Concentration* 50% (IC_{50}), dimana IC_{50} merepresentasikan besarnya konsentrasi sampel yang diperlukan untuk mencapai hambatan sebesar 50% terhadap radikal bebas.

$$IC_{50} = \frac{50 - \text{Intersep (a)}}{b \text{ (slope)}} \times 100\%$$

Menurut Kholifah *et al.*, (2023) antioksidan dapat diklasifikasikan berdasarkan nilai IC_{50} .

Tabel 3. Klasifikasi Aktivitas Antioksidan

Nilai IC_{50}	Aktivitas Antioksidan
< 50 ppm	Sangat Kuat
50 – 100 ppm	Kuat
100 – 150 ppm	Sedang
150 – 200 ppm	Lemah
>200 ppm	Sangat Lemah

Setelah diperoleh nilai IC_{50} dari seluruh sampel, kemudian dilakukan uji statistik menggunakan perangkat lunak SPSS *Statistic* 25 untuk memperoleh distribusi data serta melihat kecenderungan aktivitas antioksidan dalam sampel. Pada pengujian statistik meliputi Uji normalitas (*Shapiro-Wilk*), dan uji homogenitas (*Levene*). Kemudian dilanjutkan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* dan uji *Post Hoc Games Howell* untuk menentukan adanya perbedaan signifikan antar sampel serta mengidentifikasi sampel yang berbeda.