

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah seluruh jumlah subjek yang menjadi target dalam penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah beras hitam yang diambil dari petani beras hitam di Tawamangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang menjadi sasaran dalam penyelesaian masalah dalam penelitian ini. Sampel yang digunakan adalah beras hitam (*Oryza sativa* L. *Indica*) yang dipanen saat umur panen dan dipilih warna beras yang pekat dan dibuat menjadi sediaan masker gel *peel-off* dengan variasi konsentrasi *polivinil alkohol* 10%, 11% dan 12% sebagai *gelling agent*.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama adalah ekstrak etanol beras hitam (*Oryza sativa* L. *Indica*) dapat dibuat dalam sediaan masker gel *peel-off*.

Variabel utama kedua adalah penentuan nilai IC_{50} dengan menggunakan metode DPPH

Variabel utama ketiga adalah uji mutu fisik dan stabilitas sediaan masker gel *peel-off* meliputi organoleptik, homogenitas, *pH*, viskositas, daya sebar, daya lekat, stabilitas, waktu kering.

2. Klasifikasi variabel utama

Klasifikasi variabel utama diantaranya variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkontrol.

Variabel bebas adalah variabel yang dapat diubah atau dikendalikan dan mempengaruhi variabel lain dalam suatu percobaan ilmiah. Variabel bebas pada penelitian ini adalah variasi konsentrasi *polyvinyl alcohol* sebagai *gelling agent*.

Variabel tergantung adalah variabel yang diukur untuk mengetahui pengaruh terhadap variabel bebas. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah mutu fisik dan stabilitas sediaan masker gel *peel-off* meliputi organoleptik, homogenitas, *pH*, viskositas, daya sebar, daya lekat, stabilitas, waktu kering dan aktivitas antioksidan gel ekstrak etanol beras hitam (*Oryza sativa* L. *Indica*).

Variabel terkendali adalah variabel konstan yang dikendalikan agar tidak mempengaruhi variabel bebas maupun variabel tergantung. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah proses pembuatan simplisia, metode ekstraksi simplisia, proses pembuatan masker gel, kecepatan pencampuran, kondisi laboratorium serta peralatan yang digunakan.

3. Defenisi operasional variabel utama

Pertama, beras hitam (*Oryza sativa* L. Indica) adalah beras yang diperoleh dari petani beras hitam di Tawamangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk beras hitam (*Oryza sativa* L. Indica) adalah hasil pengeringan pada sinar matahari setelah dibersihkan dari kotoran yang menempel dengan air mengalir, kemudian dikeringkan selama 72 jam dan dihaluskan kemudian diayak dengan pengayak mesh nomor 40.

Ketiga, ekstrak etanol beras hitam adalah hasil ekstraksi serbuk beras hitam yang diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C pada kecepatan 45 rpm.

Keempat, masker gel *peel-off* adalah sediaan setengah padat yang terdiri atas fase pendispersi dan terdispersi yang digunakan sebagai masker gel *peel-off*.

Kelima, nilai IC_{50} masker gel *peel-off* ekstrak etanol beras hitam adalah suatu parameter untuk interpretasi DPPH untuk menunjukkan aktivitas antioksidan sediaan masker gel *peel-off*.

Keenam, stabilitas mutu fisik adalah sifat-sifat dari masker gel *peel-off* ekstrak etanol beras hitam yang akan diuji sebelum dan sesudah *cycling test* tidak berbeda secara statistik yang meliputi uji organoleptik, pH, viskositas, daya sebar, daya lekat, dan waktu mengering.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat maserasi

(kertas saring, kertas kain flanel, corong, bejana maserasi), *stopwatch*, pengukur suhu, mortir dan stamper, alat uji (daya lekat, daya sebar), alat-alat gelas, tabung reaksi, rak tabung reaksi, labu ukur, sendok tanduk, batang pengaduk, spatel, penggilingan, timbangan analitik, oven, pH meter *ohaus* tipe *starter 3100*, spektrofotometer UV-Vis, viskometer

Brookfield, rotary evaporator, water bath, ayakan mesh no 40, pipet tetes, *moistur balance*, desikator, kurs porselen, tang krusibel, bunsen, wadah untuk masker gel *peel-off*, sarung tangan, masker.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk simplisia beras hitam, etanol 96%, etanol *p.a*, propilen glikol, HPMC, PVA, propil paraben, metil paraben, aquadest, pereaksi DPPH, pereaksi *mayer*, pereaksi *bouchardat*, pereaksi *wagner*, pereaksi HCl pekat, pereaksi HCl 2M, FeCl₃ 1%, toluene, amil alkohol, kuersetin.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap awal dari penelitian dengan tujuan memastikan kebenaran identitas tanaman beras hitam (*Oryza sativa* L. Indica) meliputi morfologi tanaman dan ciri-ciri fisik dari tanaman untuk menghindari kesalahan dalam pengambilan sampel tanaman yang dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta.

2. Pengambilan simplisia

Beras hitam yang didapat dari petani beras hitam di Tawamangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Beras hitam yang baik adalah yang dipanen saat umur panen dan dipilih warna beras yang pekat kemudian dibersihkan dengan air mengalir untuk memisahkan dari kotoran yang nantinya akan dibuat serbuk.

3. Pembuatan serbuk

Beras hitam sebanyak 5 kg dikeringkan menggunakan sinar matahari kemudian dihaluskan menggunakan penggiling lalu diayak dengan ayakan no 40 hingga diperoleh serbuk.

4. Penetapan kadar air serbuk

Penetapan kadar air serbuk dilakukan dengan cara membersihkan tabung penampung dan tabung pendingin dengan larutan asam pencuci lalu bilas dengan air dan dikeringkan hingga kering. Menimbang bahan sebanyak 20 gram lalu memasukan ke dalam labu kemudian menambahkan kurang lebih 200 mL toluen jenuh air ke dalam labu dan memasang rangkaian alat. Memasukan toluen jenuh air pada tabung penerima melalui pendingin sampai leher alat penampung, kemudian labu dipanaskan selama 15 menit.

Toluen yang telah mendidih, diatur penyulingan dengan kecepatan lebih kurang 2 tetes tiap detik sampai bagian besar air

tersuling, lalu kecepatan penyulingan dinaikan 4 tetes tiap detik. Air yang telah tersuling, dicuci dengan toluen jenuh air pada bagian pada bagian dalam pendingin sembari dibersihkan dengan sikat tabung. Penyulingan dilanjutkan selama 5 menit lalu tabung penerima didinginkan hingga suhu ruang dan dibaca volume air setelah air dan toluen memisah sempurna. Kadar air dihitung dalam % v/b (FHI, 2017).

5. Penetapan susut pengeringan serbuk

Penetapan susut pengeringan serbuk dilakukan dengan menimbang 1-2 gram dan diukur dengan alat *moisture balance* yang dilakukan sebanyak 3 kali. Mengatur suhu 105° C lalu menyalakan alatnya, ditunggu hingga alat berbunyi yang artinya menandakan analisis telah selesai. Pengeringan serbuk dikatakan memenuhi syarat bila serbuk simplisia tidak lebih dari 10% (FHI, 2017).

6. Pembuatan ekstrak

Serbuk beras hitam sebanyak 4 kg dimasukkan ke dalam wadah gelap, dengan perbandingan 1:10 dengan pelarutnya. Pelarut ditambahkan sebanyak 40000 mL. Perendaman dilakukan selama 6 jam sambil sesekali dilakukan penggojogan, selanjutnya ditutup dan disimpan pada tempat yang terhindar dari sinar matahari langsung dengan kurun waktu 18 jam. Setelah itu sampel disaring dengan kain flanel untuk memisahkan filtrat dan ampas. Ampas dimaserasi lagi dengan pelarut yang sama dengan jumlah setengahnya yaitu etanol 96% sebanyak 20000 mL. Hasil maserasi disaring dengan kain flanel. Filtrat yang dihasilkan kemudian dijadikan satu, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental kemudian ekstrak kental yang dihasilkan kemudian dihitung rendemen.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh (g)}}{\text{Bobot simplisia (g)}} \times 100\%$$

7. Penetapan kadar air ekstrak beras hitam

Penetapan kadar air ekstrak dilakukan dengan metode gravimetric dilakukan dengan menimbang 2 g ekstrak untuk dimasukan ke dalam wadah yang telah ditara. Selanjutnya dilakukan pengeringan pada oven suhu 105°C selama 5 jam, kemudian ditimbang dan dikeringkan serta ditimbang kembali setiap 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25%. Sebelum setiap pengeringan, biarkan botol dalam keadaan tertutup mendingin dalam eksikator pada suhu ruangan. Lakukan sebanyak 3 replikasi dan dihitung presentasinya (Depker RI, 2000).

8. Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol beras hitam;

8.1 Identifikasi senyawa alkaloid. Uji alkaloid dilakukan dengan menimbang sebanyak 1 g ekstrak dan dicampur dengan 10 mL aquades, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Menambahkan 1 mL HCl 2N, lalu memanaskan selama 2 menit, dan mendinginkan. Setelah didinginkan, larutan disaring untuk mendapatkan filtrat. Ketika filtrat sudah dingin, lalu mengambil 3 tetes dan bagi menjadi tiga bagian di kaca arloji. Selanjutnya, menambahkan masing-masing 3 tetes pereaksi *Wagner*, *Bouchardat*, dan *Mayer*. Sampel dianggap mengandung alkaloid apabila terbentuk endapan putih atau kuning (*mayer*) atau endapan coklat muda (*wagner*) (Rahmawati *et al.*, 2024), dan coklat kehitaman untuk *bouchardat* (Fatwami, 2023).

8.2 Identifikasi senyawa flavonoid. Ekstrak sebanyak 1 g ditimbang, ditambahkan 10 mL aquades ke dalam tabung reaksi. Larutan tersebut dipanaskan selama kurang lebih 5 menit. Selanjutnya, filtrat sebanyak 5 mL diambil dan dicampur dengan 500 mg serbuk magnesium, 1 mL HCl pekat, serta 1 mL amil alkohol. Kandungan flavonoid dalam sampel terindikasi dengan terbentuknya lapisan amil alkohol berwarna merah, jingga, atau kuning (Rahmawati *et al.*, 2024).

8.3 Identifikasi senyawa tanin. Ekstrak sebanyak 1 g ditimbang, kemudian ditambahkan 10 mL aquades ke dalam tabung reaksi dan dipanaskan selama 5 menit. Setelah dingin, larutan tersebut disaring. Filtrat sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 3 tetes larutan FeCl_3 10%. Sampel dikatakan positif mengandung tanin jika terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman atau biru kehitaman (Rahmawati *et al.*, 2024).

8.4 Identifikasi senyawa antosianin. Ekstrak sebanyak 5 g ditimbang, kemudian ditambahkan beberapa tetes HCl 2M (asam klorida) dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit. Hasil positif menunjukkan keberadaan antosianin ditandai dengan terbentuknya warna merah yang mantap (Herlina *et al.*, 2023).

9. Formulasi masker gel *peel-off*

Rancangan formulasi masker gel *peel-off* pada penelitian ini dengan bahan ekstrak beras hitam sebagai variasi konsentrasi. Formulasi acuan masker gel *peel-off* dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rancangan formula masker gel *peel-off*

Bahan	Konsentrasi (%)				Fungsi
	F0	F1	F2	F3	
Ekstrak etanol beras hitam	-	10	10	10	Zat aktif Pembentuk lapisan film <i>Gelling agent</i>
PVA	11	10	11	12	
HPMC	2	2	2	2	
Metil Paraben	0,18	0,18	0,18	0,18	
Propil Paraben	0,02	0,02	0,02	0,02	Pengawet
Propilen glikol	10	10	10	10	Pengawet
	ad	ad	ad	ad	Humektan
Aquadest	100	100	100	100	Pelarut

Keterangan :

Formula 0 : Sediaan masker gel tanpa ekstrak dengan konsentrasi PVA 11%

Formula I : Sediaan masker gel *peel-off* dengan konsentrasi PVA 10%

Formula II : Sediaan masker gel *peel-off* dengan konsentrasi PVA 11%

Formula III : Sediaan masker gel *peel-off* dengan konsentrasi PVA 12%

10. Pembuatan masker gel *peel-off*

Formulasi masker gel *peel-off* dibuat dengan variasi konsentrasi polivinil alkohol yaitu 10% pada formula I, 11% pada formula II, 12% pada formula III,. Pembuatan masker gel *peel-off* dilakukan dengan mengembangkan terlebih dahulu PVA dan HPMC masing-masing yaitu PVA menggunakan aquadest panas pada suhu 80°C dan HPMC menggunakan aquadest dengan suhu ruangan kedua bahan tersebut dilakukan pengadukan konstan hingga mengembang dan jernih. Metil paraben dan propil paraben dilarutkan dalam propilen glikol dan ditambahkan sisa aquadest kemudian di aduk hingga homogen. Campuran pengawet dengan propilen glikol dimasukkan ke dalam mortar yang berisi ekstrak etanol beras hitam dan diaduk hingga homogen, kemudian ditambahkan PVA dan HPMC yang telah mengembang ke dalam mortar. Campuran diaduk kuat hingga terbentuk sediaan masker gel *peel-off* (Andresya, 2024).

11. Evaluasi sediaan masker gel *peel-off*

Evaluasi mutu fisik gel meliputi uji organoleptik, homogenitas, uji pH, uji viskositas, uji daya sebar, uji daya lekat, uji stabilitas dan uji waktu pengeringan.

11.1 Uji Organoleptik. Pengamatan hasil uji organoleptik sediaan berdasarkan warna, tekstur, bau, dan konsistensi sediaan masker gel *peel-off* (Andresya, 2024).

11.2 Uji homogenitas. Uji ini dilakukan dengan mengambil sediaan sebanyak 0,1 gram, mengoleskan pada kaca objek kemudian dikatupkan dengan kaca objek yang lain dan mengamati apakah sediaan tersebut homogen dan permukaannya halus merata. Syarat homogen dipenuhi jika mengandung bahan kasar yang bisa diraba (Sulastri *et al.*, 2016).

11.3 Uji pH. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan alat pH meter yang telah dikalibrasi sebelumnya. Pengujian pH dilakukan untuk memastikan apakah sediaan memiliki pH asam atau basa yang sesuai dengan rentang pH normal kulit. Pengujian ini dilakukan menggunakan alat pH meter *ohaus* tipe *starter 3100*, dengan cara elektroda dicuci dengan air suling lalu dikeringkan dengan tissue. Elektroda kemudian dicelupkan kedalam sediaan masker gel *peel-off*. Alat pH meter dibiarkan hingga menunjukkan nilai pH yang konstan. Angka yang ditunjukkan pH meter merupakan pH sediaan. Nilai pH sediaan yang aman untuk kulit yaitu 4,5 – 6,5 (Samsul *et al.*, 2022).

11.4 Uji viskositas. Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer *Brookfield*. Masker gel diambil secukupnya dan ditempatkan dalam wadah kaca, spindle yang dipasang diturunkan hingga batasnya tercelup dalam masker, kemudian dijalankan alatnya selama 10-15 detik atau hingga mendapatkan nilai viskositasnya. Nilai viskositas kemudian dicatat (Pahlani *et al.*, 2021). Nilai viskositas sediaan gel yang baik berada di rentang 2000-50.000 cPs. (Samsul *et al.*, 2022).

11.5 Uji daya sebar. Sediaan ditimbang sebanyak 0,5 gram diletakkan pada sepasang kaca berbentuk bulat dengan diameter 20 cm. Diameter penyebaran pada sediaan diukur secara membujur dan melintang. Proses ini dilakukan berulang dengan penambahan beban secara bertahap (50, 100, 150, dan 200) gram, setiap penambahan 1 beban diukur diameter setelah didiamkan selama 1 menit. Kriteria daya sebar sediaan gel yang baik adalah 5-7 cm (Mutmainnah *et al.*, 2022).

11.6 Uji daya lekat. Uji daya lekat dilakukan dengan 0,5 gram sediaan ditimbang. Sediaan diletakkan diantara 2 gelas objek kemudian diberikan beban 1 kg di atas kaca objek dan diamkan selama 5 menit, setelah itu beban diangkat dan waktu dihitung dengan *stopwatch* saat kedua gelas objek saling lepas. Kriteria daya lekat yang baik yaitu tidak kurang dari 4 detik (Rakmadhani *et al.*, 2023).

11.7 Uji stabilitas. Uji stabilitas dilakukan dengan metode *Cycling Test* selama 6 siklus (12 hari). Formula masker gel *peel-off* disimpan pada suhu dingin 4°C selama 24 jam, kemudian dikeluarkan dan dilanjutkan dengan penyimpanan pada suhu 40°C selama 24 jam, proses ini dihitung 1 siklus. Setiap siklus, diamati perubahan fisik pada masker gel *peel-off* meliputi sifat organoleptik, pH dan viskositas (Witanti *et al.*, 2024).

11.8 Uji waktu mengering. Sediaan masker gel *peel-off* ditimbang sebanyak 1 gram kemudian dioleskan pada kulit lengan bawah dengan panjang 7cm dan lebar 7cm. Kecepatan mengering masker gel *peel-off* diamati dan dihitung dari saat dioleskan hingga membentuk lapisan film dengan menggunakan *stopwatch*. Syarat waktu kering sediaan masker gel adalah 15 – 30 menit (Hasninal *et al.*, 2022).

12. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak dan masker gel *peel-off*

12.1 Pembuatan larutan induk DPPH. Larutan DPPH dibuat dengan 15,8 mg serbuk DPPH ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, setelah itu dilarutkan dengan etanol *p.a* sampai tanda batas hingga diperoleh konsentrasi larutan DPPH sebesar 0,4 mM. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam botol kaca gelap atau botol yang dilapisi alumunium foil dan dimasukkan ke dalam lemari es (Choirunnisa, 2018). Hal ini bertujuan untuk menghindari terjadinya oksidasi karena larutan DPPH memiliki karekteristik mudah terurai (Martiani *et al.*, 2017).

12.2 Penentuan panjang gelombang maksimum (λ maks). Larutan induk DPPH 0,4 mM diukur sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan labu takar 5 ml dan ditambahkan etanol *p.a* sampai tanda batas. Campuran dihomogenkan dan didiamkan di tempat gelap selama 30 menit, setelah di diamkan larutan di ukur absorbansi nya menggunakan spektrofotometri UV-*Vis* pada lamda 450-550 nm. Panjang gelombang maksimum ditandai dengan serapan yang paling besar (Andriani dan Murtisiwi, 2020).

12.3 Penentuan *Operating Time* (OT). OT ditentukan dengan mengukur 1 ml larutan induk DPPH 0,4 mM, masukan ke dalam labu ukur 5 ml dan ditambahkan 1 ml baku masing-masing sampel, kemudian ditambahkan dengan etanol *p.a* hingga tanda batas. Larutan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh dengan interval waktu 1-60 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil (Sukmawati *et al.*, 2018).

12.4 Penentuan serapan blanko DPPH. Dipipet sebanyak 1 ml larutan induk DPPH 0,4 mM dan dimasukkan ke dalam labu takar 5 ml, kemudian ditambahkan etanol *p.a* sampai tanda batas. Larutan tersebut kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit, setelah itu dibaca serapan absorbansinya pada panjang gelombang maksimum menggunakan alat spektrofotometri UV-*Vis*. Pengukuran serapan dilakukan dengan cara yang sama sebanyak 3 kali untuk serapan blanko kuersetin, ekstrak etanol beras hitam dan serapan blanko sediaan masker gel *peel-off* (Irwinsyah *et al.*, 2021).

12.5 Pembuatan larutan stok dan uji aktivitas antioksidan kuersetin. Serbuk kuersetin ditimbang sebanyak 10 mg, dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml kemudian ditambahkan etanol *p.a* sampai tanda batas. Campuran dihomogenkan hingga diperoleh larutan induk kuersetin konsentrasi 100 ppm, kemudian dibuat 5 seri konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm. Larutan stok konsentrasi 100 ppm dipipet 0,5 ml, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml, 2,5 ml kemudian masing-masing volume pemipetan dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml dan ditambahkan etanol *p.a* sampai tanda batas dan dihomogenkan. Masing-masing seri pengenceran dipipet 1 ml kemudian ditambahkan 1 ml larutan DPPH dan etanol *p.a* pada labu takar 10 ml, kemudian dibaca serapannya pada gelombang maksimum (Hasanah *et al.*, 2023).

12.6 Pembuatan larutan stok dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol beras hitam. Larutan stok dibuat dengan konsentrasi 100 ppm. Ekstrak etanol beras hitam ditimbang sebanyak 10 mg lalu dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml, kemudian ditambahkan etanol *p.a* sampai tanda batas dan dihomogenkan. Larutan stok dibuat 5 seri konsentrasi yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm dengan cara dipipet berturut-turut sebanyak 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml dan 5 ml. Larutan yang dipipet kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml lalu ditambahkan etanol *p.a* sampai tanda batas dan dihomogenkan. Masing-masing seri konsentrasi dipipet 1 ml lalu ditambahkan 1 ml larutan DPPH dan etanol *p.a* ke labu ukur 5 ml dan ditutup dengan *aluminium foil*, kemudian dihomogenkan. Larutan didiamkan selama 30 menit kemudian dibaca absorbansinya dengan alat spektrofotometri UV-*Vis* pada lamda maks dan OT.

12.7 Pembuatan larutan stok dan uji aktivitas antioksidan masker gel *peel-off* ekstrak etanol beras hitam. Ditimbang masker gel *peel-off* setara dengan 10 mg ekstrak etanol beras hitam lalu dimasukkan

ke dalam masing-masing labu takar 100 ml, kemudian dilarutkan dengan etanol *p.a* sampai tanda batas kemudian di *vortex* hingga homogen dan diperoleh konsentrasi larutan stok 100 ppm. Larutan sampel tersebut kemudian dibuat 5 seri konsentrasi yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. Masing-masing sari dipipet sebanyak 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml dan 5 ml lalu dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml dan ditambahkan etanol *p.a* sampai tanda batas kemudian dihomogenkan. Larutan sampel masing-masing seri konsentrasi dipipet 1 ml dan memasukan ke dalam tabung reaksi 5 ml yang berisi larutan DPPH sebanyak 1 ml dan ditutup dengan *aluminium foil* kemudian biarkan selama 30 menit. Larutan yang sudah didiamkan tersebut kemudian disaring menggunakan kertas saring lalu dimasukkan ke dalam *kuvet* dan dibaca serapannya menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis dengan lamda maksimal yang sesuai dengan gelombang maksimum yang telah diperoleh sebelumnya (Islamiyati dan Saputri, 2018).

12.8 Penentuan IC₅₀. Nilai IC₅₀ dihitung berdasarkan nilai absorbansi dari masing-masing larutan. Data tersebut kemudian digunakan untuk menentukan persentase inhibisi, yang dihitung menggunakan persamaan berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Keterangan:

Absorbansi blanko = absorbansi DPPH

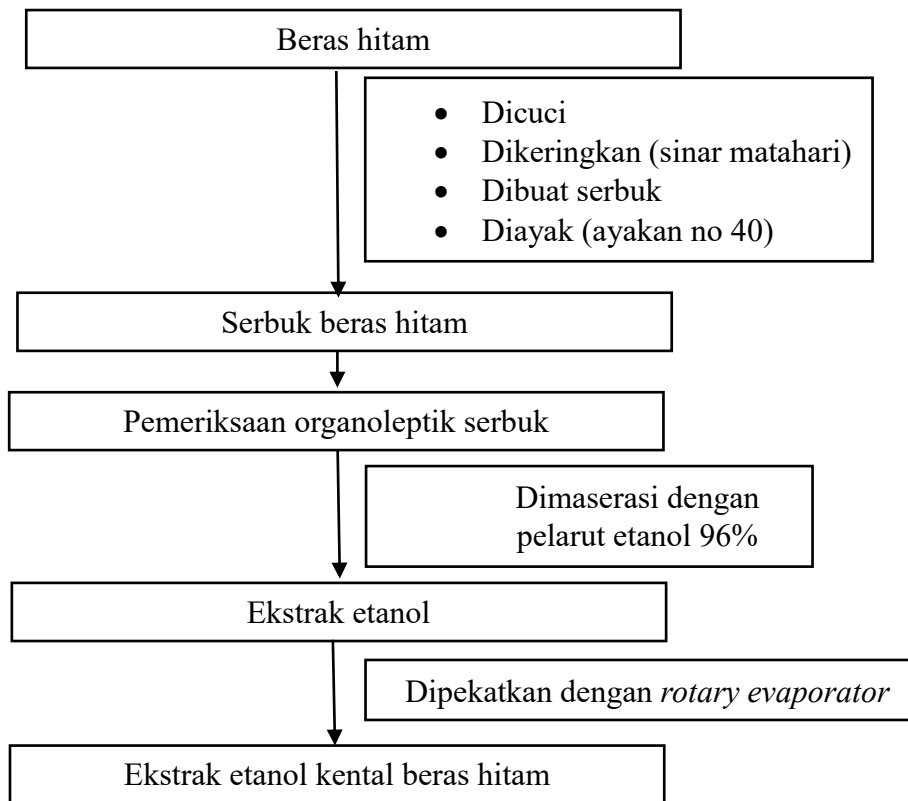
Absorbansi sampel = absorbansi DPPH + larutan uji.

E. Analisis Hasil

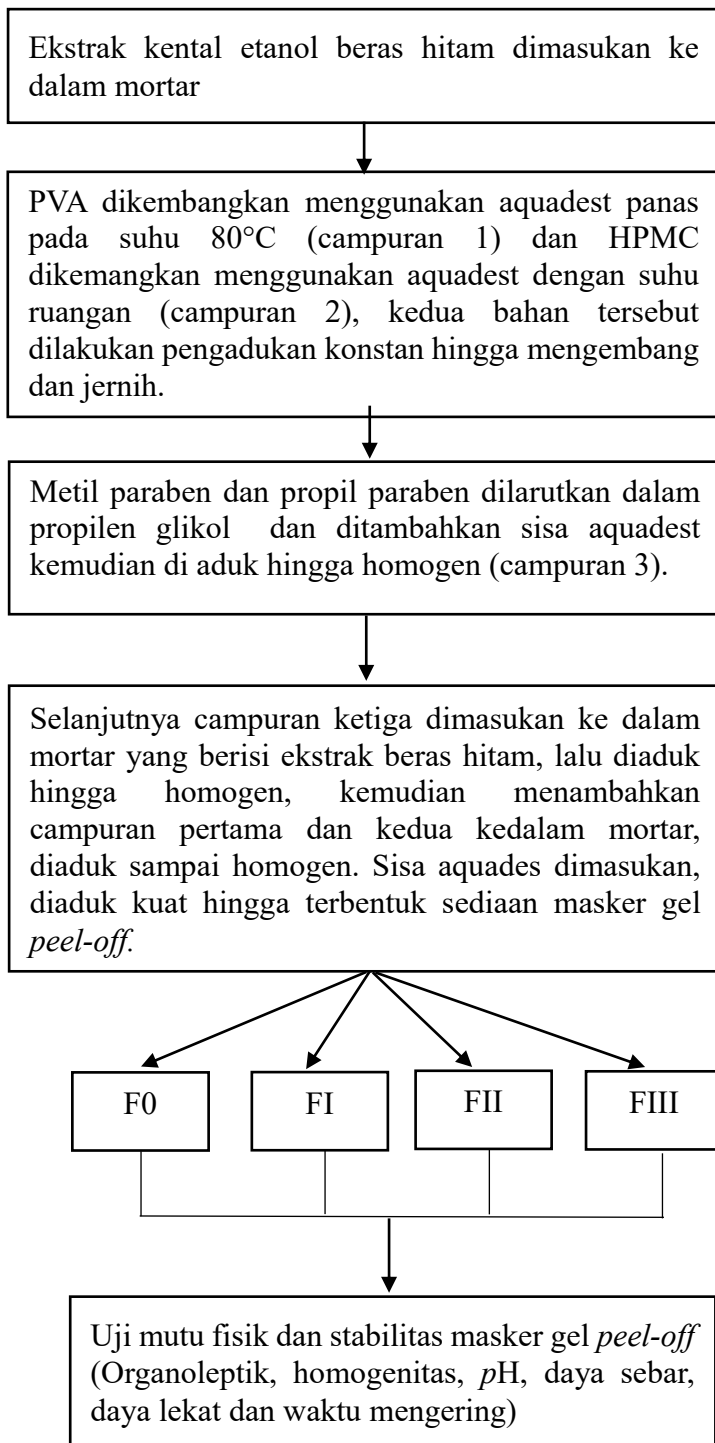
Analisis hasil data setiap formulasi diolah menggunakan aplikasi SPSS (*statistical package for the social sciences*). Data yang telah diperoleh tersebut kemudian dianalisis dengan menggunakan *Shapiro-wilk*. Apabila data terdistribusi normal maka selanjutnya dilakukan analisis dengan menggunakan *One-Way ANOVA*, tetapi jika data tidak terdistribusi normal maka selanjutnya dilakukan analisis dengan menggunakan *Kruskal Wallis*.

Aktivitas antioksidan masker gel *peel-off* ekstrak etanol beras hitam yang diuji secara *in vitro* dengan metode DPPH yang menggunakan kuersetin sebagai larutan pembanding dihitung dengan persamaan regresi linier dengan konsentrasi sampel (ppm) sebagai absis (sumbu x) dan nilai % inhibisi sebagai ordinatnya (sumbu y). rumus persamaan regresi linier : $y = a + bx$ dan perhitungan IC₅₀.

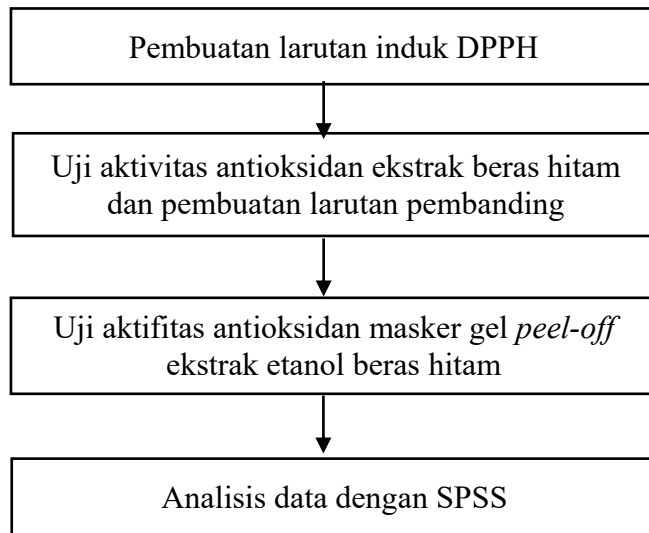
F. Skema Penelitian



Gambar 10. Skema ekstraksi beras hitam



Gambar 11. Skema pembuatan masker gel *peel-off*



Gambar 12. Pengujian aktivitas antioksidan masker *gel peel-off* ekstrak etanol beras hitam