

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan eksperimental dengan pengujian aktivitas antioksidan dan evaluasi fisik serum ekstrak Etanol biji kopi hijau (*Coffea canephora pierre*) pada suhu ruangan. Pengujian yang dilakukan yaitu dengan pengujian organoleptis, pH, viskositas, homogenitas, daya sebar, dan daya lekat.

#### 3.2. Sampel

Sampel penelitian yang digunakan adalah ekstrak etanol biji kopi hijau (*Coffea canephora pierre*) yang di-peroleh di Desa Mekarbuana, Karawang.

#### 3.3. Bahan Dan Alat Yang Digunakan

##### 3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu gelas ukur, *beaker glass*, *stemper*, pipet tetes, kertas perkamen, cawan porselen, spatula, sendok tanduk, timbangan analitik, tabung reaksi, wadah serum, *object glass*, spektrofotometer UV- VIS Themo scientific, kuvet kuarsa quartz, viskometer *frist touch lamy rheology* , pH meter , kertas saring, alat daya lekat, dan kaca bulat berskala.

##### 3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu ekstrak etanol biji kopi hijau (*Coffea canephora pierre*), carbopol, Nipagin, Dinatrium EDTA, Trietanolamin, dan Aquadest.

### 3.4. Variabel Penelitian

#### 3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang terlibat pada penelitian ini adalah uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dengan perbandingan dengan vitamin C, dan uji evaluasi fisik serum ekstrak biji kopi hijau (*Coffea canephora pierre*) yang diperoleh di Desa Mekarbuana, Karawang.

#### 3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu dengan pengujian organoleptik, pH, viskositas, homogenitas, daya sebar, dan daya lekat pada serum ekstrak biji kopi hijau (*Coffea canephora pierre*).

### 3.5. Definisi operasional variabel

Berikut adalah tabel Definisi operasional variabel :

**Tabel 3. 1** Definisi operasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Alat ukur	Skala	Hasil ukur
1	Uji aktivitas antioksidan serum ekstrak biji kopi Hijau ( <i>Coffea canephora Pierre</i> )	Uji aktivitas antioksidan serum ekstrak Biji Kopi Hijau ( <i>Coffeacanephora pierre</i> )	alat spektrometer UV-VIS	-	-
2	Uji evaluasi fisik serum ekstrak biji kopi hijau ( <i>Coffea caneporapierre</i> )	Dengan uji evaluasi fisik serum ekstrak biji kopi hijau ( <i>Coffea canaphora pierre</i> )	Pengujian fisik meliputi organoleptis, (warna, bau, tekstur) Ph, homogenitas, viskositas, daya sebar, dan daya lekat.	-	-

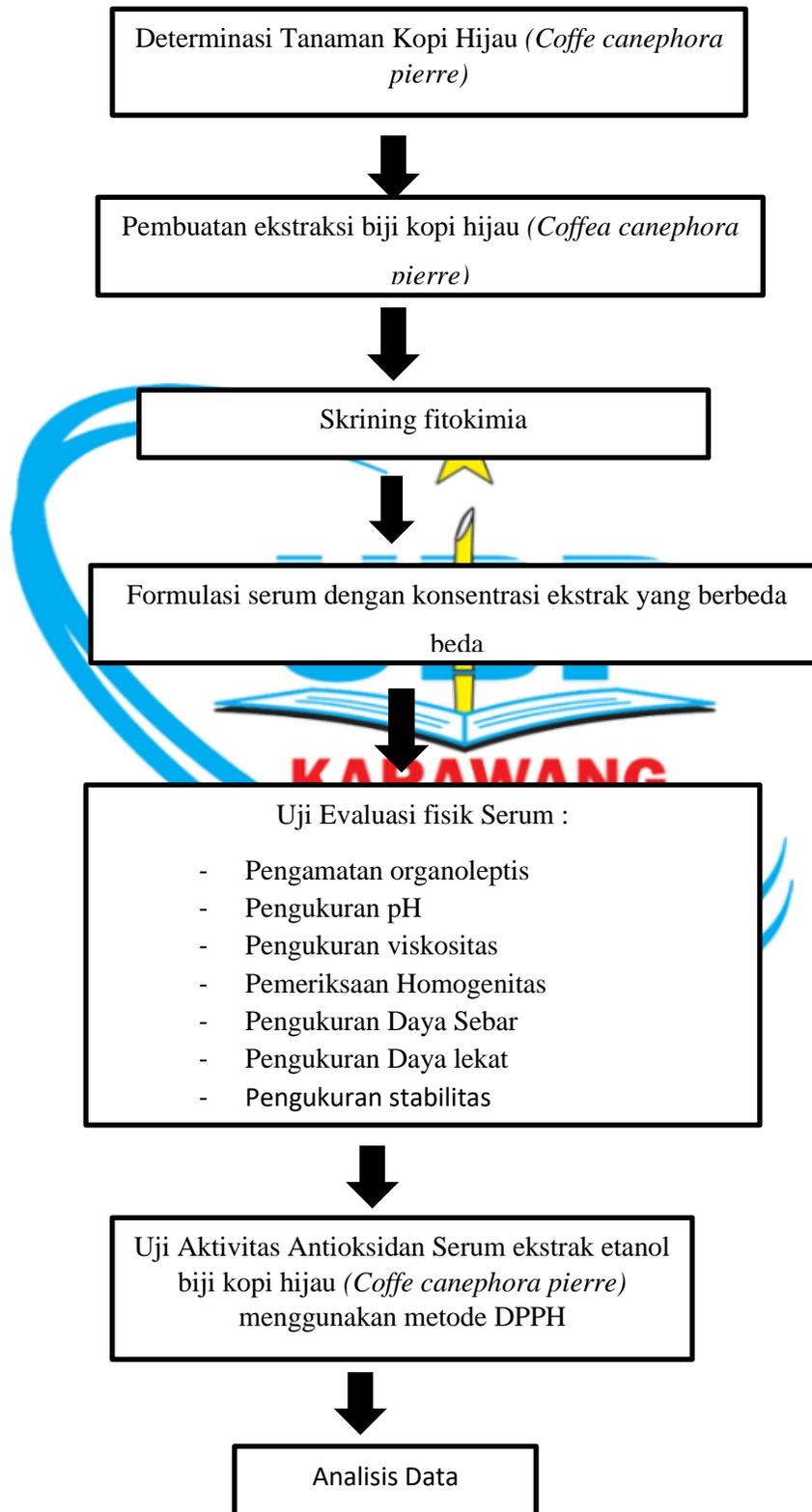
		Variabel Terikat			
3	Warna	Dengan parameter menggunakan indera mata dalam pengujian sampel serum ekstrak Biji Kopi Hijau ( <i>Coffea canephora pierre</i> )	Uji organoleptic	Nominal	1. Warna putih 2. Warna kehijauan
4	Bau	Dengan parameter fisik menggunakan indera penciuman atau hidung pada sampel ekstrak biji kopi hijau ( <i>Coffea canephora pierre</i> )	Uji organoleptik	Nominal	1. Bau lemah/kuat 2. Tidak berbau
5	Tekstur	Uji tekstur serum ekstrak Biji kopi hijau ( <i>Coffea canephora pierre</i> ) dengan parameter menggunakan indera penglihatan dalam pengujiannya.	Uji organoleptik	Nominal	1. Agak Kental 2. Kental
6	Homogenitas	Uji homogenitas serum ekstrak biji kopi hijau ( <i>Coffea canephora pierre</i> )	kaca arloji	Nominal	1. Tidak homogen 2. Homogen
7	Viskositas	Pada uji viskositas sediaan serum biji kopi hijau ( <i>Coffea</i>	viskometer brookfield	Rasio	Cp

		canephora pierre) dengan spindle dilakukan dengan yang sesuai menggunakan visometer		
8	pH	Pada nilai pH pH meter sediaan serum yang menunjukkan dengan pH kulit oleh alat Ph meter	Rasio	Angka pada Ph meter, pH yang baik 4,5 - 6,5



### 3.6. Tahap penelitian

Tabel 3. 2 Tahap penelitian



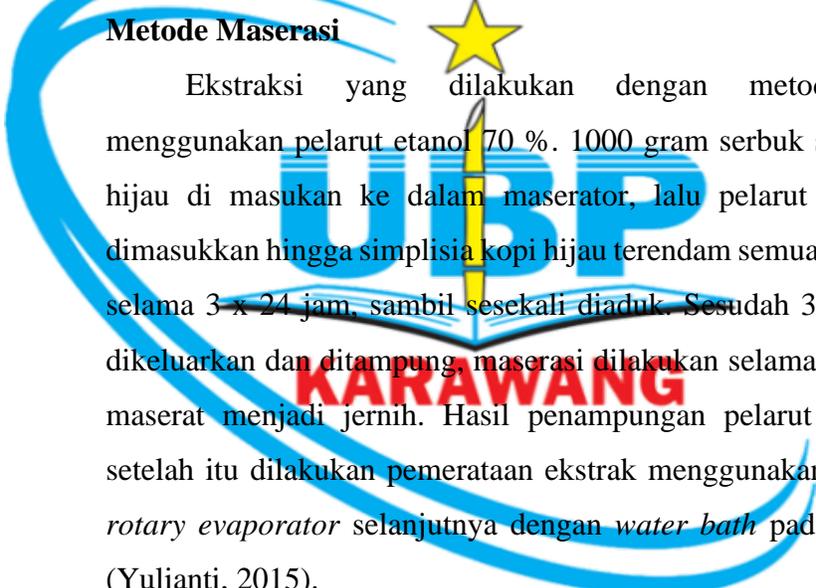
### 3.7. Prosedur Penelitian

#### 3.6.1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman biji kopi hijau merupakan tahap awal yang harus dilakukan pada sebuah tahap awal yang dilakukan pada sebuah penelitian sebelum ke tahapan selanjutnya, hasil dari determinasi bahwa membuktikan bahwa sampel tanaman yang digunakan merupakan benar biji kopi hijau (*Coffea canephora pierre*).

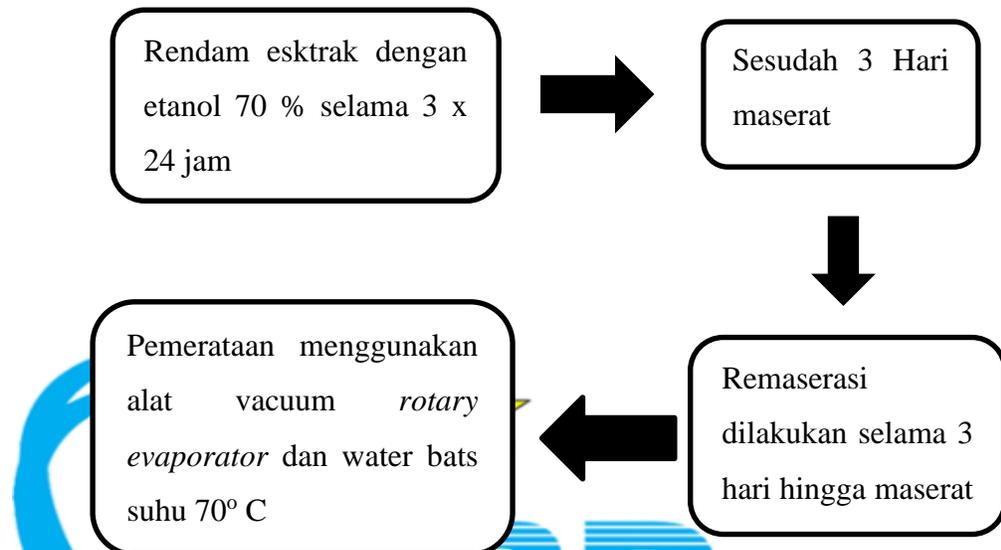
#### 3.6.2. Pembuatan Ekstraksi Biji kopi Hijau (*Coffea canephora pierre*)

##### Metode Maserasi



Ekstraksi yang dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70 %. 1000 gram serbuk simplisia kopi hijau di masukan ke dalam maserator, lalu pelarut etanol 70 % dimasukkan hingga simplisia kopi hijau terendam semuanya. Diamkan selama 3 x 24 jam, sambil sesekali diaduk. Sesudah 3 hari, maserat dikeluarkan dan ditampung, maserasi dilakukan selama 3 hari hingga maserat menjadi jernih. Hasil penampungan pelarut dicampurkan setelah itu dilakukan pemerataan ekstrak menggunakan alat vacuum *rotary evaporator* selanjutnya dengan *water bath* pada suhu 70 °C (Yulianti, 2015).

**Tabel 3. 3** pembuatan ekstrak biji kopi hijau (*Coffea Canephora Pierre*)



### 3.6.3. Skrining Fitokimia

Pada metode penapisan fitokimia secara kualitatif dilakukan menggunakan pereaksi warna untuk memberikan hasil mengenai golongan senyawa yang terkandung pada tanaman (Serlahwaty dan seviaan, 2016).

#### 1. Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 1 ml ekstrak di masukan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 ml HCL kemudian dikocok secara perlahan, dipisahkan sebanyak 1 ml setiap tabung reaksinya.

Pada tabung ke 1 ditambahkan 1 tetes pereaksi dragendorff ,adanya alkaloid menunjukkan dengan terbentuknya endapan merah jingga.

Sedangkan pada tabung ke 2 ditambahkan 1 tetes pereaksi mayer, adanya alkaloid jika menunjukkan adanya 2 lapisan yang

terbentuk, lapisan bawah berwarna hijau sedangkan lapisan bawah adanya endapan putih.

## 2. Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 1 ml ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan serbuk Mg sebanyak 0,1 g dan tambahkan 10 tetes HCL pekat adanya flavonoid akan menunjukkan terdapat endapan berwarna putih

## 3. Identifikasi Saponin

Ambil sebanyak 1 gram ekstrak kental dilarutkan ke dalam 10 ml air panas, kemudian didinginkan dan saring. Filtrat yang diperoleh di kocok kuat-kuat selama 10-15 detik lalu diamati. Adanya saponin menunjukkan dengan terbentuknya buih/busa pada sampel.

## 4. Identifikasi Fenolik

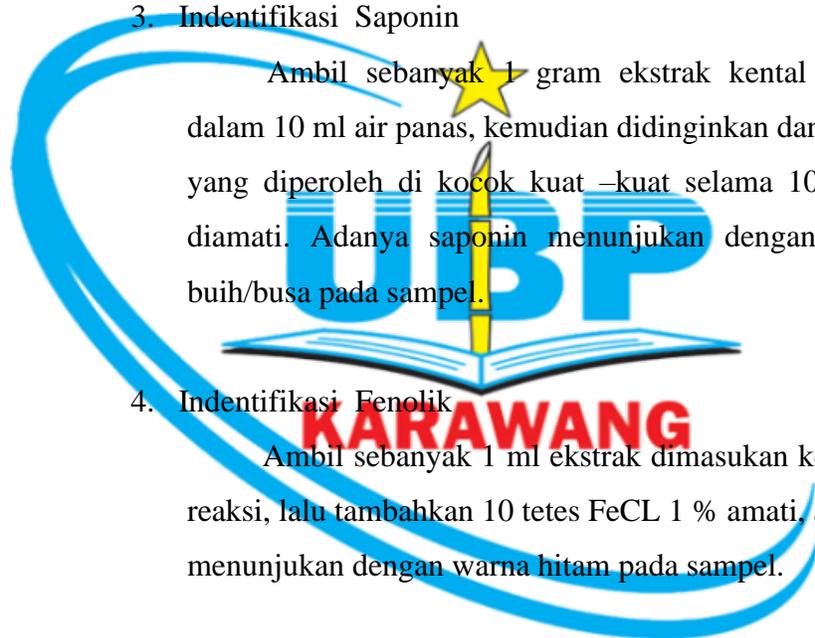
Ambil sebanyak 1 ml ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu tambahkan 10 tetes FeCL 1 % amati, adanya fenolik menunjukkan dengan warna hitam pada sampel.

## 5. Identifikasi Kuinon

Ambil sebanyak 1 ml ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu tambahkan NaOH sebanyak 5 tetes amati, adanya kuinon menunjukkan warna jingga pada sampel.

## 6. Identifikasi Tanin

Ambil sebanyak 3 ml masukan ke dalam tabung reaksi, tambahkan 5 tetes gelatin lalu amati perubahan yang terjadi,



adanya tanin menunjukkan dengan terbentuknya endapan putih pada sampel.

#### 7. Identifikasi Steroid Dan Triterpenoid

Ambil sebanyak 2 ml ekstrak, lalu diuapkan di tambahkan 5 tetes lieberman bochard kemudian diamati adanya steroid dan triterpenoid menunjukkan adanya cincin biru kehijauan pada sampel.

#### 3.6.4. Formulasi Serum Ekstrak Etanol Biji Kopi Hijau (*Coffea canephora pierre*)

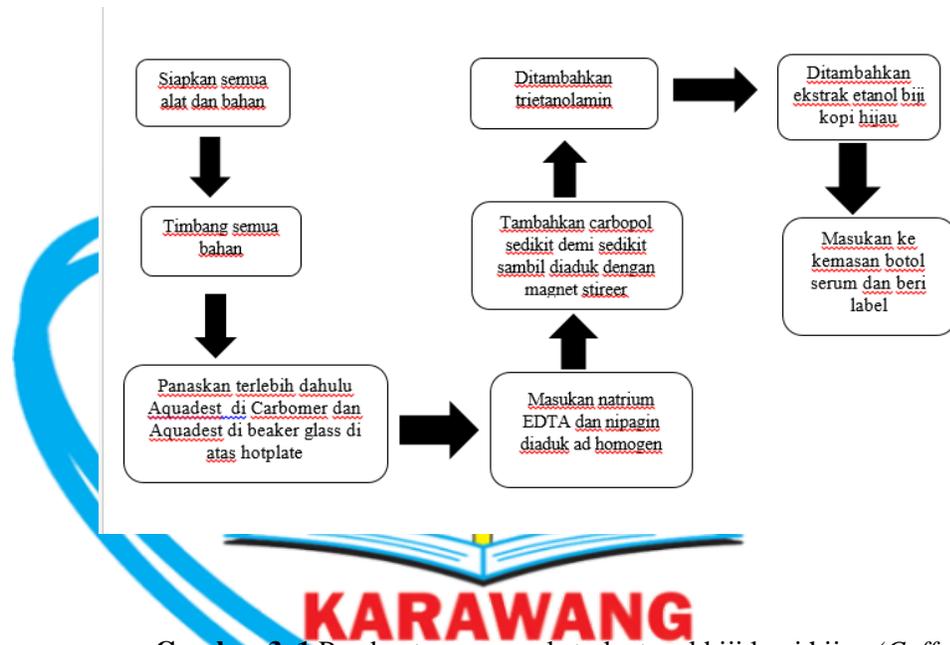
Berikut ini merupakan formulasi serum ekstrak etanol biji kopi hijau (*Coffea canephora pierre*)

Modifikasi Aqillah *et al.*, 2022

**Tabel 3. 4** Formulasi Sediaan Serum Ekstrak Biji Kopi Hijau (*Coffea Canephora Pierre*)

Bahan-bahan	F0	F1	F2	F3	Khasiat	K+
Ekstrak biji kopi hijau ( <i>Coffea canephora pierre</i> )	0%	0,4%	0,6%	1%	Zat aktif	Vitamin C
Carbopol	0,3 %	0,3%	0,3 %	0,3 %	Gelling agent	
Trietanolamin	0,1%	0,1 %	0,1 %	0,1 %	Humektan	
Nipagin	0.2 %	0,2 %	0,2 %	0,2 %	pengawet	
Dinatrium EDTA	0,2 %	0,2 %	0,2 %	0,2 %	Chelating agent	
Aquadest	100 ml	100 ml	100 ml	100 ml	pelarut	

pembuatan Serum Ekstrak Etanol Biji Kopi Hijau (*Coffea canephora pierre*)



**Gambar 3. 1** Pembuatan serum ekstrak etanol biji kopi hijau (*Coffea canephora pierre*)

Pembuatan serum ekstrak etanol biji kopi hijau (*Coffea canephora pierre*) dilakukan di laboratorium teknologi kosmetik di Universitas Buana Perjuangan Karawang, dengan menyiapkan semua bahan dan alat yang akan digunakan, lalu timbang semua bahan yang telah disiapkan, setelah itu panaskan terlebih dahulu aquadest didalam beaker glass diatas hotplate, setelah itu masukan natrium EDTA dan nipagin diaduk hingga sampai larut, tambahkan carbopol sedikit demi sedikit sambil diaduk dengan mixer homogineter dan tambahkan trietanolamin dan tambahkan ekstrak ad homogen, setelah itu di masukan ke dalam botol serum yang sudah disiapkan dan diberi label.

### 3.7 Pengujian Evaluasi Fisik Serum Ekstrak Etanol Biji Kopi Hijau (*Coffea canephora pierre*) (Hairunnisa *et al.*, 2022 )

#### 3.7.1. Uji Organoleptik

pengamatan meliputi aroma, warna dan tekstur dari masing-masing formula sediaan serum ekstrak etanol biji kopi hijau (*Coffea Canephora Pierre*) yang diamati sebanyak 3 kali.

#### 3.7.2. Uji pH

Pada pengujian pH dilakukan dengan menggunakan alat pH meter, kalibrasi alat pada larutan buffer setiap akan di lakukan pengukuran. Dibersihkan elektroda setelah itu di celupkan pada sampel sediaan serum yang akan untuk di periksa keasaman nya. Pada nilai pH pada skala pH meter (Sari R & Ferdian A, 2017). pH untuk sediaan tropikal 4,5 -6, 5.

#### 3.7.3. Uji Viskositas

Pada uji viskositas sediaan serum dilakukan dengan menggunakan alat viskosimeter Brookfield dengan memasukan sediaan serum ke *beaker glass* sebanyak 100 gram, dan mencelupkan spindle yang sesuai. Viskositas sediaan akan terlihat pada skala dalam alat setelah mencapai kestabilan. Untuk melihat kestabilan dari sediaan dilakukan sebanyak tiga kali.

#### 3.7.4. Uji Homogenitas

Pada uji homogenitas dengan dua buah kaca objek, sediaan serum diletakkan pada salah satu kaca objek dan diletakkan secara merata. Sediaan yang baik harus homogen dan bebas dari partikel yang masih menggumpal.

#### 3.7.5. Uji Daya Sebar

Pada pengujian uji daya sebar dilakukan dengan mengambil sebanyak 0,5 gram sediaan serum lalu diletakkan ke kaca bulat dan berskala , kaca lainnya diletakkan di atasnya dan dibiarkan selama 5

menit, setelah itu ditambahkan beban 150 gram di diamkan selama 1 menit dan di ukur diameter konstan, pada daya sebar yang memenuhi persyaratan yaitu 5-7 cm. (Iramie *et al.*, 2020)

### 3.7.6. Uji Daya Lekat

Pada uji daya lekat sediaan serum diambil sebanyak 0,5 gram di atas kaca objek kemudian ditutup dengan kaca objek lainnya dan diberi beban sebanyak 500 gram selama 5 menit. Beban diangkat dan diberi beban 20 gram pada alat. Penentuan daya lekat pada kedua kaca objek terlepas. Pada uji daya lekat yang memenuhi persyaratan lebih dari 1 detik. (Iramie *et al.*, 2020)

### 3.7.7. Uji Stabilitas

Uji stabilitas produk baru pada batch percobaan dilakukan metode stabilitas dipercepat selama 12 minggu (BPOM, 2010) dengan pemeriksaan organoleptis (Bentuk, warna, bau). Uji stabilitas yang dilakukan pada ruang suhu selama 12 minggu (minggu ke-0, minggu ke-1, minggu ke-2, minggu ke-3, minggu ke-4, minggu ke 8 dan minggu ke- 12) dengan penyimpanan di suhu kamar, suhu 40° C dan di bawah sinar matahari (Farhamzah & Aeni, 2019).

## 3.8 Pengujian Serum Ekstrak Etanol Biji Kopi Hijau Antioksidan dengan Metode DPPH (Hairunnisa *et al.*, 2022)

### 1. Pembuatan Larutan DPPH

Sebanyak 5 mg serbuk DPPH dilarutkan dengan 100 ml etanol p.a dalam labu ukur sehingga diperoleh warna ungu violet

### 2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Ambil larutan DPPH sebanyak 4 ml larutan 0, 1 mm ditambahkan dengan 1 ml etanol p.a dan dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap, diukur serapan larutan dengan spektrofotometer UV- VIS dan

mengukurnya pada panjang gelombang 516 nm untuk mendapatkan absorbansi  $\pm 0,2 - 0,8$ .

### 3. Pembuatan Larutan Blanko

Sebanyak 2 ml DPPH dimasukkan ke dalam kuvet lalu ditambahkan dengan etanol p.a sebanyak 2 ml, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ , lalu diukur serapannya pada panjang gelombang 516 nm.

### 4. Pembuatan Larutan Vitamin C

Membuat larutan vitamin C dengan menimbang sebanyak 5 mg Vitamin C kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan dilarutkan dengan etanol p.a sampai tanda batas, sehingga diperoleh  $\mu\text{g/ml}$ .

### 5. Uji Aktivitas Antioksidan Serum Ekstrak Etanol Biji Kopi Hijau (*Coffea Canephora Pierre*) dan Vitamin C

Pada larutan uji sediaan serum ekstrak etanol biji kopi hijau (*Coffea canephora pierre*) dan larutan vitamin C diinkubasi selama 30 menit pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ , setelah itu dimasukkan ke dalam spektrofotometri uv- vis. aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} 100 \%$$

### 6. Pengukuran nilai $\text{IC}_{50}$

$\text{IC}_{50}$  adalah nilai yang menunjukkan kekuatan penghambatan 50 % pada radikal bebas oleh suatu konsentrasi sampel ( ppm) semakin kecil nilai  $\text{IC}_{50}$  nya sehingga semakin tinggi nilai antioksidan nya. Pada nilai  $\text{IC}_{50}$  dihitung kurva *regresi linier* antara % inhibisi sebesar 50 % serta berbagai konsentrasi ekstrak biji kopi hijau (*Coffea canephora pierre*).

$$y = bx + a$$

### 3.9 Analisis Data

Metode analisis statistik yang digunakan dalam penelitian ini adalah *ONE- WAY ANNOVA* untuk menganalisis hasil pengamatan evaluasi fisik meliputi pH, viskositas, daya sebar, dan daya lekat jika memenuhi persyaratan berupa data terdistribusi normal dan homogen. Untuk organoleptis dan homogenitas diamati dengan data deskriptif.

