

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN & PEMBAHASAN**

#### **A. Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa L.*) dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA Universitas Ahmad Dahlan (UAD). Tujuan dilakukannya determinasi tanaman ini adalah untuk memastikan tanaman sampel uji yang digunakan sesuai. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman sampel uji yang digunakan adalah benar tanaman rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa L.*) dapat dilihat dalam lampiran.

#### **B. Ekstraksi simplisia**

Ekstraksi merupakan proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan penyari tertentu. Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian, hingga memenuhi baku yang ditetapkan Depkes RI 1995).

Ekstraksi bertujuan untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia. Ekstraksi didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut. Proses pengekstraksian komponen kimia dalam sel tanaman yaitu pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif

akan larut dalam pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi laju ekstraksi adalah tipe persiapan sampel, waktu ekstraksi, kuantitas pelarut, suhu pelarut, dan tipe pelarut (Depkes RI 1995).

Pada pembuatan ekstrak rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa L.*) menggunakan metode maserasi. Maserasi adalah ekstraksi suatu bahan menggunakan pelarut dengan pengadukan pada suhu ruang. Pada remaserasi sebagian pelarut digunakan untuk maserasi lalu setelah penyaringan, residu digunakan lagi untuk kedua kalinya dengan sisa pelarut yang ada dan disaring kembali, lalu kedua filtrat digabungkan pada tahap akhir (List, 1989). Metode ini digunakan karena metode maserasi dan remaserasi ini merupakan ekstraksi dingin sehingga tidak menggunakan panas dalam proses ekstraksinya. Tidak menggunakan panas dalam prosesnya diharapkan dapat meminimalkan terjadinya kerusakan pada senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman rosella ungu (*Hiiscus sabdariffa L.*).

Ekstraksi tanaman rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa L.*) yang dilakukan dalam penelitian ini adalah bagian Bungan dari tanaman tersebut. Proses ekstraksi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa L.*) sebanyak 1 kg dalam pelarut etanol 96% sebanyak 5L. Pemilihan pelarut etanol 96% ini merujuk dari penelitian yang telah dilakukan oleh Rosdiana dan stevanus (2009) yang menyatakan bahwa pelarut etanol 96% merupakan pelarut terbaik dari kelopak bunga rosella karena sifat polar dari

etanol. Sebelum dilakukan perendaman keseluruhan, dilakukan pembasahan terlebih dahulu selama 1 jam dengan menggunakan etanol 96% pada serbuk simplisia dengan tujuan untuk membuka struktur polimer. Proses maserasi ini dilakukan selama 3 hari, dimana setiap 24 jam dilakukan penyaringan menggunakan corong Buchner untuk memisahkan ampas dengan maserat. Setelah dilakukan penyaringan dilakukan proses remaserasi. Pada remaserasi sebagian pelarut digunakan untuk maserasi lalu setelah penyaringan, residu digunakan lagi untuk kedua kalinya dengan sisa pelarut yang ada dan disaring kembali, lalu kedua filtrat digabungkan pada tahap akhir ( List, 1989). Proses remaserasi dilakukan sebanyak dua kali, tujuan dilakukannya proses remaserasi ini untuk mendapatkan zat aktif yang lebih banyak.

Maserat yang telah didapat kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan kecepatan 90rpm pada suhu 60°C tujuannya untuk menguapkan pelarut yang digunakan selama proses ekstraksi sehingga didapatkan ekstrak kental dari rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa L.*). Tetapi ekstrak kental yang didapat dari evaporasi masih mengandung sebagian pelarut untuk menghilangkan pelarut tersebut, ekstrak dipanaskan dengan menggunakan waterbath pada suhu 60 °C hingga mendapatkan ekstrak kental yang konstan. Ekstrak kental yang konstan berarti sudah tidak mengandung pelarut lagi. Rendemen yang didapatkan dalam penelitian ini adalah 30,81%.

### C. Uji Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa L.*).

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia ekstrak rosella ungu

No.	Golongan senyawa	Hasil	Keterangan
1.	Alkaloid	+	Terbentuk endapan putih
2.	Flavonoid	+	Timbul warna kekuningan
3.	Saponin	+	Terbentuk busa 1-10 cm
4.	Tanin	+	Timbul warna hijau kehitaman

Keterangan :

+ = mengandung golongan senyawa

- = tidak mengandung golongan senyawa



Gambar 8. Hasil Uji Alkaloid Ekstrak Bunga Rosella Ungu

Pada uji alkaloid menggunakan prinsip reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya penggantian logam. Atom nitrogen yang memiliki pasangan electron bebas dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam (McMurry dan Fay, 2004). Pasangan elektron bebas pada

alkaloid akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion  $K^+$  dari kalium tetraiodobismutat (pereaksi dragendorf) yang menghasilkan kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Haryati dkk, 2015).



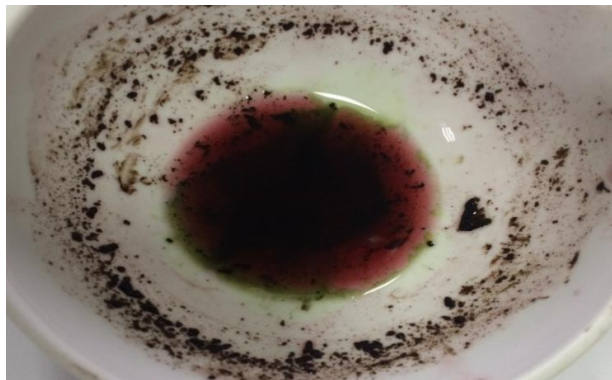
Gambar 9. Hasil Uji Flavonoid Ekstrak Bunga Rosella Ungu

Pada uji skrining flavonoid pada ekstrak rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) menggunakan magnesium sebagai pereduksi, reduksi tersebut dilakukan dalam suasana asam dengan penambahan asam klorida. Reduksi dengan magnesium dan asam klorida pekat menghasilkan kuning kemerahan pada ekstrak tanaman uji (Seniwaty dkk, 2009). Pada penelitian ekstrak rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa* L.) positif mengandung flavonoid karena menunjukkan warna kekuningan.



Gambar 10. Hasil Uji Saponin Ekstrak Bunga Rosella Ungu

Pada uji saponin hasil positif jika terdapat busa saat dilakukan uji. Pada uji ini timbulnya busa tersebut dikarenakan saponin mengandung gugus glikosil yang berperan sebagai gugus polar serta gugus steroid dan triterpenoid yang berfungsi sebagai gugus nonpolar. Senyawa yang memiliki gugus polar dan nonpolar akan bersifat aktif sehingga saat dikocok dengan air saponin dapat membentuk misel, dimana struktur polar akan menghadap ke luar sedangkan gugus nonpolar akan menghadap ke dalam. Pada saat inilah saponin akan membentuk seperti busa (Sangi dkk, 2008).



Gambar 11. Hasil Uji Tanin Ekstrak Bunga Rosella Ungu

Pada uji skrining tanin dilakukan dengan penambahan  $\text{FeCl}_3$ . Pada penambahan ini golongan tanin terhidrolisis akan menghasilkan warna biru kehitaman dan tanin terkondensasi akan menghasilkan warna hijau kehitaman. Perubahan warna ini terjadi ketika penambahan  $\text{FeCl}_3$  yang bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin (Sangi dkk., 2008).

#### D. Formulasi Sediaan Lipstik dengan ekstrak bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa L.*)

Sediaan yang dibuat dalam penelitian adalah sediaan lipstik dengan tujuan membentuk bibir lebih artistik dan menarik, sehingga meningkatkan estetika dalam tata rias wajah. Selain itu, lipstik juga berfungsi sebagai pelindung bibir dari radikal bebas eksogen dengan penambahan antioksidan dalam formulasi.

Tabel 3. Komposisi Formula Sediaan Lipstik

Komposisi	(Sediaan 100 g)			
	FI	FII	FIII	FIV
Ekstrak bunga rosella ungu	2,5	2,5	2,5	2,5
Minyak jarak	10	10	10	10
Setil alkohol	16,5	16,5	16,5	16,5
Lanolin	25	25	25	25
Paraffin wax	15	10	10	10
Baeswax	15	10	10	10
Tween 80	15	15	15	15
Nipasol	0,5	0,5	0,5	0,5
Propilen glikol	-	10	-	5
Asam oleat	-	-	10	5
Essence	0,5	0,5	0,5	0,5

Pada sediaan lipstik dalam penelitian ini dilakukan penambahan ekstrak bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa L.*) yang berfungsi sebagai penangkal radikal bebas eksogen pada kulit bibir. Menurut penelitian yang dilakukan oleh I Gede Agus Juniarka (2011) bahwa ekstrak kelopak bunga rosella memiliki potensi yang baik sebagai antioksidan alami. Oleh karena itu,

penelitian ini perlu dilakukan untuk menghasilkan sediaan lipstik yang dapat melindungi bibir dari radikal bebas eksogen.

Penambahan ekstrak kelopak bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa L.*) dalam formulasi lipstik berfungsi sebagai sumber antioksidan alami untuk bibir. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan atau menangkalkan radikal bebas dari luar tubuh sehingga dapat melindungi bibir dari efek berbahaya dari radikal bebas tersebut. Senyawa antioksidan tersebut dapat menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil.

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan lipstik ini meliputi Ekstrak rosella ungu, *Paraffin wax*, *Beeswax*, setil alkohol, Lanolin, Tween 80, Propilen glikol, Asam oleat, Minyak jarak dan Nipasol. Pembuatan sediaan lipstik diawali dengan menimbang bahan-bahan yang diperlukan dalam formulasi lipstik ini. Pertama-tama diawali dengan melelehkan basis lipstik meliputi *paraffin wax*, *beeswax*, setil alkohol, lanolin diatas penangas air. Basis ini digunakan untuk membentuk struktur dan badan lipstik. Basis lipstik merupakan faktor yang mempengaruhi dan meentukan kualitas lipstik yang akan diformulasikan (Wilkinsone dan Moore, 1982). Basis dasar yang digunakan dalam pembuatan sediaan lipstik adalah lemak dan minyak sehingga bahan-bahan yang ditambahkan dalam pembuatan sediaan lipstik ini harus dapat larut dengan baik dalam basis tersebut (Imron,1985).

Dalam pembuatan lipstik pada penelitian digunakan dua jenis wax yaitu *Paraffin wax* dan *Beeswax*. Tujuan pencampuran dua jenis wax ini adalah untuk mendapatkan hasil sediaan lipstik yang mempunyai struktur yang halus dan tidak mudah patah.

*Paraffin wax* merupakan campuran dari padatan hidrokarbon jenuh. *Paraffin wax* mempunyai organoleptis tidak berbau, tidak berwarna dan merupakan padatan putih (Rowe



dkk., 2009). Titik leleh *paraffin wax* adalah 45-65 °C. *Paraffin wax* ini memiliki sifat basa dengan pH 11. Fungsi dari *paraffin wax* ini dalam sediaan lipstik yaitu untuk menahan bentuk lipstik saat berada dalam wadah (Minami, 2005).

*Beeswax* merupakan lilin yang terbentuk dari sarang lebah yang berasal dari lebah Apis Mellifera. *Beeswax* ini dapat larut dalam minyak dan alkohol hangat (Williams, 2009). Organoleptis dari *besswax* ini yaitu memiliki bau khas yang tidak terlalu kuat. *Beeswax* ini memiliki sifat cenderung asam yaitu dengan pH 6,11 (Tihonov, Iavtushenko, Achilov, dan Iarnih, 1981).

Pada saat proses pemanasan pada basis lipstik jangan terlalu dilakukan pengadukan terlalu sering karena akan mengurangi massa basis yang menempel di batang pengaduk. Proses pencampuran basis ini disebut dengan campuran A. Langkah selanjutnya yaitu membuat campuran B. Diawali dengan pencampuran ekstrak rosella ungu dengan propilen glikol dan asam oleat, diaduk hingga homogen. Setelah homogen, dilakukan penambahan tween 80 diaduk kembali hingga homogen, setelah itu dilakukan penambahan nipasol sedikit demi sedikit hingga homogen kembali. Dalam penambahan ekstrak rosella dihindari seminimal mungkin terhadap pemanasan dengan tujuan untuk menghindari kerusakan senyawa aktif dari tanaman rosella ungu tersebut.

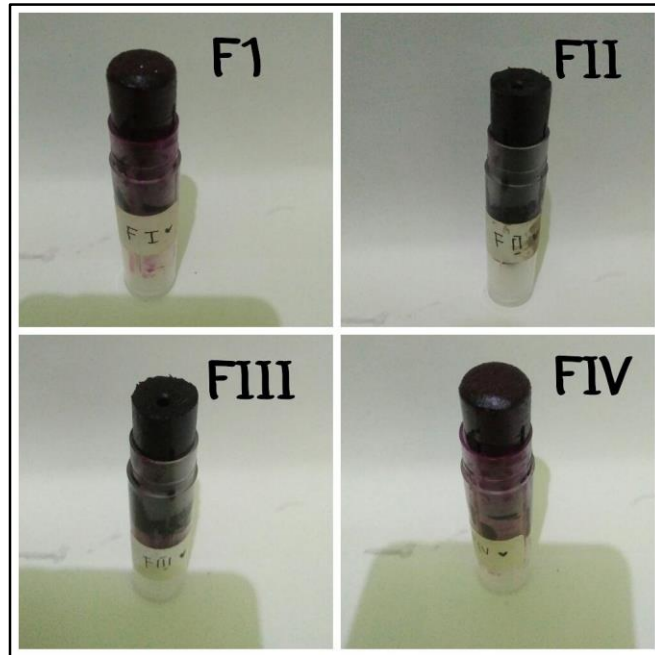
Penambahan ekstrak rosella ungu dalam sediaan lipstik ini berfungsi sebagai sumber antioksidan alami. Dimana antioksidan tersebut diharapkan dapat menangkal radikal bebas, radikal bebas tersebut bersifat tidak stabil dengan adanya antioksidan ini dapat menetralkan sifat radikal bebas tersebut menjadi lebih stabil.

Fungsi propilen glikol dan asam oleat dalam sediaan lipstik ini sebagai *enhancer*. *Enhancer* adalah suatu zat yang dapat meningkatkan penetrasi atau perembesan zat ke dalam kulit (Barry, 1983; Pfister and Hsieh, 1990a; Finnin and Morgan, 1999).

Tween 80 dalam sediaan lipstik ini berfungsi pendispersi partikel-partikel pewarna yang padat dan sebagai agen pelarut untuk berbagai zat termasuk minyak esensial dan vitamin yang larut dalam minyak dalam jumlah 1 - 15% (Rowe, et al., 2009).

Langkah terakhir dalam pembuatan sediaan lipstik ini yaitu dengan memasukkan minyak jarak kedalam mortir hangat. Tujuan menggunakan mortir hangat adalah untuk menghindari basis yang sudah dilelehkan kembali memadat. Campuran A dan campuran B di masukkan ke dalam mortir hangat yang sudah terisi minyak jarak, dicampur hingga homogen. Campuran keseluruhan bahan tersebut kemudian di panaskan kembali di atas *waterbath* pada suhu 60 °C dan dituang dalam cetakan. Setelah itu sediaan dibiarkan memadat pada suhu kamar.

Lipstik yang dihasilkan dalam penelitian ini memiliki warna merah kecoklatan. Dalam penyimpanan selama 30 hari, warna lipstick cenderung menjadi lebih gelap dibandingkan warna pada saat awal pencetakan. Perubahan warna ini dapat disebabkan oleh pengaruh ketidakstabilan dari ekstrak rosella ungu dalam campuran lipstik. Karena ekstrak rosella ungu stabil dalam pH 1-3, sementara apabila pada pH >4 ekstrak rosella (Farida dan Nisa, 2015). Hasil keempat formula dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 12. Hasil Keempat Formula Lipstik

**E. Evaluasi Fisik Sediaan Lipstik Ekstrak bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa L.*)**

Evaluasi sifat fisik yang dilakukan pada sediaan lipstik ekstrak bunga rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa L.*) meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji daya oles, uji titik lebur, dan uji pH. Uji tersebut dilakukan untuk mengetahui kualitas fisik lipstik ekstrak bunga rosella ungu yang dihasilkan.

1. Hasil Pengamatan Homogenitas Sediaan

Pemeriksaan homogenitas sediaan bertujuan untuk mengetahui sediaan lipstik tercampur merata dilihat dari tercampur meratanya basis dan pewarna yang digunakan dalam pembuatan sediaan lipstik dan tidak memperlihatkan butir butir kasar. Data pemeriksaan homogenitas dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Pengamatan Homogenitas Sediaan

Homogenitas	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV
	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen

Hasil pengamatan menunjukkan keempat formula sediaan lipstik homogen secara fisik, hal ini menunjukkan bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan sediaan tercampur dengan sempurna.

## 2. Hasil Pengamatan Organoleptis

Pengamatan organoleptis meliputi warna, aroma, dan bentuk yang dihasilkan dari keempat formula sediaan lipstik ekstrak bunga rosella ungu. Data pengamatan organoleptis sediaan lipstik dapat dilihat dari tabel 5.

Tabel 5. Hasil Pengamatan Organoleptis

<b>Karakteristik</b>	<b>Formula I</b>	<b>Formula II</b>	<b>Formula III</b>	<b>Formula IV</b>
Warna	Merah kecoklatan	Merah kecoklatan	Merah kecoklatan lebih gelap	Merah kecoklatan lebih terang
Aroma	Aroma khas lilin	Aroma khas lilin	Aroma khas lilin	Aroma khas lilin
Bentuk	Keras tetapi sedikit lengket	Keras dan tidak lengket	Keras tetapi sedikit lengket	Keras dan tidak lengket

Dari hasil pengamatan organoleptis menunjukkan dari keempat formula sediaan lipstik memiliki warna dan aroma yang sama yaitu berwarna merah kecoklatan dan memiliki aroma khas lilin. Pada formula II yang menggunakan *enhancer* asam oleat memiliki tekstur yang lebih lunak dan lengket dibandingkan dengan formula yang lain. Hal ini dapat disebabkan karena adanya penambahan *enhancer* asam oleat. Asam oleat berasal dari minyak nabati atau lemak hewan, sehingga dapat melembutkan dan melembabkan kulit (Rogers *et al.*, 2009).

## 3. Hasil Pengamatan Daya Oles Sediaan

Sediaan lipstik dikatakan mempunyai daya oles yang baik jika sediaan memberikan warna yang intensif, merata dan homogen saat dioleskan pada kulit punggung tangan. Data pengamatan uji daya oles sediaan lipstik dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Pengamatan Daya Oles Sediaan

<b>Karakteristik</b>	<b>Formula I</b>	<b>Formula II</b>	<b>Formula III</b>	<b>Formula IV</b>
Warna	-	-	-	-
Kelembapan	+	+	+	+

Keterangan :

+ = sediaan dapat memberikan warna dan dapat melembabkan kulit

- = sediaan tidak dapat memberikan warna dan melembabkan kulit

Berdasarkan tabel diatas sediaan dapat melembabkan kulit yang kering namun tidak dapat memberikan warna yang intensif saat dioles. Sediaan tidak dapat memberikan warna yang intensif dapat dikarenakan kosentrasi ekstrak bunga rosella ungu yang kecil.

#### 4. Hasil Pengukuran Titik Leleh

Uji titik leleh merupakan salah satu dari pengujian mutu lipstik yang dilakukan untuk menganalisis penampilan sifat sediaan lipstik. Titik leleh merupakan kondisi dimana padatan mulai mencair. Hasil dari uji titik leleh memengaruhi kestabilan kualitas produk selama proses pembuatan, penyimpanan hingga pada saat penggunaan (Vishwakarma et al, 2011). Hasil pengukuran titik leleh sediaan dapat dilihat pada tabel 7.

Titik leleh pada sediaan lipstik yang ada pada kisaran 50-70°C menurut Standar Nasional Indonesia 16-4769 (SNI, 1998). Berdasarkan tabel diatas, kestabilan lipstik sesuai dengan titik leleh lipstik pada SNI dan dianggap memiliki kestabilan yang baik. Formula II dan formula IV memiliki titik leleh lebih tinggi dibandingkan dengan formula I dan formula

III. Hal ini dapat disebabkan karena adanya penambahan *enhancer* propilen glikol pada formula II dan IV, dimana propilen glikol memiliki titik leleh -59 °C.

Tabel 7. Hasil Pengukuran Titik Leleh

<b>Sediaan</b>	<b>Suhu mulai meleleh (°C)</b>
Formula I	50 °C
Formula II	53 °C
Formula III	51 °C
Formula IV	53 °C

#### 5. Hasil Pengukuran pH Sediaan

Pengukuran pH pada sediaan lipstik bertujuan untuk mengetahui sediaan telah sesuai dengan pH fisiologis kulit bibir. Lipstik yang baik mempunyai nilai keasaman mendekati nilai pH fisiologis kulit bibir yaitu 4,5 – 6,5 (Tranggono & Latifah, 2007). Hasil pengukuran pH sediaan lipstik dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 8. Hasil Pengukuran pH Sediaan

<b>Nilai pH</b>	<b>Formula I</b>	<b>Formula II</b>	<b>Formula III</b>	<b>Formula IV</b>
	4,73	4,98	4,24	5,13

Berdasarkan data yang diperoleh keempat formula berada pada rentang pH yang sesuai untuk kulit bibir yaitu pada rentang 4-6 (Ali & Yosipovitch, 2013). Nilai pH yang dihasilkan dari masing-masing formula memiliki perbedaan tergantung komposisi dari *enhancer* yang digunakan dalam formula. Penambahan propilen glikol sebagai *enhancer* akan membuat sediaan lipstik menjadi lebih basa dan penambahan asam oleat sebagai *enhancer* akan membuat sediaan lipstik menjadi lebih asam (Kurniawan dkk., 2018). Dapat dilihat dari tabel

diatas formula II dan formula IV memiliki pH lebih basa dibandingkan dengan formula I dan formual III.

#### **F. Aktivitas Antioksidan Sediaan Lipstik Ekstrak Rosella Ungu (*Hibiscus sabdariffa L.*)**

Uji aktivitas antioksidan dalam penelitian ini menggunakan metode DPPH. DPPH (1,1-difenil-2 pikrilhidrazil) merupakan senyawa radikal nitrogen DPPH akan mengambil atom hydrogen yang terdapat dalam suatu senyawa, misalnya senyawa fenol. Mekanisme reaksi terjadinya DPPH ini berlangsung melalui transfer elektron. Uji efektivitas antioksidan secara kuantitatif menggunakan metode DPPH diilih karena ujinya sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Adanya efektifitas antioksidan dari sampel mengakibatkan terjadinya perubahan warna pada larutan (Pratimasari, 2009: 11).

Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk menentukan panjang gelombang dimana senyawa yang ingin diukur memberikan absorbansi yang paling optimum. DPPH mampu memberi serapan karena mempunyai gugus kromofor dan auksokrom pada struktur kimianya, adanya delokalisasi elektron pada DPPH akan menghasilkan warna violet. Panjang gelombang DPPH berkisar antara 515-520 nm (Molyneux, 2004). Pada penelitian ini diperoleh panjang gelombang maksimum sebesar 518 nm.

Pada penelitian ini digunakan rutin sebagai pembanding dalam uji aktivitas antioksidan ekstrak bunga rosella ungu. Rutin digunakan sebagai pembanding karena rutin termasuk senyawa yang telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Rutin dilarutkan dalam methanol karena methanol tidak mengganggu reaksi DPPH dan pengukuran absorbansi (Molyneux, 2004).

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan pada enam sampel, yaitu rutin sebagai baku pembanding, ekstrak bunga rosella ungu, dan keempat formula lipstik ekstrak bunga rosella

ungu. Dilakukan proses preparasi sampel pada masing-masing sampel yang akan di uji aktivitas antioksidannya. Sampel kemudian di diamkan di tempat yang gelap dan ditunggu selama 30 menit untuk mencapai *operating time*.

*Operating time* bertujuan untuk meminimalkan kesalahan pengukuran aktivitas antioksidan dari senyawa antioksidan yang terkandung pada sampel uji. *Operating time* merupakan waktu dimana reaksi telah berjalan maksimal. Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH setelah menit ke 30 (Richard, 2016). Reaksi antara senyawa antioksidan dengan radikal DPPH berjalan lambat dan senyawa antioksidan telah optimum meredam radikal DPPH pada waktu tersebut untuk mendapatkan hasil reaksi yang stabil. Proses reaksi antara senyawa antioksidan dengan DPPH terjadi perubahan warna dari warna ungu berubah menjadi kuning, hal tersebut menunjukkan bahwa sampel berisi senyawa antioksidan dan mampu meredam radikal DPPH. Setelah mencapai *operating time*, masing-masing sampel diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 518 nm (Thummajitsakul and Silprasit, 2017).

Parameter yang digunakan untuk mengetahui besarnya kemampuan senyawa sebagai antioksidan adalah persen inhibisi. Persen inhibisi didapatkan dari perhitungan absorbansi yang diperoleh dari absorbansi sampel uji dan juga absorbansi DPPH. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan larutan pembanding rutin dan larutan uji sampel dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Sampel							
Replikasi	Absorbansi	Rutin (%)	Ekstrak (%)	Formula	Formula	Formula	Formula
	DPPH			I	II	III	IV
				(%)	(%)	(%)	(%)



<b>1</b>	0.896995	91.83	19.45	20,565	73,40	79,58	77,32
<b>2</b>	0.896995	91.81	19.50	20,567	73,36	79,61	73,69
<b>3</b>	0.896995	91.82	19.40	20,563	73,37	79,65	75,02
<b>4</b>	0.896995	91.80	19.41	20,569	73,39	79,65	76,40
<b>5</b>	0.896995	91.90	19.38	20,567	73,31	79,70	76,31
<b>6</b>	0.896995	91.87	19.37	20,565	73,39	79,73	76,43

Dari hasil pengukuran persen inhibisi menunjukkan bahwa dengan adanya penambahan *enhancer* pada formula dapat meningkatkan aktivitas antioksidan pada sediaan. Pada tabel di atas diperoleh persen inhibisi terbesar pada formula III dengan penggunaan *enhancer* asam oleat tunggal. Mekanisme asam oleat sebagai *enhancer* yaitu dengan memodifikasi lapisan lemak dari *stratum corneum* untuk membentuk rantai panjang asam lemak dengan konfigurasi *cis*. Asam oleat bekerja dengan membentuk lapisan lipid baru bersama lapisan lipid *stratum korneum* untuk menurunkan kapasitas fungsi sawar kulit (Hanafi et al, 1997). Sifat asam oleat mirip dengan *stratum korneum*, maka asam oleat lebih mudah untuk penetrasi ke dalam sawar kulit. Setelah masuk ke dalam kulit, asam oleat akan mengganggu dan meningkatkan fluiditas lipid. Hal ini menyebabkan penurunan permeabilitas difusi (Akhter dan Barry, 1984; Cooper, 1984; Barry,1987). Penambahan asam oleat sebagai peningkat penterasi pada formula dapat meningkatkan aktivitas antioksidan.

Persen inhibisi terendah diperoleh pada formula II dengan penggunaan *enhancer* propilenglikol tunggal. Mekanisme propilen glikol sebagai *enhancer* dengan meningkatkan fluiditas pada lipid sehingga difusi obat pada lipid bilayer akan meningkat. Propilenglikol akan melarutkan gugus polar pada *stratum corneum* sehingga akan meningkatkan jarak pada lamellar yang nantinya akan meningkatkan partisi obat pada *stratum corneum* (Benson dan Watkinson, 2012). Penggunaan propilen glikol secara tunggal kurang efektif untuk digunakan sebagai

*enhancer*. Kombinasi propilen glikol dengan *enhancer* lainnya akan memberikan efek sinergis dalam meningkatkan penetrasi zat aktif (Lanucea, Arellano, Santoyo dan Ygartua, 2001).

Penelitian ini menunjukkan bahwa perbedaan nilai persen inhibisi antara rutin dengan ekstrak Bunga rosella ungu serta ketiga formula cukup besar, aktivitas antioksidan rutin yang lebih kuat dibandingkan dengan ekstrak bunga rosella ungu dan ketiga formula.

Untuk lebih meyakinkan adanya perbedaan antara rutin dengan ekstrak dan ketiga formula tersebut dilakukan uji statistic dengan *software* SPSS 15.0 . Pengujian statistik yang pertama kali dilakukan adalah uji normalitas data. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data pada penelitian ini terdistribusi secara normal atau tidak. Uji normalitas yang dilakukan dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk. Hipotesis null-nya ( $H_0$ ) adalah data terdistribusi normal, sedangkan hipotesis alternatifnya ( $H_1$ ) adalah data tidak terdistribusi normal. Jika *p-value* kurang dari 0,005 maka  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima dan jika *p-value* tidak kurang dari 0,005 maka  $H_1$  ditolak dan  $H_0$  diterima. Hasil pengujian pada data penelitian ini terdapat satu data yang tidak terdistribusi normal dengan *p-value* kurang dari 0,05. Kesimpulan dari hasil uji Shapiro-wilk tidak terdistribusi normal.

Pada penelitian ini data tidak terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis. Pada uji tersebut didapatkan nilai signifikan yang lebih kecil dari 0,005 artinya bahwa pada berbagai kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang bermakna. Uji dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney yang dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Nilai signifikan sampel

<b>Perbandingan</b>	<b>Nilai signifikan</b>
Ekstrak - F1	0,003
FI - FII	0,003

FI - FIII	0,003
FI - F IV	0,003
FII - FIII	0,004
FII - F IV	0,004
FIII - F IV	0,004

Dari hasil pengujian menunjukkan nilai signifikan lebih kecil dari 0,005. Dari hasil uji tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan secara signifikan dari masing-masing hubungan sampel yang diuji. Hasil tersebut dapat dikarenakan hasil persentase inhibisi dari masing-masing sampel memiliki perbedaan yang cukup besar terutama pada hasil perbandingan antara persentase inhibisi rutin (91,83%) dengan ekstrak etanol bunga rosella (19,45%). Hal tersebut dikarenakan sampel rutin yang digunakan merupakan antioksidan murni sehingga persen inhibisi yang didapat sangat besar.

Perbandingan antara formula I (tanpa *enhancer*) dengan ketiga formula yang telah dilakukan penambahan *enhancer* pada formulanya menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, hal ini disebabkan karena persentase inhibisi formula yang ditambahkan *enhancer* asam oleat dan propilen glikol memiliki persentase inhibisi yang lebih besar dibandingkan dengan formula tanpa *enhancer*. Meskipun persentase inhibisi formula III (79,65%) merupakan persentase inhibisi yang paling besar dan paling mendekati persen inhibisi pembanding rutin, hasil dari uji perbandingan antara formula III inhibisi pembanding rutin (91,83%) menunjukkan adanya perbedaan. Sehingga kesimpulannya adalah data berbeda signifikan