

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah keseluruhan objek penelitian atau objek yang diteliti (Notoatmodjo 2002). Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) yang diperoleh dari Petani Desa Simo Kradenan Grobogan Jawa Tengah, tanaman yang dipilih kualitas yang paling baik, yaitu segar, tidak busuk dan tidak ditumbuhi jamur.

2. Sampel

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang dianggap mewakili seluruh populasi dalam penelitian (Notoatmodjo, 2002). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.)

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variable utama

Variabel utama penelitian ini adalah sediaan masker gel *peel-off* ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dengan pengujian mutu sediaan berupa uji homogenitas, uji pH, uji viskositas, uji stabilitas sediaan, uji waktu pengeringan sediaan, pengujian iritasi pada kulit.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama pada penelitian ini diklasifikasikan menjadi beberapa variable, seperti variabel bebas, variabel terkendali, dan juga variabel tergantung.

Variabel bebas merupakan variabel yang dapat memberikan dampak pada variabel yang lain. Variabel bebas yang ada pada penelitian ini adalah variasi *gelling agent* HPMC, Na CMC, PVA.

Variabel terkendali merupakan variabel yang dikendalikan agar tidak bisa berpengaruh terhadap variabel lain. Variabel terkendali yang ada pada penelitian ini

adalah alat bahan yang dipakai, cara pembuatan sediaan masker *gel peel-off* dan kondisi laboratorium yang digunakan saat penelitian.

Variabel tergantung merupakan variabel yang bisa berubah dikarenakan pengaruh dari variabel bebas. Variabel tergantung yang ada pada penelitian ini adalah yaitu keefektifan dari ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) yang mampu sebagai antioksidan dengan varian *gelling agent* dan uji mutu fisik sediaan masker *gell peel-off* yaitu homogenitas, pH, viskositas, stabilitas sediaan, waktu kering, iritasi pada kulit.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif.

Kedua. daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) adalah tanaman sayur-sayuran yang mengandung antioksidan diperoleh dari Petani Desa Simo Kradenan Grobogan Jawa Tengah.

Ketiga. serbuk daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) adalah daun yang sudah dicuci bersih dengan air mengalir sampai terbebas dari kotoran kemudian daun dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C dan diblender sampai menjadi serbuk dan diayak dengan ayakan nomor 60.

Keempat. ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) adalah ekstrak yang dihasilkan dari penyarian maserasi menggunakan pelarut etanol 96% yang dipekatkan dengan *vacum evaporator* sampai bebas etanol.

Kelima. pembuatan formula masker *gel peel-off* sediaan ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) varian jenis *gelling agent* HPMC 1%, Na CMC 2%, PVA 14%.

Keenam. Uji mutu fisik adalah parameter yang biasanya digunakan yaitu uji homogenitas, pH, viskositas, stabilitas, *sineresis/swelling*, waktu pengeringan sediaan, warna dan bau, pengujian iritasi pada kulit.

Ketujuh. Analisa data nilai uji antioksidan ekstrak etanol 96% daun bayam merah, masker *gel peel-off* sediaan ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) varian jenis *gelling agent* HPMC, Na CMC, PVA dengan metode DPPH Spektrofotometri UV-VIS.

C. Hipotesis

Formulasi Masker Gel *Peel-off* Ekstrak Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) dengan Variasi Jenis *Gelling Agent* dapat diformulasi sediaan masker gel *peel-off* yang stabil dan memenuhi syarat.

1. Ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dapat diformulasikan dalam sediaan masker gel *peel-off* dengan varian *gelling agent* HPMC, Na CMC, PVA.
2. Sediaan ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) memiliki kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin.
3. Ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dengan Variasi Jenis *Gelling Agent* HPMC, Na CMC, PVA dapat memberikan perbedaan efek pada kulit tangan.

D. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: *skin analyzer* dan *moisture checker*, alat-alat gelas laboratorium yang diperlukan, ayakan no 40, batang pengaduk, cawan penguap, kertas perkamen, lumping, neraca analitis, penangas air, pH meter, pipet tetes, pot plastik, spatula, stamper, stopwatch, sudip dan *Viskometer brookfield*.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: ekstrak etanol 96% daun bayam merah, polivinil alkohol (PVA), Hidroksipropil metil selulosa (HPMC), CMC Na, propilenglikol, metil paraben, propil paraben, Alfa tokoferol dan Aquadest.

3. Sukarelawan

Ditjen POM (1985) mencantumkan kriteria sukarelawan yang dijadikan panel untuk uji iritasi dan penentuan kemampuan sediaan untuk memberi efek perawatan kulit adalah sebagai berikut:

- a. Wanita berbadan sehat.
- b. Usia antara 20-30 tahun
- c. Tidak ada riwayat penyakit yang berhubungan dengan alergi.
- d. Bersedia menjadi sukarelawan.

E. Jalannya Penelitian

1. Determinasi

Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) yaitu dengan cara mencocokkan dengan ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman daun bayam merah terhadap kepustakaan.

2. Persiapan Sampel

Pengumpulan sampel dilakukan secara purposif yaitu daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) yang diperoleh dari Petani Desa Simo Kradenan Grobogan Jawa Tengah.

3. Pembuatan serbuk daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.)

Bersihkan daun bayam merah sebanyak 3kg menggunakan air mengalir dan iris tipis daun bayam merah kemudian dikering anginkan..

4. Penetapan susut pengeringan

Penentuan susut pengeringan dilakukan 3 kali replikasi dengan cara timbang seksama 2,991 gr serbuk. Susut pengeringan yang terlalu tinggi pada serbuk akan memudahkan pertumbuhan jamur dan bakteri serta perubahan kimiawi yang dapat merusak serbuk. Penetapan susut pengeringan serbuk daun bayam merah dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta. Metode penetapan susut pengeringan serbuk daun bayam merah dilakukan menggunakan alat *moisture balance*. Selanjutnya nilai susut pengeringan akan muncul dalam satuan % (Kemenkes RI, 2017).

5. Ekstraksi daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.)

Pembuatan ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Daun bayam merah yang telah dipetik dibersihkan dari kotoran yang menempel dan dicuci lalu dikeringkan secara diangin – anginkan. Kemudian dioven dengan suhu 50° C selama kurang lebih 1 hari. Kemudian daun bayam merah yang telah dikeringkan selanjutnya diblender dan diayak dengan menggunakan pengayak no 60 sampai didapatkan serbuk halus.

Ditimbang serbuk ekstrak daun bayam merah sebanyak 500 gram kemudian maserasi menggunakan etanol 96% selama 1 hari ditempat yang terlindung dari cahaya langsung (untuk mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya/perubahan warna).

Selanjutnya disaring lalu diuapkan menggunakan *rotary evaporator*, kemudian hasil yang didapat diletakkan pada pemanas water bath 40° - 60° C. Ekstrak yang telah didapat kemudian dimasukkan kedalam wadah steril dan disimpan dilemari pendingin.

6. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun bayam merah

Penyiapan sampel. Serbuk daun bayam ditambah dengan 100 ml air panas. kemudian dididihkan selama 15 menit dan disaring selagi panas Filtrat yang diperoleh digunakan sebagai larutan sampel.

Pemeriksaan flavonoid. Positif flavonoid ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi merah, kuning, atau orange ketika ekstrak ditambahkan dengan seujung sendok serbuk Mg dan beberapa tetes asam klorida pekat (Surbakti, 2018)

Pemeriksaan saponin. Positif saponin ditandai dengan busa dengan tinggi 1 hingga 10 cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit ketika ekstrak ditambahkan dengan 10ml aquadest panas, kemudian dikocok 10 detik secara vertikal, Busa tersebut tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCL 2 N (Puspita sari, 2013)

Pemeriksaan Tanin. Positif tanin ditandai dengan terbentuknya hijau gelap atau hijau kebiruan ketika ekstrak ditambahkan 2ml aquades dan beberapa tetes larutan FeCl₃ (Putri dan Hidajati, 2015)

Pemeriksaan Alkaloid. Sebanyak 1 gram serbuk daun bayam merah ditambah 100 ml air panas, dididihkan selama 15 menit dan disaring selagi panas filtrat diperoleh sebagai larutan sampel, kemudian dimasukkan 5 ml larutan sampel dalam tabung reaksi, ditambah 1 ml HCl 2%. Larutan dibagi 3 sama banyak dalam tabung reaksi. Tabung reaksi I untuk pembanding, tabung reaksi II ditambah 2-4 tetes reagen *Dragendorf*, adanya alkaloid jika menunjukkan adanya kekeruhan atau endapan coklat, tabung reaksi III ditambah 2-4 tetes reagen Mayer, adanya alkaloid jika menunjukkan adanya endapan putih kekuningan (Mayasari dan Laoli, 2018).

Bebas etanol. Ekstrak ditambah beberapa tetes H₂SO₄ pekat dan CH₃COOH, kemudian dipanaskan. Tidak ada bau khas ester menunjukan hasil negatif (Kurniawati, 2015).

F. Identifikasi Kandungan Kimia KLT

Fase diam yang dipakai yaitu silika GF 254 ukuran 10 x 2 cm, kemudian diaktifkan dengan cara dipanaskan dalam oven pada suhu 110°C selama 15 menit. Ekstrak etanol daun bayam merah ditotolkan pada fase diam dengan bantuan pipa kapiler. Untuk fase gerak pada setiap senyawa diidentifikasi berdasarkan golongan senyawa :

Golongan Flavonoid. Fase gerak yaitu n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) Penampakan noda yaitu pereaksi semprot Alumunium (III) Klorida 5% dalam etanol (Andriyani, 2010). Baku pembanding yaitu Kuarsetin. Jika tampak bercak noda kuning ke hijauan pada penyemprotan pereaksi Alumunium (III) Klorida 5% dalam etanol. Bila tanpa pereaksi kimia dibawah lampu UV₃₆₆ nm, flavonoid akan berfluoresens biru, kuning atau hijau tergantung dari strukturnya (Nirwana *et al.*, 2015).

Golongan Saponin. Fase gerak yaitu kloroform : methanol : air (13 : 7 : 2). penampakan noda yaitu *Lieberman Bouchardat*. baku pembanding yaitu sapogenin. Jika timbul warna hijau setelah penyemprotan *Lieberman Bouchardat* menunjukkan adanya senyawa saponin jenis steroid dalam ekstrak (Hayati, 2010).

Golongan Tanin. Fase geraknya n-Butanol : asam stearat : air (4 : 1 : 5). penampakan noda yaitu pereaksi FeCl₃. Baku pembanding yaitu katekin. Jika tampak noda pada disinari dengan lampu UV₃₆₆ nm berwarna ungu dan diperkuat oleh (Hayati, 2010) yang menyatakan bahwa noda hasil klt yang diduga senyawa tanin berwarna (Astri *et al.*, 2009)

Golongan Alkaloid. Fase gerak yaitu etil asetat : methanol : air (6 : 4 : 2) penampakan noda yaitu pereaksi *Dragendorff*, baku pembanding yaitu piperin. Jika timbul warna coklat atau jingga setelah penyemprotan pereaksi *dragendorff* menunjukkan adanya alkaloid (Harbone, 1996) bila tanpa pereaksi kimia dibawah lampu UV₃₆₆ nm alkaloid akan berfluoreses biru – hijau atau ungu (Hayati, 2010).

G. Uji Aktivitas Antioksidan Formulasi Masker Gel *Peel-Off* Ekstrak Etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) Varian *Gelling Agent* dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan prosedur Blois. yaitu

absorbansi yang dihitung dari 1 ml sampel dicampur 1 ml DPPH dan diencerkan dengan 2 ml methanol.

a. Pembuatan larutan DPPH

Ambil 5 mg DPPH dilarutkan dalam 50 ml metanol sehingga diperoleh konsentrasi sebesar 100 µg/ml.

b. Optimasi panjang gelombang DPPH

1. Satu ml larutan DPPH 100 µg/ml dimasukkan dalam tabung reaksi
2. Ditambah 3 ml methanol
3. Homogenkan.
4. Diinkubasi dalam penangas air 37°C selama 30 menit.
5. Ditentukan λ optimumnya, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 510-525 nm (Dewi, 2012).

c. Pengujian masker gel *Peel-off* ekstrak etanol daun bayam merah

1. Dua puluh lima mg gel *peel-off* masing-masing varian *gelling agent* ekstrak etanol bayam merah dilarutkan dalam 25 ml metanol sehingga diperoleh konsentrasi 1000 µg/ml
2. Dilakukan pengenceran masing-masing konsentrasi larutan sampel (varian *gelling agent*) dimasukkan pada labu ukur 10 ml kemudian diencerkan dengan metanol hingga tanda batas
3. Satu ml masing-masing konsentrasi larutan sampel (varian *gelling agent*) dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah 1 ml DPPH 100 µg/ml dan diencerkan dengan 2 ml methanol
4. Larutan dihomogenkan dengan cara digojok, kemudian diinkubasi dalam penangas air 37° C selama 30 menit
5. Masing-masing larutan diukur absorbansinya pada λ optimal

d. Pengujian Vitamin C

1. Dua puluh lima mg vitamin C dilarutkan dalam 25 ml metanol sehingga diperoleh konsentrasi 1000 µg/ml

2. Dilakukan pengenceran pada labu ukur 10 ml kemudian diencerkan dengan metanol hingga tanda batas
3. Satu ml larutan sampel (vitamin C) dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah 1 ml DPPH 100 µg/ml dan diencerkan dengan 2 ml methanol
4. Larutan dihomogenkan dengan cara digojok. kemudian diinkubasi dalam penangas air 37° C selama 30 menit
5. Masing-masing larutan diukur absorbansinya pada λ optimal

H. Pembuatan masker gel *peel-off* ekstrak etanol daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.)

Peneliti membandingkan HPMC, Na CMC, PVA sebagai *gelling agent* dan pembentuk film untuk mencari penggunaan optimum masing-masing *gelling agent* dalam masker gel *peel-off* dengan daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.). Pembuatan masker gel ekstrak daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) pada penelitian ini yaitu sebanyak 3.5% ekstrak disetiap formula.

Tabel 3.1 Formula Masker Gel *Peel-Off* Ekstrak Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) dengan Varian *Gelling Agent*

No	Bahan	Kegunaan	Formula I %	Formula II %	Formula III %
1	Ekstrak daun bayam merah	Zat aktif	3.5	3.5	3.5
2	HPMC	<i>Gelling agent</i>	1	-	-
3	NaCMC	<i>Gelling agent</i>	-	2	-
4	PVA	<i>Gelling agent</i>	-	-	14
5	Propilenglikol	Humektan	10	10	10
6	Metil paraben	Pengawet	0.18	0.18	0.18
7	Propel paraben	Pengawet	0.02	0.02	0.02
8	Alfa tokoferol	Antioksidan	0.03	0.03	0.03
9	Aquadest	Pelarut	100	100	100

I. Pembuatan Masker Gel *Peel-Off*

Pembuatan sediaan masker wajah *peel off* dimulai dengan melarutkan ekstrak etanol 96% sedikit demi sedikit hingga ekstrak larut sempurna. Kemudian di dalam tempat terpisah HPMC pengerjaannya yaitu HPMC dilarutkan dengan aquadest 80°C hingga mengembang sempurna. lalu dihomogenkan (wadah A). Pada wadah terpisah lainnya (wadah B). larutkan nipagin dan nipasol ke dalam propilenglikol. Larutkan Alfa Tokoferol dengan sedikit propilenglikol (wadah C). Kemudian campurkan wadah B dan wadah C secara berturut-turut ke dalam wadah A lalu diaduk hingga homogen. Tambahkan ekstrak yang telah dilarutkan etanol 96% sedikit demi sedikit, lalu aduk hingga homogen, kemudian tambahkan aquades hingga 100gr dan aduk kembali hingga homogen.

Sedangkan untuk varian *gelling agent* Na CMC yaitu Na CMC dilarutkan dengan aquadest 80°C hingga mengembang sempurna. lalu dihomogenkan (wadah A). Pada wadah terpisah lainnya (wadah B). larutkan nipagin dan nipasol ke dalam propilenglikol. Larutkan Alfa Tokoferol dengan sedikit propilenglikol (wadah C). Kemudian campurkan wadah B dan wadah C secara berturut-turut ke dalam wadah A lalu diaduk hingga homogen. Tambahkan ekstrak yang telah dilarutkan etanol 96% sedikit demi sedikit. lalu aduk hingga homogen, kemudian tambahkan aquades hingga 100gr dan aduk kembali hingga homogen.

Diulangi dengan cara yang sama varian *gelling agent* PVA dikembangkan dengan aquades hangat (80°C) hingga mengembang sempurna, lalu dihomogenkan (wadah A). Pada wadah terpisah lainnya (wadah B). Larutkan Alfa Tokoferol dengan sedikit propilenglikol (wadah C). Kemudian campurkan wadah B dan wadah C secara berturut-turut ke dalam wadah A lalu diaduk hingga homogen. Tambahkan ekstrak yang telah dilarutkan etanol 96% sedikit demi sedikit, lalu aduk hingga homogen, kemudian tambahkan aquades hingga 100gr dan aduk kembali hingga homogen.

J. Uji Kesetabilan fisik

Pengujian kestabilan fisik meliputi uji organoleptis (warna, bau dan bentuk), pH, viskositas, homogenitas, waktu mengering, daya sebar, *sineresis/swelling* serta pengujian iritasi kulit yang dilakukan selama penyimpanan masker gel *peel-off* selama 28 hari. Pada hari ke 0, hari ke 7, hari ke 14, hari ke 21 dan hari ke 28 pengamatan yang dilakukan :

1. Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan secara langsung mengamati perubahan bentuk, warna, dan bau dari sediaan gel ekstrak daun bayam merah.

2. pH

Pengukuran pH sediaan dilakukan dengan menggunakan pH-meter. pH sediaan gel harus sesuai dengan pH kulit yaitu 4.5 – 6.5 (Tranggono, 2007). Diambil sampel sebanyak ± 1 gram lalu dilarutkan dengan air, kemudian dilakukan pengujian pH dengan menggunakan pH meter.

3. Viskositas

Diambil sebanyak 30 gram untuk mengukur kekentalan menggunakan alat *viscometer Brookfield* menggunakan *spindle* nomor 60 dipasang kepada alat kemudian dicelupkan kedalam cairan masker gel *peel-off* yang telah di masukan.

Diambil sampel sebanyak ± 0.10 g dari tiga tempat yaitu pada bagian atas, tengah dan bawah tiap sampel di letakkan pada kaca objek kemudian tutup dengan dek glass lalu dilihat dengan pembesaran 100 kali kemudian di amati homogenitas antar partikel-partikelnya.

4. Waktu Mengering

Mengoleskan masker gel *peel-off* ke punggung tangan dengan panjang 7 cm dan diamati waktu yang diperlukan sediaan untuk mengering waktu disaat mulai mengoleskan masker gel *peel-off* hingga terbentuk lapisan yang kering. Lakukan sebanyak 3 kali untuk 3 formula. Kemudian waktu tersebut dibandingkan dengan waktu mengering masker gel yaitu sekitar 10-30 menit (Vieria *et al.*, 2009).

5. Daya sebar

Meletakkan sediaan masker *peel-off* sebanyak 1000 mg secara hati-hati di atas kaca berukuran 810 sentimeter, kemudian ditutup dengan kaca lain dan diberi berat 100 gram di atasnya, dan diukur diameternya setelah 1 menit. Dispersi yang dibutuhkan adalah

antara 5-7 cm. (Hastuti, 2018).

6. *sineresis/swelling*

Fenomena *sineresis* diakibatkan air yang terkandung dalam masker gel tidak terdispersi sempurna didalam polimer sehingga rentan terpisah selama penyimpanan sedangkan *swelling* diakibatkan penyimpanan yang lembab sehingga gel lebih mudah menyerap air dari udara yang menyebabkan naiknya volume dari gel (Suksaeree *et al.*, 2015).

7. Iritasi kulit

Iritasi kulit dilakukan dengan cara *pacth test* yaitu dioleskan masing-masing *gelling agent* sediaan (FI, FII, FIII) seluas 2.5 cm pada punggung tangan (Latifah dan Tranggono, 2007). Lalu tunggu hingga mengering. Kemudian amati reaksi yang mungkin terjadi misalnya gatal, kemerahan dan perih (Ditjen POM, 1985). Menurut Ditjen POM (1985), kriteria panelis uji iritasi ialah sebagai berikut:

- a. Wanita
- b. Usia antara 20-30 tahun
- c. Berbadan sehat jasmani dan rohani
- d. Tidak memiliki riwayat penyakit alergi
- e. Menyatakan kesediaannya dijadikan panelis uji iritasi

Menurut Ditjen POM (1985), indeks iritasi ialah sebagai berikut:

- | | |
|---------------------------------|------|
| a. Tidak ada reaksi | — |
| b. Eritema | + |
| c. Eritema dan papula | ++ |
| d. Eritema, papula dan vesikula | +++ |
| e. Edema dan vesikula | ++++ |

K. Analisa Data

Data hasil absorbansi masing-masing sampel digunakan untuk mencari % inhibisinya. Rumus untuk mencari % inhibisi adalah sebagai berikut:

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{Ablanko} - \text{Asampel}}{\text{Ablanko}} \times 100\%$$

Keterangan:

Ablanko = Absorbansi pada DPPH tanpa sampel

ASampel = Absorbansi pada DPPH setelah ditambah sampel

Hasil perhitungan dimasukkan dalam persamaan linier dengan persamaan: $Y = aX + b$

Keterangan:

$Y = \% \text{ Inhibisi}$ $a = \text{Gradien}$

$X = \text{Konsentrasi } (\mu\text{g/ml})$ $b = \text{Konstanta}$

Persamaan linier yang dihasilkan digunakan untuk memperoleh nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi yang diperoleh pada saat % inhibisi sebesar 50 dari persamaan:

$$Y = aX + b$$

Pada saat % Inhibisi = 50, maka rumus untuk menghitung nilai IC_{50} persamaannya menjadi (Dewi, 2012):

$$50 = aX + b$$

$$X = \frac{50 - b}{a}$$

Harga X adalah IC_{50} dengan satuan $\mu\text{g/ml}$

Semua data kuantitatif dianalisis secara statistik menggunakan analisis variansi (ANOVA) satu jalur dengan taraf kepercayaan 95%. Data IC_{50} dihitung menggunakan analisis probit. Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan program SPSS.