

BAB III
METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian yang dilakukan secara eksperimental dan bersifat laboratoris.

B. Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di Laboratorium FKIK UMY dengan menyesuaikan jadwal sesuai tabel berikut ini :

Tabel 1. Waktu Penelitian

JADWAL KEGIATAN		BULAN KE-					TEMPAT
		1	2	3	4	5	
1	Tahap Persiapan						
	a.	Persiapan simplisia (biji buah lengkung)	√				
	b.	Determinasi tanaman	√				Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, UGM.
	c.	Persiapan bahan formulasi		√			Laboratorium FKIK, UMY.
2	Tahap Penelitian						
	a.	Ekstraksi		√			Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, UGM.
	b.	Formulasi krim biji lengkung			√		Laboratorium FKIK, UMY.
	c.	Uji Karakteristik dan Stabilitas Fisik			√		Laboratorium FKIK, UMY.
3	Tahap Penyelesaian						
	a.	Analisis dan Pengolahan data			√		Laboratorium FKIK, UMY.
	b.	Penyusunan laporan akhir			√		Laboratorium FKIK, UMY.
	c.	Pengumpulan laporan akhir				√	Laboratorium FKIK, UMY.

C. IDENTIFIKASI VARIABEL

1. Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

Jenis dan konsentrasi emulgator alam yaitu PGA 10%; 15%; dan 20% dan CMC Na 8% dan 9%.

b. Variabel Tergantung

Karakteristik dan stabilitas fisik sediaan krim, meliputi organoleptis (warna, bau, dan bentuk sediaan), homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, daya proteksi, tipe emulsi pada sediaan krim, pengukuran rata-rata diameter globul, dan pemisahan fase krim.

c. Variabel Terkendali

Kecepatan *homogenizer* dan sentrifugator, metode pembuatan krim, dan suhu penyimpanan dengan *cycling test*.

d. Variabel Tidak Terkendali

Suhu ruangan, kelembaban udara relatif, dan waktu yang dibutuhkan fase krim untuk menyatu.

2. Definisi Operasional

- a. Jenis emulgator, adalah emulgator alam, yaitu kombinasi PGA dan CMC Na.
- b. Konsentrasi emulgator adalah seri kadar emulgator PGA 10%; 15%, 20%, dan konsentrasi CMC Na 8%; 9%.

- c. Karakteristik fisik krim, evaluasi yang dilakukan sesaat setelah pembuatan untuk mendapatkan sediaan krim yang ideal dengan uji organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, daya proteksi, dan tipe emulsi.
- d. Stabilitas fisik krim, evaluasi yang dilakukan dengan *cycling test* dan *centrifugal test* untuk mendapatkan sediaan krim yang stabil dan ideal. Uji yang dilakukan selama *cycling test* meliputi organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, daya proteksi, dan diameter globul.
- e. Organoleptis, evaluasi krim meliputi pengamatan pada warna, bau, dan bentuk sediaan.
- f. Homogenitas merupakan sebaran partikel krim dengan tekstur yang tampak rata dan tidak menggumpal.
- g. Pengukuran pH, dilakukan dengan menggunakan pH *indicator stick* untuk mengetahui cocok tidaknya krim jika diberikan pada kulit.
- h. Daya sebar merupakan kemampuan luas penyebaran krim pada kulit.
- i. Daya lekat merupakan kemampuan dan berapa lama waktu yang dibutuhkan krim untuk melekat pada kulit.
- j. Daya proteksi merupakan kemampuan krim dalam melindungi kulit dari pengaruh luar.
- k. Tipe emulsi pada sediaan krim dengan mengamati perubahan warna pada medium dispers setelah pemberian *methylene blue* yang bertujuan untuk mengetahui tipe krim.
- l. Rata-rata diameter globul merupakan ukuran distribusi globul pada krim.

- m. *Cycling test* merupakan uji stabilitas krim yang dilakukan sebanyak 6 siklus selama 2 minggu untuk mendapatkan sediaan krim yang stabil dan ideal.
- n. *Centrifugal test* merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui terjadinya pemisahan fase dari emulsi.

D. Instrumen Penelitian

1. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (Mettler toledo[®]), oven (Memert[®]), kulkas (Samsung[®]), blender (Airlux[®]), aluminium foil, *Eppendorf, waterbath* (Memert[®]), alat-alat gelas yang lazim (gelas beker, gelas ukur, labu takar, cawan petri, spatula, dan gelas arloji), sentrifugator (Hettich[®]), mikroskop optik, pH *indicator stick* (MColorpHast[®]), kertas saring, kertas label, saringan (*Corong Buncher*), lilin, sarung tangan, masker, homogenizer (Ultra Turax), kaca objek (Sail brand[®]), dan anak timbangan (Protinal[®]).

2. Bahan Penelitian

Biji lengkung (*Euphoria longana* Lam.) yang diperoleh di daerah Gamping, Kasihan, Bantul, PGA (*pharm grade*), CMC Na (*pharm grade*), isopropil miristat (*pharm grade*), propilparaben (*pharm grade*), metilparaben (*pharm grade*), BHT (*pharm grade*), propilen glikol (*pharm grade*), KOH, phenolphthalein (*pharm grade*), minyak mawar, dan aquadest.

E. CARA KERJA

1. Determinasi Tanaman

Determinasi buah lengkung dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM.

2. Ekstraksi Biji Lengkeng

Buah lengkung sebanyak 60 kg dipisahkan antara buah, biji dan kulitnya. Biji sebanyak 10 kg dikumpulkan, kemudian dicuci dengan air mengalir, lalu dikeringkan pada udara terbuka dan terlindung dari sinar matahari langsung selama 2x24 jam. Proses selanjutnya dihaluskan menggunakan blender hingga terbentuk serbuk. Serbuk diekstraksi dengan aquadest (70-75⁰C) menggunakan metode maserasi selama satu jam yang berfungsi untuk melarutkan zat aktif yang terkandung dalam biji lengkung. Hasilnya dikumpulkan dan disaring dengan kertas yang diulang tiga kali untuk memisahkan ampas dan filtrat. Filtrat diuapkan menggunakan *waterbath* 70⁰C hingga diperoleh konsentrat ekstrak.

3. Formulasi Krim

Krim ekstrak biji lengkung (*Euphoria longana* L.) sebagai zat aktif utama diformulasi dengan mencampur fase minyak dengan emulgator terlebih dahulu, selanjutnya baru fase air ditambahkan. Sebagai emulgator digunakan kombinasi PGA dan CMC Na. Bahan tambahan lainnya adalah asam oleat, BHT, propilparaben, cera flava, metilparaben, propilen glikol, minyak mawar, dan aquadest. Formulasi dimulai dengan menimbang seluruh bahan secara seksama kemudian PGA dan CMC Na dikembangkan menggunakan aquadest secukupnya diatas penangas air 70⁰C. Pada penangas air 70⁰C fase air dibuat dengan melarutkan

ekstrak dengan aquadest kemudian ditambahkan propilen glikol dan metilparaben, sedangkan fase minyak dibuat dengan melelehkan cera flava yang ditambahkan asam oleat, BHT, dan propilparaben. Fase minyak selanjutnya dihomogenkan menggunakan *ultra turax* dengan kecepatan 3600 rpm selama 30 menit, ditambahkan CMC Na secara perlahan kemudian ditambah PGA dilanjutkan dengan penambahan fase air. Krim yang telah terbentuk kemudian ditambahkan minyak mawar dan dihomogenkan. Secara lengkap rancangan formulasi sediaan krim dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Formula Krim

Komposisi/Bahan	Konsentrasi (% $\frac{b}{b}$)					
	A1	B1	C1	A2	B2	C2
Ekstrak biji lengkung	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64
Fase Minyak :						
PGA	10	15	20	10	15	20
CMC Na	8	8	8	9	9	9
Asam Oleat	5	5	5	5	5	5
Propilparaben	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
BHT	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Minyak mawar	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
Cera flava	10	10	10	10	10	10
Fase Air :						
Propilenglikol	10	10	10	10	10	10
Metilparaben	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Aquadest	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

4. Uji Karakteristik Fisik Krim

Uji karakteristik fisik krim dilakukan dengan cara pengujian organoleptis, homogenitas, pengukuran pH, daya lekat, daya sebar, daya proteksi, dan tipe emulsi sediaan krim. Dari hasil uji tersebut, nantinya akan dievaluasi dua krim terbaik yang selanjutnya akan diuji stabilitas fisiknya selama 2 minggu.

a. Pengamatan organoleptis

Pengamatan organoleptis dilakukan dengan memeriksa warna, bau, dan bentuk sediaan dengan penginderaan normal tanpa menggunakan alat bantu.

b. Pengamatan homogenitas

Pengamatan homogenitas dilakukan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 40x untuk mengamati sebaran partikel krim yang diletakkan diantara dua kaca objek, dari sebaran tersebut dapat dilihat krim yang dibuat homogen atau tidak. Krim dinyatakan homogen apabila mempunyai tekstur yang tampak rata dan tidak menggumpal (Voight, 1994).

c. Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH *indicator stick* yang dicelupkan ke dalam sediaan krim. Pengukuran ini untuk mengetahui cocok tidaknya krim jika di berikan pada kulit.

d. Uji Daya Sebar

Pengujian daya sebar dilakukan dengan menimbang 0,5 gram sampel krim diletakkan di atas kaca bulat berskala dengan diameter 15 cm, kaca lainnya diletakkan di atasnya dan dibiarkan selama 1 menit. Diameter penyebaran krim diukur. Setelahnya, ditambahkan 50, 100, 150, 200, 250, 300 dan 500 gram beban tambahan dan didiamkan selama 1 menit lalu diukur diameter yang konstan. Selanjutnya dibuat grafik antara beban

berbanding dengan luas sebaran krim. Semakin lebar diameternya, maka semakin baik penyebaran krimnya.

e. Uji Daya Lekat

Krim dioleskan tipis pada objek gelas dengan luas 2x2 cm. Letakkan objek gelas lainnya dengan posisi sedikit bergeser, kemudian ditimpa dengan beban 1 kg dan biarkan selama 5 menit. Setelah itu, objek gelas tersebut dipasang pada alat uji dan dilepaskan dengan beban seberat 80 gram dan dicatat lamanya waktu yang diperlukan hingga 2 objek gelas tersebut terlepas (Nurlaela dkk, 2012). Semakin tinggi nilai daya lekat, maka waktu pelepasan sediaan akan semakin lama (Voight, 1994). Waktu pengamatan maksimal dibatasi selama 5 menit.

f. Uji Daya Proteksi

Pengujian daya proteksi dilakukan dengan menyiapkan dua kertas saring masing-masing sisinya 10 x 10 cm. Kertas saring pertama ditetesi dengan indikator PP 1%, biarkan hingga kering. Kertas saring kedua diberi garis ukuran 2,5 x 2,5 cm yang dilapisi dengan lilin di keempat sisinya. Kertas saring kedua ditumpuk pada kertas saring pertama yang sudah diberi krim (2 gram). Kemudian dikertas saring kedua ditetesi dengan larutan KOH 1 N. Diamati beberapa saat, jika tidak timbul warna pink, berarti basis krim memiliki daya proteksi yang baik. Waktu pengamatan maksimal dibatasi selama 5 menit.

g. Penentuan Tipe Emulsi Sediaan Krim

Dua gram krim dicampurkan dengan air 50 ml pada tabung reaksi, kemudian divortex untuk mendapatkan krim dengan viskositas rendah. Krim dioleskan tipis pada gelas objek dan ditambahkan satu tetes *methylene blue* dan diamati. Pengamatan dilakukan secara mikroskopik untuk menentukan apakah emulsi dari sediaan krim tersebut bertipe M/A atau A/M.

5. Uji Stabilitas

Uji stabilitas fisik krim dilakukan dengan memilih dua formula krim yang memiliki karakteristik fisik terbaik, selanjutnya uji stabilitas dilakukan dengan dua metode :

a. *Cycling Test*

Uji ini dilakukan sebanyak 6 siklus. Sampel disimpan pada suhu $7 \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 12 jam lalu dipindahkan ke dalam oven bersuhu $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 12 jam, waktu selama penyimpanan dua suhu tersebut dalam dua hari dianggap satu siklus. Uji stabilitas dilakukan selama 2 minggu kemudian diamati karakteristik fisik krim yang sama dengan pengamatan sebelumnya dan ditambahkan satu parameter uji yaitu :

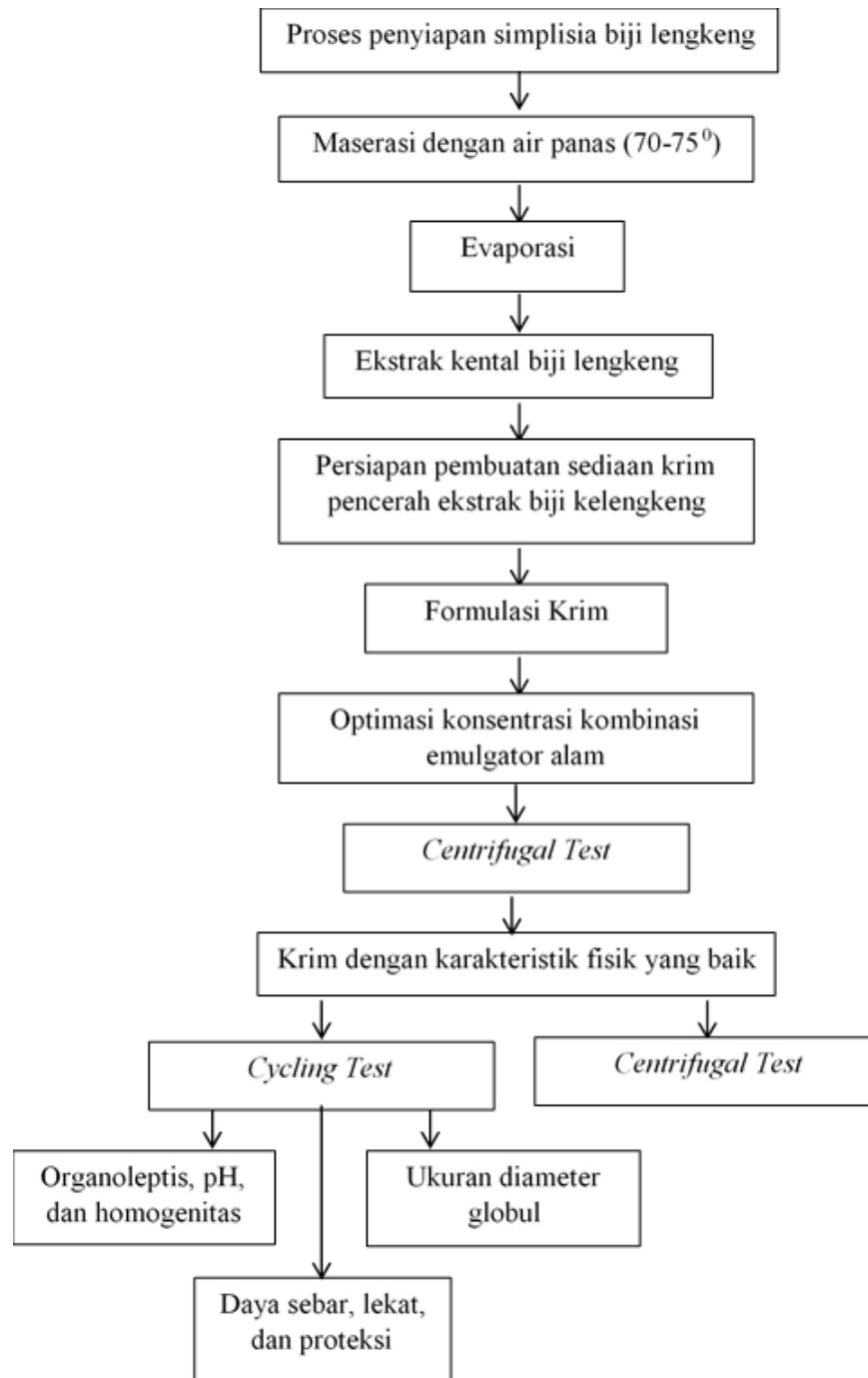
1) Pengukuran diameter globul rata-rata

Pengukuran ini dilakukan dengan visualisasi mikroskopik menggunakan mikroskop optik dengan skala lensa okuler pada perbesaran 100 kali sehingga dapat dihitung ukuran globul emulsi dan distribusi ukurannya.

b. *Centrifugal Test*

Sampel krim dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dimasukkan ke dalam sentrifugator pada kecepatan 6000 rpm selama 15 menit. Krim yang sudah disentrifugasi lalu diamati adanya pemisahan fase minyak dan air. Apabila tidak terjadi pemisahan fase, dapat diartikan bahwa krim stabil dalam penyimpanan selama 6 bulan.

F. SKEMA LANGKAH KERJA



Gambar 11. Skema Langkah Kerja

G. ANALISIS DATA

Data yang diperoleh dari uji karakteristik fisik sesaat setelah pembuatan krim adalah replikasi tiga kali pengamatan organoleptis, homogenitas, nilai pH, daya lekat, daya proteksi, dan tipe emulsi yang disajikan sebagai rata-rata \pm standar deviasi dan daya sebar dalam bentuk grafik. Sedangkan data yang diperoleh dari uji stabilitas fisik dengan metode *cycling test* dan *centrifugal test* yang dilakukan selama dua minggu adalah replikasi tiga kali pengamatan organoleptis, homogenitas, nilai pH, daya lekat, daya proteksi, dan diameter globul yang disajikan sebagai rata-rata \pm standar deviasi dan daya sebar dalam bentuk grafik.