

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental, meliputi pembuatan ekstrak stroberi (*Fragaria x ananassa*), pembuatan sediaan krim ekstrak stroberi dan evaluasi kestabilan krim ekstrak stroberi.

4.2 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmasetika Program Studi Farmasi dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya selama 3 bulan.

4.3 Alat dan Bahan

4.3.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan digital, homogenizer, stirrer, centrifugator, filter membran 0,45 μ m, mortar dan stamper, gelas ukur, penangas air, pipet tetes, spektrofotometer UV-Vis, mikroskop, beaker glass, erlememnyer glass, pH meter, dan amber glass vials.

4.3.2 Bahan

Bahan utama dalam penelitian adalah buah stroberi yang diperoleh dari hasil budidaya yang dilakukan di desa Pandanrejo, Batu, Malang, Jawa Timur. Bahan lain untuk proses ekstraksi adalah metanol

dan asam format. Bahan untuk formulasi sediaan krim meliputi Tween 80, Span 80, sodium oleate, triethanolamine, paraffin, asam stearat, mineral oil, setil alkohol, butyl hydroxytoluene, gliserin, propylene glycol, parfum, asam sitrat, natrium hidroksida dan air destilasi.

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Pembuatan Ekstrak Stroberi

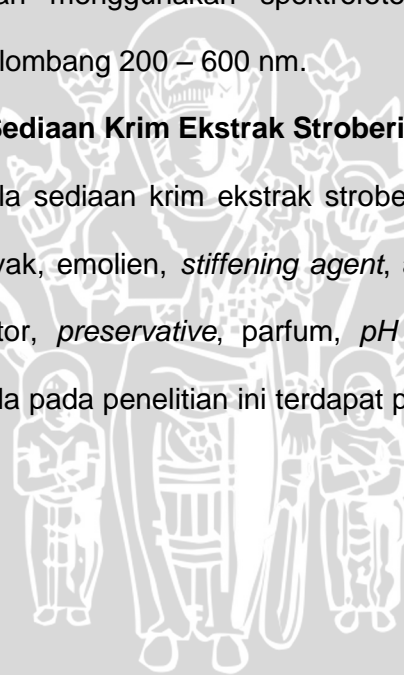
Metode ekstraksi yang digunakan untuk mengekstraksi stroberi dengan cara yaitu stroberi sebanyak 50 gram ditambahkan ke dalam 500 ml larutan ekstraksi yang terdiri dari 400 ml methanol dan 100 ml aquades yang diasamkan dengan asam format 0,5 ml. Stroberi bersama pelarut tersebut kemudian dihomogenisasi menggunakan homogenizer pada 12000rpm selama 2 menit selanjutnya diaduk selama 2 jam pada suhu 4°C menggunakan stirrer dalam keadaan terlindung dari cahaya. Ekstrak stroberi dimasukkan ke dalam tube kemudian disentrifugasi pada kecepatan 1200g selama 15 menit (dilakukan dua kali berturut-turut), dan supernatan yang dihasilkan difilter melalui filter membran 0,45 µm setelah itu dipindahkan ke *amber glass vials* 5 ml dan disimpan pada suhu -20°C sampai akan digunakan untuk penelitian. Perlakuan sentrifugasi untuk memisahkan sedimen padat dengan supernatan yang mengandung ekstrak yang dibutuhkan dan disimpan pada *amber glass vials* agar ekstrak yang dihasilkan tidak mudah rusak (Giampieri *et al.*,2012).

Untuk melihat ada tidaknya kandungan antosianin di dalam ekstrak stroberi, maka dilakukan uji perubahan warna dan pengamatan panjang gelombang menggunakan spektrofotometer. Pengujian dilakukan dengan cara sebanyak ± 3 ml ekstrak stroberi dimasukkan ke dalam

cawan porselen kemudian ditambahkan NaOH , lalu diamari perubahan warnanya, apakah ada perubahan warna menjadi hijau kebiruan atau tidak. Jika ekstrak berubah warna menjadi hijau kebiruan maka ekstrak positif antosianin. Untuk membuktikan adanya perubahan warna saat sebelum ditambahkan NaOH dan setelah ditambahkan NaOH, pengamatan dilanjutkan dengan menggunakan spektrofotometer. Pengamatan menggunakan spektrofotometer untuk menunjukkan perubahan spektrum warna ekstrak sebelum dan setelah ditambahkan NaOH. Pengamatan menggunakan spektrofotomete dilakukan pada rentang panjang gelombang 200 – 600 nm.

4.4.2 Formula Sediaan Krim Ekstrak Stroberi

Pada formula sediaan krim ekstrak stroberi ini digunakan bahan seperti basis minyak, emolien, *stiffening agent*, antioksidan, humektan, zat aktif, emulgator, *preservative*, parfum, *pH adjuster*, dan pelarut. Rancangan formula pada penelitian ini terdapat pada Tabel 4.1 dibawah ini.



Tabel 4.1 Formula Sediaan Krim Ekstrak Stroberi

Nama Bahan	HLB Butuh	Formula A	Formula B
Asam Stearat	15	15%	15%
Mineral Oil	11	10%	10%
Paraffin	11	15%	15%
Cetyl Alcohol		2%	2%
Butyl Hydroxytoluene		0,2%	0,2%
Gliserin		10%	10%
Ekstrak Stroberi		0.63%	0.63%
Perfume		1%	1%
Propylene Glycol		0.5%	0.5%
Asam Sitrat		-	q.s
Natrium Hidroksida		q.s	-
Emulsifier		5%	5%
<i>Tween 80</i>		4.7 g	-
<i>Span 80</i>		0.3 g	-
<i>Sodium Oleate</i>		-	2.85 g
<i>Triethanolamine</i>		-	2.15 g
Aqua Destilatad		ad 100%	ad 100%

Jumlah ekstrak stroberi yang digunakan dalam penelitian ini adalah berdasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Giampieri *et al* yang memiliki aktifitas antioksidan.

Pemilihan kadar 5% untuk emulgator dilakukan karena jumlah tersebut adalah jumlah yang dapat menghasilkan emulsi yang baik dan dapat bekerja dengan maksimal (Mollet dan Grubenmann, 2001).

4.4.3 Penentuan Jumlah Emulgator

Penentuan jumlah emulgator pada penelitian ini adalah berdasarkan pada HLB butuh komponen minyak. Komponen minyak yang digunakan dalam rancangan formula adalah mineral oil, paraffin dan asam stearat. Pada tabel 4.2 berikut adalah data HLB butuh komponen minyak tersebut dan HLB emulgator yang digunakan dalam rancangan formula.

Tabel 4.2 HLB Butuh Sediaan Krim Ekstrak Stroberi

Nama Bahan	HLB	HLB Butuh	% Bobot Dalam Formula
Mineral Oil	-	11	10%
Paraffin	-	11	15%
Asam Stearat	-	15	15%
Emulgator			5%
Tween 80	15	-	-
Span 80	4.3	-	-
Sodium Oleate	20	-	-
Trietanolamin	4.7	-	-

Berikut ini adalah langkah perhitungan untuk menentukan jumlah masing-masing emulgator dalam rancangan formula:

1. Menentukan HLB Minyak Campuran dalam Formula

$$HLB_{Minyak} = HLB_{Butuh A} \times \frac{\% Bobot A}{Total \% Bobot} + HLB_{Butuh B} \times \frac{\% Bobot B}{Total \% Bobot} \\ + HLB_{Butuh C} \times \frac{\% Bobot C}{Total \% Bobot}$$

Keterangan : A = mineral oil

B = paraffin

C = asam stearat

$$HLB_{Minyak} = 11 \times \frac{10}{40} + 11 \times \frac{15}{40} + 15 \times \frac{15}{40} = 12.5$$

2. Menentukan Komponen Emulgator

$$HLB_{Minyak} = HLB_{Emulgator}$$

$$HLB_{Minyak} = f_A \times HLB_A + (1 - f_A) \times HLB_B$$

Keterangan : f_A = fraksi emulgator A

$1 - f_A$ = fraksi emulgator B

HLB = nilai HLB

a. Tween 80 – Span 80

$$HLB_{Minyak} = HLB_{Emulgator} = f_A \times HLB_A + (1 - f_A) \times HLB_B$$

Keterangan : A = Span 80

B = Tween 80

$$12.5 = f_A \times 4.3 + (1 - f_A) \times 15$$

$$12.5 = 4.3 f_A + 15 - 15 f_A$$

$$12.5 = 15 - 10.7 f_A$$

$$-2.5 = -10.7 f_A$$

$$f_A = \frac{-2.5}{-10.7}$$

$$f_A = 0.23 \text{ (fraksi Span 80)}$$

$$\text{fraksi Tween80} = 1 - 0.23 = 0.77$$

maka, jumlah Span 80 dan Tween 80 yang dibutuhkan adalah:

$$\text{Span 80} = 100 \text{ gram} \times 0.05 \times 0.23 = 1.15 \text{ gram}$$

$$\text{Tween 80} = 100 \text{ gram} \times 0.05 \times 0.77 = 3.85 \text{ gram}$$

b. Sodium oleate – triethanolamine

$$HLB_{Minyak} = HLB_{Emulgator} = f_A \times HLB_A + (1 - f_A) \times HLB_B$$

Keterangan : A = trietanolamin

B = sodium oleate

$$12.5 = f_A \times 4.7 + (1 - f_A) \times 20$$

$$12.5 = 4.7 f_A + 20 - 20 f_A$$

$$12.5 = 20 - 13.3 f_A$$

$$-7.5 = -13.3 f_A$$

$$f_A = \frac{-7.5}{-13.3}$$

$$f_A = 0.56 \text{ (fraksi trietanolamin)}$$

$$\text{fraksi sodium oleate} = 1 - 0.56 = 0.44$$

maka, jumlah sodium oleate dan trietanolamin yang dibutuhkan:

$$\text{Trietanolamin} = 100 \text{ gram} \times 0.05 \times 0.56 = 2.8 \text{ gram}$$

$$\text{Sodium oleate} = 100 \text{ gram} \times 0.05 \times 0.44 = 2.2 \text{ gram}$$

4.4.4 Cara Pembuatan

Semua alat yang akan digunakan di dalam percobaan disiapkan, alat-alat sebelumnya telah dibersihkan dengan aquadest dan telah dikalibrasi. Semua bahan ditimbang yang akan digunakan di dalam

percobaan sesuai dengan perhitungan. Campurkan mineral oil, asam stearat, cetyl alcohol, paraffin dan BHT masing-masing formula pada suhu 70-80°C menggunakan penangas air sampai homogen. Campurkan gliserin, ekstrak stroberi, dan propilen glikol dengan cara diaduk sampai homogen (fase air). Fase minyak ditambahkan ke dalam fase air dengan tetap memakai suhu 70°C dan diaduk sampai homogen. Saat krim sudah mulai menjadi dingin (sekitar suhu 40°C) parfum ditambahkan ke dalam sediaan sambil tetap diaduk sampai menjadi dingin. Dilakukan penambahan larutan *pH adjuster* yaitu asam sitrat jika terlalu basa dan natrium hidroksida jika terlalu asam. Krim yang telah jadi dilakukan evaluasi sediaan dan analisa hasil evaluasi sediaan.

4.4.5 Evaluasi Akhir Sediaan

Evaluasi akhir sediaan yang dilakukan adalah uji organoleptis, uji homogenitas fisik, uji pH, uji daya sebar, uji daya lekat, dan uji stabilitas suhu.

4.4.5.1 Uji Stabilitas Fisik

4.4.5.1.1 Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan secara visual dengan menggunakan panca indera, yang meliputi warna, bau dan bentuk sediaan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

4.4.5.1.2 Homogenitas Fisik

Pada pemeriksaan ini dilihat apakah tekstur sediaan homogen. Adapun caranya adalah sebagai berikut (Voight, 1994):

- a. Sejumlah krim yang akan diamati dioleskan pada kaca objek yang bersih dan kering sehingga membentuk suatu lapisan yang tipis, kemudian ditutup dengan kaca preparat (cover glass).
- b. Krim dinyatakan homogen apabila pada pengamatan menggunakan mikroskop, krim mempunyai tekstur yang tampak rata dan tidak menggumpal.

4.4.5.2 Uji pH

Krim sebaiknya memiliki pH yang sesuai dengan pH kulit yaitu 6,0-7,0 karena jika krim memiliki pH yang terlalu basa dapat menyebabkan kulit bersisik, sedangkan pH yang terlalu asam dapat menyebabkan iritasi kulit. pH sediaan krim dibuat menyesuaikan dengan pH kulit untuk mencegah terjadinya hal tersebut. pH sediaan krim dapat diukur menggunakan pH meter.

Pemeriksaan pH menggunakan alat pH meter dikalibrasi menggunakan larutan dapar pH 7 dan pH 4. Satu gram sediaan yang akan diperiksa diencerkan dengan air suling hingga 10 mL. Elektroda pH meter dicelupkan ke dalam larutan yang diperiksa, jarum pH meter dibiarkan bergerak sampai menunjukkan posisi tetap, pH yang ditunjukkan jarum pH meter dicatat.

4.4.5.3 Uji Daya Sebar

Pengamatan uji daya sebar dilakukan dengan cara sebagai berikut: kaca transparan diletakkan diatas kertas grafik pada kaca tersebut diletakkan 0,5 gram krim, kemudian ditutup dengan kaca transparan dan dibiarkan selama ± 5 detik untuk mendapatkan berapa diameter daerah yang terbentuk. Kemudian dilanjutkan dengan menambahkan beban diatas kaca transparan tersebut beban 50, 100, 200, dan 500 gram dan diamati diameter daerah yang terbentuk.

4.4.5.4 Uji Daya Lekat

Pengujian daya lekat sediaan, krim diletakkan pada satu sisi kaca objek yang pada sisi bawahnya telah dipasangkan tali untuk mengikat beban, kemudian dietmpelkan pada kaca objek yang lain. Beban yang digunakan adalah 50 gram. Kemudian diamati waktu yang dibutuhkan beban tersebut untuk memisahkan kedua kaca tersebut..

4.4.5.5 Uji Stabilitas Dipercepat

Uji stabilitas jangka pendek dilakukan selama 6 bulan dengan kondisi ekstrim (suhu $40\pm 2^{\circ}\text{C}$). Interval pengujian dilakukan pada bulan ke-3 dan ke-6 (COLIPA, 2004). Untuk penelitian ini dilakukan dengan cara disimpan pada suhu kamar $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ serta suhu tinggi $40\pm 2^{\circ}\text{C}$. Selama penyimpanan tersebut dilakukan pengamatan

organoleptis, homogenitas fisik serta perubahan fisik pada minggu ke-1, 2, dan 3. Tidak dilakukan selama 6 bulan karena adanya keterbatasan waktu penelitian.

4.5 Spesifikasi Krim

Sediaan krim ekstrak stroberi yang telah dibuat dikatakan telah memiliki kualitas yang baik jika telah memenuhi spesifikasi krim seperti yang tertera di tabel 4.3 di bawah ini.

Tabel 4.3 Spesifikasi Krim Sediaan Ekstrak Stroberi

No	Parameter	Keterangan
1	Organoleptik <ul style="list-style-type: none"> • Warna • Homogenitas • Bau • Tekstur 	Warna krim merata Tidak terdapat gumpalan pada sediaan krim Bau krim harum dan tidak tengik Tekstur halus dan lembut (Ueda <i>et al</i> , 2009).
2	pH	Sesuai dengan pH kulit yaitu 6.0 – 7.0 (Ueda <i>et al</i> , 2009).
3	Daya Lekat	Krim dapat melekat pada kulit dalam waktu yang cukup untuk melepaskan zat aktif (Yuliani dkk, 2012).
4	Daya Sebar	Krim harus dapat mudah menyebar dan tidak menimbulkan gesekan yang besar saat proses penggosokan (Sabale <i>et al</i> , 2011).