

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini termasuk ke dalam penelitian eksperimental dengan melihat formula yang paling optimal berdasarkan variasi konsentrasi surfaktan dan *gelling agent* yang digunakan dalam sediaan mikro emulgel minyak biji anggur (*Vitis vinivera*).

3.2 Variabel penelitian

a. Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah penggunaan *gelling agent* yang paling optimal antara Viscolam MAC 10, Carbopol 940, dan Poloxamer 407.

b. Variabel terkait

Variabel terkait pada penelitian ini adalah hasil uji sifat fisik berupa uji organoleptis, pH, homogenitas, dan viskositas. Selain itu juga berupa hasil uji stabilitas sentrifugasi, *Freeze-thaw* dan *heating stability* yang stabil.

3.3 Alat dan Bahan

a. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, oven (*Thermo scientific*[®]), Timbangan analitik (*Ohaus*[®]), *heating magnetic stirrer* (*Thermo scientific*[®]), (*Particle Size Analyzer*) SZ-100 V2.1 (*Malvern*[®]), pH meter (*Calibration pair*[®]), Viskometer stromer

tipe NDJ-5S (*Thermo scientific*[®]), lemari pendingin (*SHARP*[®]), Mikroskop (*Olympus BX53*[®]), *sentrifuge* (*Kenko*[®]) dan termometer (*Hanna*[®]).

b. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain Minyak biji anggur (PT. *Importer of Essential Oils, Absolutes, and Carrier Oils*), Tween 80 (PT *Quadranlab*), (CV. *Eralika Mitra Persada*), Span 80 (PT *Eralika Mitra Persada*), *Cremophor RH 60* (PT *O-BASF Indonesia*), *Viscolam MAC 10* (PT *Quadranlab*), *Carbopol 940* (CV. *Eralika Mitra Persada*), metylen blue (PT *Quadranlab*). *Poloxamer 407* (PT *O-BASF Sanghai*), *Propilen glikol* (PT *Quadranlab*), *Trietanolamin (TEA)* (PT *Quadranlab*), *Etanol 70%* (CV. *Eralika Mitra Persada*). dan *Aquadest* (CV. *Eralika Mitra Persada*).

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi, Kimia Farmasi, Steril, dan Farmakologi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKES) Borneo Lestari dimulai dari bulan Mei 2022 sampai dengan bulan Agustus 2022.

3.5 Persiapan Sampel

Minyak biji anggur diperoleh dari PT. *Importer of Essential Oils, Absolutes, and Carrier Oils*, Jakarta yang sudah disertai sertifikat analisisnya yang meliputi penampilan, warna minyak, bau, negara asal, tanggal pembuatan, kepadatan, bobot jenis, kelarutan, kandungan asam

palmitat, asam stearat, asam oleat, dan asam linoleat. Sertifikat analisis minyak biji anggur dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.6 Formula Optimal Mikroemulsi Minyak Biji Anggur

Tabel 2. Formula Optimal Mikroemulsi Minyak Biji Anggur

Nama Bahan	Formula (%) (b/b)
Minyak Biji Aggur	5
Tween 80	20
Span 80	20
<i>Cremophor</i> RH 60	10
Propilen Glikol	10
Etanol 70%	10
<i>Aquadest (ad)</i>	100

(Sari, 2020)

3.7 Formula Mikroemulsi Gel Minyak Biji Anggur

Tabel 3. Formula Mikroemulsi Gel Minyak Biji Anggur

Nama bahan	Jumlah Bahan Dalam Formula (%) (b/b)								
	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
Mikroemulsi Minyak Biji Aggur	20	20	20	20	20	20	20	20	20
<i>Viscolam</i> MAC 10	7	8	9	-	-	-	-	-	-
<i>Carbopol</i> 940	-	-	-	0,5	0,75	1	-	-	-
<i>Poloxamer</i> 407	-	-	-	-	-	-	15	32,5	50
Trietanolamin	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-	-	-
<i>Aquadest (ad)</i>	100	100	100	100	100	100	100	100	100

3.8 Cara Pembuatan Mikroemulsi gel Minyak Biji Anggur

Mikroemulsi gel dibuat dengan pembuatan sistem emulsi terlebih dahulu dengan mencampurkan bahan yang merupakan fasa air dan fasa minyak. Hal ini dibuat dengan metode emulsifikasi spontan dengan cara melarutkan surfaktan yang larut dalam air (*Tween* 80 dan *Cremophor* RH 60) ditambahkan dengan *Aquadest*, kemudian dipanaskan pada suhu 60°C, lalu ditambahkan propilen glikol dan etanol 70%, stirrer dengan

kecepatan 150 rpm sekitar 5 menit hingga tercampur sempurna. Perlakukan hal yang sama pada fase minyak yaitu minyak biji anggur ditambahkan dengan surfaktan larut dalam minyak yaitu Span 80 dipanaskan pada suhu yang sama, kemudian secara perlahan tetes demi tetes campurkan fasa minyak dan fasa air sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 150 rpm selama 10 menit. *Viscolam MAC 10*, *Carbopol 940* dan *Poloxamer 407* sebagai *gelling agent* selanjutnya ditambahkan kedalam sistem mikroemulsi dan diaduk dengan batang pengaduk hingga homogen (Handayani *et al.*, 2017).

3.9 Evaluasi Sediaan

3.9.1 Uji Sifat Fisik Mikroemulsi

a. Pemeriksaan Organoleptik

Uji dilakukan dengan cara mengamati keadaan fisik sediaan seperti warna, bau, kejernihan dan pemisahan fase mikroemulsi. Pengamatan ini bisa dilihat dengan panca indera (Putri, 2014).

b. Uji Efek *Tyndall*

Uji *Tyndall* dilakukan dengan sistem dilewatkan dengan sinar laser untuk mengamati efek *Tyndall* (Suciati dan Lisa, 2012).

c. Uji Persen Transmitan

Uji persen transmitan dilakukan dengan mengukur tingkat transparansi dari sistem mikroemulsi yang diukur menggunakan spektrometer Uv-Vis. Persen transmitan pada daerah visible harus

mendekati 100%. Serapan yang pertama dimasukkan kedalam kuvet adalah aquadest kemudian kuvet kedua dimasukkan sistem mikroemulsi dan diukur persen transmittan pada panjang gelombang 650 nm (Firdausyah *et.,al*, 2019).

d. Uji pH

Uji pH dilakukan dengan menggunakan pH meter, pH meter terlebih dahulu dikalibrasi dengan larutan dapar standar, kemudian pH meter dicelupkan dengan sediaan mikroemulsi, setelah itu pH meter akan menunjukkan angka yang stabil kemudian di catat hasilnya (Permatasari, 2015).

e. Uji Viskositas

Pemeriksaan viskositas mikroemul gel dilakukan dengan menggunakan Viskometer stromer. Sampel mikroemulsi diletakkan pada *sample cup*, pastikan bebas gelembung dan tersebar merata pada permukaan *cup*. Pasang kembali *sample cup* pada Viskometer, viskometer dinyalakan lalu dibiarkan beberapa saat hingga pembacaannya stabil (Diah & Rahma, 2019).

f. Uji Tipe Mikroemulsi

1. Dilakukan dengan cara mengencerkan mikroemulsi dengan air. Jika mikroemulsi tercampur baik dengan air maka tipe mikroemulsi adalah minyak dalam air (M/A), sebaliknya jika

air yang ditambahkan membentuk globul pada mikroemulsi maka tipe mikroemulsi adalah air dalam minyak (A/M).

2. Pengujian yang dilakukan yaitu dengan metode warna dengan menggunakan pewarna metilen biru. Pewarna metilen biru merupakan pewarna yang larut dalam air, jika mikroemulsi bertipe M/A, metilen biru akan mewarnai droplet mikroemulsi dan fase kontinyu tidak terwarnai.
3. Penentuan tipe dilakukan dengan metode kertas saring dengan meneteskan mikroemulsi ke kertas saring. Apabila sediaan tidak meninggalkan noda maka mikroemulsi bertipe M/A sedangkan, mikroemulsi bertipe A/M akan sulit menyebar pada kertas saring saat dioleskan dan akan meninggalkan noda transparan pada kertas saring bila sudah kering.
4. Mikroemulsi diuji terhadap penghantaran listrik, apabila mikroemulsi tipe M/A dapat menghantarkan alur listrik, sedangkan mikroemulsi tipe A/M tidak dapat menghantarkan arus listrik (Anwar, 2012).
5. Mikroemulsi dicampurkan dengan metilen biru kemudian ditetaskan diatas kaca preparat dan diamati pada alat Mikroskop dengan perbesaran lensa 4x dan 10x. Apabila zat warna tersebar merata pada fase air maka sediaan

mikroemulsi yang telah dibuat mempunyai tipe mikroemulsi M/A (Anwar, 2012).

g. Uji Penentuan Ukuran Partikel

Ukuran globul mikroemulsi dan distribusi ukuran ditentukan dengan menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*) SZ-100. Pengukuran distribusi ukuran globul dengan memilih *alignment* (untuk menyiapkan dan mengatur detektor), *measuring background* (untuk menyiapkan dan mengatur latar belakang), *measuring loading* (untuk pengukuran sampel). Setelah alat siap digunakan, sampel sediaan mikroemulsi dimasukkan kedalam kuvet dan dimasukkan hingga layar monitor menunjukkan keterangan OK yang menunjukkan bahwa sampel siap untuk diukur. Pengukuran berlangsung hingga pada layar monitor memperlihatkan adanya hubungan antara diameter globul dengan volume. Ukuran partikel mikroemulsi yang diharapkan adalah ukuran yang memasuki rentang antara 5-140nm (Irawati dkk, 2021).

3.9.2 Uji Stabilitas Mikroemulsi

a. Uji Stabilitas Sentrifugasi

Sediaan mikroemulsi gel dimasukkan kedalam tabung kemudian dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 3000rpm selama

30 menit yang ekuivalen dengan efek gravitasi selama satu tahun. Setelah disentrifugasi maka dilakukan pengamatan karakteristik fisik mikroemulsi yang meliputi pengamatan organoleptis (Dewi, 2015).

b. Uji Stabilitas Metode *Heating Stability*

Uji stabilitas dilakukan dengan menggunakan *oven*, uji stabilitas menggunakan suhu 60°C-100°C. Sampel disimpan selama 5 jam dan setelah uji selesai dilanjutkan dengan pengamatan karakteristik fisik berupa uji organoleptis (Dewi, 2015).

3.9.3 Uji Sifat Fisik Mikroemulsi Gel

a. Pemeriksaan Organoleptik

Uji dilakukan dengan cara mengamati keadaan fisik sediaan seperti warna, bau, kejernihan, bentuk dan pemisahan fase mikroemulsi gel. Pengamatan ini dilakukan secara visual dengan panca indera (Putri, 2014).

b. Uji Homogenitas

Uji dilakukan dengan mengoleskan sediaan diantara dua keping kaca, kemudian diamati secara visual apakah ada atau tidaknya partikel kasar yang terdapat didalam sediaan (Putri, 2014).

c. Uji pH

Uji pH dilakukan dengan menggunakan pH meter, pH meter terlebih dahulu dikalibrasi dengan larutan dapar standar, kemudian pH meter dicelupkan dengan sediaan mikroemulsi gel, setelah itu pH meter akan menunjukkan angka yang stabil kemudian di catat hasilnya (Permatasari, 2015).

d. Uji Viskositas

Pemeriksaan viskositas mikroemul gel dilakukan dengan menggunakan Viskometer stromer. Sampel mikroemulsi gel diletakkan pada *sample cup*, pastikan bebas gelembung dan tersebar merata pada permukaan *cup*. Pasang kembali *sample cup* pada Viskometer, viskometer dinyalakan lalu dibiarkan beberapa saat hingga pembacaannya stabil (Diah & Rahma, 2019).

e. Uji Daya Sebar

Sampel di berikan beban dengan berat 50g, 100g dan 150g anak timbangan di atasnya dengan beban tertentu di atas kertas berpetak ukuran 1 mm kemudian dihitung luas penyebaran gel (Ashar, 2016).

f. Uji Daya Lekat

Sampel sebanyak 0,2 gram diletakkan diatas kaca objek kemudiaan ditutup dengan kaca objek yang lain dan ditekan dengan beban 1 Kg selama 5 menit, kemudiaan beban diambil

setelah itu kedua kaca objek dilepaskan dan dicatat waktu sampai keduanya bisa terlepas.

3.9.4 Uji Stabilitas Mikroemulsi Gel

a. Uji Stabilitas Sentrifugasi

Sediaan mikroemulsi gel dimasukkan kedalam tabung kemudian dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 3000rpm selama 30 menit yang ekivalen dengan efek gravitasi selama satu tahun. Setelah disentrifugasi maka dilakukan pengamatan karakteristik fisik mikroemulsi gel yang meliputi pengamatan organoleptis (Dewi, 2015).

b. Uji Stabilitas Metode Freeze-Thaw

Uji stabilitas dilakukan dengan enam siklus atau selama dua belas hari, dengan menyimpan sediaan pada lemari pendingin dengan temperatur yang berbeda yaitu pada suhu dingin (6°C - 2°C) dan suhu ruang (25°C) (Dewi, 2015).

c. Uji Stabilitas Metode *Heating Stability*

Uji stabilitas dilakukan dengan menggunakan oven, uji stabilitas menggunakan suhu 60°C - 100°C . Sampel disimpan selama 5 jam dan setelah uji selesai dilanjutkan dengan pengamatan karakteristik fisik berupa uji organoleptis (Dewi, 2015).

3.10 Analisis Data

Data yang diperoleh dari evaluasi fisik sediaan mikroemulsi gel meliputi uji Organoleptis, homogenitas, Stabilitas sentrifugasi, Stabilitas Metode *Heating Stability* yang dianalisis secara deskriptif. Sedangkan uji pH, viskositas, daya sebar dan daya lekat sediaan dianalisis menggunakan SPSS Microsoft Axel Versi 2022. Data dianalisis menggunakan Anova satu arah, Jika nilai *p-value* ($<0,5$) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, sebaliknya apabila nilai *p-value* ($>0,5$) menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan sebelum dan sesudah uji stabilitas *Freeze-thaw*.