

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah krim ekstrak biji jagung dari jagung lokal dan jagung manis

Sampel yang di gunakan dalam penelitian ini adalah sejumlah krim ekstrak biji jagung lokal dan biji jagung manis dengan konsentrasi 5%.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah krim ekstrak biji jagung lokal (*Zea mays L*) dan biji jagung manis (*Zea mays L Saccharata start*) melalui uji mutu fisik krim dengan berbagai parameter pengujian

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang diidentifikasi lebih dahulu dapat dikelompokkan dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkendali, dan variabel tergantung.

Variabel bebas dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel utama Variabel bebas yang dimaksud adalah perbandingan krim dari ekstrak biji jagung lokal (*Zea mays L.*) dan biji jagung manis (*Zea mays L . Saccharata start*) dengan konstrasi dan formula yang sama.

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel tergantung selain variabel bebas, sehingga perlu diulang dalam penelitian lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah formula dalam pembuatan krim dan proses pembuatan krim ekstrak biji jagung, komponen bahan dalam pembuatan krim ekstrak biji jagung, alat dan instrumen yang digunakan .

Variabel tergantung dari penelitian ini merupakan akibat dari variabel utama. Variabel tergantung dari penelitian ini adalah mutu fisik, stabilitas, dan

aktivitas antioksidan dari biji jagung sebelum di buat sediaan dan sesudah di buat sediaan krim.

3. Definisi oprasional variabel utama

Tahap pertama, biji jagung yang berasal dari tanaman jagung (*Zea mays L.*) yang diperoleh dari Desa Tawangmangu didekat kaki gunung lawu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, ekstrak biji jagung adalah hasil ekstraksi serbuk biji jagung menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% yang kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator

Ketiga, krim biji jagung adalah hasil pencampuran ekstrak biji jagung dengan basis krim.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak biji jagung (*Zea mays L.*). Bahan-bahan kimia yang digunakan Nipasol, Nipagin, adeps lanae, asam stearat, parafin liquidum, TEA, aquadest, etanol 96%, etanol *p.a*, aseton *p.a* dan DPPH

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan, mesin penggiling, erlemeyer, gelas kimia, tabung reaksi, gelas ukur, botol maserasi, spatula, mortir, stamfer, pengaduk, sendok tanduk, pipet tetes, pipet volume, wadah krim, ayakan nomor 60, lempeng kromatografi silica gel GF₂₅₄nm, chamber, pipa kapiler, kaca objek, vial, labu takar, penangas air, cawan penguap, alat *moisture balance*, *rotary evaporator*, alat pengujian pH meter, daya sebar, daya lekat, *viscometer*, spektrofotometer UV-VIS (Spectronic 20 GenesysTM).

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman dan identifikasi tanaman

Determinasi tanaman sebagai bahan penelitian perlu dilakukan untuk memastikan bahwa tanaman yang diperiksa dalam penelitian ini sesuai dengan

tanaman yang dimaksud sehingga menghindari kesalahan pemilihan bahan tanaman.

Determinasi dilakukan juga untuk mengetahui jenis dan kedudukan tanaman tersebut dalam sistem klasifikasi tanaman.

Tahapan pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran tanaman jagung berkaitan dengan ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman jagung

2. Pengumpulan bahan

Sampel diperoleh di desa Tawangmangu didekat kaki gunung lawu, Karanganyar, Jawa Tengah sampel yang digunakan yaitu biji jagung dari jagung lokal dan jagung manis sebanyak 5 kg.

3. Pembuatan serbuk simplisia

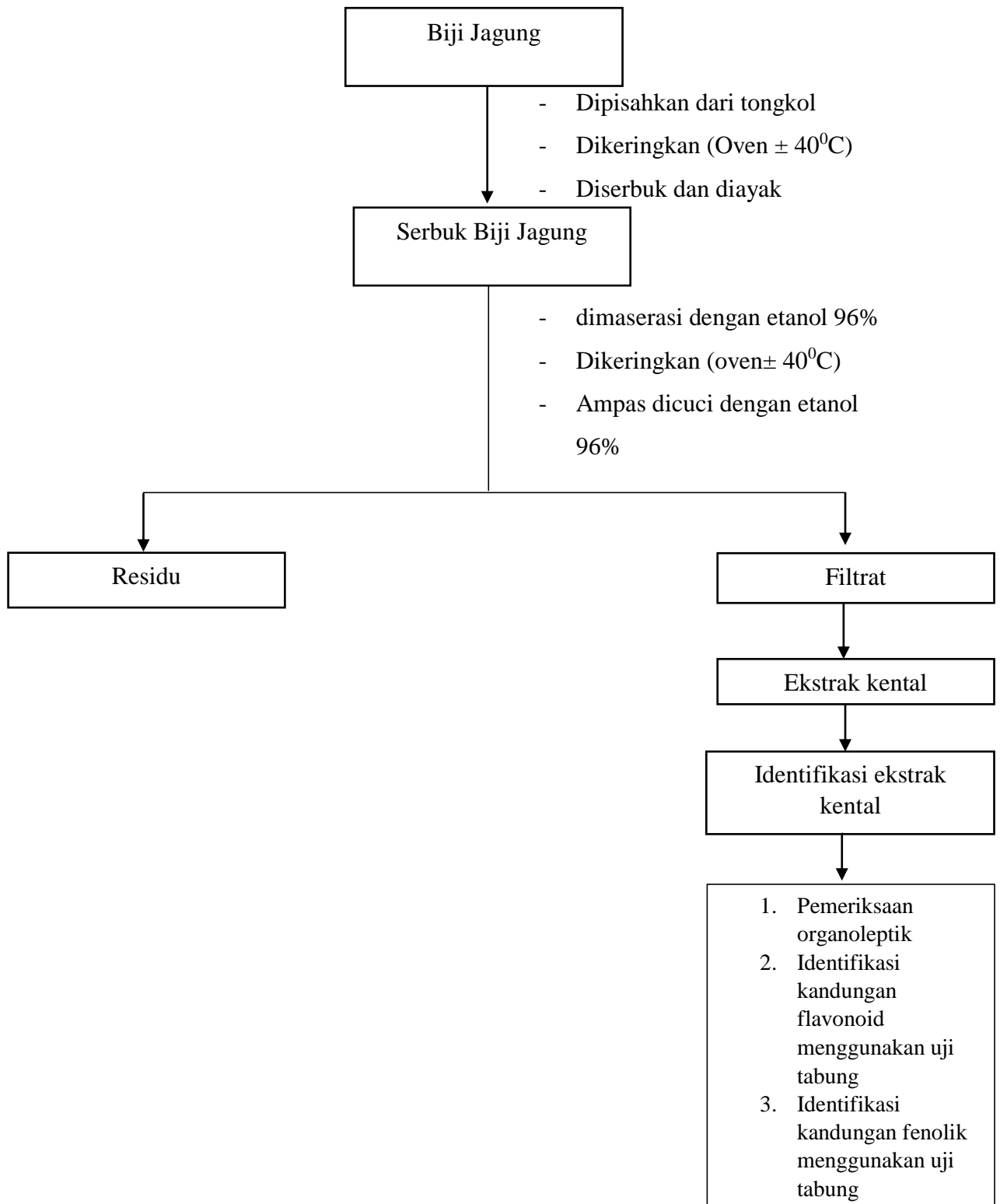
Biji jagung ditimbang sebanyak 5 kg dan dikeringkan dengan cara dijemur kemudian dibuat serbuk dan diayak dengan menggunakan ayakan mesh nomor 60. Hasil ayakan ditimbang sebanyak 500 gram untuk pembuatan ekstrak dan disimpan dalam wadah kering yang tertutup rapat.

4. Identifikasi serbuk biji jagung

4.1 Organoleptik serbuk. Identifikasi serbuk biji jagung secara organoleptis yaitu bentuk, warna, bau, dan rasa dari serbuk biji jagung

4.2 Penetapan kadar lembab. Penetapan kadar lembab serbuk biji jagung dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*, dengan cara menimbang serbuk biji jagung \pm 2gram. Kemudian ditunggu hingga kadar konstan lalu dilihat kadar kelembabannya

4.3 Pembuatan ekstrak biji jagung. Serbuk biji jagung ditimbang sebanyak 500 gram dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 75 bagian 2500ml pelarut etanol 96% dimasukkan kedalam sebuah bejana ditutup dan dibiarkan selama 5 hari dan sesering mungkin diaduk, setelah 5 hari ekstrak disaring dengan kain flannel dan kertas saring dan dicuci dengan pelarut etanol 96% hingga didapatkan sari sebanyak 100 bagian dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.



Gambar 1. Diagram alir pembuatan ekstrak biji jagung

5. Identifikasi ekstrak biji jagung

5.1 Pemeriksaan organoleptis. Pemeriksaan organoleptik dilakukan dengan mengamati warna, bau, dan bentuk ekstrak.

5.2 Identifikasi kandungan senyawa dalam ekstrak biji jagung. Identifikasi kandungan senyawa dalam ekstrak biji jagung dilakukan dengan uji tabung untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak biji jagung dengan menggunakan metode tabung menimbang ekstrak biji jagung lokal dan ekstrak biji jagung manis sebanyak 500 mg dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 50 ml dan didapatkan larutan uji untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid dan fenolik .

5.3.1 Identifikasi senyawa flavonoid.

5.3.1a Uji pereaksi alkalin. Larutan ekstrak biji jagung lokal dan biji jagung manis ditambahkan 5 tetes larutan sodium hidroksida hasil positif apabila terdapat peningkatan intensitas warna kuning dan ditambahkan dengan beberapa tetes HCL 2M warna kuning akan menghilang.

5.3.1b. Uji asetat. Larutan biji jagung lokal dan biji jagung manis ditambah beberapa tetes asetat 10%. Hasil positif apabila terbentuk endapan kuning.

5.3.2 Identifikasi senyawa fenolik. Larutan ekstrak biji jagung diambil sebanyak 2 ml ditetesi pereaksi FeCl_3 sampai membentuk warna larutan biru tua, biru kehitaman, atau hijau kehitaman (Jones dan Kinghorn 2006).

6. Rancangan formulasi krim dari ekstrak biji jagung

Pada penelitian ini rancangan formula krim ekstrak biji jagung dapat dilihat pada tabel 2 Rancangan formula krim ekstrak biji jagung

Tabel 1. Rancangan formula krim ekstrak biji jagung lokal dan jagung manis

Bahan	Satuan	FI	FII	FIII	FIV
Ekstrak biji jagung lokal	%	-	5	-	-
Ekstrak biji jagung manis	%	-	-	5	-
Vitamin E	%	-	-	-	5
Parafin liquidum	Gram	20	20	20	20
Asam Stearat	Gram	14,5	14,5	14,5	14,5
Adeps lanae	Gram	10	10	10	10
Trietanolamin	Gram	1,5	1,5	1,5	1,5
Nipagin	Gram	0,1	0,1	0,1	0,1
Nipasol	Gram	0,05	0,05	0,05	0,05
Aquadest	mL	100	100	100	100

Keterangan :

Formula I : Kontrol negatif

Formula II : Krim ekstrak biji jagung lokal sebanyak 5%

Formula III : Krim ekstrak biji jagung manis sebanyak 5%

Formula IV : Kontrol positif

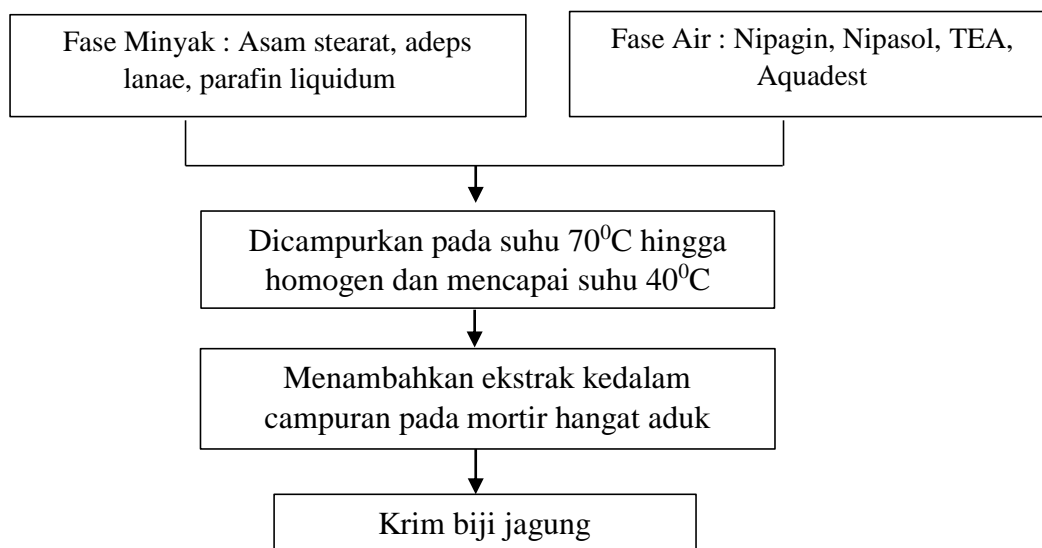
7. Pembuatan sediaan krim ekstrak biji jagung

Pembuatan formula ini dibagi menjadi dua bagian yaitu fase minyak dan fase air. Fase minyak (asam stearat, adeps lanae, parafin liquidum) dileburkan diatas waterbath pada suhu 70⁰C sampai lebur. Fase air (nipagin, nipasol, aquadest) dileburkan di atas waterbath pada suhu 70⁰C sampai lebur, setelah itu dimasukkan Trietanolamin (TEA) yang dileburkan pada suhu 70⁰C. Fase minyak dipindahkan ke dalam mortir hangat dan ditambahkan fase air kemudian di campurkan ke dalam mortir dengan menambahkan sedikit-demi sedikit ekstrak biji jagung dicampur hingga homogen.

8. Pembuatan Kontrol

8.1 Kontrol negatif. Kontrol negatif yang digunakan adalah krim yang tidak mengandung sediaan ekstrak biji jagung

8.2 Kontrol positif. Kontrol positif yang digunakan adalah vitamin E yang dibuat dalam sediaan krim



Gambar 2. Diagram alir pembuatan krim biji jagung

9. Pengujian mutu fisik krim dari ekstrak biji jagung

9.1. Uji organoleptik. Uji organoleptik meliputi uji warna, bau dan konsistensi krim untuk mengetahui secara fisik keadaan krim. Pemeriksaan organoleptik dilakukan untuk mendeskripsikan warna, bau, dan konsentrasi dari sediaan krim yang sudah bercampur dengan basis, sediaan yang dihasilkan.

9.2. Uji homogenitas. Uji homogenitas dilakukan dengan cara mengoleskan sediaan krim pada plat kaca, diraba dan digosokkan, massa krim harus menunjukkan susunan homogen yaitu tidak terasa adanya bahan padat pada kaca

9.3. Uji viskositas. Pengamatan viskositas atau perubahan kekentalan dilakukan dengan menggunakan *viscometer*. Sediaan dimasukkan ke dalam wadah berbentuk tabung, lalu dipasang rotor hingga terendam dalam sediaan uji. Alat viscometer dinyalakan dan diamati jarum penunjuk dari viscometer yang mengarah ke angka pada skala viskositas yang tersedia. Catat viskositasnya dalam satuan dPa.S.

9.4. Uji daya sebar. Uji ini dilakukan dengan alat-alat seperti cawan petri, anak timbang gram dan stop watch kemudian dilakukan dengan cara menimbang $\pm 0,5$ gram krim, diletakkan ditengah kaca, kaca lainnya diletakkan di atas massa krim dan didiamkan selama 1 menit lalu catat diameter penyebarannya. Tiap tahap

ditambah beban 50 gram dan didiamkan selama 1 menit lalu catat diameter penyebarannya. Pemberat ditambahkan hingga 200gram. Penyebaran dicatat melalui sisi dan daya sebar diukur dengan mengambil rata-rata diameter dari 4 sisi tersebut. Krim diperiksa masing-masing 3 kali replikasi

9.5. Uji daya lekat. Uji ini dilakukan dengan alat-alat seperti alat tes melekat gel. Dua obyek glas, stopwatch, anak timbang dan dilakukan dengan cara mengoleskan lotion tersebut sampai menyatu, kemudian ditekan dengan beban seberat 500gram selama 5 menit. Dipasang objek glass pada alat tes, kemudian dilepaskan beban seberat 20 gram dan catat waktu hingga kedua objek glas terlepas. Ulangi cara diatas pada setiap formulasi masing-masing 3 kali replikasi.

9.6. Uji pH. Uji ini diawali dengan kalibrasi alat pH meter menggunakan larutan dapar pH 4 dan pH 7, sebanyak 1 gram sediaan krim ekstrak biji jagung dilarutkan dalam 9 ml aquadest, kemudian dicelupkan pada pH meter dan catat nilai ph pada pH meter .

10. Pengujian tipe krim

Pengujian tipe krim dapat dilakukan dengan metode pengenceran dan metode pewarnaan.

10.1 Metode pengenceran. Krim diberi sedikit air dan diaduk, jika diperoleh krim yang homogen berarti tipe krim minyak dalam air tapi jika krim tidak homogen tipe krim air dalam minyak.

11. Pengujian stabilitas krim dengan metode uji pemisahan fase dengan metode *freeze and thaw*.

Pengujian stabilitas ini dilakukan dengan cara sediaan krim pada masing-masing formula ditimbang sebanyak 2 gram dan dimasukkan ke dalam 4 vial yang tertutup rapat, pengujian *freeze and thaw* dilakukan dengan penyimpanan pada suhu 4⁰C pada 24 jam pertama dan suhu 40⁰C pada 24 jam berikutnya. Dilakukan sebanyak 6 siklus dan dilakukan pengamatan stabilitas krim meliputi memisah atau tidaknya krim tersebut, dan dilakukan pengujian pH, daya lekat, daya sebar, viskositas pada siklus 0 dan siklus 6

12. Uji aktivitas antioksidan.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan pada ekstrak kental biji jagung lokal dan biji jagung manis dan sediaan krim dari ekstrak dari biji jagung lokal dan biji jagung manis dengan DPPH yang diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum setelah waktu yang didapat dari *operating time*.

12.1 Pembuatan larutan stok DPPH. Menimbang dengan seksama serbuk DPPH 15,8 mg, kemudian dilarutkan dengan etanol 96% menggunakan labu takar 100 ml, sehingga didapatkan konsentrasi 0,4mM. Labu takar ditutup *aluminium foil*.

12.2 Pembuatan larutan stok ekstrak biji jagung . Menimbang 40 mg sediaan ekstrak biji jagung kemudian dilarutkan dengan etanol *p.a* sampai tanda batas pada labu takar 100 ml sehingga diperoleh konsentrasi 400ppm dibuat beberapa seri konsentrasi : 16ppm, 24ppm, 32ppm, 40ppm, 48ppm.

12.3 Pembuatan larutan stok krim ekstrak biji jagung. Menimbang sebanyak 100 mg sediaan krim ekstrak biji jagung, kemudian dilarutkan dengan etanol *p.a* sampai tanda batas pada labu takar 100 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 1000ppm dibuat beberapa seri konsentrasi 40ppm, 60ppm, 80ppm, 100ppm, 120ppm.

12.4 Pembuatan larutan stok kontrol positif vitamin e. Pembuatan larutan stok vitamin E dengan menimbang 10 mg dimasukkan dalam labu takar dan dilarutkan dengan menggunakan aseton *p.a* hingga larut, ditambahkan etanol *p.a* sampai tanda batas 100 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Kemudian dibuat beberapa seri pengenceran yaitu 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm dan 5 ppm.

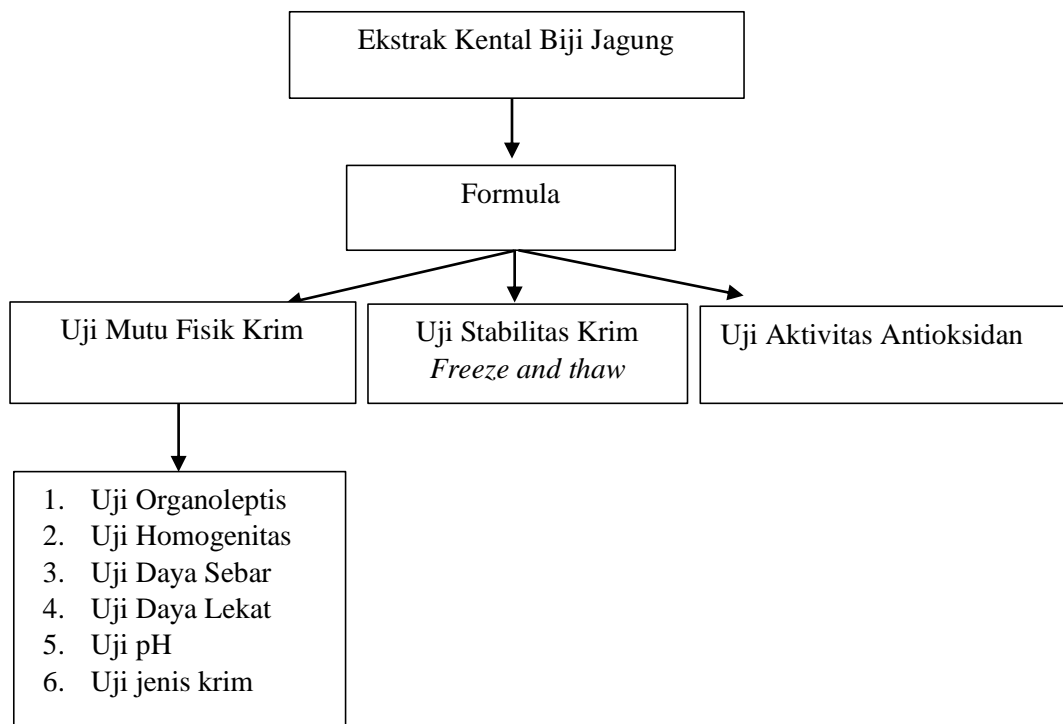
12.5 Pembuatan larutan stok krim kontrol positif. Menimbang sebanyak 50 mg sediaan krim kontrol positif yang berisi vitamin e, melarutkan krim dengan aseton *p.a* kemudian ditambahkan dengan etanol *p.a* sampai tanda batas pada labu takar 100ml, sehingga diperoleh konsentrasi 500ppm dibuat beberapa seri konsentrasi 20ppm, 30ppm, 40ppm, 50ppm, 60ppm.

12.6 Penentuan panjang gelombang maksimum (λ maksimum). Larutan stok DPPH 0,4 mM diambil sebanyak 1mL dan dimasukkan dalam vial 5

ml kemudian ditambahkan 4,0 ml etanol p.a dan dikocok hingga homogen, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 450-550nm

12.7 Penentuan *operating time* (OT). Larutan DPPH 0,4mM sebanyak 1,0 ml dimasukkan dalam vial 5,0 ml, kemudian diambil etanol p.a sebanyak 4ml, kemudian divorteks selama 30 detik, dan larutan vitamin e sebanyak 10mg dilarutkan dengan aseton p.a hingga larut kemudian dipipet sebanyak 1 ml DPPH dan 1 ml vitamin e dimasukkan kedalam vial ditambah dengan etanol p.a sebanyak 4ml. Penentuan *operating time* dilakukan pada panjang gelombang maksimum dan absorbansi dibaca mulai dari menit 0 sampai menit didapatkan nilai absorbansi yang stabil pada menit tertentu.

12.8 Uji aktivitas antioksidan. Uji aktivitas antioksidan krim biji jagung diukur absorbansinya pada λ maksimum setelah waktu yang didapatkan dari *operating time*. Preparasi larutan yang akan diukur sebagai berikut: 4,0 ml larutan krim biji jagung kemudian ditambah 1,0 ml larutan DPPH 0,4 Mm divorteks selama 30 detik dan didiamkan selama OT, ditempatkan yang tidak terkena cahaya secara langsung, kemudian dibaca absorbansi pada λ maksimum.



Gambar 3. Skema Pengujian Krim Biji Jagung

E. Analisis Hasil

Formula krim di uji mutu fisiknya, meliputi organoleptis, homogenitas, viskositas, daya sebar, daya lekat, dan menentukan tipe krim, dan stabilitas krim dengan menggunakan metode *freeze and thaw* dari siklus-0 dan siklus-6 kemudian dilakukan uji statistik menggunakan metode SPSS dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov*, untuk menemukan data yang telah didapat dapat terdistribusi normal atau tidak dilihat dari nilai sig >0,05, bila terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan analisis *Two Way Anov* untuk memenuhi persyaratan yang ada, kemudian dilanjutkan dengan metode Post hoc untuk melihat stabilitas. Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak biji jagung dan krim dilakukan dengan menghitung IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC_{50} dapat dihitung berdasarkan rumus :

$$\% \text{ peredaman} = \frac{\text{Abs. kontrol} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs.kontrol}} \times 100\%$$