

BAB III METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi merupakan seluruh bagian yang menjadi target dalam penelitian. Populasi yang dipakai pada penelitian ini adalah sediaan emulgel yang dibuat dari minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*) dengan variasi konsentrasi carbopol 940 sebagai *gelling agent*.

2. Sampel

Sampel merupakan salah satu bagian dari populasi yang dipakai dalam melakukan penelitian. Sampel yang dipakai dalam penelitian ini adalah sediaan emulgel yang memiliki zat aktif minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*) yang dibuat dengan variasi konsentrasi carbopol 940 1%, 1,5%, dan 2%.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama pertama pada penelitian ini adalah emulgel minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*) dengan variasi *gelling agent* carbopol 940.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama terdiri atas identifikasi seluruh variabel pada penelitian ini. Variabel yang sudah diidentifikasi dapat diklasifikasikan dalam beberapa macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali.

2.1 Variabel bebas. Variabel bebas dalam penelitian adalah variabel yang telah direncanakan untuk dilakukan penelitian dan dilihat pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas pada penelitian ini adalah variasi konsentrasi carbopol 940 1%, 1,5%, dan 2%.

2.2 Variabel tergantung. Variabel tergantung adalah variabel yang dapat dipengaruhi oleh variabel bebas. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah mutu fisik dan stabilitas emulgel minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*)

2.3 Variabel Kendali. Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan

kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak terurai dan dapat diulangi oleh peneliti. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kondisi peneliti, kondisi laboratorium, dan metode penelitian.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Minyak kenanga merupakan salah satu jenis minyak atsiri yang memiliki aroma yang khas yaitu beraroma floral dan berwarna kuning muda hingga kuning tua. Pada umumnya minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*) diperoleh dengan cara mengisolasi bunga kenanga melalui metode destilasi uap. Di dalam minyak atsiri bunga kenanga terkandung senyawa-senyawa yang diduga mempunyai efek penolakan nyamuk yaitu senyawa linalool, geraniol, dan eugenol (Sudjari *et al.*, 2007).

Emulgel minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*) adalah sediaan semi padat yang dibuat dengan cara menambahkan minyak atsiri bunga kenanga dan bahan lainnya dengan menggunakan variasi konsentrasi basis carbopol 940. Sediaan emulgel dibuat yang diperoleh dari minyak atsiri dengan variasi konsentrasi carbopol 940. Emulgel yang diformulasikan dengan perbedaan konsentrasi carbopol 940, F1 (1%), F2 (1,5%), dan F3 (2%). Emulgel memiliki sifat fisik diantaranya adalah konsistensinya yang kental berbentuk emulgel, homogen, sesuai dengan pH kulit manusia sehingga tidak mengiritasi pada kulit.

Gelling agent sintesis yang umum digunakan di industri farmasi dan kosmetik salah satunya adalah carbopol. Carbopol adalah kelompok basis polimer asam akrilat yang saling berikatan silang. Polimer yang terbentuk dari partikel primer polimer yang saling berikatan. Carbopol merupakan serbuk berwarna putih yang higroskopis secara organoleptik (Giuseppe *et al.*, 2015). Sebagai basis gel, carbopol digunakan dalam rentang konsentrasi antara 0,5% - 2,0% (Agoes, 2012).

Uji mutu fisik dan stabilitas emulgel minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*) yaitu pengujian untuk mengetahui kesesuaian sediaan emulgel dengan parameter uji persyaratan yang tertera. Pengujian mutu fisik ini meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji viskositas, uji daya sebar, uji daya lekat, dan uji stabilitas emulgel.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu mortir, gelas ukur (*Pyrex*), tabung reaksi (*Pyrex*), Erlenmeyer (*Pyrex*), *beaker glass*, wadah emulgel, stamper, sendok tanduk, batang pengaduk, sudip, kertas saring, cawan porselen, labu takar, *object glass*, piknometer, chamber, pipa kapiler, pipet tetes, *silica gel* F₂₅₄, neraca digital, pH meter, *viscometer*, *test lead* volmeter, *Refractometer Abbe*, alat uji daya lekat, alat uji daya sebar, *water bath*, dan spektrofotometri UV.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*) yang diperoleh dari Rumah Atsiri Indonesia, carbopol 940, trietanolamin (TEA), propilenglikol, tween 80, span 80, parafin cair, metil paraben, propil paraben, etanol 96%, toluen, etil asetat, anisal dehid asam sulfat, dan aqua destillata.

D. Jalannya Penelitian

1. Identifikasi Pengujian Minyak Atsiri

1.1 Uji Organoleptik. Metode yang digunakan untuk pengujian organoleptik minyak atsiri bunga kenanga yaitu berupa warna dan bau, dilakukan dengan uji langsung menggunakan indera penglihatan dan penciuman dengan membandingkan dengan standar warna minyak kenanga komersial (Pujiarti *et al.*, 2015).

1.2 Uji Indeks Bias. Indeks bias dianalisis menggunakan *Refractometer Abbe* (Patty dan Loupatty, 2016). Pengujian ini dilakukan dengan cara dibuka penutup prisma refraktometer lalu pada bagian prismanya dibersihkan dengan *tissue* yang dibasahi. Minyak atsiri ditetaskan di atas permukaan prisma hingga merata kemudian ditutup kembali. Refraktometer diarahkan ke tempat yang terang agar bisa terlihat lingkaran skala nilai indeks biasnya. Hasil pengukuran diamati dengan pembacaan yang terlihat pada *eye pieces* yang diarahkan ke arah cahaya dengan melihat nilai pada garis perbatasan antara biru dan putih yang merupakan nilai indeks bias minyak.

1.3 Penentuan Kelarutan dalam Etanol. Minyak atsiri bunga kenanga secara tunggal ditetaskan dalam gelas ukur secukupnya kemudian ditetaskan etanol 96% secukupnya secara bertahap kemudian dikocok, didamkan selama 24 jam dan terjadi larutan jernih, jika jernih maka minyak larut dalam etanol.

1.4 Penentuan Bobot Jenis. Alat yang digunakan untuk penentuan bobot jenis berupa piknometer. Piknometer volume 10 mL ditimbang pada neraca analitik. Piknometer diisi air, ditutup kemudian ditimbang. Piknometer diisi minyak atsiri bunga kenanga, ditutup kemudian ditimbang kembali (Lely *et al.*, 2017). Bobot jenis didapatkan dengan rumus :

$$\text{Berat jenis} = \frac{\text{Pikno minyak atsiri} - \text{pikno kosong}}{\text{Pikno aquadest} - \text{pikno kosong}}$$

1.5 Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis Minyak Atsiri.

Minyak atsiri dilakukan dengan cara minyak atsiri ditotolkan pada lempeng KLT *silica gel* F₂₅₄ dengan pipa kapiler dan dimasukkan kedalam kolom *chamber* yang berisi fase gerak toluen : etil asetat (93:7) dalam keadaan jenuh sampai tanda yang ada diperiksa dibawah lampu UV₂₅₄ dan UV₃₆₆. Kemudian dideteksi dengan pereaksi semprot Anisaldehyd dan dipanaskan dengan *oven* pada suhu 110°C selama 5 menit. Diamati warna bercak noda yang terbentuk. Nilai Rf yang dihasilkan dihitung (Susanti *et al.*, 2015).

Rumus perhitungan Rf sebagai berikut :

$$Rf = \frac{\text{Jarak bercak}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh fase gerak}}$$

2. Formulasi emulgel minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*)

Formula sediaan emulgel terdiri dari fase emulsi dan fase gel. Fase emulsi yang digunakan terdiri dari fase air yaitu propilen glikol dan fase minyak yaitu parafin cair. Emulgator dalam fase emulsi dipakai kombinasi emulgator tween 80 dan span 80. Pada Fase gel memakai *gelling agent* carbopol 940. Bahan aktif minyak atsiri bunga kenanga dengan perbedaan konsentrasi. Formula yang direncanakan pada penelitian ini sesuai dalam tabel 1.

Tabel 1. Formula Emulgel minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*)

Bahan	Satuan	F1	F2	F3
Minyak Atsiri Bunga Kenanga	(% b/v)	5	5	5
Carbopol 940	(% b/v)	1	1,5	2
TEA	(% b/v)	1	1	1
Parafin Cair	(% b/v)	1,25	1,25	1,25
Propilenglikol	(% b/v)	2	2	2
Span 80	(% b/v)	2,5	2,5	2,5
Tween 80	(% b/v)	17,5	17,5	17,5
Metil paraben	(% b/v)	0,03	0,03	0,03
Propil paraben	(% b/v)	0,01	0,01	0,01
Aquadest	(% b/v)	Ad 100	Ad 100	Ad 100

Keterangan:

F1 : Basis Carbopol 940 1% dan Minyak Atsiri Bunga Kenanga

F2 : Basis Carbopol 940 1,5% dan Minyak Atsiri Bunga Kenanga

F3 : Basis Carbopol 940 2% dan Minyak Atsiri Bunga Kenanga

3. Pembuatan emulgel.

Alat disiapkan dan bahan yang akan digunakan ditimbang sesuai dengan formula. Carbopol 940 dikembangkan dengan cara memasukkan serbuk carbopol 940 ke dalam mortir yang berisi aquadest panas secara sedikit demi sedikit dan diaduk hingga carbopol 940 terdispersi homogen, kemudian TEA diteteskan sedikit demi sedikit untuk menetralkan pH carbopol 940 dan diaduk hingga terbentuk dispersi jenuh yang ditandai dengan basis gel kental dan jernih (fase gel). Fase air berisi campuran tween 80, propilen glikol, metil paraben, dan aquadest dicampurkan pada cawan porselen, diaduk di atas *water bath* pada suhu 60-70 °C sampai homogen. Sedangkan, fase minyak berisi campuran span 80, parafin cair, dan propil paraben dicampurkan pada cawan porselen, diaduk di atas *water bath* pada suhu 60-70 °C sampai homogen. Pembuatan emulgel dilakukan dengan cara massa emulsi yang sudah terbentuk kemudian ditambahkan kedalam basis gel dan dihomogenkan hingga terbentuk massa emulgel. Selanjutnya, sediaan emulgel ditambahkan minyak atsiri bunga kenanga sedikit demi sedikit, diaduk hingga homogen.

4. Pengujian sifat fisik dan stabilitas emulgel minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*)

4.1. Uji Organoleptis. Uji organoleptis emulgel minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*) meliputi pemeriksaan warna, bau, dan konsistensi emulgel secara fisik. (Lestari, 2019). Pengamatan dilakukan sebelum dan setelah pengujian *cycling test*.

4.2. Uji Homogenitas. Uji homogenitas pada penelitian ini dilakukan dengan dioleskan emulgel minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*) pada gelas objek dibagian atas, tengah dan bawah. Dikatakan homogen jika tidak terdapat butiran kasar pada gelas objek. Uji ini dilakukan 3 kali replikasi (Safitri *et al.*, 2014). Pengamatan dilakukan sebelum dan setelah pengujian *cycling test*.

4.3. Uji Viskositas. Uji viskositas emulgel minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*) dengan menggunakan viskometer *Brookfield*. Rotor dipasang pada viskometer lalu *spindle* yang sesuai dipasang kemudian dimasukkan ke dalam sampel yang akan diuji pada wadah hingga tanda batas, putar alat. Penunjuk skala menunjukkan angka yang tetap, pengukuran dianggap selesai. Pengujian dilakukan tiga kali replikasi pada masing-masing formula (Anief, 1998). Pengamatan dilakukan sebelum dan setelah pengujian *cycling test*.

4.4. Uji pH. Uji pH minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*) dilakukan dengan menggunakan alat pH meter. Alat dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan aquadest pro injeksi kemudian elektroda pH meter dicelupkan ke dalam sediaan emulgel, ditunggu sampai alat menunjukkan pH stabil. Skala dibaca setelah pH meter stabil. Pengujian dilakukan tiga kali replikasi pada masing-masing formula (Safitri *et al.*, 2014). Pengamatan dilakukan sebelum dan setelah pengujian *cycling test*.

4.5. Uji Daya Sebar. Uji daya sebar emulgel minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*) dilakukan dengan menggunakan alat kaca bulat berskala. Sampel ditimbang 0,5 dan diletakkan di atas kaca bulat. Kaca bulat lainnya diletakkan di atas massa sampel, biarkan selama 1 menit. Ukur diameter sampel yang menyebar (pengukuran diambil panjang rata-rata diameter dari beberapa sisi), beban ditambahkan di atas kaca sebesar 150g. Beban diberikan secara bertahap dan setiap tahapan diamkan selama 1 menit kemudian catat diameter yang menyebar. Pengujian dilakukan 3 kali replikasi setiap formula (Voight, 1994). Pengamatan dilakukan sebelum dan setelah pengujian *cycling test*.

4.6. Uji Daya Lekat. Uji daya lekat emulgel minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*) diletakkan 0,5 gram sampel di atas gelas objek. Gelas objek lainnya diletakkan di atas sampel dengan beban 1 kg selama 5 menit. Kaca objek dipasang pada alat ukur, beban seberat 1 kg dilepaskan dan catat waktunya sampai kedua gelas objek

terlepas (Safitri *et al.*, 2014). Pengamatan dilakukan sebelum dan setelah pengujian *cycling test*.

4.7. Menentukan tipe emulsi. Uji tipe emulsi adalah uji untuk mengetahui tipe minyak dalam air (M/A) atau air dalam minyak (A/M) pada suatu sediaan emulgel. Penentuan tipe emulsi dapat dilakukan dengan pengukuran daya hantar dan percobaan pencucian.

4.7.1. Metode daya hantar listrik. Pengujian daya hantar dilakukan dengan cara mencelupkan *test lead* kedalam sediaan emulgel jika suatu emulsi tipe M/A maka akan terjadi pergerakan pada jarum voltmeter.

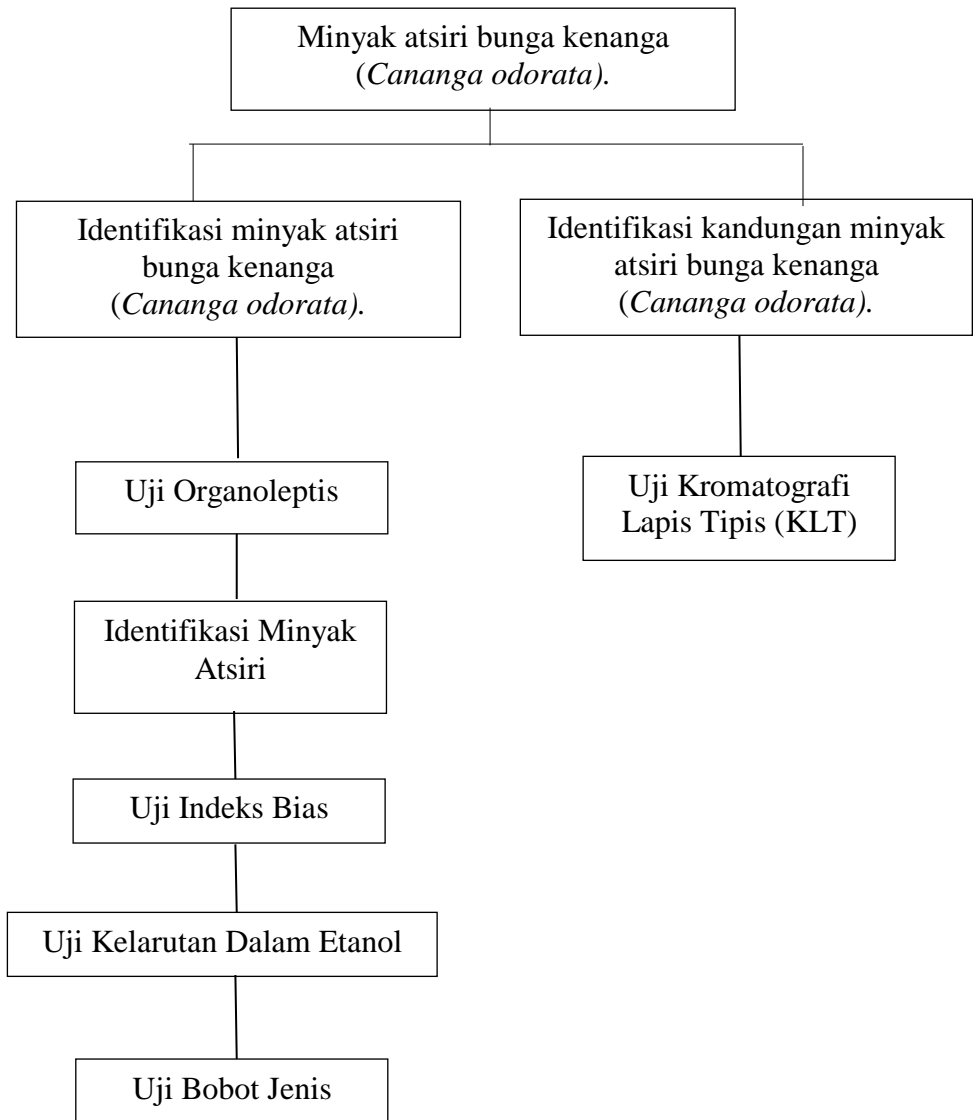
4.7.2. Metode pengenceran. Sediaan emulgel diencerkan dengan sedikit air kemudian diaduk dengan batang pengaduk diperoleh sediaan yang larut dan homogen maka jenis emulsi M/A (Wijaya, 2013).

4.8. Uji Stabilitas. Uji stabilitas sediaan emulgel minyak atsiri atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*) diuji terhadap suhu secara *Cycling test*. Uji dilakukan sejumlah 6 siklus. Sampel disimpan pada suhu 4°C dalam waktu 24 jam kemudian sampel dipindahkan pada suhu 40°C dalam waktu 24 jam. Proses ini dikatakan sebagai 1 siklus. Sebelum dan sesudah *Cycling test* dilakukan pengujian secara organoleptis, pH, viskositas, daya sebar, dan daya lekat (Dewi, 2010).

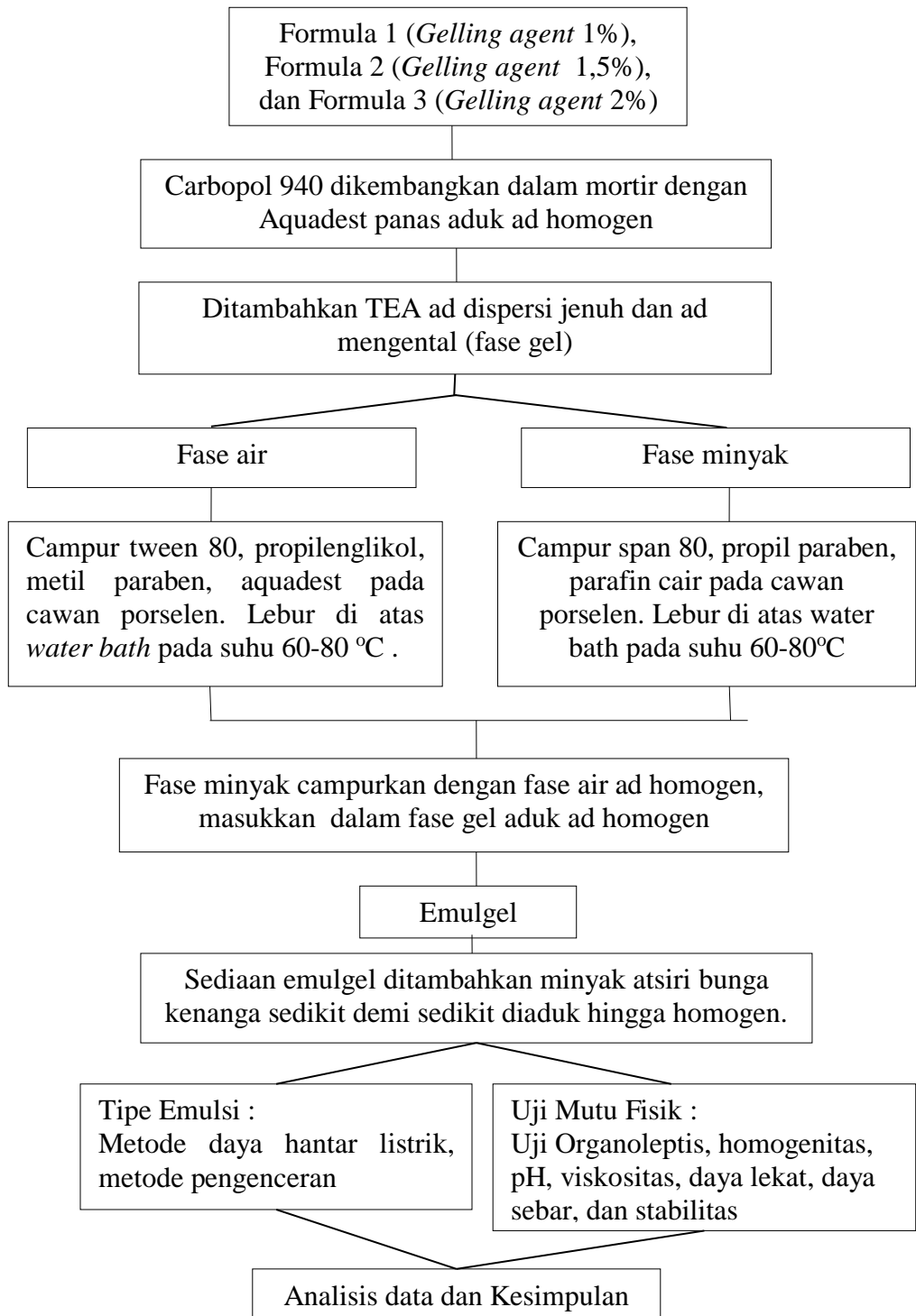
E. Analisis Hasil

Emulgel dari setiap formula diuji mutu sifat fisik meliputi organoleptis, pH, homogenitas, viskositas, daya sebar, daya lekat, dan uji stabilitas emulgel. Uji stabilitas emulgel terhadap suhu dilakukan dengan metode *cycling test*. Analisis hasil data dilakukan dengan pendekatan *statistic* menggunakan aplikasi SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*). Hasil data yang diperoleh dianalisis dengan *Kolmogorov-smirnov/Saphiro-wilk*, jika data yang didapat menyatakan distribusi normal maka langkah berikutnya dilakukan analisis dengan *one way anova* atau uji *kruskall walis* jika data tidak terdistribusi normal, untuk melihat apakah terdapat perbedaan antar formula. Analisis dilanjutkan dengan *paired t test/Wilcoxon*.

F. Skema Penelitian



Gambar 9. Skema identifikasi minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*)



Gambar 10. Skema formulasi dan uji mutu fisik emulgel minyak atsiri bunga kenanga (*Cananga odorata*)