

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode eksperimental untuk mengetahui pengaruh perbandingan Smix dalam sediaan SNEDDS minyak biji jintan hitam yang dikombinasikan dengan minyak jahe gajah terhadap karakteristik fisiko kimia dan stabilitas sediaan.

#### **4.2 Variabel Penelitian**

##### **4.2.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi perbandingan Smix dalam sediaan SNEDDS.

##### **4.2.2 Variabel Tergantung**

Untuk uji karakteristik fisiko kimia meliputi organoleptisnya, pH, viskositas, waktu untuk emulsifikasi, % transmittan dan zeta potensial. Dan untuk uji stabilitas sediaannya yaitu melakukan uji stabilitas pengenceran pH dan uji stabilitas termodinamika.

#### **4.3 Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **4.3.1 Tempat Penelitian**

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Kimia Terpadu Laboratorium Sintesis, pada program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Malang. Dan untuk alat PSA di Lab Fisika ITS.

##### **4.3.2 Waktu Penelitian**

Untuk waktu penelitiannya akan dilaksanakan pada bulan September 2022 sampai Desember 2022.

#### **4.4 Alat dan Bahan**

##### **4.4.1 Alat**

Mikropipet, ultrasonic (Branson 2510), vortex (Heildolph), spektrofotometer UV-Vis 1700 Shimadzu, *Particle Size Analyzer* (Malvern), viscometer brookfield, pH meter (Lab 845), magnetic stirrer (Streroglass), sentrifugasi (Nufe NF 200), timbangan elektronik (Metter Taledo), inkubator (Memmert), kuvet dan alat gelas.

#### 4.4.2 Bahan

Minyak Biji Jintan Hitam (Happy Green), Minyak Jahe Gajah (Happy Green), Tween 80 (Himedia), PEG 400 (Himedia), Aquadest (Hydrobatt).

#### 4.5 Metode Kerja

Pada penelitian ini sediaan SNEDDS minyak biji jintan hitam (MBJH) dan minyak jahe gajah dibuat dengan tambahan surfaktan Tween 80 dan ko-surfaktan PEG 400. Terdapat empat formulasi yang akan diuji aktivitas antibakteri dengan variasi konsentrasi MBJH.



**Gambar 4.1** Rancangan Penelitian Sediaan SNEEDS

#### 4.6 Spesifikasi Sediaan

Spesifikasi dari sediaan SNEEDS yang diinginkan dalam penelitian dapat dilihat pada table dibawah ini :

**Tabel 4.1** Spesifikasi Sediaan

Karakteristik sediaan	Spesifikasi sediaan
Organoleptis	Bau khas, warna coklat
Homogenitas	Homogen
Ukuran partikel	20-200 nm (Saputra A, 2020)
pH	4,5 – 7,5 (Azzahra et al., 2018)
Waktu emulsifikasi	<1-2 menit (Priani, Maulidina, et al., 2020)
Transmitan	>95% (Priani, Maulidina, et al., 2020)
Zeta potensial	± 30 mV (Gurpreet & Singh, 2018)
Stabilitas	Stabil

## 4.7 Rancangan Formulasi SNEEDS

### 4.7.1 Formulasi SNEEDS Dalam Penelitian

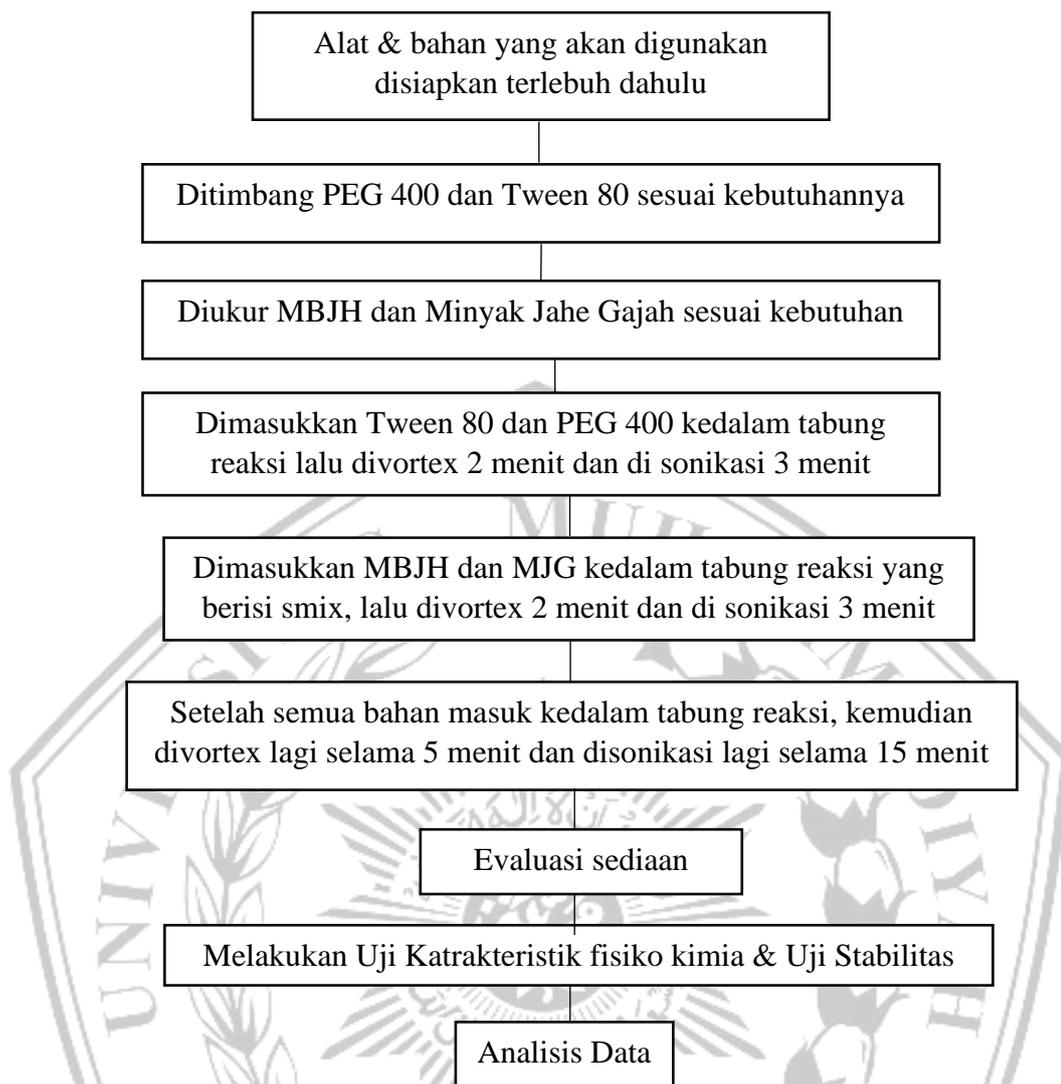
Dari formula acuan dikembangkan menjadi 9 formula dengan variasi konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan. Kemudian dilakukan pengujian kembali dan dipilih 4 formula yang terbaik untuk selanjutnya dilakukan penelitian uji karakteristik dan uji stabilitas sediaan SNEDDS. Sehingga didapatkan formulasi sediaan yang akan digunakan sebagai berikut pada tabel 4.2.

**Tabel 4.2** Formula Sediaan

Bahan	F1		F2		F3		F4	
	ml	%	ml	%	ml	%	ml	%
MBJH	0,133	5,96	0,133	5,96	0,133	5,96	0,133	5,96
MJG	0,5	22,39	0,5	22,39	0,5	22,39	0,5	22,39
Tween 80	0,64	28,66	0,8	35,83	0,96	42,99	1,12	50,15
PEG 400	0,96	42,99	0,8	35,83	0,64	28,66	0,48	21,5

## 4.8 Cara Pembuatan Sediaan

Pembuatan sediaan *Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS) minyak biji jintan hitam dengan kombinasi minyak jahe gajah dimulai dengan pengukuran MBJH dan minyak jahe gajah sesuai dengan formula. Selanjutnya diukur bahan tambahan meliputi surfaktan yaitu Tween 80 dan ko-surfaktan PEG 400. Bahan-bahan yang sudah diukur dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan urutan fase minyak meliputi minyak biji jintan hitam, minyak jahe gajah dan tween 80 kemudian dilanjutkan dengan PEG 400. Setelah itu divortex selama 5 menit dan disonikasi selama 15 menit.



**Gambar 4.2** Cara Pembuatan Sediaan

#### 4.9 Evaluasi Sediaan

Setelah melakukan pembuatan sediaan SNEEDS dari minyak biji jintan hitam dan minyak jahe gajah, setelah itu dilakukan evaluasi untuk sediannya. Untuk evaluasi sediaan SNEEDSnya adalah uji karakteristik fisiko kimia dan stabilitas

##### 4.9.1 Uji Karakteristik Fisiko Kimia

###### 1. Uji Organoleptis

Untuk pengamatan uji organoleptisnya akan dilakukan secara visual terhadap baunya, warnanya, bentuk sediannya, dan pembentukan creaming serta pemisahan-pemisahan pada fase ditiap sediannya (Rahmadevi et al., 2020).

## 2. Uji Viskositas

Pengukuran viskositas dilakukan untuk melihat kekentalan dari sediaan SNEEDS yang dihasilkan karena pengaruh penambahan dari bahan lainnya seperti penambahan surfaktan serta pengaruh dari teknik pembuatannya. Uji viskositas dilakukan dengan menggunakan viscosimeter *Brookfield cone and plate*. Pada sediaan SNEEDS yang sudah dibuat kemudian diletakkan didalam sample cup yang tersebar merata pada permukaan cup dan harus dipastikan bebas dari gelembung. Setelah itu cup sampelnya dipasang pada alat viskometer dan dinyalakan. Dibiarkan beberapa saat sampai pembacaan alatnya stabil (Ulhaqi, 2020).

## 3. Uji pH

Untuk memastikan bahwa formulasinya memenuhi kriteria parameter pH maka dilakukan uji pH dan pengukurannya dilakukan menggunakan pH meter (Ulhaqi, 2020). Sebelum pengukuran, elektrodanya dikalibrasi terlebih dulu menggunakan larutan standard dapar pH 4 dan pH 7. Kemudian elektroda dicuci menggunakan aquadest (Rahmadevi et al., 2020). Diambil 10 ml formula SNEEDS kedalam beaker glass, kemudian masukkan elektroda kedalam formula SNEEDS lalu dicatat angka yang ditunjukkan pada pH meter (Nailufirhi, 2020); (Ulhaqi, 2020).

## 4. Waktu emulsifikasi

Waktu emulsifikasi dilakukan untuk menentukan seberapa cepat formula SNEEDS membentuk nanoemulsi (Ulhaqi, 2020). Alat yang digunakan untuk waktu emulsifikasi yaitu *magnetic stirrer*. Perhitungan waktu emulsifikasi dilakukan terhadap nanoemulsi ekstrak herbal dalam tiga media yaitu aquadest, *artificial gastric fluid* tanpa pepsin, dan *artificial intestinal fluid* tanpa pancreatin (Zakia, 2019). Sebanyak 100 $\mu$ L SNEDDS diteteskan kedalam beaker berisi 100 mL aquades, AGF (Artificial Gastrointestinal Fluid), dan AIF (Artificial Intestinal Fluid) dengan pengadukan 100 rpm. Larutan AGF dibuat dari HCL 0,1 N pH 1,2 dan AIF dapar fosfat pH 6,8. Pengamatan dilakukan secara visual dengan mengamati terbentuknya nanoemulsi yang homogen ditandai dengan SNEDDS yang

terlarut sempurna dalam media (Priani, Maulidina, et al., 2020); (Ulhaqi, 2020).

#### 5. % transmittan

Kejernihan yang diukur dalam persen Transmittan adalah salah satu kontrol terhadap pembentukan disperse dari SNEEDS. SNEEDS yang semakin jernih maka % transmittannya semakin mendekati 100% dan dapat diperkirakan tetesan emulsinya mencapai nanometer. Untuk memastikan tingkat kejernihan nanoemulsi yang akan terbentuk selanjutnya dilakukan pembacaan Transmittan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan Panjang gelombang 650 nm (Ulhaqi, 2020). Sebanyak 100 $\mu$ L SNEDDS yang telah dibuat ditambahkan kedalam 100 ml aquadest, kemudian diaduk menggunakan alat yaitu magnetic stirrer dengan pengadukan 100 rpm selama 1 menit. Kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 650 nm. Larutan blanko atau pembanding yang digunakan yaitu aquadest (Zakia, 2019).

#### 6. Ukuran partikel

Untuk mengetahui ukuran nanoemulsi dilakukan pengukuran menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA). Diambil 100 $\mu$ L sediaan SNEEDS yang ditambahkan kedalam 100 ml aquadest, lalu diaduk dengan magnetic stirrer dengan pengadukan 100 rpm selama 1 menit, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet dan di analisis ukuran tetesan dan distribusi ukurannya (Zakia, 2019).

#### 7. Zeta potensial

Zeta potensial merupakan muatan yang terdapat pada permukaan lapisan film dari suatu nanoemulsi. Zeta potensial bertujuan untuk memprediksi stabilitas disperse dan nilainya tergantung pada sifat fisiko kimianya (Imanto et al., 2019). Diambil 100 $\mu$ L SNEDDS kemudian ditambahkan kedalam 100 ml aquadest, lalu aduk menggunakan magnetic stirrer dengan pengadukan 100 rpm selama 1 menit. Kemudian diukur nilai zeta potensial menggunakan *Particle Size Analyzer*. Nilai zeta potensial  $\pm$  30 mV diyakini cukup untuk memastikan stabilitas fisik nanoemulsi (Gurpreet & Singh, 2018).

#### 4.9.2 Uji Stabilitas Sediaan

##### 1. Stabilitas Pengenceran pH

Formula SNEDDS diencerkan dalam air, simulasi cairan lambung (AGF 0,1 N HCL pH 1,2) dan simulasi cairan intestinal (AIF dapar fosfat pH 6,8 tanpa enzim). Masing-masing formula diambil sebanyak 100 $\mu$ L lalu dilarutkan pada 100 ml AGF, AIF dan aquades hingga homogen. Kemudian diukur pHnya menggunakan pH meter untuk melihat kestabilan pH SNEDDS (Winarti et al., 2016) ; (Ulhaqi, 2020).

##### 2. Stabilitas Termodinamika

Stabilitas termodinamika SNEDDS dievaluasi menggunakan uji sentrifugasi dan siklus pemanasan-pendinginan (heating cooling cycle test). Formulasi SNEDDS diencerkan kedalam 100  $\mu$ L kedalam 100ml akuades kemudian disentrifugasi selama 30 menit pada 3500 rpm. Formulasi diamati perubahan organoleptisnya (warna, bau, bentuk, pemisahan fase). Selanjutnya formula SNEDDS dilakukan siklus pemanasan-pendinginan (Heating-cooling cycle test) enam siklus pada 4°C dan 45°C selama 48 jam. Diamati perubahan fisik pada tiap siklus hingga melewati 6 siklus (Morakul, 2020).

#### 4.10 Metode Analisis

Metode analisis pada pemeriksaan karakteristik fisiko kimia yang meliputi uji organoleptis dan uji homogenitas yang akan dilakukan secara deskriptif. Analisis data pemeriksaan fisiko kimia yang meliputi uji viskositas, uji pH, ukuran partikel, zeta potensial dan % transmittan digunakan analisis statistic, pengujian statistik sendiri bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan antara formula dan hasil penelitian yang diujikan. Analisis ini dilakukan menggunakan software *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) untuk mendapatkan standar deviasi. Pengujian hipotesis dilakukan dengan *One Anova* dengan tingkat kepercayaan  $\alpha = 0,05$  untuk mengetahui perbedaan antar formula yang berbeda makna.

Hipotesis yang akan digunakan untuk karakteristik fisika kimia untuk sediaan SNEEDS minyak biji jintan hitam (MBJH) dengan kombinasi minyak jahe gajah :

H<sub>0</sub> : dari penelitian tidak adanya perbedaan bermakna antara variasi konsentrasi smix pada sediaan SNEDDS dengan stabilitas dan karakteristik fisiko kimia, H<sub>0</sub> diterima jika signifikan > 0,05.

H<sub>1</sub> : dari penelitian adalah adanya perbedaan bermakna antara variasi konsentrasi smix pada sediaan SNEDDS dengan stabilitas dan karakteristik fisiko kimia, H<sub>0</sub> diterima jika signifikan > 0,05.

