

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan minyak almond sebagai sampel pada pembuatan nanoserum yang dievaluasi mutu fisiknya dan pengaruh konsentrasi nanoserum terhadap kelembapan kulit.

B. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan November 2024 sampai Februari 2025.

1. Pengujian mutu fisik nanoemulsi dilakukan di Laboratorium Instrumen Universitas Ngudi Waluyo.
2. Penyiapan formulasi dan pengujian mutu fisik nanoserum minyak almond dilakukan di Laboratorium Teknologi Universitas Ngudi Waluyo.
3. Pengujian kelembapan nanoserum minyak almond dilakukan di Laboratorium Teknologi Universitas Ngudi Waluyo.

C. Subyek Penelitian

1. Subyek yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak almond yang diproduksi oleh PT. Tamba Sanjiwani.
2. Uji kelembapan kulit menggunakan partisipan sebanyak 15 orang yang terbagi dalam 5 kelompok perlakuan dengan masing-masing mendapat 5 perlakuan serta mempertimbangkan kriteria subyek penelitian. Penelitian ini dilakukan pada mahasiswa Universitas Ngudi Waluyo.
 - a. Kriteria inklusi
 - 1) Bersedia menjadi partisipan

- 2) Berusia 20- 25 tahun
- 3) Tidak menggunakan pelembap maupun obat topikal
- 4) Memiliki kulit dalam kondisi yang sehat

b. Kriteria eksklusi

- 1) Alergi terhadap produk penelitian

D. Definisi Penelitian

1. Minyak Almond yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari PT. Tamba Sanjiwani.
2. Nanoemulsi minyak almond memiliki ukuran partikel nano (< 100 nm), indeks polidispersitas (PdI), dan transmitan mendekati 100%.
3. Sifat fisik nanoserum meliputi organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, viskositas, sineresis dan sentrifugasi.
4. Kelembapan kulit dianalisa menggunakan *skin analyzer* dengan parameter kelembapan kulit $> 43\%$.

E. Variabel penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini yaitu konsentrasi nanoemulsi minyak almond dalam nanoserum dengan kadar 1%, 3%, dan 5%.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian adalah sifat fisik dari nanoserum minyak almond meliputi organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, viskositas, sineresis, sentrifugasi dan kelembapan kulit.

3. Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini meliputi konsentrasi bahan, proses pembuatan, dan waktu pengujian kelembapan.

F. Alat dan Bahan

1. Alat dan Bahan :

a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu neraca analitik (OHAUS), ultraturax (IKA T25), gelas ukur (Iwaki), *Stand Mixer* (IKA RW20), batang pengaduk, labu ukur 10 mL, pipet ukur (Iwaki) dan filler (D&N), gelas beker (Iwaki), botol sampel serum, spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu 1900), kuvet (Quartz Cuvetts), *Particel Size Analyzer* (Malvern Zetasizer), Viskometer brookfield (DV2T), kaca objek (One Lab), pH meter (OHAUS), sentrifuge (Gemmy 12hole), *Skin Analyzer* (CR-302), cawan porselen.

b. Bahan

Bahan pada penelitian ini yaitu minyak almond (PT. Tamba Sanjiwani) dan bahan untuk formulasi kualitas farmasetika yang terdiri dari tween 80, span 80, PEG 400, gliserin, gel *aloevera*, aquadest, benzil alkohol, HPMC dan kontrol positif (Make Over: *Hydrating Serum*).

G. Prosedur Kerja

1. Formulasi Nanoemulsi

Formulasi nanoemulsi minyak almond pada penelitian ini mengacu pada penelitian Listyorini *et al.*, (2018) yang telah di modifikasi komposisinya sebagai berikut:

Tabel 3. 1 Formula Nanoemulsi Minyak Almond

Bahan	Formula	Fungsi
Minyak Almond	5 ml	Bahan aktif
Tween 80	35 mL	Surfaktan
Span 80	1 mL	Surfaktan
PEG 400	10 mL	Kosurfaktan
Aquadest	ad 100 mL	Pelarut

Pembuatan nanoemulsi minyak almond dilakukan dengan pengukuran minyak almond sesuai dengan formulasi. Minyak almond, tween, span, PEG dimasukkan ke dalam gelas beker kemudian dihomogenkan dengan *ultraturax* selama 5 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Setelah 5 menit ditambahkan aquadest ke dalam gelas beker sedikit demi sedikit dan dihomogenkan selama 60 menit (Nurleni *et al.*, 2023; Yuliani *et al.*, 2016).

a. Uji Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas

Pengujian nanoemulsi menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) dilakukan dengan memasukkan 0,1 mL nanoemulsi dan dilarutkan dalam aquadest ad 10 mL. Lalu sediaan dimasukkan ke dalam kuvet sampai tanda batas kemudian masukkan ke dalam sampel holder, alat uji akan melakukan pengukuran sampel selama ± 15 menit. Setelah itu alat menunjukkan ukuran partikel dan kurva (Hendrika *et al.*, 2023).

b. Penentuan Persen Transmittan

Pengukuran dilakukan dengan Spektrofotometri UV-Vis, dengan cara sediaan nanoemulsi diambil 0,1 mL dan dilarutkan dalam 10 mL aquadest. Larutan dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansi pada panjang gelombang 650 nm. Blanko yang digunakan saat pengujian adalah aquadest. Persen transmittan yang baik mendekati 100% (Yuliani *et al.*, 2016).

2. Formulasi Nanoserum

Formula dan jumlah nanoemulsi minyak almond dalam pembuatan nanoserum mengacu pada penelitian (Adisty, 2024; Ojha *et al.*, 2019).

Tabel 3. 2 Formula Nanoserum Minyak Almond

Bahan	Kontrol (%)	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)	Fungsi
Nanoemulsi Minyak Almond	-	1	3	5	Pelembap
HPMC	0,8	0,8	0,8	0,8	<i>Gelling agent</i>
Gliserin	15	15	15	15	Humektan
Benzil alkohol	0,1	0,1	0,1	0,1	Pengawet
Tween 80	3	3	3	3	Emulsifier
Gel <i>aloevera</i>	30	30	30	30	Pelembap
Aquadest	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Pelarut

Pembuatan nanoserum minyak almond dimulai dengan mencampurkan HPMC dan aquadest panas sebanyak 15 mL hingga mengembang, kemudian ditambahkan gliserin, dan dihomogenkan dengan pengadukan manual. *Aloevera* gel, benzil alkohol, tween 80, dan nanoemulsi ditambahkan dalam campuran kemudian dihomogenkan menggunakan *stand mixer* dan ditambahkan aquadest hingga 100 mL secara perlahan hingga terbentuk menjadi nanoserum (Adisty, 2024; Ojha *et al.*, 2019).

a. Uji Organoleptis

Pengujian ini dilakukan dengan pengamatan pada hasil dari nanoserum yang telah dibuat. Hal yang diamati meliputi warna, bau atau aroma, tekstur dari setiap sediaan. Pengamatan dilakukan sebanyak 3 kali selama sebulan. Organoleptis dapat dinyatakan baik jika sediaan jernih atau transparan dan tidak meninggalkan rasa lengket (Rosmayanti *et al.*, 2021).

b. Uji Homogenitas

Pengujian homogenitas dilakukan dengan kaca objek sebanyak 2 buah dan sampel sebanyak 0,1 gram diletakkan diantar kedua kaca secara merata dan amati apakah terdapat pertikel yang belum tercampur atau menggumpal. Sediaan dilihat dengan pengamatan fisik dapat dikatakan homogen jika tidak terdapat gumpalan atau partikel yang belum tercampur (Rosmayanti *et al.*, 2021).

c. Uji pH

Pengukuran pH dilakukan menggunakan alat pH meter. Cara pengukuran dimulai dari melakukan kalibrasi alat pada dengan mencelupkan elektroda dalam larutan terstandar dengan pH 7 dan pH 4, setelah kalibrasi lakukan pengukuran pada nanoserum yang dibuat dengan mencelupkan elektroda pada sediaan. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan dan kemudian hitung hasil rata-rata pH memenuhi syarat atau tidak (Rosmayanti *et al.*, 2021). pH kulit wajah

berada pada rentang 4,5-6,5 dan pH sediaan topikal disarankan yaitu antara 4,5 – 8,0.

d. Uji Daya Sebar

Pengujian ini dilakukan dengan menimbang sediaan sebanyak 0,5 gram dan diletakkan pada bagian tengah kaca bulat berskala, lalu kaca ditutup dengan kaca lainnya. Selanjutnya ditambahkan beban 50 gram sampai 200 gram dan didiamkan selama 1 menit, setelah itu dilakukan pengukuran diameter sediaan. Daya sebar memenuhi standar jika memiliki rentang 5 – 7 cm (Hidayah & Hanifa, 2023).

e. Uji Daya Lekat

Pengujian ini dilakukan dengan menimbang sediaan sebanyak 0,5 gram dan diletakkan di antara 2 kaca objek kemudian kaca dijepit lalu ditimpa dengan beban 5 gram selama 5 menit. Selanjutnya dinyalakan *stopwatch* dan menurunkan beban secara bersamaan. Daya lekat dapat dikatakan baik jika dapat melekat >1 detik.

f. Uji Viskositas

Pengujian viskositas dilakukan dengan cara menuangkan sampel sebanyak 70 mL dalam gelas beaker 100 mL dan sampel diletakkan pada viskometer sampai spindel terendam kemudian spindel akan diatur dengan kecepatan 60 rpm dengan spindel nomor 4. Pengamatan dilakukan dengan melihat angka konstan yang ditunjukkan oleh viskometer dan nilai menunjukkan viskositas sediaan. Viskositas memiliki mutu fisik yang baik jika memiliki nilai 2000 – 4000 cp (Hidayah & Hanifa, 2023).

g. Uji Sentrifugasi

Setiap formula nanoserum dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi sebanyak 10 mL kemudian sampel disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Amati pemisahan fase dan pengendapan serta kekeruhan setelah dilakukan sentrifugasi (Hendrika *et al.*, 2023). Sentrifugasi dinyatakan memenuhi syarat jika tidak terdapat pemisahan dari fase minyak dan fase air.

h. Uji Sineresis

Sediaan ditimbang sebanyak 1 gram dan dimasukkan ke dalam cawan, kemudian disimpan selama 72 jam dalam lemari pendingin dengan suhu 10°C. Masing-masing sediaan ditimbang kembali setelah disimpan selama 72 jam dan dihitung kehilangan berat yang terjadi selama penyimpanan. Hasil penimbangan yang didapatkan dihitung menggunakan rumus (Haghighi & Rezaei, 2012) berikut:

$$\text{Sineresis \%} = \frac{\text{Berat awal} - \text{Berat akhir (g)}}{\text{Total berat sampel awal (g)}} \times 100\%$$

Persen sineresis dikatakan memenuhi syarat apabila memiliki nilai mendekati 0%.

i. Uji Kelembapan

Sebelum uji kelembapan dilakukan, permohonan *ethical clearance* diajukan pada tanggal 13 Februari dan disetujui pada tanggal 23 Februari. Uji kelembapan kulit dilakukan dengan cara mengukur kelembapan kulit partisipan sebelum diaplikasikan sediaan nanoserum pada punggung tangan, lengan bawah dan lengan atas sebagai kelembapan awal kulit, kemudian sediaan yang telah ditimbang

sebanyak 0,1 gram diaplikasikan pada bagian tersebut, kemudian ditunggu selama 30 menit. Lalu diukur kelembapannya menggunakan *skin analyzer*. Hasil yang muncul di *skin analyzer* dicatat kemudian dibandingkan dengan hasil sebelum menggunakan sediaan nanoserum (Suleman *et al.*, 2023).

Uji kelembapan dapat dikatakan memenuhi syarat jika hasil kelembapan setelah penggunaan nanoserum memiliki nilai >43%.

H. Analisis Data

Analisis data dilakukan setelah diperolehnya hasil pengamatan dari evaluasi mutu fisik nanoserum meliputi pH, daya sebar, daya lekat, viskositas, sentrifugasi, sineresis, dan kelembapan. Data dianalisa normalitas dengan *Shapiro-wilk* jika data <30, jika data >30 di analisa dengan *Kolmogorov-smirnov* dan homogenitas dengan *Levene test*. Jika diperoleh data normal maka dilakukan uji parametrik dengan Anova dan jika data tidak normal maka dilakukan uji non parametrik dan uji antar kelompok menggunakan *Kruskal Wallis*.

Nilai p-value dari uji Normalitas dan *Levene test* menunjukkan bahwa jika signifikansi >0,05, data dianggap normal dan homogen. Namun, jika signifikansi <0,05, data dianggap tidak normal dan tidak homogen. Sementara itu, hasil p-value dari uji ANOVA dan *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa nilai signifikansi >0,05 mengindikasikan tidak adanya perbedaan antara kelompok yang diuji, sedangkan nilai signifikansi <0,05 menunjukkan adanya perbedaan di antara kelompok tersebut.