

## BAB III TATA KERJA

### 3.1 Alat

Spektrofotometer UV-Visibel (*Genesys 10S UV-Visible Spectrophotometer*), pH-meter digital (*Mettler Toledo*), viskometer (*Brookfield LV*), timbangan analitik (*Ohaus*<sup>®</sup>), mixer IKA (*IKA*<sup>®</sup> *Ministar 20*), autoclave (*GEA*<sup>®</sup> *LS-50LJ*), climatic chamber (*Capromax*<sup>®</sup>), inkubator (*Memmert*<sup>®</sup> *IN110*), kertas perkamen, kapas, kain kassa, hot plate (*Thermo Scientific Cimarec*<sup>+</sup>), mikropipet, tip, centrifuge (*Hettich*<sup>®</sup> *EBA 20*), colony counter (*Rocker*<sup>®</sup> *Galaxy 230*), dan alat-alat gelas (*Pyrex*<sup>®</sup>).

### 3.2 Bahan

Isolat metil sinamat, asam stearat, setil alkohol, gliserin, trietanolamin, metil paraben, propil paraben, *oleum rosae*, akuades, larutan metilen biru, media NA (*Nutrient Agar*) (*Merck*<sup>®</sup>), media PDA (*Patato Dextrose Agar*) (*Merck*<sup>®</sup>), tween 80, etanol 96% pro analisis, metanol pro analisis (*Merck*<sup>®</sup>), dan NaCl 0,9%.

### 3.3 Metode Penelitian

#### 3.3.1 Penentuan Nilai SPF Isolat Metil Sinamat

Isolat metil sinamat sebanyak 500 mg dimasukkan ke dalam labu ukur dan dilarutkan dengan 100 mL etanol 96% pro analisis. Larutan sampel kemudian dibuat pengenceran dengan konsentrasi 1000 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm, dan 4000 ppm. Larutan sampel (1000 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm, 4000 ppm, dan 5000 ppm) diukur absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang 290-320 nm dengan kenaikan tiap 5 nm dan etanol 96% pro analisis digunakan sebagai larutan blanko. Perhitungan nilai SPF menggunakan persamaan oleh Mansur (1986), persamaan (3.1).

$$SPF = CF \times \sum_{320}^{290} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

Keterangan :

- EE : Spektrum efek eritema
- I : Spektrum intensitas cahaya
- Abs : Absorbansi sampel
- CF : Faktor koreksi (=10)

Nilai  $EE \times I$  konstan ditunjukkan pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Konstanta Nilai  $EE \times I$  Pada Panjang Gelombang 290-320 nm

Panjang Gelombang (nm)	$EE \times I$
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
Total	1

(Erwiyani dkk., 2021)

### 3.3.2 Formulasi Krim Tabir Surya

Tabel 3.2 Formulasi Krim Tabir Surya

Bahan	Fungsi	Konsentrasi (%)		
		F0	F1	F2
Isolat metil sinamat	Zat berkhasiat	-	0,5	0,5
Asam stearat	<i>Emulsifying agent</i>	8	8	10
Setil alkohol	<i>Emollient, stiffening agent</i>	1	1	1
Gliserin	Humektan	15	15	15
Trietanolamin (TEA)	<i>Emulsifying agent</i>	0,5	0,5	0,75
Metil paraben	Antimikroba	0,1	0,1	0,1
Propil Paraben	Antimikroba	0,05	0,05	0,05
<i>Oleum rosae</i>	Pewangi	qs	qs	qs
Akuades ad	Pelarut	100	100	100

### 3.3.3 Pembuatan Sediaan Krim Tabir Surya

Pembuatan krim tabir surya dengan cara fase minyak (asam stearat, setil alkohol, propil paraben) dilebur pada suhu 70°C di atas *hotplate* dan fase air (gliserin, trietanolamin, metil paraben, dan akuades) dipanaskan pada suhu 70°C. Fase minyak dan fase air kemudian dicampurkan sedikit demi sedikit sambil diaduk dengan *mixer IKA* dengan kecepatan 1000 rpm selama 15 menit. Sisa akuades ditambahkan dan diaduk sampai homogen. *Oleum rosae* dimasukkan ke dalam campuran dan diaduk sampai homogen. Isolat metil sinamat ditambahkan ke dalam krim dan diaduk sampai homogen (Bas Baskara dkk., 2020; Hasniar dkk., 2015; Magdalena dkk., 2016).

### 3.3.4 Penentuan Nilai SPF Krim Tabir Surya

Krim tabir surya sebanyak 100 mg dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan dengan etanol 96% pro analisis sampai mencapai tanda batas. Larutan sampel diambil sebanyak 1 mL, kemudian diukur

absorbansinya dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Visibel tiap 5 nm pada rentang panjang gelombang 290-320 nm. Blanko yang digunakan yaitu etanol 96% pro analisis (Erwiyani dkk., 2021). Perhitungan nilai SPF menggunakan persamaan oleh Mansur (1986).

### 3.3.5 Parameter Pengujian Sifat Fisik Sediaan Krim

#### 1. Uji Organoleptis

Pemeriksaan dilakukan terhadap bentuk, bau, dan warna. Krim tabir surya sebanyak 0,5 gram diambil kemudian dilakukan pemeriksaan secara visual dengan dilihat bentuk, warna, dan dibau. Organoleptis sediaan krim tabir surya diamati pada hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28 (Wikantyasning & Indianie, 2021).

#### 2. Uji pH

Pemeriksaan pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi sebelumnya menggunakan larutan dapar pH 4,0, pH 7,0, dan pH 9,0. Pengukuran pH dilakukan dengan cara mencelupkan pH meter ke sediaan krim tabir surya (Wikantyasning & Indianie, 2021). pH sediaan krim tabir surya diamati pada hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28. Menurut SNI 16-4399-1996 syarat pH krim tabir surya yaitu 4,5-8.

#### 3. Uji Homogenitas

Homogenitas krim dievaluasi dengan mengoleskan sediaan pada permukaan kaca objek kemudian disebar dengan bantuan kaca objek yang lain untuk mendapatkan permukaan yang homogen (menyatu dan tidak kasar) (Jumsurizal dkk., 2019). Sediaan dinyatakan homogen apabila memiliki warna dan tekstur yang merata serta tidak menggumpal (Wardani dkk., 2021). Homogenitas sediaan krim tabir surya diamati pada hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28.

#### 4. Uji Viskositas

Penentuan nilai viskositas dilakukan untuk mengetahui tingkat kekentalan krim. Pengukuran dilakukan dengan alat viskometer *Brookfield* dengan menggunakan spindle no.4 pada kecepatan 6 dan 12 rpm (Wardani dkk., 2021). Viskositas standar krim menurut SNI adalah 2.000 – 50.000 cps (Murdiana dkk., 2022). Viskositas sediaan krim tabir surya diamati pada hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28.

#### 5. Uji Daya Sebar

Krim tabir surya sebanyak 1 gram diletakkan pada alat uji daya sebar dan daya lekat, kemudian ditambahkan beban 250 gram. Kemudian dibiarkan selama 1 menit lalu diukur diameter krim yang menyebar. Percobaan diulang sebanyak tiga kali dan dihitung rata-ratanya. Standar daya sebar krim yang baik yaitu 5 cm – 7 cm

(Artanti & Fara, 2022). Daya sebar sediaan krim tabir surya diamati pada hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28.

6. Uji Daya Lekat

Krim tabir surya sebanyak 1 gram diletakkan pada alat uji daya sebar dan daya lekat, kemudian ditambahkan beban 250 gram. Kemudian dibiarkan selama 3 menit lalu diukur diameter krim yang menyebar. Sediaan krim yang baik memiliki daya lekat lebih dari 4 detik (Wardani dkk., 2021). Daya lekat sediaan krim tabir surya diamati pada hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28.

7. Uji Tipe Emulsi Krim

Krim tabir surya diletakkan sedikit dikaca objek kemudian ditetesi beberapa tetes larutan metilen biru. Dispersi warna biru secara keseluruhan pada emulsi maka tipe emulsinya O/W sebaliknya jika warna biru tidak terdispersi seluruhnya maka tipe emulsinya tipe W/O (Jumsurizal dkk., 2019). Tipe emulsi sediaan krim tabir surya diamati pada hari ke 0, 7, 14, 21, dan 28.

### 3.3.6 Uji Stabilitas Krim

Uji stabilitas dilakukan pada kondisi berbeda yang ditunjukkan untuk melihat adanya perubahan pada kondisi penyimpanan tersebut. Dalam uji ini sampel disimpan dalam *climatic chamber* pada suhu  $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  dengan kelembapan relatif (RH)  $75\% \pm 5\%$  selama periode 3 bulan (Lestari, 2017). Sediaan dilakukan uji penetapan kadar metil sinamat pada bulan ke 0, 1, 2, dan 3.

Penetapan kadar metil sinamat pada sediaan krim tabir surya dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Visibel. Penetapan kadar dilakukan dengan cara krim tabir surya ditimbang sebanyak 200 mg, kemudian dilarutkan dengan metanol pro analisis sampai 10 mL, dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Visibel pada panjang gelombang maksimum 261 nm dan dihitung kadarnya (Annisa, 2017).

### 3.3.7 Uji Angka Lempeng Total dan Angka Kapang Khamir Krim Tabir Surya

1. Persiapan Pengujian

a. Sterilisasi Alat

Tabung reaksi dan gelas erlenmeyer ditutup dengan kapas yang dibungkus dengan kain kassa dan cawan petri dibungkus dengan menggunakan kertas, selanjutnya disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit (Rachman, 2019).

b. Pembuatan Media

1) Media NA (*Nutrient Agar*)

Media NA dibuat dengan cara di timbang sebanyak 2 gram. Kemudian ditambahkan akuades sebanyak 100 mL, larutan tersebut kemudian dipanaskan diatas *hot plate* dan diaduk hingga homogen. Selanjutnya disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Media dituang ke dalam cawan petri secara aseptis, lalu dibiarkan di suhu ruangan hingga media memadat (Juariah & Tiana, 2021).

2) Media PDA (*Potato Dextrose Agar*)

Media PDA sebanyak 2,25 gram disuspensikan ke dalam 100 mL air suling, kemudian dipanaskan pada penangas air dan disterilkan pada autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit (Rachman, 2019).

c. Penyiapan Sampel

Diambil sampel krim tabir surya sebanyak 1 gram secara aseptis dan dimasukkan ke dalam botol pengencer steril. Ditambahkan 1 mL tween 80 steril lalu diaduk sampai homogen, kemudian ditambahkan NaCl 0,9% sampai 10 mL sehingga diperoleh pengenceran  $10^{-1}$  kemudian pengenceran dilanjutkan dengan mengambil 1 mL hasil pengenceran  $10^{-1}$  dimasukkan ke dalam botol pengencer yang berisi 9 mL air NaCl 0.9%, sehingga diperoleh pengenceran  $10^{-2}$ , dibuat hingga pengenceran  $10^{-5}$  (Kristantri dkk., 2022; Rachman, 2019).

2. Pengujian Terhadap Mikroba

a. Uji Angka Lempeng Total secara SPC (*Standard Plate Count*)

Dari sampel pengenceran  $10^{-1}$  dan  $10^{-2}$  dipipet sebanyak 1 mL, lalu dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah disterilkan dengan metode tuang. Ke dalam masing-masing cawan petri di tuang *Medium Nutrien Agar* (NA) sebanyak 10 mL, kemudian dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Setelah padat diinkubasikan dalam inkubator pada suhu 37°C selama  $1 \times 24$  jam. Diamati ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh serta dihitung jumlahnya (Rachman, 2019). Batas cemaran mikroba angka lempeng total yaitu tidak lebih dari  $10^3$  koloni/g atau koloni/mL (BPOM, 2019).

- b. Uji Kapang Khamir secara SPC (*Standard Plate Count*)  
Dari sampel pengenceran  $10^{-1}$  dan  $10^{-2}$  dipipet sebanyak 1 mL, lalu dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah disterilkan dengan metode tuang. Ke dalam masing-masing cawan petri dituang *Medium Potato Dekstrosa Agar* (PDA) sebanyak 10 mL kemudian dihomogenkan dan dibiarkan memadat. Setelah padat diinkubasikan dengan posisi terbalik pada suhu kamar selama  $3 \times 24$  jam. Diamati ada tidaknya koloni kapang yang tumbuh serta dihitung jumlah koloni tiap gramnya (Rachman, 2019). Batas cemaran mikroba angka kapang dan khamir yaitu tidak lebih dari  $10^3$  koloni/g atau koloni/mL (BPOM, 2019).