

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Desain penelitian memakai desain studi kasus satu kali pra-eksperimen. Studi kasus satu kali jenis penelitian pra-eksperimen bertujuan untuk menunjukkan kemampuan pengukuran dan nilai ilmiah dari desain penelitian. Sampel dimana digunakan ialah kolagen hasil pemanfaatan limbah sisik ikan bandeng dimana dibuat empat kelompok variasi formula essence yang dibandingkan dengan satu kelompok kontrol memakai kolagen komersial, kelima kelompok kemudian diperiksa kualitasnya meliputi uji organoleptik, uji viskositas, uji pH, uji homogenitas.

Variabel dimana digunakan pada penelitian ini terdiri dari dua variabel yang meliputi variabel bebas yakni tiga jenis konsentrasi kolagen sisik bandeng dan variabel terikat antara lain uji sensoris, uji pH, uji viskositas dan uji keseragaman.

3.2 Waktu dan Tempat penelitian

Penelitian dilakukan selama tiga bulan di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang Jl pada tahun 2021. Ronggo Waluyo Sirnabaya, Puseurjaya, Kecamatan Telukjambe Timur, Kabupaten Karawang, Jawa Barat.

3.3 Bahan dan Alat dimana digunakan

3.3.1 Bahan

Kolagen sisik ikan bandeng yang diambil dari industri rumahan makananolahan bandeng wilayah hilir kabupaten Karawang, *Pure Hydrolyzed Bovine Collagen Peptides*, Kolagen sisik bandeng , NaOH (PT Asahimas Subentra Chemical), Asam Asetat (PT Indo Acidatama), NaCl(PT.Karya daya syafarmasi), Tween 80 (PT. Insoclay Acidatama Indonesia), Gliserin (PT. Sinar mas Argo),PEG 400 (PT. Insoclay Acidatama Indonesia), Propilenglikol (PT. Karyamitra), Xanthan Gum (PT. Samiraschem), Sodium Benzoat (PT Graha jaya Pratama), Metil Paraben (PT.Bratacho),Propil Paraben (PT.Bratacho), Sodium Metabisulfite (PT.Garuda mas Lestari), Na₂EDTA(PT.Bratacho),Aquadest (PT.Bratacho)

3.3.2 Alat

Timbangan Elektrik (Shimadzu), Viskometer Brookfield (Brookfield ametek), pH Meter (Ohaus benchtop starter 3100), Neraca Analitik (Ohaus) Alat gelas (Pyrex), Cawan Porselen, Waterbath (Mettler) Freeze Dryer (Vako-2)

3.4 Variabel Penelitian

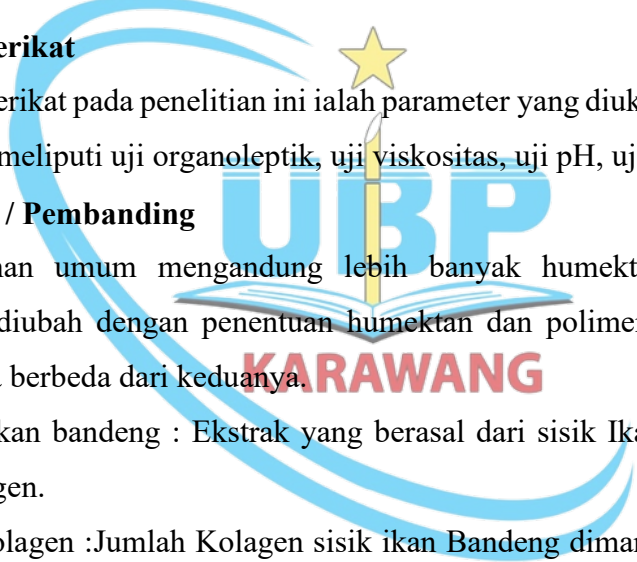
3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas yang terlibat pada penelitian ini ialah variasi konsentrasi kolagen sisik ikan bandeng pada formula essence. Terdiri dari 3 formula essence kolagen sisik ikan bandeng F1 mengandung kolagen 1%, F2 mengandung kolagen 3%, F3 mengandung 5% dan F0 sebagai formula kontrol dengan kolagen komersial *PureHydrolyzed Bovine Collagen Peptides*.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini ialah parameter yang diukur untuk uji kualitas formulasi seperti meliputi uji organoleptik, uji viskositas, uji pH, uji homogenitas.

3.4.3 Parameter / Pembanding

- 
- a. Essence: Susunan umum mengandung lebih banyak humektan daripada salep. Permukaan bisa diubah dengan penentuan humektan dan polimer pelarut air seperti campuran dimana berbeda dari keduanya.
 - b. Kolagen sisik ikan bandeng : Ekstrak yang berasal dari sisik Ikan Bandeng dengan Kandungan Kolagen.
 - c. Konsentrasi Kolagen : Jumlah Kolagen sisik ikan Bandeng dimana digunakan dalam setiap Formula dimana dinyatakan dalam satuan %. Konsentrasi kolagen divariasikan dalam penelitian.
 - d. Organoleptik: Parameter dimana di evaluasi secara visual pada penelitian ini meliputi warna, bau dan bentuk, (semi transparan, wangi dan cair).
 - e. pH: Sediaan yang dihasilkan harus sesuai dengan pH fisiologis kulit yakni 6,5-8
 - f. Viskositas: Tahanan sediaan bisa mengalir.
 - g. Homogenitas: tidak adanya butiran kasar.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Tahap Persiapan Bahan Baku

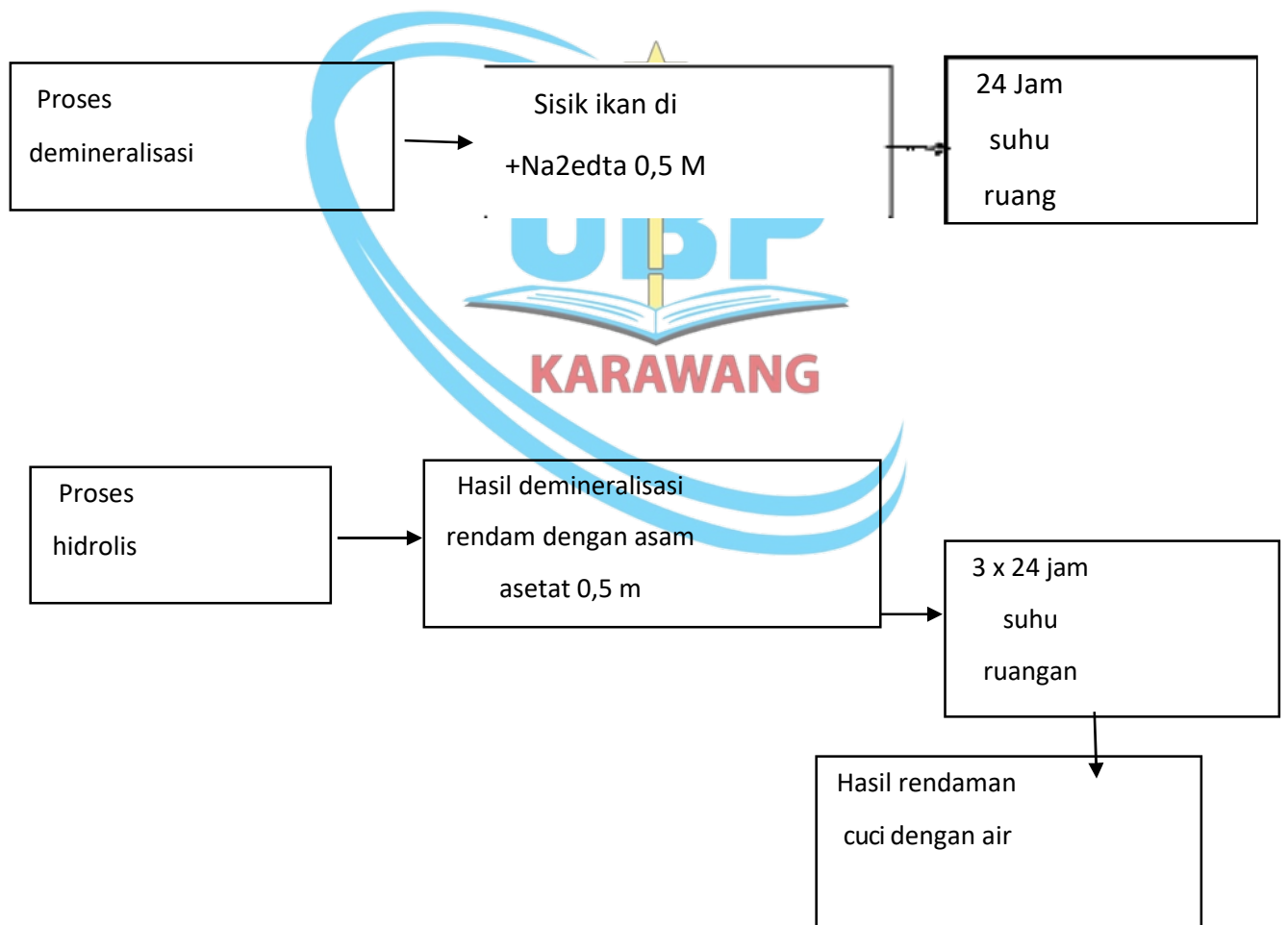
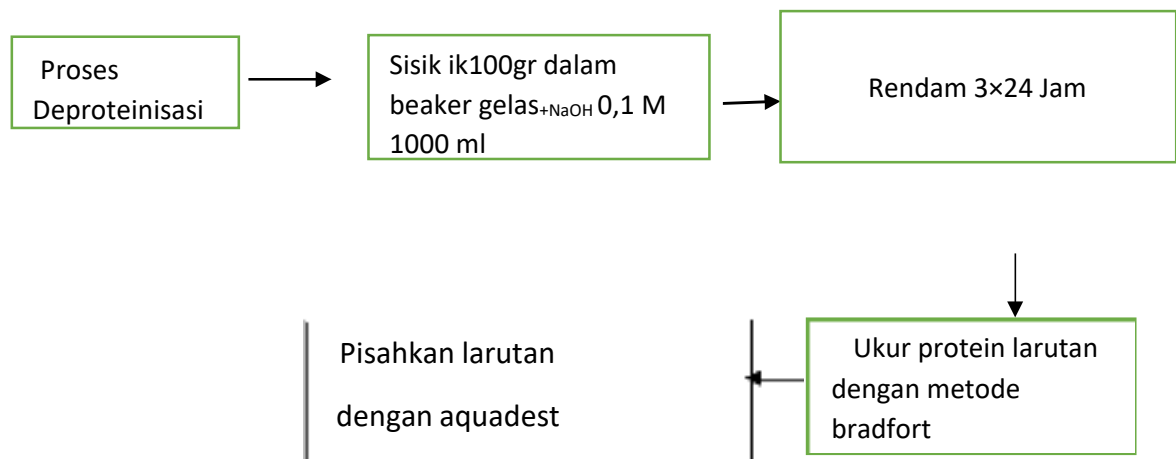
Bahan baku pembuatan kolagen yakni sisik ikan bandeng diambil secara purposive sampling di sekitar home industri olahan bandeng di kawasan hilir Kabupaten Karawang, sisik ikan dimana telah disiapkan dibersihkan memakai air bersih sampai sisik ikan bersih dari kotoran seperti pasir atau lendir sisik, setelah dibersihkan, sisik ikan di keringkan memakai *freeze dryer*.



Gambar 3 Diagram alir bahan baku

3.5.1 Pra perlakuan Sisik Ikan (Modifikasi Cui *et al.*, 2007; Chuaychan *et al.*, 2015) Pra perlakuan sisik ikan sebelum ekstraksi dilakukan melalui tiga tahap yakni deproteinisasi, demineralisasi, dan hidrolisis. Sisik ikan dimana telah kering ditimbang sebanyak 100 gram dan dimasukkan ke dalam wadah kaca 1000 mL. Sebanyak 1000 mL NaOH 0,1 M ditempatkan ke dalam wadah kaca berisi 100 g sisik ikan, susunan NaOH 0,1 M dipakai untuk deproteinisasi untuk menghilangkan protein non-kolagen dimana terkandung dalam sisik ikan. Sisik ikan disiram selama 3 x 24 jam pada suhu kamar, setiap hari larutan NaOH diganti baru, larutan perendaman NaOH diukur protein terlarutnya dengan metode Bradford (1976). Kemudian sisik ikan dipisahkan dari larutan NaOH dan dicuci memakai aquades hingga pH netral. Demineralisasi sisik ikan dilakukan memakai Na₂EDTA 0,5 M dengan rasio 10% (b/v) selama 24 jam pada suhu ruang.

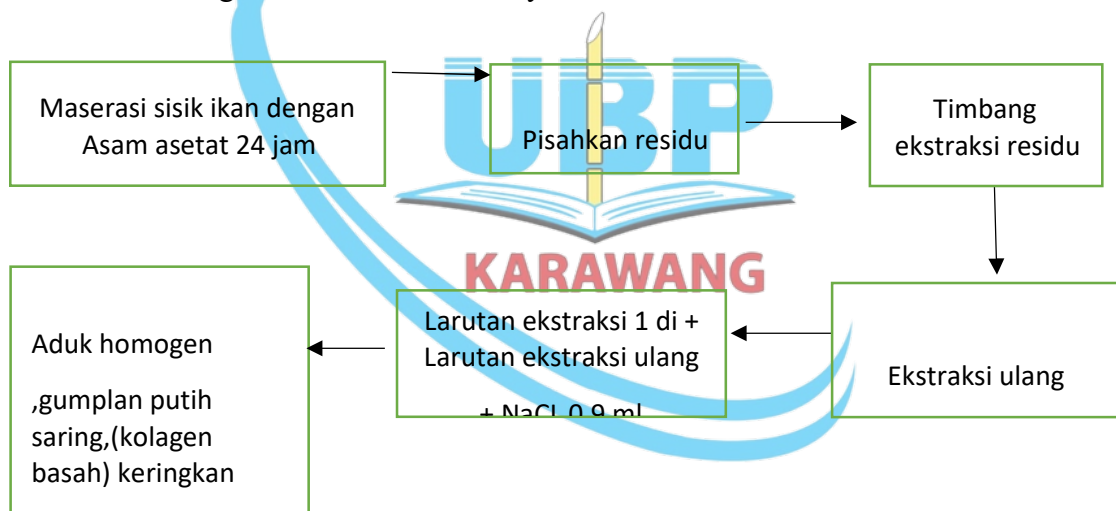
Sisik ikan hasil demineralisasi dilanjutkan proses hidrolisis dengan cara direndam dalam larutan asam asetat (CH₃COOH) 0,5 M dengan rasio 10% (b/v) selama 3 x 24 jam pada suhu ruang. Sisik ikan hasil perendaman dicuci dengan air mengalir sampai pH nonpartisan sebelum dilanjutkan ke tahap ekstraksi.



Gambar 4 Diagram alir pra perlakuan bahan baku

3.5.2 Proses Ekstraksi Kolagen (Modifikasi Cui *et al.*, 2007)

Sisik ikan di maserasi pada suhu ruang memakai asam asetat 3 M dengan perbandingan berat sisik ikan dan volume asam asetat yakni 1:8 (b/v). Waktu maserasi ialah 24 jam, setelah itu susunan konsentrat kemudian diisolasi dari penumpukan. Penumpukan ekstraksi kemudian ditimbang untuk ekstraksi ulang untuk memperoleh hasil yang paling ekstrim dalam kondisi yang sama. Susunan konsentrat dimana didapat dari ekstraksi ulang kemudian digabungkan dengan susunan konsentrat dari ekstraksi primer. Susunan konsentrat dimana didapat ditambahkan dengan susunan NaCl 0,9 M (salting out). Kemudian, kemudian susunan tersebut diblender hingga homogen dan ketidakteraturan putih terbingkai dalam susunan tersebut, kemudian, pada saat itu, dipisahkan memakai kertas saluran, endapan dimana terbentuk ialah kolagen basah dan kemudian dikeringkan memakai freeze dryer.



Gambar 5 Diagram alir ekstraksi kolagen

3.5.3 Menghitung Rendemen Kolagen (Modifikasi Ramdhani, 2016)

Menimbang berat kolagen kering kemudian di hitung memakai rumus:

$$\% = \frac{\text{berat kolagen kering}}{\text{berat bahan baku}} \times 100 \%$$

3.5.4 Analisa Proksimat (AOAC, 2005)

Perkiraan assay ialah untuk menentukan komposisi kimia bahan dimana dilakukan, termasuk analisis kadar air, abu, kandungan protein, referensi AOAC 2005, berikut analisis perkiraan program:

1. Uji Kadar Air (AOAC, 2005)

Cawan kosong ditimbang memakai timbangan analitik kemudian dimasukan sampel kolagen kedalam cawan kosong sebanyak 1 g dan timbang, Sejak saat itu, cawan ditimbang dengan kolagen dan dimasukkan ke dalam kompor pada suhu 105°C selama 5 jam sampai beratnya konsisten. Setelah dimasukkan ke dalam kompor, cawan dimasukkan ke dalam desikator selama 1 jam dan kemudian ditimbang. Dihitung kadar air pada kolagen dengan rumus berikut ini :

$$\% = \frac{1 - 2}{\quad} \times 100 \%$$

Keterangan :

B = Berat sampel (g)

B1 = Berat (sampel + cawan) sebelum dikeringkan (g)

B2 = Berat (sampel + cawan) setelah dikeringkan (g)

2. Uji Kadar Abu (AOAC, 2005)

Cawan pengabuan dikeringkan di dalam broiler selama 1 jam pada suhu 60°C, kemudian didinginkan selama 15 menit dalam desikator dan ditimbang hingga didapat bobot tetap. Agregat 5 g tes kolagen kering ditempatkan ke dalam piring abu. Cawan dimana berisi contoh dibakar di atas oven listrik sampai tidak berasap dan ditempatkan dalam pemanas pengabuan pada suhu 600°C selama 60 menit. Cawan tersebut kemudian ditempatkan dalam desikator dan kemudian diukur.

$$\% = \frac{\quad}{\quad} 100 \%$$

Keterangan :

A = Berat cawan abu kosong (g)

B = Berat cawan abu + sampel setelah dikeringkan (g)

C = Berat sampel (g)

3. Uji pH

Sampel 1 gram ditimbang dan dilarutkan dalam air pada suhu 80 dan kemudian ditambahkan air hingga 100 ml. PH diperkirakan pada suhu 25 memakai pH meter dimana telah disejajarkan terlebih dahulu. (Tazwir.2007)

3.5.5 Formula essence (Modifikasi Wikantyasning *et al*, 2019)

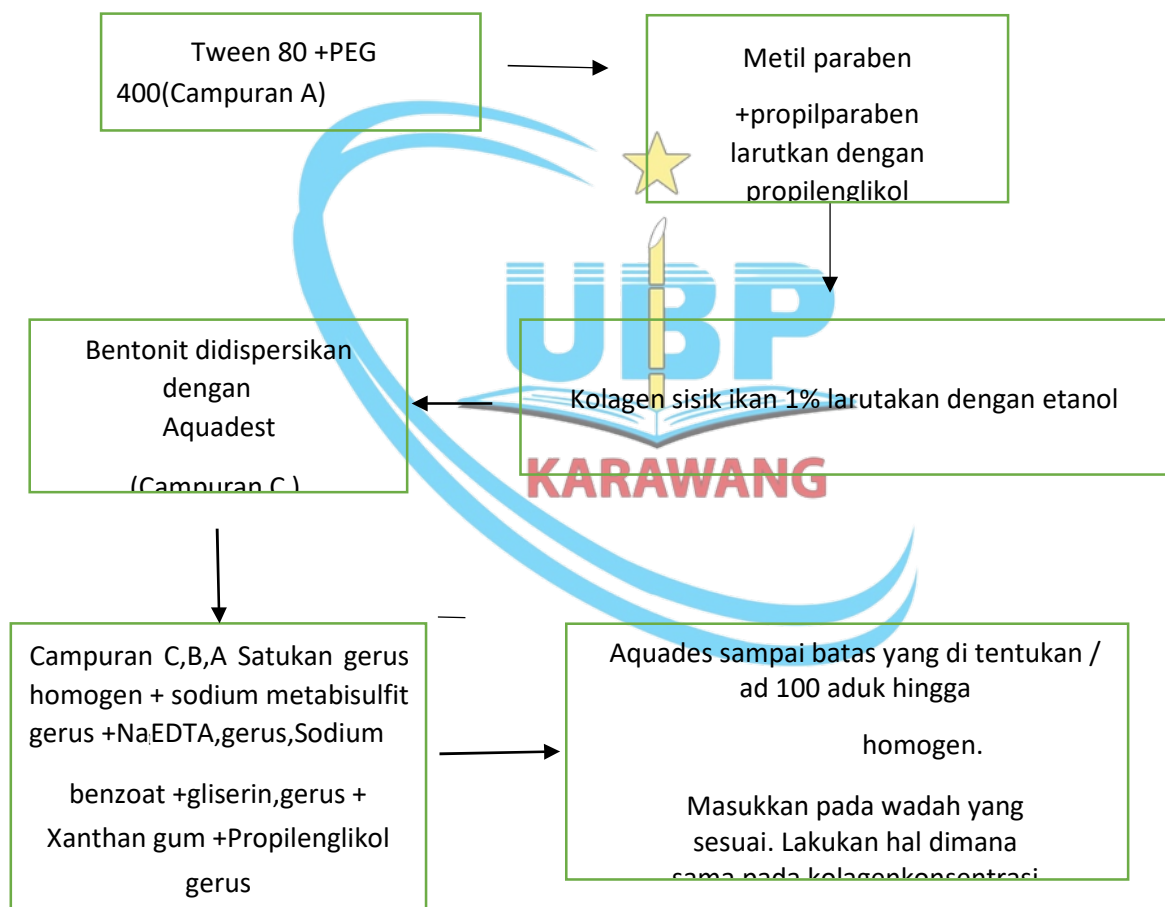
Konsentrasi kolagen sisik ikan bandeng dimana digunakan ialah F1 mengandung kolagen 1 g b/v, F2 mengandung kolagen 3 g b/v, F3 mengandung 5 g b/v, F0 ialah formula kontrol dengan memakai kolagen komersial yakni *Pure Hydrolyzed Bovine Collagen Peptides* sebanyak 2 g, berikut ini ialah formula lengkap dari essence

Tabel 3 Formulasi Essence

Bahan	Bobot (g)				Fungsi
	F0	F1	F2	F3	
<i>Pure Hydrolyzed2 Bovine Collagen Peptides</i>					Kolagen (kontrol)
Kolagen sisik ikan bandeng	-	1	3	5	Kolagen (Uji)
PEG 400 (gr)	1	1	1	1	Emulsifer
Tween 80 (gr)	10	10	10	10	Pengemulsi
Gliserin (gr)	5	5	5	5	Emolient
Propilenglikol (gr)	5	5	5	5	Pelarut
Xanthan Gum	0,3	0,3	0,3	0,3	Pengental
Sodium Benzoat (gr)	0,5	0,5	0,5	0,5	Pengawet
Metil Paraben (gr)	0,18	0,18	0,18	0,18	Anti jamur
Propil Paraben (gr)	0,02	0,02	0,02	0,02	Anti mikroba
Sodium Metabisulfit (g)	0,1	0,1	0,1	0,1	Anti oksidan
Na ₂ EDTA (g)	0,1	0,1	0,1	0,1	Agen pengkelat
Parfume	Qs	qs	qs	qs	Pewangi
Aquades	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Pelarut
	100				

Prosedur Pembuatan essence :

Esens dibuat dengan memadukan Tween 80 dan Stake 400 sebagai kombinasi A. Metil paraben dan propil paraben dipecah dalam propilen glikol (kombinasi B). Kolagen sisik bandeng pertama kali dipecah dalam etanol 70%. Bentonit dihamburkan dalam air sulingan sebagai kombinasi C. Kombinasi B dan C dicampur ke dalam campuran A dimana kemudian ditambahkan dengan bahan pengikat dimana berbeda seperti yang ditunjukkan oleh tabel di atas. Pemuain air sulingan dilakukan hingga mencapai beban 100 gram, kemudian diaduk hingga homogen.

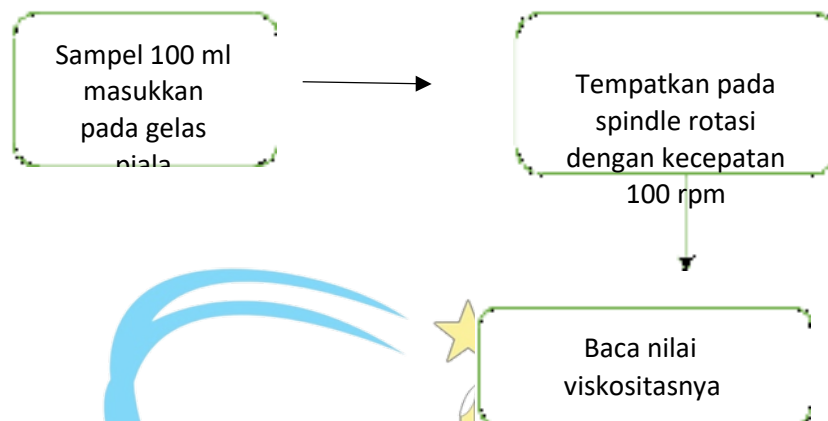


Gambar 6 Diagram alir pembuatan Essence

3.6 Pengujian Kualitas

3.6.1 Uji Viskositas

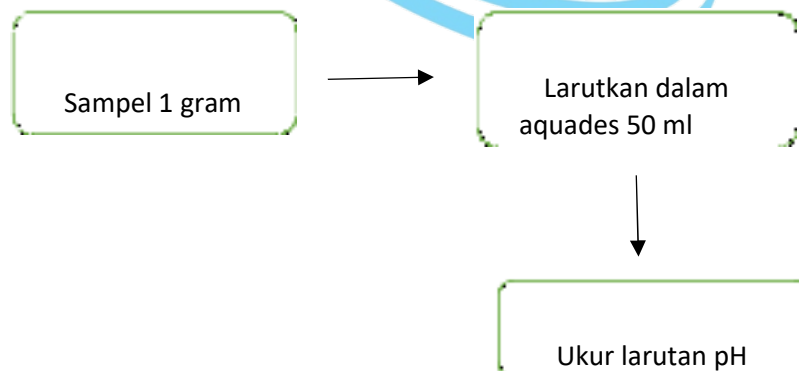
Estimasi ketebalan diselesaikan memakai viskometer Brookfield. Pengujian diambil 100 ml dan dimasukkan ke dalam wadah dan diletakkan pada poros putar dibandingkan dengan kecepatan 100 rpm sampai estimasi ketergantungan tercapai. Ketebalan contoh bisa dikontrol secara langsung dengan meneliti nilai yang ditunjukkan oleh instrumen dalam cps. unit



Gambar 7 Diagram alir Uji Viskositas

3.6.2 Uji PH (AOAC, 2005)

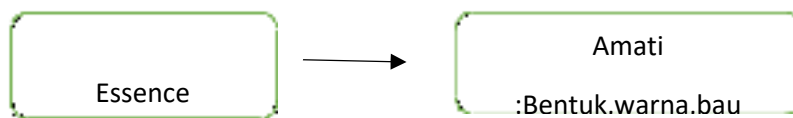
Sampel kolagen sebanyak 1 g dilarutkan dalam 50 ml aquadest dan diaduk hingga homogen. pH larutan diukur memakai pH



Gambar 8 Diagram alir uji pH

3.6.3 uji organoleptik

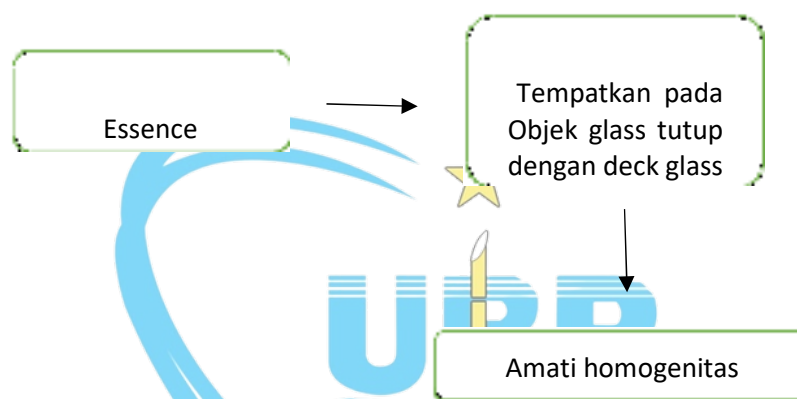
Essence di uji dengan cara melihat tampilan fisik sediaan Essence, di lakukan dengan panca indera .komponen dimana di evaluasi meliputi: bau, warna, tekstur sediaan



Gambar 9 Diagram alir uji Organoleptik

3.6.4 Uji Homogenitas

Mengoleskan sedikit essence diatas objek glass kemudian menutup dengan deck glass mengamati homogenitas essence.



Gambar 10 Diagram alir Uji homogenitas

3.7 Analisis Data

Data dimana didapat diselidiki dengan pemeriksaan perubahan (ANOVA) dan dengan asumsi ada perbedaan besar, dilanjutkan dengan Uji Jangkauan Berbeda Duncan (DMRT) pada tingkat kepastian 95%. Data ditampilkan pada bentuk mean, standar deviasi, tabel, dan grafik.

3.8 Cara Penafsiran

Perbandingan konsentrasi kolagen

H0: Tidak terdapat pengaruh dimana signifikan antara konsentrasi kolagen sisik ikanbandeng terhadap hasil uji kualitas formula essence

H1: Terdapat pengaruh dimana signifikan antara konsentrasi kolagen sisik ikanbandeng terhadap hasil uji kualitas formula essence

3.9 Cara Menyimpulkan data

1. Perbandingan konsentrasi asam asetat

$F_{hit} > F_{tab} \rightarrow$ Tolak H_0 Interpretasinya:

Ada perbedaan yang nyata antar perlakuan konsentrasi kolagen sisik ikan bande

