

**OPTIMASI ASAM STEARAT DAN TRIETANOLAMIN  
DALAM FORMULA KRIM ISOLAT KOLAGEN DARI TULANG DAN  
KULIT BELUT SAWAH (*Monopterus albus*) MENGGUNAKAN  
SIMPLEX LATTICE DESIGN**

(Optimization of the Proportion of Stearic Acid and Triethanolamine in the  
Collagen Isolate Cream Formula From Bone and Skin Asian Swamp Eel  
(*Monopterus albus*) Using the Simplex Lattice Design Method)

**SKRIPSI**



Oleh :  
**ARRAHMATUS SYAHIDAH**  
**4161005**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI**  
**SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL**  
**SURAKARTA**  
**2020**

**OPTIMASI ASAM STEARAT DAN TRIETANOLAMIN DALAM FORMULA  
KRIM ISOLAT KOLAGEN DARI TULANG DAN KULIT BELUT SAWAH  
(*Monopterus albus*) MENGGUNAKAN SIMPLEX LATTICE DESIGN**

Optimization of the Proportion of Stearic Acid and Triethanolamine in the  
Collagen Isolate Cream Formula From Bone and Skin Asian Swamp Eel  
(*Monopterus albus*) Using the Simplex Lattice Design Method

**SKRIPSI**

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana  
Farmasi (S.Farm) pada Program Studi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu  
Kesehatan Nasional di Surakarta**

**Oleh:**

**ARRAHMATUS SYAHIDAH**

**4161005**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN NASIONAL  
SURAKARTA  
2020**

SKRIPSI

**OPTIMASI ASAM STEARAT DAN TRIETANOLAMIN DALAM  
FORMULA KRIM ISOLAT KOLAGEN DARI TULANG DAN KULIT  
BELUT SAWAH (*Monopterus albus*) MENGGUNAKAN SIMPLEX  
LATTICE DESIGN**

Optimization of the Proportion of Stearic Acid and Triethanolamine in the  
Collagen Isolate Cream Formula From Bone and Skin Asian Swamp Eel  
(*Monopterus albus*) Using the Simplex Lattice Design Method

Oleh :

**ARRAHMATUS SYAHIDAH**  
**4161005**

Dipertahankan di hadapan Penguji Skripsi Program Studi S1 Farmasi Sekolah  
Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Pada tanggal: 1 September 2020

**Pembimbing Utama**

apt. Dian Puspitasari, S. Farm., M. Sc.

**Pembimbing Pendamping**

apt. Disa Andriani, S. Farm., M. Sc.

Mengetahui,

Program Studi S1 Farmasi

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional

**Ketua Program Studi,**

apt. Lusia Murtisiwi, S. Farm., M. Sc.

**Tim Penguji**

Ketua : apt. Diah Pratimasari, M. Farm.

**Anggota :**

1. apt. Dwi Saryanti, S. Farm., M. Sc.

2. apt. Dian Puspitasari, S. Farm., M. Sc.

3. apt. Disa Andriani, S. Farm., M. Sc.

## **HALAMAN PERSEMBAHAN**

Dengan Menyebut Nama Allah SWT  
Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang  
“Janganlah kamu bersedih hati, Sesungguhnya Allah bersama kita”  
(Q.S At Taubah : 40)

Karya ini saya persembahkan kepada  
Ibu dan almarhum bapak saya Tercinta  
Kakak dan adik-adik ku yang aku sayangi

## HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, 13 Agustus 2020

Peneliti



(Arrahmatus Syahidah)

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas karunia dan segala nikmat yang telah dilimpahkan-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul “Optimasi Asam Stearat Dan Trietanolamin Dalam Formula Krim Isolat Kolagen Dari Tulang Dan Kulit Belut Sawah (*Monopterus albus*) Menggunakan *Simplex Lattice Design*”.

Laporan ini disusun sebagai syarat untuk menyelesaikan Program Pendidikan Sarjana di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional Sukoharjo.

Pada kesempatan ini perkenankan saya selaku penulis menyampaikan rasa terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu menyelesaikan Skripsi ini. Ucapan terimakasih penulis kepada:

1. apt. Bapak Hartono M.Sc. selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
2. apt. Ibu Lusia Murtisiwi S.Farm., M.Sc. selaku ketua prodi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional.
3. apt. Ibu Dian Puspitasari, S. Farm., M. Sc. selaku pembimbing utama yang telah memberikan nasehat, dukungan, semangat dan masukan kepada penulis demi kesempurnaan skripsi ini.
4. apt. Disa Andriani, S. Farm., M. Sc. selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan nasehat, dukungan, semangat dan masukan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
5. apt. Diah pratimasari, M.Farm. dan apt. Dwi Saryanti, S.Farm., M.Sc. selaku tim penguji yang telah meluangkan waktu sehingga pengujian skripsi bisa terlaksana dan memberikan saran dan masukan.
6. Almarhum ayah yang sudah berada disurga, ibu, kakak dan adik-adik, terima kasih untuk kasih sayang, perhatian, doa dan dukungan yang kalian berikan.
7. Sahabat-sahabat saya Cindy Puspitasari, Islely Puspitarini, Hanifah Fajar Rahmadani, Safina Maulany, Zumika yang selalu memberikan semangat, nasehat, dan dukungan dalam mengerjakan penelitian ini.
8. Dhea Ayu dan Feransiska yang sudah menemani tangis, tawa dan berjuang bersama-sama menyelesaikan penelitian ini.
9. Hangga, Criste, Risky, Garnes yang sudah ikut membantu dalam proses penelitian ini.
10. Teman-teman S1 Farmasi angkatan 2016, dan semua pihak yang membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

11. Staf dan Karyawan Program Studi S1 Farmasi STIKES Nasional, Laboran-laboran yang telah membantu pelaksanaan praktikum dalam proses skripsi.
12. Pihak-pihak yang telah memberikan dukungan dan bantuan, baik moral maupun material.

Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan penelitian, ilmu pengetahuan maupun dunia medis. Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Surakarta, 13 Agustus 2020

PENULIS

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>MOTTO</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	v
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xixii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiii
<b>INTISARI</b> .....	xxivv
<b>ABSTRACT</b> .....	xv
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	4
C. Tujuan .....	4
D. Manfaat .....	5
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
A. Belut ( <i>Monopterus albus</i> ).....	6
B. Kolagen .....	7
C. Kulit .....	10



D. Krim .....	11
E. Basis Dalam Sediaan Semipadat .....	13
F. Uraian Bahan.....	14
G. Metode Simplex Lattice Design.....	17
H. Landasan Teori.....	18
I. Hipotesis.....	19
J. Kerangka Konsep Penelitian .....	20
<b>BAB III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>21</b>
A. Desain Penelitian.....	21
B. Alat dan Bahan.....	21
C. Variabel Penelitian .....	22
D. Definisi Operasional.....	22
E. Prosedur Penelitian.....	23
1. Isolasi kolagen .....	23
2. Uji Kualitatif Isolat Kolagen.....	24
3. Pembuatan sediaan krim.....	25
4. Uji fisik sediaan krim .....	26
5. Penentuan Formula Optimum .....	27
6. Verifikasi respon simplex lattice design.....	28
7. Uji fisik formula optimum.....	28
F. Analisa Data .....	31
G. Alur Penelitian .....	32
<b>BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>33</b>

A. Isolasi Kolagen.....	33
B. Uji Kualitatif Kolagen.....	35
C. Pembuatan Krim.....	39
D. Uji Sifat Fisik Sediaan .....	41
1. Uji viskositas .....	41
2. Daya Lekat .....	42
3. Uji Daya Sebar .....	44
4. Uji Daya Proteksi .....	46
E. Penentuan Formula Optimum Berdasarkan Simplex Lattice Design .....	48
F. Pembuatan Krim Formula Optimum.....	50
G. Uji Sifat Fisik Formula Optimum .....	52
H. Verifikasi Formula Optimum.....	52
<b>BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>55</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>56</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>59</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Belut .....	6
Gambar 2. Kulit .....	11
Gambar 3. Kerangka Konsep Penelitian .....	20
Gambar 4. Alur Penelitian.....	32
Gambar 5. Persamaan Reaksi Glisin dengan NaOH.....	34
Gambar 6. Mekanisme Reaksi Glisin dengan Asam Asetat .....	35
Gambar 7. Hasil uji kualitatif ninhidrin .....	36
Gambar 8. Mekanisme reaksi uji ninhidrin.....	37
Gambar 9. Kurva Asam Stearat dan Trietanolamin terhadap viskositas .....	41
Gambar 10. Kurva trietanolamin dan Asam Stearat terhadap daya lekat .....	43
Gambar 11. Kurva Asam Stearat dan Trietanolamin terhadap daya sebar .....	45
Gambar 12. Kurva asam stearat dan trietanolamin terhadap daya proteksi.....	47
Gambar 13. <i>Contour plot</i> formula optimal dengan pendekatan <i>Simplex Lattice Design</i> .....	49

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Formula Krim.....	25
Tabel II. Hasil uji kualitatif kolagen .....	36
Tabel III. Hasil evaluasi sediaan krim.....	40
Tabel IV. Parameter Kriteria Uji Sifat Fisik .....	49
Tabel V. Hasil uji sifat fisik formula optimum .....	52
Tabel VI. Signifikasi Prediksi dan Hasil Pengujian Formula Optimum.....	53

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan NaOH 0,1 M.....	60
Lampiran 2. Perhitungan Asam Asetat 0,5M.....	61
Lampiran 3. Perhitungan NaCl 0,9M.....	62
Lampiran 4. Perhitungan Rendemen.....	63
Lampiran 5. Dokumentasi belut.....	64
Lampiran 6. Proses isolasi kolagen dari belut.....	65
Lampiran 7. Hasil uji kualitatif .....	67
Lampiran 8. Penimbangan bahan.....	68
Lampiran 9. Uji viskositas sediaan krim.....	71
Lampiran 10. Uji daya lekat sediaan krim .....	73
Lampiran 11. Uji daya sebar sediaan krim.....	74
Lampiran 12. Uji daya proteksi.....	75
Lampiran 11. Penimbangan bahan formula optimum.....	76
Lampiran 11. Hasil Data <i>SLD</i> dari Pengujian Formula .....	78
Lampiran 12. Signifikasi Prediksi SPSS.....	80

## INTISARI

Belut sawah (*Monopterus albus*) merupakan hewan vertebrata yang memiliki kulit, tendon, tulang rawan, dan jaringan ikat. Pada bagian tersebut terdapat kolagen yang dapat dimanfaatkan untuk mencegah penuaan dini, mencegah keriput, melembabkan kulit dan menambah elastisitas kulit. Pada penelitian ini dibuat sediaan krim karena sediaan krim umum digunakan sebagai kosmetik, praktis, mudah menyebar rata, mudah dibersihkan dan cara kerja langsung pada tempatnya.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan formula optimum krim isolat kolagen dengan menggunakan emulgator asam stearat dan trietanolamin. Emulgator asam stearat sebagai komponen pembentuk massa dan meningkatkan konsistensi krim dan dikombinasikan dengan trietanolamin karena trietanolamin akan membentuk suatu emulsi M/A yang stabil apabila dikombinasikan dengan asam lemak bebas. Isolasi dilakukan dengan dua tahap yaitu tahap degradasi menggunakan NaOH dan hidrolisis kimia dengan asam asetat. Penentuan formula optimum dilakukan dengan metode *Simplex Lattice Design* dengan menentukan batas atas dan batas bawah faktor yang diuji, setelah didapatkan 8 formula, kemudian krim diuji dengan respon numerik yaitu uji viskositas, daya lekat, daya sebar, dan daya proteksi. Verifikasi dianalisis dengan uji One Sample T-Test.

Formula optimum krim isolat kolagen dari belut sawah (*Monopterus albus*) diperoleh perbandingan antara asam stearat dan trietanolamin adalah 1:4,42. Formula optimum mempunyai viskositas sebesar  $225 \pm 13,23$  dPa.s, daya lekat  $13,20 \pm 1,83$  detik, daya sebar  $60,2 \pm 1,56$  g.cm/s dan daya proteksi  $9,44 \pm 1,21$ , verifikasi formula optimum bertujuan untuk membandingkan formula optimum yang diperoleh dari metode *Simplex Lattice Design* dengan hasil pengujian formula optimum. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh hasil signifikansi  $>0,05$  yang artinya tidak berbeda bermakna, metode *Simplex Lattice Design* valid.

**Kata kunci** : Kolagen, Asam Stearat, Trietanolamin, Belut sawah, *Simplex Lattice Design*.

## ABSTRACT

Asian Swamp eel (*Monopterus albus*) is a vertebrate animal that has skin, tendons, cartilage, and connective tissue. In that section there is collagen which can be used to prevent antiaging, wrinkles, moisturize the skin, and increase skin elasticity. In this study a cream preparation was made because cream preparations are commonly used as a cosmetic, practical, easy to spread, easy to clean and work directly in place.

The purpose of this study was to obtain the optimum formula for collagen isolate cream using stearic acid and triethanolamine emulsifiers. Stearic acid emulgator as a mass forming component and improves cream consistency and is combined with triethanolamine because triethanolamine will form a stable M/A emulsion when combined with free acids. Isolation was carried out in two stages, namely the degradation stage using NaOH and chemical hydrolysis with acetic acid. Determination of the optimum formula was carried out by the *Simplex Lattice Design* method by determining the upper and lower limits of the factors tested, after obtaining 8 formulas, then the cream was tested with a numerical response, namely the viscosity, adhesion, spreadability, and protective power tests. Verification was analyzed using the One Sample T-Test.

The optimum formula for collagen isolate cream from asian swamp eel (*Monopterus albus*) obtained a comparison between stearic acid and triethanolamine is 1:4,42, optimum formula has a viscosity of 193,3 dPa.s, adhesion of 11,05 seconds, the optimum formula was verified to compare the optimum formula obtained from the *Simplex Lattice Design* method with the optimum formula test results. The results obtained were of significance  $> 0,05$ . Which means that they were not significantly different. The *Simplex Lattice Design* method is valid.

**Keywords :** Collagen. Stearic Acid, Triethanolamine, Asian Swamp eel, *Simplex Lattice Design*

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Penuaan merupakan proses yang pasti terjadi, namun penuaan dini merupakan hal yang tidak diharapkan. Penuaan pada kulit manusia ditandai dengan penipisan kulit, kulit kering, keriput, dan warna tidak merata (Farage dkk, 2016). Penuaan dini muncul ketika usia mulai 30 tahunan, pada usia itu akan muncul tanda-tanda penuaan yaitu salah satunya di area sekitar mata atau dahi (Putra, 2010).

Proses penuaan merupakan proses berkurangnya struktur dan fungsi seluruh sistem tubuh, termasuk pada sistem kulit. Berhentinya proses pertumbuhan dan mulainya proses penuaan pada kulit merupakan dua fenomena yang saling berkaitan. Semakin bertambahnya usia maka kemampuan alamiah dari kulit akan semakin menurun dan juga pertumbuhan atau regenerasi kulit, terutama pada usia setelah remaja. Umumnya penuaan akan lebih cepat terjadi apabila tubuh tidak cukup mendapatkan asupan nutrisi dan vitamin (Lumenta, 2006).

Kolagen adalah protein fibrosa yang menjadi komponen utama jaringan ikat, seperti pada tulang, tendon, kulit, pembuluh darah, dan kornea mata (Marks dkk, 2000). Kittiphattanabawon dkk (2010) menyatakan bahwa alternatif sumber kolagen dapat berasal dari bagian kulit dan tulang ikan. Dermis kulit belut sawah



bagian abdomen terdiri atas dua lapisan yaitu *stratum laxum* dan *stratum compactum*. *Stratum compactum* merupakan lapisan serat kolagen yang padat dan memberikan kekuatan mekanis dari kulit belut sawah (Failde, 2014).

Kolagen berperan cukup penting dalam industri makanan, kosmetik, biomedis dan farmasi (Chai dkk., 2010) keistimewaan penggunaan kolagen berkaitan dengan karakteristik fisikokimia dari kolagen yang sifatnya mudah diserap oleh tubuh, sifat antigenitasnya rendah, afinitas dengan air tinggi, tidak beracun, biocompatible dan biodegradable, relatif stabil, dapat disiapkan dalam berbagai bentuk dan sesuai kebutuhan, dan mudah dilarutkan dalam air maupun pada asam (Lee dkk., 2001). Peran kolagen pada kulit adalah dapat memelihara kekencangan, elastisitas dan dapat meregenerasi sel-sel kulit.

Pada bidang kosmetik, kolagen digunakan untuk mengurangi keriput pada wajah atau dapat disuntikkan ke dalam kulit untuk menggantikan jaringan kulit yang telah rusak (Guillen dkk, 2011). Sumber kolagen yang paling banyak beredar dipasaran umumnya berasal dari kulit sapi atau kulit babi yang keamanan dan ke halalannya perlu diwaspadai, sehingga diperlukan alternatif sumber kolagen yang aman dan halal. Salah satu yang mempunyai potensi sebagai sumber kolagen adalah kulit dan tulang belut (Suptijah dkk., 2018).

Belut merupakan komoditas ekonomi yang memiliki wilayah pemasaran luas dari lokal, nasional sampai internasional (Nico dkk., 2011) dan sebagian besar belut hasil tangkapan dari alam (Barman dkk., 2013). Belut dapat ditemukan dalam perairan tawar seperti sawah, sungai, rawa atau tambak. Belut pada habitat

alami hidup pada perairan berlumpur dengan membuat sebuah lubang pada daerah pematang sawah atau pinggir sungai (Ramadhan, 2014).

Salah satu bentuk sediaan kosmetik yang umum dan kebanyakan digunakan adalah bentuk sediaan krim. Krim merupakan sediaan setengah padat berupa emulsi kental yang mengandung air tidak kurang dari 60% yang bertujuan untuk pemakaian luar (DepKes RI, 1978). Beberapa keuntungan dari bentuk sediaan krim yaitu memiliki estetika yang cukup tinggi dan terasa nyaman ketika digunakan. Selain itu bentuk sediaan krim juga mudah dicuci, tidak lengket, dan memberikan efek lembab, serta memiliki kemampuan penyebaran yang baik. (Nurmillah, 2014).

Krim menjadi pilihan umum masyarakat dalam memilih kosmetik yang diaplikasikan pada kulit wajah. Krim tipe M/A digunakan pada wilayah kulit luas memberikan efek optimum karena dapat meningkatkan gradien konsentrasi zat aktif yang menembus kulit, sehingga turut meningkatkan absorpsi percutan. Sifat fisik krim dipengaruhi oleh emulgator. Emulgator harus ditambahkan dalam jumlah yang sesuai agar menghasilkan sediaan yang baik. Trietanolamin dan asam stearat umum digunakan dalam formulasi sediaan topikal, khususnya dalam sediaan emulsi sebagai emulgator (Engelina, 2013).

Pemilihan suatu emulgator dalam pembuatan krim merupakan faktor yang penting karena mutu dan kestabilan suatu emulsi dipengaruhi oleh emulgator yang digunakan (Cahyati dkk., 2015). Emulgator asam stearat sebagai komponen pembentuk massa dan meningkatkan konsistensi krim dan dipilihnya trietanolamin sebagai kombinasi emulgator dengan asam stearat karena

trietanolamin akan membentuk suatu emulsi M/A yang sangat stabil apabila dikombinasikan dengan asam lemak bebas. Asam stearat adalah asam lemak yang paling sesuai untuk dikombinasikan dengan trietanolamin karena asam stearat tidak mengalami perubahan warna seperti halnya asam oleat. Salah satu metode optimasi adalah metode *Simplex Lattice Design*. Metode ini dapat digunakan untuk menentukan proporsi relatif bahan-bahan yang membuat suatu formulasi paling baik mengenai variabel yang ditentukan (Engelina, 2013).

Berdasarkan uraian diatas penelitian ini bertujuan untuk membuat sediaan krim isolat kolagen dari kulit dan tulang belut sawah (*Monopterus albus*) dengan berbagai formulasi dengan variasi proporsi asam stearat dan trietanolamin dengan metode *simplex lattice design*.

## **B. Rumusan Masalah**

1. Berapakah proporsi optimum trietanolamin dan asam stearat dalam formula krim isolat kolagen dari tulang dan kulit belut sawah (*Monopterus albus*)?
2. Apakah formula optimum yang dihasilkan dari metode *Simplex Lattice Design* mempunyai sifat fisik sediaan krim yang baik?

## **C. Tujuan**

1. Untuk mengetahui proporsi optimum trietanolamin dan asam stearat dalam formula krim isolat kolagen dari tulang dan kulit belut sawah (*Monopterus albus*).

2. Untuk mengetahui sifat fisik sediaan krim formula optimum hasil prediksi dari metode *Simplex Lattice Design*.

#### **D. Manfaat**

1. Menambah wawasan ilmu pengetahuan dan teknologi dalam mengetahui pembuatan sediaan krim dari isolasi kolagen kulit dan tulang belut sawah.
2. Menambah nilai jual belut, sebagai penghasil kolagen dalam formulasi sediaan krim.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Penelitian ini menggunakan sampel kolagen yang diambil dari kulit dan tulang belut sawah. Tahap pertama ekstraksi kolagen dengan perendaman dalam larutan NaOH 1 M dan dilanjutkan perendaman dalam larutan asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) 1,5 M. Setelah didapatkan isolat kolagen, dilakukan optimasi sediaan krim.

#### **B. Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pipet tetes, gelas kimia (*Iwaki/pyrex*), Erlenmeyer(*Iwaki/pyrex*), labu ukur(*Iwaki/pyrex*), gelas ukur(*Iwaki/pyrex*), spatula, kertas saring, stamfer, mortir, timbangan elektrik (*Ohaus*), viskometer.

Bahan yang digunakan adalah kulit dan tulang belut sawah dari budidaya belut di kabupaten boyolali, NaOH,  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (*1,1 Difenil-2-Pikrilhidrazil*) (*Sigma*), akuades, asam stearat, setil alkohol, trietanolamin, nipagin, gliserin, propil paraben, propilen glikol, metil paraben.

### C. Variabel Penelitian

#### 1. Variabel bebas

Perbedaan jumlah komposisi basis emulgator Trietanolamin dan Asam Stearat yang digunakan dalam formulasi.

#### 2. Variabel Terikat

Hasil uji fisik sediaan krim meliputi (Viskositas, daya sebar, daya lekat, pH, daya proteksi).

#### 3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah jumlah atau dosis kolagen yang digunakan. Usia dan asal belut yang digunakan.

### D. Definisi Operasional

1. Belut sawah (*Monopterus albus*) merupakan ikan air tawar yang memiliki morfologi seperti ular dan tidak memiliki sirip.
2. Kolagen adalah protein berbentuk serat sebagai komponen utama dalam tulang, gigi, tulang rawan, lapisan kulit sebesar 30% atau sepertiga jumlah total protein. Adanya kolagen ditandai dengan terbentuknya warna ungu pada uji kualitatif dengan pereaksi ninhidrin.
3. Daya sebar digunakan untuk mengetahui kemampuan sediaan untuk menyebar pada permukaan tertentu setelah diberikan tekanan.
4. *Simplex Lattice Design* merupakan metode yang digunakan untuk mendapatkan formula yang optimum dari kombinasi basis krim *Trietanolamin* dan Asam Stearat.

5. Formula optimum adalah suatu formula yang dapat memberikan respon fisik yang optimal. Parameter yang digunakan untuk menentukan formula optimum adalah viskositas, daya lekat, daya sebar, dan daya proteksi.

## **E. Prosedur Penelitian**

### **1. Isolasi kolagen**

#### a. Praperlakuan

Ekstraksi diawali dengan memisahkan kulit belut dengan cara menguliti dan memisahkan tulang dari dagingnya, setelah didapatkan kulit dan tulangnya lalu dilakukan deproteinasi dengan cara perendaman kulit dan tulang belut sawah (*Monopterus albus*) menggunakan larutan natrium hidroksida (NaOH) 0,1 M dengan perbandingan (1:10 (b/v)) pada suhu 2-8 °C agar protein non kolagen hilang. Kulit belut sawah direndam selama 6 jam dengan pergantian pelarut setiap 3 jam, Sedangkan tulang belut sawah (*Monopterus albus*) direndam selama 24 jam dengan pergantian pelarut 6 jam. Selanjutnya kulit dan tulang hasil perendaman dipisahkan dari larutan NaOH dan dicuci menggunakan aquades sampai pH netral. (Schmidt, 2016; Idrus dkk., 2018; Fawzya dkk., 2016).

#### b. Hidrolisis Kimia

Tahap kedua adalah proses hidrolisis dilakukan dengan merendam kulit dan tulang hasil pemisahan antara larutan NaOH dan residu dengan larutan asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) konsentrasi 0,5 M dengan perbandingan

(1:10 (b/v)) selama 48 jam pada suhu 2-8 °C. Larutan ekstrak ditambah garam NaCl 0,9 M dan diaduk sampai larut dan di diamkan sampai terbentuk gumpalan putih dalam larutan, gumpalan yang terbentuk merupakan kolagen basah lalu disaring, dan dicuci dengan aquadest hingga pH netral.

## **2. Uji Kualitatif Isolat Kolagen**

### **a. Uji Nihidrin**

Sampel hasil isolasi di masukkan dalam tabung reaksi, kemudian dilakukan penambahan basa NaOH 1M, lalu dengan pereaksi Nihidrin 1% dipanaskan, dan diamati perubahan yang terjadi. Hasil positif yang ditunjukan adalah berwarna ungu, biru, dan kuning pucat berdasarkan jenis asam amino yang terkandung (Ata dkk., 2016).



### 3. Pembuatan sediaan krim

**Tabel 1. Formula krim isolat kolagen kulit dan tulang belut**

*(Monopterus albus).*

Nama bahan (g)	Run 1	Run 2	Run 3	Run 4	Run 5	Run 6	Run 7	Run 8
Isolat Kolagen	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Asam Stearat	3,4	3,2	3,2	3,3	3,4	3	3,1	3
Trietanolamin	0,4	0,6	0,6	0,5	0,4	0,8	0,7	0,8
Setil Alkohol	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Gliserin	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Metil paraben	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Propil paraben	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004	0,004
Propilen glikol	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Aquadest ad	20	20	20	20	20	20	20	20

Pembuatan krim diawali dengan memisahkan bahan-bahan yaitu fase minyak (asam stearat dan setil alkohol) dimasukkan dalam cawan porselin, ditambahkan propil paraben kemudian dilebur diatas waterbath, fase air (Trietanolamin, propilenglikol, gliserin dan aquadest) dimasukkan dalam beaker glass, ditambah dengan metil paraben. Fase minyak yang sudah melebur dituang dalam mortir hangat suhu 70°C, diaduk sampai homogen. Fase air di tambah sedikit demi sedikit sambil diaduk perlahan-lahan hingga terbentuk massa krim. Sejumlah kolagen dari kulit dan tulang belut sawah (*Monopterus albus*) dimasukan sedikit demi sedikit pada suhu 60°C dalam basis krim dan di aduk hingga homogen (Saryanti, 2019).

#### 4. Uji fisik sediaan krim

##### a. Pemeriksaan daya sebar sediaan krim

Kaca transparan diletakkan diatas kertas milimeter blok. Pada kaca tersebut diletakkan 0,5 g krim, kemudian ditutup dengan kaca transparan yang lain dan dibiarkan selama 1 menit untuk mendapatkan beberapa diameter penyebaran yang terbentuk. Kemudian dilanjutkan dengan menambahkan beban diatas kaca transparan tersebut beban 50, 100, dan 150 g dan diamati diameter penyebaran yang terbentuk. Spesifikasi sediaan adalah krim dapat menyebar dengan mudah dan merata (Saryanti dkk., 2019).

##### b. Pemeriksaan daya lekat sediaan krim

Sediaan krim sebanyak 0,5 g diletakkan diatas object glass yang telah ditentukan luasnya (oleskan pada bagian yang halus) pada alat uji. Object glass yang lain (bagian permukaan yang halus) diletakkan diatas krim tersebut, kemudian diletakkan beban 500 g selama 5 menit. Beban seberat 80 g dilepaskan sehingga menarik *object glass* bagian bawah. Dicatat waktu yang diperlukan hingga kedua *object glass* terlepas (Saryanti dkk., 2019).

##### c. Pemeriksaan viskositas sediaan krim

Pengujian viskositas dilakukan dengan memasukkan sediaan krim yang telah dibuat kedalam viscotester RION VT 04F kemudian dibaca viskositasnya sesuai dengan rotor yang digunakan (Saryanti dkk., 2019).

#### d. Pemeriksaan daya proteksi sediaan krim

Uji daya proteksi dilakukan dengan cara memotong kertas saring dengan ukuran (10x10cm), kemudian dibasahi dengan larutan fenolftalein (PP) sebagai indikator. Setelah itu kertas dikeringkan. Kertas tersebut diolesi dengan 0,5 gram krim pada sisi permukaan seperti lazimnya orang menggunakan krim(1). Buat area 2,5x2,5 cm sebanyak 3 tempat pada kertas saring yang lain, oleskan paraffin padat yang telah dilelehkan pada tepi area kertas saring yang telah dibuat(2). Kertas (2) ditempelkan diatas kertas (1). Area ditetesi dengan menggunakan NaOH encer P (4%). Amati timbulnya noda kemerahan pada bagian kertas yang telah dibasahi larutan PP. Dicatat waktu yang diperlukan mulai saat kertas ditetesi NaOH encer (P) hingga munculnya warna merah (Saryanti dkk., 2019).

### 5. Penentuan Formula Optimum

Optimasi untuk pemilihan formula optimum dilakukan dengan menggunakan *software Design Expert 7.1.5*. Parameter yang digunakan dalam optimasi sediaan krim adalah pH, viskositas, daya sebar, daya lekat, dan daya proteksi. Semua formula krim yang diperoleh diformulasikan berdasarkan urutan run 1-8 lalu diuji sifat fisik krim, diolah menggunakan *software Design Expert* dengan metode *simplex lattice design* menggunakan 2 faktor. Faktor yang diteliti yaitu asam stearat sebagai faktor A dan Trietanolamin sebagai faktor B. Rentang kadar yang digunakan untuk asam stearat adalah 15-17% dan untuk Trietanolamin 2-4% (Tambunan dan Sulaiman, 2018).

## 6. Verifikasi respon simplex lattice design

Formula optimum yang dimunculkan oleh *software Design Expert* diformulasikan menjadi sediaan krim dengan metode yang sama dengan delapan formula sebelumnya. Krim formula optimum kemudian diuji sifat fisiknya dan hasilnya dibandingkan antara hasil prediksi dengan uji t (T-test). Parameter sifat fisik yang digunakan meliputi viskositas, daya sebar, daya lekat dan daya proteksi.

## 7. Uji fisik formula optimum

### a. Pemeriksaan organoleptis sediaan krim

Uji tentang karakter fisik sediaan krim yang dilakukan dengan bantuan panca indra, meliputi:

Bentuk : dideskripsikan bentuk sediaan

Warna : dideskripsikan warna sediaan

Bau : dideskripsikan aroma sediaan

Rasa : dideskripsikan rasa kenyamanan sediaan (Saryanti dkk., 2019).

### b. Uji homogenitas

Pengujian homogenitas ini dilakukan dengan cara mengoleskan krim yang telah dibuat pada kaca objek, kemudian dikatupkan dengan kaca objek yang lainnya kemudian dilihat apakah basis yang dioleskan pada kaca objek tersebut homogen dan apakah permukaannya halus dan merata (Saryanti dkk., 2019).

c. Pemeriksaan daya sebar sediaan krim

Kaca transparan diletakkan diatas kertas milimeter blok. Pada kaca tersebut diletakkan 0,5 g krim, kemudian ditutup dengan kaca transparan yang lain dan dibiarkan selama 1 menit untuk mendapatkan beberapa diameter penyebaran yang terbentuk. Kemudian dilanjutkan dengan menambahkan beban diatas kaca transparan tersebut beban 50, 100, dan 150 g dan diamati diameter penyebaran yang terbentuk. Spesifikasi sediaan adalah krim dapat menyebar dengan mudah dan merata (Saryanti dkk., 2019).

d. Pemeriksaan daya lekat sediaan krim

Sediaan krim sebanyak 0,5 g diletakkan diatas object glass yang telah ditentukan luasnya (oleskan pada bagian yang halus) pada alat uji. Object glass yang lain (bagian permukaan yang halus) diletakkan diatas krim tersebut, kemudian diletakkan beban 500 g selama 5 menit. Beban seberat 80 g dilepaskan sehingga menarik object glass bagian bawah. Dicatat waktu yang diperlukan hingga kedua object glass terlepas (Saryanti dkk., 2019).

e. Pemeriksaan pH sediaan krim

Sebanyak 1 gram sediaan diencerkan dengan akuadest hingga 10ml. Diambil sediaan dan ditempatkan pada tempat sampel pH meter, kemudian ditunggu hingga indikator pH meter stabil dan menunjukkan nilai pH yang konstan (Saryanti dkk., 2019).

f. Uji Tipe Krim

Sediaan krim diambil secukupnya, kemudiandiletakkan pada droupple plate. Ditambahkan 1 tetes indikator metilen blue. Jika warna dari metilen blue dapat tercampur merata pada sediaan krim maka krim tipe M/A (Saryanti dkk., 2019).

g. Uji Viskositas

Pengujian viskositas dilakukan dengan memasukkan sediaan krim yang telah dibuat kedalam viscotester RION VT 04F kemudian dibaca viskositasnya sesuai dengan rotor yang digunakan (Saryanti dkk., 2019).

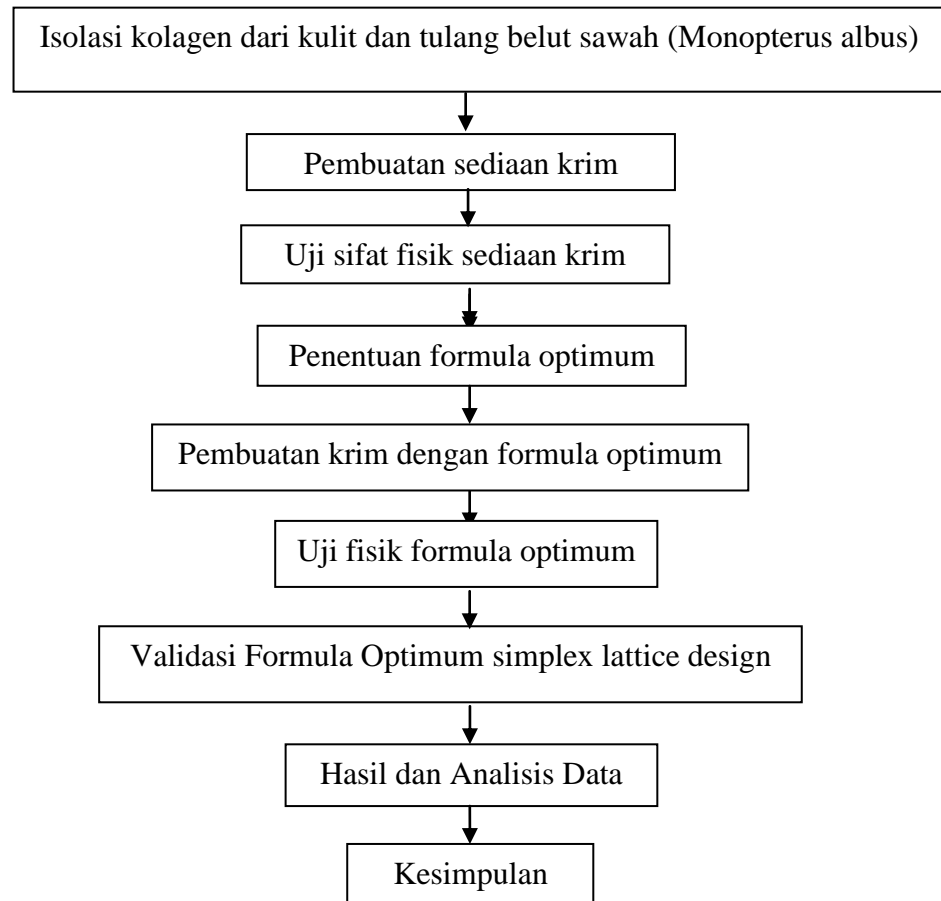
h. Uji Daya Proteksi

Uji daya proteksi dilakukan dengan cara memotong kertas saring dengan ukuran (10x10cm), kemudian dibasahi dengan larutan fenolftalein (PP) sebagai indikator. Setelah itu kertas dikeringkan. Kertas tersebut diolesi dengan 0,5 gram krim pada sisi permukaan seperti lazimnya orang menggunakan krim(1). Buat area 2,5x2,5 cm sebanyak 3 tempat pada kertas saring yang lain, oleskan paraffin padat yang telah dilelehkan pada tepi area kertas saring yang telah dibuat(2). Kertas (2) ditempelkan diatas kertas (1). Area ditetesi dengan menggunakan NaOH encer P (4%). Amati timbulnya noda kemerahan pada bagian kertas yang telah dibasahi larutan PP. Dicatat waktu yang diperlukan mulai saat kertas ditetesi NaOH encer (P) hingga munculnya warna merah (Saryanti dkk., 2019).

## F. Analisa Data

Data diperoleh dari software *Design Expert*. Jumlah respon terbesar dari keempat uji titik kritis yang di optimasi merupakan proporsi optimum dari kombinasi asam stearat dan trietanolamin dalam menghasilkan sifat krim yang diinginkan. Selanjutnya dilakukan validasi formula terpilih tersebut dengan mengevaluasi sifat-sifat fisik formula terpilih tersebut. Hasilnya dibandingkan dengan hasil prediksi dengan uji t (T-test) pengujian menggunakan program SPSS versi 15.

### G. Alur Penelitian



Gambar 4. Alur penelitian



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

1. Proporsi optimum asam stearat dan trietanolamin dalam pembuatan krim adalah 1:4,42.
2. Formula optimum krim isolat kolagen dari tulang dan kulit belut sawah (*Monopterus albus*) yang dihasilkan dari metode *Simplex Lattice Design* memiliki sifat fisik yang baik dengan nilai viskositas  $225 \pm 13,23$  dPa.s, daya lekat  $13,20 \pm 1,83$  detik, daya sebar  $60,2 \pm 1,56$  mm dan daya proteksi  $99,4 \pm 1,21$  detik.

#### B. Saran

1. Sebelum dilakukan formulasi hasil isolasi perlu dilakukan uji kualitatif yang lebih spesifik dengan spektra IR atau HNMR.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai optimasi krim isolat kolagen dari kulit dan tulang belut sawah (*Monopterus albus*) dengan formula optimum untuk uji farmakologi sebagai anti Aging, dan uji stabilitas fisik sediaan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afrizan N., Zainuddin., Cut D., Dian M., Winaruddin., Ummu B., 2018, Struktur Histologi Kulit Belut Sawah (*Monopterus albus*), *JIMVET E-ISSN* : 2540-9492.
- Astina, I. (2012) Perubahan Komposisi Asam Amino dan Mineral Belut Sawah (*Monopterus albus*) Akibat Proses Penggorengan, *Skripsi*, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ata S., Risfah Y., Fitriyanti J., Naimah R., 2016, Isolasi Kolagen Dari Kulit Dan Tulang Ikan Cakalang (Katsuwonus pelamis), *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 1(1), 27-29.
- Barman, J., U. Kumar, and U.C. Goswami., 2013, Indegenous techniques of catching the mud ee, *Monopterus cuhcia* (Ham) in Goal distric, Assam, *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 12(1): 109-115.
- Cahyati N., Dewi E., Reslely H., 2015, Optimasi Kombinasi Asam Stearat dan Trietanolamin dalam Formula Krim Ekstrak Daun Legetan (*Spilanthes acmella L.*) sebagai Antioksidan secara Simplex Lattice Design, *Jurnal Farmasi Indonesia*, 12(1), 60-69.
- Chai, H.J., Li, J.H., Huang, H.N., Li, T.L., Chan, Y.L., Shiau, C.Y., & Wu1, C.J., 2010, Effects of sizes and conformations of fish-scale collagen peptides on facial skin qualities and transdermal penetration efficiency, *J Biomed Biotechnol*, 2010, 1-9. doi:10.1155/2010/757301.
- Engelina. (2013). Optimasi Krim Sarang Burung Walet Putih (*Aerodramus fuciphagus*) Tipe M/A Dengan Variasi Emulgator Sebagai Pencerah Kulit Menggunakan Simplex Lattice Design, *Skripsi*, FK Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Faílde, L.D., R. Bermúdez, F. Vigliano, G.A. Coscelli, dan M.I. Quiroga., 2014, Morphological, immune histochemical and ultra structural characterization of the skin of turbot (*Psetta maxima L.*), Elsevier (*Tissue and cell*).46: 334–342.
- Fitrah, N.B. (2012). Optimasi Proses Perendaman dalam Pembuatan Gelati Berbahan Baku Limbah Tulang Ikan, *Skripsi*, Teknik Kimia Politeknik Negeri Bandung, Bandung.
- Guillen, M.C.G., Gimenez, B., Caballero, M.E.L., dan Montero, M.P., 2011, Functional and Bioactive Properties of Collagen and Gelatin from Alternative Source: A Review, *Food Hydrocolloids*, 25 (8): 1813-1827.

- Kittiphattanabawon, P., S. Benjakul, W. Visessanguan, dan F. Shahidi., 2010, Isolation and characterization of collagen from the certilages of brownbanded bamboo shark (*Chiloscyllium punctatum*) and blacktip shark (*Carcharhinus limbatus*), *Food Sci Tech.*43: 792 -800.
- Langenbucher dan lange, 2007, "Reologi Farmasetik". Dalam Lachman, L., Lieberman, H.A., dan Kaning, J.I, *Teori dan Praktek Farmasi Industri II*, Edisi Ketiga. No 1 Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Lee, C.H., Singla, A., & Lee, Y. 2001. Biomedical applications of collagen, *Int J Pharm*, 221, 1-22.
- Lumenta, A.Nico., 2006, *Kenali Jenis Penyakit dan Cara Penyembuhannya*. Jakarta : PT. Gramedia.Hal : 73,132,134
- Marks, D.B., A.D. Marks, dan C.M Smith., 2000, *Biokimia Kedokteran Dasar : Sebuah Pendekatan Klinis*, EGC, Jakarta.
- Nico, Leo G., P. Sharp and T. M. Collins., 2011, Imported Asian swamp eels (*Synbranchidae: Monopterus*) in North American live food markets: Potential vectors of non-native parasites, *Aquatic Invasions*, 6(1):69–76.
- Nurbaety S.N., Pratiwi, L., Taurina W., 2012, Perbandingan Formulasi Krim Sarang Burung Walet dengan Basis O/W dan W/O Sebagai Pemutih Wajah, Penelitian Dana DIPA Universitas Tanjungpura, Program Studi Farmasi, Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Nurmillah D. (2014). Formulasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Krim AntiAging Ekstrak Etanol 50% Kulit Buah Manggis (*Garcinia magostana L.*) dengan Metode DPPH, *Skripsi*, Uin Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Putra, Mahendra Budhi., 2010, *The Book of Anti Aging Rahasia Awet Muda*. Jakarta : PT. Elex Media Komputindo, Hal 1-4.
- Ramadhan, A.Y.H. (2014). Penambahan atraktan dalam pakan pasta terhadap konsumsi pakan, retensi protein dan retensi lemak pada belut sawah (*Monopterus albus*) yang dipelihara dengan sistem resirkulasi, *Skripsi*, Fakultas Perikanan Dan Kelautan Universitas Airlangga, Surabaya.
- Ramadhani, G., Aida., 2016, Pengambilan Kolagen pada Sisik Ikan dari Limbah Pabrik Fillet Ikan Menggunakan Metode Ekstraksi Asam, *Skripsi*, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Rowe, R, C., Sheskey, P.J., dan Weller, P.J., 2003, *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Edisi IV, London : Publisher – Science and Practice Royal Pharmaceutical Society of Great Britain.

- Roy, R., 2009, *Budi Daya dan Bisnis Belut Sawah*, Jakarta: PT Agromedia Pustaka.
- Safitri, R. A., (2018). Optimasi Asam Stearat Dan Trietanolamin Pada Formula Sediaan Krim Ekstrak Kulit Pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*), *Karya Tulis Ilmiah*, DIII Farmasi, Stikes Nasional.
- Saryanti., Iwan., Romadona., 2019, Optimasi Formula Sediaan Krim M/A dari Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata L.*). *Jurnal Riset Kefarmasian*. 1(3), 227-230.
- Scmidt, M. M., Dornells, R. C. P., Mello, R. O., Kuboto, E. H., Mazutti, M. A., Kempaka, A.P. dan Demiate, I. M., 2016, Collagen extraction process, *International Food Research Journal* 23(3): 913-922.
- Sulaiman, T.N. dan Kuswahyuning, R, 2008, *Teknologi dan Formulasi Sediaan Semipadat*, Pustaka Laboratorium Teknologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Hal 13-15, 33-38, 41,74-76.
- Suptijah, P., Dini I., Supriyono E., 2018, Isolasi dan Karakterisasi Kolagen dari Kulit Patin (*Pangasius sp.*), *Jurnal Sains Natural Universitas Nusa Bangsa*, Vol 8, Hal 9.
- Syaifuddin. 2009. *Anatomi Tubuh Manusia*. Jakarta : Salemba Medica, 393-395.
- Syamsuni, H. A., 2005, *Ilmu Resep*, Buku Kedokteran EGC, Jakarta, Hal 65-66, 70,72, 74-75.
- Wirianti P., 2017, Potensi Krim Tipe M/A Dari Ekstrak Kolagen Sisik Ikan Gurami (*Osphronemus gouramy*) sebagai Pelembab Kulit, *Skripsi*, Universitas Muhammadiyah Purwokerto, Purwokerto.