

BAB IV

PROSEDUR PENELITIAN

4.1. Pengumpulan dan Determinasi bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian adalah kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl.) yang diperoleh dari perkebunan daerah Manoko, Lembang. Determinasi bahan dilakukan di Herbarium Jurusan Biologi, Fakultas MIPA Universitas Padjadjaran Bandung.

4.2. Persiapan dan Penggilingan Simplisia

Kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl.) dicuci, lalu dirajang, dan dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari secara tidak langsung atau dengan cara diangin-anginkan, kemudian simplisia yang telah kering diserbukkan. Proses penggilingan dilakukan dengan menggunakan mesin penggiling untuk memperkecil ukuran partikel dan diperoleh serbuk simplisia kering dari kulit batang kayu manis.

4.3. Penetapan Parameter Standar

4.3.1 Organoleptis

Pengujian organoleptis dilakukan langsung menggunakan panca indera untuk mendeskripsikan bentuk, warna, rasa dan bau dari simplisia (Departemen Kesehatan RI, 2000:31).

4.3.2 Penetapan kadar air

Penetapan kadar air dilakukan dengan cara destilasi. Tabung penerima dan pendingin dibersihkan dengan asam pencuci, dibilas dengan air, kemudian dikeringkan dalam lemari pengering. Sejumlah bahan yang diperkirakan mengandung 1 sampai 4 mL air ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam labu kering. Ditambahkan batu didih secukupnya. 200 mL toluen jenuh air dimasukkan ke dalam labu, lalu rangkaian alat destilasi dipasang. Toluene jenuh air dimasukkan ke dalam tabung penerima melalui pendingin sampai leher alat penampung. kemudian secara hati-hati labu dipanaskan selama 15 menit.

Setelah toluene mulai mendidih, penyulingan diatur dengan kecepatan lebih kurang 2 tetes tiap detik, hingga sebagian besar air tersuling. Kemudian kecepatan penyulingan dinaikkan hingga 4 tetes tiap detik. Setelah semua air tersuling, bagian dalam pendingin dicuci dengan toluene jenuh air, sambil dibersihkan dengan sikat tabung yang disambungkan pada sebuah kawat tembaga dan telah dibasahi dengan toluene jenuh air. Penyulingan dilanjutkan selama 5 menit. Tabung penerima didinginkan hingga suhu ruangan. Jika ada tetes air yang melekat, tabung pendingin dan tabung penerima digosok dengan karet yang

dikaitkan pada sebuah kawat tembaga dan dibasahi dengan toluen jenuh air hingga tetesan air turun. Volume air dibaca setelah air dan toluen memisah sempurna. Kadar air dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Volume air (mL)} \times \text{bobot jenis air (g/mL)}}{\text{Berat simplisia (g)}} \times 100 \%$$

(Departemen Kesehatan RI, 2000:16).

4.3.3 Penetapan kadar abu total

Sebanyak 2 gram serbuk simplisia yang telah dihaluskan ditimbang dan dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara. Bahan dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis di dalam tanur, kemudian didinginkan dan ditimbang. Kadar abu total dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara, kemudian dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar abu total} = \frac{\text{Berat abu (g)}}{\text{Berat bahan awal (g)}} \times 100 \%$$

(Departemen Kesehatan RI, 2000:17).

4.3.4 Penetapan kadar abu tidak larut asam

Abu yang diperoleh dari penetapan kadar abu total, dididihkan dengan 25 mL asam klorida encer LP selama 5 menit. Bagian yang tidak larut dalam asam dikumpulkan, kemudian disaring melalui kertas saring bebas abu, dan dicuci dengan air panas. Dipijarkan dalam krus hingga bobot tetap. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara, kemudian dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar abu tidak larut asam} = \frac{\text{Berat abu tidak larut asam (g)}}{\text{Berat bahan awal (g)}} \times 100 \%$$

(Departemen Kesehatan RI, 2000:17).

4.3.5 Penetapan kadar abu larut air

Abu yang diperoleh dari penetapan kadar abu total, dididihkan dengan 25 mL air selama 5 menit. Bagian yang tidak larut air dikumpulkan, kemudian disaring melalui kertas saring bebas abu, dan dicuci dengan air panas. Dipijarkan selama 15 menit dalam krus pada suhu tidak lebih dari 450°C hingga bobot tetap, kemudian ditimbang. Kadar abu larut dalam air dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara, kemudian dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar abu larut air} = \frac{\text{Berat abu total (g)} - \text{berat abu tidak larut air (g)}}{\text{Berat bahan awal (g)}} \times 100 \%$$

(Departemen Kesehatan RI, 2000:17).

4.3.6 Penetapan kadar sari larut air

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia yang telah dikeringkan di udara ditimbang. Lalu dimasukkan ke dalam labu bersumbat, ditambah 100 mL air jenuh kloroform, dan dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama, dibiarkan selama 18 jam. Kemudian disaring, 20 mL filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan dangkal beralas datar yang telah dipanaskan 105°C dan ditara. Sisa dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Kadar sari larut air dihitung dalam % terhadap ekstrak awal dengan menggunakan rumus :

$$\text{Kadar sari larut air} = \frac{\text{Berat sari larut air (g)}}{\text{Berat bahan awal (g)}} \times \frac{100 \text{ ml}}{20 \text{ ml}} \times 100 \%$$

(Departemen Kesehatan RI, 2000:31).

4.3.7 Penetapan kadar sari larut etanol

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia yang telah dikeringkan di udara ditimbang. Lalu dimasukkan ke dalam labu bersumbat, ditambah 100 mL etanol 95 %, dan dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama, dibiarkan selama 18 jam. Kemudian dengan cepat disaring untuk menghindari penguapan etanol, 20 mL filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan dangkal beralas datar yang telah dipanaskan 105°C dan ditara. Sisa dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Kadar sari larut etanol dihitung dalam % terhadap ekstrak awal dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Kadar sari larut air} = \frac{\text{Berat sari larut etanol (g)}}{\text{Berat bahan awal (g)}} \times \frac{100 \text{ ml}}{20 \text{ ml}} \times 100 \%$$

(Departemen Kesehatan RI, 2000:31-32).

4.4. Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl.)

Pembuatan ekstrak kulit batang kayu manis dilakukan dengan cara dingin yaitu maserasi. Serbuk simplisia kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl.) ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer dengan penambahan pelarut etanol hingga seluruh serbuk simplisia

terendam. Pelarut dilebihkan setinggi kurang lebih 2,5 cm di atas permukaan serbuk. Proses maserasi dilakukan selama 5 hari. Lalu larutan disaring untuk memisahkan antara ampas dan filtratnya. Residu yang diperoleh kemudian dilakukan proses ekstraksi kembali dengan pelarut etanol sebanyak 4 kali. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan, lalu disaring dengan menggunakan kertas saring dan pelarutnya diuapkan dengan menggunakan alat *rotary vaccum evaporator*. Kemudian ekstrak diuapkan di atas penangas air hingga diperoleh ekstrak kental dan ekstrak ditimbang. Rendemen ekstrak dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Berat ekstrak (g)}}{\text{Berat simplisia (g)}} \times 100 \%$$

(Departemen Kesehatan RI, 2000:10).

4.5. Penapisan fitokimia Simplisia dan Ekstrak Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl.)

4.5.1 Identifikasi golongan alkaloid

Sebanyak 2 gram serbuk simplisia atau ekstrak kulit batang kayu manis dimasukkan ke dalam mortar bersih. Kemudian ditambahkan 5 mL ammonia 25 % dan 20 mL kloroform, digerus dengan kuat lalu disaring dan diambil filtratnya. Filtrat yang diperoleh dibagi menjadi 2 bagian. Filtrat bagian pertama ditetaskan pada kertas saring dan ditambahkan beberapa tetes pereaksi Dragendorff. Adanya alkaloid pada simplisia akan terbentuk warna merah atau jingga pada kertas saring. Sedangkan filtrat bagian kedua dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan HCl 10 %, kemudian pisahkan fase air. Kemudian larutan dibagi

menjadi 2 bagian dalam tabung yang berbeda, yaitu tabung pertama ditambahkan pereaksi Dragendorff dan tabung kedua ditambahkan pereaksi Mayer. Terbentuknya endapan merah bata dengan pereaksi Dragendorff atau endapan putih dengan pereaksi Mayer menunjukkan adanya golongan senyawa alkaloid (Farnsworth, 1966:253).

4.5.2 Identifikasi golongan flavonoid

Sebanyak 1 gram serbuk simplisia atau ekstrak kulit batang kayu manis ditempatkan dalam gelas kimia lalu ditambahkan 100 mL air panas. Didihkan selama 5 menit kemudian disaring. Filtrat yang dihasilkan diambil sebanyak 5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan serbuk magnesium dan 1 mL HCl 2 N. Lalu tambah amil alkohol, dikocok kuat dan biarkan memisah. Terbentuknya warna merah jingga sampai merah ungu menunjukkan adanya flavonoid (Farnsworth, 1966:263).

4.5.3 Identifikasi golongan polifenolat

Sebanyak satu spatel simplisia atau ekstrak kulit batang kayu manis ditempatkan dalam tabung reaksi. Kemudian tambahkan air secukupnya dan dipanaskan di atas penangas air. Lalu disaring menggunakan kertas saring dan diambil filtratnya. Filtrat ditambahkan larutan pereaksi besi (III) klorida. Terbentuknya warna hijau atau biru hijau, merah ungu, dan biru hitam sampai hitam maka menunjukkan positif fenolat. Apabila terbentuk endapan coklat menunjukkan positif polifenolat (Farnsworth, 1966:255).

4.5.4 Identifikasi golongan saponin

Sebanyak 1 gram serbuk simplisia atau ekstrak kulit batang kayu manis ditempatkan dalam gelas kimia lalu ditambahkan 100 mL air panas. Didihkan selama 5 menit kemudian disaring. Filtrat yang dihasilkan diambil sebanyak 5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian dikocok vertikal selama 10 detik dan dibiarkan selama 10 menit. Busa yang terbentuk selama kurang lebih 10 menit dengan ketinggian 1-10 cm menunjukkan positif adanya saponin. Kemudian tambahkan busa dengan beberapa tetes HCl 2 N, apabila busa tetap ada maka saponin positif sedangkan jika busa hilang maka saponin negatif (Farnsworth, 1966:258).

4.5.5 Identifikasi golongan tanin

Sebanyak 1 gram serbuk simplisia atau ekstrak kulit batang kayu manis ditempatkan dalam gelas kimia lalu ditambahkan 100 mL air panas. Didihkan selama 5 menit, dinginkan kemudian disaring. Filtrat yang dihasilkan dibagi menjadi 2 bagian, dimana filtrat bagian pertama ditambah FeCl_3 1 % yang akan menghasilkan warna biru tua atau hitam kehijauan, hijau, dan violet atau hitam menunjukkan positif tanin. Sedangkan filtrat bagian kedua ditambah larutan gelatin 1 % yang akan terbentuk endapan putih menunjukkan positif tanin (Farnsworth, 1966:264).

4.5.6 Identifikasi golongan steroid dan triterpenoid

Simplisia atau ekstrak kulit batang kayu manis digerus dengan penambahan eter. Kemudian disaring dan diambil filtratnya. Lalu filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan penguap. Residu ditambahkan dengan pereaksi

Liebermann-Burchard. Terbentuk warna merah-ungu menunjukkan positif triterpenoid, sedangkan jika terbentuk warna hijau-biru menunjukkan positif steroid (Farnsworth, 1966:259).

4.5.7 Identifikasi golongan kuinon

Sebanyak 1 gram serbuk simplisia atau ekstrak kulit batang kayu manis ditempatkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan beberapa tetes NaOH 1 N. Terbentuknya warna kuning hingga merah atau warna jingga menunjukkan positif kuinon (Farnsworth, 1966:265-266).

4.5.8. Identifikasi golongan monoterpen dan sesquiterpen

Simplisia atau ekstrak kulit batang kayu manis digerus dengan penambahan eter. Kemudian disaring dan diambil filtratnya. Lalu filtrat diuapkan hingga kering dalam cawan penguap. Residu ditambahkan dengan larutan vanillin 10 % dalam HCl pekat. Terbentuk warna ungu kemerahan menunjukkan positif monoterpen dan sesquiterpen (Farnsworth, 1966:259).

4.6. Penentuan Nilai Faktor Pelindung Surya Ekstrak Etanol Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl.)

Penentuan efektivitas tabir surya dilakukan secara *in vitro* dengan cara mengukur serapan dengan konsentrasi 10, 20, 50 dan 100 ppm larutan sampel ekstrak kental dalam etanol menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pelarut etanol digunakan sebagai blanko. Kemudian ditetapkan serapan rata-rata sampel pada panjang gelombang 290-320 nm dengan interval panjang gelombang 5 nm

sebanyak 2 kali pengulangan. Hasil dari absorbansi setiap konsentrasi ekstrak dicatat dan dilakukan perhitungan nilai faktor pelindung surya (FPS). Perhitungan nilai FPS didapat berdasarkan metode yang dilakukan oleh Mansur (Mansur *et al.*, 1986:121-124) dengan persamaan:

$$\text{FPS}_{\text{spektrofotometri}} = \text{CF} \times \sum_{290}^{320} \text{EE}(\lambda) \times \text{I}(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$$

Keterangan :

- EE = Spektrum efek eritemal
- I = Intensitas spektrum sinar
- Abs = Serapan sediaan tabir surya
- CF = Faktor koreksi (10)

Ekstrak etanol digunakan sebagai bahan aktif pada formulasi sediaan emulgel tabir surya. Selanjutnya dilakukan penentuan aktivitas tabir surya metil sinamat dengan melakukan prosedur yang sama seperti di atas menggunakan pelarut etanol.

4.7. Formulasi Basis Emulgel

Basis emulgel dibuat dengan cara memanaskan fase minyak dan fase air hingga suhu 60-70°C. Fase minyak terdiri dari minyak zaitun/ *virgin coconut oil* (VCO)/ parafin liquidum dan setostearil alkohol dan fase air terdiri dari natrium lauril sulfat dan aquadest. Setelah masing-masing fase air dan fase minyak mencapai suhu 65°C, kemudian keduanya dicampurkan dan diaduk menggunakan alat pengaduk *ultra turrax* dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit hingga homogen. Lalu ke dalam campuran tersebut ditambahkan metil paraben, propil paraben dan tokoferol yang sebelumnya telah dilarutkan dalam propilen glikol. Kemudian diaduk kembali menggunakan alat pengaduk stirrer dengan kecepatan

500 rpm hingga homogen. Selanjutnya ditambahkan karbomer sebagai *gelling agent* yang sebelumnya telah dikembangkan dan distirrer kembali hingga homogen. Kemudian setelah basis emulgel dibuat terhadap basis dilakukan uji sentrifugasi dan uji *freeze thaw*. Formulasi basis sediaan emulgel dapat dilihat pada **Tabel IV.1.**

Tabel IV.1. Formulasi Basis Sediaan Emulgel

Bahan	Konsentrasi (%)		
	FA	FB	FC
Minyak zaitun	20	-	-
Virgin Coconut oil (VCO)	-	20	-
Parafin liquidum	-	-	20
Natrium lauril sulfat	0,75	0,75	0,75
Setostearyl alkohol	6,75	6,75	6,75
Karbomer	0,25	0,25	0,25
Metil paraben	0,18	0,18	0,18
Propil paraben	0,02	0,02	0,02
Propilen glikol	10	10	10
Tokoferol	0,015	0,015	0,015
Aquadest ad	100	100	100

Keterangan :

FA = Formula basis A
 FB = Formula basis B
 FC = Formula basis C

4.8. Penentuan Nilai Faktor Pelindung Surya Basis Emulgel

Penentuan efektivitas tabir surya dilakukan secara *in vitro* dengan mengambil basis sebanyak 0,5 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml lalu ditambahkan etanol sampai tanda batas. Selanjutnya campuran diaduk dengan vortex selama 10 menit. Setelah itu sebanyak 5 ml larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml kemudian ditambahkan etanol hingga tanda batas. Dilakukan pengukuran serapan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis

terhadap larutan tersebut. Pengukuran serapan dilakukan pada panjang gelombang 290-320 nm dengan interval panjang gelombang 5 nm sebanyak 2 kali pengulangan. Hasil dari absorbansi sampel dicatat dan dilakukan perhitungan nilai faktor pelindung surya (FPS) (Mbanga *et al.*, 2014:8).

Perhitungan nilai FPS didapat berdasarkan metode yang dilakukan oleh Mansur (1986). Nilai dari $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ dapat dilihat pada **Tabel IV.1**.

4.9. Formulasi Sediaan Emulgel Tabir Surya mengandung Ekstrak Etanol Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl.)

Sediaan emulgel dibuat dengan cara memanaskan fase minyak dan fase air hingga suhu 60-70°C. Fase minyak terdiri dari minyak zaitun/ *virgin coconut oil* (VCO)/ parafin liquidum dan setostearil alkohol dan fase air terdiri dari natrium lauril sulfat dan aquadest. Setelah masing-masing fase air dan fase minyak mencapai suhu 65°C, kemudian keduanya dicampurkan dan diaduk menggunakan alat pengaduk *ultra turrax* dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit hingga homogen. Ke dalam campuran tersebut ditambahkan ekstrak etanol kulit batang kayu manis, metil paraben, propil paraben dan tokoferol yang telah dilarutkan dalam propilen glikol. Kemudian diaduk kembali menggunakan alat pengaduk stirrer dengan kecepatan 500 rpm hingga homogen. Selanjutnya ditambahkan karbomer sebagai *gelling agent* yang sebelumnya telah dikembangkan lalu distirrer kembali. Formulasi sediaan emulgel tabir surya mengandung ekstrak kulit batang kayu manis dapat dilihat pada **Tabel IV.2**.

Tabel IV.2. Formulasi Sediaan Emulgel Tabir Surya mengandung Ekstrak Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl.)

Bahan	Konsentrasi (%)		
	FSA	FSB	FSC
Ekstrak KBKM	1	1	1
Minyak zaitun	20	-	-
Virgin Coconut oil (VCO)	-	20	-
Parafin liquidum	-	-	20
Natrium lauril sulfat	0,75	0,75	0,75
Setostearyl alkohol	6,75	6,75	6,75
Karbomer	0,25	0,25	0,25
Metil paraben	0,18	0,18	0,18
Propil paraben	0,02	0,02	0,02
Propilen glikol	10	10	10
Tokoferol	0,015	0,015	0,015
Aquadest ad	100	100	100

Keterangan :

KBKM = Kulit batang kayu manis
 FSA = Formula sediaan A
 FSB = Formula sediaan B
 FSC = Formula sediaan C

4.10. Evaluasi Sediaan Emulgel Tabir Surya

Evaluasi sediaan emulgel tabir surya yang akan dilakukan meliputi pengamatan organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, uji rheologi, uji sentrifugasi dan uji daya sebar.

4.10.1. Organoleptis

Pengamatan dilakukan dengan melihat warna, bau dan konsistensi dari sediaan emulgel.

4.10.2. Homogenitas Sediaan

Sampel sediaan emulgel diletakkan di atas kaca objek kemudian ditekan dengan kaca objek lain hingga merata, dan diamati homogenitas sediaan secara visual.

4.10.3. Pengukuran pH Sediaan

Pengukuran pH sediaan emulgel dilakukan dengan menggunakan pH meter (Mettler-Toledo).

4.10.4. Pengukuran Viskositas

Pengukuran viskositas sediaan emulgel dilakukan dengan menggunakan viskometer Brookfield RV (DV-1 Prime) dengan spindle yang sesuai (spindle 15).

4.10.5. Uji Rheologi

Dilakukan pengukuran viskositas dengan menggunakan alat viskometer Brookfield RV (DV-1 Prime) pada berbagai macam kecepatan. Penentuan tipe aliran dilakukan dengan membuat kurva antara nilai kecepatan dan viskositas.

4.10.6. Uji Sentrifugasi

Uji sentrifugasi dilakukan untuk mengetahui pengaruh gravitasi terhadap kestabilan sediaan emulgel tabir surya. Sebanyak 15 mL sediaan emulgel dimasukkan ke dalam tabung sentrifuga, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 5 jam. Setiap interval waktu 1 jam diamati ada tidaknya pemisahan pada sediaan emulgel tabir surya tersebut.

4.10.7. Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan 48 jam setelah pembuatan sediaan emulgel. Emulgel ditimbang sebanyak 1 gram, kemudian diletakkan di antara dua kaca

gelas. Kaca gelas yang berada di atas sediaan diberikan suatu bahan pemberat sebanyak 125 gram. Didiamkan selama 1 menit, lalu dicatat diameter penyebarannya (Garg *et al.*, 2002:88).

4.11. Penentuan Nilai Faktor Pelindung Surya Sediaan Emulgel Ekstrak Etanol Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl.)

Penentuan efektivitas tabir surya dilakukan secara *in vitro* dengan mengambil sediaan sebanyak 0,5 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 ml lalu ditambahkan etanol sampai tanda batas. Selanjutnya campuran diaduk dengan vortex selama 10 menit. Setelah itu sebanyak 5 ml larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml kemudian ditambahkan etanol hingga tanda batas. Dilakukan pengukuran serapan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis terhadap larutan tersebut. Pengukuran serapan dilakukan pada panjang gelombang 290-320 nm dengan interval panjang gelombang 5 nm sebanyak 2 kali pengulangan. Hasil dari absorbansi sampel dicatat dan dilakukan perhitungan nilai faktor pelindung surya (FPS) (Mbanga *et al.*, 2014:8).

Perhitungan nilai FPS didapat berdasarkan metode yang dilakukan oleh Mansur (1986). Nilai dari $EE(\lambda) \times I(\lambda)$ dapat dilihat pada **Tabel IV.1**.

4.12. Pengolahan data

Data hasil percobaan dihitung dan diolah secara statistik dan dianalisis dengan menggunakan metode analisis varian satu arah (ANOVA) uji lanjut LSD.

