

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Rancangan penelitian ini merupakan jenis observasional laboratorium dan dibagi dalam beberapa tahapan pelaksanaan, yaitu Tahap Persiapan yang meliputi penentuan formula, persiapan alat dan bahan, penyusunan prosedur kerja, pembuatan ekstrak daun pare dan pembuatan sediaan. Selanjutnya tahan pengujian yang meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, viskositas dan uji waktu pengeringan dan disesuaikan dengan parameter yang telah ditetapkan.

#### **3.2 Populasi dan Sampel**

##### **3.2.1 Populasi**

Populasi dalam penelitian ini adalah hand sanitizer ekstrak daun pare (*Momordica charantia* Linn.).

##### **3.2.2 Sampel**

Sampel penelitian ini sebanyak 5 botol, setiap botolnya berisi 50 ml hand sanitizer ekstrak daun pare (*Momordica charantia* Linn.).

#### **3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian**

##### **3.3.1 Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Laboratorium Farmasetika Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.

### 3.3.2 Waktu Penelitian.

Waktu penelitian yang digunakan mulai dari tahap persiapan, pelaksanaan sampai dengan tahap analisa hasil dilakukan April – Mei 2019.

### **3.4 Definisi Operasional Variabel**

Definisi operasional variabel ini meliputi definisi operasional variabel terikat dan bebas, yang mana definisi operasional variabel terikat pada penelitian ini berupa pengujian mutu fisik dan penerimaan volunteer pada masyarakat terhadap ekstrak etanol daun pare, sedangkan definisi operasional variabel bebas dalam penelitian ini berupa formulasi sediaan hand sanitizer dari ekstrak etanol daun pare sebagai antibakteri.

**Tabel 3. 1 Definisi Operasional Variabel**

Variabel	Sub Variabel	Definisi	Hasil Ukur	Alat Ukur	Skala Ukur
Mutu Fisik	Organoleptis	Suatu sediaan sudah sesuai dengan spesifikasi yang telah ditentukan dan uji awal sediaan yang telah dibuat. Uji meliputi bentuk sediaan, warna, dan bau.	Sediaan berbentuk setengah padat, memiliki warna jernih transparan dan aroma tidak tengik.	Visual	Ordinal
	Daya sebar	Luas permukaan daya sebar sediaan pada kulit.	Daya ukur yang baik yaitu daya sebar yang memiliki diameter penyebaran 5-7 cm.	Kaca obyek dan jangka sorong.	Nominal.
	Homogenitas	Bahan aktif dan bahan tambahan lainnya sudah homogenitas pada sediaan.	Homogen jika bahan-bahan tercampur secara merata. Tidak homogen jika seluruh bahan tidak tercampur merata.	Visual.	Ordinal.
	Viskositas	Besarnya tahanan suatu cairan untuk mengalir. Jika semakin tinggi viskositas, maka semakin besar tahananannya.	2000cP – 4000cP. (Arikumalasa ri dkk, 2012)	– Viskome ter Brookfie ld.	Nominal.
	pH	Mengukur pH (derajat keasaman) sediaan dan menguji sediaan sudah memenuhi syarat pH yang sesuai dengan	pH sediaan disesuaikan dengan pH kulit 4,5 – 6,5.	pH meter	Nominal.

		kondisi kulit.	pH			
	Daya Lekat	Lama perlekatan sediaan pada kulit.	pada	Daya lekat sediaan dikatakan baik jika waktu sediaan melekat pada permukaan kulit.	Kaca obyek dan anak timbangan melekat tidak kurang dari 4 detik dan tidak lebih dari 10 detik.	Nominal.
	Waktu kering	Sediaan diusapkan pada tangan. Direplikasi 3kali permenit		Ditandai dengan hilangnya lapisan sediaan yang dioleskan	Stopwatch.	Nominal.
Uji Penerimaan Volunteer	Tekstur Sediaan	Menggunakan indra peraba untuk mendeskripsikan tekstur dari sediaan gel hand sanitizer yaitu bertekstur lembut			Angket	Ordinal
	Bau Sediaan	Menggunakan indra penciuman untuk mendeskripsikan bau pada sediaan gel hand sanitizer yaitu bau tidak tengik			Angket	Ordinal
	Daya oles sediaan	Dengan cara mengoleskan pada kulit.			Angket	Ordinal
	Kenyamanan sediaan	Sediaan yang telah dioleskan pada kulit.			Angket	Ordinal
	Waktu Kering Sediaan	Lamanya waktu kering ketika			Angket	Ordinal

---

dicoba pada  
kulit.

---

### **3.5 Instrumen Penelitian**

Dalam penelitian ini diperlukan alat dan bahan sebagai berikut :

#### **3.5.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam pembuatan sabun mandi cair dari ekstrak daun pare adalah nampan, blender, tabung reaksi, kertas perkamen, kertas saring, timbangan analitik, spirtus, kaki tiga, kawat kasa, batang pengaduk, sudip, sendok tanduk, bunsen, motir, stemper, kaca arloji, objek glass, pipet tetes, beaker glass, gelas ukur, corong pisah, botol kaca gelap, waterbath, rotary evaporator, pH meter, viskometer Brookfield.

#### **3.5.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam pembuatan hand sanitizer dari ekstrak daun pare adalah Ekstrak etanol daun pare, HPMC(Hidroksi propil Metilselulosa), TEA(Trietanolamin), Metilparaben, Propilenglikol, alkohol 70% dan aquadest.

### **3.6 Pengumpulan Data**

Pengumpulan data meliputi beberapa tahapan yang harus dilakukan dalam penelitian ini adalah pembuatan formulasi, determinasi daun pare, pembuatan simplisia daun pare, pembuatan ekstrak daun pare, metabolit sekunder, pembuatan sediaan hand sanitizer dan penerimaan volunteer.

#### **3.6.1 Formula**

Formula hand sanitizer adalah formula hand sanitizer yang terlebih dahulu sudah diujikan dengan syarat ketentuan (SNI) 06-2588-1992.

**Tabel 3.2 Formula Standar Hand sanitizer**

No.	Nama Bahan	F(%)
1.	Air perasan jeruk Nipis	16%
2.	HPMC	2%
3.	TEA	3%
4.	Propilen glycol	5%
5.	Metil paraben	0,02%
6.	Alkohol 70%	3%
7.	Aquadest	50ml

(Hurria, 2014)

Kemudian peneliti mengubah menjadi formula sediaan hand sanitizer ekstrak daun pare.

**Tabel 3.3 Rancangan Formulasi Sediaan Hand sanitizer Ekstrak Daun Pare**

No.	Bahan	Formulasi	Fungsi
1.	Ekstrak Daun Pare	25%	Zat Aktif
2.	Hidroksi propil Metilselulosa	2%	Basis Gel
3.	Tritanolamin	3%	Alkalizing agent
4.	Metilparaben	0.02%	Pengawet
5.	Propilenglikol	5%	Humektan
6.	Alkohol 70%	3%	Pelarut
7.	Aquadest	Ad 50ml	Pelarut

### 3.6.2 Pembuatan Simplisia Daun Pare

Langkah-langkah dalam pembuatan simplisia daun pare adalah sebagai berikut:

1. Daun pare yang digunakan berasal dari Materia Medica Batu.
2. Daun pare yang telah dikumpulkan sebanyak 1.5 kg kemudian disortasi basah.
3. Dicuci dengan air mengalir agar hama dan kotoran di daun terbang.

4. Daun pare yang telah dicuci kemudian ditiriskan hingga semua air sisa cucian terpisah.
5. Setelah itu daun pare ditempatkan di dalam wadah yang bersih dan kering.
6. Dikeringkan dengan cara di oven dilakukan pada suhu baik yaitu 60<sup>0</sup>C selama 2 hari.
7. Kemudian disortasi kembali untuk menghilangkan kotoran dari sisa pengeringan.
8. Simplisia (daun pare kering) dihaluskan dengan blender kemudian diayak dengan ayakan berukuran 80 mesh selanjutnya dikemas dalam plastik dan disimpan di suhu ruang untuk pengujian berikutnya (Aulya, 2012).

#### 3.6.3 Pembuatan Ekstrak Daun Pare

1. Sebanyak 18 gram bubuk daun pare kering ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam botol coklat.
2. Pelarut etanol 96% ditambahkan ke dalam botol coklat sebanyak 180 mL dengan perbandingan daun pare : pelarut adalah 1:10, kemudian lakukan perendaman selama 24 jam.
3. Ekstrak kemudian disaring menggunakan kertas saring, dan filtrat ditampung dalam labu erlenmeyer.
4. Ampas hasil saringan kemudian ditambahkan pelarut kembali dengan jumlah perbandingan yang sama, kemudian didiamkan kembali selama 24 jam (satu hari).
5. Maserat kemudian disaring menggunakan kertas saring, dan filtrat ditampung dalam labu erlenmeyer, lakukan hal ini sampai tiga kali perendaman (3 x 24 jam).

6. Semua hasil filtrat digabungkan dalam satu labu erlenmeyer.
7. Filtrat kemudian diuapkan pada vakum evaporator dan dihitung rendemen yang diperoleh

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Simplisia}} \times 100\%$$

(Aulya, 2012).

#### 3.6.4 Identifikasi Fitokimia

##### 1. Flavonoid

- 1) Ekstrak sebanyak 2 mL dipanaskan, kemudian ditambahkan etanol.
- 2) Ke dalam larutan ditambahkan serbuk magnesium dan ditambahkan HCl.
- 3) Terbentuk larutan berwarna kuning menunjukkan adanya flavonoid  
(Simaremare, 2014).

##### 2. Tanin

- 1) Diambil ekstrak sebanyak 2 mL.
- 2) Ekstrak ditambahkan dengan 1 mL larutan  $\text{FeCl}_3$  10%. Jika terbentuk warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan menunjukkan adanya senyawa polifenol dan tanin (Simaremare, 2014).

##### 3. Saponin

- 1) Diambil ekstrak sebanyak 2 mL.
- 2) Ekstrak ditambahkan dengan 10 mL air panas kemudian didinginkan.
- 3) Dikocok kuat selama 10 detik. Terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang 10 menit setinggi 1-10 cm. Pada penambahan HCl 2N, buih akan hilang  
(Simaremare, 2014).

##### 4. Triterpenoid

- 1) Ekstrak sebanyak 2 mL dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform.



- 2) Ditambahkan dengan 0,5 mL asam asetat anhidrida, Selanjutnya campuran ini ditetesi dengan 2 mL asam sulfat pekat melalui dinding tabung tersebut.
- 3) Bila terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya sterol. Bila cincin kecoklatan atau violet menunjukkan adanya triterpenoid (Simaremare, 2014).

#### 5. Alkaloid

- 1) Sebanyak 2 mL ekstrak dilarutkan dengan 5 mL HCl 2N.
- 2) Larutan yang didapat kemudian dibagi 4 tabung reaksi.
- 3) Tabung pertama digunakan sebagai blanko, tabung kedua ditambahkan pereaksi dragendroff sebanyak 3 tetes, tabung ketiga ditambahkan pereaksi mayer sebanyak 3 tetes dan tabung keempat ditambahkan pereaksi wagner. Terbentuknya endapan jingga pada tabung kedua (dragendroff), endapan putih hingga kekuningan pada tabung ketiga (mayer) dan terbentuk warna kuning kecoklatan di tabung keempat (wagner) menunjukkan adanya alkaloid (Simaremare, 2014)

#### 3.6.5 Pembuatan Sediaan Hand sanitizer

Langkah-langkah dalam pembuatan Hand sanitizer, antara lain :

1. Disiapkan alat dan bahan.
2. Disetarakan timbangan.
3. Ditimbang bahan seperti ekstrak daun pare 12,5ml, HPMC seberat 5g, TEA 1,5ml, Propilenglikol 2,5ml, Metilparaben 0,05mg, alkohol 70% 1,5 ml, Aquadest 30,9 ml.
4. Masukkan HPMC kedalam mortir dengan cara ditaburkan diatas aquadest.

5. HPMC yang sudah ditaburkan di aduk dan ditambahkan TEA, aduk sampai membentuk masa gel.
6. Memasukkan propilenglikol dan metil paraben kedalam mortir, aduk hingga homogen.
7. Melarutkan alkohol 70% dengan ekstrak daun pare aduk hingga larut.
8. Ekstrak daun pare yang sudah larut masukkan dalam mortir aduk hingga homogen.
9. Setelah semua bahan tercampur rata dipindahkan pada botol kemasan lalu adkan aquadest hingga 50ml, aduk hingga homogen.
10. Setelah itu dilakukan evaluasi sediaan.

### **3.7 Evaluasi Sediaan Hand sanitizer**

#### **3.7.1 Uji Organoleptis**

Dilihat bentuk, warna, bau dan bentuk secara visual (Rahardhini, 2016)

Syarat organoleptis; tidak terjadi perubahan warna, bau, bentuk dari sediaan dalam waktu tertentu (Depkes RI, 2000)

#### **3.7.2 Uji Homogenitas**

1. Disiapkan kaca arloji.
2. Diletakkan di objek glass, diamati homogenitasnya atau tidak.
3. Catat hasilnya (Rahardhini, 2016)

Syarat Homogen tidak adanya gumpalan partikel-partikel kecil pada sediaan (Depkes RI, 2000)

#### **3.7.3 Uji pH**

Pengukuran pH dilakukan dengan cara menggunakan pH meter.

1. Disiapkan pH meter dan sediaan yang akan di uji.
2. Dichelupkan pH meter kedalam Hand sanitizer.
3. Amati pH yang dihasilkan (Rahardhini, 2016)

Syarat : pH sediaan harus 4,5 – 6,5 (Tranggono & Latifah, 2007)

#### 3.7.4 Uji Daya Sebar

1. Disiapkan kaca bundar.
2. Diambil sedikit sediaan Hand sanitizer.
3. Letakkan di kaca bundar, kemudiaan diberikan beban 100gram, 150gram dan 200gram.
4. Amati daya sebar, kemudian diukur dan catat hasilnya(Rahardhini, 2016)

Syarat sediaan memiliki daya sebar baik yaitu antara 5-7 cm (Garg *et al*, 2002)

#### 3.7.5 Uji Daya Lekat

1. Disiapkan kaca bundar.
2. Diambil sedikit sediaan Hand sanitizer.
3. Letakkan di objek glass, kemudian diberikan beban 500gram selama 1 menit.
4. Lepas perlahan, amati waktu pelepasan objek glass dengan stopwatch dan catat hasilnya(Rahardhini, 2016)

Syarat menghitung lama waktu lepas kedua objek glass (Depkes RI, 2000) Daya lekat gel hand sanitizer dikatakan baik jika waktu gel hand sanitizer melekat tidak kurang dari 4 detik dan tidak lebih dari 10 detik (Swatika et al, 2013)

#### 3.7.6 Uji Viskositas(Viskometer Brokfield)

1. Disiapkan viskometer lalu dipasang pada statif, disetarakan viskometer sedemikian rupa hingga gelembung di ujung kiri atas viskometer dapat berada di tengah.

2. Spindel dipasang pada gantungan spindel(terletak pada bagian bawah viskometer).
3. Sampel dimasukkan pada wadah, lalu menurunkan spindel hingga batas tercelup kedalam cairan sampel yang akan diukur viskositasnya. Selanjutnya rotor dijalankan dengan cara menekan tombol on pada viskometer.
4. Dibiarkan spindel berputar dan dilihat jarum pada skala sesuai rotor.
5. Angka yang ditunjukkan oleh jarum tersebut di baca(jika terbaca) untuk menghitung viskositasnya.

Syarat sediaan adalah 2.000 - 4.000 cP (Arikumalasari dkk, 2013).

#### 3.7.7 Uji Waktu Pengeringan

1. Disiapkan 1ml sediaan hand sanitizer.
2. Lalu diusapkan pada tangan, hingga mengering.
3. Direplikasi 3 kali per 30 detik.
4. Perhitungan waktu dilakukan menggunakan stopwatch.
5. Dicatat hasilnya.

Syarat waktu kering 30 detik (Shumaker *et al*, 2012)

#### 3.7.8 Uji Penerimaan Volunteer

1. Memberikan angket kepada responden dan memberi skor angka.
2. Apabila jawabannya sangat baik maka jawaban diberi skor 4.
3. Apabila jawabannya cukup maka jawaban diberi skor 3.
4. Apabila jawabannya kurang maka jawaban diberi skor 2.
5. Apabila jawabannya sangat kurang maka jawaban diberi skor 1.
6. Agar diperoleh distribusi nilai hasil pengukur mendekati normal, maka sebaiknya jumlah responden untuk uji coba paling sedikit 20 orang (Cahyani, 2017).

7. Kriteria volunteer yang harus dipenuhi yaitu baik dan sangat baik diterima masyarakat.

Syarat diterima baik masyarakat.

### 3.8 Analisis Data

Penelitian ini dilakukan dengan mengamati hasil pengujian mutu fisik Hand sanitizer ekstrak daun pare yang dibandingkan dengan syarat ketentuan (SNI) 06-2588-1992.

Uji penerimaan volunteer dilakukan untuk mengetahui tanggapan masyarakat terhadap sediaan lipstik yang dihasilkan oleh peneliti. Agar diperoleh distribusi data yang mendekati normal, jumlah responden paling sedikit 20 orang (Cahyani, 2017).

Penilaian dilakukan dengan memberikan angket atau kuisioner yang diberi skor angka. Apabila jawaban sangat baik diterima masyarakat mendapat nilai 4, cukup baik diterima masyarakat mendapat nilai 3, kurang baik diterima masyarakat mendapat nilai 2 dan sangat kurang baik diterima di masyarakat mendapat nilai 1. Kemudian dijumlahkan dan dibagi dengan skor tertinggi lalu dikalikan 100 dan dihitung nilai rata – rata yang diperoleh.

Data hasil yang didapatkan melalui penilaian volunteer terhadap sediaan hand sanitizer diolah berdasarkan kategori kesukaan sehingga diketahui sediaan hand sanitizer ekstrak daun pare sebagai antibakteri dapat diterima oleh volunteer. Untuk menentukan apakah sediaan hand sanitizer ekstrak daun pare sebagai antibakteri dapat diterima volunteer, maka dapat dihitung dengan rumus (Cahyani, 2017):

$$N = \frac{sp}{sn} \times 100\%$$

Keterangan :

N = nilai yang dicari

$S_p$  = nilai yang didapat

$S_n$  = nilai tertinggi

Berdasarkan hasil pemberian skor maka dapat disimpulkan kategori hand sanitizer dengan menggunakan presentase sebagai berikut (Cahyani, 2017) :

1. Sangat baik jika didapatkan hasil 76 - 100 %
2. Cukup jika didapatkan hasil 50 – 75,9 %
3. Kurang jika didapatkan hasil 26 – 49,9 %
4. Sangat kurang jika didapatkan hasil 1,0 – 25,9 %

Sediaan hand sanitizer dikatakan dapat diterima oleh masyarakat pada kategori sangat baik dan cukup baik.

Uji volunteer dilakukan kepada responden dengan kriteria yang ditetapkan adalah sebagai berikut:

1. Volunteer memiliki kepekaan terhadap indera perasa.
2. Sehat.
3. Volunteer berumur 17 - 35 tahun.
4. Pria dan Wanita.
5. Volunteer bersedia mengikuti uji volunteer hingga selesai.