

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan penelitian eksperimental. Karena penelitian ini didasarkan dari hasil kerja di laboratorium untuk mengetahui stabilitas fisik sediaan gel antibakteri ekstrak daun beluntas dengan metode *freeze thaw*. Adapun uji yang dilakukan ialah pH, daya sebar, daya lekat dan viskositas.

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah gel antibakteri ekstrak daun beluntas berbasis karbopol. Sedangkan sampel dalam penelitian ini adalah gel antibakteri ekstrak daun beluntas berbasis karbopol dengan variasi konsentrasi 1% dan 1,5%.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakognosi dan Farmasetika Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang. Sedangkan waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Maret – April 2021.

3.4 Definisi Operasional Variabel

Klasifikasi variabel pada penelitian ini ada dua yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi

karbopol dan *freeze thaw*. Sedangkan variabel terikatnya adalah uji stabilitas fisik sediaan gel ekstrak daun beluntas.

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Variabel	Sub Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur
Variabel Bebas adalah variasi konsentrasi karbopol dan <i>freeze thaw</i> .	Variasi konsentrasi karbopol	Bahan yang digunakan sebagai pembentuk massa gel dengan konsentrasi 1% dan 1,5%.	Timbangan analitik	Karbopol 1g dan 1,5g.
	<i>Freeze Thaw</i>	Metode yang digunakan untuk mengetahui kestabilan sediaan dalam waktu singkat dengan menyimpan sediaan pada suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam, dilanjutkan pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ untuk 24 jam selama 6 siklus.	Lemari es, oven	Parameter pH, daya lekat, daya sebar, viskositas stabil.
Variabel Terikat adalah uji stabilitas fisik.	pH	Menunjukkan angka pH yang dihasilkan oleh sediaan gel.	pH meter	pH gel disesuaikan dengan pH sediaan topikal 4-8.
	Daya lekat	Suatu hal yang menunjukkan daya lekat gel yang dihasilkan.	<i>Stopwatch</i>	Lebih dari 4 detik.
	Daya Sebar	Hal mengenai luas penyebaran.	Jangka Sorong	Daya sebar gel yang baik antara 5-7cm.
	Viskositas	Suatu sifat cairan yang berhubungan erat dengan kekentalan sediaan.	Viskometer <i>Brookfield</i>	Viskositas dalam satuan cps.

3.5 Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian merupakan alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian. Adapaun alat dan bahan yang diperlukan, antara lain:

1.5.1 Alat : Mortir dan stamper, peralatan gelas, bejana maserasi, *Rotary Evaporator*, oven, lemari es, pH meter, anak timbang, kaca objek.

1.5.2 Bahan : Daun beluntas, etanol 96%, aqua destillata, karbopol, gliserin, TEA, metilparaben.

3.6 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data

3.6.1 Penyusunan Formula Gel Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas

Tabel 3.2 Formula Gel Antibakteri Ekstrak Daun Beluntas

Bahan	Formula/Konsentrasi (%)	
	FI (1%)	FII (1,5%)
Ekstrak daun beluntas	5	5
Karbopol	1	1,5
Gliserin	30	30
TEA	1	1
Metilparaben	0,2	0,2
Aqua Destillata	ad 100	ad 100

3.6.2 Prosedur Pembuatan Simplisia (Mulyadi *et al.*, 2017)

1. Daun beluntas diambil dari daerah Turen-Malang.
2. Daun beluntas yang sudah diambil kemudian dicuci.
3. Daun beluntas yang sudah dicuci ditiriskan kemudian dikeringkan angin.
4. Daun beluntas yang sudah kering disortir, kemudian diserbukan menggunakan blender.

3.6.3 Prosedur Pembuatan Ekstrak Daun Beluntas

1. Serbuk simplisia daun beluntas dimasukkan ke dalam wadah maserasi.
2. Serbuk simplisia di maserasi dengan pelarut etanol 96% dan didiamkan selama 3 hari.
3. Hasil maserasi (maserat) dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Suhu *rotary evaporator* tidak lebih dari 50°C (Luginda *et al.*, 2018).

3.6.4 Prosedur Pembuatan Gel Ekstrak Daun Beluntas (Hidayanti *et al.*, 2015)

1. Dilarutkan metilparaben dalam aqua destillata yang dipanaskan diatas penangas, dimasukkan dalam mortir.
2. Ditambahkan karbopol pada mortir, diaduk hingga mengembang dan membentuk gel.
3. Ditambahkan ekstrak dengan gliserin, diaduk hingga homogen, dimasukkan dalam mortir.
4. Ditambahkan TEA ke dalam mortir, aduk hingga homogen.

5. Dibuat tiga replikasi sediaan dari masing-masing konsentrasi dengan prosedur pembuatan yang sama.

3.6.5 Uji Mutu Fisik

1. Uji pH

Diencerkan sebanyak 1 g gel dengan aqua destillata hingga 10 mL, kemudian pH meter dicelupkan kedalam sediaan dan dicatat hasil yang tertera. pH gel harus sesuai dengan pH sediaan topikal yaitu 4-8 (Danimayostu, 2017).

2. Uji Daya Sebar

Gel sebanyak 0,5 gram ditimbang, kemudian diletakkan di kaca bulat bagian tengah dan diberi beban 150 gram, dibiarkan selama 1 menit, dicatat hasil diameternya. Gel yang baik mempunyai daya sebar 5-7 cm (Mappa *et al.*, 2013).

3. Uji Daya Lekat

Gel sebanyak 0,25 gram ditimbang, kemudian diletakkan diantara 2 kaca preparat dan diberi beban 80 gram selama 5 menit, kemudian dicatat hasil waktu yang dibutuhkan kaca preparat jatuh (Kumalasari *et al.*, 2013). Daya lekat yang baik untuk sediaan topikal adalah lebih dari 4 detik (Wibowo *et al.*, 2017).

4. Uji Viskositas

Pengujian viskositas menggunakan *viskometer Brookfield*. Langkah-langkah pengujian sebagai berikut:

- a. Gel dimasukkan kedalam wadah alumunium 100 mL

- b. Digunakan spindel 1, 2 dan 3
- c. Spindel diturunkan kedalam sediaan gel hingga batas yang tertera
- d. Spindel dijalankan
- e. Dicatat hasilnya (viskositas yang baik untuk sediaan gel adalah 2000-4000 cps).

3.6.6 Prosedur Metode *Freeze Thaw*

1. Disimpan sediaan pada suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam di dalam lemari es.
2. Dilanjutkan sediaan disimpan pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ untuk 24 jam berikutnya pada oven.
3. Dilakukan cara yang sama hingga terhitung 6 siklus (Suryani, 2017).

3.6.7 Uji Stabilitas Fisik

1. Uji pH

Diencerkan sebanyak 1 g gel dengan aqua destillata hingga 10 mL, kemudian pH meter dicelupkan kedalam sediaan dan dicatat hasil yang tertera (Danimayostu, 2017). pH gel harus sesuai dengan pH sediaan topikal yaitu 7-8.

2. Uji Daya Lekat

Gel sebanyak 0,25 gram ditimbang, kemudian diletakkan diantara 2 kaca preparat dan diberi beban 80 gram selama 5 menit, kemudian dicatat hasil waktu yang dibutuhkan kaca preparat jatuh.

3. Uji Daya Sebar

Gel sebanyak 0,5 gram ditimbang, kemudian diletakkan di kaca bulat bagian tengah dan diberi beban 150 gram, dibiarkan selama 1 menit, dicatat hasil diameternya.

4. Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan untuk mengetahui kekentalan dari sediaan, dimana viskositas berkaitan dengan daya alir gel. Agar gel mudah dikeluarkan dari tube dan mudah menyebar pada kulit. Pengujian viskositas menggunakan alat viskometer *brokfield*. Berikut ini prosedur untuk menguji viskositas:

- a. Gel dimasukkan kedalam wadah alumunium 100 mL
- b. Digunakan spindel 1, 2 dan 3
- c. Spindel diturunkan kedalam sediaan gel hingga batas yang tertera
- d. Spindel dijalankan
- e. Dicatat hasilnya (viskositas yang baik untuk sediaan gel adalah 2000-4000 cps).

3.7 Analisis Data

Hasil uji stabilitas fisik gel ekstrak daun beluntas dengan metode *freeze thaw* dianalisis dari hasil uji pH, daya lekat, daya sebar, dan viskositas sediaan. Untuk mengetahui pengaruh kedua sampel yang berpasangan data yang diperoleh diolah dengan menggunakan SPSS dan dilakukan uji normalitas (*Shapiro Wilk*). Jika data berdistribusi normal dilakukan uji *Paired t-test*. Apabila data tidak berdistribusi normal dilakukan uji *Wilcoxon*. Kemudian untuk mengetahui pengaruh antar formula

sesudah *freeze thaw* data diolah dengan menggunakan SPSS uji *Independent t-test* untuk data yang berdistribusi normal, apabila data tidak berdistribusi normal dilakukan uji *Mann Whitney*