

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian eksperimental. Penelitian eksperimental adalah sebagai suatu penelitian yang dengan sengaja peneliti melakukan manipulasi terhadap satu atau lebih variabel dengan suatu cara tertentu sehingga berpengaruh pada satu atau lebih variabel lain yang di ukur (Arboleda, 1981). Adapun tahapan dalam melakukan penelitian ini meliputi tahap awal, tahap pelaksanaan, dan tahap akhir.

Tahap awal dari kegiatan ini yaitu tahap formulasi yaitu perhitungan bahan dan persiapan alat yang akan digunakan dalam penelitian. Selanjutnya tahap pelaksanaan dalam penelitian ini yaitu pembuatan sediaan gel klindamisin, dan evaluasi. Lalu tahap akhir dalam penelitian ini yaitu analisis data dan interpretasi data.

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah formulasi sediaan gel Klindamisin dengan konsentrasi humektan 3%, 9%, dan 15%.

3.2.2 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sediaan gel Klindamisin dengan tiga variasi kadar humektan masing masing sejumlah 10g.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian akan dilakukan di laboratorium Farmasetika dan laboratorium Mikrobiologi Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang, pada bulan Januari – Maret 2022.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah sediaan gel Klindamisin dengan tiga varisasi konsentrasi humektan. Sedangkan variabel terikatnya yaitu aktivitas pertumbuhan bakteri pada sediaan gel Klindamisin.

Tabel 3.1 Tabel Definisi Oprasional Variabel

Variabel Bebas	Variabel	Data Oprasional	Alat ukur	Hasil ukur	Skala ukur
Sediaan gel klindamisin dengan variasi konsentrasi humektan 3%, 9%, dan 15%.	Kadar air gel klindamisin akibat perbedaan konsentrasi humektan	Menunjukkan jumlah kadar air pada sediaan gel klindamisin dengan variasi konsentrasi humektan 3%, 9%, dan 15%.	Stopwatch, anak timbangan	-	Nominal
	Pertumbuhan mikroorganisme akibat perbedaan kadar air	Menunjukkan seberapa besar pertumbuhan mikroorganisme pada sediaan gel klindamisin	Mikroskop,	Cemaran mikroorganisme tidak melebihi 10^3 koloni/g (BPOM No. 12, 2019)	Nominal

3.5 Instrumen Penelitian

3.5.1 Alat

1. Alat pembuatan sediaan gel

Alat yang digunakan dalam pembuatan sediaan gel dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (1kg), *beaker glass*, pipet, batang pengaduk, mortir, stemper, penangas.

2. Alat uji kadar air

Alat yang digunakan untuk uji kadar air adalah timbangan analitik, *crusible* porselen, oven, tang crush, desikator.

1. Alat uji pertumbuhan bakteri

Alat yang digunakan untuk uji aktivitas pertumbuhan bakteri meliputi cawan petri, *beaker glass*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, mikropipet, lampu spirtus, autoklaf, inkubator, LAF, *blue tip*, mikropipet.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi Klindamisin, CMC Na, Trietanolamin, Sorbitol, Na benzoat, Air Suling, PCA (*Plate Count Agar*), Na Benzoat 0,9%.

3.6 Formulasi Sediaan

Formula Standar	Konsentrasi
Tetrasiklin	1%
CMC Na	1%
Trietanolamin	2%
Gliserin	30%
Propilenglikol	5%
Metil Paraben	0,2%
Air Suling	100ml

Tabel 3.2 Formula Sediaan Gel

Nama Bahan	Formulasi 1	Formulasi 2	Formulasi 3	Fungsi
Klindamisin	1%	1%	1%	Bahan Aktif
CMC Na	1%	1%	1%	Gelling Agent
Trietanolamin	2%	2%	2%	Alkalizing
Sorbitol	3%	9%	15%	Humektan
Na benzoat	0,1%	0,1%	0,1%	Pengawet
Air Suling	20ml	20ml	20ml	Pelarut

Tabel 3.3 Perhitungan Bahan Gel Klindamisin

Nama Bahan	Formulasi 1	Formulasi 2	Formulasi 3
Klindamisin	0,2g	0,2g	0,2g
CMC Na	0,2g	0,2g	0,2g
Trietanolamin	0,4g	0,4g	0,4g
Sorbitol	0,6g	1,8g	3g
Na benzoat	0,02g	0,02g	0,02g
Air Suling	19,58ml	17,38ml	16,18ml

3.7 Tahapan Penelitian

3.7.1 Prosedur pembuatan sediaan gel

1. Disiapkan alat dan bahan
2. Dikalibrasikan timbangan
3. Ditimbang klindamisin, CMC Na, trietanolamin, sorbitol, Na benzoat dan air suling
4. Disiapkan air panas dalam mortir lalu taburkan CMC Na secara merata diatasnya, aduk hingga menjadi gel sempurna,
5. Ditambahkan tertrasiklin kedalam mortir, gerus hingga homogen.
6. Dimasukkan trietanolamin, sorbitol, Na benzoat, dan air suling kedalam beaker glass dan aduk hingga homogen
7. Dimasukkan larutan tersebut kedalam mortir yang berisi campuran cmc-na dan klindamisin, lalu aduk sampai homogen
8. Ditimbang sediaan untuk memastikan berat 20g, kemudian masukkan kedalam tube

(Situmorang, 2019)

3.7.2 Prosedur pembuatan kontrol negatif

1. Disiapkan alat dan bahan
2. Dikalibrasikan timbangan
3. Ditimbang klindamisin, CMC Na, trietanolamin, Na benzoat dan air suling
4. Disiapkan air panas dalam mortir lalu taburkan CMC Na secara merata diatasnya, aduk hingga menjadi gel sempurna,
5. Ditambahkan tertrasiklin kedalam mortir, gerus hingga homogen.
6. Dimasukkan trietanolamin, Na benzoat, dan air suling kedalam beaker glass dan aduk hingga homogen

7. Dimasukkan larutan tersebut kedalam mortir yang berisi campuran cmc-na dan klindamisin, lalu aduk sampai homogen
8. Ditimbang sediaan untuk memastikan berat 20g, kemudian masukkan kedalam tube

3.7.3 Prosedur Uji Kadar Air

1. Disiapkan alat dan bahan
2. Dicuti crucible porselen lalu keringkan dalam oven selama 1 jam dengan suhu 105°C
3. Ditimbang berat crucible porselen
4. Ditimbang sampel gel klindamisin lalu catat jumlah beratnya
5. Dikeringkan sampel dalam oven selama 6 jam pada suhu 106°C
6. Dikeluarkan sampel dari dalam oven dan diginkan dalam eksikator selama 15menit
7. Ditimbang kembali berat sampel setelah kering
8. Dihitung dengan menggunakan rumus

$$\frac{W - (W2 - W1)}{W} \times 100\%$$

Keterangan :

W : berat sampel

W1 : berat krus

W2 : berat krus + sampel setelah dikeringkan

(Dra. Lula Nadia, M.A., M.Si. 2018)

3.7.4 Prosedur mensterilkan alat

1. Disiapkan alat dan bahan
2. Dibersihkan alat yang akan digunakan dengan aquadest lalu dikeringkan
3. Ditutup mulut tabung reaksi menggunakan kapas, setelah itu dibungkus menggunakan kertas coklat

4. Ditutup permukaan *blue tip* yang ada di dalam erlenmeyer dengan menggunakan kapas, lalu bungkus dengan kertas coklat
5. Dibungkus cawan petri dengan menggunakan kertas coklat
6. Masukkan semua alat kedalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit

(Sri, Fadhliani, 2019)

3.7.5 Prosedur pembuatan Plate Count Agar

1. Ditimbang sebanyak 5g PCA lalu masukkan kedalam erlenmaeyer
2. Ditambahkan 220ml aquades aduk hingga homogen diatas penangas
3. Setelah mendidih tutup mulut tabung reaksi dengan kapas
4. Bungkus menggunakan kertas coklat
5. Disterilkan kedalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C

(Andriani, 2017)

3.7.5 Prosedur pengujian mikroorganisme

1. Ditimbang sampel gel 1g pada masing masing konsentrasi
2. Dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan NaCl 0,9% sebanyak 9ml, campur hingga homogen menggunakan vortex
3. Disiapkan 11 buah tabung reaksi untuk pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-3} yang sudah diisi dengan NaCl 0,9% sebanyak 9ml
4. Pipet 1 ml dari pengenceran 10^{-1} kedalam tabung reaksi untuk pengenceran 10^{-2} , lalu pipet 1ml untuk dimasukkan dalam cawan petri
5. Tambahkan ± 15 ml PCA dalam cawan petri yang sudah terisi sampel
6. Goyangkan cawan petri membentuk angka 8 diatas permukaan bidang datar secara perlahan
7. Lakukan hal yang sama pada semua sampel uji sampai pengenceran 10^{-3}

8. Setelah media dalam cawan petri mengeras, bungkus dengan menggunakan kertas coklat dalam posisi terbalik
9. Masukkan dalam inkubator dalam suhu 36°C dalam posisi terbalik selama 24 jam

(MA.85/MIK/06)

3.7 Analisis Data

Data yang didapat dari penelitian ini hasil dari pertumbuhan mikroorganisme akibat perbedaan kadar air dalam sediaan gel klindamisin, lalu dibandingkan dengan dan standar cemaran mikroorganisme yang sesuai dengan BPOM.