

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah eksperimental laboratoris murni secara *in vitro*.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian :

Pembuatan ekstrak buah *A. comosus* dan pembuatan *hand sanitizer* dilakukan di Laboratorium Biomedis FKIK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dan pengujian pengaruh ekstrak buah nanas terhadap jumlah angka kuman dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan bulan Juli - Agustus 2015.

C. Subyek Penelitian

1. Bahan Uji : Buah nanas (*A. comosus*).
2. Subyek penelitian : 16 mahasiswa Farmasi di FKIK UMY yang akan diuji jumlah angka kuman pada telapak tangan.

Perhitungan

D. Kriteria inklusi dan eksklusi

Probandus penelitian harus memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, serta menandatangani *informed consent*.

1. Kriteria inklusi

Kriteria inklusi probandus :

- a) Sehat
- b) Laki-laki usia 20-22 tahun.
- c) Mahasiswa Farmasi FKIK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- d) Aktivitas wajar baik di dalam maupun di luar ruangan, minimal 2 jam sebelum dilakukan perlakuan, tidak cuci tangan.

2. Kriteria eksklusi

- a) Terdapat luka di telapak tangan.
- b) Menggunakan kosmetik ditelapak tangan.
- c) Mengonsumsi antibiotik atau menggunakan antibiotik topikal di telapak tangan.

E. Identifikasi Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

1. Variabel Penelitian

- a) Variabel pengaruh : Ekstrak buah *A. comosus* dalam *hand sanitizer* konsentrasi 0,12% dan konsentrasi 0,24%.
- b) Variabel terpengaruh : jumlah angka kuman pada telapak tangan.
- c) Variabel terkontrol : volume gel *hand sanitizer* ekstrak *A. comosus* yang diberikan.

2. Definisi Operasional

- a) Ekstrak *A. comosus* adalah hasil ekstraksi buah *A. comosus* menggunakan metode maserasi dalam etanol 70% selama 5 hari.
- b) *Hand Sanitizer* ekstrak *A. comosus* adalah gel *hand sanitizer* ekstrak buah *A. comosus* dengan konsentrasi 0,12% dan 0,24%.

- c) Angka kuman adalah jumlah kuman yang tumbuh pada media agar PCA sebelum dan sesudah menggunakan *hand sanitizer* tanpa mempedulikan jenis kuman.

F. Instrumen Penelitian

1. Alat Penelitian

Alat yang digunakan selama penelitian dilakukan berupa penggaris, pipet ukur, pipet tetes, *blender*, tabung besar untuk maserasi, kain flanel, sarung tangan, timbangan digital, masker, alat-alat gelas yang lazim digunakan seperti gelas beker dan gelas ukur (Iwaki pyrex), oven, *aluminium foil*, ayakan, kertas saring, batang pengaduk, *rotary evaporator*, *waterbath* (IKA HB 10 digital), *paper disk*, pot gel, pH meter universal, cawan petri, pipet kapiler.

2. Bahan Penelitian

Buah Nanas (*Ananas comosus*), Etanol 70%, Media Plate Count Agar (PCA), Carbopol 940, Gliserin, TEA, dan *Aquadest*.

G. Cara Kerja

1. Pembuatan *Hand Sanitizer*

a. Determinasi Tanaman

Determinasi untuk buah nanas (*A. comosus*) dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM.

b. Identifikasi Senyawa Bromelin

Pemeriksaan uji kualitatif protein dilakukan dengan menggunakan metode Reaksi Xantoprotein (Ariyanto & Azhar, 2012). Larutan HNO_3 pekat ditambahkan dengan hati-hati ke dalam protein. Setelah tercampur sempurna akan terjadi endapan putih yang dapat berubah menjadi kuning apabila dipanaskan.

c. Pengumpulan dan Penyiapan Bahan

Buah *A. comosus* yang diperoleh di Malang dibersihkan dari pengotor, selanjutnya dicuci dibawah air mengalir sampai bersih. Buah *A. comosus* kemudian dikupas kulitnya, lalu dikeringkan dan dijemur dibawah sinar matahari yang diberikan tutup kain hitam pada bagian permukaan dengan tujuan agar simplisia tidak langsung terpapar sinar matahari dan dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan oven suhu 60°C hingga kering. Selanjutnya simplisia kering dihaluskan hingga menjadi serbuk halus. Serbuk diayak menggunakan ayakan untuk menyamakan ukuran serbuk sebelum dilakukan proses ekstraksi maserasi.

d. Cara Pembuatan Ekstrak Buah *A. comosus*

Proses ekstraksi zat aktif pada simplisia *A. comosus* penelitian ini dilakukan menggunakan metode maserasi. Pemilihan metode didasarkan pada kesederhanaan metode dan alat yang akan digunakan. Ekstraksi dilakukan dengan merendam 200 gram serbuk buah *A. comosus* dengan perbandingan 1:7 pelarut etanol 70%. Proses maserasi dilakukan selama 5 hari dengan dilakukan pengadukan setiap hari, dilanjutkan dengan remaserasi selama 2 hari. Setelah proses maserasi dan remaserasi, tahapan

selanjutnya adalah proses pengentalan filtrat dengan menghilangkan pelarutnya menggunakan *Rotary Evaporator* dengan suhu 70°C dengan kecepatan 85 rpm.

e. Formulasi *Hand Sanitizer*

Formulasi *hand sanitizer* ekstrak *A. comosus* dengan konsentrasi 0,12%, konsentrasi 0,24%, dan kontrol negatif dapat dilihat pada Tabel 1.

Bahan	Konsentrasi	Berat Bahan		
		K -	F1 (0,12%)	F2 (0,24%)
Ekstrak <i>A.comosus</i> (gram)	0%/0.12%/0.24%	0	0.06	0.12
Karbopol 940 (gram)	0.50%	0.25	0.25	0.25
Gliserin (gram)	1%	0.5	0.5	0.5
TEA (gram)	0.30%	0.15	0.15	0.15
Aquades ad (ml)	50%	50	50	50

Tabel 1.Formula sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak *A. comosus*

f. Cara Pembuatan *Hand Sanitizer*

Pembuatan gel *hand sanitizer* ekstrak *A. comosus* dimulai dengan mengembangkan basis carbopol 940 dengan air panas. Ekstrak dilarutkan dengan gliserin sampai larut sempurna. Ekstrak tersebut dicampur kedalam basis carbopol 940 yang telah mengembang. TEA ditimbang dan ditambahkan kedalam basis carbopol 940. Basis carbopol diaduk sampai sediaan mengental, air ditambahkan sedikit demi sedikit sampai 50 ml.

2. Evaluasi Sediaan Gel *Hand Sanitizer*

a. Uji Organoleptis

Pengamatan dilakukan secara langsung berkaitan dengan bentuk, warna

dan bau dari sediaan gel *hand sanitizer* ekstrak buah *A. comosus*.

b. Uji Homogenitas

Gel *hand sanitizer* ekstrak buah *A. comosus* dioleskan pada kaca preparat sebanyak 1 mg dan tutup menggunakan kaca preparat. Kaca preparat di amatisusunan homogenitas dan partikel menggunakan mikroskop perbesaran 40x.

c. Uji Viskositas

Pengujian ini dilakukan dengan cara gel *hand sanitizer* ekstrak buah *A. comosus* diukur menggunakan alat *Viskometer Brookfield*. Gel *hand sanitizer* diambil 50ml dengan gelas beker 50 ml. Gel *hand sanitizer* diletakkan pada *spindle* yang telah terpasang. Dilakukan pencatatan nilai viskositas yang terlihat pada layar digital *Viskometer Brookfield*.

d. Uji pH

Pengujian pH sediaan dilakukan dengan menggunakan pH meter yang dicelupkan kedalam 50 ml gel *hand sanitizer* ekstrak *A. comosus*, kemudian lihat pH di digital pH meter.

e. Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan dengan cara menimbang gel *hand sanitizer* sebanyak 0,5 gram. Sediaan yang sudah ditimbang diletakkan di atas gelas arloji. Disiapkan gelas arloji dan diletakkan diatas gelas arloji berisi gel yang sudah ditimbang, setelah 1 menit ukur diameter sebar. Beban 50 gram sampai 500 gram ditambahkan pada gelas arloji berisi gel *hand sanitizer*, diameter sebar pada gelas arloji di hitung dan di catat.

f. Uji Daya Rekat

Uji daya rekat dilakukan dengan mengoleskan gel *hand sanitizer* sebanyak 0,5 ml pada obyek gelas dan ditimpa obyek gelas lain. Beban 1 kg ditambahkan selama 5 menit. Ditambahkan beban 50 gram pada alat uji. Beban 1 kg diambil dan hitung waktu sampai rekatan terlepas.

3. Uji Efektifitas *Hand Sanitizer*

a. Pemilihan Subjek Uji

Responden dipilih berdasarkan kriteria inklusi, eksklusi dan mengisi *informed consent* kesediaan menjadi responden.

b. Pengelompokan Subjek Uji

Subjek uji dikelompokkan menjadi 4 kelompok :

- 1) Kelompok 1 : kelompok kontrol (+) menggunakan *hand sanitizer* merk Carex[®].
- 2) Kelompok 2 : kelompok kontrol (-) menggunakan *hand sanitizer* tanpa ekstrak buah *A. comosus*.
- 3) Kelompok 3 : *hand sanitizer* ekstrak buah *A. comosus* konsentrasi 0,12%.
- 4) Kelompok 4 : *hand sanitizer* ekstrak buah *A. comosus* konsentrasi 0,24%.

c. Pemeriksaan Jumlah Angka Kuman Sebelum Menggunakan *Hand Sanitizer* ekstrak *A. comosus*

Responden yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi mengisi *informed consent* sebagai bukti kesediaan menjadi responden. Responden

diminta untuk saling menggosok-gosokkan kedua telapak tangan agar bakteri di kedua telapak tangan homogen. Telapak tangan selanjutnya di *swab* dengan kapas steril yang telah dibasahi dengan larutan NaCl 0,9%. *Swab* dilakukan dengan diusapkan atau disapukan dengan kuat pada telapak tangan responden dengan ukuran 5 x 5 cm, pengusapan dilakukan berlawanan arah dengan garis telapak tangan. *Swab* kapas tersebut kemudian dimasukkan kedalam larutan NaCl 0,9% dan di ambil sebanyak 1 ml larut NaCl 0,9% untuk dilarutkan kedalam media agar PCA cair dalam cawan petri, secara merata dan menyeluruh. Cawan petri tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu jumlah angka kuman yang tumbuh pada media PCA dihitung dan dicatat.

d. Penggunaan *Hand Sanitizer* ekstrak *A. comosus*

Responden diberikan *hand sanitizer* sesuai dengan kelompoknya sebanyak 0,7 ml. *Hand sanitizer* diletakkan ditangan, diratakan ke kedua telapak tangan dan ditunggu waktu kontak *hand sanitizer* dengan telapak tangan selama 2 menit.

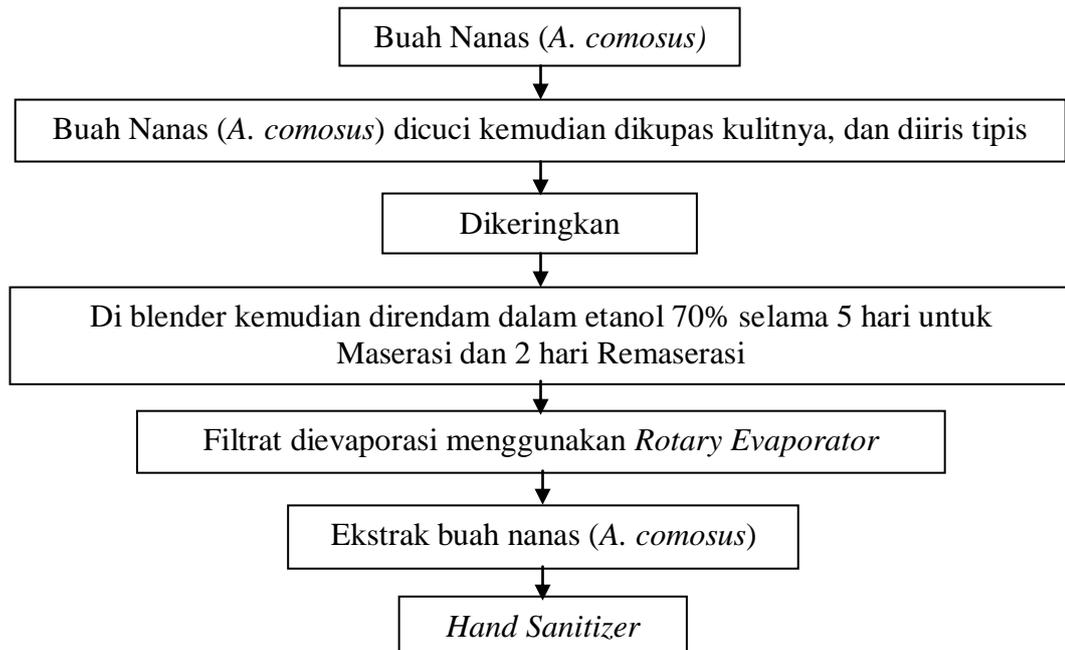
e. Pemeriksaan Jumlah Angka Kuman Sesudah Menggunakan *Hand Sanitizer* ekstrak *A. comosus*

Prosedur Pemeriksaan jumlah angka kuman sesudah menggunakan *hand sanitizer* kontrol negatif, konsentrasi 0,12%, konsentrasi 0,24% dan *hand sanitizer* merk carex[®] sama dengan

pemeriksaan jumlah angka kuman sebelum menggunakan *hand sanitizer*.

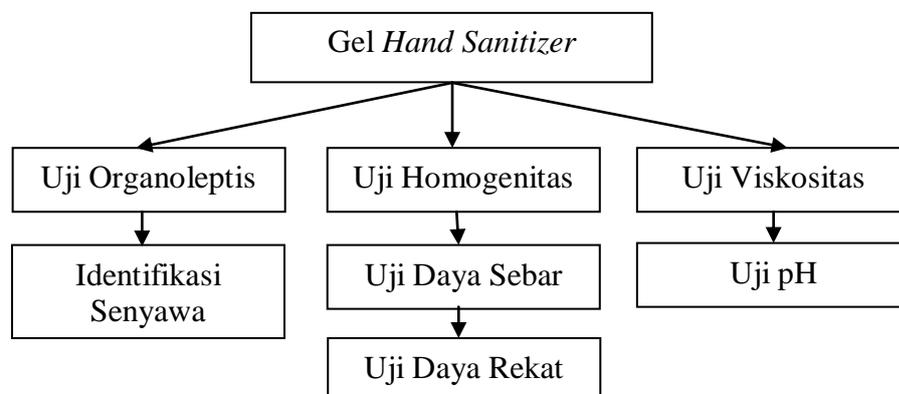
H. Skema Langkah Kerja

1. Pembuatan Ekstrak dan *Hand Sanitizer*



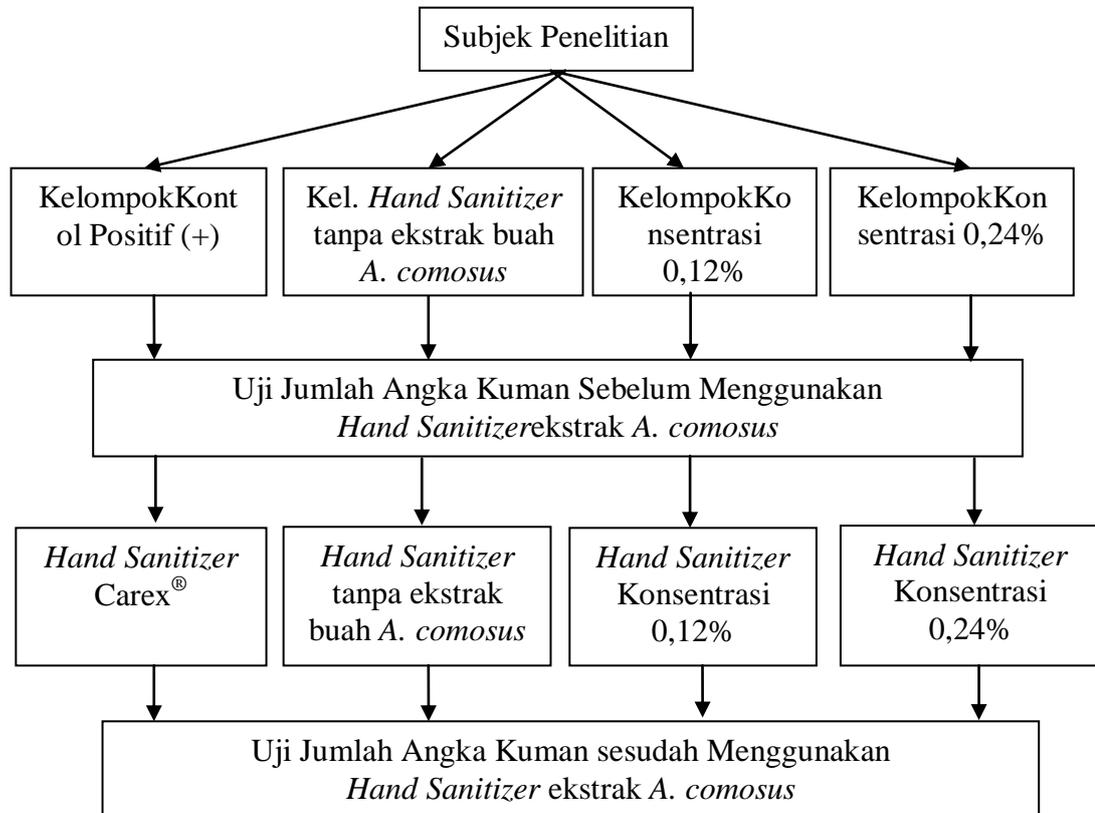
Gambar 2. Skema Langkah Kerja Pembuatan Ekstrak dan *Hand Sanitizer*

2. Evaluasi Sediaan Gel *Hand Sanitizer*



Gambar 3. Skema Langkah Kerja Evaluasi Sediaan *Hand Sanitizer* ekstrak *A. comosus*

3. Uji Efektifitas *HandSanitizer* ekstrak *A. comosus*



Gambar 4. Skema Langkah Kerja Efektifitas *Hand Sanitizer* ekstrak *A. comosus*

I. Analisis Data

Data yang didapat dari hasil penelitian berupa nilai hasil uji viskositas, uji pH, uji daya sebar dan uji daya lekat gel *hand sanitizer* ekstrak *A.comosus* dianalisis secara deskriptif. Hasil uji angka kuman sebelum (*pre*) dan sesudah (*post*) menggunakan *hand sanitizer* ekstrak *A. comosus* yang dianalisa secara statistika menggunakan uji *One Way Anova* dilanjutkan dengan uji *Tukey*.