

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode penelitian eksperimental, yaitu mengetahui efek iritasi ekstrak buah pepaya sebagai bahan aktif dalam sediaan sabun cair. Selanjutnya dilakukan uji iritasi

4.2 Variabel Penelitian

4.2.1 Variabel Bebas

Variable bebas pada penelitian kali ini adalah penggunaan kadar bahan aktif ekstrak buah pepaya (*Carica papaya L.*) pada konsentrasi 2%, 4% dan 6%

4.2.2 Variabel Tergantung

Variable tergantung pada penelitian kali ini adalah hasil uji iritasi dengan menggunakan metode HET-CAM pada sediaan sabun cair.

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

4.3.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Formulasi Sediaan Farmasi Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Malang.

4.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2023 di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Malang.

4.4 Alat dan Bahan

4.4.1 Alat penelitian

- Alat Pembuatan Sabun

Alat yang di gunakan pada pembuatan sabun yaitu timbangan analitik, beaker glass 250 ml, beaker glass 500 ml, batang pengaduk, pipet volume 10 ml, pH meter, gelas ukur 100 ml, erlenmeyer 250 ml.

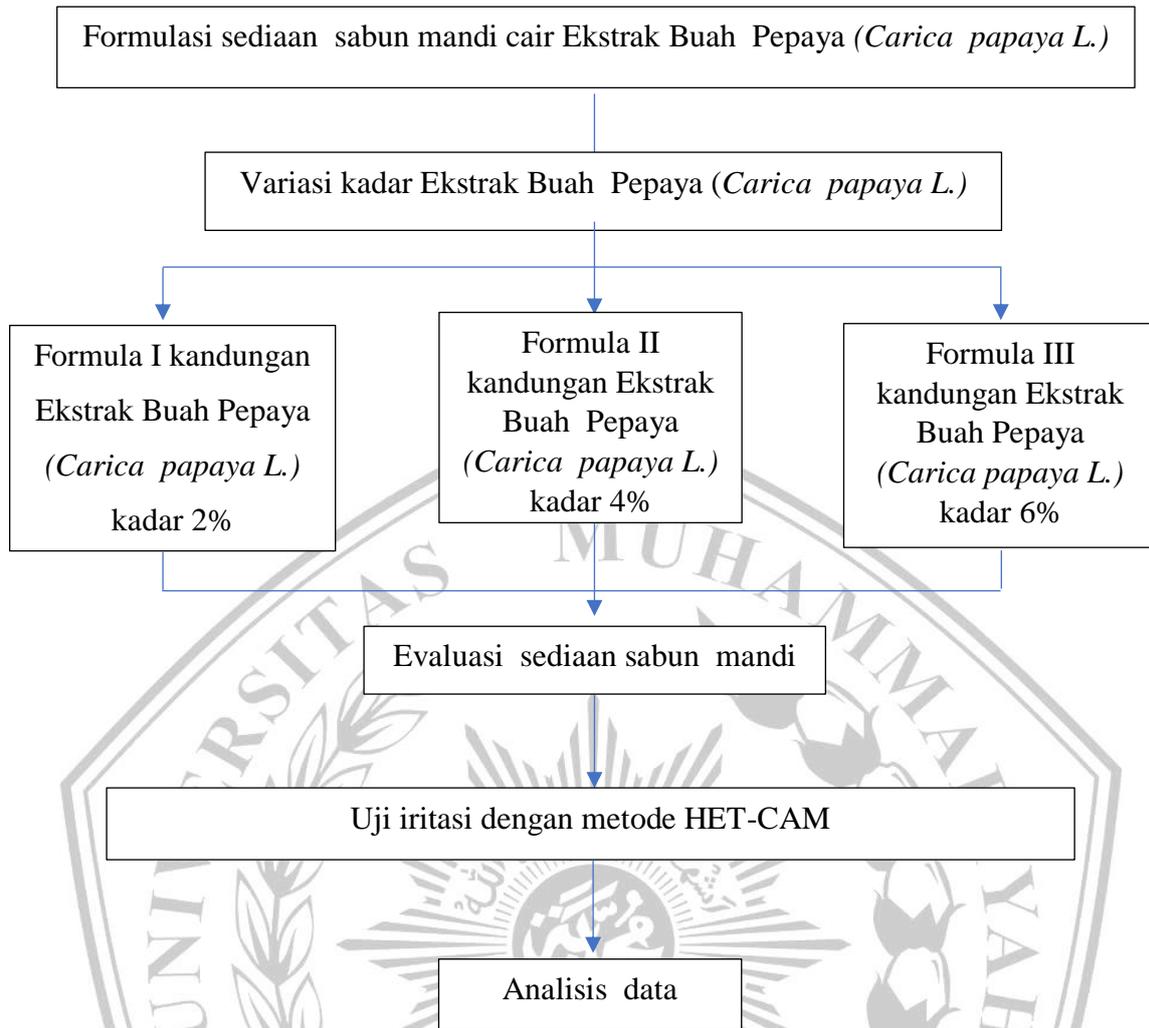
- Alat Pengujian iritasi HET-CAM
Neraca analitik digital, selotip, gantung steril, hotplate, incubator, spuit dan pinset steril.

4.4.2 Bahan Penelitian

- **Bahan Pembuatan Sabun**
Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu SLES, NaCl, cocamide dea, gliserin, Dmdm hydantoin, Na₂.EDTA, Aquadest
- **Bahan Pengujian Iritasi Metode HET-CAM**
Bahan yang digunakan pada pengujian iritasi yaitu telur ayam *leghorn*, larutan SLS, larutan asam laktat, dan larutan NaCl 0,9%.
- **Bahan uji**
Ekstrak buah pepaya : methanol 70%

4.5 Metode Kerja

Penelitian ini dilakukan dengan membuat sediaan sabun cair. Ada tiga sediaan yang mengandung bahan aktif ekstrak pepaya dengan masing-masing konsentrasi yang berbeda yaitu formula 1 dengan kadar 2%, formula 2 dengan kadar 4%, dan formula 3 dengan kadar 6%. Dari tiga formula tersebut akan di uji dengan menggunakan uji iritasi metode HET-CAM.



Gambar 4. 3 Skema kerja penelitian.

4.6 Rancangan Formulasi

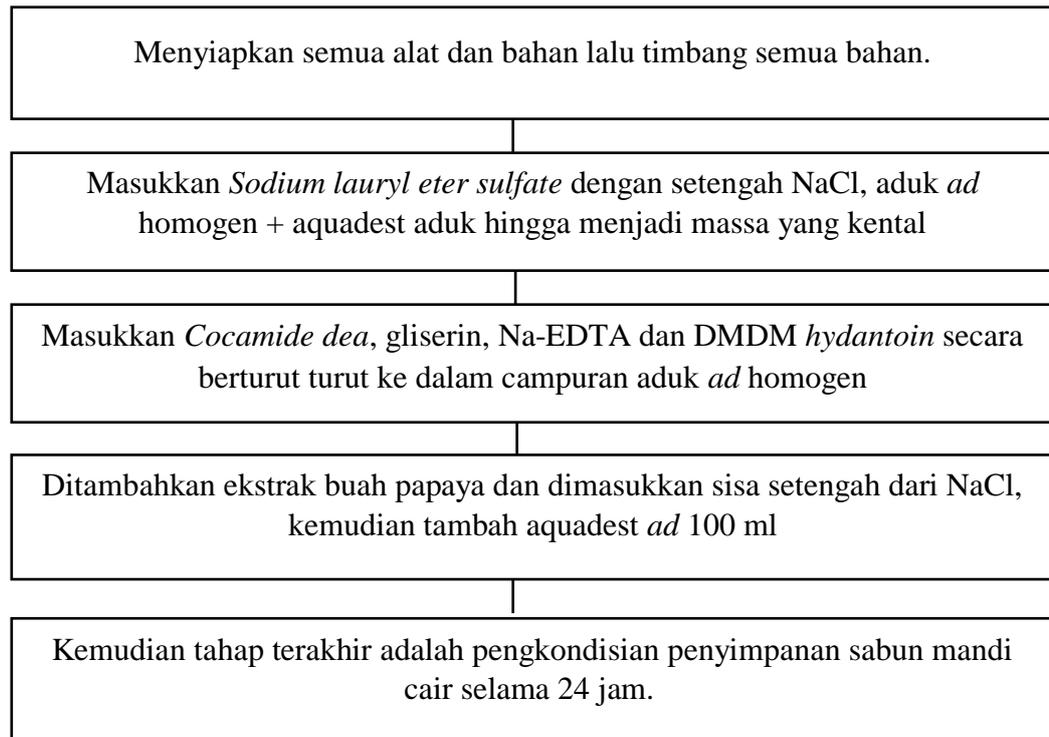
Penelitian ini akan menggunakan formula sabun cair yang mengandung bahan aktif Ekstrak buah pepaya (*Carica papaya L.*) sebagai antioksidan dengan kadar bahan aktif masing-masing 2% (formula 1), 4% (formula 2) dan 6% (formula 3). Formula Sabun Cair Ekstrak Buah pepaya sebagai Antioksidan dapat dilihat pada **tabel 4.1**

Tabel 4. 1 Formulasi sediaan sabun cair

Bahan	Konsentrasi (%) yang dipakai				Fungsi
	F0	F1	F2	F3	
Ekstrak buah pepaya	-	2	4	6	Bahan aktif
<i>Sodium Lauryl Eter Sulfate</i>	7	7	7	7	Basis / Surfaktan
NaCl	5	5	5	5	Thickening agent
Gliserin	10	10	10	10	Humektan
Coco-DEA	5	5	5	5	Surfaktan
Dmdm Hydantonin	0,2	0,2	0,2	0,2	Pengawet
Na ₂ - EDTA	0,1	0,1	0,1	0,1	Chelating agent
Parfum	qs	qs	qs	qs	Corrigen odoris
Aquadest	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	Pelarut

4.6.1 Cara Pembuatan Sediaan Sabun Cair Ekstrak Buah Pepaya

Disiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan dan ditimbang semua bahan yang dibutuhkan untuk membuat sediaan. Pada penelitian ini, pembuatan sediaan sabun mandi cair dimulai dengan membuat basis sabun cair *Sodium lauryl eter sulfate* (SLES) pada beaker glass kemudian dimasukkan NaCl setengah dari formula ke beaker glass aduk sedikit sedi sedikit *ad* terbentuk massa yang kental dan homogen lalu larutkan dengan sedikit aquadest *ad* larut kemudian ditambahkan cocamide dea aduk *ad* homogen, masukkan gliserin, Na -EDTA dan Dmdm Hydantoin secara berturut-turut kedalam beaker glass aduk *ad* homogen, masukkan ekstrak pepaya (*Carica papaya L.*) ke dalam beaker glass dan tambahkan sisa NaCl kedalam beaker glass agar didapat kekentalan yang optimal. Kemudian, masukkan aquades ad 100 ml. Terakhir, simpan sabun mandi cair selama 24 jam.



Gambar 4. 4 Skema pembuatan sediaan sabun cair

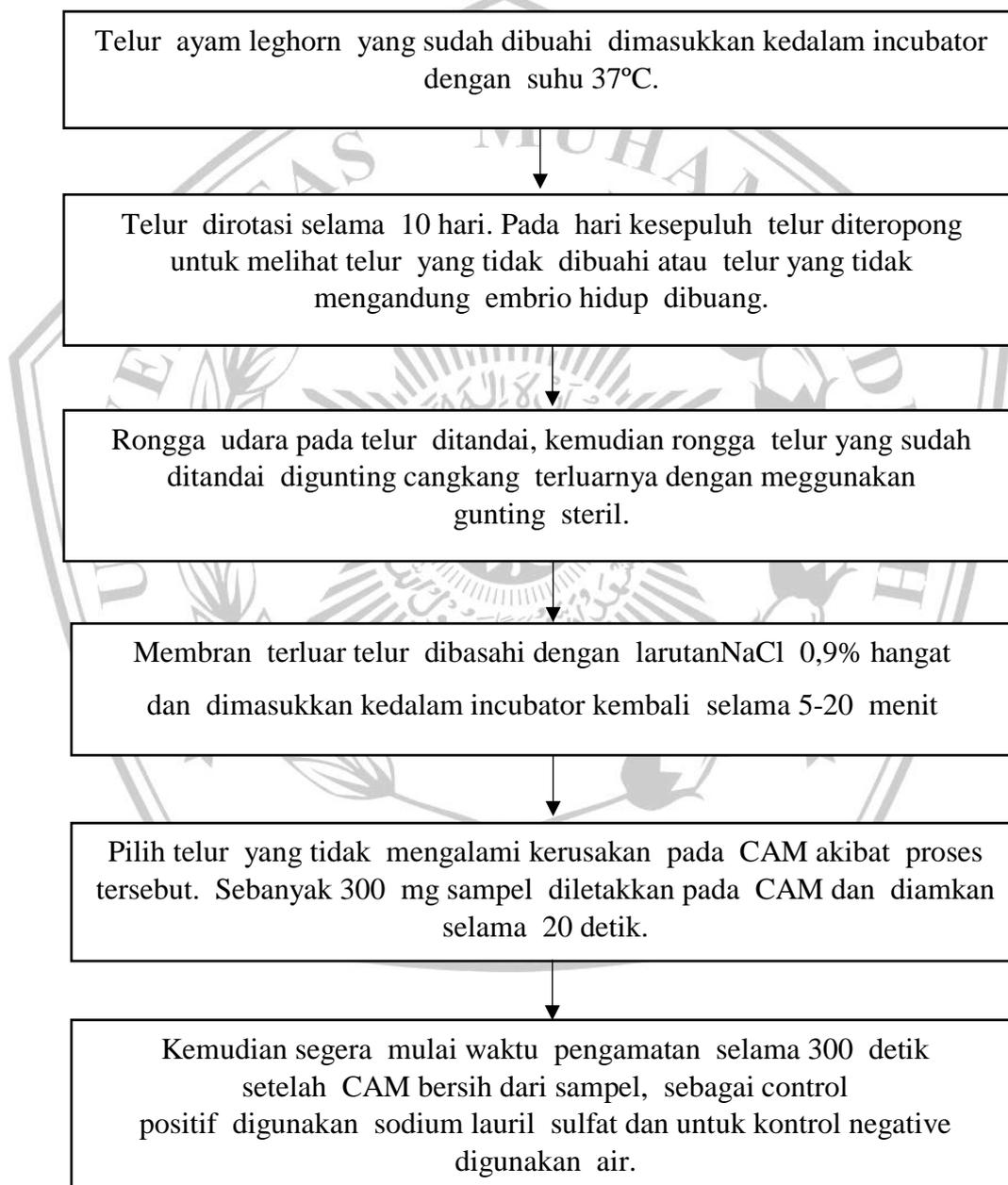
4.7 Evaluasi Sediaan

Evaluasi sediaan yang dilakukan pada sediaan sabun cair adalah uji iritasi yang dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode HET-CAM (*Hen's Egg Test Chorioallantoic Membrane*) untuk mengetahui apakah sediaan sabun cair memiliki pengaruh iritasi dengan adanya variasi kadar bahan aktif ekstrak buah pepaya (*Carica papaya L.*).

4.8 Uji Iritasi *Hen's Egg Test Chorioallantoic Membrane* (HET-CAM)

Telur ayam leghorn yang sudah dibuahi dimasukkan kedalam incubator dengan suhu 37°C. Rongga udara pada telur dipastikan berada disebalah atas lalu telur dirotasi selama 10 hari. Pada hari kesepuluh telur diteropong untuk melihat telur yang tidak dibuahi atau telur yang tidak mengandung embrio hidup dibuang. Rongga udara pada telur ditandai, kemudian rongga telur yang sudah ditandai digunting cangkang terluarnya dengan menggunakan gunting steril. Untuk mempermudah proses pengguntingan cangkang, membrane terluar pada telur dibasahi dengan menggunakan larutan NaCl 0,9% steril. Setelah cangkang terluar dibuang, membran terluar telur dibasahi dengan larutan NaCl 0,9% hangat dan dimasukkan kedalam incubator kembali selama

5-20 menit sehingga membrane terluar dapat dengan mudah diambil. Setelah membrane terluar diambil, dipilih telur yang tidak mengalami kerusakan pada CAM akibat proses tersebut. Sebanyak 300 mg sampel diletakkan pada CAM dan diamkan selama 20 detik. Setelah 20 detik CAM segera dibersihkan dengan menggunakan NaCl 0,9% steril. Kemudian segera mulai waktu pengamatan selama 300 detik setelah Cam bersih dari sampel, sebagai control positif digunakan sodium lauril sulfat dan untuk kontrol negative digunakan air. (Febriani *et al.*, 2016)



Gambar 4.5 Bagan Alir

Analisa Data

Data yang telah didapatkan pada uji *Hen's Egg Test Chorioallantoic Membrane* (HET-CAM) dihitung dengan menggunakan rumus :

$$T = \frac{301-H}{300} \times 5 + \frac{301-L}{300} \times 7 + \frac{301-C}{300} \times 9$$

Keterangan :

T :Skor iritasi

H : Waktu yang dibutuhkan untuk menimbulkan hemoragi/detik

L : Waktu yang dibutuhkan untuk menimbulkan lisis/detik

C : Waktu yang dibutuhkan untuk menimbulkan koagulasi/detik

Hasil perhitungan yang didapatkan kemudian dicocokkan dengan nilai kriteria iritasi pada tabel berikut :

Tabel 4. 2 Kriteria Iritasi (Cazedey *et al.*, 2009)

Nilai iritasi pada HET-CAM	Kategori Iritasi
0 sampai 0,9	Tidak megiritasi
1 sampai 4,9	Iritasi lemah
5 sampai 8,9 / 5 sampai 9,9	Iritasi sedang
9 sampai 21 / 10 sampai 21	Iritasi kuat