

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah seluruh objek yang menjadi sasaran dalam suatu penelitian untuk diamati atau diteliti (Notoadmodjo, 2014). Populasi dalam penelitian ini meliputi seluruh sediaan *transdermal patch* yang diformulasikan menggunakan ekstrak etanol daun pandan wangi yang berasal dari Desa Suruh, Kecamatan Suruh, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah, dengan variasi konsentrasi basis HPMC. Penelitian dilakukan di laboratorium Universitas An Nuur pada periode penelitian Februari sampai Maret tahun 2026.

2. Sampel

Sampel penelitian adalah potongan/eksemplar *patch* yang dihasilkan dari formulasi percobaan yang dipilih secara purposif dan diuji untuk parameter mutu fisik. Kriteria fisik daun pandan wangi yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daun berwarna hijau tua namun masih memiliki tekstur yang lentur, tidak terlalu muda maupun terlalu tua, berada dalam kondisi utuh tanpa kerusakan, diambil dari bagian tengah hingga ujung daun, serta dipanen pada pagi hari (Harnita *et al.*, 2025).

B. Variabel Penelitian

Variabel penelitian merupakan karakteristik, sifat, atau ukuran yang dimiliki oleh objek penelitian dan digunakan untuk menggambarkan suatu konsep tertentu. Selain itu, variabel diartikan sebagai suatu konsep yang memiliki beragam nilai atau variasi yang dapat diamati maupun diukur dalam penelitian (Notoadmodjo, 2014).

1. Variabel Independen

Variabel ini disebut dengan variabel bebas, sebab, mempengaruhi atau *independen variables* atau resiko. Variabel independen merupakan variabel yang berperan sebagai faktor penyebab atau faktor yang memengaruhi

perubahan pada variabel lain dalam suatu penelitian. (Notoadmodjo, 2014). Variabel independen dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi HPMC.

2. Variabel Dependen

Variabel ini sering disebut variabel tergantung, terikat, akibat, terpengaruh atau *dependen variables* atau variabel yang dipengaruhi. Variabel dependen adalah variabel yang menjadi hasil atau dampak yang ditimbulkan oleh variabel lainnya (Notoadmodjo, 2014). Variabel dependen dalam penelitian ini adalah Mutu fisik sediaan *transdermal patch* ekstrak daun pandan wangi.

3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang dipertahankan dalam kondisi tetap selama proses penelitian agar tidak memengaruhi hasil pengamatan terhadap variabel dependen. Pada penelitian ini, variabel kontrol meliputi komposisi bahan dasar yang digunakan serta metode pembuatan sediaan *transdermal patch*.

4. Definisi Operasional

- a. Daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Desa Suruh, Kecamatan Suruh, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah.
- b. Serbuk daun pandan wangi (*Pandanus amryllifolius* Roxb.) diperoleh dengan cara sampel yang telah diambil, dicuci, dirajang, dikeringkan, kemudian dilakukan penggilingan dan pengayakan.
- c. Pembuatan ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amryllifolius* Roxb.) serbuk dimaserasi dengan pelarut 96%. Kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* 40°C.
- d. Parameter spesifik meliputi uji organoleptis dan skrining fitokimia dengan uji tabung flavonoid dan KLT flavonoid. Parameter non spesifik meliputi uji susut pengeringan.
- e. Pembuatan sediaan *transdermal patch* yang mengandung ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dilakukan dengan menggunakan variasi konsentrasi basis HPMC sebesar 1%, 2%, dan 3%

- f. Uji mutu fisik dilakukan untuk mengetahui kualitas sediaan *transdermal patch* daun pandan wangi (*Pandanus amryllifolius* Roxb.) yang telah dibuat.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Peralatan yang digunakan untuk menunjang pelaksanaan penelitian meliputi gelas ukur (pyrex), desikator, oven, timbangan digital (acis), cawan petri, *rotary* (d-one), *waterbath*, blender, mortar dan stemper, ayakan No. 60, toples kaca, jangka sorong, penjepit kayu, pipet tetes (pyrex), kertas saring, tabung reaksi (pyrex) dan raknya, pH meter, botol kaca hitam, dan *Erlenmeyer* (pyrex), plat kromatografi, *chamber*, sinar uv.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan sebagai penunjang dalam pelaksanaan penelitian ini terdiri atas serbuk halus daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) sebagai bahan utama penelitian., HPMC (By Mart), propilenglikol (kimia jaya abadi), metil paraben (By Mart), etanol 96% (By Mart), aquadest (chemora), serbuk Mg (By Mart), HCl, H₂SO₄ (King 88), parafin cair (By Mart), asam asetat (By Mart), dan *silica gel* (Raja Kimia), n-butanol, kuarsetin, pereaksi *dragendraff*.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan identitas dan keaslian spesies tanaman yang akan digunakan sebagai bahan penelitian. Daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dideterminasi di UPF Pelayanan Kesehatan Tradisional, Kalisoro, Kecamatan Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

2. Pengumpulan bahan dan Pembuatan Simplisia Kering

Sampel daun pandan wangi diambil secara purposive sampling menurut kriteria tertentu (*non-probabilitas*). Daun diambil dari wilayah Desa Suruh, Kecamatan Suruh, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah dan dipilih berdasarkan kondisi fisik daun seperti, daun berwarna hijau tua

tetapi masih lentur, tidak terlalu muda maupun tidak terlalu tua, kondisi daun tidak rusak, ambil bagian tengah hingga ujung tengah daun. Teknik purposive sampling ini sering digunakan dalam penelitian yang memerlukan bahan baku bermutu tertentu agar konsistensi ekstrak dan hasil formulasi dapat dijamin.

Pembuatan simplisia kering dimulai dengan daun pandan wangi disortasi basah, Selanjutnya, bahan dicuci menggunakan air mengalir yang bersih untuk membersihkan kotoran yang masih melekat, kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40-60°C Proses tersebut bertujuan menurunkan kadar air sekaligus menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Setelah kering, bahan dihaluskan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk simplisia, kemudian dilakukan pengayakan (Sundari *et al.*, 2022).

3. Pembuatan ekstrak daun pandan

Ekstrak daun pandan wangi dibuat menggunakan metode maserasi dengan perbandingan serbuk simplisia dan pelarut sebesar 1:10. Sebanyak 600 g serbuk simplisia ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam bejana maserasi dan ditambahkan etanol 96% sebanyak 6 liter sebagai pelarut. Campuran kemudian didiamkan selama 6 jam pertama dengan disertai pengadukan secara berkala, kemudian didiamkan selama 18 jam. Proses maserasi dilakukan selama 5 hari. Setelah proses maserasi selesai, maserat dipisahkan dari ampas simplisia melalui sentrifugasi, dekantasi, atau filtrasi. Seluruh maserat yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan menggunakan penguap vakum, penguap bertekanan rendah, atau *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental (Kemenkes, 2022).

4. Rendeman Ekstrak

Penentuan nilai rendemen dapat dilakukan terhadap simplisia maupun ekstrak yang dihasilkan. Rendemen simplisia ditentukan berdasarkan perbandingan bobot antara simplisia kering dengan berat simplisia segar (awal) sebelum proses pengeringan. (Ardiansa *et al.*, 2024).

5. Parameter Spesifik

a. Organoleptis

Uji organoleptik adalah pengamatan awal yang dilakukan secara sederhana dan seobjektif mungkin dengan memanfaatkan pancaindra. Pengujian ini bertujuan untuk mengevaluasi karakteristik fisik sediaan, meliputi bentuk, warna, dan aroma (Kemenkes, 2022).

b. Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk memastikan bahwa ekstrak yang diperoleh tidak lagi mengandung residu etanol. Pengujian dilakukan dengan mengambil 1 mL ekstrak kental ke dalam tabung reaksi, kemudian menambahkan 2 tetes asam sulfat (H_2SO_4) dan 2 tetes asam asetat, lalu campuran dipanaskan. Ekstrak dinyatakan bebas etanol apabila setelah pemanasan tidak terdeteksi aroma ester yang menjadi karakteristik adanya etanol (Fessenden, 1982).

c. Skrining Fitokimia

1) Uji Tabung Flavonoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak ditambahkan ke dalam 10 mL metanol, lalu campuran dipanaskan. Setelah itu, ditambahkan 5 tetes asam klorida (HCl) pekat dan 0,1 g serbuk magnesium (Mg), lalu dikocok hingga homogen. Munculnya warna merah, kuning, atau jingga pada hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak positif mengandung senyawa flavonoid (Harborne, 1987).

2) Uji KLT Flavonoid

a) Pembuatan larutan sampel

Sebanyak 50 mg ekstrak kental daun pandan wangi ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 1 mL metanol hingga diperoleh larutan yang homogen. Apabila masih terdapat partikel kasar, larutan sampel disaring terlebih dahulu, kemudian digunakan sebagai sampel untuk analisis kromatografi lapis tipis (KLT). (Jannah *et al.*, 2025).

b) Aktivasi fase diam

Plat kromatografi yang digunakan adalah *silica gel* GF 254 dengan ukuran 8 x 3 cm. Plat diberi tanda menggunakan pensil dengan batas bagian atas dan bawah ditetapkan masing-masing dengan jarak 1 cm dari tepi, sedangkan garis penotolan sampel dibuat 1 cm dari bagian bawah plat. Sebelum digunakan, plat kromatografi diaktivasi dengan pemanasan dalam oven pada suhu 110°C selama 30 menit. (Jannah *et al.*, 2025).

c) Pembuatan fase gerak (eluen)

Fase gerak (eluen) yang digunakan berupa campuran *n*-butanol, asam asetat, dan air dengan perbandingan 4:1:5. Kuersetin digunakan sebagai baku pembanding, sedangkan visualisasi bercak pada plat KLT dilakukan menggunakan pereaksi Dragendorff. Kemudian dilakukan proses penjenuhan *chamber* dengan cara memasukkan kertas saring berukuran panjang ke dalam *chamber* yang telah diisi campuran fase gerak tersebut, kemudian *chamber* ditutup rapat dan dibiarkan hingga jenuh, ditandai dengan kertas saring yang telah basah seluruhnya (Jannah *et al.*, 2025).

d) Identifikasi pada plat KLT

Larutan sampel dan larutan baku pembanding kuersetin ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler, kemudian dibiarkan hingga mengering. Selanjutnya, plat KLT dimasukkan ke dalam *chamber* yang telah berisi fase gerak dan sebelumnya dijenuhkan. Setelah proses elusi selesai, plat diangkat dari *chamber* dan dikeringkan pada suhu ruang dengan cara diangin-anginkan. Plat KLT yang telah kering kemudian diamati secara visual di bawah sinar ultraviolet (UV) pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Keberadaan senyawa flavonoid ditunjukkan oleh

munculnya fluoresensi berwarna kuning. Selanjutnya, plat disemprot menggunakan pereaksi *Dragendorff* dan diamati kembali. Hasil menandakan positif ditandai dengan munculnya noda berwarna coklat atau jingga pada permukaan plat KLT (Jannah *et al.*, 2024). Setelah itu, dilakukan perhitungan nilai *Retention factor* (Rf) menggunakan rumus berikut:

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh komponen}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut}}$$

6. Parameter Non Spesifik

a. Susut Pengerinan

Susut pengeringan merupakan uji untuk menentukan penurunan bobot suatu bahan setelah mengalami proses pengeringan. Pengujian dilakukan dengan menggunakan *moisture balance* dan memanaskan selama 10 menit dengan suhu 105°. Setelah alat siap, serbuk dimasukkan ke dalam wadah sampel dan diratakan secara merata. Alat kemudian ditutup dan dibiarkan bekerja hingga lampu indikator menunjukkan proses selesai, lalu hasil pengukuran dicatat. Prosedur ini diulang sebanyak tiga kali untuk memperoleh nilai rata-rata. (Sediarso *et al.*, 2018).

7. Pembuatan *Transdermal Patch*

Sediaan *transdermal patch* ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) diformulasikan menjadi tiga variasi formula dengan perbedaan konsentrasi hidroksipropil metilselulosa (HPMC), yaitu Formula I (1%), Formula 2 (2%), dan Formula 3 (3%).

Tabel 1 Formulasi *Transdermal Patch*

Bahan	Formula (%)			Fungsi
	F1	F2	F3	
Ekstrak Daun Pandan	6	6	6	Bahan aktif
HPMC	1	2	3	Basis
Metil paraben	0,3	0,3	0,3	Pengawet
Propilenglikol	10	10	10	<i>Penetration enhancer</i>
Etanol 96%	40	40	40	Pelarut
<i>Aquadest</i>	ad 100	ad 100	ad 100	Pelarut

Cara pembuatan sediaan *Transdermal Patch* dari ekstrak etanol Daun pandan wangi (*Pandanus amryllifolius* Roxb.):

- a. Ekstrak etanol daun pandan wangi dilarutkan dengan 5 mL aquadest dan 10 mL etanol 96% hingga tercampur merata (campuran 1).
 - b. Polimer HPMC dikembangkan dengan *aquadest* panas di dalam gelas beker hingga terbentuk gel yang homogen (campuran 2).
 - c. Metil Paraben dilarutkan dalam propilenglikol (campuran 3)
 - d. Campuran 1 dimasukkan secara bertahap ke dalam campuran 2 sambil diaduk hingga tercampur secara merata. Selanjutnya, campuran 3 ditambahkan ke dalam campuran tersebut dan diaduk kembali sampai diperoleh campuran yang homogen
 - e. Etanol 96% yang masih tersisa dimasukkan ke dalam campuran, kemudian diaduk hingga seluruh komponen tercampur secara merata dan homogen. Setelah itu, *aquadest* ditambahkan secara bertahap hingga bobot total campuran mencapai 100 g.
 - f. Campuran yang telah homogen didiamkan selama ± 20 jam, kemudian dituangkan ke dalam cetakan (plat tetes) sebanyak 1 mL untuk setiap cetakan.
 - g. Cetakan yang telah berisi larutan *patch* dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 5 jam.
 - h. Setelah proses pengeringan selesai, *patch* dipindahkan kedalam desikator dan disimpan selama kurang lebih 20 jam.
 - i. *Patch* yang telah kering dilepaskan dari cetakan, kemudian disimpan dalam wadah tertutup untuk menjaga kualitas.
8. Uji Mutu Fisik Sediaan *Transdemal Patch*
- a. Uji Organoleptis

Dilakukan Pengamatan secara visual terhadap karakteristik sediaan, meliputi bentuk, warna, serta aroma yang dihasilkan (Patel, 2023).

b. Uji Keseragaman bobot

Penetapan bobot *patch* dilakukan menggunakan neraca analitik dengan cara menimbang tiga *patch* secara individual. Selanjutnya, dilakukan perhitungan bobot rata-rata, standar deviasi, dan persentase koefisien variasi (%CV). Bobot *patch* dinyatakan seragam apabila memiliki nilai $CV \leq 5\%$ (Wardani *et al.*, 2021).

$$\text{Rumus keseragaman bobot \%} = \frac{W_i - \bar{W}}{\bar{W}} \times 100\%$$

Keterangan:

W_i = bobot masing-masing sampel

$\bar{W}$ = bobot rata-rata seluruh sampel

c. Uji Susut Pengeringan

Masing-masing *patch* ditimbang sebagai bobot awal, kemudian ditempatkan dalam desikator yang mengandung silika selama 24 jam. Setelah penyimpanan, *patch* ditimbang kembali untuk menentukan persentase susut pengeringan. Tidak terdapat batas nilai khusus yang ditetapkan untuk persentase susut pengeringan pada sediaan *patch* (Patel, 2023).

$$\text{Rumus susut pengeringan \%} = \frac{W_1 - W_2}{W_2} \times 100\%$$

Keterangan:

W_1 = berat awal sampel sebelum dikeringkan

W_2 = berat sampel setelah dikeringkan

d. Uji Ketebalan

Pengukuran ketebalan *patch* dilakukan dengan mengukur masing-masing tiga *patch* pada setiap formula. Pengukuran dilakukan menggunakan jangka sorong pada bagian tengah *patch*. Ketebalan merupakan salah satu parameter yang dapat memengaruhi karakteristik fisik sediaan *patch*. Sediaan *patch* dengan ketebalan yang lebih rendah cenderung lebih nyaman dan mudah diterima dalam penggunaannya (Wardani *et al.*, 2021).

e. Uji Ketahanan lipat

Ketahanan pelipatan dilakukan dengan memberikan lipatan secara berulang pada bagian yang sama dari *patch* hingga menunjukkan adanya kerusakan atau perubahan fisik pada sediaan. Jumlah pelipatan yang dapat dilakukan hingga *patch* mengalami kerusakan digunakan sebagai nilai ketahanan lipat. Nilai ketahanan lipat yang tinggi menunjukkan bahwa *patch* memiliki karakteristik film yang baik, sehingga lebih mampu mempertahankan integritasnya dan tidak mudah patah atau robek selama penyimpanan (Wardani *et al.*, 2021).

f. Uji pH

Pengujian pH dilakukan dengan merendam *patch* selama 2 jam di dalam 10 mL *aquades*. Selanjutnya, pH sediaan diukur menggunakan pH meter dengan mencelupkan elektroda ke dalam larutan hasil rendaman *patch*. Sediaan *transdermal patch* dinyatakan memiliki pH yang sesuai apabila berada dalam kisaran 4,5–8,0 (Wardani *et al.*, 2021)

E. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengujian mutu fisik sediaan *transdermal patch* ekstrak etanol daun pandan wangi dianalisis secara deskriptif dan statistik inferensial untuk mengevaluasi pengaruh perbedaan konsentrasi HPMC terhadap karakteristik mutu fisik *patch* yang dihasilkan.

1. Analisis Deskriptif

Data hasil pengujian parameter fisik sediaan, mencakup organoleptis, keseragaman bobot, susut pengeringan, ketebalan, ketahanan terhadap pelipatan, serta pH. Data hasil pengujian selanjutnya disusun dalam bentuk tabel dan divisualisasikan melalui grafik dengan bantuan perangkat lunak Microsoft Excel.

Setiap data pengujian dihitung rata-rata (*mean*) dan simpangan baku (*standar deviasi*) dari tiga kali replikasi untuk melihat keseragaman hasil antar formulasi (Spina, 2017).

2. Analisis Statistik Inferensial

Analisis statistik dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh perbedaan konsentrasi HPMC terhadap karakteristik mutu fisik *patch*. Data yang diperoleh dari hasil pengujian kemudian diolah menggunakan perangkat lunak SPSS melalui uji One-Way ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95% dan taraf signifikansi $\alpha = 0,05$.

Keterangan:

- a. Jika $p < 0,05$, maka menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara salah satu konsentrasi HPMC terhadap mutu fisik *patch*.
- b. Jika $p > 0,05$, maka menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan.

Jika hasil analisis One-Way ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik, maka analisis dilanjutkan dengan uji Post Hoc, seperti Tukey HSD atau Duncan, untuk mengidentifikasi kelompok formulasi yang menunjukkan perbedaan signifikan antarperlakuan (Mishra *et al.*, 2019).

F. Kerangka Penelitian

Gambar 2. Kerangka Penelitian



