

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan Penelitian

Amilum Jahe Merah, kaolin, sodium sulfit, oleum sillage, aquadest, kertas saring, HCl p.a, amil alkohol p.a, gelatin 1%, FeCl₃ p.a 1%, KOH 5%, ammonia, bismuth subnitrate p.a, HgCl p.a, asam asetat anhidrat p.a, H₂SO₄ p.a, etanol 95%, sodium sulfite, *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan *Buffered Peptone Water* (BPW).

3.2 Peralatan Penelitian

Batang pengaduk, cawan petri, pipet mikro, pipet tetes, mortar, stamper, botol semprot, kompor listrik, timbangan analitik (Adam Scientific), rak tabung, spatula logam, cawan porselen, incubator, *autoclave* (Gemmyco), ayakan mesh no 20, ayakan mesh no 40, ayakan mesh no 60, ayakan mesh no 80, ayakan mesh no 100, *object glass*, *oven* (Gemmyco), *Leminar Air Flow* (LAF), *flow taster*, kaca bundar, pH meter (Neomet), anak timbangan dan alat-alat kaca.

3.3 Lokasi penelitian dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Juni 2021 dengan menggunakan metode eksperimental di Laboratorium Bahan Alam dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Buana Perjuangan Karawang.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Standarisasi Cemar Mikroba

A. Pembuatan *Buffered Peptone Water*

Timbang sebanyak 2 gram *Buffered Peptone Water* (BPW) kemudian larutkan dalam aquadest sebanyak 100 mL, aduk hingga larut. Timbang sebanyak 5 gram sampel lalu tambahkan larutan *Buffered Peptone Water* (BPW) sebanyak 50 mL Siapkan tabung reaksi 6 buah, dalam tabung reaksi pertama masukan larutan *Buffered Peptone Water* (BPW) sebanyak

9 mL dan tambahkan dengan larutan sampel sebanyak 1 mL, sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} . Tabung reaksi kedua masukan larutan *Buffered Peptone Water* (BPW) sebanyak 9 mL dan tambahkan dengan larutan pengenceran 10^{-1} sebanyak 1 mL, sehingga didapat pengenceran 10^{-2} . Tabung reaksi ketiga masukan larutan *Buffered Peptone Water* (BPW) sebanyak 9 mL dan tambahkan dengan larutan pengenceran 10^{-2} sebanyak 1 mL, sehingga didapat pengenceran 10^{-3} . Ulangi perlakuan secara duplo (Yusminar dan Wardiyah, 2017).

B. Pembuatan *Potato Dextrose Agar*

Timbang sebanyak 4,6 gram *Potato Dextrose Agar* (PDA) kemudian larutkan dalam aquadest 120 mL. Panaskan larutan *Potato Dextrose Agar* (PDA) dengan kompor listrik sambil diaduk hingga larutan jernih dan tidak ada endapan (Yusminar dan Wardiyah, 2017).

C. Uji ALT (Angka Lempeng Total)

Setelah pembuatan *Potato Dextrose Agar* selesai tutup mulut *beaker glass* dengan kapas dan *aluminium foil* dan sterilisasikan dengan *autoclave* selama 15 menit dengan tekanan 1 atm pada suhu 121°C . Setelah steril, siapkan cawan petri 6 buah, masukan 15 mL larutan *Potato Dextrose Agar* pada tiap cawan. Proses dilakukan dalam *Laminar Air Flow* agar tidak terjadi kontaminasi. Setelah itu masukkan larutan pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , dan 10^{-3} *Buffered Peptone Water* (BPW) ke dalam masing-masing cawan petri. Inkubasi selama 24-48 jam dengan suhu 37°C . Setelah inkubasi, amati dan hitung pertumbuhan bakteri pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Ulangi perlakuan secara duplo (Yusminar dan Wardiyah, 2017).

3.4.2 Skrining Fitokimia

A. Uji Alkaloid

Sebanyak 1 gram sampel dibasahkan dengan ammonia, kemudian gerus dengan mortar. Tambahkan 5 ml kloroform gerus dengan kuat, lapisan kloroform dipipet dan disaring menggunakan pipet yang disumbat dengan kapas, lalu masukan dalam tabung reaksi. Dalam tabung reaksi tambahkan

HCl 2N (1:10 v/v). Kocok kuat hingga terbentuk 2 lapisan, lapisan asam dipipet dan dibagi menjadi 3 bagian.

- Filtrat 1 : Tambahkan pereaksi Mayer, terjadi endapan atau kekeruhan menandakan hasil positif alkaloid.
- Filtrat 2 : Tambahkan pereaksi Dragendorff, terjadi endapan jingga atau coklat menandakan hasil positif alkaloid.
- Filtrat 3 : Sebagai blanko (Fikayuniar, 2020).

B. Flavonoid

Sebanyak 1 gram sampel ditambahkan dengan 50 ml air panas, dididihkan selama 5 menit kemudian saring. Filtrat yang dihasilkan ditambahkan dengan sedikit serbuk Mg dan 5 ml HCl 2N. Lalu tambahkan amilalkohol kocok kuat dan biarkan memisah. Terbentuk warna kuning hingga merah (atau suatu warna ekstrak tertentu) yang ditarik dengan dengan amilalkohol menandakan hasil positif flavonoid (Fikayuniar, 2020).

C. Polifenolat

Sebanyak 50 mg sampel masukan dalam tabung reaksi dididihkan dalam 50 ml air selama 15 menit, kemudian dinginkan dan disaring (Filtrat A). Dalam filtrat A tambahkan pereaksi FeCl_3 1%. Terbentuk warna biru atau hitam menandakan hasil positif polifenolat (Fikayuniar, 2020).

D. Tannin

Sebanyak 50 mg sampel masukan dalam tabung reaksi dididihkan dalam 50 ml air selama 15 menit, kemudian dinginkan dan disaring (Filtrat A). dalam filtrat A tambahkan gelatin 1%. Terbentuknya endapan putih menandakan hasil positif tannin (Fikayuniar, 2020).

E. Kuinon

Sebanyak 50 mg sampel masukan dalam tabung reaksi dididihkan dalam 50 ml air selama 15 menit, kemudian dinginkan dan disaring (Filtrat A). Dalam filtrat A tambahkan larutan KOH 5%. Terbentuknya warna kuning hingga merah menandakan hasil positif kuinon (Fikayuniar, 2020).

F. Saponin

Sebanyak 50 mg sampel masukan dalam tabung reaksi dididihkan dalam 50 ml air selama 15 menit, kemudian dinginkan dan disaring (Filtrat A). Sejumlah filtrat A, dikocok vertikal dalam tabung reaksi selama 10 detik. Terbentuknya busa yang persisten kurang lebih selama 10 menit menandakan hasil positif saponin (Fikayuniar, 2020).

G. Triterpenoid dan steroid

Sebanyak 1 gram sampel digerus dengan 5 ml eter, kemudian pipet dengan pipet yang disumbat kapas (filtrat B). Filtrat B dimasukan dalam cawan penguap, kemudian dibiarkan menguap hingga kering. Dalam residu teteskan 2 hingga 3 tetes pereaksi *Liebermann Buchard*. Terbentuk warna ungu menandakan hasil positif triterpenoid, sedangkan terbentuknya warna biru atau hijau menandakan hasil positif steroid (Fikayuniar, 2020).

3.4.3 Pembuatan Sediaan Masker

A. Formulasi Sediaan Masker

Formulasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

Tabel 3.1 Formulasi Sediaan Masker

No.	Komposisi	Kegunaan	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)
1.	Amilum Jahe Merah	Pengisi	15	17	20
2.	Kaolin	Absorbent	85	83	80
3.	Natrium Sulfit	Pengawet	0,1	0,1	0,1
4.	Ol. Sillage	Pewangi	2 gtt	2 gtt	2 gtt

B. Pembuatan Sediaan Masker

Pembuatan masker serbuk dilakukan dengan metode granulasi kering. Pertama timbang semua bahan, kemudian campurkan amilum Jahe Merah dengan kaolin dan sodium sulfit gerus hingga homogen selanjutnya tambahkan oleum sillage setelah itu massa diayak dengan ayakan mesh no 20.

3.4.4 Evaluasi Fisik Granul

A. Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan mengamati perubahan warna, bau dan bentuk (Rohmani dan Dian, 2016).

B. Uji Laju Alir dan Sudut Istirahat

Uji laju daya alir dilakukan dengan cara, menimbang serbuk sampel sebanyak 10 gram kemudian dimasukkan kedalam corong yang disumbat bagian bawahnya. Corong diletakkan terlebih dahulu pada statif dan klem dengan tinggi dasar corong 0,25 inci yang dibawahnya ada kertas grafik. Setelah itu, catat waktu mengalir granul pada corong hingga selesai mengalir dengan *stopwatch*. Sedangkan uji sudut istirahat, tinggi tumpukan granul dari uji laju alir sebelumnya diukur menggunakan jangka sorong. Setelah itu, diukur diameter tumpukan granul kemudian dihitung sudut istirahatnya (Ismail *et al.*, 2014).

C. Uji Ukuran Partikel

Sejumlah 10 gram granul ditimbang, kemudian diayak dengan ayakan bersusun dengan nomor mesh 20, 40, 60, 80 dan 100 selama 5 menit. Granul tersebut kemudian ditimbang sesuai dengan nomor mesh pada ayakan. Ukuran granul dinyatakan dengan satuan mm sesuai dengan diameter ayakan yang dilewati oleh seluruh granul (Ismail *et al.*, 2014).

3.4.5 Evaluasi Fisik Pasta

A. Uji Daya Sebar

Sejumlah 1 gram sediaan diletakkan ditengah kaca bulat berskala. Diatas kaca diberi pemberat sebanyak 2 gram, 4 gram, 6 gram dan diamkan selama 1 menit. Kemudian catat diameter penyebarannya (Ismail *et al.*, 2014).

B. Uji pH

Larutkan sediaan dalam 200 mL aquadest kemudian pH diukur dengan alat pH meter (Rahmawati *et al.*, 2016). pH sediaan disesuaikan dengan pH kulit yaitu berada pada rentang 4,5-6,5 (Fauziah *et al.*, 2020).

C. Uji Homogenitas

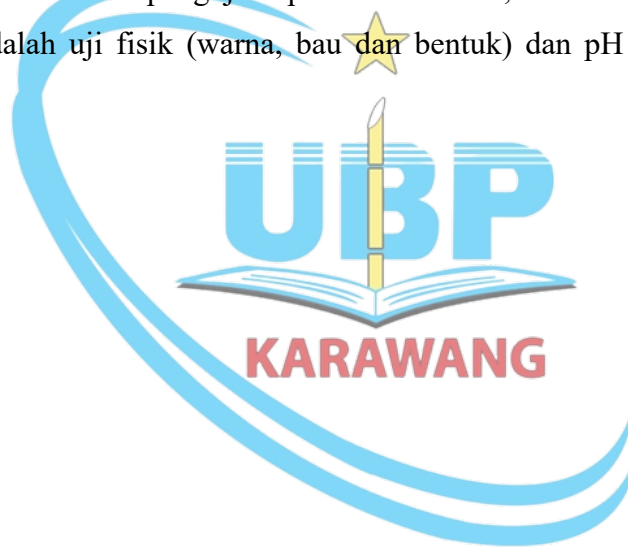
Sejumlah 0,1 gram sediaan dioleskan pada kaca transparan lalu amati bagian yang tidak tercampur dengan baik (Rohmani dan Dian, 2016).

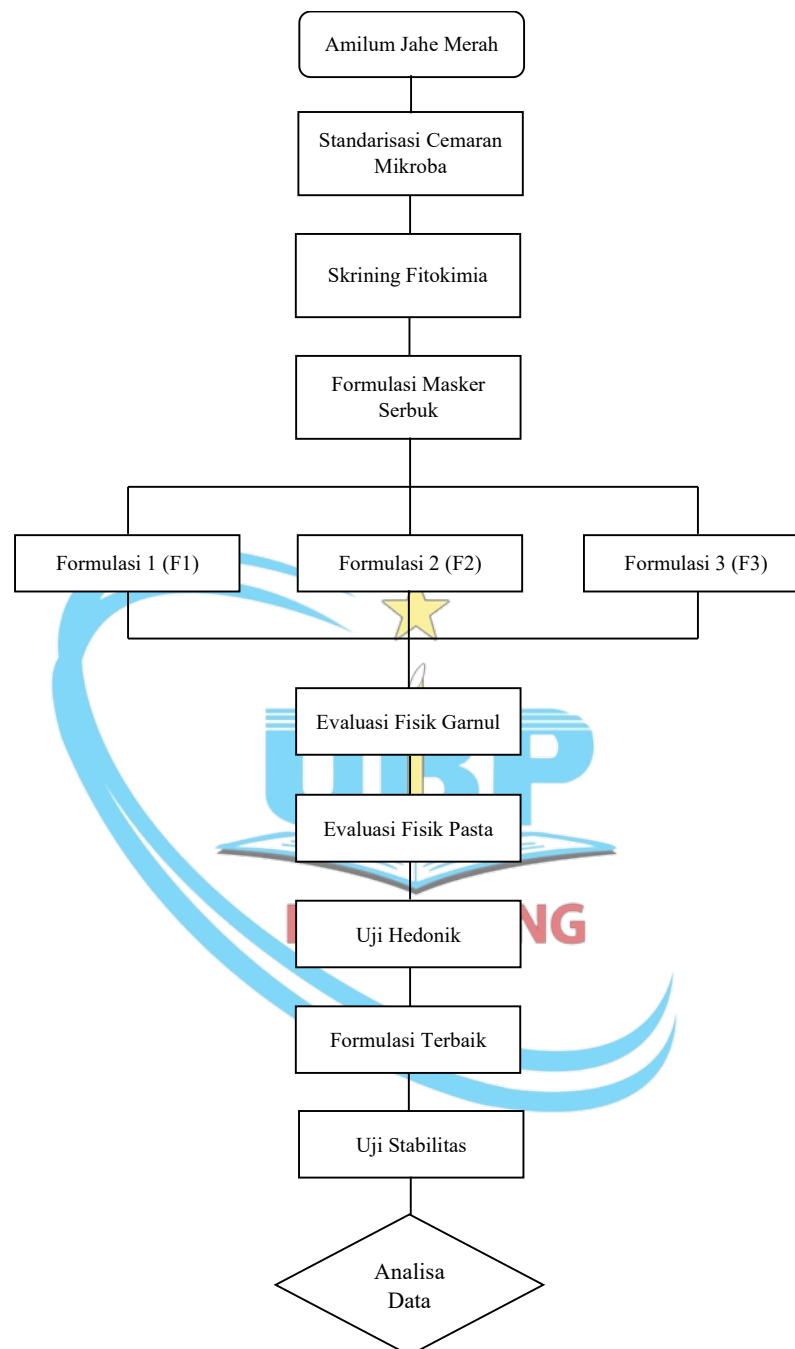
3.5 Uji Hedonik

Uji hedonik dilakukan dengan mengamati tekstur, warna dan aroma. Rentang penilaian adalah 1: sangat tidak suka, 2 : tidak suka, 3 : netral, 4 : suka, 5 : sangat suka (Wulandari *et al.*, 2019).

3.6 Uji Stabilitas

Uji stabilitas dilakukan dengan cara menempatkan sediaan dalam kemasan kedap udara dengan suhu dipercepat 40° C. Penyimpanan dilakukan selama 12 minggu dan dilakukan pengujian pada hari ke 30, 60 dan 90. Pengujian yang dilakukan adalah uji fisik (warna, bau dan bentuk) dan pH (Prasetyorini *et al.*, 2015).





Gambar 3.1 Diagram Alir Prosedur Penelitian

3.5 Analisis Data

Analisa data dilakukan dengan pengolahan SPSS metode ANOVA untuk memebandingkan formula 1, formula 2 dan formula 3.