

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Bahan Penelitian**

Amilum Lempuyang Gajah, kaolin, *sodium sulfite*, aquadest, methanol, diklorometan, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> p.a, HCl p.a, amil alcohol p.a, logam, Mg, etanol 95%, bismuth subnitrate p.a, KI p.a, KOH 5%, gelatin 1% HgCl p.a, asam asetat anhidrat p.a, oleum lotus, media *Potato Dextrose* (PDA) dan *Buffered Peptone Water* (BPW).

#### **3.2 Alat Penelitian**

Erlenmeyer (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), batang pengaduk, cawan petri, mikro pipet (Fisherbrand), pipet takar (Pyrex), *beaker glass* (Pyrex), *autoclave* (Gemmyco), mortar, stamper, kertas saring, kaca arloji, cawan penguap, timbangan analitik (Adam Scientific PW254), kompor listrik (maspion), corong kaca (Pyrex), botol semprot, batang bengkok, kaca bundar, rak tabung reaksi, penjepit kayu, spatula logam, thermometer, oven (Gemmyco), *Leminar Air Flow* (LAF), *flow tester*, ayakan mesh no 20, ayakan mesh no 40, ayakan mesh no 60, ayakan mesh no 80, ayakan mesh no 100, *object glass*, kaca bundar, pH meter (Neomet Ph-2401, gj-7726) dan anak timbangan.

#### **3.3 Lokasi Penelitian dan Waktu Penelitian**

Lokasi penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari-Mei 2021 di Laboratorium Bahan Alam Universitas Buana Perjuangan Karawang.

#### **3.4 Prosedur Penelitian**

##### **3.4.1 Prosedur Analisis Angka Lempeng Total (ALT)**

###### **A. Pembuatan larutan *Buffered Pepton Water* (BPW)**

Timbang 2,5gram BPW masukkan pada beaker glass lalu larutkan dengan 100 ml aquadest aduk hingga larut. Siapkan 6 tabung reaksi masing-masing berisikan 9 ml larutan BPW. Kemudian timbang serbuk amilum sebanyak 5gram larutkan dengan larutan BPW sebanyak 50 ml aduk hingga larut. Ambil 1 ml larutan amilum menggunakan gelas ukur kemudian

masukkan kedalam tabung reaksi pengenceran  $10^{-1}$ . Sebanyak 1 ml pengenceran  $10^{-1}$  dipipet menggunakan *micro pipet* ke dalam tabung reaksi  $10^{-2}$  lalu dihomogenkan. Kemudian 1 ml larutan pengenceran  $10^{-2}$  dipipet menggunakan *micro pipet* ke dalam tabung reaksi  $10^{-3}$ . Proses pengenceran dilakukan secara duplo (Putri et al., 2020)

#### **B. Pembuatan Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)**

Timbang media PDA 5,6gram kemudian larutkan dengan 90 ml aquadest diatas kompor listrik 16 diaduk perlahan menggunakan batang pengaduk sampai jernih dan tidak terdapat endapan. Angkat tabung Erlenmeyer dan diamkan sampai  $45-50^{\circ}\text{C}$ , lalu tutup mulut botol dengan kapas dan dilapisi *aluminium foil*. Lalu disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah sterilisasi selesai kemudian lanjutkan dengan membagi larutan media PDA ke dalam 6 cawan petri masing-masing  $\pm 15$  ml 16ambal dimasukkan larutan pengencer amilum  $10^{-1}$  pada cawan pertama hingga cawan ketiga pada larutan  $10^{-3}$  dan perlakuan dilakukan secara duplo. Proses dilakukan didalam *Laminar Air Flow* (LAF) agar tidak terjadi kontaminasi (Putri et al., 2020)

### **3.4.2 Standarisasi Amilum Lempuyang Gajah**

#### **A. Uji Angka Lempeng Total (ALT)**

Homogenkan sampel dalam larutan pepton pengencer PDF (*Pepton Dilution Fluid*) dan diperoleh pengenceran  $10^{-1}$ . Lalu dipipet sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung pertama yang sudah berisi 9 ml larutan pengencer PDF sehingga diperoleh pengenceran  $10^{-2}$ . Kocok Campuran hingga homogen. Lakukan pengenceran hingga diperoleh pengenceran bertingkat  $10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}$  dan seterusnya. pipet sebanyak 1 ml dari tiap hasil pengenceran lalu dimasukkan ke dalam cawan petri dan dibuat duplo. tuang media Plate Count Agar (PCA) sebanyak 10-20 ml ke dalam setiap cawan petri. Lalu cawan petri digoyangkan secara perlahan agar sampel dapat tercampur rata dengan pembedihan. Setelah media membeku, cawan petri diinkubasi pada suhu  $35-37^{\circ}\text{C}$  selama 24-48 jam dengan posisi terbalik.

Jumlah koloni bakteri yang tumbuh dari sampel diamati dan dihitung (Yusminar *et al.*, 2017)

(Yusminar *et al.*, 2017)

### 3.4.3 Uji Skrining Fitokimia

Pemeriksaan metabolit sekunder dilakukan dengan metode skrining fitokimia sebagai berikut:

#### A. Uji Alkaloid

Sebanyak 1 gram serbuk amilum dibasakan dengan ammonia, kemudian dihaluskan menggunakan mortir. Tambahkan 5 ml kloroform lalu gerus dengan kuat. Larutan kloroform 17 dipipet sambil disaring menggunakan pipet yang sudah disumpal dengan kapas, Kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi. lalu tambahkan HCL 2N (1:10 v/v) kedalamnya kemudian dikocok dengan kuat hingga membentuk 2 lapisan. Lapisan asam dipipet, lalu dibagi menjadi 3 bagian. Filtrat 1: Tambahkan pereaksi Mayer, bila terjadi kekeruhan atau terdapat endapan putih maka menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Filtrat 2: Tambahkan pereaksi Dragendorff, bila terjadi endapan jingga atau coklat maka menunjukkan adanya alkaloid. Filtrat 3 : Digunakan sebagai blanko. (Fikayuniar, 2020)

#### B. Uji Flavonoid

Sebanyak 1gram serbuk amilum ditambahkan 50 ml air panas, kemudian di didihkan selama 5 menit kemudian disaring. Tambahkan sedikit serbuk Mg dan 5 ml HCl 2N ke dalam filtrat yang dihasilkan. Lalu tambahkan amilakohol, lalu kocok dengan kuat dan biarkan hingga memisah. Bila terbentuk warna kuning hingga merah (atau suatu warna amilum tertentu) yang dapat ditarik dengan amilalkohol maka menunjukkan adanya flavonoid (Fikayuniar, 2020)

#### C. Uji Polifenolat

Sebanyak 50 mg serbuk amilum di didihkan dalam tabung reaksi dengan 50 ml air selama 15 menit, lalu di dinginkan dan disaring (Filtrat A). Tambahkan larutan FeCl 1% ke dalam filtrat. Bila terbentuk warna biru-hitam maka menunjukkan adanya polifenolat (Fikayuniar, 2020).

#### D. Uji Tanin

Tambahkan larutan gelatin 1% ke dalam Filtrat A. bila terbentuk endapan putih maka menunjukkan adanya tannin (Fikayuniar, 2020)

#### E. Uji Kuinon

Tambahkan larutan KOH 5% kedalam Filtrat A. bila terbentuk warna kuning hingga merah maka menunjukkan adanya golongan kuinon (Fikayuniar, 2020)

#### F. Uji Saponin

Filtrat A dalam tabung reaksi dikocok secara vertikal selama 10 detik. Bila terbentuk busa yang persisten pada penambahan HCl atau pendiaman selama kurang lebih 10 menit, maka menunjukkan adanya golongan saponin (Fikayuniar, 2020)

### 3.5 Pembuatan Sediaan Masker

#### A. Formulasi Tabel Formulasi Sediaan Masker Serbuk

Formulasi yang digunakan dalam penelitian ini sebagai berikut:

**Tabel 3.1** Formulasi Sediaan Masker Serbuk

No	Komposisi	Formula %			Kegunaan
		F1	F2	F3	
1	Amilum Lempuyang Gajah	18	20	22	Pengisi
2	Kaolin	81	79	77	Adsorben
3	Sodium Sulfite	0,1	0,1	0,1	Pengawet
4	Oleum Lotus	2 gtt	2 gtt	2 gtt	Pewangi

#### 3.5.1 Prosedur Pembuatan

Timbang semua bahan yang akan digunakan yang terdiri dari zat pengisi, adsorben dan pengawet. Kemudian setelah semua bahan ditimbang masukkan Amilum Lempuyang Gajah dan kaolin ke dalam mortar lalu digerus sampai homogen. Kemudian masukkan sodium Sulfite ke dalam mortar yang berisikan Amilum Lempuyang Gajah dan kaolin lalu digerus hingga homogen selanjutnya

tambahkan oleum Kemudian dilanjutkan dengan massa diayak dengan ayakan mesh no 20.

### 3.6 Evaluasi Fisik Masker Serbuk

Pada evaluasi fisik dilakukan penelitian terhadap sediaan masker serbuk dari Amilum Lempuyang Gajah meliputi:

#### A. Uji Organoleptik

Amilum diamati menggunakan parameter pengujian berdasarkan perubahan bentuk, warna dan bau menggunakan indra penciuman penglihatan, dan pengecap terhadap sediaan masker serbuk dari Amilum Lempuyang Gajah (Ismail et al., 2014)

#### B. Uji Ukuran Partikel

Serbuk sampel ditimbang sebanyak 10 gram, lalu diayak dengan pengayakan bersusun menggunakan nomor mesh 5,10,18 dan 40 selama 5 menit. Kemudian dari masing-masing nomor mesh granul ditimbang. Ukuran granul dinyatakan dengan satuan  $\mu\text{m}$  sesuai dengan diameter ayakan yang dilewati oleh 100% granul (Ismail et al., 2014)

#### C. Uji Laju Alir dan Sudut Istirahat

Timbang serbuk amilum sebanyak 10gram lalu masukkan pada corong yang telah disumbat bagian bawahnya. Letakan corong pada statif dan klem dengan tinggi dasar corong 0,25 inci yang dibawahnya terdapat kertas. Kemudian hitung waktu granul mengalir pada corong hingga berhenti mengalir menggunakan *stopwatch*. Pengujian sudut istirahat dilakukan dengan mengukur tinggi tumpukan dari serbuk masker menggunakan jangka sorong. Setelah diukur diameter tumpukan serbuk lalu dihitung sudut istirahatnya (Ismail et al., 2014)

### 3.7 Evaluasi Fisik Pasta

#### A. Uji Daya Sebar

Timbang sampel yang telah berbentuk pasta sebanyak 1gram lalu letakkan ditengah-tengah kaca transparan yang dibawahnya sudah ada kertas grafik. Lalu ditutup dengan kaca transparan lalu diamkan selama 1 menit. Lalu diameter daya sebar sampel masker serbuk diukur. Kemudian

tambahkan berat 2gram dan diamkan selama 1 menit. Kemudian diukur Kembali diameter sebaran maskernya. Setelah itu, lakukan perlakuan yang sama dengan beban 4gram dan 6gram secara terus menerus. Kemudian diukur diameter sebar sediaan (Ismail et al., 2014)

### **B. Uji pH**

Sebanyak 1 gram sampel masker serbuk amilum lempuyang gajah ditambahkan 10 ml aquadest hingga membentuk pasta yang kemudian diukur pH sediaan dengan mencelupkan pH meter ke dalam sediaan masker serbuk yang sudah ditambahkan aquadest (Numberi et al., 2020)

### **C. Uji Homogenitas**

oleskan sampel sediaan yang sudah berbentuk pasta pada lempeng kaca dengan merata, lalu amati secara homogenitas dan visual dari sediaan masker serbuk (Ismail et al., 2014)

### **3.8 Uji Hedonik**

Uji hedonik dilakukan terhadap kesukaan pada warna, tekstur dan aroma. Rentang penilaian yang digunakan adalah 1= Sangat tidak suka, 2= Tidak suka, 3= Netral, 4= Suka 5= Sangat suka. Uji hedonik dilakukan oleh 10 orang panilis dengan kriteria umur 18 tahun keatas. (Wulandari *et al.*, 2019)

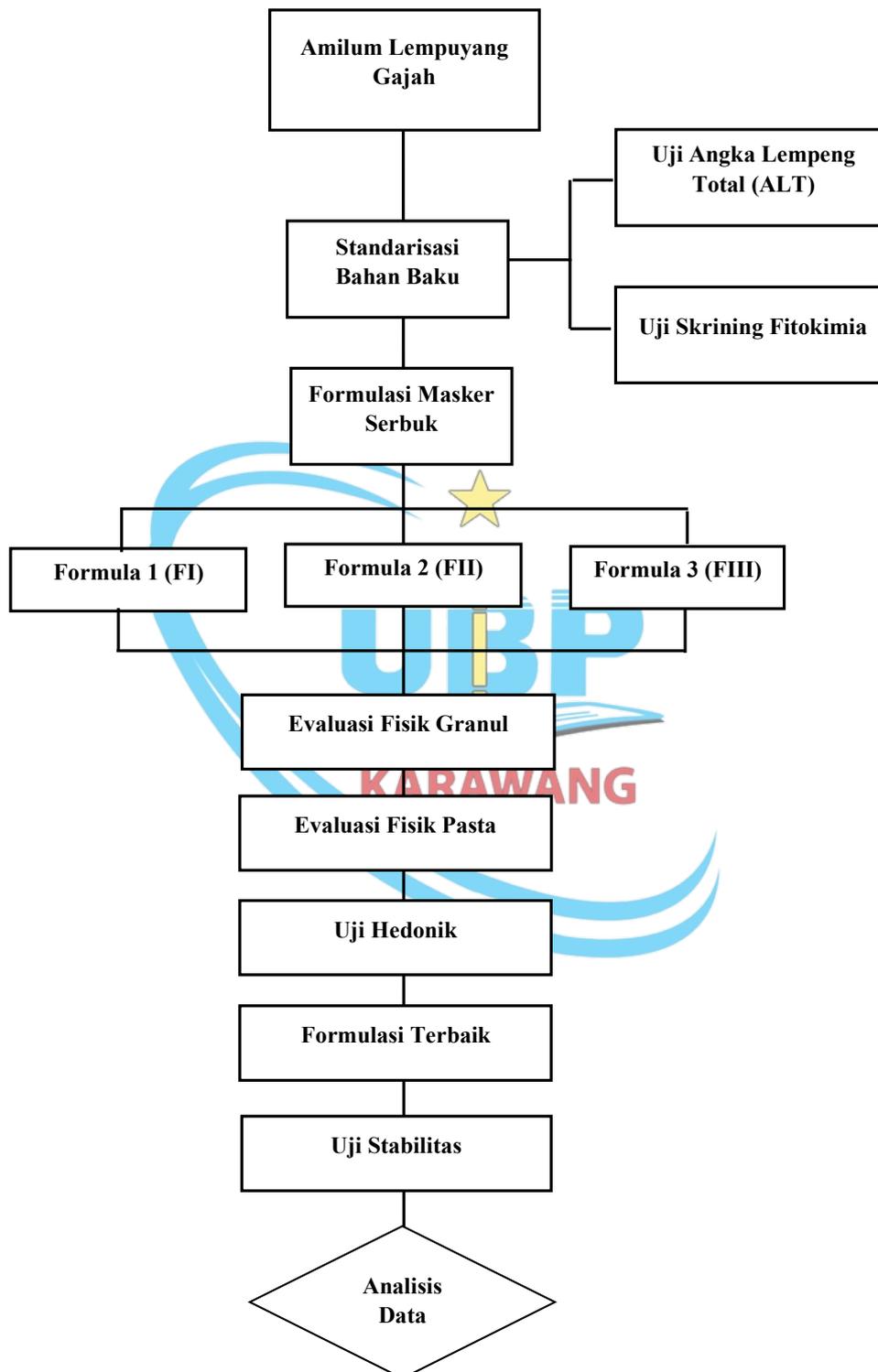
### **3.9 Uji Stabilitas Dipercepat**

Formula masker serbuk Amilum Lempuyang Gajah diuji dengan memperhatikan bentuk, warna bau, dan pH selama penyimpanan pada suhu 40°C. penyimpanan dilakukan selama 12 minggu dan dilakukan pengujian pada hari ke-30, 60 dan 90. (Prasetyorini et al., 2015).

### **3.10 Analisis Data**

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

### 3.11 Diagram Alir



Gambar 3. 1 Alur Penelitian