

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Quasi Experimental Design, Penelitian ini dibuat dengan membuat formulasi dan melakukan evaluasi fisik sediaan *Deodoran roll on* yaitu uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH, uji iritasi, uji Pengemasan sediaan *Deodorant roll on*. Selanjutnya dilakukan pengujian efektivitas antibakteri sediaan *Deodorant Roll-On* methanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermis*.

3.2 Sampel

Sampel yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan *Deodorant Roll-On* dengan variasi ekstrak metanol Buah mahkota Dewa 6,25%, 7,25% dan 8,25%

1.2.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Ekstrak Buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*), carbopol, Triethanolamine, etanol 96%, Natrium bisulfit, propylene glycol, aquadest, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, Nutrien agar (NA), dan larutan standar Mc Farland (0,5), HCL 2 N, FeCl₃ 1%, Gelatin 1%, dan serbuk Mg.

1.2.2 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kemasan botol plastik atau kaca yang terdapat bola roll-on, ose, Erlenmeyer (*Pyrex*), beaker glass (*Pyrex*), labu ukur (100 ml) (*Pyrex*), tabung reaksi (*Pyrex*), gelas ukur (*Pyrex*), pipet tetes, rak tabung reaksi, timbangan analitik (*New tech*), cawan arloji, cawan porselen (50 ml), gelas ukur (50 ml) (*Iwaki*), Beaker glass (50 ml) (*Pyrex*), corong glass (*Pyrex*), mikropipet (*Fisherbrand*), kaca objek, sudip, mortar dan stamper, *Paper disc* (*Oxoid*), pH meter digital (827 pH lab *Methrom*), batang pengaduk, corong glass (*Pyrex*), Rotary evaporator (*IKA*), Laminar Air Flow (LAF) (*Mascote*), inkubator (*Gemmyco*), kertas saring, aluminium foil, kertas perkamen, dan autoklaf (*Gea*), *Spiritus*.

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian dilaksanakan di Laboratorium bahan alam, laboratorium teknologi Universitas Buana Perjuangan Karawang. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Desember 2021 – Juni 2022.

3.4 Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

Variabel bebas yang terlibat pada penelitian ini adalah tiga formulasi Deodoran roll on ekstrak metanol Buah mahkota dewa meliputi: F1: Konsentrasi 6,25%; F2: Konsentrasi 7,25%; dan F3: Konsentrasi 8,25%.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah evaluasi fisik sediaan meliputi (Pengujian organoleptis, Uji homogenitas, uji pH, uji viskositas, Uji pengemasan sediaan) dan pengujian efektivitas antibakteri.

3.5 Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional variabel yang terdapat pada penelitian ini dijelaskan pada **Tabel 3.1.** sebagai berikut:

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
Variabel Bebas						
1	Variabel bebas: Menghilangkan bau badan dengan menggunakan sediaan deodorant tipe roll-on dari ekstrak metanol buah mahkota dewa sebagai antibakteri penyebab bau badan.	Konsentrasi Ekstrak buah mahkota dewa yang diformulasikan dalam sediaan deodorant tipe roll-on dari ekstrak buah mahkota dewa sebagai antibakteri penyebab bau badan.	Menimbang ekstrak buah mahkota dewa Menggunakan neraca analitik kemudian ditambahkan ke dalam formula Sediaan deodorant tipe roll-on.	Neraca analitik	Ekstrak Buah mahkota dewa 6,25%, 7,25%, 8,25% dan Sebagai antibakteri dalam sediaan <i>Deodorant</i> tipe roll-on.	Rasio
Variabel Terikat						
1	a.Uji Organoleptik 1) Aroma	Sensasi system visual panelis melalui indra penciuman terhadap aroma	Mencium bau dari sediaan <i>deodorant roll-on</i> yang telah dibuat.	Checklist	1.Tidak beraroma 2. Aroma lemah 3. Aroma Kuat	Nominal

khas atau tidak
adanya aroma
dari formulasi
sediaan
deodorant roll-
on dari
ekstrak buah
mahkota dewa
sebagai
antibakteri,
dengan
konsentrasi
6,25%, 7,25%,
dan 8,25%.

2) Warna

Penilaian visual
panelis terhadap
warna dari
formulasi
sediaan
deodorant roll-
on dari
ekstrak buah
mahkota dewa.
sebagai
antibakteri,
dengan
konsentrasi
6,25%, 7,25%,
dan 8,25%.

Melihat warna
dari sediaan
deodorant roll-
on yang telah
dibuat.

Checklist

1. Coklat
2. Coklat muda
3. Tidak berwarna

Nominal

3) Tekstur

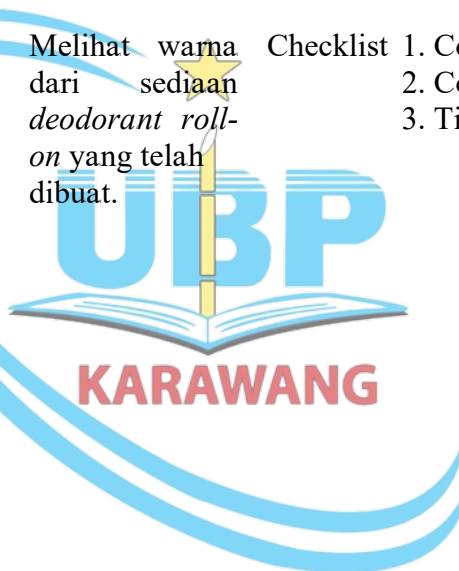
Unsur rupa
yang
menunjukkan
rasa permukaan
bahan yang
diujikan ke
panelis terhadap
formulasi
sediaan
deodorant roll-
on dari
ekstrak buah
mahkota dewa

Merasakan
tekstur Sediaan
deodorant roll-
on yang telah
dibuat

Checklist

1. Cair
2. Agak kental
3. Kental

Nominal



		sebagai antibakteri dengan konsentrasi 6,25%, 7,25%, dan 8,25%.				
2	Uji Homogenitas	Susunan yang homogen dan terlihat adanya butiran-butiran kasar pada formulasi deodorant <i>roll-on</i> pada kaca objek.	Meneteskan 3-4 tetes sediaan deodorant <i>roll-on</i> pada kaca objek lalu ditutup kembali dengan kaca objek lain.	Checklist	1. Homogen 2. Tidak homogen	Nominal
3	Uji pH	Besarnya nilai keasaman atau kebasaan terhadap formulasi deodorant <i>roll-on</i> .	Melihat nilai pH deodorant <i>roll-on</i> dengan alat pH meter.	pH Meter	Nilai pH dalam angka	Rasio
4	Uji Viskositas	untuk mengukur kekentalan dan laju aliran partikel dalam suatu sediaan	Melihat nilai Viskositas deodorant <i>roll-on</i> dengan alat viskometer	Viscome ter	Nilai viskositas dalam angka	Nominal
5	Uji Pengemasan	Pemeriksaan kemasan sediaan deodorant <i>roll-on</i> dari ekstrak buah mahkota dewa sebagai antibakteri, dengan konsentrasi 6,25%, 7,25%, dan 8,25%.	Melihat keluar atau tidaknya cairan dari bola yang dimasukkan kedalam leher botol pada sediaan deodorant tipe <i>roll-on</i> .	Checklist	1. Keluar 2. Tidak keluar	Nominal
6	Uji aktivitas sediaan Deodorant <i>Roll on</i> ekstrak methanol buah mahkota dewa terhadap	Pengujian untuk mengukur zona hambat di daerah sekitar kertas cakram pada sediaan dengan	Mengukur zona bening di daerah sekitar kertas cakram.	Jangka sorong	Diameter zona hambat (millimeter)	Rasio

<i>Staphylococcus aureus</i>	konsentrasi ekstrak 6,25%,
<i>Staphylococcus epidermis.</i>	7,25%, dan 8,25%

3.6 Prosedur Penelitian

1.6.1 Determinasi Tanaman Buah Mahkota Dewa

Determinasi tanaman bahan uji dilakukan dengan maksud untuk membuktikan kebenaran bahan yang digunakan dalam penelitian. Identifikasi tanaman yang dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu , Jawa Timur.

1.6.2 Ekstraksi Buah Mahkota Dewa

Buah mahkota dewa dicuci bersih, ditimbang, lalu diiris halus dan dikeringkan dengan cara didiamkan pada suhu kamar. Sampel kering diblender sampai menjadi serbuk. Serbuk tersebut diayak hingga diperoleh serbuk berukuran 40 mesh. Serbuk buah mahkota dewa dimaserasi menggunakan metanol pada suhu kamar selama satu hari. Hasil maserasi selanjutnya disaring sehingga diperoleh ekstrak cair metanol tahap 1. Kemudian ampas dikeringkan pada suhu kamar selama satu hari. Ampas yang telah dikeringkan diremaserasi dengan metanol pada suhu kamar selama satu hari. Hasil maserasi selanjutnya disaring sehingga diperoleh ekstrak cair metanol tahap 2. Kemudian ampas yang telah dikeringkan diremaserasi kembali dengan metanol. Hasil maserasi selanjutnya disaring sehingga diperoleh ekstrak cair

metanol berwarna bening. Ekstrak cair yang diperoleh didiamkan selama satu hari dan dilanjutkan pengentalan ekstrak menggunakan rotary evaporator (80 rpm, 45°C, (0,62 bar)). Penggunaan metanol sebagai pelarut dikarenakan metanol dapat melarutkan senyawa polar maupun non-polar sehingga sangat baik digunakan untuk mengekstrak senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada sampel (Muaja *et al.*, 2017).

1.6.3 Skrining Fitokimia

Berikut merupakan skrining fitokimia dari ekstrak buah mahkota dewa:

1) Pembuatan larutan uji fitokimia

Pembuatan larutan uji untuk skrining fitokimia dilakukan dengan melarutkan 500 mg ekstrak metanol buah mahkota dewa (*Phaleria marocarpa*) dalam 50 mL metanol.

2) Pemeriksaan alkaloid

Sebanyak 2 mL larutan ekstrak uji diuapkan diatas cawan porselin hingga diperoleh residu. Residu kemudian dilarutkan dengan 5 mL Asam Klorida (HCl) 2N. Larutan yang didapat kemudian di bagi ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan dengan asam encer yang berfungsi sebagai blanko. Tabung kedua ditambahkan pereaksi Dragendroff sebanyak 3 tetes dan tabung ketiga ditambahkan pereaksi Mayer sebanyak 3 tetes. Terbentuknya endapan jingga pada tabung kedua dan endapan

kuning pada tabung ketiga menunjukkan adanya alkaloid (Ma'ruf, M.T. *et al.*, 2017).

3) Polifenol dan tanin

Pemeriksaan tanin dan polifenol Sebanyak 3 mL larutan ekstrak uji dibagi kedalam 3 bagian yaitu tabung A, tabung B, tabung C. Tabung A digunakan sebagai blanko, tabung B direaksikan dengan larutan besi (III) klorida 10%, warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin dan polifenol, sedangkan pada tabung C hanya ditambahkan garam gelatin. Apabila terbentuk endapan pada tabung C maka larutan ekstrak positif mengandung tanin (Ma'ruf, M.T. *et al.*, 2017).

4) Flavonoid

Sebanyak 2 mL ekstrak metanol atau etanol kemudian memasukkan ekstrak ke dalam tabung reaksi dan menambahkan 0,5 asam klorida pekat (HCl pekat) dan logam Mg. Kemudian dikocok kuat, adanya warna merah/jingga/dan hijau menunjukkan positif flavonoid (Lully, H.E., 2016).

5) Saponin

Sebanyak 10 mL larutan ekstrak uji dalam tabung reaksi dikocok vertikal selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1-10 cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit, menunjukkan adanya saponin. Pada

penambahan 1 tetes HCl 2N, busa tidak hilang (Ma'ruf, M.T. *et al.*, 2017).

1.6.4 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Pada Ekstrak Buah Mahkota Dewa Bakteri *S. aureus* dan *S. epidermidis*

Pengujian KHM pada ekstrak buah mahkota dewa terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* bertujuan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum pada suatu sediaan deodoran roll on. Berikut pengujian KHM pada ekstrak buah mahkota dewa:

- 1) Menuangkan Larutan Media Nutrient Agar (NA) yang steril kedalam cawan petri steril sebanyak 25 ml secara aseptis
- 2) Mengambil suspensi bakteri sebanyak 10 µl dan dituangkan kedalam cawan petri steril yang telah terisi media Nutrient Agar yang sudah memadat, kemudian dihomogenkan dengan Batang L.
- 3) Ekstrak Buah Mahkota Dewa dengan beberapa konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,5% diteteskan pada kertas cakram steril dan dibiarkan selama 15 menit.
- 4) Kertas cakram yang sudah kering diletakkan diatas media agar yang sudah memadat dan diletakkan secara teratur kemudian diberi label dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,5%.
- 5) Media tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, selanjutnya dilakukan pengamatan zona hambat yang terbentuk.

Diameter tersebut kemudian dikategorikan kekuatan antibakterinya berdasarkan penggolongan Davis dan Stout yang terlihat pada (**Tabel 2.1**)

1.6.5 Formulasi Sediaan Deodoran Roll On

Formulasi sediaan Deodoran *roll on* yang dibuat berdasarkan penelitian Lailiyah, M, *et al.*, (2019) yang telah di modifikasi seperti pada **Tabel 3.2** dibawah ini :

Tabel 3.2 Formulasi Deodorant Roll-on Ekstrak Buah Mahkota Dewa sebanyak 100 ml

No.	Komponen	Kegunaan	F0	F1	F2	F 3
1	Ekstrak metanol Buah Mahkota Dewa	Bahan Aktif	0%	6,25%	7,25%	8,25%
2	Carbopol	Pengental	1	1	1	1
3	Triethanolamine	Penetral pH	0,25	0,25	0,25	0,25
4	Butylated hydroxytoluene (BHT)	Antioksidan	0,01	0,01	0,01	0,01
5	Etanol 96 %	Pelarut	40	40	40	40
6	Natrium Metabisulfit	Pengawet	0,1	0,1	0,1	0,1
7	Propylene Glycol	Pelarut	15	15	15	15
8	Aquadest ad	Pelarut	100	100	100	100

1.6.6 Prosedur Formulasi Sediaan Deodoran Roll-On

1. Menyiapkan bahan utama

Bahan utama dalam penelitian ini adalah ekstrak buah mahkota dewa. Bahan diperoleh dari UPT Laboratorium Herbal Medica Batu, Jawa Timur.

2. Formulasi Sediaan Deodoran Roll On

Berikut merupakan Formulasi *Deodorant Roll on*:

- 1) Pembuatan deodoran *roll on* dilakukan dengan cara masing-masing bahan dan ekstrak buah mahkota dewa ditimbang sesuai dengan konsentrasinya yaitu 6,25%, 7,25%, dan 8,25%.
- 2) Kemudian carbopol didispersikan dengan aquades dan dinetralkan dengan TEA.
- 3) BHT dilarutkan ke dalam etanol
- 4) Ekstrak buah mahkota dewa ke dalam etanol dan natrium metabisulfit ke dalam air.
- 5) Pelarut campur dibuat dari campuran air, propilen glikol dan etanol.
- 6) Campurkan larutan BHT ke dalam ekstrak dalam beaker glass, diaduk hingga homogen.
- 7) Tambahkan larutan natrium metabisulfit, kemudian dilarutkan dalam pelarut campur.
- 8) Campuran ditambahkan ke dalam karbopol yang telah dikembangkan kemudian campuran dihomogenkan, lalu dimasukkan ke dalam kemasan untuk kemudian dilakukan pengujian.

Diagram alir pembuatan sediaan Deodoran *Roll on* terlihat pada

Gambar 3.1 dibawah ini:



Gambar 3.1 Pembuatan Sediaan Formulasi Sediaan Deodoran *Roll On*

3.7 Evaluasi Fisik Sediaan Deodoran Roll-on

a. Uji Organoleptik

Uji organoleptik merupakan cara pengujian dengan menggunakan alat indera manusia sebagai alat ukur terhadap penilaian suatu produk. Pengamatan ini digunakan untuk mendeskripsikan warna, aroma dan tekstur terhadap sediaan yang dihasilkan.

b. Uji homogenitas

Uji ini dilakukan dengan meneteskan 3-4 tetes sediaan deodoran *roll-on* pada kaca objek berukuran 20 x 20 mm

kemudian ditutup kembali dengan kaca objek lain, kemudian dilihat apakah terdapat butir-butir kasar pada sediaan deodoran tipe *roll-on* tersebut.

c. Uji pH

Menggunakan Pengukuran derajat keasaman dengan menggunakan pH meter. Pertama elektroda dikalibrasikan pada dapar standar pH 4 dan pH 7, selanjutnya elektroda dimasukkan dalam produk, dan angka derajat keasaman yang tampak dilayar dicatat. Pengecekan dilakukan pada temperatur ruangan.

d. Uji Viskositas

Uji viskositas bertujuan untuk melihat kekentalan yang dihasilkan sediaan deodoran roll on ekstrak buah mahkota dewa. Pengukuran nilai viskositas menggunakan viscometer. Viskositas berpengaruh terhadap efektifitas deodoran roll on saat diaplikasikan ke lengan atas umumnya semakin besar viskositas suatu formulasi maka daya sebar akan semakin kecil.

e. Uji Pengemasan Sediaan Deodoran *Roll-on*

Dalam wadah dari botol dengan bola yang dimasukkan ke dalam leher botol (± 1 cm dari permukaan atas botol) yang dapat mengeluarkan cairan.

1.7.1 Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Deodoran *Roll-on* Ekstrak Buah

Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*)

Pengujiann aktivitas antibakteri sediaan deodoran *Roll on* ekstrak mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) sebagai berikut:

a. Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Menimbang Sebanyak 28gram Nutrient Agar (NA) ditimbang, kemudian dimasukkan kedalam gelas kimia kemudian melarutkannya dengan 1L aquadest. Larutan media dipanaskan sampai mendidih, ditunggu 1 menit. Kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada temperature 116°C-121°C selama 15 menit. Setelahnya masukkan larutan media ke dalam cawan petri sebanyak 25 ml lalu didinginkan pada temperature ruangan atau dimasukkan kedalam Laminar Air Flow (Oxoid, 1982).

b. Kultur Bakteri

Pembuatan stok bakteri ini dilakukan untuk memperbanyak dan meremajakan bakteri, dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermis* ke dalam Nutrient Agar (NA) dengan cara digorekan secara zig zag diatas permukaan media, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam di dalam incubator.

c. Pembuatan Media Suspensi Bakteri

Proses suspensi bakteri menggunakan NaCl 0,9% dengan prosedur kerja sebagai berikut: Disuspensikan bakteri uji dengan larutan NaCl 0,9% sebanyak 5 ml, kemudian suspensi bakteri ini disetarakan kekeruhannya dengan larutan standar *Mc. Farland 0,5*.

d. Pengujian Aktivitas Antibakteri Sediaan *Deodorant Roll on* Ekstrak Metanol Buah Mahkota Dewa Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermis*

Pengujian Aktivitas Antibakteri Sediaan *Deodorant Roll on* Ekstrak Metanol Buah Mahkota Dewa Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermis* sebagai berikut:

1. Menuangkan Larutan Media Nutrient Agar (NA) kedalam cawan petri steril sebanyak 25 ml secara aseptis
2. Mengambil suspensi bakteri sebanyak 10 μ l dan dituangkan kedalam cawan petrimedia NA yang sudah memadat dan homogenkan dengan batang L
3. Sediaan Deodoran *roll on* ekstrak buah mahkota dewa dengan konsentrasi 0% (kontrol negatif), 6,25%, 7,25%, 8,25%, dan clindamicyn 1% (kontrol positif) teteskan dikertas cakram steril dan dibiarkan beberapa saat sampai kering.
4. Kertas cakram yang sudah diletakkan diatas media agar yang sudah memadat dan diletakkan secara teratur kemudian diberi

label dengan konsentrasi 0% (kontrol negatif), 6,25%, 7,25%, 8,25%, dan clindamicyn (kontrol positif).

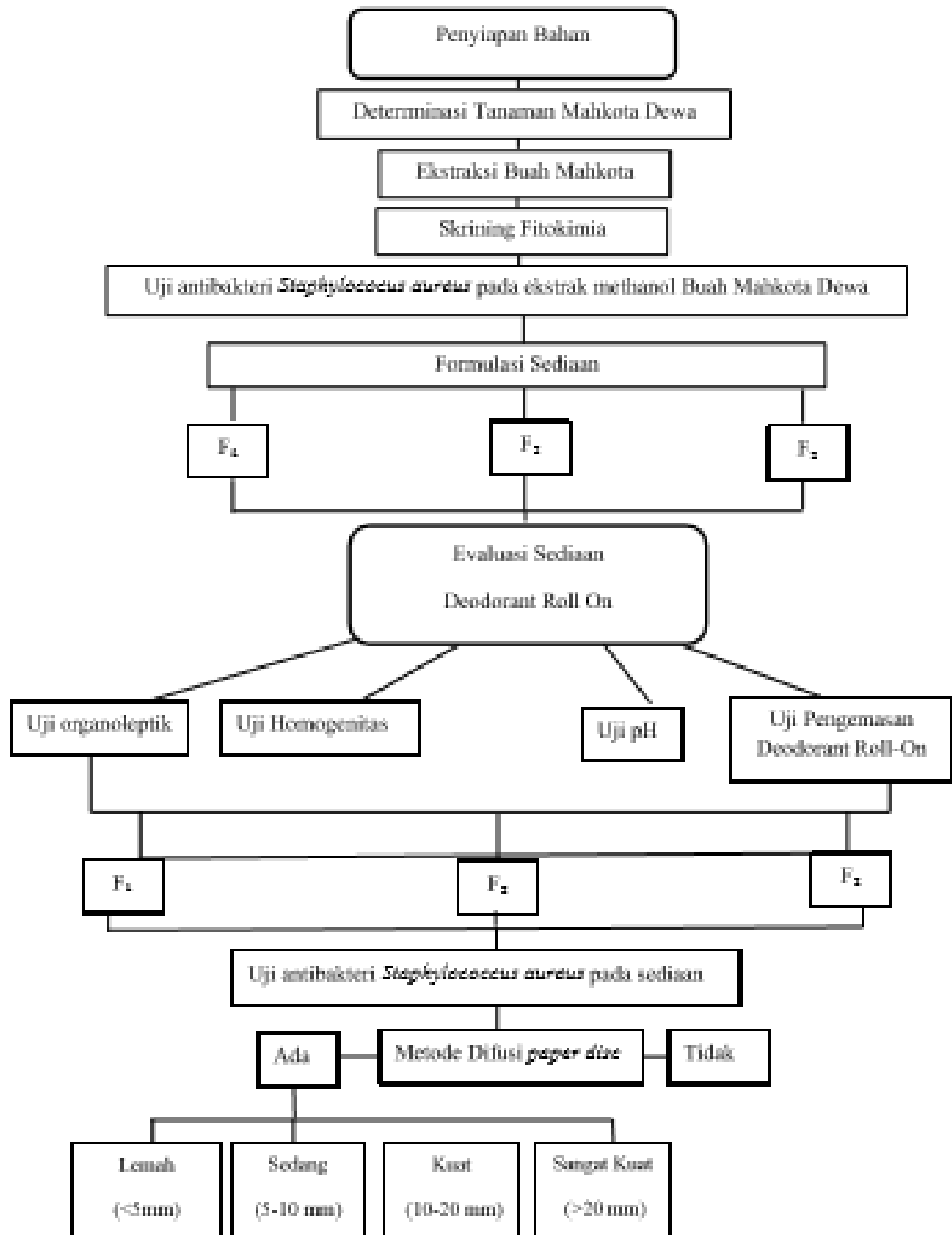
5. Media tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, selanjutnya dilakukan pengamatan zona hambat yang terbentuk.

Diameter tersebut kemudian dikategorikan kekuatan antibakterinya berdasarkan penggolongan diameter zona hambat yang terlihat pada (**Tabel 2.1**).



3.8 Diagram Alir Penelitian

Berikut merupakan rancangan penelitian yang akan dilaksanakan:



3.9 Analisis Data

Dilakukan analisis data aktivitas antibakteri formulasi deodoran roll on pada ekstrak metanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dan pengukuran diameter zona hambat dengan jangka sorong pada setiap konsentrasi. Kemudian dilakukan analisis statistic menggunakan (ANNOVA) satu arah dengan menggunakan program SPSS.

