

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Sample

Penelitian dirancang eksperimental laboratorium Universitas Buana Perjuangan Karawang. Rancangan penelitian meliputi menyiapkan tumbuhan bahan yang akan dibuat ekstrak dengan cara maserasi menggunakan etanol 96%. Penelitian ini menguji antibakteri dari sediaan gel Ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) Sebagai antijerawat terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dengan metode difusi sumuran pengujian dilakukan secara triplo dimana konsentrasi yang digunakan tiap formula yaitu 1,25%, 2,5%, dan 3,75%.

3.2 Lokasi Dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian Formulasi Gel Serum Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Sebagai Antijerawat Terhadap *Propionibacterium acnes* yang dilakukan dilaboratorium farmasi universitas buana perjuangan karawang, waktu penelitian Mei 2022- Juli 2022.

3.3 Alat Dan Bahan yang Digunakan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan antara lain timbangan analitik, corong, gelas ukur (PYREX), alat-alat gelas (PYREX), beaker glass (PYREX), erlenmeyer (PYREX), tabung reaksi (PYREX), waterbath (CECIL), rak tabung, spatula, *rotary evaporator*, pH meter (ISTEX), viskometer (LR lamy rheology instrumens), alat uji sifat fisik, alumunium foil, pipet tetes, kompor listrik (MASPION), wadah botol serum, cawan petri, jarum ose, api bunsen, autoklaf (ALF), batang sumuran, *Laminar Ait Flow*, inkubator (ECOCELL) , hot place (NESCOLAB), jangka sorong (VERNIER

CALIPER) mikropipet (ECOIPPETE™) dan anaerob gar (*BBL Gaspak anaerobic system*).

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan antara lain daun jambu biji (*Psidium Guajava* L.), Carbomer, Gliserin, Triethanolamin, Natrium benzoat, Dinatrium EDTA, Aquadest, Bakteri *Propionibacterium acnes*, Etanol 96%, BHI (*Brain Heart Infusion*) dan Serum acne merk Cleanface.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas yang terlihat pada penelitian ini yaitu menguji antibakteri dari formulasi gel serum ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L) sebagai antijerawat terhadap *Propionibacterium acnes*.

3.4.2 Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah Evaluasi fisik dan diameter zona hambat formulasi gel serum ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L) sebagai antijerawat terhadap *Propionibacterium acnes*.

3.4.3 Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional variabel terdapat pada penelitian ini diajukan pada Tabel sebagai berikut :

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Alat ukur	Skala	Hasil ukur
Variabel bebas					
1.	Formulasi Gel Serum	Konsentrasi yang diperoleh ekstrak daun jambu biji	Penelitian meliputi pengujian uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH, uji viskositas, uji daya sebar, dan uji aktivitas antibakteri	Nominal	FI=1,25% FII=2,5% FIII=3,75%
Variabel terikat					
1.	pH	Nilai pH sediaan gel disesuaikan dengan nilai pH untuk wajah	pH meter	Rasio	Angka dalam pH metet
2.	Homogenitas	Uji homogenitas dilakukan dengan cara mengoleskan	Kaca objek	Ordinal	Tidak homogen Homogen

		serum pada kaca objek untuk diamati homogenitasnya			
3.	Uji organoleptik	Dilakukan dengan menggunakan panca indera, penciuman	Panca indera	Ordinal	Tidak berbau Bau khas
4.	Uji viskositas	Menguji kekentalan pada sediaan gel serum	Dilakukan dengan menggunakan indera penglihatan	Panca indera	Cps (centipoise)
5.	Uji daya sebar	Kemampuan penyebaran pada sediaan gel serum	Ekstensometer	Rasio	Cm (centimeter)
6.	Antibakteri	Pengujian berdasarkan nilai daya hambat pada media	-	Rasio	Mm (milimeter)
7.	Skrining fitokimia flavonoid	Pengujian dengan reaksi yang ditandai dengan adanya	Pereaksi	Nominal	Positif Negatif

		perubahan warna			
8.	Skrining fitokimia alkaloid	Pengujian dengan pereaksi yang ditandai dengan adanya perubahan warna	Pereaksi	Nominal	Positif Negatif
9.	Skrining fitokimia saponin	Pengujian dengan pereaksi yang ditandai dengan adanya perubahan warna	Pereaksi	Nominal	Positif Negatif
10.	Skrining fitokimia tanin	Pengujian dengan pereaksi yang ditandai dengan adanya perubahan warna	Pereaksi	Nominal	Positif Negatif

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman adalah identifikasi suatu tanaman sehingga nama ilmiah tanaman tersebut diketahui, maka dari itu dilakukan determinasi tanaman daun jambu biji (*Psidium guajava* L) untuk diidentifikasi kebenaran dari tanamannya.

3.5.2 Pembuatan Ekstrak Daun Jambu biji

Daun jambu biji dibersihkan kemudian dipotong-potong dan dijemur hingga kering. Setelah daun jambu biji kering digiling hingga terbentuk serbuk. Serbuk yang didapat kemudian di ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan etanol 96%. Setelah itu serbuk ekstrak daun jambu biji direndam menggunakan etanol 96% selama 3 hari dan di aduk setiap 1x24 jam selama 5 menit. Setelah proses maserasi selesai didapatkan larutan filtrat kemudian larutan filtrat disaring untuk memisahkan ampas dengan filtratnya. Filtrat kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotaty evaporator*, ekstrak yang didapat dikentalkan dengan cawan porselen diatas penangas air hingga didapatkan ekstrak kental.

3.5.3 Skrinning Fitokimia

1. Uji Alkaloid

Ekstrak ditambahkan HCL 2N 1 ml dipanaskan ± 2 menit, disaring ditambahkan pada tabung reaksi lalu ditambahkan dengan pereaksi Dragendorff dan Mayer. Terbentuknya endapan jingga menunjukkan adanya dragendorff, dan adanya Fitokimia endapan putih menunjukkan adanya mayer (Fikayuniar L, 2020)

2. Uji Flavonoid

Ekstrak dipanaskan dengan campuran 0,1 g Serbuk Mg, 1 ml HCl dan 2 ml amil alkohol, terbentuk warna merah kuning, atau jingga menunjukkan adanya flavonoid (Fikayuniar, 2021)

3. Uji Tanin

Ekstrak dipanaskan ± 5 menit, didinginkan. kedalam tabung reaksi ditetaskan larutan $FeCl_3$ terbentuknya warna biru-hitam menunjukkan adanya tanin (Fikayuniar L, 2020).

4. Saponin

Ekstrak diteteskan pada tabung reaksi didihkan dengan 20 ml air dalam penangas air. Filtrat dikocok dan didiamkan selama 10 menit. Terbentuknya busa menunjukkan adanya saponin (Fikayuniar, 2020).

3.5.4 Uji KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji Terhadap *Propionibacterium acnes*

Dalam penelitian kali ini ada beberapa tahap uji KHM terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* ada beberapa poin yang harus dipenuhi sebagai berikut : (Nuraeni W, 2021) 

1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian kali ini dicuci bersih lalu dikeringkan, setelah itu dibungkus dengan alumunium foil. Lalu dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 30 menit. Untuk alat seperti jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara dipijarkan/dipanaskan pada api menyala bunsen.

2. Peremajaan Bakteri

Dilakukan dengan cara menggoreskan bakteri *propionibacterium acnes* ke tabung reaksi yang berisi media BHI (*Brain Heart Infussion*) dan diinokulasikan dengan digoreskan pada media BHI secara aseptik kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C Selama 18-24 jam

3. Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara mengambil bakteri uji dengan jarum ose steril lalu di suspensikan ke dalam vial yang berisi 10 ml NaCl 0,9% hingga memperoleh kekeruhan yang sama dengan standar 0,5 Mc. Farland.

4. Pembuatan media

Brain Heart Infusion (BHI) ditimbang sebanyak yang 1,08 gr dan aquadest 40 ml setelah itu dimasukkan kedalam gelas kimia lalu dilarutkan dengan jumlah yang dibutuhkan dengan menggunakan aquadest setelah itu dipanaskan diatas kompor listrik hingga mendidih dan diperoleh larutan jernih. Setelah itu di sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 20 menit. Setelah media telah disterilkan dan diamkan sampai hangat, masukan kedalam cawan petri yang telah disterilkan tunggu hingga menjadi agar. Lalu masukan suspensi bakteri yang telah distandarkan dengan *Mc. Farland* 0,5. Kemudian masukan kedalam cawan petri dengan cara dioleskan oleh cotton buds yang sudah disterilkan, setelah itu oleskan dengan merata.

5. Uji Antibakteri

Media dilubangi dengan batang sumuran, masukkan masing-masing konsentrasi sesuai yang telah ditentukan. Simpan media pada wadah Inkubasi pada suhu 37⁰C Selama 2x24 jam.

3.5.5 Pembuatan Formulasi Gel Serum Ekstrak Daun Jambu biji

Tabel 3.1 Formulasi Sediaan Gel Serum Ekstrak Daun Jambu Biji

Berdasarkan hasil penelitian (Neni Sri Gunarti, 2018) menunjukkan bahwa formulasi dengan ekstrak daun jambu biji 2,5% memiliki kualitas dan aktivitas antijerawat paling baik pada sediaan facial wash, berikut peneliti menggunakan konsentrasi 1,25%: 2,5% dan 3,75%. Dan formula gel serum yang digunakan menggunakan jurnal (Lia Fikayuniar *et al*, 2018). Berikut Tabel formulasi sediaan gel serum ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) :

Tabel 3.1 Formulasi Sediaan Gel Serum Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)

Bahan	Fungsi	Konsentrasi (%)			
		F1	F2	F3	F0
Ekstrak Daun jambu biji	Zat aktif	1,25	2,5	3,75	0
Carbomer	Gelling Agent	1	1	1	1
Gliserin	Humektan	5	5	5	5
Na benzoat	Pengawet	0,15	0,15	0,15	0,15
Triethanolamin	Penetral	3	3	3	3
Dinatrium EDTA	Pengkelat	0,2	0,2	0,2	0,2
Aquadest	Pelarut	Ad	Ad	Ad	Ad
		100	100	100	100
		ml	ml	ml	ml

Pembuatan serum diawali dengan menimbang masing-masing bahan Ekstrak etanol daun jambu biji, Carbomer, Gliserin, Triethanolamin, Na benzoat, Dinatrium EDTA dan aquadest. Kemudian kalibrasi aquadest ad 100 ml, lalu panaskan aquadest. Masukkan carbomer lalu tambahkan air panas secukupnya gerus ad kental. Masukkan gliserin gerus ad kental. Masukkan Triethanolamin gerus ad ngembang. Larutkan dengan aquadest Na benzoat dan dinatrium EDTA, lalu masukan Na benzoat ke dalam mortir gerus ad homogen, tambahkan dinatrium EDTA gerus ad homogen. Masukkan sedikit demi sedikit ekstrak etanol daun jambu biji gerus ad kuat. Lalu tambahkan sisa aquadest gerus ad homogen. Terakhir masukan sediaan

kedalam botol serum (Lia fikayuniar, 2021)

3.6 Evaluasi Fisik Gel Serum Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium Guajava L*)

1. Uji Organoleptik

Dengan cara yaitu diamati adanya perubahan bentuk fisik, warna, bau, dan tekstur dari sediaan serum. Setelah itu dicatat perubahan tersebut.

2. Uji Homogenitas

Sediaan diuji menggunakan dua buah kaca objek dimana sampel diletakkan pada salah satu kaca objek dan diletakkan secara merata. Sediaan yang baik harus homogen dan bebas dari partikel yang masih menggumpal. (Setiawan D, 2018)

3. Uji pH

Pengukuran pH sediaan serum Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji diukur menggunakan pH meter pengukuran dilakukan dengan cara mencelupkan pH meter kedalam sediaan catat pH yang ditunjukkan. Pengukuran dilakukan tiga kali replikasi dan pada temperatur ruang (kurang lebih 25⁰C) dan hasil rata-rata pH memenuhi persyaratan pH wajah yaitu berada pada rentang 4,5-6,5.(Rahmatika AS, 2020)

4. Uji Daya Sebar

Sediaan serum diletakkan ditengah kaca arloji berskala diatas serum diletakkan kaca arjoli lain. Diamkan selama 1 menit kemudiaan dicatat daya penyebarannya. Pengujian daya sebar dilakukan selama 48 jam setelah serum selesai dibuat dilakukan replikasi sebanyak 3kali dan daya sebar yang di hendaki yaitu 5-7cm.

5. Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan dengan mengukur kekentalan sediaan.

Pengujian dilakukan dengan cara memasukkan sediaan sebanyak 100 mL ke dalam tabung lalu dipasang spindle yang sesuai. Spindle harus terendam dalam sediaan uji. Dinyalakan viskometer dan diatur kecepatan viskometer. Dilakukan pengamatan jarum penunjuk dari viskometer yang mengarah ke angka pada skala viskositas lalu dicatat (Adnan, 2016). Angka konstan yang ditunjukkan oleh viskometer merupakan nilai viskositas dari sediaan dengan satuan $cP = 1 \text{ mPa}\cdot\text{s}$. Syarat viskositas yaitu 800cPs – 3000cPs (Septiani *et al*, 2011)

3.7 Uji Aktivitas Antibakteri Gel Serum Ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terhadap *Propionibacterium acnes*

Dalam penelitian kali ini ada beberapa tahap uji aktivitas antibakteri formulasi gel serum ekstrak etanol daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terhadap *Propionibacterium acnes* ada beberapa poin yang harus dipenuhi sebagai berikut : (Nuraeni W, 2021)

1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian kali ini dicuci bersih lalu dikeringkan, setelah itu dibungkus dengan aluminium foil. Lalu dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 30 menit. Untuk alat seperti jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara dipijarkan/dipanaskan pada api menyala bunsen.

2. Peremajaan Bakteri

Dilakukan dengan cara menggosokkan bakteri *propionibacterium acnes* ke tabung reaksi yang berisi media BHI (*Brain Heart Infussion*) dan diinokulasikan dengan digosokkan pada media BHI secara aseptik kemudian diinkubasi pada suhu 37°C Selama 18-24 jam

3. Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara mengambil bakteri uji dengan jarum ose steril lalu di suspensikan ke dalam vial yang berisi 10 ml

NaCl 0,9% hingga memperoleh kekeruhan yang sama dengan standar 0,5 *Mc. Farland*.

4. Pembuatan media

Brain Heart Infusion (BHI) ditimbang sebanyak yang 4,4 gr dan aquadest 120 ml setelah itu dimasukkan kedalam gelas kimia lalu dilarutkan dengan jumlah yang dibutuhkan dengan menggunakan aquadest setelah itu dipanaskan diatas kompor listrik hingga mendidih dan diperoleh larutan jernih. Setelah itu di sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 20 menit. Setelah media telah disterilkan dan diamkan sampai hangat, masukan kedalam cawan petri yang telah disterilkan tunggu hingga menjadi agar. Lalu masukan suspensi bakteri yang telah distandarkan dengan *Mc. Farland* 0,5. Dan masukan kedalam cawan petri dengan cara dioleskan oleh cotton buds yang sudah disterilkan, setelah itu oleskan dengan merata.

5. Uji Antibakteri

Media dilubangi dengan batang sumuran, masukkan masing-masing formulasi sesuai yang telah ditentukan. Simpan media pada wadah Inkubasi pada suhu 37⁰C Selama 2x24 jam.

3.8 Analisis Data

Metode analisis statistik yang digunakan dalam penelitian ini adalah oneway ANOVA program SPSS (*Statistical product and service solution*) untuk menganalisis hasil pengamatan uji aktivitas antibakteri dan evaluasi fisik meliputi pH dan viskositas jika memenuhi persyaratan berupa data terdistribusi normal dan homogen.

3.9 Diagram Alur Kegiatan



