

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Dan Rancangan Penelitian

Metode penelitian yang dilakukan adalah jenis penelitian eksperimental, pada penelitian ini akan dilakukan pembuatan formulasi sediaan krim dari ekstrak kulit pisang kepok yang akan di uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*. Pembuatan formulasi serta pengujian aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui efektivitas anti bakteri *Staphylococcus aureus* dari sediaan ekstrak kulit pisang kepok.

3.2 Sampel Penelitian

3.2.1 Sampel ekstrak

Ektrak utama dalam penelitian ini adalah kulit pisang kepok. Ekstrak diperoleh dari Balitro Bogor yang berada di Jl.Tentara Pelajar No.3, Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu Bogor.

3.2.2 Sampel bakteri

Bakteri yang digunakan pada penelitian kali ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus*

3.3 Bahan & alat penelitian

Bahan dan alat penelitian ini mengacu pada penelitian (Dewi dkk, 2020)

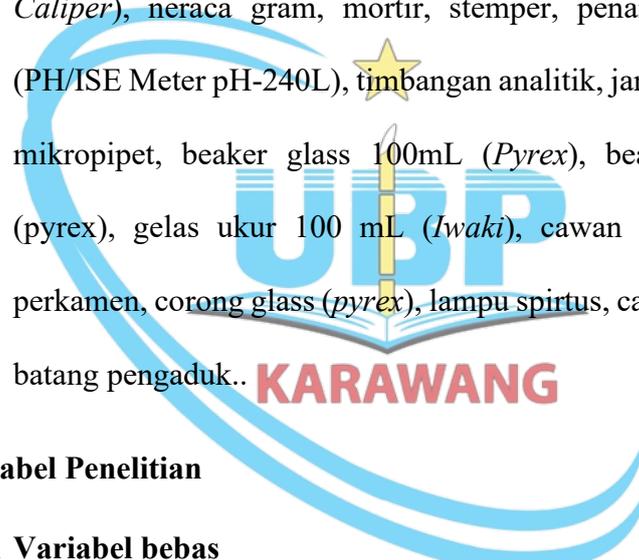
3.3.1 Bahan penelitian

Ekstrak kulit pisang kepok, etanol 70%, Asam stearate, Cera alba, TEA (Trietanolamin), setil alkohol, metil paraben, propilen glikol,

Vaselin putih, aquadest, gel clindamycin, *Staphylococcus aureus*, nutrient agar, Bouchardt, dragendorf, mayer.

3.3.2 Alat penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu, wadah krim, blender, maserator, viscotester lammy (*Lamy Rheology Instruments*), oven, *laminar air flow* (LAF), *Coloni Countre*, Inkubator (LAB INCUBATOR Digital # IN-601 Gemmyco), jangka sorong (*Vernier Caliper*), neraca gram, mortir, stemper, penangas air, pH meter (PH/ISE Meter pH-240L), timbangan analitik, jarum ose, cawan petri, mikropipet, beaker glass 100mL (*Pyrex*), beaker glass 250 mL (*pyrex*), gelas ukur 100 mL (*Iwaki*), cawan arloji, sudip, kertas perkamen, corong glass (*pyrex*), lampu spirtus, cawan porselen 50mL, batang pengaduk..



3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel bebas

Ekstrak kulit pisang kepok dengan konsentrasi 15%, 20% dan 25%

3.4.2 Variabel Terikat

1. Uji fisik sediaan
2. Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri

3.5 Lokasi dan waktu penelitian

Kegiatan penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang. Waktu penelitian dilakukan dari bulan Mei sampai dengan bulan juli tahun 2022

3.6 Formulasi sediaan krim ekstrak kulit pisang kepok

Pembuatan formulasi sediaan krim ekstrak kulit pisang kepok mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Genatrika Erza, 2016 dan kadar konsentrasi ekstrak kulit pisang kepok mengacu pada penelitian Rudiyat, Yulianti, Indra, 2020. 

Tabel 3.1 Formulasi Krim Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok

| Nama Bahan | Fungsi | Formula (%) | | | | |
|----------------------------|---------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | | F1 | F2 | F3 | Kontrol (-) | Kontrol (+) |
| Ekstrak kulit pisang kepok | Zat aktif | 15 | 20 | 25 | - | Gel clindamycin |
| Asam stearate | Pengemulsi | 15 | 15 | 15 | 15 | |
| Trietanolamin (TEA) | Zat pengasam | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | |
| Cera Alba | Stabilisator emulsi | 2 | 2 | 2 | 2 | |
| Vaselin putih | Basis krim | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| Metil paraben | Zat pengawet | 0,12 | 0,12 | 0,12 | 0,12 | |
| Propilen glikol | Humektan | 8 | 8 | 8 | 8 | |
| Pewangi (parfum) | Pewangi | 5 gtt | 5 gtt | 5 gtt | 5 gtt | |
| Aquades | Pelarut | Ad 100 mL | Ad 100 mL | Ad 100 mL | Ad 100 mL | |

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Determinasi

Determinasi dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong, Bogor. Determinasi dilakukan untuk memastikan identitas dari pisang kepok (*Musa balbisiana*) yang digunakan sebagai sampel.

3.7.2 Pembuatan Ekstrak

Kulit pisang kepok (*Musa balbisiana*) dibersihkan dari daging buah dan kotoran, debu yang menempel, kulit dikeringkan dengan dijemur dibawah sinar matahari sampai kering kemudian dioven pada suhu 40°C. Pengeringan dianggap cukup bila kulit pisang sudah rapuh. Kulit pisang yang sudah kering di blender dan diayak dengan mesh no 40. Serbuk simplisia yang diperoleh selanjutnya dilakukan skrining fitokimia dan diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*, ekstrak kental ditimbang dan dihitung rendemennya (Rudiyat, Yulianti, Indra, 2020).

Selanjutnya dihitung rendemennya dengan persamaan 1 (DepKes RI, 1995).

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia kering}} \times 100 \%$$

3.7.3 Skrining Fitokimia

Dilakukan skrining fitokimia secara kualitatif untuk mengetahui kandungan flavanoid, tanin, saponin dan alkaloid (Hanani, 2015).

- a. Uji flavonoid, ekstrak ditimbang sebanyak 0,5 gram ditambahkan dengan etanol 70%, kemudian ditambahkan 5-6 tetes HCl pekat, membentuk warna merah yang menunjukkan adanya flavonoid dan pembentukan warna orange menandakan adanya senyawa flavon.
- b. Uji tannin, ekstrak sebanyak 0,5 gram ditambahkan 3 mL air hangat. Ekstrak diujikan dengan 1-2 tetes FeCl₃ 1%, terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa golongan tannin.
- c. Uji saponin, dilakukan dengan menimbang 0,5 gram ekstrak, lalu ditambahkan dengan 2 mL air sampai semua bagian ekstrak terendam dan kemudian dikocok kuat-kuat. Terdapat busa setelah pengocokan, busa ditunggu selama 10 menit tetap konstan maka ekstrak positif mengandung senyawa saponin.
- d. Uji alkaloid, dilakukan dengan ekstrak ditimbang 0,5 gram, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dilarutkan dalam HCl, kemudian ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Dragendorff (larutan potasium bismut iodida), jika terdapat endapan merah maka positif adanya alkaloid, namun jika ditambahkan dengan 2-3 tetes

pereaksi Mayer (larutan potasium merkuri iodida) menghasilkan endapan kuning maka positif mengandung senyawa alkaloid.

3.7.4 Pembuatan Media

Media yang digunakan adalah *Nutrient Agar* (NA) untuk bakteri *Staphylococcus aureus*. Dibuat 20 mL dengan menggunakan 0,28 g serbuk NA. Media disterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah suhu media turun, dalam *laminar air flow* (LAF) kabinet media dituangkan dalam cawan Petri dengan volume 20 mL setiap cawan, di biarkan membeku dan di simpan sampai siap digunakan. Selanjutnya media disimpan dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 24°C untuk menguji sterilitasnya (Adrianto, 2012).

3.7.5 Prosedur pembuatan Formulasi Krim

Pembuatan formulasi krim mengacu pada penelitian Genatrika erza, 2016 dibawah ini : Timbang bahan sesuai formulasi yang sudah dihitung

Tabel 3.2 Prosedur pembuatan Formulasi Krim

Siapkan alat dan bahan



Timbang bahan sesuai formulasi yang sudah dihitung



Asam stearat, Cera Alba, dan vaselin putih dileburkan diatas penangas air pada suhu 75°C (Fase minyak)



Trietanolamin dan propilen glikol dileburkan diatas penangas air pada suhu 75°C



Fase air yang telah dilebur dicampur dalam mortir yang hangat yang sudah terdapat fase minyak dan digerus ad homogen hingga terbentuk basis krim



Setelah terbentuk basis krim, kemudian tambahkan aquades panassebagai pelarut ke dalam mortir gerus ad homogen, selanjutnya tambahkan metil paraben yang telah dilarutkan aquades sebagai pengawet



Setelah krim dingin kemudian tambahkan ekstrak kulit pisang kepok kedalam basis krim tersebut dan tambahkan 5 tetes pewangi aduk ad homogen.

3.7.6 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Metode yang digunakan yaitu metode sumuran. Metode ini terdiri dari 3 lubang untuk formula krim tipe M/A, kemudian 1 lubang untuk kontrol positif, dan 1 lubang untuk kontrol negatif. Pengujian dimulai dengan mengkulturkan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dengan metode *pour plate* yaitu dengan menuangkan suspensi bakteri tersebut sebanyak 100 μ L ke dalam cawan petri kemudian ditambahkan medium TSA untuk bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 20 mL lalu homogenkan, selanjutnya dibuat 5 buah sumuran pada media agar dengan menggunakan alat pencadangan atau lubang tipis dengan ukuran 7 mm (Muljono, *et al.* 2016). Tiap lubang tersebut diberi sebanyak 0,1 gr. Perlakuan tersebut dilakukan secara steril di dalam LAF, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Zona hambat diperoleh dengan mengukur diameter daerah bening pada masing-masing sampel di sekitar sumuran dengan menggunakan jangka sorong. Replikasi dilakukan sebanyak 3 kali. Selanjutnya diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Nilai Diameter Daya Hambat dihitung dengan cara mengukur Diameter Daya Hambat yang dihasilkan dikurangi diameter sumuran (7 mm) dibagi dua.

3.8 Evaluasi sifat fisik sediaan krim

Evaluasi sifat fisik sediaan krim yang dilakukan meliputi uji stabilitas fisik, yaitu:

1. Uji organoleptik

Uji Organoleptik dilakukan dengan cara visual dan dilihat secara langsung dengan mengamati bentuk, warna, dan bau (Husnani & Rizki, 2019).

2. Uji homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui aspek homogenitas sediaan krim yang telah dibuat. Uji homogenitas dilakukan dengan cara mengoleskan 3 bagian atas, tengah dan bawah dari sediaan krim pada kaca transparan. Dikatakan memenuhi syarat apabila tidak ada butiran kasar di sekeping kaca yang transparan maka dinyatakan memenuhi syarat uji homogenitas (Husnani & Rizki, 2019).

3. pH

Uji pH bertujuan mengetahui keamanan sediaan krim saat digunakan sehingga tidak mengiritasi kulit. Pengujian dilakukan dengan cara timbang sediaan krim Ekstrak Kulit Pisang Kepok sebanyak 1 gram, kemudian masukan pH meterkedalam sediaan. pH sediaan yang baik sesuai dengan pH kulit yaitu berkisar antara 4,5 – 6,5 (Tranggono dan latifa, 2007; parwanto *et al*, 2013; edy *et al*, 2016). Pengujian dilakukan dengan replikasi 3 kali untuk masing-masing formula.

4. Uji daya sebar

Uji daya sebar bertujuan untuk mengetahui kemampuan daya sebar krim saat diaplikasikan pada kulit. Timbang 0,5 gr krim ekstrak kulit pisang kepok, lalu letakkan ditengah cawan petri dengan posisi terbalik, didiamkan selama 1 menit dan diberi beban 50 gram sampai 250 gram setiap 1 menit. Lalu diukur daya sebar krim secara horizontal dan vertikal. Standar daya sebar krim yaitu 5 cm – 7 cm (Ulaen *et al*, 2012; Parwanto *et al*, 2013; Edy *et al*, 2016). Pengujian dilakukan dengan replikasi tiga kali untuk masing-masing formula.

5. Uji viskositas

Uji viskositas bertujuan untuk mengetahui kekentalan dari sediaan krim yang diharapkan agar mudah dioleskan. Uji viskositas dilakukan dengan cara sebanyak 50 gr krim dimasukkan ke dalam wadah berbentuk tabung lalu dipasang spindle 64. Spindle harus terendam dalam sediaan uji. Viskometer lammy dinyalakan dan dipastikan rotor dapat berputar pada kecepatan 60 rpm. Diamati jarum penunjuk dari viskometer yang mengarah ke angka pada skala viskositas lalu dicatat dan dikalikan faktor 100 (Zuklarnanin, 2013). Syarat uji viskositas yang baik adalah 2000cp – 50.000cp (Elcistia & Abdul, 2018).

6. Uji daya lekat

Pengujian daya lekat ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan krim melekat pada tempat aplikasinya. Uji daya lekat dilakukan dengan cara ditimbang sediaan krim sebanyak 0,5 gr lalu dioleskan pada plat kaca dan diberi beban seberat 250 gram selama 5 menit. Beban diangkat dan

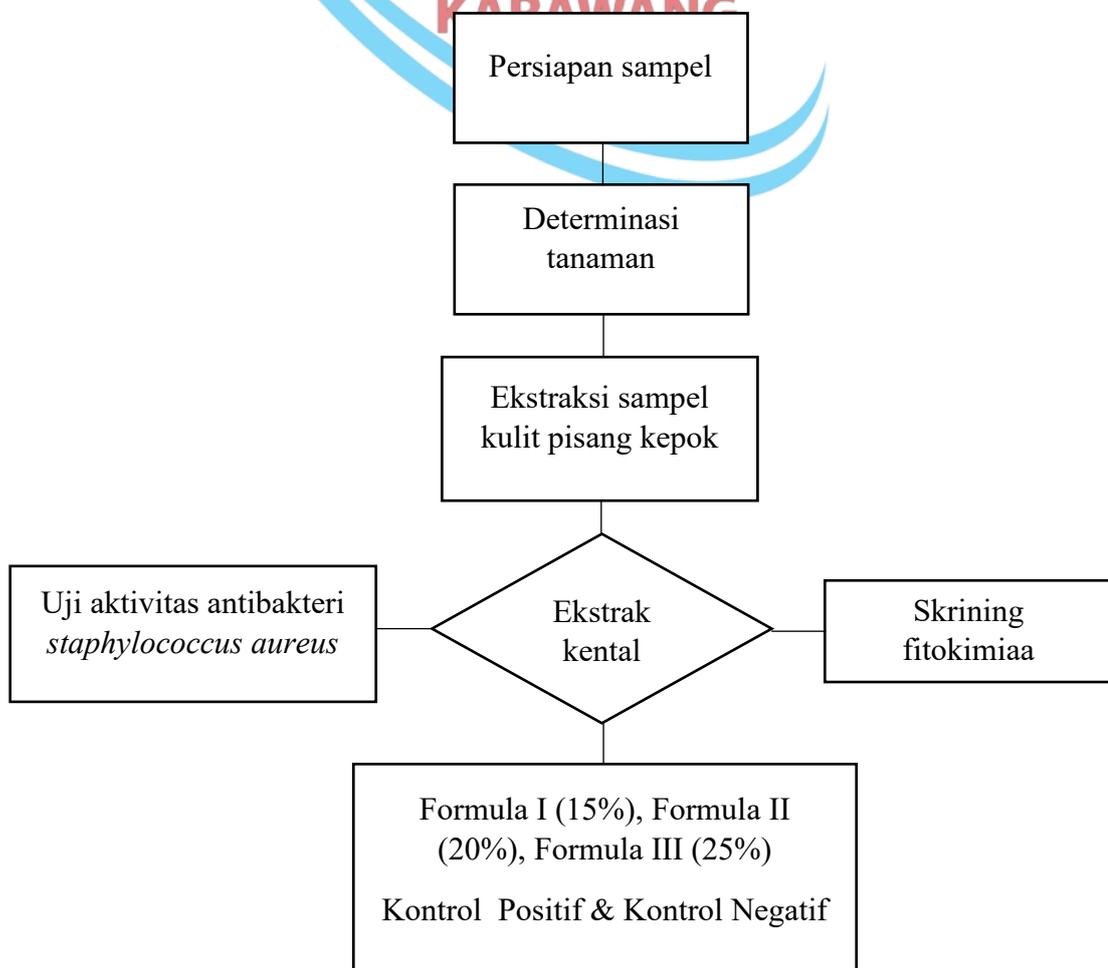
dua plat kaca berlekatan dilepaskan sambil dicatat waktu sampai kedua plat saling lepas. Standar daya lekat krim yang baik yaitu >4 detik (Ulaen *et al*, 2012; Parwanto *et al*, 2013; Edy *et al*, 2016). Pengujian dilakukan dengan replikasi tiga kali untuk masing-masing formula.

3.9 Analisis data

Data evaluasi sifat fisik krim meliputi organoleptik, homogenitas dan stabilitas dianalisis secara deskriptif, sedangkan data hasil evaluasi krim berupa nilai pH, viskositas, daya sebar, dan daya lekat krim, dan pengujian aktivitas antibakteri pada sediaan krim dianalisis secara statistik menggunakan ANOVA dengan taraf kepercayaan 95%.

3.10 Diagram alir penelitian

Tabel 3.3 Diagram Alir Penelitian



Uji fisik sediaan (Organoleptik, pH, Daya Sebar, Daya Lekat, Viskositas, Homogenitas)

Uji aktivitas antibakteri
Staphylococcus aureus

Analisis data

