

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dilaksanakan di Laboratorium Bahan Alam, Laboratorium Teknologi Sediaan Semisolid dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Buana Perjuangan Karawang dengan waktu yang diberikan selama 3 bulan terhitung mulai November 2018 hingga Januari 2019.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah *Viscometer* (LAMMYRHEOLOGY), Maserator, Rotatory Evaporator (CECIL), Neraca Analitik (ADAM SCIENTIFIC, Gelas ukur (PYREX), *Beaker glass* (PYREX), Mikropipet (FISHERBRAND), Pipet tetes, *Incubator*, *Water Bath* (CECIL), Autoklaf (ALL-AMERICAN), *Laminar Air Flow* (LAF) *cabinet*, Tabung reaksi, Cawan petri, Cawan porselin, Pembakar bunsen, Kawat/jarum Ose, pH meter, Blender, tabung Mc Farland 0.5 , *Object glass*, Alat uji daya sebar, Alat uji daya lekat, Alat uji homogenitas.

Kualitas bahan yang digunakan adalah Karbomer 934 *pro-analysis*.. Bahan yang digunakan antara lain daun jeruk purut (*Citrus hystix D.C.*), Bakteri *Staphylococcus aureus*, Cairan penyari yaitu etanol 96%, Larutan NaCl, Larutan WFI, Nutrient Agar (NA) sebagai media pertumbuhan bakteri, Karbomer 934, Trietanolamin atau TEA, Tween 80, Span 80, Propylen Glikol, Na. Benzoat dan Aquadest.

3.3 Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Formula

Tabel 1. Formula gel ekstrak etanol daun jeruk purut dengan perbedaan penambahan Karbomer 934 sebagai *gelling agent*

Bahan	Formula (% b/v)				Fungsi	Kadar Penggunaan (%)
	F1	F2	F3	F4		
Ekstrak Daun Jeruk Purut	1	1	1	1	Zat Aktif	> 1
Karbomer 934	0.5	1	1.5	2	<i>Gelling agent</i>	0,5 – 2
Tween 80	0.813	0.813	0.813	0.813	<i>Emulgator</i>	1 – 15
Span 80	0.187	0.187	0.187	0.187		1 – 10
Propylen glikol	10	10	10	10	<i>Humectant, stabilizing agent</i>	≈ 15
Trietanolamin	0.5	0.5	0.5	0.5	<i>Alkalizing</i>	-
Aquades	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	<i>Solvent</i>	-

2. Determinasi Tanaman

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini dideterminasi terlebih dahulu dengan tujuan memastikan kebenaran dari tanaman yang dipakai. Determinasi dilakukan di Pusat Penelitian Biologi LIPI, Bogor.

3. Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Daun Jeruk Purut

Pembuatan ekstrak etanol daun jeruk purut menggunakan metode ekstraksi maserasi. Maserasi dilakukan selama 3 hari dengan pengadukan setiap 24 jam. Setelah 3 hari ekstrak ditampung dan pelarut etanol 96% diganti dengan yang baru. Hasil maserasi dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian dipekatkan kembali diatas *waterbath* hingga didapatkan ekstrak dengan kekentalan yang diinginkan.

4. Uji ekstrak kental etanol daun jeruk purut

Pengujian meliputi organoleptis dan sifat fisik ekstrak (viskositas, daya lekat dan daya sebar)

5. Pembuatan gel ekstrak etanol dau jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dengan *gelling agent* Karbomer 934

Karbomer didispersikan terlebih dahulu ke dalam 50 mL akuades dan diaduk hingga terbentuk basis gel, kemudian ditambahkan TEA sambil diaduk cepat, kemudian tambahkan Na.Benzoat (sebelumnya dilarutkan

dengan air) lalu tambahkan propylen glikol kemudian diaduk sampai homogen. Ekstrak daun jeruk purut dimasukkan ke dalam basis gel tersebut dan diaduk hingga homogen lalu tambahkan tween 80 dan span 80 aduk kembali hingga homogen dan sisa akuades ditambahkan. Sediaan gel yang didapat disimpan pada wadah yang tertutup rapat.

6. Evaluasi sediaan gel

Evaluasi sediaan gel yang dilakukan meliputi uji sifat fisik yaitu:

a. Uji organoleptis

Meliputi warna, bau dan rasa

b. Uji homogenitas

“Uji homogenitas dilakukan dengan cara mengoleskan gel pada gelas objek kemudian ditempel dengan gelas objek lainnya. Dilihat secara visual ada atau tidaknya butiran kasar” (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979).

c. Uji viskositas,

Alat yang digunakan untuk uji viskositas adalah viscometer Lammy dengan *spindle* No. 7 dan kecepatan 100 rpm. Mangkuk diisi setengah sampel gel yang akan diuji. Rotor ditempatkan ditengah-tengah mangkuk yang berisi gel, kemudian alat dihidupkan agar rotor mulai berputar, jarum penunjuk viskositas secara otomatis akan bergerak ke kanan. Setelah stabil, kemudian dibaca pada skala yang ada pada viscometer tersebut. Nilai viskositas Gel disesuaikan dengan nilai viskositas dari *gelling agent* yaitu 30.500 – 39.400 mPa.s atau Menurut Badan Standar Nasional Indonesia (BSNI/BSN/SNI) “yaitu pada SNI 16-4380- 1996 nilai viskositas sediaan gel yaitu 3.000- 50.000 cPs” (Pertiwi. R, *dkk*, 2016)

d. Uji pH,

pH sediaan disesuaikan dengan pH kulit yaitu berkisar 4,5 – 6,5 dan ditetapkan menggunakan pH meter.

e. Uji daya sebar,

Gel ekstrak etanol daun jeruk purut ditimbang 1 gram dan diletakkan ditengah kaca yang telah diberi milimeter block, kemudian tutup kaca

yang telah ditimbang sebelumnya dan diletakkan di atasnya, kemudian dibiarkan 1 menit, diukur diameter penyebaran gel pada beberapa sisi, diulang dengan penambahan bahan tiap 1 menit beban 10,20,50,100 dan 200 gram. Kriteria daya sebar pada gel yaitu 5 – 7 cm.

f. Uji daya lekat,

Daya lekat dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan gel melekat pada kulit. Hal ini berhubungan dengan lama waktu kontak sediaan dengan kulit untuk mencapai efek yang diinginkan. Gel ekstrak etanol daun jeruk purut 1 gram diletakkan diantara 2 obyek gelas pada alat uji daya lekat, kemudian ditekan dengan beban 65 gram setelah itu beban dilepaskan, dicatat waktunya sampai obyek gelas terlepas.

g. Uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*.

1) **Pembuatan Media Agar**

Nutrient Agar (NA) sebanyak 1,14 gram dilarutkan dengan 30 ml akuades dengan dipanaskan, kemudian disterilkan dengan autoklaf.

2) **Pengujian daya antibakteri sediaan dan penanaman bakteri**

Uji aktivitas antibakteri sediaan menggunakan bakteri *S.aureus* dengan cara difusi sumuran. Diambil 30 ml media NA cair kemudian dituang ke cawan petri steril, ditunggu hingga membeku dan agar siap digunakan. Suspensi bakteri sebanyak 200 µl dituangkan pada media NA yang telah membeku, dan diratakan dengan *spreader glass*. Pada agar dibuat 3 sumuran dengan diameter sama untuk masing-masing perlakuan. Satu sumuran untuk gel basis Karbomer 934 yang mengandung ekstrak daun jeruk purut, satu sumuran untuk gel basis Karbomer tanpa ekstrak daun jeruk purut (kontrol) dan satu sumuran digunakan untuk kontrol positif (ekstrak daun jeruk purut). Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Diameter zona hambatan yang terbentuk diukur menggunakan penggaris. Parameter yang digunakan adalah adanya diameter zona hambatan

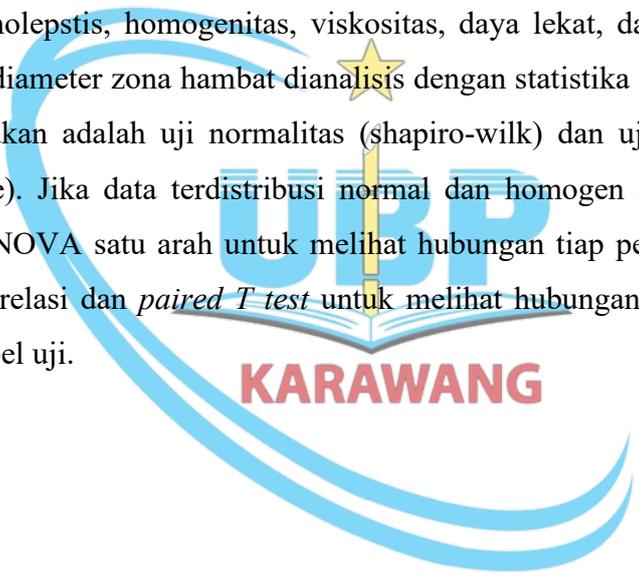
yang ditimbulkan oleh gel ekstrak etanol daun jeruk purut dengan beberapa konsentrasi basis gel.

h. Uji Hedonis atau Kesukaan

“Uji kesukaan dilakukan terhadap 20 orang sukarelawan dengan menggunakan angket. Pengujian dilakukan dengan cara sukarelawan menggunakan gel dengan berbagai formulasi kemudian diminta tanggapannya dari warna, aroma, tekstur dan kesan tidak lengket serta uji iritasi” (Astuti, *dkk*, 2013).

7. Analisis Data

Data yang didapat dari hasil evaluasi uji fisik sediaan gel (organoleptis, homogenitas, viskositas, daya lekat, daya sebar, dan pH) serta diameter zona hambat dianalisis dengan statistika SPSS. Analisa yang dilakukan adalah uji normalitas (shapiro-wilk) dan uji homogenitas (uji levene). Jika data terdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan uji ANOVA satu arah untuk melihat hubungan tiap perlakuan dilanjutkan uji korelasi dan *paired T test* untuk melihat hubungan dan pengaruh tiap variabel uji.



KARAWANG

3.4 Diagram Alir Penelitian

