

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Jenis dan rancangan pada penelitian ini yaitu penelitian eksperimental, dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) untuk mengetahui perbedaan zona hambat pada bakteri *Staphylococcus epidermis* pada tiga kelompok perlakuan ekstrak etanol daun lidah mertua. Parameter uji pada penelitian ini meliputi uji antibakteri ekstrak etanol daun lidah mertua (*Sansevierria trifasciata* P.), uji formulasi dan uji stabilitas formulasi sediaan deodoran *spay gel* ekstrak etanol daun lidah mertua (*Sansevierria trifasciata* P.). Uji aktivitas antibakteri ekstrak dan sediaan deodoran *spray gel* ekstrak etanol daun lidah mertua terhadap bakteri dengan metode sumuran (*Hole/cup*).

#### **3.2 Sampel**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yakni sediaan deodoran *spray gel* ekstrak etanol daun lidah mertua dengan variasi ekstrak etanol daun lidah mertua.

#### **3.3 Bahan dan Alat**

##### **3.3.1 Bahan**

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini ialah etanol, daun lidah mertua (*Sansevierria trifasciata* P.), bakteri *Staphylococcus epidermidis*, propilenglikol (alkemi), aquadest (Bratachem), HPMC, DMDM hidantoin (Euro Asia dmdmh), karbopol 940, trietanolamin (TEA), gliserin, macfarland 0,5 (remel), NaCl, nutrien agar (Oxoid), dragendorf, deodoran spray tawas (beorganik), metanol, kloroform, anhidrat asetat, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, HCl pekat, asam sulfat 2 N, FeCl 1%.

##### **3.3.2 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu neraca analitik, viskometer (Irlamy rheology), cawan porselain (PYREX), jangka sorong, cawan petri, corong (PYREX), pipet tetes, mikropipet, coloni counter, rak tabung reaksi, tabung reaksi (iwaki), kertas perkamen, kaca objek, hot plate (cimarec), batang pengaduk, gelas ukur (PYREX), kawat ose, alumunium foil, gelas beaker (PYREX), sudip, stirer,

*Laminar Air Flow* (LAF)(Mascote), inkubator (Gemmyco), pH meter digital (Neomet), autoklaf (Gea), *rotary evaporatory* (IKA), bunsen, penangas air.

### 3.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Tempat Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bahan Alam, Laboratorium Teknologi dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Buana Perjuangan Karawang dan waktu penelitian dilakukan dari Januari 2023 - Juni 2023

### 3.5 Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini ialah tiga variasi formulasi deodoran *spray gel* ekstrak etanol daun lidah mertua.

#### 3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini ialah evaluasi sediaan fisik meliputi uji organoleptik, uji pH, uji viskositas, uji homogenitas, uji stabilitas sediaan, uji daya sebar, uji kondisi semprotan, uji waktu kering serta pengujian aktivitas antibakteri.

#### 3.5.3 Defisini Operasional variabel

Definisi operasional variabel yang ada pada penelitian ini diterangkan pada Tabel 3.1. sebagai berikut :

Tabel 1.1. Defisini Operasional variabel

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
<b>Variabel Bebas</b>					
1.	Formula deodoran <i>spray gel</i> ekstrak etanol lidah mertua	Konsentrasi ekstrak etanol daun lidah mertua yang diformulasikan dalam sediaan deodoran <i>spray gel</i> antibakteri <i>Staphylococcus</i>	Neraca analitik	Nominal	Ekstrak etanol daun lidah mertua sebagai sediaan deodoran <i>spray gel</i>

		<i>epidermis</i> penyebab bau badan			
<b>Variabel Terikat</b>					
2.	Uji Organoleptik	Parameter fisik menggunakan indra penciuman dalam pengujian sampel deodoran <i>spray gel</i>	Panca indra	Ordinal	1. bau lemah 2. bau sedang
	1) Bau				1. bau kuat
	2) Warna	Parameter fisik menggunakan indra visual dalam pengujian sampel deodoran <i>spray gel</i>	Panca indra	Ordinal	1. hijau muda 2. hijau tua
	3) Tekstur	Parameter fisik menggunakan indra peraba dalam pengujian sampel deodoran <i>spray gel</i>	Panca indra	Ordinal	1. Cair 2. Agak kental 3. Kental
3.	Uji Ph	Nilai pH sediaan deodoran <i>spray gel</i> ekstrak etanol daun lidah mertua yang sesuai pH kulit yang ditunjukkan pH meter	pH meter	Rasio	Angka dalam pH meter
4.	Uji Viskositas	Untuk mengukur kekentalan dan laju aliran partikel dalam suatu sediaan	Viskometer	Nominal	Nilai viskositas dengan angka

5.	Uji homogenitas	Sediaan deodoran <i>spray gel</i> ekstrak etanol daun daun lidah mertua dioleskan pada kaca objek, kemudian dikatupkan dengan kaca objek yang lainnya untuk diamati homogenitasnya	Kaca objek	Ordinal	1. Homogen 2. Tidak homogen
6.	Uji daya sebar	Sediaan disemprotkan pada plastik mika dengan jarak 5 cm. Kemudian diukur daya sebar sediaan dengan menggunakan penggaris. Parameter yang digunakan adalah diameter	Penggaris	Nominal	Angka diameter daya sebar
7.	Uji Kondisi Semprotan	Sediaan disemprotkan	Panca Indra	Ordinal	1. Tidak menyemprot keluar 2. Menyemprot tapi berbentuk gumpalan

					3. Menyemprot tapi partikel terlalu besar
					4. Menyemprot seragam dalam bentuk partikel
8.	Uji Waktu Kering	Untuk pengujian waktu kering, sediaan diaplikasikan pada sisi dalam dari lengan bagian bawah sukarelawan. Kemudian dihitung waktu yang diperlukan hingga cairan yang disemprotkan mengering	Panca Indra	Ordinal	1. Cepat kering 2. Lama kering

### 3.6 Prosedur Penelitian

#### 3.6.1 Determinasi

Determinasi tumbuhan lidah mertua dilaksanakan melalui pengenalan tumbuhan di Balai Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional yang berlokasi di Karanganyar, Jawa Tengah. Tujuan utama dari penentuan tanaman adalah untuk memastikan identitas yang tepat dari tanaman yang sedang dipelajari, sehingga meminimalkan potensi kesalahan selama pengumpulan bahan penelitian penting (Diniatik, 2015).

### 3.6.2 Penyiapan Sampel

Sampel daun lidah mertua (*Sansevieria trifasciata* P.) berasal UPT Laboratorium Herbal Materia Medica, Batu, Jawa Timur. Daun lidah mertua dipetik, diseleksi, dicuci dan dikeringkan. Selanjutnya, sampel digunting kecil kemudian dihaluskan menjadi serbuk halus melalui penggunaan blender.

### 3.6.3 Skrining Fitokimia

Berikut merupakan skrining fitokimia dari ekstrak etanol daun lidah mertua :

#### 1. Uji Steroid

Pada pengujian senyawa golongan steroid, sampel sebanyak 0,1 g dilarutkan dengan metanol diuapkan diatas cawan porselen, ditambahkan 2 mL kloroform, tambahkan 10 tetes anhidrat asetat dan tetesi dengan 3 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, hasil positif apabila munculnya warna hijau (Nugrahani R *et al.*, 2016).

#### 2. Uji Flavonoid

Pada pengujian golongan flavonoid 1 g ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi ditambah 0,5 serbuk Mg dan HCl pekat air panas, positif apabila terbentuk warna merah atau kuning (Muthmainnah B., 2019).

#### 3. Uji Saponin

Sampel seberat 0,5 g dimasukkan ke dalam wadah berisi 0,5 mL air panas. Campuran tersebut kemudian dikocok kuat-kuat selama 1 menit. Hasil tes positif untuk adanya saponin ditunjukkan ketika zat yang diperiksa menghasilkan busa mencapai ketinggian 1 cm selama 10 menit (Sagita D., 2019).

#### 4. Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan ekstrak dilarutkan dengan kloroform beramonia dalam tabung reaksi kocok dan saring, menggunakan reagen mayer. Selanjutnya tambahkan 1 mL asam sulfat 2 N masukan ke dalam filtrate dan kocok hingga terbentuk dua lapisan, lapisan yang terbentuk pada bagian atas (asam) dipipet dimasukan ke tabung reaksi, tabung reaksi di tetesi 3 tetes pereaksi dragendorf timbulnya endapan coklat kemerahan positif alkaloid (Yanti S & Vera Y., 2019).

#### 5. Uji Fenolik

Uji fenolik dilakukan dengan menambahkan ekstrak sebanyak 30 mg ditetesi 10 tetes FeCl 1%. Jika suatu zat menunjukkan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam pekat, dapat disimpulkan bahwa zat tersebut mengandung fenol (Whika F D *et al.*, 2017).

### 3.7 Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Etanol Lidah Mertua Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Pengujian KHM pada ekstrak lidah mertua terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* bertujuan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum pada suatu sediaan deodoran *spray gel*. Berikut pengujian KHM pada ekstrak lidah mertua :

1. Menuangkan Nutrient Agar (NA) yang steril kedalam cawan petri steril sebanyak 20 mL secara septis
2. Mengambil suspensi bakteri sebanyak 10  $\mu$ l dan dituangkan kedalam cawan petri steril yang telah terisi media Nutrient Agar.
3. Media yang sudah padat diberi lubang sumuran dengan diameter 7 mm.
4. Ekstrak etanol daun lidah mertua dengan konsentrasi 0,5% b/v, 0,9% b/v, 1,9% b/v, 3,7% b/v, 7,5% b/v, 15% b/v, 30% b/v dilarutkan dalam 2 mL aquadest steril.
5. Ekstrak dimasukkan pada lubang sumuran dengan volume 50  $\mu$ l (masing-masing konsentrasi) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, selanjutnya dilakukan pengamatan zona hambat yang terbentuk ( Wahyuningsih *et al.*, 2021)

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

### 3.8 Formulasi Sediaan Deodoran *Spray Gel*

Formulasi sediaan Deodoran *Spray* yang dibuat berdasarkan penelitian Martono & Suharyani (2018) yang telah dimodifikasi seperti pada Tabel 3.2 dibawah ini :

**Tabel 3.2** Formulasi Deodoran *Spray Gel*

Bahan	Konsentrasi				Fungsi
	F0	F1	F2	F3	

Ekstrak daun lidah mertua	-	7,5%	10%	12,5%	Zat Aktif
Karbopol 940	0,12%	0,12%	0,12%	0,12%	Suspending agent
HPMC	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	Gelling agent
Gliserin	1%	1%	1%	1%	Pelembut
TEA	0,25%	0,25%	0,25%	0,25%	Alkalizing agent
DMDM Hidatoin	0,6%	0,6%	0,6%	0,6%	Pengawet
Propilenglikol	15%	15%	15%	15%	Humektan
Aquadest ad	100	100	100	100	Pelarut

### 3.9 Prosedur Formulasi Sediaan Deodoran Spray Gel

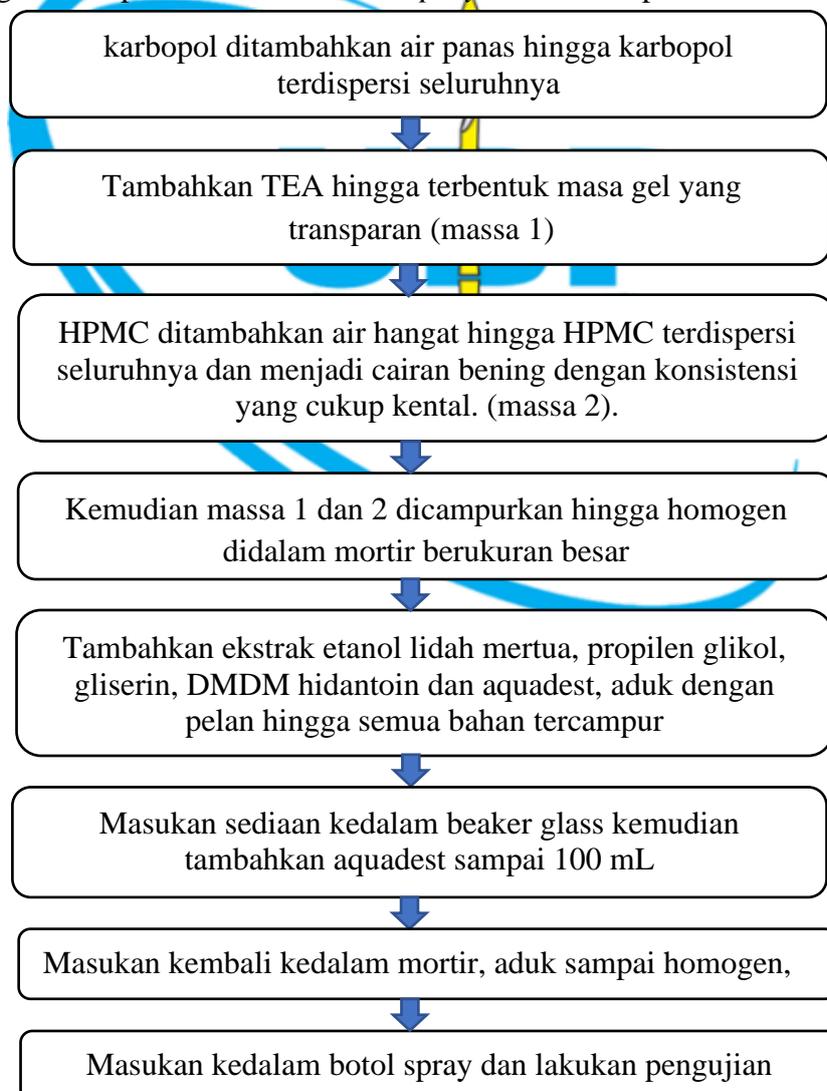
#### 1. Menyiapkan bahan

Bahan utama pada penelitian ini ialah ekstrak etanol daun lidah mertua (*Sansevieria trifasciata P.*). Bahan diperoleh dari berasal dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica, Batu, Jawa Timur.

#### 2. Formulasi Sediaan Deodoran Spray Gel.

1. Pembuatan deodoran *spray gel* dilakukan dengan cara karbopol ditambahkan air panas hingga karbopol terdispersi seluruhnya
2. Tambahkan TEA hingga terbentuk masa gel transparan (massa 1).
3. HPMC ditambahkan air hangat hingga HPMC terdispersi seluruhnya dan menjadi cairan bening dengan konsistensi yang cukup kental. (massa 2).
4. Kemudian massa 1 dan 2 dicampurkan hingga homogen didalam mortir berukuran besar,
5. Tambahkan ekstrak etanol lidah mertua, propilen glikol, gliserin, DMDM hidantoin dan aquadest, aduk dengan pelan hingga semua bahan tercampur.
6. Masukkan sediaan kedalam beaker glass kemudian tambahkan aquadest sampai 100 mL
7. Masukkan kembali kedalam mortir, aduk sampai homogen,
8. Masukkan kedalam botol spray dan lakukan pengujian (Martono & Suharyani., 2018).

Diagram alir pembuatan Deodoran *Spray Gel* terlihat pada **Gambar 3.1** :



**Gambar 3.1.** Pembuatan Sediaan Deodoran *Spray Gel*

### **3.10 Evaluasi Sediaan Deodoran *Spray Gel***

#### **3.10.1 Uji Organoleptik**

Pada pengujian organoleptik hal-hal yang diamati berupa perubahan bentuk, warna dan bau yang terjadi pada sediaan spray (Wulandari, 2019)

#### **3.10.2 Uji pH**

pH meter digunakan untuk melihat nilai dan menentukan pH. Elektroda direndam dalam larutan buffer dengan pH 4, dibiarkan mencapai kesetimbangan, selanjutnya dicuci dengan akuades, dan terakhir dikeringkan. Elektroda dimasukkan ke dalam larutan buffer 7 dan dibiarkan hingga mencapai keadaan stabil. Elektroda menjalani proses pembilasan berikutnya menggunakan air suling diikuti dengan pengeringan. Setelah elektroda dimasukkan ke dalam sampel, pengukuran pH dilakukan setelah memberikan waktu yang cukup bagi sampel untuk mencapai keadaan stabil (Martono & Suharyani., 2018). Tujuan penentuan pH adalah guna melihat pH sediaan topikal. Sediaan topikal harus memiliki pH kisaran 4,5-7 yang sama dengan pH kulit (Arfiani *et al.*, 2017)

#### **3.10.3 Uji Homogenitas**

Uji homogenitas dilaksanakan dengan tujuan guna memastikan apakah unsur-unsur penyusun campuran tercampur rata atau tidak (Afianti *et al.*, 2015). Pengujian dilakukan dengan mengukur massa 0,1 gram gel yang telah diaplikasikan pada kaca objek atau substrat transparan lain yang sesuai, sambil memeriksa komposisinya dengan cermat. Butiran kasar tidak di temukan pada gel yang baik (Nurvianty *et al.*, 2018). Sediaan harus memperlihatkan komposisi yang seragam, menampilkan pewarnaan yang konsisten dan tidak adanya partikel kasar yang terlihat (Seru *et al.*, 2021).

#### **3.10.4 Uji Viskositas**

Sediaan ditempatkan di dalam wadah, diikuti dengan pemasangan spindel berikutnya. Spindel harus sepenuhnya terendam dalam larutan uji. Setelah aktivasi viskometer Brookfield, telah dipastikan bahwa rotor mampu berputar dengan

kecepatan 60 rpm (Agustina M *et al.*, 2022). Pengguna diinstruksikan untuk memeriksa secara visual jarum viskometer, yang menunjukkan nilai numerik tertentu pada skala viskositas. Selanjutnya, pengguna disarankan untuk mendokumentasikan nilai yang tercatat ini (Elcistia & Zulkarnain., 2018). formulasi gel semprot ketentuan nilai viskositas untuk yaitu 500 – 5000 cps (Martono & Suharyani., 2018).

### 3.10.5 Uji Kondisi semprotan

Tujuan dari percobaan ini adalah untuk menilai kualitas semprotan yang dihasilkan oleh formulasi spray gel, sesuai dengan standar yang ditentukan:

- Buruk 1 bila tidak menyembrot keluar.
- Buruk 2 bila menyembrot keluar, dalam bentuk tetesan/gumpalan tidak dalam bentuk partikel.
- Buruk 3 bila menyembrot keluar, tetapi partikel terlalu besar.
- Baik bila menyembrot dalam bentuk partikel kecil dan keluar seragam (Fitriansyah *et al.*, 2016)

### 3.10.6 Uji Daya Sebar

Pada plastik mika sediaan disemprotkan dari jarak 5 cm. setelah itu penggaris digunakan untuk mengukur daya sebar sediaan. Diameter adalah parameter yang digunakan dalam pengujian ini (Fitriansyah *et al.*, 2016).

### 3.10.7 Uji Waktu Kering

Untuk pengujian waktu kering, sediaan diaplikasikan pada sisi dalam dari lengan bagian bawah sukarelawan. Kemudian dihitung waktu yang perlukan hingga cairan yang disemprotkan mengering (Fitriansyah *et al.*, 2016).

### 3.10.8 Uji Stabilitas Sediaan

Uji stabilitas sediaan dilakukan dengan metode uji stabilitas dipercepat. Uji stabilitas dipercepat dilakukan dengan menyimpan sediaan spray gel pada suhu ruang ( $28^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) dan suhu dingin  $4^{\circ}\text{C}$  selama 28 hari dan diamati pada hari ke-1, 3, 5, 7, 14, 21, dan 28. Hal – hal yang diperhatikan meliputi pH dan viskositas

(Anandhita, M,A & Oktaviani, N, 2020, Fitriansyah *et al.*, 2016, Hamsinah *et al.*, 2019).

### 3.11 Uji Aktifitas Antibakteri Sediaan Deodoran Spray Gel Ekstrak Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata P.*)

Pengujian aktivitas antibakteri sediaan deodoran *spray gel* ekstrak etanol daun lidah mertua (*Sansevieria trifasciata P.*) sebagai berikut :

#### a. Pembuatan Media Nutrien Agar (NA)

Menimbang sebanyak 0,56 g Nutrien Agar (NA) ditimbang, kemudian dimasukkan kedalam gelas kimia kemudian melarutkannya dengan 20 mL aquadest. Larutan media dipanaskan sampai mendidih, ditunggu 1 menit. Kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada temperatur 116-121°C selama 15 menit. Setelahnya masukkan larutan media kedalam cawan petri sebanyak 20 mL lalu didinginkan pada temperatur ruang atau kedalam Laminar Air Flow.

#### b. Kultur Bakteri

Prosedur ini bertujuan untuk memperbanyak dan meremajakan bakteri dengan menginokulasikan 1 ose *Staphylococcus epidermidis* yang telah ditumbuhkan pada Nutrien Agar (NA). Hal ini dicapai dengan menggores bakteri secara hati-hati dari biakan murni menggunakan jarum ose pada permukaan agar miring. Sampel bakteri yang telah diaplikasikan dengan pola coretan pada media selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Masrijal *et al.*, 2022).

#### c. Pembuatan Media Suspensi Bakteri

Proses suspensi bakteri melibatkan penggunaan larutan NaCl 0,9%. Ini dicapai dengan mensuspensi bakteri uji dalam 5 mL larutan NaCl tersebut. Selanjutnya, suspensi bakteri yang dihasilkan disertakan dengan kekeruhan standar *Mc. Farland* 0,5.

#### d. Pengujian Aktivitas Antibakteri Sediaan Deodoran *Spray Gel* Ekstrak Etanol Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata P.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Pengujian antibakteri sediaan deodoran *spay gel* ekstrak etanol daun lidah mertua terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* sebagai berikut :

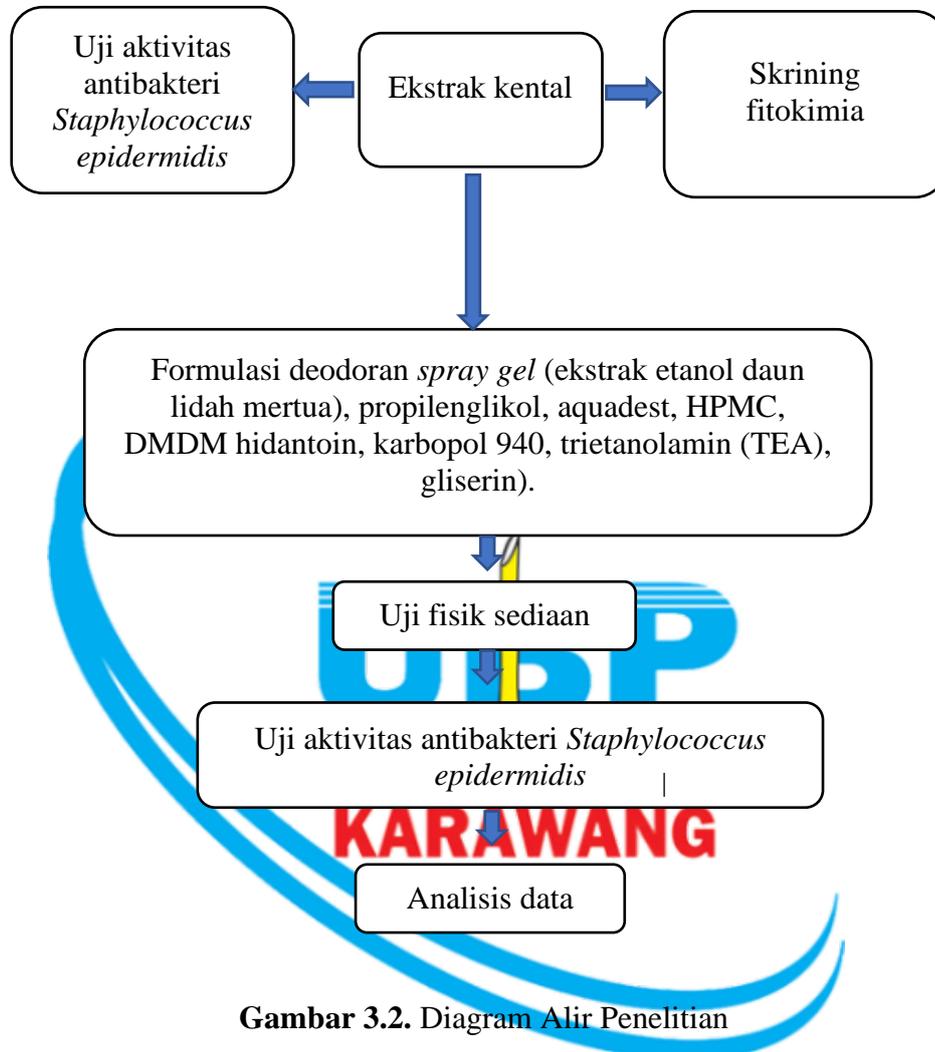
1. Menuangkan Nutrient Agar (NA) yang steril kedalam cawan petri steril sebanyak 20 mL secara septis
2. Mengambil suspensi bakteri sebanyak 10  $\mu$ l dan dituangkan kedalam cawan petri steril yang telah terisi media NA, media yang sudah padat diberi lubang sumuran dengan diameter 7 mm.
3. Sediaan Deodoran *Spray Gel* Ekstrak Etanol Daun Lidah Mertua dengan F0 (kontrol negatif) F1, F2, F3 dan deodoran *spray* beorganik 1% (kontrol positif) dimasukkan pada lubang sumuran dengan volume 50  $\mu$ l (masing-masing konsentrasi) kemudian beri label.
4. Media tersebut diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, selanjutnya dilakukan pengamatan zona hambat yang terbentuk (Muljono P *et al* 2016).

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

### 3.12 Analisis Data

Karakteristik fisik formulasi deodoran spray gel dinilai melalui berbagai pengujian meliputi uji organoleptik, pengukuran pH, uji viskositas, uji homogenitas, uji daya sebar, dan evaluasi stabilitas fisik kemudian dilakukan analisis statistik menggunakan uji ANOVA satu arah (*one way ANOVA*). Data yang telah diolah kemudian ditampilkan dalam bentuk tabel dan grafik.

### 3.13 Diagram Alir Penelitian



Gambar 3.2. Diagram Alir Penelitian