

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Metode penelitian yang dilakukan adalah jenis penelitian eksperimental, pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antibakteri *acne patch* dari fraksi etil asetat kulit pisang kepok dengan parameter uji keseragaman bobot, uji kelembapan, uji ketebalan, uji pH, uji antibakteri, uji *Swelling*, uji degradabel dan uji stabilitas.

3.2 Sampel Penelitian

3.2.1 Sampel Fraksi

Fraksi utama dalam penelitian ini adalah kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*). Fraksi diperoleh dari Balitro Bogor yang berada di Jalan 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* (ATCC 6538 PK/5) diperoleh dari *Microbiology Thermo Fisher Scientific*.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu kotak propilena, timbangan analitik (Electronic scale), penangas air, gelas ukur (IWAKI), corong glass (PYREX), tabung reaksi (IWAKI), cawan porselin, erlenmeyer (IWAKI), batang pengaduk, pH meter (PH/ISE Meter pH-240L), alumunium foil , pipet tetes, cawan petri, lampu spiritus, jarum ose, batang sumuran, mikropipet (Fisherbrand Elite), autoklaf (GEA medical YX-24 LDJ), inkubator (LAB INCUBATOR Digital #IN-601 Gemmyco), jangka sorong (Vernier Caliper), colony counter, LAF (Laminar Air Flow) (mascotte), kertas perkamen, gelas piala (PYREX®), labu ukur (PYREX®), vial, spektrofotometer FTIR (Thermo Scientific), oven (Gemmyco).

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah N-Heksan (PT. Brataco), Etil Asetat (PT. Brataco), Etanol 96% (PT. Brataco), Aquadest (PT. Brataco), Fraksi Etil Asetat Kulit Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca L.*), Natrium Alginat (Subur Kimia Jaya), Kitosan (PT. Bio Chitosan Indonesia), dan Gliserin (Indo Jaya Kimia), Nutrient Agar (Himedia), DMSO 1%, Reagen mayer, Reagen Dragendorff, Reagen Liberman-Buchard (Lab Farmasi UBP), Serbuk Mg (PT. Merck), HCl pekat (PT. Merck), TCA 20% (Supelco), Tripsin (Sigma-Aldrich), PBS (Phosphate Buffer Saline) (PT. Muda Berkah).

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Kegiatan penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Bahan Alam Sediaan Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang. Waktu penelitian dilakukan pada bulan Januari 2025 sampai Februari 2025.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Klasifikasi Variable

a. Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini yaitu sediaan *acne patch* dari formula sediaan *acne patch* fraksi etil asetat kulit pisang kepok dengan konsentrasi 0,1%, 0,3%, dan 0,7%.

b. Variabel Terkait

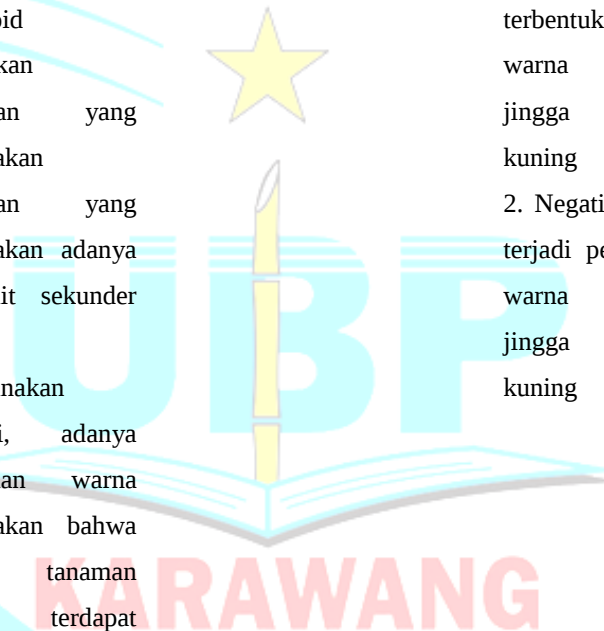
Variabel terkait dari penelitian ini yaitu uji skrining fitokimia, uji keseragaman bobot, uji kelembapan, uji ketebalan, uji pH permukaan *Acne patch*, uji *Swelling*, uji antibakteri dan uji stabilitas.

3.5.2 Definisi Oprasional Variabel

Definisi oprasional variable pada penelitian ini, tertera dalam tabel, berikut :

Tabel 3.1 Definisi Oprasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Variabel Bebas					
1.	Formulasi	Formulasi sediaan	Pengujian	Nominal	F1 = 0,1% b/v

	sediaan <i>acne patch</i> ekstrak kulit pisang kepok etil asetat dengan konsentrasi 0,1%, 0,3%, dan 0,7%.	meliputi uji organoleptik, uji pH, uji kelembapan, uji ketebalan, uji keseragaman bobot dan uji <i>Swelling</i>	F2 = 0,3%b/v F3 = 0,7% b/v
2.	Skrining Fitokimia Flavonoid Skrining Fitokimia Flavonoid merupakan pengujian yang menyatakan pengujian yang menyatakan adanya metabolit sekunder dengan menggunakan pereaksi, adanya perubahan warna menyatakan bahwa pada tanaman tersebut terdapat senyawa flavonoid	Pereaksi 	1. Positif : terbentuknya warna merah, jingga atau kuning 2. Negatif : tidak terjadi perubahan warna merah, jingga atau kuning
3.	Skrining Fitokimia Alkaloid Skrining Fitokimia Alkaloid merupakan pengujian yang menyatakan adanya metabolit sekunder dengan menggunakan pereaksi, adanya perubahan warna menyatakan bahwa pada tanaman tersebut terdapat senyawa alkaloid	Pereaksi	1. Positif : terbentuknya endapan warna jingga 2. Negatif : tidak terbentuknya endapan

4.	Skrining Fitokimia Saponin	Skrining Fitokimia Saponin merupakan pengujian yang menyatakan adanya metabolit sekunder dengan menggunakan pereaksi, adanya perubahan warna menyatakan bahwa pada tanaman tersebut terdapat senyawa saponin	Pereaksi		1. Positif : Ditandai dengan perubahan yang terjadi terhadap terbentuknya busa yang diamati 2. Negatif : tidak terdapat busa
5.	Skrining Fitokimia Tanin	Skrining Fitokimia Tanin merupakan pengujian yang menyatakan adanya metabolit sekunder dengan menggunakan pereaksi, adanya perubahan warna menyatakan bahwa pada tanaman tersebut terdapat senyawa tanin	Pereaksi		1. Positif : terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan 2. Negatif : tidak terjadi perubahan warna biru tua atau hitam kehijauan
6.	Skrining Fitokimia Kuinin	Skrining Fitokimia Kuinin merupakan pengujian yang menyatakan adanya metabolit sekunder dengan menggunakan pereaksi, adanya perubahan warna menyatakan bahwa pada tanaman	Pereaksi	Nominal	1. Positif : Terbentuknya kompleks larutan berwarna kuning. 2. Negatif : Tidak terjadi perubahan kompleks larutan berwarna kuning.

		tersebut	terdapat			
		senyawa Kuinon				
7.	Skrining Fitokimia Steroid dan Terpenoid	Skrining Steroid Terpenoid	Fitokimia dan merupakan pengujian yang menyatakan adanya metabolit sekunder dengan menggunakan pereaksi, adanya perubahan warna menyatakan bahwa pada tanaman tersebut terdapat senyawa Kuinon	Pereaksi	Nominal	1. Positif : Terbentuknya warna merah berubah menjadi warna ungu menunjukkan adanya steroid. Terbentuknya warna ungu berubah jadi warna biru.
6.	Uji Organoleptik	Parameter fisik dengan menggunakan indra penciuman sediaan <i>acne patch</i>	Panca indra	Nominal		1. Bau 2. Warna 3. Tekstur
7.	Uji Ketebalan	Mengamati ketebalan sediaan <i>Acne patch</i>	Parameter fisik dengan menggunakan alat uji jangka sorong	Rasio	≤ 1 mm	
8.	Uji Kelembapan	Mengamati efektivitas kelembapan dengan cara sediaan <i>acne</i> <i>patch</i> didiamkan selama 5 menit pada area kulit yang terdapat jerawat	Parameter fisik dengan menggunakan alat uji jangka sorong	Interval		1. Kulit lembab: 43-46% 2. Kulit normal: 38-42% 3. Kulit Kering: 34-37% 4. Kulit sangat kering : $\leq 33\%$
9.	Uji Permukaan pH	Nilai pH sediaan <i>acne patch</i>	Parameter fisik dengan	Rasio		pH 4-6

	<i>Acne patch</i>	disesuaikan dengan pH kulit	menggunakan alat uji pH meter		
10.	Uji Keseragaman Bobot	Mengamati keseragaman bobot sediaan <i>Acne patch</i>	Timbangan Analitik	Rasio	$\leq 0,05$ g
11.	Uji <i>Swelling</i>	Mengamati penyerapan sediaan <i>Acne patch</i>	Timbangan analitik dan stopwatch	Rasio	$\leq 0,05$ g dan 10-40 menit
12.	Aktivitas antibakteri fraksi etil asetat kulit pisang kepok	Pengujian berdasarkan daya hambat pada media	Jangka sorong	Rasio	mm (milimeter)
13.	Uji FTIR	Mendeteksi gugus fungsi, mengidentifikasi senyawa dari sampel yang dianalisis	Spektrofotometer FTIR	Nominal	1. OH 2. C-H 3. C=O 4. C-O atau C-N
14.	Uji Degradabel	Evaluasi efek bahan kimia dan enzim dalam degradasi	Inkubator	Rasio	Persentase
15.	Uji Ketahanan Lipat	Penentuan tingkat kerapuhan dan ketahanan lipat.	Pelipatan	Rasio	Jumlah lipatan <i>Acne patch</i>
16.	Aktivitas antibakteri <i>acne patch</i> ekstrak kulit pisang kepok fraksi etil asetat	Pengujian berdasarkan daya hambat pada media	Jangka sorong	Rasio	mm (milimeter)

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di Universitas Padjajaran Tujuan dari determinasi adalah untuk memastikan identitas dari tanaman yang akan digunakan dalam penelitian sehingga hasil yang diperoleh dari penelitian sesuai dengan yang diharapkan. Hasil determinasi dilakukan untuk memastikan identitas dari pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*) yang digunakan sebagai sampel.

3.6.2 Pembuatan Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca L.*)

Kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*) dibersihkan dari daging buah serta kotoran dan debu yang menempel, kemudian dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari dan ditutupi dengan menggunakan kain hitam. Tujuan ditutupi kain hitam untuk menghindari penguapan terlalu cepat yang dapat menurunkan etanol 96% dalam bahan. Setelah melakukan pengeringan dengan matahari, lalu dioven pada suhu 40°C. Proses pengeringan dianggap cukup jika kulit pisang telah menjadi rapuh. Setelah kering, kulit pisang diblender dan diayak. Serbuk simplisia yang dihasilkan selanjutnya menjalani skrining fitokimia dan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 500 gram simplisia kulit pisang kepok dimasukkan ke dalam gelas kimia berkapasitas 2000 ml, kemudian ditambahkan 1000 ml pelarut dan didiamkan selama 24 jam pada suhu kamar. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipadatkan menggunakan rotary evaporator pada 60°C dengan kecepatan 80 rpm (Yunita *et al.*, 2020) dan ekstrak kental yang dihasilkan ditimbang serta dihitung rendemennya (Rudiat *et al.*, 2020).

3.6.3 Pembuatan Fraksi Etil Asetat Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca L.*)

Ekstrak kental yang telah diperoleh ditimbang sebanyak 5 gram, lalu dilarutkan dengan 20 ml etanol dan ditambahkan 80 ml aquades. Larutan ekstrak kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah, dan ditambahkan pelarut n-heksana sebanyak 300 ml dengan perbandingan volume 1:1, lalu difraksinasi dengan mengocok corong pisah. Proses fraksinasi menggunakan pelarut n-

heksana dilakukan sebanyak tiga kali hingga fraksi n-heksana menjadi bening. Setelah mendapatkan dua fraksi yang berbeda, yaitu fraksi n-heksan dan fraksi air, fraksi air kemudian dipartisi kembali dengan menggunakan pelarut etil asetat dengan jumlah dan perbandingan yang sama, yaitu 300 ml dan 1:1, dan fraksinasi dilakukan tiga kali menggunakan corong pisah, Selanjutnya, fraksi etil asetat dipadatkan menggunakan alat *waterbath* hingga diperoleh fraksi kental (Peratiwi *et al.* 2023).

3.6.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan suatu tahap awal untuk mengidentifikasi kandungan suatu senyawa dalam simplisia atau tanaman yang akan diuji. Senyawa-senyawa kimia yang merupakan hasil metabolisme sekunder pada tumbuhan sangat beragam dan dapat diklasifikasikan dalam beberapa golongan senyawa bahan alam, yaitu saponin, tanin, flavonoid dan alkaloid (Whika *et al.*, 2017).

a. Uji Alkaloid

Disiapkan fraksi kulit pisang kepok dan diambil beberapa tetes kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi. Pada sampel tersebut ditambahkan 2 tetes pereaksi dragendroff. Perubahan yang terjadi selama 30 menit, hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk warna jingga.

b. Flavonoid

Fraksi kulit pisang kapok dimasukkan kedalam tabung reaksi. Ditambahkan pada sampel berupa serbuk magnesium 2N sebanyak 2mg dan diberikan 3 tetes HCL pekat. Sampel dikocok dan diamati perubahan yang terjadi, terbentuknya warna merah, jingga atau kuning pada larutan menunjukkan adanya flavonoid.

c. Uji Saponin

Disiapkan fraksi kulit pisang kapok dimasukkan kedalam tabung reaksi. Air panas ditambahkan pada sampel. Perubahan yang terjadi terhadap terbentuknya busa diamati, reaksi positif jika busa stabil selama 30 menit dan tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCL 2N.

d. Uji Tanin

Disiapkan fraksi kulit pisang kapok 1 mL. Ditambahkan beberapa tetes larutan besi (III) klorida 1%. Perubahan yang terjadi diamati, terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya senyawa tanin.

e. Uji Kuinon

Disiapkan fraksi etil asetat kulit pisang kepok. Ditambahkan beberapa tetes NaOH 1 N, terbentuknya kompleks larutan berwarna kuning menunjukkan positif kuinon.

f. Uji Steroid dan Terpenoid

Disiapkan fraksi etil asetat kulit pisang kepok. Ditambahkan beberapa tetes pereaksi Libermann Buchard, terbentuknya warna ungu berubah jadi warna biru menunjukkan adanya golongan triterpenoid, sedangkan terbentuknya warna merah berubah menjadi warna hijau menunjukkan adanya golongan steroid.

3.6.5 Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri *S.aureus* dilakukan dengan cara mengambil biakan murni bakteri yang telah diperbanyak dalam media agar miring yang telah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, biakan diambil 1 ose kemudian disuspensikan ke dalam 10 mL larutan NaCl 0,9% dan diukur kekeruhannya menggunakan nefelometer dengan standar 0,5 Mc Farland (Mulyani *et al.*, 2021).

3.6.6 Peremajaan Bakteri

Sebelum dilakukan uji antibakteri, bakteri yang akan digunakan harus diregenerasikan terlebih dahulu. Hal yang pertama kali harus dilakukan adalah membuat biakan agar miring, yaitu dengan menggoreskan biakan satu ose dari bakteri *S.aureus* masing-masing pada agar miring yang masih baru kemudian diinokulasi pada suhu 37°C selama 24 jam didalam inkubasi (Hainil *et al.*, 2022).

3.6.7 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Kulit Pisang Kepok

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat kulit pisang kepok menggunakan metode difusi sumuran dengan menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi bakteri yang telah dibuat kemudian diinokulasikan ke dalam media NA dengan metode perataan (*Spread Plate Method*) dan media didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan terdifusi ke dalam media. Pada media tersebut dibuat 5 sumuran dengan boor prop dengan jarak yang sama. Pada sumuran diisi sampel uji yaitu fraksi etil asetat kulit pisang kepok, klindamisin sebagai kontrol positif dan aquadest sebagai kontrol negatif dengan menggunakan pipet dropper. Konsentrasi fraksi etil asetat kulit pisang kepok yaitu 0,1%, 0,3%, 0,7%. Masa inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati hasilnya, setelah itu diukur diameter zona hambat sekitar sumuran yang dinyatakan dalam satuan mm. Zona yang tidak ditumbuhi bakteri di sekitar sumuran menandakan adanya daya hambat terhadap *S.aureus*. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali ulangan (Mulyani *et al.*, 2021).

Pembagian kategori uji difusi metode sumuran:

Kontrol Negatif (-) : Media + Bakteri + Aquadest

Kontrol Positif (+) : Media + Bakteri + Klindamisin 1%

F1 : Media + Bakteri + Fraksi etil asetat kulit pisang kepok 0,1%

F2 : Media + Bakteri + Fraksi etil asetat kulit pisang kepok 0,3%

F3 : Media + Bakteri + Fraksi etil asetat kulit pisang kepok 0,7%

3.6.8 Formulasi Sediaan *Acne patch*

Formulasi sediaan *acne patch* fraksi etil asetat kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*) (Aisha. 2024).

Tabel 3.2 Formulasi Sediaan *Acne patch*

Nama Bahan	Konsentrasi (%)				Fungsi
	F0	F1	F2	F3	
Fraksi Etil Asetat Kulit Pisang Kepok	-	0,1	0,3	0,7	Zat Aktif
Alginat	2	2	2	2	Agen Stabilizer
Kitosan	0,2	0,2	0,2	0,2	Polimer
Glycerin	0,1	0,1	0,1	0,1	Humektan
Aquadest	Add 50 mL	Add 50 mL	Add 50 mL	Add 50 mL	Pelarut

3.6.9 Prosedur Pembuatan Formulasi *Acne Patch*

Kitosan sebanyak 0,1 gr dicampurkan dalam 24,75 mL aquadest. Alginat sebanyak 1 gr dicampurkan dengan 23,75 mL aquadest, kemudian diaduk dengan menggunakan magnetic stirrer hingga bening. Setelah itu larutan alginat ditambahkan secara perlahan ke dalam larutan kitosan dengan menggunakan mixer hingga homogen, tambahkan larutan glycerin sebanyak 0,05 gr. Setelah bahan tercampur masukan fraksi etil asetat kulit pisang kepok dan aduk hingga merata sebanyak 0,05% (F1), 0,15% (F2), 0,35% (F3). Tuang dan ratakan larutan pada kotak propilena. Larutan yang telah diratakan dikeringkan pada suhu 60°C selama 24 jam. Setelah kering dicetak menggunakan alat pencetak khusus *Acne patch* (Aisha, 2024).

3.6.10 Evaluasi Sifat Fisik Sediaan *Acne Patch*

1. Uji Organoleptik

Pada pengujian organoleptik diamati secara visual yang meliputi warna, bau, bentuk, dan tekstur permukaan *Acne patch* (Oktania *et al.* 2024).

2. Uji pH Permukaan *Acne Patch*

pH yang terlalu asam dapat memicu iritasi pada kulit, sedangkan pH yang terlalu basa dapat membuat kulit menjadi kering dan bersisik. Oleh karena itu, sediaan *acne patch* idealnya memiliki pH yang sejalan dengan pH kulit, yaitu berkisar antara 4–8 (Baharudin & Maesaroh, 2020). Pengujian pH dilakukan dengan memasukkan *acne patch* ke dalam cawan porselen, kemudian menambahkan 5 mL aquadest dan membiarkannya mengembang selama 2 jam pada suhu ruang. Setelah itu, kertas pH ditempelkan pada permukaan *acne patch* untuk mengukur nilainya. Rentang pH yang aman bagi sediaan *acne patch* adalah 4–8 (Oktania et al., 2024).

3. Uji Keseragaman Bobot

Pengujian keseragaman bobot dilakukan untuk mengetahui kesamaan dari bobot setiap *acne patch* guna mengevaluasi konsistensi proses pembuatan untuk menghasilkan produk yang homogen dalam hal pengujian keseragaman dosis. Keseragaman yang baik memiliki nilai koefisien variasinya $>5\%$ (Hartesi et al, 2020). *Acne patch* ditimbang 3 *acne patch*, kemudian ditentukan nilai bobot rata-ratanya dan %Koefisien variasi. Dapat dikatakan memenuhi syarat apabila nilai % Koefisien variasi tidak boleh lebih dari 5% (Oktania et al. 2024).

4. Uji Ketebalan

Ketebalan sediaan *acne patch* memiliki peran dalam sifat fisiknya, jika *acne patch* tipis akan lebih mudah diterima dalam pemakaiannya (Arifin, Sartini and Marianti, 2019). Sediaan *acne patch* diharapkan memiliki ketebalan yang sama, diambil 3 *acne patch* dari tiap konsentrasi di ukur ketebalannya di 5 sisi yang berbeda dengan menggunakan jangka sorong kemudian dihitung rata – rata nya. Ketebalan pada sediaan *acne patch* sangat berperan pada sifat fisik *acne patch* semakin tipis sediaan maka akan lebih mudah diterima dalam penggunaannya. Syarat ketebalan *acne patch* yaitu tidak boleh lebih dari 1 mm (Oktania et al. 2024).

5. Uji Kelembapan

Uji kelembapan dilakukan untuk mengetahui tingkat penyerapan kandungan air dari sediaan *acne patch*, proses penguapan yang sempurna bila memiliki nilai persentasi sudah yang baik. Nilai persentasi uji kelembapan yang baik pada sediaan *Acne patch* yaitu $<10\%$ (Novia, 2021). *Acne patch* ditimbang dan disimpan pada suhu ruangan selama 24 jam. Lalu, disimpan pada suhu 40°C dalam waktu 24 jam dan ditimbang kembali. Persen daya serap kelembapan dihitung dengan rumus berikut $[(\text{berat awal} - \text{berat akhir}) : \text{berat awal} \times 100\%]$ (Wardani & Saryanti, 2021).

6. Uji Swelling

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan berkembang sediaan *acne patch* dalam menyerap air. Sediaan *acne patch* kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*) ditimbang, kemudian direndam dalam PBS (*Phosphate Buffered Saline*) 2 hari. *Acne patch* yang benar-benar mengembang kemudian ditimbang (W_s). *Acne patch* yang mengembang kemudian ditimbang sampai berat konstan (W_d). *Swelling ratio* dihitung sebang W_s/W_d (Wathoni *et al.*, 2019)

7. Uji Ketahanan Lipat

Pada pengujian ketahanan lipat dilakukan untuk mengetahui ketahanan sediaan *acne patch* terhadap lipatan, syarat ketahanan lipat yang baik yaitu >200 lipatan (Wardani dan Saryanti, 2021). Untuk uji daya lipat sampel diambil dari tiap formula kemudian dilakukan uji lipat dengan cara melipat *acne patch* secara berulang sampai patah atau robek. Jumlah lipatan dianggap sebagai nilai ketahanan sediaan, uji ini untuk mengindikasikan bahwa sediaan memiliki konsistensi film yang bagus, tidak mudah robek dan tidak mudah patah saat penyimpanan. Dapat dikatakan memenuhi syarat apabila jumlahnya lipatannya >200 (Oktania *et al.* 2024).

8. Uji Degradability

Pada uji ini *Acne patch* ditimbang dan direndam dalam 2 mL larutan TCA 20% yang diinkubasi selama 24 jam. Larutan TCA dikeluarkan dan ditimbang lagi hingga mencapai keadaan konstan. Studi degradabilitas dengan larutan tripsin juga diteliti dengan metode yang sama (Wathon *et al.*, 2019). Prsentase perubahan berat dihitung menggunakan rumus dibawah ini :

$$\% \text{ Perubahan Berat} = 100 - \frac{\text{Berat akhir}}{\text{Berat awal}} \times 100$$

9. Fourier Transform Infrared (FT-IR)

Pengujian dengan FTIR bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya gugus fungsi senyawa alginat dan kitosan. Sebelum dilakukan uji terlebih dahulu sampel dibentuk pelet dengan ketebalan 1 cm. Campuran tersebut dimasukkan dalam wadah berbentuk cakram untuk membentuk pelet. Pelet dimasukan dalam tabung dalam perangkat FTIR dan disinari hingga diperoleh spektra tiap sampel. (Nurfitriyana *et al*, 2022).

3.6.11 Uji Stabilitas

Pengujian stabilitas sediaan *acne patch* dilakukan menggunakan metode *cycling test*. Pengujian stabilitas ini bertujuan untuk mengetahui ketahanan sediaan *acne patch* fraksi kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*) berdasarkan penyimpanan pada suhu yang berbeda. Sediaan *acne patch* fraksi kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*) dilakukan uji stabilitas dipercepat dengan menggunakan alat climatic chamber pada suhu 4°C dan 40°C selama 24 jam, perlakuan ini disebut 1 siklus. Percobaan diulang sebanyak 6 siklus, dimana tiap siklus diamati perubahan fisik sediaan transdermal *acne patch* meliputi uji organoleptik, uji keseragaman bobot, uji pH, uji ketebalan, uji *Swelling*, uji degradibel, dan uji ketahanan lipat (Simanullang *et al.*, 2024).

3.6.12 Uji Aktivitas Antibakteri Acne Patch

Pengujian aktivitas antibakteri sediaan *acne patch* menggunakan metode difusi cakram (*disc diffusion*) cara sebar (*spread*) terhadap masing-masing

konsentrasi sediaan *Acne patch* 0,1%, 0,3%, 0,7%. Suspensi bakteri uji disebar diatas permukaan media NA yang telah mengeras, lalu cakram antibiotik klindamisin sebagai kontrol positif, Aquades sebagai kontrol negatif dan sediaan *Acne patch* dari masing masing konsentrasi yang sudah ditentukan sebelumnya dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, pengujian dilakukan sebanyak 3 kali (triplo), pada kontrol positif dan negatif tidak dilakukan pengulangan. Diameter daerah hambat (zona bening) yang terbentuk di sekeliling cakram diukur menggunakan jangka sorong secara manual. Dalam mengukur zona hambat, diameter cakram juga diukur, konsentrasi yang mempunyai diameter 6 mm (sama dengan diameter cakram) dikatakan tidak memiliki sedangkan zona hambat, konsentrasi yang memiliki diameter lebih dari 6 mm dikatakan memiliki zona hambat (Sari *et al.*, 2023).

Pembagian kategori uji difusi metode sumuran:

Kontrol Positif (+) : Media + Bakteri + Klindamisin 1%

F0 : Media + Bakteri + Basis Sediaan

F1 : Media + Bakteri + Sediaan *Acne patch* 0,1%

F2 : Media + Bakteri + Sediaan *Acne patch* 0,3%

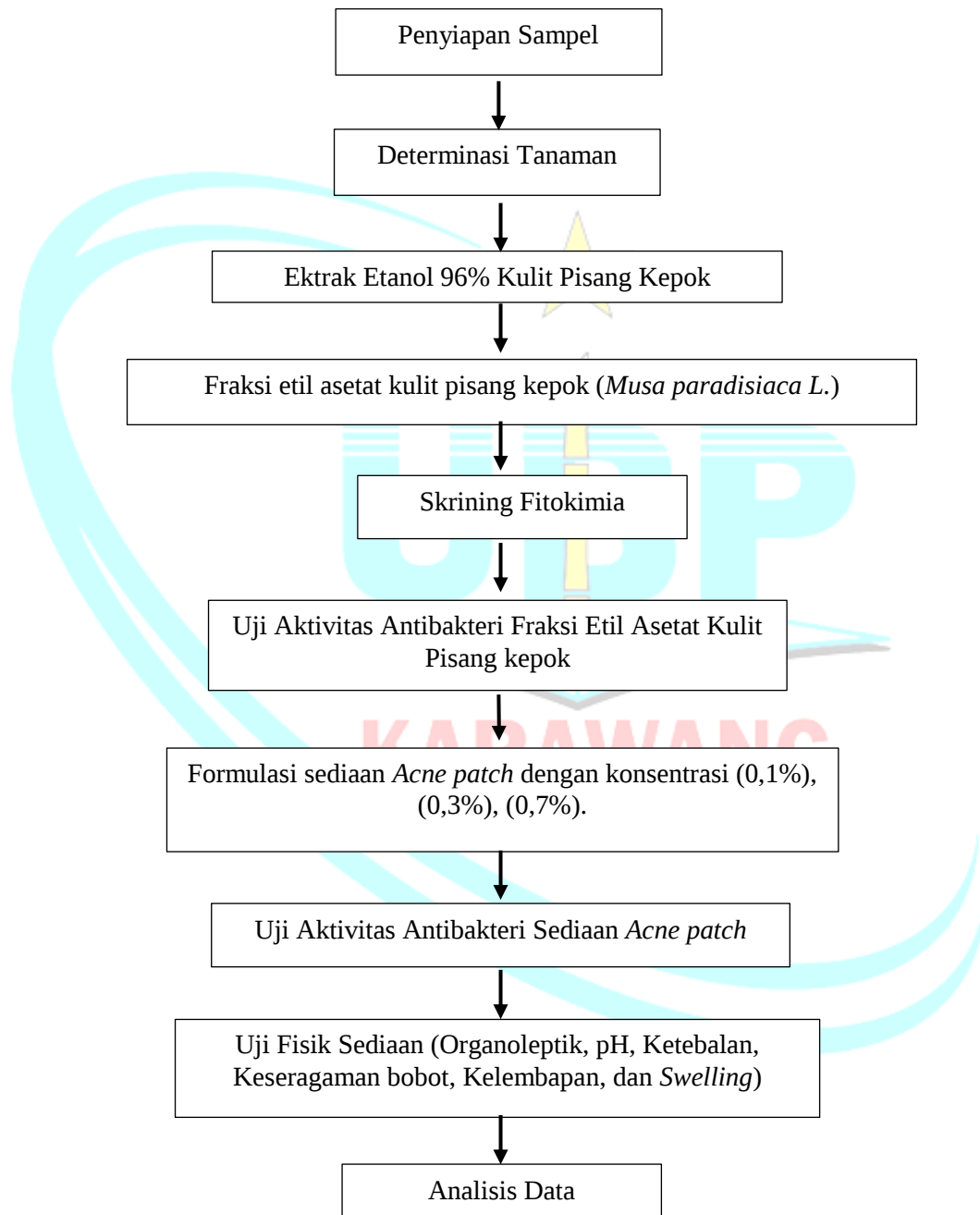
F3 : Media + Bakteri + Sediaan *Acne patch* 0,7%

3.7 Analisis Data

Analisis data statistik pada pengujian sediaan *acne patch* terhadap uji antibakteri, uji organoleptik, uji pH, uji ketebalan, uji ketahanan lipat, uji keseragaman bobot, uji *Swelling*, uji antibakteri dan uji FTIR dianalisis dengan menggunakan program *GraphPad Prism* versi 10.4.2.633 dengan metode *one-way ANOVA* untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan antar formulasi. Jika ditemukan perbedaan signifikan, dilanjutkan dengan uji *Dunnnett's Multiple Comparisons*, sedangkan uji stabilitas fisik menggunakan metode *two-way ANOVA* untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan antar siklus. Jika ditemukan perbedaan signifikan dilanjutkan dengan uji *Tukey*.

3.8 Diagram Alir Penelitian

Alur penelitian pada uji antibakteri *acne patch* fraksi etil asetat kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dijelaskan pada Gambar 2.4



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian