

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Metode penelitian yang dilakukan adalah jenis penelitian eksperimental. Pada penelitian dilakukan pembuatan formulasi sediaan gel dari fraksi etil asetat kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*) yang diuji aktivitas antibakteri *P.acnes* yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari sediaan fraksi etilasetat kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*).

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 *P.acnes* (ATTC 6919 PK/5) diperoleh dari *Microbiology Thermo Fisher Scientific*.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu, 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), viskometer, *Texture Analyzer*, Objek glass, aluminium 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, labu ukur (PYREX®), wadah gel.

3.3.2 Bahan

Fraksi etil asetat kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*), carbopol 940, triethanolamine (Subur Kimia Jaya), gliserin, propilenglikol (Subur Kimia Jaya), propil paraben, metil paraben, N-Heksan (PT. Brataco), Etil Asetat (PT. Brataco), Etanol 96% (PT. Brataco), Aquadest (PT. Brataco), Fraksi Etil Asetat Kulit Pisang Kepok (*Musa Paradisiaca L.*)

3.4 Tempat dan Waktu Penelitian

3.4.1 Tempat Penelitian

Kegiatan penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Bahan Alam Sediaan Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang.

3.4.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Maret 2025 sampai Juni 2025.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Formulasi gel fraksi etil asetat kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*) dengan variasi konsentrasi 0.1% , 0.3% dan 0.7%.

3.5.2 Variabel Terikat

Penelitian ini menggunakan metode difusi sumuran untuk aktivitas antibakteri fraksi etil asetat kulit pisang kapok terhadap *P.acnes*. Selain itu, evaluasi fisik sediaan gel, termasuk pH yang diukur menggunakan pH meter, viskositas yang diukur dengan viskometer *Brookfield*, daya sebar, daya lekat dan *swelling*.

3.5.3 Definisi Operasional Variabel

Berikut ini merupakan hasil tabel definisi operasional variabel yang terdapat pada penelitian :

Tabel 3. 1 Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Alat ukur	Skala	Hasil Ukuran
Variabel Bebas					
1.	Formula gel fraksi etil asetat kulit pisang kepok (<i>Musa paradisiaca L.</i>)	Formulasi gel fraksi etil asetat kulit pisang kepok dengan variasi konsentrasi 0.1%, 0.3% dan 0.7%	Pengujian meliputi \ : uji organoleptik (warna, bau dan bentuk), pH, uji daya sebar, uji daya lekat, viskositas	Nominal	F 0% F 0.1% F 0.3% F 0.7%
Variabel Terikat					
2.	Aktivitas antibakteri gel ekstrak kulit pisang kapok	Pengujian berdasarkan daya hambat pada media	Jangka sorong	Rasio	mm (milimeter)
3.	Skrining Fitokimia Flavonoid	Skrining Fitokimia Flavonoid merupakan pengujian yang menyatakan adanya metabolit sekunder dengan menggunakan pereaksi, adanya perubahan warna menyatakan bahwa pada tanaman tersebut terdapat senyawa flavonoid	Pereaksi	Nominal	1. Positif : Terbentuknya warna merah, jingga atau kuning 2. Negatif : Tidak terjadi perubahan warna merah, jingga atau kuning
4.	Skrining Fitokimia Alkaloid	Skrining Fitokimia Alkaloid merupakan pengujian yang menyatakan adanya metabolit sekunder dengan menggunakan pereaksi, adanya perubahan warna	Pereaksi	Nominal	1. Positif : Terbentuknya endapan warna jingga 2. Negatif : Tidak terbentuknya endapan

		menyatakan bahwa pada tanaman tersebut terdapat senyawa alkaloid				
5.	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	Nominal	1. Positif : Ditandai dengan perubahan yang terjadi terhadap terbentuknya busa yang diamati 2. Negatif : Tidak terdapat busa	
6.	Skrining Fitokimia Tanin	Skrining Fitokimia Tanin merupakan pengujian yang menyatakan adanya metabolit sekunder dengan menggunakan pereaksi, adanya perubahan warna	Pereaksi	Nominal	1. Positif : Terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan 2. Negatif : Tidak terjadi perubahan warna biru tua atau hitam kehijauan	
7.	Skrining Fitokimia Kuinon	Skrining Fitokimia kuinon 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 kompleks larutan berwarna kuning 2. Negatif : Tidak terjadi perubahan kompleks larutan berwarna kuning	
8.	Skrining Fitokimia Steroid dan Triterpenoid	Skrining Fitokimia Steroid dan Triterpenoid	Pereaksi	Nominal	1. Positif : Terbentuknya warna merah	

		merupakan pengujian yang menyatakan adanya metabolit sekunder dengan menggunakan pereaksi, adanya perubahan warna menyatakan bahwa pada tanaman tersebut terdapat senyawa Steroid dan Triterpenoid				berubah menjadi warna ungu menunjukkan adanya steroid. Terbentuknya warna ungu berubah jadi warna biru menunjukkan adanya golongan triterpenoid 2. Negatif : Tidak terjadi perubahan warna
9.	Organoleptik	Dilakukan dengan menggunakan pancaindera penciuman	Panca indra	Ordinal		Tidak berbau khas
10.	pH	Nilai pH sediaan gel disesuaikan dengan nilai pH untuk wajah	pH meter	Rasio		Angka dalam pH meter ,pH yang baik (4,5 – 6,5)
11.	Uji Viskositas	Menguji kekentalan pada sediaan gel	Dilakukan dengan menggunakan indera penglihatan	Panca Indera		Viskositas dalam satuan cps
12.	Uji daya sebar	Kemampuan penyebaran pada sediaan gel	Ekstensometer	Rasio		Cm (centimeter)
13.	Uji daya lekat	Uji daya lekat menggunakan kaca objek dan dihitung waktunya	Objek kaca dan stopwatch	Rasio		Lebih dari 4 detik
14.	Homogenitas	Dengan cara mengoleskan gel pada kaca objek untuk diamati homogenitasnya				
15.	Swelling Gel	Kemampuan gel dalam menyerap cairan setelah direndam dalam	Neraca analitik, gelas ukur, stopwatch	Rasio		Gram (g)

media selama waktu
tertentu

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Determinasi Tumbuhan

Determinasi tumbuhan merupakan teknik identifikasi dengan cara membandingkan suatu tumbuhan dengan spesies lain yang telah diketahui sebelumnya (dicocokkan atau dipersamakan). Hal ini didasarkan pada kenyataan bahwa tidak ada dua makhluk yang benar-benar identik (Galingging, 2022). Proses determinasi dilakukan untuk memastikan identitas pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*) yang digunakan sebagai sampel, mencakup bagian batang, daun, buah, dan kulit.

3.6.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok

Pembuatan ekstrak dalam penelitian ini dilakukan menggunakan metode maserasi dengan bahan berupa kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*). Ekstrak tersebut diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (Balitro), Bogor, yang berlokasi di Jalan Tentara Pelajar No. 3, Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu, Bogor. Pada penelitian ini digunakan metode ekstraksi maserasi, karena merupakan teknik padat-cair yang praktis dengan tahapan sederhana, tidak memerlukan peralatan kompleks, serta mampu menjaga kestabilan senyawa aktif agar tidak rusak akibat pemanasan (Hasma dan Winda, 2019). Etanol 96% digunakan sebagai pelarut karena memenuhi kriteria dalam proses pembuatan ekstrak serta bersifat universal, sehingga mampu melarutkan berbagai senyawa, baik yang bersifat polar maupun nonpolar (Eriadi *et al.*, 2015). Ekstraksi awal dengan cara mengumpulkan kulit pisang kepok kemudian dicuci, dirajang dan dikeringkan. Simplisia yang diperoleh dibuat serbuk, serbuk kulit pisang kepok di larutkan dengan pelarut

etanol 96% dengan perbandingan 1 kg : 6 liter pelarut lalu di aduk selama 2- 3 jam. Setelah di aduk lalu di endapkan (di maserasi) selama 2- 3 hari. Setelah di maserasi lalu di saring di ambil fitratnya memakai saringan kain kertas. Setelah di saring lalu di uapkan (di rotary) memakai alat rotavapor selama 6 jam dengan suhu 40°C -50°C dan diuapkan diatas waterbath sampai jadi ekstrak kental (Rudiat *et al.*, 2020). Hitung rumus rendemen :

$$\% \text{Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Berat Ekstrak Total}}{\text{Berat Simplisia}} \times 100\%$$

3.6.3 Pembuatan Fraksi Etil Asetat Kulit Pisang Kepok

Fraksinasi diawali menggunakan metode Ekstraksi Cair-Cair (ECC). Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang sebanyak 500 gram, kemudian dilarutkan dalam 20 mL etanol dan ditambahkan 80 mL akuades. Larutan ekstrak dimasukkan ke dalam corong pisah, kemudian ditambahkan pelarut n-heksana sebanyak 300 mL dengan perbandingan volume 1:1. Proses fraksinasi dilakukan dengan cara mengocok corong pisah, fraksinasi dilakukan berulang sebanyak tiga kali hingga fraksi n-heksana menjadi jernih. Setelah diperoleh dua fraksi yang terpisah, yaitu fraksi n-heksana dan fraksi air, fraksi air kemudian dipartisi kembali menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 300 mL dengan perbandingan 1:1, proses fraksinasi diulang tiga kali dengan menggunakan corong pisah. Setelah itu, fraksi etil asetat dipisahkan dari fraksi air hingga diperoleh fraksi etil asetat murni. Fraksi tersebut kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator sampai menghasilkan fraksi kental (Peratiwi *et al.*, 2023).

3.6.4 Skrinning Fitokimia

Skrinning fitokimia pada penelitian ini dilakukan untuk mengikuti prosedur yang telah dilakukan oleh peneliti sebelumnya (Rihanah dan Jura, 2020) :

1. Uji Flavonoid

Fraksi etil asetat kulit pisang kepok dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan serbuk magnesium 2 N sebanyak 0,1 g serta beberapa tetes HCl pekat. Setelah itu, ditambahkan amilalkohol, dikocok kuat, dan dibiarkan hingga memisah. Perubahan warna larutan menjadi merah, jingga, atau kuning menandakan adanya kandungan flavonoid.

2. Uji Alkaloid

Beberapa tetes fraksi etil asetat kulit pisang kepok dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Pada filtrat pertama ditambahkan beberapa tetes pereaksi Mayer; terbentuknya endapan putih menunjukkan keberadaan alkaloid. Sedangkan pada filtrat kedua ditambahkan pereaksi Dragendorff. Selama 30 menit diamati perubahan warnanya, dan hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk warna jingga-coklat.

3. Uji Saponin

Fraksi etil asetat kulit pisang kepok dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan air panas. Terbentuknya busa diamati, dan reaksi dinyatakan positif apabila busa tetap stabil selama 10 menit serta tidak hilang setelah penambahan satu tetes HCl 2N.

4. Uji Kuinon

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

5. Uji Steroid dan Triterpenoid

Disiapkan fraksi etil asetat kulit pisang kepok. Ditambahkan beberapa tetes pereaksi Libermann Buchard, terbentuknya warna ungu berubah jadi warna biru menunjukkan adanya golongan terbentuknya warna merah yang kemudian berubah menjadi hijau menunjukkan adanya senyawa golongan steroid, sedangkan hasil uji lain menandakan keberadaan triterpenoid.

6. Uji Tanin

Sebanyak 1 mL fraksi etil asetat kulit pisang kepok disiapkan, kemudian ditambahkan beberapa tetes larutan besi (III) klorida 1%. Perubahan warna diamati, dan terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman menandakan keberadaan tanin.

3.6.5 Sterilisasi Alat Pengujian Antibakteri

Sebelum digunakan, semua alat dicuci terlebih dahulu untuk mencegah kontaminasi dari debu atau mikroorganisme. Setelah dicuci, alat-alat dikeringkan, dibungkus dengan kertas kopi, dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan pinset tidak dimasukkan ke autoklaf, melainkan disterilkan dengan cara dipijarkan pada api bunsen (Sari *et al.*, 2023).

3.6.6 Pembuatan Media

Sebanyak 8 gram media *Nutrient Agar* (NA) ditimbang dan dilarutkan dalam 400 mL akuades steril. Media dipanaskan hingga mendidih sambil diaduk agar suspensinya merata. Setelah larutan media homogen, dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian didinginkan hingga mencapai suhu hangat (40–45°C). *Nutrient Agar* yang telah siap kemudian dituangkan sekitar 8 mL ke dalam cawan petri steril dengan permukaan horisontal untuk memastikan kedalaman media seragam, lalu dibiarkan hingga media memadat (Mulyani *et al.*, 2023).

3.6.7 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 *P. acnes* masing-masing pada agar miring yang masih baru kemudian diinokulasi pada suhu 37°C selama 24 jam didalam inkubasi (Hainil *et al.*, 2022).

3.6.8 Pembuatan Suspensi Bakteri

Suspensi bakteri *P. acnes* dibuat dengan mengambil biakan murni yang telah diperbanyak pada media agar miring dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Sebanyak satu ose biakan diambil dan disuspensikan ke dalam 10 mL larutan NaCl 0,9%, kemudian kekeruhan suspensi diukur menggunakan standar 0,5 *McFarland*. (Mulyani *et al.*, 2021).

3.6.9 Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Kulit Pisang Kepok

Pengujian aktivitas antibakteri fraksi etil asetat kulit pisang kepok dilakukan dengan metode difusi sumuran. Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri yang telah disiapkan, kemudian diinokulasikan ke dalam media Nutrient Agar menggunakan metode perataan (*Spread Plate Method*). Media didiamkan selama 10 menit pada suhu kamar agar suspensi biakan dapat terdifusi ke dalam media. Selanjutnya, pada media dibuat lima sumuran menggunakan boor prop dengan jarak yang sama. Sumuran tersebut diisi dengan sampel uji (fraksi etil asetat kulit pisang), klindamisin 1% sebagai kontrol positif, dan DMSO 1% sebagai kontrol negatif menggunakan pipet droper. Konsentrasi fraksi etil asetat kulit pisang kepok yaitu 0,1%, 0,3%, 0,7%. Media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian diamati hasilnya. Diameter zona hambat di sekitar sumuran diukur dalam satuan milimeter. Adanya area di sekitar sumuran yang tidak ditumbuhi bakteri menunjukkan kemampuan sampel untuk menghambat pertumbuhan *P. acnes*. Pengujian ini dilakukan dalam 3 kali pengulangan (Mulyani *et al.*, 2021).

Pembagian kategori uji difusi metode sumuran:

Kontrol Negatif (-) : Media + Bakteri + DMSO 1%

Kontrol Positif (+) : Media + Bakteri + gel klindamisin 1%

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

F2 : Media + Bakteri + Fraksi etil asetat kulit pisang kepok 0,2%

F3 : Media + Bakteri + Fraksi etil asetat kulit pisang kepok 0,4%.



3.6.10 Formulasi Sediaan Gel

Formulasi sediaan gel fraksi etil asetat kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*) yang dibuat pada penelitian ini tertera pada tabel berikut :

**Tabel 3. 2 Formulasi Gel Fraksi etil asetat kulit pisang kepok
(Rinaldi *et al.*,2020 dan Aisha, 2024)**

Bahan	Formulasi (%)b/v				Khasiat
	F0	F1	F2	F3	
Fraksi Etil asetat Kulit pisang kepok	-	0.1	0.3	0.7	Zat aktif
Carbopol 940	1	1	1	1	Gelling agent
TEA (Triethanolamine)	1	1	1	1	Alkalizing agent, pengemulsi.
Gliserin	15	15	15	15	Humektan
Propilenglikol	10	10	10	10	Kosolven
Metil paraben	0,1	0,1	0,1	0,1	Pengawet
Propil paraben	0,01	0,01	0,01	0,01	Pengawet
Aquadest	Ad 100 ml	Ad 100 ml	Ad 100 ml	Ad 100 ml	Pelarut

3.6.11 Pembuatan sediaan gel

Pembuatan gel fraksi etil asetat kulit pisang kepok diawali dengan pembuatan basis gel. Seluruh bahan ditimbang, kemudian karbopol dilarutkan dalam sebagian aquadest dan diaduk perlahan (W1). Selanjutnya, fraksi etil asetat kulit pisang kepok dicampurkan dengan propil glikol (W2), lalu campuran tersebut ditambahkan ke dalam basis gel yang telah daduk sebelumnya (W1). Setelah itu, metil paraben dan propil paraben dilarutkan dalam sedikit aquadest dan gliserin hingga homogen (W3), kemudian dicampurkan ke dalam basis gel (W1). Sisa aquadest ditambahkan secara bertahap sambil digerus hingga merata, lalu TEA ditambahkan sedikit demi sedikit dan digerus kembali hingga terbentuk sediaan gel (Rinaldi *et.,al*, 2020).

3.6.12 Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Gel

Evaluasi fisik sediaan gel fraksi etil asetat kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*) terdiri dari beberapa pengujian sebagai berikut :

1. Uji Organoleptik

Menilai sifat fisik sediaan gel seperti , warna hijau kecoklatan dan kental, baunya bau khas fraksi kulit pisang kepok. Pada pengujian ini penilaiannya dapat dilihat dari segi warna, bentuk, dan baunya. (Nurhasnawati *et al.*, 2017).

2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk memastikan bahwa gel tidak mengandung butiran kasar dan tercampur secara merata. Pengujian dilakukan dengan mengoleskan sekitar 1 gram sampel gel pada objek glass. Sediaan dinilai homogen apabila menunjukkan susunan seragam tanpa terlihat adanya butiran kasar. (Wasiaturrahmah, 2018).

3. Uji pH

Uji pH dilakukan untuk menentukan tingkat keasaman sediaan gel, sehingga dapat memastikan gel tidak menimbulkan iritasi pada kulit (Thomas, 2023). Sebanyak 10 gram sampel gel dilarutkan dalam 50 mL aquades dalam gelas beker, kemudian ditambahkan aquades hingga mencapai volume 100 mL dan diaduk hingga homogen. Larutan yang terbentuk kemudian diukur menggunakan pH meter yang telah distandarisasi, dan nilai pH dicatat. Target pH yang diharapkan sesuai dengan kulit yaitu antara 4,5 hingga 6,5 (Astuti, 2017)

4. Uji Daya Sebar

Tujuan dari pengujian daya sebar untuk mengukur kemampuan gel menyebar di kulit. Sebanyak 0,5 gram sampel gel diletakkan di atas kaca bulat dengan diameter 15 cm, kemudian kaca lain diletakkan di atasnya dan dibiarkan selama 1 menit. Diameter sebar gel diukur, lalu ditambahkan beban seberat 150 gram dan dibiarkan lagi selama

1 menit sebelum mengukur diameter sebar yang konstan (Rohmani, 2019). Daya sebar gel yang baik berada pada kisaran 5–7 cm (Yusuf, 2017).

5. Uji Daya Lekat

Sebanyak 0,25 gram sampel gel ditempatkan di antara dua objek gelas, kemudian ditekan dengan beban seberat 1 kg selama 5 menit. Setelah itu, objek gelas ditempatkan pada alat pengukur dan beban seberat 80 gram dilepaskan, kemudian dicatat waktu yang dibutuhkan hingga objek gelas terlepas (Rohmani, 2019). Sediaan gel dikatakan memiliki daya lekat baik apabila waktu lekat lebih dari 1 detik (Rohmani dan Kuncoro, 2019).

6. Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan dengan memasukkan 100 mL sampel gel ke dalam tabung wadah, kemudian spindle 64 dipasang sehingga terendam dalam sediaan uji. Viskometer dinyalakan dan rotor dipastikan berputar pada kecepatan 60 rpm. Nilai viskositas diamati pada jarum penunjuk skala viskometer, dicatat, dan dikalikan dengan faktor 100 (Astuti, 2017). Sediaan gel dikatakan memenuhi syarat jika viskositasnya berada pada kisaran 500–10.000 cPs (Rahmatullah, 2020).

7. Uji stabilitas

Untuk menilai stabilitas formulasi gel berdasarkan penyimpanan pada berbagai suhu dilakukan pengujian sediaan gel. Uji stabilitas fisik sediaan dilakukan menggunakan metode *cycling test*. Sediaan gel disimpan secara bergantian pada suhu 4°C dan 40°C selama 24 jam, yang masing-masing perlakuan dianggap sebagai satu siklus. Percobaan ini diulang sebanyak enam siklus, sehingga total durasinya mencapai 12 hari dimana tiap siklus diamati perubahan fisik sediaan meliputi organoleptik (warna, bau dan teksur), pH, viskositas, homogenitas, daya lekat. (Anggun, 2020).

8. Uji *Swelling*

Uji *swelling* atau pengembangan gel merupakan salah satu metode untuk mengetahui kemampuan gel dalam menyerap cairan. Prosedur uji *swelling* umumnya dimulai dengan menimbang 1 gram gel, kemudian direndam dalam media cair seperti akuades atau larutan penyangga (*buffer*) pada suhu tertentu, biasanya suhu ruangan atau suhu tubuh (37°C). Setelah direndam selama waktu tertentu, gel dipisahkan dari cairan, ditiriskan perlahan, lalu ditimbang kembali. Perbedaan berat sebelum dan sesudah perendaman menunjukkan jumlah cairan yang diserap oleh gel. Nilai pembengkakan atau swelling ratio dihitung dengan rumus: $(W1 - W0) / W0$, di mana $W0$ adalah berat awal gel dan $W1$ adalah berat gel setelah direndam. Uji ini memberikan gambaran penting mengenai kapasitas hidrasi gel dan kestabilan struktur jaringannya (Anindita *et al.*, 2021; Arista dan Mayasari, 2022).

3.6.13 Uji Aktivitas Antibakteri Gel

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 sediaan gel, gel klindamisin 1% sebagai kontrol positif dan basis gel sebagai kontrol negatif dengan menggunakan mikropipet, gel 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 *P.acnes*. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali ulangan (Mulyani *et al.*, 2021).

Pembagian kategori uji difusi metode sumuran:

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

F0 : Media + Bakteri + Basis sediaan gel

F1 : Media + Bakteri + Sediaan gel fraksi kulit pisang kepok 0,1%

F2 : Media + Bakteri + Sediaan gel fraksi kulit pisang kepok 0,2%

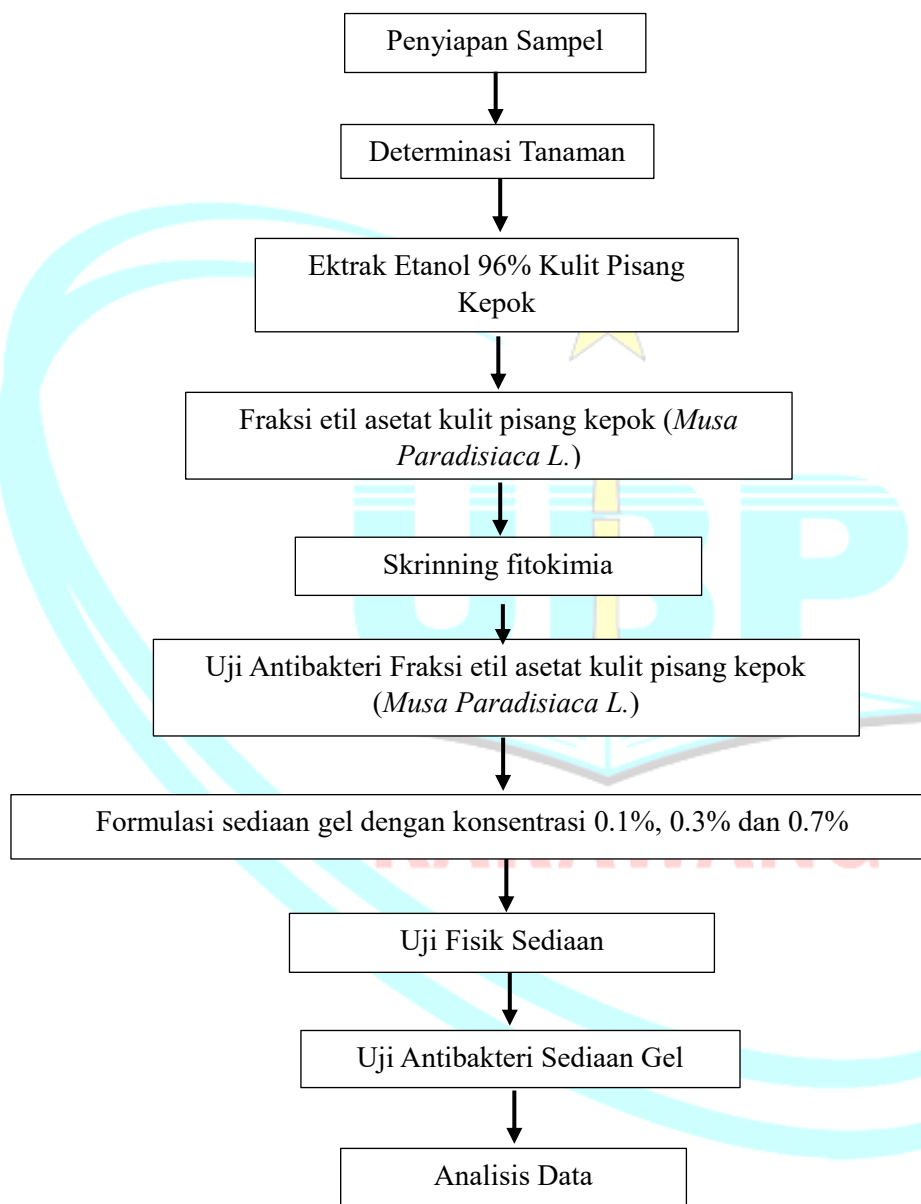
F3 : Media + Bakteri + Sediaan gel fraksi kulit pisang kepok 0,4%.

3.7 Analisis Data

Analisis data statistik pada pengujian sediaan gel terhadap uji antibakteri, uji organoleptik, uji pH, uji daya lekat, uji daya sebar, viskositas, uji *Swelling*, dan uji antibakteri 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 *Dunnett's Multiple Comparisons Test*, 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 Multiple Comparisons Test*.

3.8 Diagram Alir Penelitian

Alur penelitian pada uji antibakteri gel fraksi etil asetat kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L.*) terhadap bakteri *P.acnes*



Gambar 3.1 Diagram Alir Penelitian