

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Penelitian dilakukan pada bulan Agustus - November 2023 di Laboratorium Formulasi dan Teknologi Prodi Farmasi Universitas Sahid Surakarta.

3.2 Populasi Dan Sampel

3.2.1 Populasi

Populasi adalah keseluruhan dari variabel yang menyangkut masalah yang diteliti (Nursalam, 2003). Populasi dari penelitian ini adalah ekstrak etanol daun sirih cina (*Paperomia pellucida* L).

3.2.2 Sampel

Sampel adalah sebagian untuk diambil dari keseluruhan obyek yang diteliti dan dianggap mewakili seluruh populasi (Nursalam, 2003). Sampel dari penelitian ini adalah sediaan masker gel *peel-off* yang mengandung ekstrak etanol daun sirih cina dengan konsenstrasi 10%,15%,20%.

3.3 Alat dan Bahan

a. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah :

Blender (philips), ayakan, *rotary evaporator* (bio base), alat- alat gelas (*pyrex*), alumunium foil (klin pak), kertas saring (whatman), timbangan

analitik (ohapus CP 24), cawan porselen (pudak), batang pengaduk (*pyrex*), jangka sorong, cawat petri (*pyrex*), alat ukur daya sebar, viskometer, alat ukur homogenitas, indikator pH, inkubator (WINA tipe 801), ose steril, pinset, spirtus, mikropipet (dragon onemed).

b. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah :

Ekstrak daun sirih cina, nutrian agar (merck), PVA (*polyvinyl alcohol*) (merck), CMC (*Carboxymethyl Cellulose Sodium*) (merck), gliserin (oneMed) , nipagin (natural care), etanol 96% (merck), parfum, aquades (mitra medika).

3.4 Variabel Penelitian

Ada beberapa jenis variabel diantaranya, Variabel bebas (*independent*) dan variabel tak bebas (*dependent*) jenis variabel ini terutama digunakan dalam menganalisis hubungan antara variabel, yaitu variabel tak bebas dipengaruhi oleh variabel bebas, atau variabel terikat adalah variabel yang tergantung pada variabel lainnya, sedangkan variabel bebas adalah variabel yang tidak tergantung pada variabel lainnya (Ulfa, 2021). Adapun pada penelitian ini :

- a. Variabel bebas : Masker gel *peel-off* ekstrak etanol daun sirih cina.
- b. Variabel terikat atau variabel tak bebas : Hasil uji sifat fisik dan uji aktivitas antibakteri *P.acne*.

3.5 Definisi Operasional

- a. Ekstrak etanol daun sirih cina yaitu ekstrak yang diperoleh dengan cara maserasi simplisia daun sirih cina menggunakan pelarut etanol 96% dan dipekatkan dengan *vaccum rotary evaporator*. Ekstrak yang digunakan adalah ekstrak etanol daun sirih cina dengan konsentrasi 10%, 15%, 20%.
- b. Masker gel *peel-off* ekstrak daun sirih cina merupakan pembersih yang digunakan untuk membersihkan sel kulit mati, kotoran, dengan bahan aktif ekstrak daun sirih cina konsentrasi 10%, 15% dan 20%.
- c. Uji sifat fisik adalah parameter yang digunakan untuk mengukur sifat fisik sediaan masker gel *peel-off* meliputi organoleptik, pH, homogenitas, viskositas, dan daya sebar dan waktu mengering.
- d. Uji aktivitas antibakteri *P.acne* adalah suatu metode untuk menentukan tingkat kerentanan bakteri terhadap zat antibakteri dan untuk mengetahui senyawa murni yang memiliki aktivitas antibakteri yang dapat dilihat melalui zona hambatnya dengan mengukur diameter (mm) zona bening pada cakram.

3.6 Rencana Jalannya Penelitian

3.6.1 Determinasi tumbuhan

Determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.

3.6.2 Penyiapan bahan penelitian

Daun sirih cina yang digunakan didapatkan dari daerah Bandar Kabupaten Pacitan Jawa Timur. Sampel dibersihkan, ditimbang dan

dikeringkan selama 5 hari kemudian diblender dan diayak dengan ayakan nomer 100 (Ninsih *et al.*, 2022).

3.6.3 Pembuatan ekstrak

Proses ekstraksi sampel dilakukan dengan cara simplisia daun sirih cina yang telah dikeringkan ditimbang sebanyak 1200 gram, kemudian dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 6 liter. Dan dilakukan remaserasi 2x dengan pelarut etanol sampai larutan berwarna bening. Ekstrak cair diuapkan di *rotary evaporator* dengan suhu 50°C dipekatkan menggunakan *waterbath* suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental. Dihitung persen rendamen yang diperoleh (Ninsih *et al.* 2022).

$$\text{Randemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

3.6.4 Identifikasi kimia ekstrak

a. Uji Alkaloid

Sejumlah ekstrak ditambahkan 10 mL kloroformamoniak, lalu disaring ke dalam tabung reaksi. Filtrat ditambahkan dengan beberapa tetes H₂SO₄ 2M dan dikocok sehingga terpisah dua lapisan. Lapisan asam yang terdapat di bagian atas dipipet ke dalam dua tabung reaksi. Masing-masing tabung reaksi ditambahkan pereaksi Meyer dan pereaksi Dragendorff. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih dengan pereaksi

Meyer dan endapan jingga sampai merah coklat dengan pereaksi Dragendorff (Atmoko, T., 2009).

b. Uji Flavonoid

Sejumlah ekstrak ditambah air secukupnya dan dipanaskan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat ditambahkan sedikit serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian larutan dikocok. Keberadaan flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna kuning, jingga atau merah (Atmoko, T., 2009).

c. Uji Saponin

Sejumlah ekstrak ditambah air secukupnya dan dipanaskan selama 5 menit, setelah itu ditambahkan beberapa tetes HCl pekat. Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya busa/buih yang stabil selama ± 15 menit (Atmoko, T., 2009).

d. Uji Tanin

Sejumlah ekstrak dalam tabung reaksi ditambah air secukupnya dan dipanaskan selama 5 menit, lalu disaring. Filtrat ditambahkan FeCl₃ 1%. Adanya tanin ditandai dengan terbentuknya warna hijau kebiruan (Atmoko, T., 2009).

3.6.5 Pembuatan sediaan masker gel *peel-off*

PVA (*polyvinyl alcohol*) ditambahkan air panas secukupnya sampai mengembang (1), CMC dikembangkan menggunakan akuades (2), nipagin dilarutkan dalam aquades sampai larut (3), kemudian hasil

dari mengembangkan PVA dan CMC (*Carboxymethyl Cellulose Sodium*) dimasukkan cawan gerus sampai homogen, kemudian tambah gliserin dan etanol 96% gerus sampai homogen, kemudian ditambahkan ekstrak etanol daun sirih cina, ditambahkan larutan nipagin dan gerus sampai homogen. (Merwanta and Finadia, 2019).

Tabel 3.1. Formulasi masker gel *peel-off* ekstrak etanol daun sirih cina (*Paperomia pellucida* L)

Bahan	Formula kontrol (%)	Formula I (%)	Formula II (%)	Formula III (%)
Esktrak	0%	10%	15%	20%
PVA	5	5	5	5
CMC	2,5	2,5	2,5	2,5
Gliserin	10	10	10	10
Nipagin	0,2	0,2	0,2	0,2
Etanol 96%	15	15	15	15
Aquades	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

(Merwanta and Finadia, 2019)

3.6.6 Uji sifat fisik

Uji sifat fisik masker gel *peel-off* bertujuan untuk mengetahui sediaan yang dibuat benar-benar memenuhi persyaratan. Uji pada sediaan masker gel *peel-off* meliputi organoleptis, pH, homogenitas, viskositas, stabilitas, daya sebar dan uji aktivitas antibakteri.

Pengujian meliputi:

a. Organoleptik

Penampilan sediaan diamati menggunakan panca indera, meliputi warna, bentuk, dan bau, uji ini bertujuan untuk mengamati adanya perubahan

b. pH

Uji ini bertujuan untuk mengetahui tingkat keasaman dan kebasaan sediaan. Rentang pH yang baik untuk masker gel *peel-off* antara 4,5-6,5 (Hidayati and Widhiastuti, 2019).

c. Homogenitas

Uji ini bertujuan untuk melihat sediaan menyebar dengan baik. Sediaan yang baik akan tercampur rata. Evaluasi dengan mengambil 1 gram sediaan oleskan pada kaca dan diamati, homogenitas sediaan ditunjukkan dengan tidak terlihatnya butiran kasar (Endriyatno and Puspitasari, 2023).

d. Viskositas

Uji ini bertujuan untuk mengetahui kekentalan sediaan. Evaluasi viskositas dilakukan menggunakan alat viskometer spindel no. 3 dengan kecepatan 30 rpm. Sediaan yang baik Memiliki viskositas 2000-4000 cP (Hidayati and Widhiastuti, 2019).

e. Uji daya sebar

sediaan di letakkan di atas kertas grafik yang di lapolis dengan plat kaca, kemudian ditutup kembali dengan beban sebesar 1 gram, 5 gram dan 10 gram lalu didiamnkan selama 30 detik dihitung diamaeternya (Hidayati and Widhiastuti, 2019).

f. Uji Daya Lekat

sebanyak 0,5 gram sediaan di letakkan diantara 2 *object glass* pada alat uji daya lekat, emudian di letakkan beban selama 5 menit

beban kemudian diangkat dan dicatat waktu pelepasan masker gel *peel-off* dengan menggunakan *stopwatch* (Daimunon *et al.*, 2019)

g. Uji waktu mengering

Uji waktu mengering masker gel *peel-off* yang telah diformulasikan dioleskan sebanyak 0,5 gram. Dioleskan di atas permukaan kaca, hingga membentuk lapisan tipis seragam dengan tebal kira-kira 1 mm. Kaca yang telah dioleskan sediaan dimasukkan dalam oven pada suhu $36,5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ dan sediaan dipantau sampai proses pengeringan selesai (Hidayati and Widiastuti, 2019).

3.6.7 Pembuatan media Nutrient agar (NA)

Ditimbang media NA sebanyak 2 gram dimasukkan kedalam *Erlenmeyer*, lalu dilarutkan dengan aquades 100 mL, lalu dididihkan hingga larut diatas penangas air, dan disterilkan dengan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit (Imansyah *et al.*, 2022).

3.6.8 Penyiapan bakteri uji

a. Peremajaan bakteri

Media NA yang dibuat dimasukkan kedalam tabung reaksi lalu dimiringkan, setelah NA memadat diambil 1 koloni biakan bakteri *p.acnes* dengan menggunakan jarum ose. Kemudian digoreskan pada permukaan media NA lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam (Imansyah *et al.*, 2022).

3.6.9 Pengujian daya hambat

Pengujian ekstrak etanol daun sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) terhadap bakteri uji dilakukan metode difusi dengan digunakan *Paper disk*. *Paper disk* direndam selama 5 menit kedalam masing-masing masker gel *peel-off* ekstrak etanol daun sirih cina dengan konsentrasi 10%,15%,20% dan *clindamycin* gel sebagai kontrol positif. Setelah itu paper disk diletakkan secara aseptis dengan menggunakan pinset steril pada permukaan medium NA dalam cawan petri. Kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam (Imansyah *et al*, 2022).

3.6.10 Pengamatan

Setelah bakteri uji diinkubasi selama 1x24 jam kemudian diukur zona hambat yang terjadi pada masing-masing konsentrasi pada bakteri.

Pengukuran diameter hambatan dapat dilakukan dengan jangka sorong dengan menggunakan rumus :

$$R = \frac{d1+d2}{2}$$

Keterangan :

R : Daya hambat (mm)

D1: Diameter Zona Hambat terpanjang (mm)

D2: Diameter Zona Hambat terpendek (mm)

Menurut standar umum obat asal tanaman Depkes RI (1998) bakteri dikatakan peka terhadap antibakteri asal tanaman apabila memiliki zona

hambat 10-24 mm. Sedangkan menurut Ibrahim, (2013) efektivitas antibakteri dapat diklasifikasikan pada tabel berikut :

Tabel 3.3. Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Bakteri

Diameter Zona Hambat	Respon Hambatan Pertumbuhan
0-5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
10-20 mm	Kuat
>20 mm	Sangat kuat

3.6.11 Analisa Data

Analisis hasil pengujian berbagai parameter berupa organoleptis, pH, homogenitas, daya sebar dilakukan dengan perbandingan literatur uji analisis statistik menggunakan uji *One Way Anova* dengan tujuan untuk melihat adanya perbedaan antar replikasi sediaan. Untuk uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini di analisis statistik dengan uji *One Way ANOVA* dengan tujuan untuk melihat apakah ada perbedaan aktivitas antibakteri pada konsentrasi ekstrak etanol daun sirih cina pada tiap perlakuan.