

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode eksperimental, dengan *Aloe vera*, Caffein dan Vitamin E sebagai bahan aktif pada formulasi terhadap aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan pada penelitian adalah metode difusi Teknik sumuran.

#### **4.2 Variabel Penelitian**

##### **4.2.1 Variabel Bebas**

Pada penelitian ini variabel bebas yaitu penggunaan *Aloe vera*, Caffein, dan Vitamin E dengan jumlah konsentrasi yang berbeda.

##### **4.2.2 Variabel Tergantung**

Pada penelitian ini variabel tergantung yaitu diameter zona hambat aktivitas antibakteri sediaan emulgel dengan *Aloe vera*, Caffein, dan Vitamin E terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

#### **4.3 Definisi Oprasional**

Definisi operasional dalam penelitian ini yaitu :

1. Emulgel pada dasarnya merupakan emulsi, yang memiliki tipe w/o atau o/w yang menggunakan bahan pembentuk gel untuk pencampuran. Emulgel merupakan pembawa terbaik yang memiliki sifat hidrofobik dan stabil. Untuk senyawa hidrofobik, pembuatan komposisi emulsi dianggap lebih mudah baik dibandingkan komposisi gel karena masalah kelarutan dalam air (Dwi Larasati et al., 2023).
2. *Aloe vera*, Caffein, dan Vitamin E jika dikombinasikan dalam sediaan topikal akan menghasilkan efek sinergis sebagai anti jerawat. Ketiga bahan aktif tersebut jika diformulasikan sebagai emulgel akan sangat baik karena emulgel memiliki sifat tidak lengket, mudah disebar, dan memberikan sensasi dingin. Kandungan minyak yang sedikit dalam emulgel dibandingkan bentuk sediaan krim atau salep akan mempercepat proses penyembuhan jerawat.
3. Uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

## 4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

### 4.4.1 Tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi Prodi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Malang.

### 4.4.2 Waktu Penelitian

Waktu pelaksanaan penelitian ini dilakukan selama 1 bulan.

## 4.5 Alat dan Bahan

### A. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mortar dan stramper, beaker glass (Pyrex), dan homogenizer, timbangan analitik, cawan Petri, cawan porselin, gelas ukur, batang pengaduk, sudip, pipet tetes, kawat ose, yellow tip, blue tip, inkubator, LAF (Laminar Air Flow), pipet volume, hot plate.

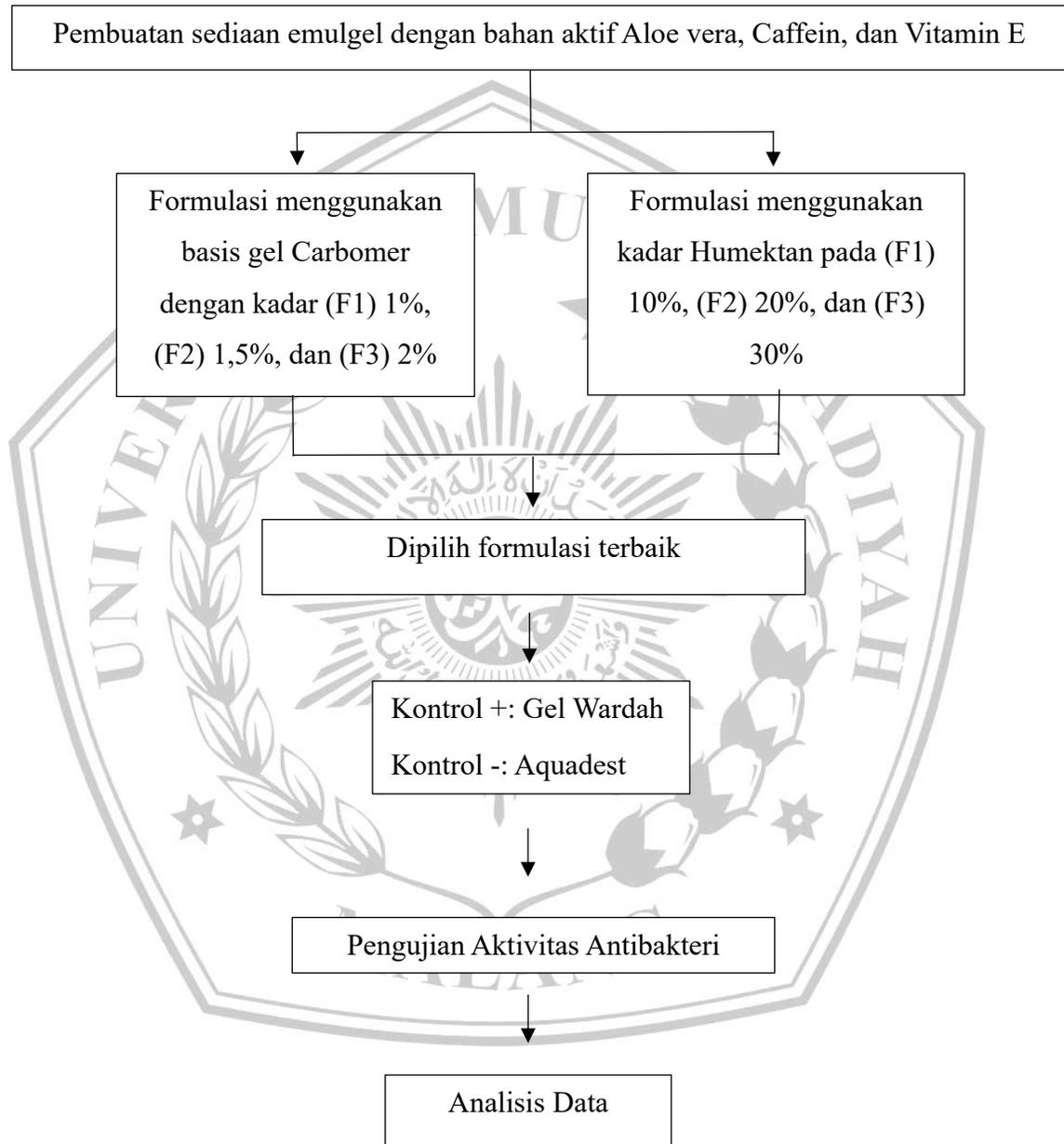
### B. Bahan

- Bahan aktif: aloe vera, caffeine, dan vitamin E.
- Bahan tambahan: gliserin, carbomer, propilen glikol, fenoksietanol, tween 80, span 80, BHT, TEA, aquadest.

## 4.6 Metode Kerja

Pada penelitian ini diawali dengan pembuatan sediaan emulgel ekstrak *aloe vera*, *caffeine*, dan vitamin E sebagai bahan aktifnya dengan kadar pada masing-masing formula yang berbeda. Terdapat 3 formula emulgel antibakteri yaitu: kadar gelling agent Formula I (F1) mengandung gel carbomer (1%), formula II (F2) mengandung basis gel carbomer (1,5%), dan formulas III (F3) mengandung ger karbomer (2%). Kadar humektan Formula I (F1) mengandung gliserin 10%, Formula II (F2) mengandung gliserin 20%, dan Formula III (F3) mengandung gliserin 30%. Pengujian antibakteri hanya dilakukan pada formulasi terbaiknya saja yaitu pada formula carbomer 2% dan gliserin 20%.

#### 4.7 Desain Formula



**Gambar 4.1 Desain Formula**

## 4.8 Formulasi Emulgel Antibakteri

### Formulasi terbaik

Tabel IV.1 Formulasi Emulgel

Komposisi	Fungsi	Formulasi
<i>Aloe vera</i>	Bahan aktif	10 gram (5%)
<b>Vitamin E</b>	Bahan aktif	6 gram (3%)
<b>Caffein</b>	Bahan aktif	2 gram (1%)
<b>Carbomer</b>	Gelling agent	2 gram (2%)
<b>Gliserin</b>	Humektan	40 gram (20%)
<b>Propilen glikol</b>	Pengawet	30 gram (15%)
<b>Fenoksietanol</b>	Pengawet	1,5 gram (0,75%)
<b>Tween 80</b>	Emulgator	14,4 gram (7,2%)
<b>Span 80</b>	Emulgator	5,6 gram (2,8%)
<b>BHT</b>	Solvent	0,2 gram (0,1%)
<b>TEA</b>	<i>Alkalizing agent</i>	65 tetes
<b>Aquadest</b>		Ad 200 gram
<b>Bobot moisturizer emulgel</b>		200 gram

## 4.9 Cara Pembuatan

Penelitian ini diawali dengan pembuatan basis gel. Carbomer dikembangkan pada air dingin selama 24 jam. Setelah itu, pembuatan fase minyak dengan memasukkan vitamin E, span 80, dan tween 80, dan BHT. Pembuatan fase air dengan pembuatan fenoksietanol dengan propilen glikol. Fase minyak dimasukkan menuju fase air. Pencampuran dimulai dengan homogenizer selama 60 menit. Ditambahkan gliserin dilanjutkan dengan penambahan bahan aktif caffein dan aloe vera dan yang terakhir yaitu dimasukkan carbomer yang telah mengembang dengan sempurna, tanpa gumpalan, dan jernih setelah penambahan TEA. Pengadukan selama 60 menit dengan ditambahkan aquadest sedikit demi sedikit. Setelah sediaan jadi, dilakukan uji karakteristik dan stabilitas produk guna untuk mengetahui moisturizer beserta mutu fisik yang berdasar persyaratan, sehingga dapat dilanjutkan pada pengujian antibakteri.

## **4.10 Uji Aktivitas Antibakteri**

### **4.10.1 Pembuatan Media Nutrient Agar Plate (NAP)**

Medium nutrient agar steril dibuat dengan cara didinginkan hingga suhu 40 - 45°C. Sebanyak 20 ml medium nutrient agar yang telah bercampur dengan 0,02 ml suspensi biakan bakteri dituangkan ke dalam cawan petri. Dihomogenkan dan dibiarkan hingga memadat. Kemudian diletakkan blank disc ke dalam cawan petri yang berisi medium nutrient agar tadi selama 15-30 menit. Kemudian cawan tersebut ditutup dan diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37° C, kemudian diukur diameter zona hambatannya (Dwi Cahyaningtyas & Afifatul Ukrima, 2019).

### **4.10.2 Peremajaan Biakan Bakteri**

Bakteri uji diambil dengan jarum ose steril, kemudian cawan petri tersebut ditutup dan diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu 37° C, kemudian diukur diameter zona hambatannya (Dwi Cahyaningtyas & Afifatul Ukrima, 2019).

### **4.10.3 Pembuatan Standar Kekeruhan Larutan Standart Mc. Farland**

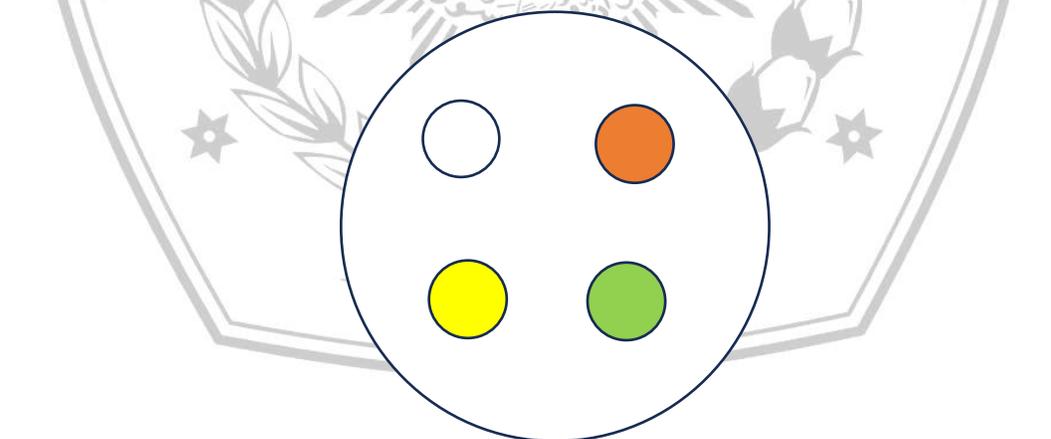
Larutan Mc Farland dibuat dengan cara menambahkan Barium Clorida ( $\text{BaCl}_2$ ) 1% dan Asam Sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 1%. Larutan Mc Farland untuk memperoleh kekeruhan bakteri setara dengan  $3,0 \times 10^8 \text{CFU/mL}$ . Pembuatan dilakukan dengan cara mencampurkan kedua larutan pada labu ukur ukuran 10 mL, dengan perbandingan 0,1 ml  $\text{BaCl}_2$  1% dan 9,9 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1% dan menyimpan larutan dalam ruangan LAF (Ramadhani & Novema, 2022).

### **4.10.4 Pembuatan Suspensi Bakteri**

Pembuatan bakteri dilakukan dengan mengambil menggunakan kawat ose terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl fisiologi 0,9%, lalu tabung reaksi dikocok sampai homogen. Kemudian disamakan dengan larutan standar Mc Farland, bila kekeruhan bakteri belum sama dengan kekeruhan larutan pembanding, maka diambil bakteri menggunakan kawat ose dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi sampai kekeruhan sudah sama dengan larutan standar Mc farland (Ramadhani & Novema, 2022).

#### 4.10.5 Uji Daya Hambat Bakteri Pembuatan Media Pengujian

1. Sediaan emulgel yang akan diuji disiapkan sampel uji, basis uji, K (-) dan K (+) dan media uji dibuat menggunakan metode difusi agar.
2. Bakteri uji *Staphylococcus aureus* yang telah disuspensikan dengan standar Mc farland  $10^8$  diambil sebanyak 0,1 ml dimasukkan ke dalam cawan petri steril.
3. Dituangkan media nutrient agar yang telah dibuat sebanyak 20 ml ke dalam cawan petri yang berisi bakteri tadi, homogenkan dengan cara menggoyang membentuk angka 8.
4. Kemudian ditunggu media sampai mengeras.
5. Media NA dibuat 4 sumuran dengan diameter 5 mm, menggunakan pelubang sumuran (cork borer), sediaan kemudian diambil menggunakan mikropipet dimasukkan pada lubang sumuran yang telah dibuat.
6. Pada masing-masing sumuran pada sediaan yang telah disiapkan yaitu sampel uji, basis gel, K (-) dan K (+).
7. Media diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam (Dwi Cahyaningtyas & Afifatul Ukrima, 2019).



**Gambar 4.2 Cawan Petri Teknik Sumuran**

Keterangan:

Orange : Kontrol positif (emulgel wardah)

Putih : Kontrol negative (aquadest)  
 Kuning : Sampel uji  
 Hijau : Basis gel

#### 4.10.6 Pengamatan dan pengukuran

Proses inkubasi dalam pengamatan ini dilakukan selama 24 jam. Mengukur diameter zona hambat menggunakan mistar berskala dalam satuan milimeter (MM), yang diukur keseluruhan diameternya (FeliciaT. Rawung, 2020).

#### 4.11 Analisis Data

Analisis data pada pengamatan uji aktivitas antibakteri yang dilakukan secara visual yaitu mengamati sediaan secara langsung meliputi besaran zona hambat dan zona inhibisi untuk uji antibakteri. Uji antibakteri menggunakan software SPSS (Statistical Product and Service Solution). Analisis One Way Anova merupakan jenis analisis statistik parametrik yang digunakan untuk menguji perbedaan antara tiga kelompok (pengamatan) atau lebih. Dari data yang didapatkan dilakukan analisis statistik dengan derajat kepercayaan  $\alpha = 0,05$ . Untuk dapat mengetahui formula mana yang terdapat perbedaan yang bermakna yaitu dilihat dari harga  $P < \alpha = 0.05$ . Ketika hasil yang diperoleh  $P < \alpha = 0,05$  maka menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna, dengan dilanjutkan uji tukey untuk mengetahui data mana yang berbeda (Putra & Muzakir, 2022).

**Tabel IV.2 Kategorisasi Zona Hambat**

Zona Hambat	Kategori Hambatan
$\leq 5 \text{ mm}$	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
$\geq 21 \text{ mm}$	Sangat Kuat