

## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental *post-test only*. Penelitian didasarkan pada manipulasi variabel bebas, kemudian mengukur efek pada variabel terikat.

#### 4.2 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian, dibagi menjadi dua, yaitu:

##### 1. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah parameter formula rancangan sediaan gel (organoleptis, stabilitas, daya sebar, daya lekat, pH serta homogenitas fisik sediaan gel) dan daya hambat sediaan gel terhadap bakteri.

##### 2. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah formula sediaan gel dan kadar ekstrak kunyit dalam sediaan gel.

#### 4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi Program Studi Farmasi untuk ekstraksi, Laboratorium Farmasetika Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pembuatan sediaan gel dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk uji daya hambat bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian dilakukan selama  $\pm$  3 bulan.

#### 4.4 Alat dan Bahan

##### 4.4.1 Alat

Alat Peralatan yang digunakan adalah toples kaca, *rotary evaporator*, oven, magnetic stirer, gelas ukur, gelas beaker, erlenmeyer, mikropipet, pipet tetes, kertas pH, timbangan digital, penangas air, mortar, cawan petri, dan gelas objek.

##### 4.4.2 Bahan

###### 4.4.2.1 Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan adalah rimpang kunyit (*Curcuma longa* L). Kunyit diperoleh dari Materia Medika Batu.

###### 4.4.2.2 Bakteri Uji

*Staphylococcus aureus* (diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi FKUB).

###### 4.4.2.3 Bahan Formulasi Gel

Carbomer, trietanolamin, gliserin, propilenglikol, nipagin, etil asetat, dan aquades.

#### 4.5 Prosedur Kerja

##### 4.5.1 Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi rimpang kunyit (*Curcuma longa* L) dilakukan dengan metode maserasi. Metode ini dilakukan dengan cara serbuk simplisia kunyit di ekstraksi dengan metode maserasi dengan rasio perbandingan penambahan pelarut etil asetat (1:4) kemudian direndam  $\pm$  1 hari, setelah itu disaring dengan kertas saring dan diperoleh maserat, selanjutnya dipekatkan sehingga diperoleh ekstrak kunyit. Kemudian, diremaserasi hingga 3 kali.

#### 4.5.2 Pembuatan sediaan gel

1. Carbomer didispersikan dalam aqua bebas CO<sub>2</sub> (10 kali jumlah Carbomer) sambil dilakukan pengadukan cepat menggunakan stirer.
2. (1) ditambahkan TEA diaduk perlahan sampai terbentuk masa gel.
3. Ekstrak yang telah didapatkan dari ekstraksi simplisia kunyit sebelumnya, dilarutkan dalam gliserin yang telah sesuai ukuran.
4. (3) ditambahkan pada (2) diaduk hingga homogen.
5. Nipagin dan propilenglikol, ditimbang pada timbangan digital. Kemudian aquades diukur pada gelas ukur.
6. Nipagin dan propilenglikol yang telah ditimbang, masing-masing ditambahkan aqua bebas CO<sub>2</sub>, diaduk sampai larut.
7. (6) ditambahkan pada (4) diaduk hingga homogen.
8. Aquades yang telah diukur ditambahkan ke dalam (7) diaduk hingga homogen.

**Tabel 4.1 Rancangan Formula Sediaan Gel**

Nama Bahan	Kadar	Fungsi
	Bahan	
Ekstrak Kunyit ( <i>Curcuma longa</i> L)	10 %	Zat aktif
	20 %	
	30 %	
	40 %	
	50 %	
Carbomer	2 %	<i>Gelling agent</i>
Trietanolamin	12 %	<i>Penetration enhancer</i>
Gliserin	15 %	<i>Moisturizer</i>
Nipagin	0,3 %	Pengawet
Propilen glikol	5 %	Pengawet
Aquades	Ad 100 %	Pelarut

### **4.5.3 Evaluasi Sediaan**

#### **4.5.3.1.1 Uji Organoleptis**

Pemeriksaan organoleptis meliputi bentuk, warna dan bau yang diamati secara visual (Ditjen POM, 1995). Spesifikasi organoleptis sediaan adalah bentuk sediaan gel, berwarna kuning pucat, dan tidak berbau.

#### **4.5.3.1.2 Uji Homogenitas Fisik**

Pemeriksaan homogenitas dilakukan dengan cara mengoleskan 0,1 gram sediaan pada kaca transparan. Sediaan uji harus menunjukkan susunan yang homogen (Carter, 1997). Spesifikasi homogenitas sediaan adalah homogen dengan distribusi partikel merata.

#### **4.5.3.1.3 Uji pH**

Pemeriksaan pH menggunakan kertas pH dengan mencelupkan kertas pH ke dalam sediaan gel kemudian dicocokkan dengan pH indikator (Martin, 1961). Spesifikasi pH sediaan adalah 6,5.

#### **4.5.3.1.4 Uji Daya Sebar**

Gel hasil formulasi sebanyak 0,5 gram diletakkan dengan hati-hati di atas kertas grafik yang dilapisi kaca transparan, dibiarkan sesaat (15 detik) dan luas daerah yang diberikan oleh sediaan dihitung kemudian diberi

beban tertentu masing-masing 10, 20, 50, 100, dan 200 g dan dibiarkan selama 60 detik, penambahan luas yang diberikan oleh sediaan dapat dihitung. Spesifikasi daya sebar sediaan adalah gel merata dalam sebaran.

#### 4.5.3.1.5 Uji Stabilitas

Sampel gel disimpan suhu kamar  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  serta suhu tinggi  $40\pm 2^{\circ}\text{C}$  dan pengamatan organoleptis, dilakukan setelah penyimpanan pada minggu ke-1, 2, 3, dan 4. Spesifikasi sediaan adalah stabil dalam berbagai suhu tanpa perubahan organoleptis.

#### 4.5.3.1.6 Uji Daya Lekat

Uji daya lekat dilakukan dengan cara kerja sebagai berikut gel dengan berat 0,5 g diletakkan di atas dua gelas objek yang telah dimodifikasi. Diberi penekanan pada gelas objek bagian atas. Setelah itu gelas objek bagian bawah diberi beban 100 gram kemudian dicatat waktu pelepasan gel dari gelas objek.

### 4.5.4 Uji Daya Hambat Bakteri

#### 4.5.4.1 Kontrol negatif

Kontrol negatif adalah medium yang diberikan bakteri tanpa diberi perlakuan. Nutrien agar pada plate dihomogenkan, setelah membeku dioleskan  $10^8$  larutan bakteri *Staphylococcus aureus* dan diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 18-24 jam.

#### 4.5.4.2 Kontrol positif

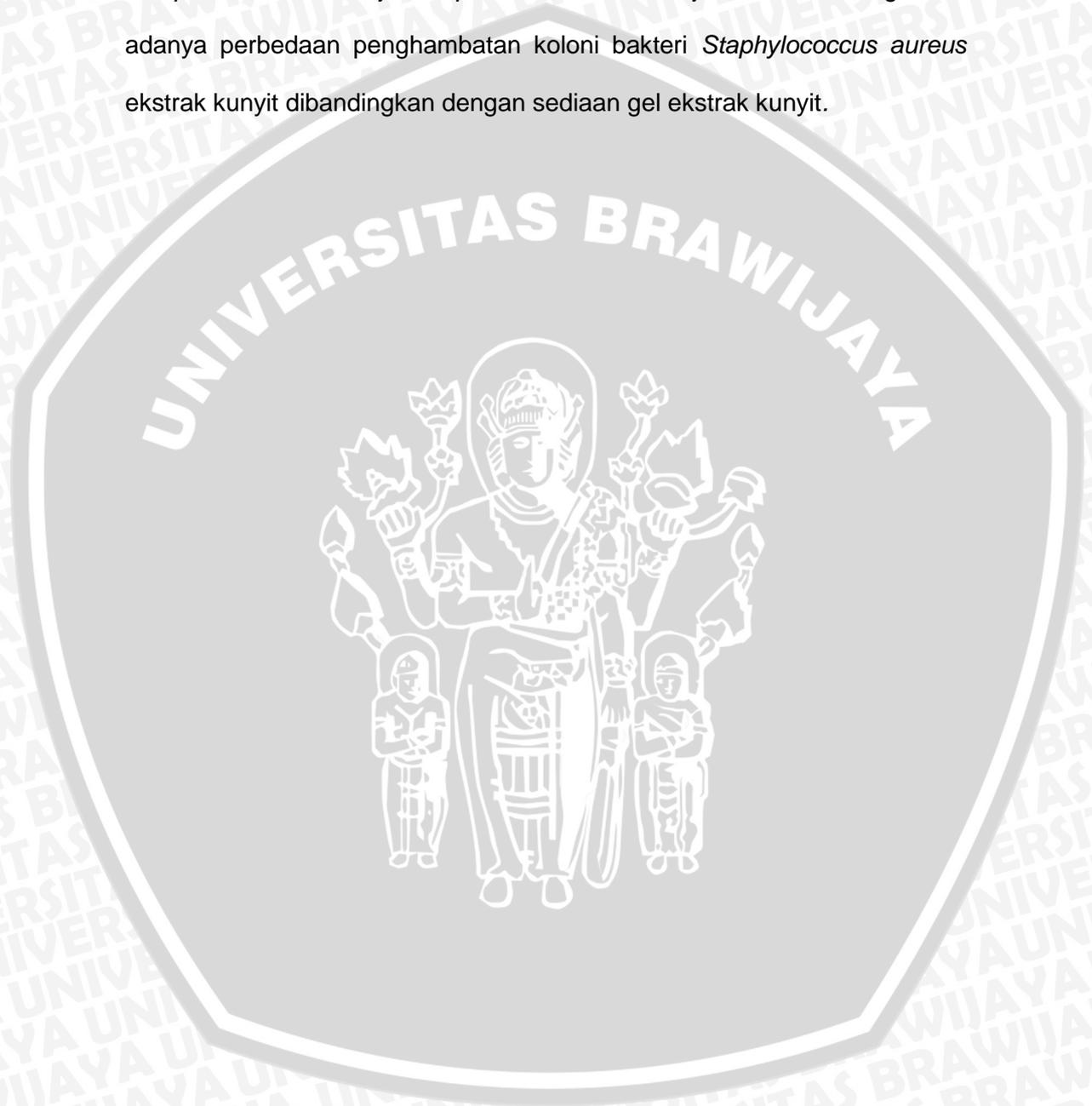
Kontrol positif adalah medium bakteri yang diberikan perlakuan berbagai konsentrasi ekstrak kunyit (*Curcuma longa* L). 10<sup>8</sup> larutan bakteri *Staphylococcus aureus* dioleskan pada media nutrient agar. Kemudian, cakram kertas direndam selama 24 jam pada ekstrak kunyit (*Curcuma longa* L) dengan konsentrasi 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, dan 0,5% dipipet sejumlah perhitungan, lalu cakram kertas yang telah direndam selama 24 jam ditempelkan di atas media agar yang telah diolesi bakteri *Staphylococcus aureus* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

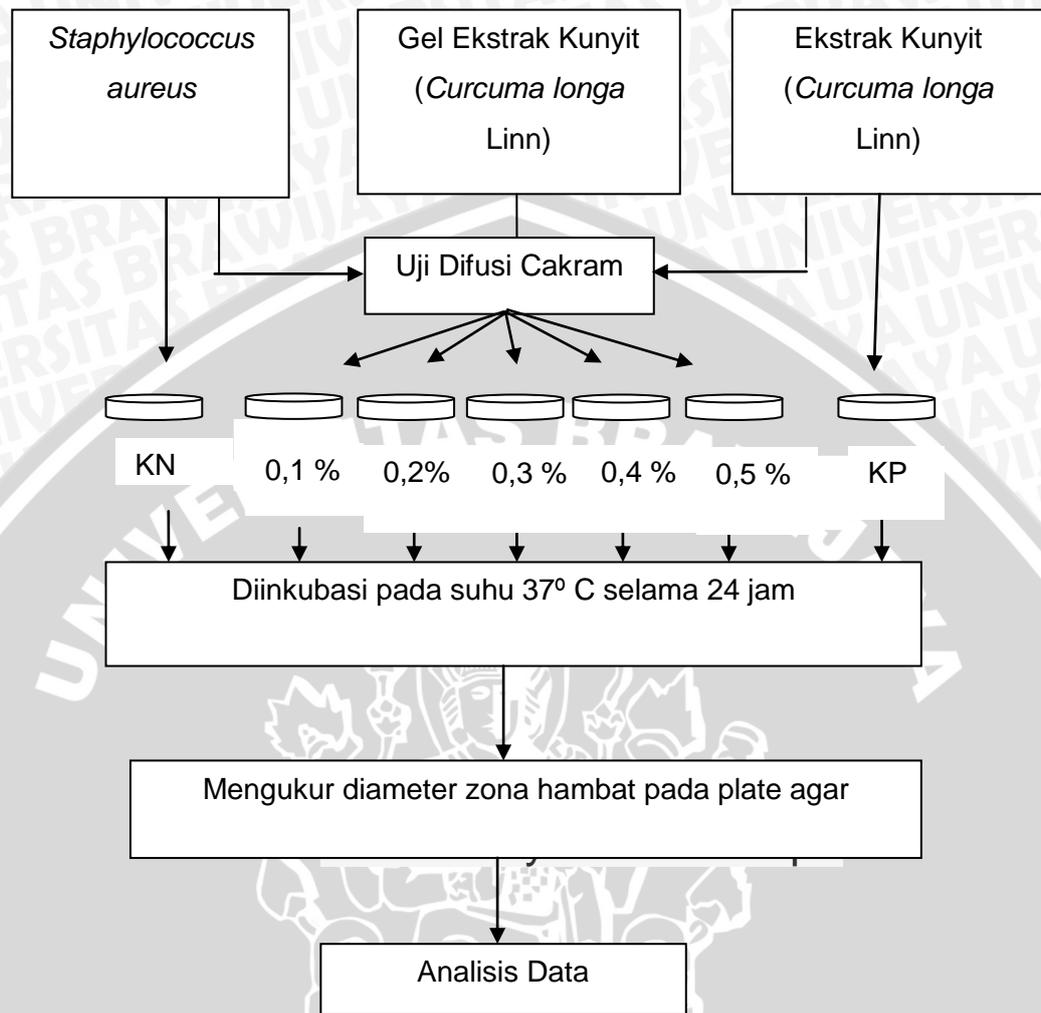
#### 4.5.4.3 Kontrol perlakuan

Kontrol perlakuan adalah medium bakteri yang diberi perlakuan sediaan gel berbagai konsentrasi ekstrak kunyit (*Curcuma longa* L). 10<sup>8</sup> larutan bakteri *Staphylococcus aureus* dioleskan pada media nutrient agar. Kemudian, cakram kertas direndam selama 24 jam pada sediaan gel ekstrak kunyit (*Curcuma longa* L) dengan konsentrasi 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, dan 0,5% sejumlah perhitungan, lalu cakram kertas yang telah direndam selama 24 jam ditempelkan di atas media agar yang telah diolesi bakteri *Staphylococcus aureus* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

#### 4.6 Analisis data

Analisis data pada penelitian ini diolah dengan uji statistik, yaitu *Independent t-test*. Uji *Independent t-test* bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan penghambatan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ekstrak kunyit dibandingkan dengan sediaan gel ekstrak kunyit.





**Gambar 4.1 Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus***

Keterangan :

KP : Kontrol positif

KN : Kontrol negatif