

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental

2.2 Subjek dan Objek Penelitian

Pada Subjek Penelitian yaitu tanaman Serai Wangi dan Bajakah Tampala. Objek pada penelitian ini yaitu, Pengujian Mutu Fisik Sabun Padat Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*.

2.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan selama bulan Maret hingga Desember 2023 di Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur.

2.4 Instrument Penelitian

Alat yang akan digunakan pada penelitian ini ialah beaker glass, gelas ukur, batang pengaduk, corong, pipet tetes, *hand-blender*, penangas air (*waterbath*), cawan porselen, labu ukur, timbangan digital, pH meter, autoklaf, kertas cakram, cetakan sabun *silicone*, erlenmeyer, kertas saring, , tabung reaksi, cawan penguap, ose, *hot plate*, *cuttonswab*, cawan petri, penggaris, mikropipet.

Bahan yang akan digunakan ialah, minyak serai wangi dan ekstrak bajakah tampala, NaOH, sabun merek N, aquadest, minyak kelapa, *Nutrient agar*, etanol 96%, Nacl steril, bakteri *Staphylococcus aureus*.

2.5 Metode Pengumpulan Data

1. Pengumpulan dan Persiapan Bahan Uji

Untuk alat yang digunakan telah disiapkan di Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur dan untuk pengumpulan bahan uji yaitu Minyak Serai Wangi yang diperoleh dari *e-commerce* dan Ekstrak Bajakah Tampala dari koleksi dilaboratorium.

2. Formulasi cara pembuatan sediaan sabun padat

Disiapkan alat dan bahan untuk pembuatan sabun padat. Timbang semua bahan sesuai dengan formulasi. Membuat larutan NaOH dengan cara mencampurkan NaOH sebanyak 22,08 gram dengan aquadest 51,52 ml aduk hingga larut. Kemudian campurkan minyak kelapa 120 gram, kemudian ditambahkan minyak serai wangi dan ekstrak bajakah diaduk hingga homogen dengan menggunakan *hand-blender* hingga membentuk adonan yang mengental. Setelah itu tuang adonan kedalam cetakan dan diamkan. Sediaan sabun dibiarkan pada suhu ruang dengan jangka waktu 1-3 hari agar menjadi padat dengan sempurna (Purwati *and* Safitri, 2021).

Tabel 1. Formulasi Sediaan Sediaan Sabun Padat Dari Komponen Minyak Serai Wangi dan Ekstrak Bajakah Tampala

Nama Bahan	F1	F2	F3	Kegunaan	Referensi
Minyak kelapa	120 g	120 g	120 g	Asam lemak	
NaOH	22,08 g	22,08 g	22,08 g	Alkali	(Rowe <i>et al.</i> , 2009)
Aquadest	51,52 ml	51,52 ml	51,52 ml	Pelarut	
Minyak Serai Wangi	0 %	2 %	1 %	Bahan aktif	(Youwish, 2023)
Ekstrak Bajakah Tampala	0%	1 %	2 %	Bahan aktif	

3. Uji Mutu Fisik

Uji mutu fisik yang dilakukan pada sediaan sabun padat terdiri dari, yaitu :

a. Uji Organoleptis

Pada pengujian ini dilakukan dengan mengamati bau, warna, tekstur dan bentuk (Purwati and Safitri, 2021).

b. Uji pH

Pada pengujian ini sabun padat ditimbang 0,1 gram. Lalu sabun direndam dalam 10 ml aquadest, setelah beberapa saat dicek pH sabun menggunakan alat pH meter. Kemudian dilakukan pengamatan pada pH aquadest sebelum dan sesudah direndam sabun padat. Apabila pH sabun mencapai 9-11, maka sabun memenuhi standar pH sabun (Purwati and Safitri, 2021).

c. Uji Homogenitas

Pengujian ini dilakukan dengan terlebih dahulu melarutkan sampel pada gelas atau wadah transparan lainnya. Sediaan harus mempunyai komposisi yang homogen dan tidak boleh mengandung partikel kecil atau kasar yang terlihat (Purwati and Safitri, 2021).

d. Uji Stabilitas Busa

Pengujian ini dilakukan dengan menimbang 1 gram sampel sabun, memasukkannya ke dalam gelas ukur yang berisi 10 ml air suling, dan mengocoknya selama 30 detik. Ukur tinggi busa yang terbentuk dengan penggaris (tinggi busa awal). Ketinggian busa kemudian diukur kembali setelah 5 menit (ketinggian busa akhir) dan stabilitas dihitung menggunakan rumus tetap (Purwati and Safitri, 2021).

4. Pembuatan Subkultur Bakteri

Serbuk NA ditimbang sebanyak 5 gram. Kemudian dilarutkan dalam aquadest sebanyak 250 ml, dan dicampurkan dalam *Erlenmeyer*. Setelah itu dipanaskan hingga mendidih dan larut diatas penangas air. Media disterilkan pada suhu 121 °C dalam autoklaf selama 15 menit. Lalu media dituangkan kedalam cawan petri biarkan hingga mengeras (Fijriati and Maulana, 2022).

5. Pengenceran bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus diambil dengan menggunakan ose yang sudah dipanaskan dengan api bunsen, ditempatkan dalam tabung reaksi yang di isi dengan 10 ml *NaCl steril*, dan dikocok hingga homogen (Putri *et al.*, 2019).

6. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Bakteri yang telah diencerkan diratakan dengan menggunakan *cotton swab* agar tersebar merata kepermukaan kertas cakram yang telah mengandung sediaan, beserta kertas cakram yang mengandung *control positif*, dan *control negative*. Setelah itu kertas cakram diletakkan diatas media yang telah mengandung suspensi bakteri tersebut. Lalu di inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kontrol positif yang digunakan ialah sabun merek N, sedangkan untuk kontrol negatif yang digunakan ialah aquadest. Setelah itu diamati adanya pertumbuhan bakteri dan diukur diameter daya hambatnya (Bhernama, 2020).

7. Uji Zona Hambat Pada Bakteri *Staphylococcus aureus*

Mengukur zona hambat dengan cara mengukur zona terluar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong atau penggaris hingga mencapai batas terluar zona hambat (Safitri and Fatmawati, 2021).

2.6 Teknik Analisis Data

1. Pengujian organoleptik dilakukan dengan mengamati perubahan bentuk, aroma, warna setelah didiamkan pada suhu kamar dalam jangka waktu 4 minggu.
2. Pegujian pH pada sediaan dikategorikan aman digunakan dan bisa diterima karena menurut SNI pH standar sabun yaitu 9-11.
3. Uji homogenitas yang homogen dibuktikan dengan tidak adanya butiran kasar atau partikel pada permukaan sabun padat pada kaca objek dari minggu pertama hingga minggu ke empat.
4. Perhitungan untuk menentukan stabilitas busa menggunakan rumus:

$$\text{Busa yang hilang} = \frac{\text{tinggi busa akhir}}{\text{tinggi busa awal}} \times 100\%.$$

$$\text{Stabilitas busa} = 100\% - \text{busa yang hilang.}$$

Kriteria stabilitas busa yang baik yaitu apabila busa dalam waktu 5 menit diperoleh kisaran busa 60-100% (Dewi and Lestari, 2022).

5. Uji zona hambat bakteri dengan mengukur zona terluar dari kertas cakram sampai ada pada batas terluar zona hambat dengan menggunakan jangka sorong/ penggaris. Menggunakan rumus :

$$\text{Rumus : } \frac{(DV-DC)+(DH-DC)}{2}$$

DH = Diameter Horizontal

DV =Diameter Vertical

DC = Diameter Cakram

6. Uji antibakteri sediaan sabun padat minyak serai wangi (*Cymbopogon nardus*) kombinasi ekstrak bajakah tampala (*Spatholobus littoralis* Hassk) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dianalisis dengan aplikasi *GraphPad* dan menggunakan teknik *One-Way ANOVA* untuk mengetahui singnifikan sebuah formula dengan K+ yang digunakan.