

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini menggunakan desain eksperimental murni (*True Ezperimental Design*) laboratorium.

2.2 Subjek dan Objek

Pada subjek penelitian yaitu daun nilam dan serai wangi, objek pada penelitian ini yaitu pengujian antibakteri dan uji mutu fisik sabun padat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

2.3 Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan selama bulan April hingga November 2023 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur

2.4 Definisi Oprasional

1. Daun Nilam

Daun nilam merupakan daun yang berasal dari tanaman semak tropis atau tanaman yang dapat tumbuh secara alami di iklim tropis, daun nilam juga terkenal sebagai penghasil minyak atsiri sehingga dapat digunakan sebagai antibakteri.

2. Serai wangi

Serai wangi merupakan tanaman berjenis rumput-rumputan yang memiliki ketinggian 50 – 100 cm, biasanya serai wangi digunakan sebagai bahan masakan dapur akan tetapi serai wangi juga dapat menghasilkan minyak atsiri yang dapat digunakan sebagai antibakteri

3. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang berada pada kulit dan paling umum menyebabkan infeksi pada kulit manusia

4. Sabun padat antiseptik

Sabun padat antiseptik ialah sabun yang dapat membantu mengurangi atau menghambat pertumbuhan bakteri pada kulit manusia

5. Uji Karakteristik

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh (Dewi, 2021) uji mutu fisik dilakukan selama 4 minggu, pengujian yang dilakukan pada sediaan sabun padat meliputi beberapa hal sebagai berikut :

a. Uji Organoleptis

Pada pengujian ini merupakan uji sifat fisik yang dimana pengujian organoleptis dengan mengamati pengamatan bau, warna, tekstur, dan bentuk.

b. Uji pH

Pada pengujian timbang 0.1gram sampel sabun padat. Kemudian direndam sabun dalam 10ml aquadest, setelah itu periksa pH sabun dengan pH meter, setelah amati pH aquadest sebelum dan sesudah perendaman sabun padat. Jika pH sabun mencapai 9-11 menandakan sabun tersebut memeneuhi standar pH sabun

c. Uji Homogenitas

Pada pengujian ini dilakukan dengan cara meimbang sampel sabun sebanyak 0,1 gram dan dicairkan terlebih dahulu pada sekeping kaca atau bahan transparan lain yang cocok, sediaan harus menunjukkan hasil yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran yang kasar

d. Uji Stabilitas Busa

Pengujian kestabilan busa dilakukan dengan cara menimbang 1 gram sabun kemudian dimasukkan kedalam gelas ukur yang berisi 10 ml aquadest, setelah itu

dikocok selama 30 detik. Kemudian ukur tinggi busa yang terbentuk dengan penggaris (Tinggi busa awal). Kemudian diukur kembali setelah 5 menit (Tinggi busa akhir).

2.5 Instrumen Penelitian

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini ialah beaker glass, gelas ukur, pipet tetes, cawan porselen, timbangan digital, pH meter, batang pengaduk, cetakan sabun *silicone*, erlenmeyer, tabung reaksi, rak tabung reaksi, ose, cawan petri, autoklaf, bunsen, spritus, kertas saring, *cotton swab*, hot plate, inkubator

Bahan yang akan digunakan dalam pembuatan sabun ini ialah, minyak daun nilam (*Patchouli Essential Oil*) yang di produksi di Indonesia, minyak serai wangi (*Citronella Oil*) yang di produksi di Indonesia, NaOH, aquadest, minyak kelapa, *nutrient agar*, NaCl 0,9%, kapas, kain kasa, cotton balls, cotton swab, aluminium foil, bakteri *Staphylococcus aureus*

2.6 Formulasi dan Cara Pembuatan Sabun Padat

Disiapkan alat dan bahan untuk membuat sabun padat, kemudian timbang semua bahan sesuai dengan formula. Setelah itu buatlah larutan NaOH dengan mencampurkan NaOH sebanyak 22,08gram dengan 52,5ml aquadest dan di aduk hingga larut. Kemudian campurkan minyak kelapa 120gram, ditambahkan minyak serai wangi dan minyak daun nilam sesuai dengan kebutuhan konsentrasi disetiap formulasi dan di aduk rata menggunakan *hand-blander* hingga terbentuk *trace*, yaitu adonan yang mengental. Setelah itu tuang campuran sabun kedalam cetakan *silicone* dan diamkan. Sediaan sabun didiamkan pada suhu ruang selama 1-3 hari agar sabun mengeras sempurna (Putri et al., 2021)

Tabel 1 Formulasi Sediaan sabun padat dari kombinasi minyak serai wangi (*Cymbopogon nardus*) dan minyak daun nilam (*Pogostemon chablin Benth.*)

Nama Bahan	Formula 1	Formula 2	Formula 3
Minyak Kelapa	120g	120g	120g
NaOH	22,08g	22,08g	22,08g
Aquadest	52,5ml	52,5ml	52,5ml
Minyak Serai Wangi	0%	2%	1%
Minyak Daun Nilam	0%	1%	2%

2.7 Metode Pengumpulan Data

1. Pengumpulan dan Persiapan Bahan Uji

Untuk alat uji yang digunakan telah disiapkan di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Kimia Bahan Alam Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur, dan untuk pengumpulan bahan uji yaitu minyak atsiri serai wangi (*Citronella Oil*) dan minyak atsiri daun nilam (*Patchouli Essential Oil*) diperoleh dari *e-commerce* yang menjual minyak atsiri dengan 100% menggunakan tanaman asli tanpa tambahan bahan pengawet lainnya.

2. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Serbuk NA ditimbang sebanyak 7gram kemudian dilarutkan dalam aquadest sebanyak 250ml dan dicampurkan dalam erlenmeyer, setelah itu panaskan hingga mendidih dan larut di atas *hotplate*. Media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan 15psi. Media dituangkan kedalam cawan petri biarkan hingga mengeras. (Napatipulu et al., 2019)

3. Pengenceran bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* diambil dengan ose yang telah dipanaskan dengan api bunsen dan dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah diisi dengan NaCl 0,9% sebanyak 9 ml kemudian dikocok hingga homogen (Astriani and Feladita, 2022)

4. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram. Dipipet bakteri yang telah diencerkan kemudian diteteskan ke atas cawan petri yang berisi media NA. Setelah itu suspensi bakteri di ratakan dengan menggunakan *cotton swab* agar tersebar merata pada permukaan agar. Kertas cakram yang telah direndam pada formula beserta kertas cakram yang berisi kontrol positif dan kontrol negatif diletakkan diatas media yang telah berisi suspense bakteri tersebut. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kontrol positif yang digunakan ialah sabun merk N, sedangkan untuk kontrol negatif yang digunakan ialah *Aquadest*. Setelah diinkubasi, Setelah itu diamati adanya pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan diukur diameter daya hambatnya yang meliputi pengamatan zona bening yang dihasilkan pada sekitar kertas cakram yang berisi larutan uji kemudian diukur menggunakan penggaris (Setiawati, 2021)

2.8 Teknik Analisis Data

1. Pengujian organoleptis dilakukan secara isual dengan mengamati perubahan bentuk, warna, dan aroma dari formulasi sabun padat serai wangi kombinasi minyak daun nilam setelah didiamkan pada suhu kamar dengan jangka waktu 4 minggu.

2. Pengujian pH pada sediaan dikategorikan aman digunakan dan bisa diterima apabila memenuhi standar SNI sabun yakitu 9-11

3. Perhitungan untuk menentukan stabilitas busa menggunakan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ Busa Yang Hilang} = \frac{\text{tinggi busa akhir}}{\text{tinggi busa awal}} \times 100\%$$

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

4. Uji homogenitas yang homogen dibuktikan dengan tidak adanya butiran kasar pada permukaan sabun padat yang dilihat dengan kasat mata atau kaca objek dari minggu ke-1 hingga minggu ke-4

5. Uji antibakteri sediaan sabun padat minyak serai wangi (*Cymbopogon nardus*) kombinasi dengan minyak nilam (*Pagostemon cablin* Benth) terhadap bakteri *Stahpylococcus aures* dianalisis dengan aplikasi *GraphPad* dan menggunakan teknik *One Way-ANOVA* untuk mengetahui signifikan sebuah formula dengan kontrol positif yang digunakan yaitu sabun merk N