

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

1. Metode penelitian

a. Ekstraksi daun sungkai

Sampel daun sungkai diambil dari daerah Muara Kaman, Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur sebanyak 2 kg daun kering, kemudian dimeserasi menggunakan etanol 70%, lalu di evaporasi dengan *rotary evaporator* hingga dihasilkan ekstrak daun sungkai bebas etanol 70%.

b. Formulasi *hand sanitizer spray*

Ekstrak daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) diformulasikan berdasarkan metode Firmansyah dan Wisma (2021) dengan modifikasi.

Tabel 3. 1. Formulasi hand sanitizer spray ekstrak daun sungkai

Bahan	Kosentrasi (% b/v)			Fungsi
	F1	F2	F3	
Ekstrak daun sungkai	10	12	15	Bahan aktif
Gliserin	5	5	5	<i>Emollient</i>
Metil paraben	0,18	0,18	0,18	Pengawet
Hydrogen peroksida	1	1	1	Pengawet
Etanol	10	10	10	Pelarut
Aquadest	ad. 100	ad. 100	ad.100	Pelarut

c. Pembuatan *hand sanitizer spray* ekstrak daun sungkai (*Peronema canescens* Jack).

Disiapkan semua bahan, dicampurkan bahan yaitu ekstrak daun sungkai, gliserin, hydrogen piroksida, metil paraben, etanol 70% diaduk hingga homogen, lalu masukkan ke dalam gelas ukur, tambahkan aquadest ad 100 ml, diaduk hingga homogen, kemudian dimasukkan kedalam botol.

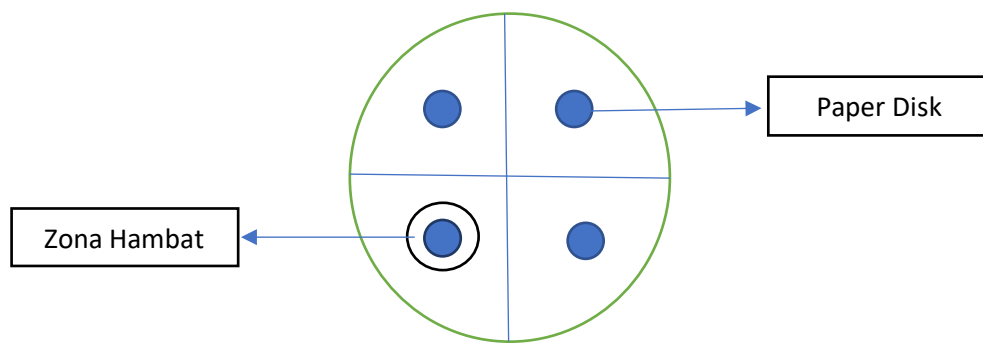
d. Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Ditimbang sebanyak 4 g serbuk NA dilarutkan dalam 100 mL air suling dan dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit setelah steril ditunggu hingga suhu 45°C kemudian dituang ke dalam cawan petri (Napitupulu, *et.al.*, 2019).

e. Uji Antibakteri

Menggunakan metode kuantitatif eksperimental yaitu dengan menggunakan metode difusi cakram *Kirby Bauer*. Metode ini merupakan metode yang sederhana dan mudah dilakukan untuk menentukan aktivitas anti mikroba, yaitu dengan mengamati zona hambat yang terbentuk pada media uji cakram. Keunggulan metode ini adalah fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat antibiotik tertentu yang diperiksa (Fransisca, *et.al.*, 2020). Metode difusi cakram adalah metode yang paling sering digunakan dimana cara kerja difusi cakram yaitu antibakteri fraksi yang akan diuji diserapkan pada kertas cakram selama 5 detik dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml dan ditempelkan pada media agar yang telah dihomogenkan dengan bakteri kemudian diinkubasi sampai terlihat zona hambat didaerah sekitar cakram. Penentuan kriteria ini jika kekuatan daya antibakteri yaitu 20 mm atau lebih berarti sangat kuat, 10-20 mm berarti kuat, 5-10 mm berarti sedang dan 5 mm atau kurang berarti lemah (Novita, 2016).

Kelompok eksperimen terdiri dari perlakuan ekstrak daun sungkai yang dilarutkan menggunakan etanol dengan konsentrasi 10%, 12%, 15%, dan media kontrol (Firmansyah dan Wismi, 2021).



Gambar 3. 1. Media Uji

Setelah pengukuran, data dianalisis dengan *One Way Anova*. *One Way Anova* bertujuan untuk mengetahui hubungan atau efek dengan membandingkan tiga atau lebih kelompok perlakuan yang berbeda (Balouiri, *et.al.*, 2015).

B. Subjek dan Objek Penelitian

1. Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah daun sungkai (*Peronema canescens*. Jack) yang telah diekstrak menggunakan pelarut etanol, yang kemudian ekstrak tersebut diuapkan menjadi ekstrak kental yang bebas pelarut.

2. Objek Penelitian

Objek penelitian ini adalah bakteri gram positif dan gram negatif yaitu bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus epidermidis*.

C. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Desember 2021 sampai dengan Februari 2022, yang bertepatan di laboratorium Universitas Muhammadiyah Kalimantan Timur, Samarinda, Kalimantan Timur.

D. Definisi Operasional

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses

ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Mukhran, 2014).

Hand sanitizer merupakan zat antiseptik yang mengandung alkohol 60-95%. Menurut *Food and Drug Administration* (FDA), pembersih tangan dapat membunuh kuman dalam waktu kurang dari 30 detik. Alkohol yang terkandung dalam pembersih tangan memiliki efek bakterisida yang baik terhadap bakteri gram positif dan gram negative (Nurmiati dan Vivin, 2020).

Uji *Analysis of Variance* digunakan dalam menguji kesamaan mean (rata-rata) lebih dari dua sample populasi. Uji ANOVA ini merupakan salah satu uji parametrik dan memiliki beberapa syarat untuk menggunakannya (Tannady dan Munardi, 2015).

Escherichia coli biasa disingkat *E. coli*, merupakan salah satu jenis spesies dari bakteri gram negatif. Secara umum diketahui bahwa bakteri ini biasanya ditemukan di saluran pencernaan manusia dan hewan (Kurniadi, *et.al.*, 2013). *Escherichia coli* biasanya terdapat pada saluran cerna bagian bawah dan dapat berubah menjadi patogen ketika pertumbuhan bakteri dalam tubuh melebihi batas (Darsana, *et.al.*, 2012).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang bersifat patogen bagi manusia. Hampir setiap orang mengalami infeksi *Staphylococcus aureus* dalam berbagai tingkat, mulai dari keracunan makanan dan infeksi kulit ringan hingga infeksi parah yang mengancam jiwa. Keracunan makanan dapat disebabkan oleh makan makanan yang terkontaminasi, seperti saus yang terkontaminasi *Staphylococcus aureus* (Lutpiatina, 2017).

Staphylococcus epidermidis adalah bakteri yang biasa ditemukan sebagai flora normal kulit manusia dan selaput lendir. *Staphylococcus epidermidis* merupakan penyebab penyakit yang menyebar ke seluruh tubuh dengan habitat alami permukaan kulit. Bakteri yang menyebabkan infeksi kulit, luka, bisul, dan infeksi inflamasi yang menyakitkan berkembang selama pembentukan abses, sehingga diperlukan tindakan

untuk mengeluarkan cairan dan membatasi pertumbuhan dan penyebaran bakteri (Rosidah, *et.al.*, 2018).

E. Instrumen Penelitian

1. Alat

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu toples, saringan, *blender*, jangka sorong, masker, sarung tangan, *erlenmeyer*, gelas ukur, gelas kimia, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *beaker glass*, pipet tetes, *micro tubes*, cawan petri, corong pisah, batang pengaduk, *rotary evaporator*, jarum ose, pinset, *inkubator incucell*, *autoklaf*, mikropipet, *Laminar Air Flow*, lampu pijar, kain lap, dan potol spray.

2. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu ekstrak daun sungkai, bakteri uji *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, aquades, etanol, kloramfenikol, *nutrient agar*, pepton, cakram (*paper disc*) ukuran 6 mm, kertas label, *tissue* dan *aluminium foil*, gliserin, hydrogen peroksida, metil paraben, dan Etanol 70%.

F. Metode Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan melalui tahap - tahap sebagai berikut:

1. Penelusuran pustaka

Pada tahap ini dilakukan penggalan informasi melalui jurnal terdahulu yang telah dipublikasi melalui media seperti *google scholar*, dan *pubmed*.

2. Tahap pengumpulan sampel

Tahap pengumpulan sampel dilakukan untuk mencari lokasi tempat untuk pengambilan bahan daun sungkai dan lokasi penelitian.

3. Tahap Penelitian

Dilakukan penelitian terhadap daun sungkai yang telah diekstrak dan telah dibuat menjadi sediaan *hand sanitizer spray* tersebut menggunakan difusi cakram.

G. Teknik Analisis Data

Pengolahan data diuraikan secara deskriptif. Data yang diolah meliputi data pendukung seperti zona hambat bakteri, dan aktifitas ekstrak daun sungkai (*Peronema canescens*. Jack).

H. Alur Jalannya Penelitian

Alur jalannya penelitian dalam penelitian ini mengacu pada tahap-tahap sebagai berikut:

1. Pembuatan rancangan penelitian

Pada tahapan ini dimulai dari menentukan masalah yang akan dikaji, studi pendahuluan, membuat rumusan masalah, tujuan, manfaat, mencari landasan teori, menentukan hipotesis, menentukan metodologi penelitian, dan mencari sumber-sumber yang dapat mendukung jalannya penelitian.

I. Jadwal Penelitian

Tabel 3. 2. Jadwal penelitian

No	Kegiatan	Bulan									
		Sep 2021	Okt 2021	Nov 2021	Des 2021	Jan 2022	Feb 2022	Mar 2022	Apr 2022	Mei 2022	Jun 2022
1.	Persiapan Proposal										
2.	Sidang Seminar Proposal										
3.	Penelitian										
4.	Hasil dan Pembahasan										
5.	Seminar Hasil										