

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan merupakan eksperimental, yaitu penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh diantara variabel bebas dan variabel terikat (Abraham dan Supriyati, 2022) . Penelitian ini meliputi pembuatan sediaan *face mist* dengan variasi konsentrasi ekstrak daun jambu biji yang akan ditambahkan.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1. Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari dan April 2026

3.2.2. Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakognosi dan Fitokimia Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang dan Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang

3.3. Populasi dan Sampling

3.3.1. Populasi

Populasi sebagai seluruh subjek maupun objek yang akan diteliti. Pada jenis penelitian eksperimental yang dilakukan di laboratorium, objek penelitian yang digunakan berupa bahan yang akan diujikan. Sehingga populasi penelitian ini merupakan seluruh kemungkinan sediaan *face mist* ekstrak daun jambu biji yang dapat diformulasikan.

3.3.2. Sampel

Sampel sebagai komponen pada populasi yang ditentukan untuk mewakili karakteristik populasi secara keseluruhan. Sampel dalam penelitian ini berupa sediaan *face mist* ekstrak daun jambu biji yang dibuat dalam variasi konsentrasi 0%, 1%, 2% dan 3%. Teknik sampling yang digunakan ialah total sampling, dimana seluruh sediaan *face mist* yang dibuat dalam penelitian digunakan sebagai sampel tanpa dilakukan proses pengambilan sebagian.

3.4. Alat dan Bahan

3.4.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, grinder (GETRA), mesh 100, botol maserasi, batang pengaduk, gelas beaker 100 ml (PYREX), gelas ukur 100 ml (PYREX), rotary evaporator (HEIDOLPH), waterbath (MEMMERT), kaca arloji, neraca analitik, labu ukur 100 ml (PYREX), bola hisap, erlenmeyer 250 ml (PYREX), cawan petri, pipet tetes, mikropipet (QLINIPETTE), blue tip, bunsen, spatula, pinset, ose bulat, autoklaf (GEA MEDICAL), inkubator (MEMMERT), kulkas (GEA), Laminar Air Flow (ABL), *hot plate* (THERMO SCIENTIFIC), tabung reaksi (PYREX), rak tabung reaksi, vortex (DLAB), pipet ukur 10 ml (PYREX), pemantik api, kertas saring, *magnetic stiter*, pH meter, penggaris, corong, aluminium foil, kapas swab steril dan cawan porselin.

3.4.2. Bahan

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini yaitu ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.), etanol 70%, akuades, media MHA, media NA, kertas cakram, kertas *wrap*, gliserin, PVP, NaCl, BaCl₂, H₂SO₄, larutan buffer pH 4, pH 7, dan bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.5. Variabel Penelitian

3.5.1. Variabel bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang menjadi sebab perubahannya dan timbulnya variabel terikat (Ridha, 2017). Dalam penelitian ini variabel bebas merupakan formulasi *face mist* dengan variasi konsentrasi ekstrak daun jambu biji.

3.5.2. Variabel terikat

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi akibat, karena adanya variabel bebas (Ridha, 2017). Dalam penelitian ini yang menjadi variabel terikat merupakan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.6. Definisi Operasional Variabel

Definisi Operasional Variabel adalah pemaparan suatu variabel ke dalam bentuk yang dapat diukur secara spesifik dalam proses penelitian.

Definisi operasional memungkinkan sebuah konsep yang bersifat abstrak dijadikan suatu yang operasional sehingga memudahkan peneliti dalam melakukan pengukuran (Ridha, 2017).

Tabel 3. 1 Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Metode	Alat Ukur	Skala Ukur
1.	Formulasi <i>face mist</i> ekstrak daun jambu biji	Sediaan cair berbentuk spray yang memiliki kandungan ekstrak daun jambu biji dengan variasi konsentrasi 0%, 1%, 2% dan 3% dalam volume 50 ml	-	-	Nominal
2.	Uji Organoleptik	Pengamatan terhadap karakteristik fisik meliputi warna, aroma, dan bentuk	Observasi	Indera penglihatan dan penciuman	Nominal
3.	Uji Sifat Fisik	Pengujian kualitas fisik yang meliputi homogenitas, waktu kering, pH, dan daya sebar semprot	Pengamatan dan pengukuran langsung	Senter, stopwatch, pH meter, dan penggaris	Rasio
4.	Aktivitas antibakteri terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	Kemampuan <i>face mist</i> ekstrak daun jambu biji dalam menghambat bakteri	Metode difusi cakram dengan mengukur diameter zona hambat setelah inkubasi	Penggaris	Rasio

3.7. Prosedur Penelitian

3.7.1. Persiapan Simplisia Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.)

Daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yang terkumpul kemudian dipisahkan dari beberapa pengotor. Selanjutnya dicuci menggunakan air bersih yang mengalir, setelah bersih selanjutnya dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C hingga kering. Selanjutnya daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) di grinder untuk memperluas permukaan sampel. Sampel diayak menggunakan mesh dengan ukuran mesh 100. Simpan serbuk dalam tempat kering dan tertutup rapat pada ruangan yang tidak terkena cahaya matahari (Wahyuningsih et al., 2023).

3.7.2. Proses pembuatan ekstrak daun jambu biji

Ekstrak daun jambu biji dibuat dengan melakukan maserasi. Pertama ditimbang serbuk daun jambu biji sebanyak 300 gram selanjutnya dimasukkan kedalam botol maserasi dan ditambahkan pelarut sebanyak 3000 ml etanol 70% sehingga didapatkan perbandingan 1:10. Perendaman dilakukan selama 3x24 jam sambil sesekali diaduk setiap hari. Simpan pada tempat yang tidak terkena sinar matahari. Setelah 3 hari, ekstrak daun jambu biji disaring dengan kertas saring sehingga didapatkan filtrat. Selanjutnya filtrat diuapkan menggunakan alat rotary evaporator pada suhu dibawah 50°C, selanjutnya filtrat dipekatkan lagi menggunakan waterbath dengan suhu 50°C (Sakka dan Hasma, 2023). Kemudian ekstrak kental yang didapatkan ditimbang dan dihitung persentase rendemen dengan rumus:

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Berat Ekstrak Kental (g)}}{\text{Berat Serbuk Simplisia}} \times 100\%$$

3.7.3. Proses pembuatan sediaan *face mist*

Ekstrak daun jambu biji yang sudah jadi, dimasukkan kedalam gelas beaker ditambahkan gliserin dan PVP yang sebelumnya sudah dilarutkan dengan air panas kemudian diaduk hingga homogen. Jika sudah homogen masukkan kedalam botol spray 100 ml dan ditambahkan akuades hingga tanda (Apristasari et al., 2018).

Tabel 3. 2 Formulasi sediaan *face mist*

Bahan	Fungsi	Konsentrasi			
		F1	F2	F3	F4
Ekstrak daun jambu biji	Zat aktif	0%	1%	2%	3%
Gliserin	Pelembab	5%	5%	5%	5%
PVP	Pengikat	0,5%	0,5%	0,5%	0,5%
Akuades	Basis	Ad 50 mL	Ad 50 mL	Ad 50 mL	Ad 50 mL

3.7.4. Uji Organoleptik

Uji organoleptik ialah uji yang dilakukan untuk mengetahui tampilan fisik dengan mengamati aroma, warna dan bentuk sediaan (Aristasari et al., 2018).

3.7.5. Uji Fisik

3.7.5.1. Uji homogenitas

Uji homogenitas merupakan uji untuk memastikan bahwa sediaan tidak mengandung gumpalan atau partikel yang tidak larut. Uji homogenitas dilakukan dengan menempatkan sampel di depan latar belakang kertas putih dan mengamati tampilannya secara visual dengan bantuan cahaya dari senter (Herdaningsih dan Kartikasari, 2022).

3.7.5.2. Uji waktu kering

Uji waktu kering adalah pengujian dengan cara menyemprotkan sediaan pada lengan dan menghitung waktu yang dibutuhkan cairan untuk mengering. Waktu kering yang bagus yaitu tidak lebih dari 5 menit (Hayati et al., 2019).

3.7.5.3. Uji pH

Pengujian pH dilaksanakan untuk memastikan bahwasanya sediaan mempunyai pH yang sesuai dengan pH kulit, yaitu dalam rentang pH 4,5-6,5. Uji pH dilakukan agar sediaan tidak mengakibatkan iritasi pada kulit. Uji pH dilakukan dengan menggunakan pH meter (Herliningsih dan Anggraini, 2021). Alat pH meter perlu dikalibrasi terlebih dahulu dengan larutan buffer pH 4, dan pH 7 sebelum digunakan.

3.7.5.4. Uji daya sebar semprot

Pengujian daya sebar semprot dilaksanakan dengan menyemprotkan sediaan pada plastik mika yang berjarak 5 cm. Selanjutnya dilaksanakan pengukuran daya sebar menggunakan penggaris (Herliningsih dan Anggraini, 2021). Tujuan pengujian ini adalah untuk mengetahui apakah sediaan menyebar dengan baik atau tidak. Daya semprot yang baik menurut Hayati et al. (2019) yaitu antara 5-7 cm.

3.7.6. Uji aktivitas antibakteri

3.7.6.1. Sterilisasi alat

Sterilisasi alat dilakukan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat-alat yang akan digunakan terlebih dahulu dibungkus dengan kertas tahan panas kemudian dimasukkan ke dalam autoklaf.

3.7.6.2. Pembuatan standar Mc. Farland 0,5

Pembuatan standar Mc. Farland dilakukan dengan mencampurkan larutan BaCl₂ 1% dan H₂SO₄ 1%. Larutan BaCl₂ dituang sebanyak 0,05 ml dalam labu ukur 10 ml kemudian ditambah dengan larutan H₂SO₄ 1 % sebanyak 9,95 ml atau di tandabatkan hingga garis batas labu ukur 10 ml kemudian dituang pada tabung reaksi (Ramadanti et al., 2021).

3.7.6.3. Pembuatan suspensi bakteri

Suspensi bakteri dibuat dengan cara mengambil satu ose bakteri dari media pertumbuhan, kemudian ditambahkan dengan NaCl 0,9% sebanyak 10 ml dan dihomogenkan dengan menggunakan vorteks hingga kekeruhannya sama dengan standar Mc farland 0,5 (Qamariah et al., 2018). Jika suspensi kurang keruh dilakukan penambahan dengan koloni tetapi jika terlalu keruh maka ditambahkan dengan NaCl 0,9%.

3.7.6.4. Pembuatan *Nutrient Agar* (NA) dan Pembuatan Kultur Bakteri

Media nutrient agar dibuat dengan cara melarutkan media dengan akuades lalu dipanaskan dan diaduk dengan *magnetic stirer* sampai homogen, kemudian media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya, media dituangkan pada tabung reaksi dan dibiarkan dalam posisi miring hingga memadat. Setelah memadat, dilakukan pembuatan kultur bakteri dengan cara menginokulasikan suspensi bakteri ke permukaan media

secara aseptis dan kemudian didiamkan kembali hingga siap digunakan (Wahyuningsih et al., 2023).

3.7.6.5. Uji antibakteri Face mist

Media MHA (*Mueller Hinton Agar*) ditimbang sebanyak 3,8 gram lalu dilarutkan dengan 100 ml akuades. Dituang kurang lebih 20 ml media MHA secara merata pada cawan petri dan dibiarkan memadat.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan pengujian daya hambat *face mist* ekstrak daun jambu biji terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, suspensi bakteri diambil menggunakan kapas swab steril, kemudian digoreskan dalam permukaan media agar hingga semua permukaan media teroleskan dengan suspensi bakteri.

Setelah semua permukaan media terolesi dengan suspensi bakteri, kertas cakram yang telah direndam dalam *face mist* ekstrak daun jambu biji dengan berbagai konsentrasi diambil dan ditanam dengan pinset steril pada media inokulan. Media diinkubasi pada inkubator pada suhu 37°C dalam waktu 24 jam. Aktivitas antibakteri ditentukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram (Nabila, 2025). Kemudian zona hambat yang terbentuk dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Zona hambat} = \frac{(Dv - Dc) + (Dh - Dc)}{2}$$

3.8. Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data

3.8.1. Pengolahan data

Pengolahan data pada penelitian ini menggunakan metode menguraikan data dalam bentuk kalimat efektif.

3.8.2. Penyajian data

Penyajian data dilaksanakan sesudah mendapat data yang didapatkan dari pengolahan data selanjutnya disajikan dalam bentuk tabel. Adapun tabel-tabel yang dapat disajikan sebagai berikut:

Tabel 3. 3 Hasil Uji Organoleptik

No	Konsentrasi pada face mist	Replikasi	Aroma	Warna	Bentuk
1.					
2.					
3.					
4.					

Tabel 3. 4 Hasil Uji Homogenitas

No	Konsentrasi pada face mist	Replikasi	Uji Homogenitas
1.			
2.			
3.			
4.			

Tabel 3. 5 Hasil Uji Waktu Kering

Replikasi	Waktu Kering			
	0%	1%	2%	3%
1				
2				
3				

Tabel 3. 6 Hasil Uji pH

Replikasi	Uji pH				Standart
	0%	1%	2%	3%	
1					
2					
3					

Tabel 3. 7 Hasil Uji Daya Sebar Semprot

Replikasi	Uji Daya Sebar Semprot				Standart
	0%	1%	2%	3%	
1					
2					
3					

Tabel 3. 8 Hasil Uji Antibakteri

No	Konsentrasi pada face mist	Replikasi	Diameter	Rata-rata zona hambat	Keterangan
1.	0%				
2.	1%				
3.	2%				
4.	3%				

3.8.3. Analisis data

Analisis data yang dipergunakan dalam penelitian ini ialah deskriptif, dimana data yang diperoleh dianalisis dengan cara mendiskripsikan atau menggambarkan dan tidak bermaksud untuk membuat kesimpulan yang berlaku untuk umum.