BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental yaitu penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh dari perlakuan tertentu terhadap yang lainnya dalam kondisi yang terkendalikan (Sugiyono, 2012). Menurut Arikunto (2006) penelitian eksperimental adalah suatu cara untuk mencari hubungan sebab-akibat (kausal) antara dua faktor yang dengan sengaja dimunculkan oleh peneliti dengan menghilangkan faktor-faktor lain yang mengganggu.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Januari-Februari 2025 di Laboratorium Mikrobiologi PT. Quantum Laboratoris Internasional Pasuruan.

3.3 Alat Pengumpulan Data

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *beakerglass* Pyrex®, kaca arloji, neraca analitik, labu ukur Pyrex®, erlenmeyer Pyrex®, tabung reaksi, kapas, spidol, botol spray, pH meter, piknometer Pyrex®, penggaris, bejana maserasi, set alat destilasi, cawan petri, LAF, autoklaf, bunsen, pematik, pinset, mikropipet, inkubator, jarum ose, oven, gelas ukur Pyrex®, pipet ukur Pyrex®, dan botol spray.

3.3.2 Bahan

Bahan yang dipakai pada penelitian ini yaitu ekstrak daun binahong, etanol 70%, media MHA, kertas cakram, plastik warp, tissue gliserin, PVP, NaCl, dan aquadest, larutan buffer pH 4, larutan buffer pH 7, larutan buffer pH 10, dan bakteri *propionibacterium acne*.

3.4 Variabel Penelitian

a. Variabel bebas (*Independent Variable*) adalah variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahannya dan timbulnya variabel dependen (terikat) (Sugiyono, 2012). Variabel bebas dari penelitian ini adalah formulasi *face mist* ekstrak daun binahong.

b. Variabel Terikat (*Dependent variable*) adalah variabel yang menjadi akibat atau yang dipengaruhi karena adanya variabel bebas (Sugiyono, 2012). Dalam penelitian ini yang menjadi variabel terikat adalah evaluasi dan uji daya hambat antibakteri *Propionibacterium acne*.

3.5 Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional variabel adalah suatu sifat atau nilai dari objek atau nilai dari objek atau kegiatan yang mempunyai variasi tertentu yang telah ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan selanjutnya dapat ditarik kesimpulan.

Tabel 1. 1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Metode	Alat pengukuran	Skala pengukuran
Konsentrasi ekstrak daun binahong	Jumlah zat yang terkandung dalam suatu ekstrak	Uji diameter zona hambat	Mengukur zona hambat	Rasio
Evaluasi fisik	Pengujian yang dilakukan untuk menentukan karakteristik suatu produk	Daya sebar, waktu kering, homogenitas, dan organeoleptik	pH meter, mika transparan, penggaris, dan panca indra	Nominal

Uji daya hambat antibakteri terhadap bakteri *propionibacteriu m acne*	Kemampuan zat uji suatu ekstrak dalam menghamba t bakteri	Observasi

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Proses pembuatan ekstrak daun binahong

Ekstrak daun binahong dibuat dengan melakukan maserasi. Pertama ditimbang serbuk daun binahong sebanyak 80 gram selanjutnya dimasukkan kedalam bejana maserasi dan ditambahkan pelarut sebanyak 320 ml etanol 70% sehingga didapatkan perbandingan 1:4. Selanjutnya diaduk beberapa kali dan ditutup rapat kemudian didiamkan selama 3 hari simpan di tempat yang terlindung dari cahaya. Setelah 3 hari, ekstrak daun binahong disaring dengan menggunakan kain flanel sehingga didapatkan esktrak cair daun binahong kemudian ekstrak diuapkan dengan alat rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental.

3.6.2 Proses pembuatan sediaan *face mist*

Ekstrak binahong yang sudah jadi, dimasukkan kedalam *beaker glass* ditambahkan gliserin dan pvp yang sebelumnya sudah dilarutkan dengan air panas kemudian diaduk hingga homogen. Jika sudah homogen, dimasukkan dalam botol spray 100 ml dan ditambahkan dengan aquadest sampai tanda batas kalibrasi. Menurut Apristasari et al, (2018) sediaan *face mist* dibuat dalam 4 formula dengan konsentrasi zat aktif yang berbeda setiap formulasi.

Tabel 1. 2 Formulasi Face Mist

Bahan	**Fungsi**	**Konsentrasi**				**Acuan**	**Refrensi**
		F1	F2	F3	F4		

Ekstrak binahong	Zat aktif	0	1 %	2 %	3 %	2-6 %	(Wahyuningsih dkk, 2023)
Gliserin	Pelembab	10 %	10 %	10 %	10 %	5-30 %	
PVP	Pengikat	1 %	1 %	1 %	1 %	1-4 %	
Akuades	Basis	Ad 100 ml	Ad 100 ml	Ad 100 ml	Ad 100 ml	Ad 100 ml	

3.6.3 Uji Fisik *Face Mist*

- Uji organeoleptis (SNI 01-2346-2006)

  Uji organeoleptis adalah pengujian yang dilakukan untuk melihat tampilan fisik dengan mengamati warna, bau, dan bentuk sediaan (Apristasari, E., et al, 2018).

- Uji pH

  Uji pH dilakukan agar sediaan memenuhi persyaratan pH kulit yaitu antara pH 4,5-6,5. Uji pH ini dilakukan karena diharapkan sediaan tidak mengakibatkan iritasi pada kulit (Kurniawati dan Nandia, 2019). Uji pH dilakukan dengan menggunakan alat pH meter. Alat pH meter perlu dikalibrasi terlebih dahulu sebelum digunakan dengan menggunakan larutan buffer pH 4, 7, dan 10. Menurut SNI16-4399-1996 pH yang baik untuk sediaan yang diaplikasikan di kulit berkisar antara 4,5-8,0. Jika sediaan memiliki pH terlalu asam maka akan menyebabkan iritasi kulit dan jika terlalu basa akan membuat kulit kering bersisik. Pengukuran pH ini dilakukan sebanyak tiga kali pada setiap formulasi.

- Uji daya sebar semprot (SNI No. 06-2588)

  Uji daya sebar dilakukan dengan menyemprotkan sediaan pada plastik mika dengan jarak 5 cm. Selanjutnya diukur daya sebarnya menggunakan penggaris. Pengujian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah sediaan dapat menyebar dengan baik atau tidak. Daya

semprot yang baik menurut Hayati et.al (2019) yaitu antara 5-7 cm. Uji daya sebar semprot dilakukan sebanyak tiga kali.

- Uji waktu kering

  Uji waktu kering adalah pengujian dengan cara menyemprotkan sediaan pada lengan dan menghitung waktu yang dibutuhkan cairan hingga mengering. Waktu kering yang baik yaitu kurang dari 5 menit, pengujian ini dilakukan sebanyak tiga kali replikasi pada setiap formulasi (Herliningsih dan Anggraini, 2021)

- Uji homogenitas

  Uji homogenitas merupakan uji yang dilakukan untuk melihat adanya bahan yang belum tercampur atau masih menggumpal dan partikel lain yang terdapat dalam sediaan. Uji homogenitas dilakukan dengan meneteskan sampel pada objek gelas kaca dan diamati secara visual. Berdasarkan persyaratan dari SNI 16-4951-1998 sediaan dapat dikatakan homogen jika tidak ada gumpalan dan partikel asing. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pada setiap formula. Sediaan yang disebut homogen jika tidak ada campuran ataupun partikel yang mengendap (Indriasturi, R, 2023)

3.6.4 Uji Aktivitas Antibakteri

- Sterilisasi alat

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

- Pembuatan standar Mc. Farland 0,5

  Pembuatan standar Mc. Farland dilakukan dengan mencampurkan BaCl 1% dan H2So4 1%. Larutan BaCl dituang sekitar 0,05 ml dalam labu ukur 10 ml kemudian ditambah dengan larutan H2So4 sebanyak 9,95 ml atau ditandabataskan hingga garis batas labu ukur 10 ml kemudian dituang pada tabung reaksi.

- Pembuatan suspensi bakteri (Nurhayati L.S dkk, 2020)

Suspensi bakteri dibuat dengan cara mengambil satu ose bakteri dari media pertumbuhan kemudian ditambahkan dengan Nacl 0,9% sebanyak 10 ml (Rizki A.S, 2021) dan dihomogenkan dengan vorteks hingga kekeruhannya memenuhi standar Mc Farland 0,5. Jika suspensi kurang keruh maka ditambahkan dengan koloni tetapi jika lebih keruh maka ditambahkan NaCl 0,9%.

- Uji antibakteri *Face Mist* (Wahyuningsih, E.S dkk, 2023)

  Timbang sebanyak 3,4 gram media MHA lalu dilarutkan dengan 80 ml aquadest. Tuang 20 ml media MHA secara merata pada cawan petri dan biarkan memadat.

  Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan pengujian daya hambat ekstrak daun binahong terhadap bakteri *P.acne*, suspensi bakteri diambil dengan kapas swab steril, kemudian digoreskan pada permukaan media agar hingga semua permukaan media teroleskan suspensi bakteri dengan merata.

  Setelah semua media terolesi dengan suspensi bakteri, kertas cakram yang sudah dicelupkan dalam *face mist* ekstrak binahong dengan perbedaan konsentrasi. Kertas cakram juga direndam pada kontrol positif. Setelah itu kertas diambil dan ditanam dengan pinset steril pada media inokulan. Media diinkubasi pada *Incubator* selama 3x24 jam pada suhu 37°C (Zeniusa P, 2018). Daya hambat ditentukan dengan mengukur diameter zona sekitar cakram.

3.7 Pengolahan, Penyajian dan Analisis Data

3.7.1 Pengolahan data

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

3.7.2 Penyajian Data

Penyajian data dilakukan setelah mendapatkan data yang diperoleh dari pengolahan data kemudian disajikan dalam bentuk tabel. Adapun tabel yang dapat disajikan sebagai berikut:

Tabel 1. 3 Pengolahan Data

No	Kriteria uji	Hasil formulasi				Keterangan
		F0	F1	F2	F3	
1.	Uji organeoleptis					
2.	Uji ph					
3.	Uji daya sebar semprot					
4.	Uji waktu kering					
5.	Uji homogenitas					

Tabel 1. 4 Hasil Uji Antibakteri

No	Konsentrasi ekstrak pada *face mist*	Rata-rata diameter zona hambat	Kekuatan zona hambat
1.	0 %		
2.	1 %		
3.	2 %		
4.	3 %		

3.7.3 Analisis data

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