

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium.

B. Tempat Dan Waktu

Penelitian ini di lakukan pada tanggal 20 Februari 2016 sampai 30 November 2016 di Laboratorium Teknologi Farmasi dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Pengujian viskositas di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Islam Indonesia.

C. Identifikasi Variabel Penelitian Dan Definisi Operasional

1. Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

- 1) Formulasi Gel Antiseptik : variasi konsentrasi minyak atsiri daun cengkeh.
- 2) Uji Daya Hambat : variasi konsentrasi minyak atsiri daun cengkeh dalam sediaan antiseptik.

b. Variabel Terikat

- 1) Formulasi Gel Antiseptik : sifat fisik gel minyak atsiri, uji daya sebar, uji daya lekat, uji viskositas, uji organoleptis, uji homogenitas, dan uji pH.
- 2) Uji Daya Hambat : Diameter zona hambat.

c. Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah minyak atsiri dari palu.

d. Variabel Tak Terkendali

Zat aktif dalam *Eugenia aromatica*.

2. Definisi Operasional

a. Cengkih (*Syzygium aromaticum*, syn. *Eugenia aromaticum*), dalam bahasa Inggris disebut *cloves*, adalah tangkai bunga kering beraroma dari keluarga pohon Myrtaceae.

b. Minyak atsiri adalah kelompok besar minyak nabati yang berwujud cairan kental pada suhu ruang namun mudah menguap sehingga memberikan aroma yang khas.

c. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak.

d. Sifat fisik gel adalah salah satu parameter untuk melihat kualitas sediaan gel. Dalam penelitian ini meliputi organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, dan viskositas.

e. Organoleptis adalah parameter yang diidentifikasi menggunakan panca indra manusia. Dalam penelitian ini meliputi warna dan bau.

f. Homogenitas adalah pengujian mengenai sama tidaknya variansi-variansi dua buah distribusi atau lebih.

- g. pH adalah log negatif dari ion hydrogen dalam larutan yang dinyatakan dalam skala 0-14.
- h. Daya sebar gel adalah kemampuan gel untuk menyebar dipermukaan kulit, dihitung dalam satuan luas (cm²).
- i. Daya lekat gel adalah kemampuan gel dalam durasi waktu tertentu.
- j. Viskositas (kekentalan) adalah parameter tahanan suatu sediaan untuk dapat mengalir

D. Instrumen Penelitian

1. Alat : Timbangan analitik (*Mettler Toledo*®), *aluminium foil*, gelas ukur (*Iwaki pyrex*), gelas piala, *waterbath* (*Memmert*®), pot gel, pH indikator, kaca preparat, mortir , stamper, cawan petri (*Iwaki pyrex*®), pipet tetes, oven, laminar air flow (LAF), autoklaf, sarung tangan, masker, viskometer (*Brookfield DV2T*®), anak timbang (*protinal*®), dan gelas timbang .
2. Bahan : Minyak atsiri daun cengkeh berasal dari palu, *Staphylococcus Aureus FNCC 0047*, CMC-Na (*Brataco*®), Gliserin (*Brataco*®), Propilenglikol (*Brataco*®), Aquades (*Brataco*®), TSA, BHI, Nacl 0.9%, gel antiseptik dipasaran (*Carex*®).

E. Cara Kerja Penelitian

1. Pembuatan Formula Sediaan Gel

Formula basis gel diambil dari Maswadeh et al, 2006 bisa dilihat pada tabel 2. Adapun formulasi gel antiseptik minyak atsiri daun cengkeh yang akan dilakukan bisa dilihat pada tabel 3.

Tabel 2. Formula standar basis gel CMC-Na menurut Maswadeh, *et al* (2006):

| Komponen | %b/v |
|----------------|--------|
| CMC-Na | 5 g |
| Gliserin | 10 g |
| Propilenglikol | 5 g |
| Air ad | 100 ml |

Tabel 3. Formulasi gel antiseptik minyak atsiri daun cengkeh

| Hal | F1 | F2 | F3 | F4 |
|----------------------------------|--------------------|-------------------|---------------------|---------------------|
| Bahan | Konsentrasi 0 % | Konsentrasi 1% | Konsentrasi 10 % | Konsentrasi 20 % |
| Minyak Atsiri Daun Cengkeh | 0 g | 0,3 g | 3 g | 6 g |
| CMC-Na | 1,5 g | 1,5 g | 1,5 g | 1,5 g |
| Gliserin | 3 g | 3 g | 3 g | 3 g |
| Propilen glikol | 1,5 g | 1,5 g | 1,5 g | 1,5 g |
| Air ad | 30 ml | 30 ml | 30 ml | 30 ml |

Cara pembuatan : Semua bahan ditimbang terlebih dahulu sesuai dengan formulasi. Pembuatan gel antiseptik tangan dari minyak atsiri daun cengkeh dengan konsentrasi 1% dilakukan dengan cara CMC-Na sebanyak 1.5 gram dikembangkan di mortir dengan sedikit aquadest panas, kemudian dilakukan pengadukan secara terus menerus sehingga terdispersi sempurna dan terbentuk basis gel. Selanjutnya ditambahkan

gliserin 3 gram, propilenglikol 1.5 gram dan sisa aquadest hingga bobot gel 30 mL dengan terus dilakukan pengadukan hingga terbentuk gel dan ditambahkan minyak konsentrasi 1%. Untuk pembuatan gel dengan konsentrasi 0%, 10% dan 20% dilakukan dengan cara yang sama dengan pembuatan gel antiseptik minyak atsiri daun cengkeh. Setelah itu ketiga formulasi gel disimpan pada tempat yang gelap dan dingin selama 1 malam di lemari es (10-15°C).

2. Uji Sifat Fisik

Formula gel kemudian dilakukan uji organoleptik, uji homogenitas, uji viskositas, uji pH dengan menggunakan stik pH universal, uji daya sebar, dan uji daya lekat.

a. Uji Organoleptik

Uji organoleptis penting mengetahui bentuk, warna dan bau pada sediaan gel minyak atsiri daun cengkeh. Gel biasanya jernih dengan konsisten semi padat.

b. Uji Homogenitas

Uji homogenitas masing-masing gel dioleskan pada tiga buah gelas objek untuk diamati homogenitasnya. Gel dinyatakan homogen apabila tidak ada partikel-partikel kasar pada gel. Pengujian pertama dilakukan pada hari sediaan dibuat, setelah jadi gel langsung di uji homogenitasnya. Pengukuran setiap seminggu sekali selama 4 minggu.

c. Uji Viskositas

Sediaan gel diukur viskositasnya dengan menggunakan viskometer Brookfield DV2T dengan spindle 5. Pengukuran dilakukan 3 kali untuk setiap formula. Pengukuran disimpan setiap seminggu sekali selama 4 minggu.

d. Uji pH

Pengukuran dilakukan dengan mencelupkan kertas pH ke dalam sediaan gel. Pengukuran dilakukan 3 kali untuk setiap formula. Pengukuran setiap seminggu sekali selama 4 minggu.

e. Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan dengan cara mengukur diameter pada kaca berskala. Gel sebanyak 0,5 gram diletakkan di tengah-tengah kaca berskala dan dibiarkan selama satu menit. Diameter daya sebar gel diukur kemudian ditambahkan beban seberat 50 gram sampai 1kg secara bertahap diatas kaca penutup. Pengukuran dilakukan 3 kali untuk setiap formula. Pengukuran setiap seminggu sekali selama 4 minggu.

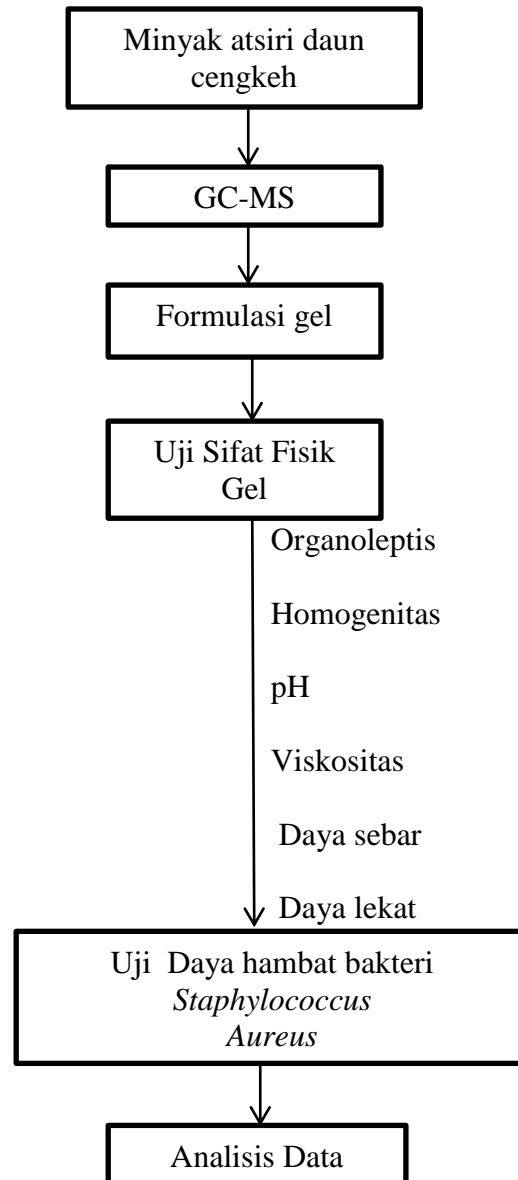
f. Uji Daya Lekat

Sediaan gel sebanyak 0,05 gram diletakkan di antara gelas objek. Kemudian ditekan dengan beban seberat 1 kg selama 5 menit untuk menghilangkan udara dan memberikan lapisan yang seragam pada gel yang berada diantara 2 gelas objek tersebut. Gelas objek dipasang pada alat tes, kemudian dilepaskan beban

seberat 100 g. Waktu yang dibutuhkan oleh gelas objek tersebut untuk memisah dicatat. Pengukuran dilakukan 3 kali setiap formula. Pengukuran setiap seminggu sekali selama 4 minggu.

3. Pengujian Daya Hambat Gel Antiseptika

Pengujian aktivitas antibakteri gel antiseptika terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram dengan cara sebagai berikut : kertas cakram dicelupkan ke dalam formulasi gel konsentrasi 1 %, gel konsentrasi 10 %, gel konsentrasi 20 %, kontrol negatif (basis gel), kontrol positif berupa gel antiseptik yang beredar dipasaran (mengandung bahan aktif alkohol 60%), didiamkan selama \pm 15 menit, diangkat, kemudian diletakkan secara aseptis pada permukaan medium uji yang setengah memadat, jarak antara kertas cakram dari tepi cawan petri sekitar 2-3 cm, medium dibiarkan memadat. Cawan petri diberi label untuk membedakan sampel yang diuji, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian diamati daerah hambatan yang terbentuk.

F. Skema Langkah Kerja**Gambar 8.** Skema langkah kerja

G. Analisis Data

Data hasil uji sifat fisik gel pH, daya sebar, daya lekat, dan viskositas menggunakan One way ANOVA. Membandingkan hasil data zona hambat antara kontrol positif dan formula 3 dan membandingkan formula 1 dan formula 3 menggunakan independent sample t-test.