

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat eksperimen yang bertujuan untuk mengetahui mutu fisik dan aktivitas antibakteri dari minyak gosok sereh wangi (*Cymbopogon nardus L.Rendle*) sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Adapun variabel yang diamati adalah mutu fisik dan antibakteri minyak gosok sereh wangi dalam berbagai konsentrasi formulasi yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Penelitian ini meliputi tahap pertama yaitu determinasi tumbuhan sereh wangi (*Cymbopogon nardus L.Rendle*), sterilisasi alat dan bahan, pembuatan formulasi minyak gosok sereh wangi dan tahap kedua pengujian mutu fisik sediaan minyak gosok sereh wangi dengan uji organoleptis, homogenitas, pH, viskositas dan volume terpindahkan kemudian tahapan ketiga adalah, persiapan bakteri uji, dan pengujian potensi antibakteri dari sediaan formulasi minyak gosok sereh wangi menggunakan metode difusi sumuran dengan cara melihat zona hambat yang dihasilkan berupa zona bening disekitar area lubang sumuran yang sudah diberikan minyak gosok dari sereh wangi yang sudah ditanam pada media MSA, Selanjutnya dilakukan analisa dari hasil percobaan.

3.2 Populasi dan Sampel

3.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah minyak gosok sereh wangi (*Cymbopogon nardus L.Rendle*) yang diperoleh dari bagian batang dan daun tanaman sereh wangi dari Desa. Wirotaman, Kecamatan Ampelgading, Kabupaten Malang.

3.2.2 Sampel

Sebagian minyak gosok sereh wangi yang diambil dari berbagai konsentrasi Formulasi 25 ml, Formulasi 30 ml, Formulasi 50 ml.

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian ini dilakukan di Labotarium Mikrobiologi dan Farmasetika Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang pada bulan Januari – Juni 2019.

3.4 Definisi Operasional Variabel

Variabel bebas : Konsentrasi minyak gosok sereh wangi dari 25-50 ml

Variabel terikat : Pengujian mutu fisik dan uji Aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

Variabel penelitian	Subvariabel	Definisi operasional	Parameter Uji	Alat ukur	Skala ukur	Hasil ukur
Mutu fisik sediaan minyak gosok sereh wangi	1. Organoleptis	Menunjukkan sediaan yang sesuai berdasarkan kriteria bau, warna dan bentuk	Minyak gosok sereh wangi	Panca indera	Visual	Bau, Warna, Bentuk
	2. Homogenitas	Menunjukkan sediaan yang sudah terlarut merata		Objek glass	Visual	Tidak adanya partikel
	3. pH	Menunjukkan sediaan yang sesuai dengan standar tingkat keasaman		pH meter	Nominal	PH kulit normal antara 4,5-6,5
	4. Viskositas	Menunjukkan kekentalan sediaan berdasarkan kriteria		Visko meter Oswald	Nominal	Antara 2,3-6,0 cps
	5. Volume terpindahkan	Menunjukkan bahwa sediaan sesuai dengan volumenya		Gelas ukur	Nominal	>95%
Aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i>	-	Kemampuan suatu zat untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri	Diameter zona bening/ Zona hambat	Jangka Sorong	Visual dan nominal	-

3.5 Formulasi

Tabel 3.2 Formulasi Obat Gosok (Linimentum) Minyak Sereh Wangi dalam 60ml

Komposisi	F1	F2	F3
Minyak Sereh	50 ml	30 ml	25 ml
Mentholum	0,15 g	0,15 g	0,15 g
Methylis salicylas	1,5 g	1,5 g	1,5 g
VCO	Ad 60 ml	Ad 60 ml	Ad 60 ml

Keterangan :

F1 : Konsentrasi minyak sereh wangi 50 ml

F2 : Konsentrasi minyak sereh wangi 30 ml

F3 : Konsentrasi minyak sereh wangi 25 ml

3.5.1 Monografi Bahan

1. Methylis Salicylas (FI III hal 379)

Pemerian : Cairan, tidak berwarna atau kuning pucat, bau khas aromatic, panas dan aromatic

Kelarutan : Sukar larut dalam air, larut dalam etanol 95%,

Khasiat : Sebagai antiiritan dan zat tambahan

Konsentrasi : Dapat menimbulkan iritasi pada konsentrasi 0,5% - 2%

2. Menthol (FI III hal 362)

Pemerian : Hablur berbentuk jarum atau prisma, tidak berwarna, bau tajam seperti minyak permen

Kelarutan : Sukar larut dalam air, sangat mudah larut dalam etanol 95%, mudah larut dalam *paraffin cair P* dan dalam minyak atsiri

Khasiat : Sebagai korigen dan antiiritan

Konsentrasi : Dapat menimbulkan iritasi dengan sensasi rasa dingin pada konsentrasi 1,25% - 16%

3. VCO (FI III hal 456)

Pemerian : Cairan jernih kuning pucat, tidak berwarna atau kuning pucat, tidak tengik

Kelarutan : Larut dalam 2 bagian etanol 95%, sangat mudah larut dalam *kloroform P* atau *eter P*

Khasiat : Zat tambahan

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas Erlenmeyer, mortar dan stamfer, gelas ukur, gelas beker, corong kaca, botol vial, corong pemisah, pipet mikro, pipet tetes, kapas, aluminium foil, bunsen, jarum ose, tabung reaksi, neraca elektronik, cawan petri, jangka sorong, dan alat destilasi uap.

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah batang dan daun sereh wangi yang masih segar yang diperoleh dari Desa Wirotaman, Kecamatan Ampelgading, Kabupaten Malang. Minyak atsiri sereh wangi, menthol, methylis salicylas, Oleum VCO, Mannitol salt agar, natrium klorida (NaCl) dan aquadest.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Materia Medica Kota Batu, Kabupaten Malang

3.7.2 Cara Pembuatan Minyak Gosok

1. Disiapkan alat dan bahan
2. Dibuat Formulasi 1 (Minyak sereh 25 ml), Formulasi 2 (Minyak sereh 30 ml), Formulasi 3 (Minyak sereh 50 ml)
3. Ditimbang menthol 150 mg, dilarutkan dengan sebagian minyak sereh
4. Ditimbang Methylis salicylas 1,5 g, ditambahkan dengan sebagian Minyak sereh
5. Diaddkan dengan VCO ad 60
6. Dicampur semua bahan sampai homogen dan terlarut hingga terbentuk obat gosok

3.8 Evaluasi Minyak gosok

3.8.1 Uji Organoleptis

1. Diamati bentuk sediaan minyak gosok sereh wangi
2. Dicum aroma dari sediaan minyak gosok sereh wangi
3. Diamati warna dari sediaan minyak gosok sereh wangi

3.8.2 Uji viskositas

1. Disiapkan alat viskositas oswold
2. Dimasukkan kedalam alat melalui lubang besar
3. Sedot dengan pipa volume sampai tanda batas atas
4. Lepaskan pipet volume dan tutup lubang viscometer yang besar
5. Disiapkan stopwatch, hidupkan bersamaan dengan lubang viscometer

Yang besar dibuka, hitung dan catat waktu larutan turun dari tanda batas atas hingga tanda batas bawah

3.8.3 Uji pH – pH meter

1. Diambil sedikit sediaan minyak gosok taruh di atas beakerglass
2. Dimasukkan pH meter dalam sediaan dan tunggu beberapa saat
3. Diamati pH meter tersebut, ambil kertas pH meter digital, bandingkan dengan pH kulit
4. Memenuhi syarat jika pH sesuai pH pada kulit yaitu 4,5 – 6,5 dan tidak memenuhi syarat, jika $pH < 4,5$ dan $>6,5$

3.8.4 Uji Homogenitas

1. Diambil beberapa ml sediaan minyak gosok dan taruh dalam wadah
2. Wadah ditutup dan dikocok amati sediaan minyak gosok homogen atau tidak
3. Sediaan yang homogen bebas dari kontaminasi dan pertumbuhan mikroba
4. Tidak adanya partikel dalam minyak gosok

3.8.5 Uji Volume terpindahkan

1. Dituangkan seluruh sediaan minyak gosok dalam gelas ukur

2. Diamati apakah sesuai dengan volume yang diminta atau tidak lihat dan amati volume awal dan volume akhir.

$$Rumus = \frac{vol. awal}{vol. akhir} \times 100\%$$

3.9 Pembuatan media bakteri

3.9.1 Pembuatan media MSA (Mannitol Salt Agar) (Cahyani, 2015)

Prosedur pembuatan media MSA adalah sebagai berikut :

1. Media Mannitol salt agar ditimbang sesuai yang dibutuhkan dengan menyetarakan sesuai etiket
2. Masukkan media ke beaker glass lalu ditambahkan aquadest, aduk kemudian dipanaskan hingga terlarut semua
3. Setelah terlarut, dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml, ditutup dengan kapas kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121⁰C dan tekanan 1 atm selama 15 menit

3.9.2 Sterilisasi (Cahyani, 2015)

1. Alat dan bahan yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri dibungkus dengan kapas dan kertas coklat
2. Dimasukkan dalam autoklaf untuk disterilisasi dengan suhu 121⁰C selama 15 menit

3.9.3 Peremajaan biakan bakteri (Cahyani, 2015)

1. Media MSA cair pada tabung reaksi yang telah disterilkan di autoklaf dimiringkan dan biarkan sampai padat

2. Diinokulasi *Staphylococcus aureus* dari biakan murni kedalam tabung reaksi yang berisi medium MSA padat dengan jarum ose secara zig-zag
3. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam

3.9.4 Pembuatan Suspensi bakteri (Cahyani, 2015)

1. Biakan bakteri yang sudah diremajakan, disuspensi kedalam larutan NaCl 0,9% steril sebanyak 15 ml
2. Fortex kekeruhan bakteri dari suspensi dan diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm pada 25%, sebagai blanko digunakan larutan aquadest
3. Setelah standar kemudian digunakan sebagai uji antibakteri

3.9.5 Pengujian antibakteri (Cahyani, 2015)

1. Digunakan metode pengujian difusi sumuran untuk mengetahui aktivitas antibakteri
2. Dimasukkan suspensi bakteri sebanyak 1 ml kedalam cawan petri
3. Dimasukkan media MSA sebanyak 15 ml kedalam suspensi, kemudian diputar searah membentuk angka delapan, tunggu sampai memadat
4. Dilubangi lempeng agar yang sudah memadat dengan menggunakan alat pelubang diameter 8 mm kemudian dimasukkan sampel sebanyak 20µl
5. Diinkubasi pada suhu 37° C selama 1 x 24 jam
6. Dilakukan replikasi 3 kali
7. Dilakukan pengamatan zona bening menggunakan jangka sorong

3.10 Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan analisis deskriptif dengan melihat apakah minyak gosok sereh wangi memiliki mutu fisik dan aktivitas antibakteri sebagai antibakteri pada bakteri *Staphylococcus aureus*.