

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dapat digolongkan dalam penelitian deskriptif karena hanya mendeskripsikan mutu fisik krim ekstrak krokot (*Portulaca oleracea* L.) dan aktivitas antibakteri krim ekstrak krokot (*Portulaca oleracea* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Rancangan dalam penelitian ini dilakukan dengan tiga tahapan kerja. Tahap pertama merupakan tahap persiapan yang meliputi persiapan alat dan bahan serta pengambilan sampel. Tahap kedua meliputi pembuatan ekstrak, pembuatan formula krim ekstrak krokot dengan replikasi 3x, uji mutu fisik krim kemudian diuji aktivitas antibakterinya dengan metode sumuran. Tahap ketiga merupakan tahap yang meliputi analisis data yang diperoleh berdasarkan hasil penelitian.

3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

3.2.1 Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah krim ekstrak krokot (*Portulaca oleracea* L.).

3.2.2 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagian krim ekstrak krokot (*Portulaca oleracea* L.).

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah Laboratorium Farmakognosi Putra Indonesia Malang dan Laboratorium Mikrobiologi Putra Indonesia Malang. Waktu penelitian dilaksanakan mulai bulan Februari-Juni 2018.

3.4 Definisi Operasional Variabel

Definisi operasional krim dari ekstrak krokot terhadap staphylococcus aureus sebagai berikut :

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Sub variabel	Definisi operasional	Hasil ukur	Alat ukur	Skala ukur
1	Mutu fisik krim ekstrak krokot (<i>Portulaca oleracea</i> L.)	Homogenitas	Pengukuran yang dilakukan untuk mengetahui tercampurnya semua komponen dalam sediaan	Tidak ada partikel-partikel yang masih menggumpal di dalam krim	Visual	Nominal
		Daya sebar	Kemampuan sediaan menyebar pada permukaan kulit	Daya sebar yang baik antara 5-7 cm	Penggaris	Interval
		pH	Pengukuran ion H ⁺ dari suatu sediaan atau larutan	pH 3,5-8,0	pH meter	Interval
		Kestabilan krim	Pengukuran untuk mengetahui kestabilan krim saat penyimpanan	Stabil jika tidak terjadi pemisahan 2 lapisan atau pecahnya emulsi	Sentrifugator	Nominal
2.	Aktivitas antibakteri krim ekstrak krokot terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>		zona bening yang diukur disekitar pertumbuhan bakteri	Tidak adanya pertumbuhan bakteri disekitar krim ekstrak krokot	Jangka sorong	Nominal

3.5 Pengumpulan Data

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan antara lain oven, ayakan, timbangan, mortar dan stamper, botol coklat, evaporator, tabung reaksi, cawan petri, kaca preparat, waterbath, cawan penguap, beaker glass, corong gelas, batang pengaduk, autoklaf, inkubator, laminar air flow, blue tip, erlenmayer.

3.5.2 Bahan

Tanaman krokot, etanol 96%, aquades, asam stearate, nipagin, Trietanolamin, nipasol, adeps lanae, paraffin liquidum, manitol salt agar, NaCl, kertas coklat, kapas.

3.5.3 Pembuatan simplisia herba krokot

1. Herba krokot sebanyak 2 kilogram dibersihkan dan dicuci dengan air mengalir
2. Dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40°C selama 4 hari
3. Herba yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender
4. Kemudian diayak menggunakan ayakan

3.5.4 Ekstraksi herba krokot dengan metode maserasi

1. Ditimbang 250 g serbuk krokot , masukkan serbuk krokot ke dalam botol kaca gelap.
2. Ditambahkan etanol 96% sebanyak 2500 mL ke dalam botol kaca gelap.
3. Maserasi dilakukan selama 3x24 jam dengan sesekali pengadukan.
4. Setelah 3 hari ekstrak disaring dan ditampung
5. Ampas hasil penyaringan di maserasi lagi dengan jumlah pelarut yang sama dan di maserasi 3x24 jam

6. Setelah itu di saring dan hasil tampungan dipekatkan dengan *rotary evaporator*.
7. Hitung rendemen ekstrak.

3.5.5 Pembuatan krim ekstrak krokot

Formulasi yang digunakan pada pembuatan krim dapat dilihat pada tabel 3.2. di bawah ini

Tabel 3.2. Formulasi Sediaan Krim

Nama bahan	Bahan untuk 1x formulasi (100 g)
Ekstrak krokot	15 g
Asam stearate	14,5 g
Adeps lanae	3 g
Paraffin liquidum	5 ml
Trietanolamin	1,5 ml
Nipagin	0,1 g
Nipasol	0,05 g
Aquades	ad 100 g

1. Disiapkan alat dan bahan
2. Ditimbang semua bahan asam stearate, adeps lanae, paraffin liquidum, trietanolamin, nipagin dan nipasol
3. Dimasukkan asam stearate, adeps lanae dan paraffin liquidum ke dalam cawan penguap dan dipanaskan diatas penangas air.
4. Dimasukkan trietanolamin dan aquades ke dalam cawan penguap dan dipanaskan diatas penangas air.
5. Dimasukkan fase air secara perlahan-lahan ke dalam fase minyak kemudian tambahkan nipagin dan nipasol aduk terus sampai homogen.
6. Masukkan ekstrak krokot ke dalam campuran tadi dan aduk sampai homogen.(Wijaya,2014)

3.5.6 Uji mutu fisik krim ekstrak krokot

3.5.6.1 Uji organoleptis

1. Dilakukan pengamatan terhadap warna krim ekstrak krokot
2. Dilakukan pengamatan terhadap bau krim ekstrak krokot
3. Dilakukan pengamatan terhadap bentuk krim ekstrak krokot

3.5.6.2 Uji homogenitas

1. Krim ditimbang sebanyak 1 gram
2. Dioleskan pada plat kaca, lalu digosok dan diraba
3. Bila homogen maka massa krim tidak tersisa bahan padatnya (Wibowo 2017)

3.5.6.3 Uji pH

1. Ditimbang krim sebanyak 1 gram
2. Diencerkan dengan 10 mL aquades
3. Diukur pH krim dengan pH meter (Murrukmihadi, 2012)

3.5.6.4 Uji daya sebar

1. Ditimbang krim ekstrak krokot (*Portulaca Oleracea*) sebanyak 0,5 gram
2. Diletakkan ditengah cawan petri yang terbalik
3. Cawan petri yang lain di letakkan diatas krim ekstrak krokot (*Portulaca Oleracea*) dan dibiarkan selama 1 menit
4. Diukur diameter krim yang menyebar dengan penggaris
5. Diulang dengan penambahan beban 50 gram tiap 1 menit hingga krim tidak menyebar lagi, pengamatan daya sebar dilakukan sebanyak 3 kali.

3.5.6.5 Uji kestabilan krim

1. Dimasukkan sediaan krim sebanyak 10 gram ke dalam tabung sentrifuge
2. Dimasukkan tabung yang sudah berisi krim ke dalam alat sentrifuge
3. Diputar pada kecepatan 3750 rpm selama 5 jam dalam alat sentrifuge
4. Diamati perubahan fisik pada sediaan krim

3.5.7 Uji antibakteri krim ekstrak krokot terhadap staphylococcus aureus

3.5.7.1 Pembuatan media manitol salt agar

1. Ditimbang media manitol salt agar dimasukkan ke dalam erlenmayer dilarutkan dalam aquades
2. Diaduk sambil dipanaskan hingga terlarut semua di atas pembakar spirtus
3. Setelah terlarut semua, tutup dengan kapas kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit

3.5.7.2 Sterilisasi alat

1. Alat seperti cawan petri, pipet tetes dan batang pengaduk, dibungkus dengan menggunakan kertas coklat kemudian dimasukkan dalam oven untuk disterilisasi dengan suhu 180°C selama 2 jam
2. Alat seperti blue tip, alat sumuran dibungkus dengan kertas coklat kemudian dimasukkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit

3.5.7.3 Pembiakan murni bakteri *S.aureus*

1. Disiapkan media MSA (*Manitol Salt Agar*) steril.
2. Dimasukkan ke tabung reaksi sebanyak 5 mL secara aseptis ditutup mulut tabung dengan kapas.
3. Disterilisasikan menggunakan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit.

4. Dikeluarkan tabung reaksi yang berisi media MSA (*Manitol Salt Agar* dari autoklaf.
5. Dimiringkan tabung reaksi berisi media MSA (*Manitol Salt Agar* dan dibiarkan sampai memadat.
6. Diinokulasi biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* secara aseptis ke dalam media MSA (*Manitol Salt Agar* steril yang telah memadat.
7. Diinkubasi media miring MSA (*Manitol Salt Agar* steril yang telah memadat didalam inkubator pada suhu 37⁰C selama 24 jam.
8. Disiapkan larutan NaCl 0,9% sebanyak 25mL pada labu ukur untuk mensuspensikan *Staphylococcus aureus*.
9. Serapan suspensi *Staphylococcus aureus* diukur dengan spektrofotometer, sinar tampak pada panjang gelombang 580 nm, diatur sedemikian rupa sehingga pengenceran tertentu diperoleh transmitan 25% terhadap larutan NaCl 0,9% sebagai blangko.

3.5.7.4 Pembuatan Media control

1. Sebanyak 15 ml media MSA yang sudah disterilkan dituang ke dalam cawan petri
2. Dibungkus dengan kertas coklat dan di inkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C.

3.5.7.5 Pembuatan Kontrol bakteri

1. Sebanyak 15 ml media MSA yang sudah disterilkan dituangkan ke dalam cawan petri
2. Dicampur dengan suspense bakteri sebanyak 0,1 ml dengan menggunakan mikro pipet

3. Dibungkus dengan kertas coklat dan di inkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C.

3.5.7.6 Pengujian aktivitas antibakteri krim ekstrak krokot terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

1. Dipipet 0,1 ml bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah disuspensikan dan dimasukkan ke dalam cawan petri
2. Dituangkan media pertumbuhan ke dalam cawan petri sebanyak 15 ml dan dihomogenkan dengan bakteri. Tunggu hingga memadat
3. Dibuat sumuran pada media agar yang telah dipadatkan dengan menggunakan alat sumuran
4. Dimasukkan krim ekstrak krokot ke dalam lubang sumuran. Perlakuan diulang sebanyak 3x untuk masing-masing krim yang dibuat.
5. Cawan di inkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C
6. Setelah di inkubasi, zona hambatan yang terbentuk di amati dan di ukur (Syahidah,2014)

3.6 Analisis Data

Dalam penelitian ini analisa data yang digunakan untuk mengetahui aktivitas krim ekstrak krokot (*Portulaca oleracea* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yakni menggunakan uji standar deviasi dan koefisien variasi SDKV, dengan rumus sebagai berikut :

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$KV = \frac{SD}{x} \times 100\%$$

Keterangan

SD : Standar Deviasi

KV : Koefisien Variasi

X_i : Nilai replikasi

\bar{x} : Rata-rata

n : Banyaknya replikasi