

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah jenis penelitian eksperimen semu

B. Tempat dan waktu penelitian

1. Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Farmasi Bahan alam, Laboratorium Farmasetika, Laboratorium Kimia, Prodi D III Farmasi Kemenkes Poltekkes Kupang dan Laboratorium Mikrobiologi Falkutas MIPA Universitas Katolik Widya Mandira Kupang

2. Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan bulan Februari sampai bulan Mei 2025.

C. Objek Penelitian

Objek Penelitian yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan detergen cair cuci piring sari dan ekstrak etanol kulit buah Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L) dengan konsentrasi sari 30% dan detergen ekstrak 5%

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Konsentrasi detergen cair cuci piring 5% ekstrak dan 30% sari kulit buah pisang kepok (*Musa paradisiaca* L)

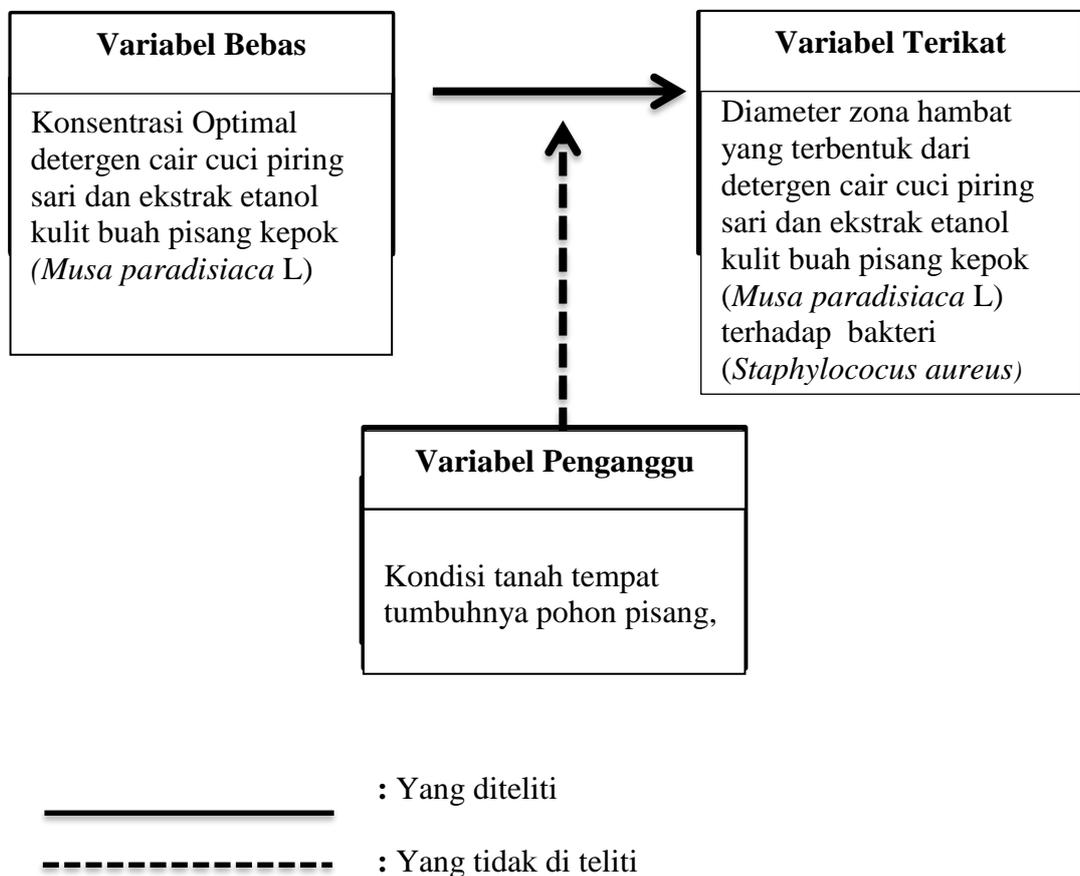
2. Variabel terikat

Variabel terikat dari penelitian ini yaitu diameter zona hambat yang terbentuk dari detergen cair cuci piring sari dan ekstrak etanol kulit buah pisang kepok terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

3. Variabel pengganggu

Variabel pengganggu merupakan variabel yang mengganggu pengaruh atau hubungan variabel bebas dengan variabel terikat. Kondisi tanah tempat tumbuhnya pohon pisang kepok, suhu inkubasi bakteri, dan waktu inkubasi bakteri

E. Kerangka Konsep



Gambar 3. Kerangka Konsep Penelitian

F. Defenisi Operasional

Tabel 1. Defenisi Operasional

No	Variabel	Defenisi Operasional	Skala
1	Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	Bakteri yang sudah di inkubasi untuk menguji aktivitas daya hambatnya menggunakan kulit buah pisang kapok (<i>Musa paradisiaca L</i>) yang telah di formulasikan menjadi detergen cair cuci piring	Ordinal
2	Kulit buah pisang kapok	Kulit buah pisang kapok yang sudah masak, yang diambil di kelurahan Oesao lalu di serbukan menjadi simplisia	Ordinal
3	Sari	Kulit buah pisang kapok yang di potong kecil-kecil, lalu di haluskan menggunakan belender selanjutnya disaring untuk di ambil filtratnya	Rasio
4	Ekstrak	Kulit buah pisang kapok yang dimaserasi menggunakan etanol 96% lalu dipekatkan di evaporator untuk memperoleh ekstrak kental.	Rasio
5	Detergen cair cuci piring	yang dihasilkan dari formulasi sari dan ekstrak kulit buah pisang kapok (<i>Musa paradisiaca L</i>)	Ordinal
6	Aktivitas anti bakteri	Kemampuan detergen cair cuci piring sari dan ekstrak etanol kulit daun pisang kapok (<i>Musa paradisiaca L</i>) dalam menghambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> yang ditunjukan dengan adanya zona bening	Ordinal
7	Metode difusi sumuran	digunakan untuk penanaman bakteri agar dapat melihat diameter zona hambat yang ditandai adanya zona bening yang terbentuk disekitar lubang sumuran	Rasio
8	Zona inhibisi perlakuan	Zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran, jika zat antimikroba tersebut efektif menghambat pertumbuhan mikroorganisme	Rasio

(Sumber : Data primer penelitian, 2025)

G. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah beaker gelas (*pyrex*, *iwaki*, dan *schott duran*) gelas ukur (*pyrex*), rotary evaporator (*Eyela tipe N 1000*), bejana maserasi, waterbath (*memmerth*), pipet tetes, blender, batang pengaduk (*pyrex*), cawan porselin, kertas perkamen, kertas saring, tissue, aluminium foil, rak tabung, tabung reaksi (*pyrex*), ayakan no 60 mesh, botol sabun, cawan petri, autoklaf, erlenmeyer (*pyrex*, *iwaki*), inkubator, magnetic stirrer, Laminar Air Flow (LAF), kawat ose, spider, pembakar bunsen, handscoon, masker, blue tips, cork borrar 5 mm, jangka sorong, mikropipet, vortex mixer, batang pengaduk, hot plate, kompor listrik, colony counter, botol culture bakteri, sikat tabung.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah detergen sari, detergen ekstrak, aquades (*Waterone*), nutrient agar (*Granu Cult*), nutrient both (*Granu Cult*), isolat bakteri *Staphylococcus aureus* (*ATCC 6538*), etanol 96% (*JK care*), alkohol 70% (*OnemedI*), kertas coklat pembungkus, label, sabun cuci piring yang beredar di pasaran.

H. Prosedur Penelitian

1. Pengambilan Bahan

Kulit buah pisang kepok diambil dari Kelurahan Oesao, Kabupaten Kupang Timur, Nusa Tenggara Timur.

2. Pembuatan Sari

- a. Kulit buah pisang kepok pertama-tama dicuci dan dipotong kecil-kecil agar mempermudah penghalusan.
- b. Kulit buah pisang kepok yang sudah bersih dan sudah dipotong-potong, kemudian ditambah 100 mL air lalu digiling/ dihaluskan menggunakan blender.
- c. Kulit pisang kapok yang sudah dihaluskan, selanjutnya diperas dan disaring untuk diambil filtratnya (Darajat *et al.*, 2023).

3. Pembuatan Simplisia kulit buah pisang kepok

Kulit buah pisang kepok yang sudah dipisahkan dengan isi buahnya kemudian dilakukan sortasi basah untuk memisahkan bahan asing dan pengotor kulit buah pisang, kemudian dicuci menggunakan air mengalir, setelah dicuci kemudian diangin-anginkan, kemudian dilakukan sortasi kering, dengan cara memisahkan partikel-partikel asing, kulit yang berjamur dan berbagai kerusakan lainnya. Selanjutnya akan dilakukan penghalusan menggunakan blender menjadi serbuk (Marce, 2019).

4. Maserasi dan pembuatan ekstrak kulit buah pisang kepok

Ekstraksi kulit buah pisang kepok dilakukan dengan menggunakan ekstraksi cara dingin yaitu maserasi dengan perbandingan 1:10 (b/v) yaitu 1 adalah sampel dan 10 adalah pelarut (Narrinda *et al.*, 2024). Sebanyak 550 gram serbuk simplisia ditimbang kemudian dimaserasi menggunakan etanol 96% sebanyak 5,5 liter di dalam wadah yang tertutup rapat. Perendaman simplisia dilakukan disuhu kamar dengan sesekali di aduk

selama 5 hari untuk memastikan senyawa telah ditarik secara sempurna. Setelah 5 hari dimaserasi selanjutnya disaring untuk memperoleh filtratnya, ampas dari penyaringan pertama kemudian direndam kembali (remaserasi) menggunakan 2 liter etanol 96 % selama 3 hari tahap selanjutnya filtrat yang sudah di ambil, di lakukan pemekatan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C untuk menghilangkan sisa pelarut yang masih ada dalam filtrat. Setelah itu sampel hasil evaporasi dipindahkan dalam cawan porselen untuk dilakukan penguapan. Tahap ini dilakukan dengan cara sampel diuapkan di atas *waterbath* pada suhu 60°C hingga di peroleh ekstrak yang kental. Setelah itu, sampel yang sudah kental dikeluarkan dari cawan porselen dan dipindahkan pada wadah yang disiapkan khusus untuk ekstrak.

5. Perhitungan Rendemen

Rendemen, adalah nilai yang dinyatakan dalam persentase dimana menggambarkan perbandingan antara jumlah ekstrak yang diperoleh dengan jumlah bahan awal yang digunakan. Semakin tinggi nilai rendemen, semakin banyak ekstrak yang dihasilkan. Besarnya rendemen ekstrak dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya adalah metode ekstraksi yang digunakan (Jubaidah *et al.*, 2024).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang di dapat}}{\text{Berat simplisia yang diekstrak}} \times 100\%$$

6. Uji bebas etanol

Sebanyak 1 mL ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan masing-masing 2 tetes asam sulfat (H₂SO₄) dan

asam asetat. Campuran tersebut dipanaskan. Ekstrak dinyatakan tidak mengandung etanol apabila tidak tercium aroma khas ester dari etanol (Tivani & Perwitasari, 2021).

7. Skrining fitokimia

a. Flavoniod

Sebanyak 2 ml filtrat sari dan 500 mg ekstrak kulit buah pisang kepok dimasukkan ke tabung reaksi. Kemudian pada sampel ditambahkan HCL 2N sebanyak 2 tetes dan 0,2 g bubuk Mg ke dalam tabung reaksi di panaskan selama

3 menit lalu disaring untuk melihat warna dari hasil uji. Kandungan flavonoid positif ditandai dengan munculnya kuning jingga hingga warna merah tua (Khafid *et al.*, 2023).

b. Saponin

Sebanyak 2 ml larutan sari dan 500 mg ekstrak kulit buah pisang kepok dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml akuades dan dipanaskan diatas hotplate selama 30 menit kemudian didinginkan dan dikocok kuat hingga terbentuk busa stabil. Setelah itu, tambahkan satu tetes HCl melalui dinding tabung reaksi. Jika busa tetap bertahan setelah penambahan HCl, maka sampel positif mengandung saponin (Khafid *et al.*, 2023).

8. Formulasi sari dan ekstrak

Tabel 2. Formulasi detergen cair cuci piring sari dan ekstrak

Formula	Sari	Ekstrak	Fungsi Bahan
Kulit pisang kapok	30 %	5 %	Zat aktif
Hydroxy ethyl cellulose	0,21 g	0,21 g	Pengental
Texapon	10 g	10 g	Penghasil busa
Natrium Klorida	2,1 g	2,1 g	Pengental
Asam sitrat	0,3 g	0,3 g	Pengangkat lemak
Sari jeruk nipis	1 ml	-	Pengaroma
Sari daun pandan	2 Tetes	-	Pewangi
Aquades	Ad 100 mL	Ad 100 mL	Pelarut

(Sumber : modifikasi dari (Rustini *et al.*, 2023))

9. Pembuatan detergen sari

- Siapkan bahan antara lain sari kulit buah pisang kepok, Hydroxy ethyl cellulose, exapon, NaCl, asam sitrat, sari jeruk nipis, sari daun pandan, dan aquadest
- Ditimbang semua bahan yang akan digunakan sesuai dengan Formulasi
- Texapon, NaCl, hydroxy ethyl cellulose, dan diisi air sebanyak 20mL dicampur hingga homogen (campuran 1)
- Larutkan asam sitrat dalam aquadets 50mL campur hingga homogen (campuran 2)
- Masukan campuran 1 kedalam campuran 2 diaduk hingga homogen
- Sari kulit buah pisang kepok formula 30% dan 35% ditambahkan dalam masing-masing campuran, sambil diaduk hingga homogen
- Sari jeruk nipis sebagai pengaroma ditambahkan secukupnya dalam campuran

- h. Sari daun pandan sebagai pewarna ditambahkan secukupnya dalam campuran aduk hingga homogen
- i. Campuran akhir dicukupkan volumenya dengan aquadest hingga 100 mL (Rezaldi *et al.*, 2023).

10. Pembuatan Detergen cair cuci piring ekstrak

- a. alat dan bahan untuk penelitian, Selanjutnya dilakukan penimbangan setiap bahan sesuai jumlah yang dibutuhkan.
- b. Texapon, NaCl dan HEC dalam wadah pencampuran dan ditambahkan aquades sebanyak yang dibutuhkan, diaduk sampai semua bahan tercampur sempurna (campuran 1).
- c. Asam sitrat dilarutkan dengan aquades dalam satu wadah dan dicampur ad homogen (campuran 2).
- d. Campuran 1 dan campuran 2 yang masing-masing sudah jadi digabungkan menjadi satu kemudian dicampur ad homogen.
- e. Setelah campuran 1 dan 2 sudah dipastikan homogen selanjutnya ditambahkan ekstrak kulit buah pisang kepok sebagai zat aktif dengan konsentrasi 5 % dan 7,5 % di aduk kuat hingga homogen (Rezaldi *et al.*, 2023)

11. Uji aktivitas anti bakteri

- a. Pembuatan Media Nutrien Agar (NA) dan Nutrien Both (NB)

Pembuatan media dilakukan dengan menimbang NA sebanyak 3,6 gram kemudian dilarutkan dengan 180 ml aquades dalam erlenmeyer

250 ml. kemudian dipanaskan sambil di aduk ad homogen, NA diturunkan dari penangas apabila sudah mendidih (Hamriani, 2020).

Sebanyak 0,12 gram Nutrien Both (NB) di timbang kemudian dilarutkan dengan 15 ml aquades dalam erlenmeyerbotol 100 ml di aduk hingga homogen. Larutan NB digunakan untuk pembuatan media cair untuk peremajaan bakteri uji. selanjutnya 5 ml larutan NB dituangkan dalam botol culture bakteri (Hamriani, 2020).

b. Sterilisasi alat, bahan, dan media

Sterilisasi dilakukan pertama dengan mencuci semua alat-alat yang akan digunakan dalam pengujian samapai bersih, kemudian di bungkus dengan kertas sampul coklat. Semua alat, bahan dan media di sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C dalam waktu 15 menit. Untuk bahan yang terbuat dari karet dan plastik di sterilisasi menggunakan alkohol 70% dengan cara direndam, sedangkan kawat ose di pijarkan di atas api Bunsen (Ririn, 2021).

c. Peremajaan Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang berasal dari biakan murninya diambil sebanyak 1 ose kemudian diinokulasi dengan cara dimasukan dalam media NB selanjutnya diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 °C (Hamriani, 2020).

d. Pembuatan media pengujian dan pengujian antibakteri

Media ini dibuat menggunakan metode difusi sumuran dengan cara menuangkan larutan Nutrient Agar (NA) sebanyak 20 ml ke dalam 9

cawan petri, kemudian di biarkan sampai memadat (Hamriani, 2020). Setelah NA memadat, campurkan suspense bakteri yang sudah diinokulasi kedalam media pembedihan sebanyak (100 mikroliter atau 0,1 ml). Kemudian suspense bakteri diratakan dengan menggunakan *stick spread* pada masing-masing cawan petri. 3 cawan petri masing-masing dibuat 2 lubang sumuran menggunakan *cork borer* 5mm untuk di uji control negatif (Basis sabun) dan control positifnya (Sabun merek X yang beredar di pasaran), dan 6 cawan lainnya dibuat masing-masing 1 lubang untuk menguji sediaan detergen cair cuci piring sari dengan konsentrasi 30 % dan ekstrak dengan konsentrasi 5 %. Detergen diambil masing-masing sebanyak 100 mikroliter kemudian diteteskan kedalam lubang sumuran, selanjutnya akan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah diinkubasi selama 24 jam, dilakukan pengamatan dengan melihat zona bening yang terbentuk pada lubang sumuran dan mengukur diameter zona hambat disekeliling sumuran menggunakan jangka sorong (Purnama *et al.*, 2023).

e. Perhitungan diameter zona hambat

$$\text{Rumus : } D = \frac{d1 + d2}{2} - X$$

Keterangan :

D1 = diameter vertikal zona bening pada media

D2 = diameter horizontal zona bening pada media

X = Lubang sumuran

I. Analisis Data

Hasil dari pengujian aktivitas antibakteri, pembacaan daerah hambat dilakukan dengan mengukur diameter total zona bening yang mengelilingi sumuran dengan menggunakan jangka sorong. Uji aktivitas anti bakteri yang baik ditandai dengan diameter daerah zona hambat yang terbentuk (Tivani & Perwitasari, 2021).

Analisis statistik Detergen Cair Cuci Piring Sari Dan Ekstrak Etanol Kulit Buah Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L) dilakukan uji normalitas data.

1. Jika nilai Sig. (P value) $< (0,05)$ maka data tersebut tidak terdistribusi normal.
2. Jika nilai Sig. (P value) $> (0,05)$ maka data tersebut terdistribusi normal.

Uji homogenitas dilakukan untuk melihat apakah sampel-sampel data-data memiliki varian yang sama atau data homogen. Interpretasi uji homogenitas varian:

1. Jika nilai Sig. Based on Mean $< (0,05)$ maka dikatakan bahwa varians data tidak homogen (uji homogenitas tidak terpenuhi).
2. Jika nilai Sig. Based on Mean $> (0,05)$ maka dikatakan bahwa varians data homogen (uji homogenitas terpenuhi).

Apabila data terdistribusi normal dan variannya homogen maka dilanjutkan dengan analisis dengan uji One Way Anova (Anova satu arah) dengan interpretasi uji:

1. Jika nilai Sig. (P value) $< (0,05)$ maka berkesimpulan ada perbedaan signifikan.

2. Jika nilai Sig. (P value) $> (0,05)$ maka berkesimpulan tidak ada perbedaan secara signifikan.

Apabila dari hasil uji ANOVA ditemukan bahwa terdapat perbedaan secara signifikan maka dilanjutkan dengan Post Hoc test (Bonferroni test) dengan interpretasi uji:

1. Jika nilai Sig. (P value) $< (0,05)$ maka berkesimpulan ada perbedaan secara nyata.
2. Jika nilai Sig. $> (0,05)$ maka berkesimpulan tidak ada perbedaan secara nyata.