# **BAB III****METODE PENELITIAN**

1.

## **Rancangan Penelitian**

Metode penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental. Rancangan penelitian meliputi pengumpulan, pengolahan, karakteristik simplisia bunga kecombrang, skrining fitokimia, ekstrak etanol bunga kecombrang, formulasi serum, evaluasi sediaan serta aktivitas antibakteri *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis.*

### **Variabel Penelitian**

Penelitian ini terdapat dua variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini adalah kosentrasi ekstrak etanol bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) dalam sediaan serum. Variabel terikat pada penelitian ini adalah skrining fitokimia, karakterisasi simplisia, evaluasi sediaan, karakteristik serum serta uji aktivitas antibakte*ri Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis.*

* + 1. Parameter Penelitian

Parameter penelitian meliputi uji karakteristik yang terdiri dari Makroskopik, Mikroskopik, ketetapan kadar air, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar, penetapan kadar sari larut dalam air, Penetapan kadar sari larut dalam etanol. Uji skiring fitokimia mengidentifikasi senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid/triterpenoid dan glikosida. Pengujian evaluasi sediaan meliputi uji organolepstis, uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar, uji daya lekat, serta uji stabilitas, serta pengamatan zona hambat pada ekstrak dan sediaan serum ekstrak etanol bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) terhadap antibakteri *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis.*

## **Jadwal dan Lokasi Penelitian**

### **Jadwal Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai Desember 2024.

### **Lokasi Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penelitian Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah Medan.

## **Bahan dan Peralatan**

### **Bahan Penelitian**

Bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm), etanol 96%, aquadest, twen 80, TEA, gliserin, metil paraben, propil paraben, etanol 70%, viscolam asam klorida pekat, besi (III) klorida, Kalium lodida, bismut (II) nitrat, raksa (III) klorida, asam asetat anhidrida, asam asetat glasial, Klorofom, Toluene, Kloral hidrat, asam sulfat pekat, Larutan Standard MC. Farland 0,5, Natrium Hidroksida 2N, Serbuk Magnesium, Nacl 0,9%, Larutan DMSO 1%, kertas cakram, Media *Mueller Hinton Agar* (MHA) Merck*, Nutrient Agar* (NA) Merck, Biakan bakteri *P. acnes*, *S. aureus* dan *S. epidermidis,* antibiotik clindamycin, serum garnier.

### **Peralatan Penelitian**

Peralatan yang digunakan dalam peneliian ini adalah alat-alat gelas (gelas ukur, erlenmeyer, pipet ukur, beaker gelas), lumpang dan stamfer, batang pengaduk, kaca obyek*,* timbangan analitik, lemari pengering**,** blender, pH meter, *stopwatch*, jangka sorong, *rotary evaporator*, Autoklaf, Oven, Kulkas, Tabung reaksi, Mikroskop, Hot Plate, Inkubator, Lampu bunsen, Alumunium foil, Kertas saring, Cawan penguap, Cawan krus, Cawan petri Penangas air.

## **Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data**

### **Pengambilan Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) diambil secara *purposive sampling* yaitu sampel diambil pada satu tempat atau satu daerah saja tanpa membandingkan dengan daerah lain. Sampel penelitian diperoleh dari kebun Bapak Tarigan Desa Pil-Pil Sibolangit Kabupaten Deli Serdang Sumatera Utara.

### **Identifkasi Tumbuhan**

Identifikasi tumbuhan bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) di *Herbarium Medanense* (MEDA) Universitas Sumatera Utara Medan.

## **Pembuatan Larutan Pereaksi**

### **Larutan Pereaksi HCL 2N**

 Sebanyak 17 ml asam klorida pekat dimasukkan dalam beker gelas diencerkan dengan akuades sampai 100 ml (Depkes RI, 1979).

### **Larutan Pereaksi FeCL 1%**

Sebanyak 1 g besi (III) klorida dilarutkan dengan akuades hingga 100 ml (Depkes RI, 1979).

### **Larutan Pereaksi Bouchardat**

 Sebanyak 4 g Kalium lodida dilarutkan dalam akuades secukupnya lalu ditambahkan 2 g Iodium, dicukupkan dengan akuadest hingga 100 ml (Depkes RI, 1979).

### **Larutan Pereaksi Dragendorff**

 Sebanyak 8 g bismut (II) nitrat ditimbang, kemudian dilarutkan dalam 20 mL asam nitrat pekat. Pada wadah lain ditimbang sebanyak 27,2 g kalium iodida lalu dilarutkan dalam 50 mL air suling. Kemudian kedua larutan dicampurkan dan didiamkan sampai memisah sempurna. Larutan yang jernih diambil dan diencerkan dengan air suling hingga 100 mL (Depkes RI, 1979).

### **Larutan Pereaksi Mayer**

Sebanyak 1.36 g raksa (III) klorida dilarutkan dalam 60 ml aquades. Pada wadah lain dilarutkan 5 g kalium iodida dalam 10 ml aquades. Kedua larutan dicampurkan lalu diencerkan dengan akuades hingga 100 ml (Depkes RI, 1989).

### **Larutan Pereaksi Liebarman-Burchard**

 Sebanyak 20 bagian asam asetat anhidrida dicampurkan dengan 1 bagian asam sulfat pekat dan 50 bagian kloroform. Larutan pereaksi harus dibuat baru (Harborne, 1987).

### **Larutan Pereaksi Molish**

 Sebanyak 3 g alpa-naftol P, dilarutkan dalam asam nitrat 0.5 N hingga diperoleh larutan 100 ml (Depkes RI, 1979).

### **Larutan Pereaksi Asam Sulfat 2N**

Sebanyak 18 ml asam sulfat pekat diencerkan dengann akuades lalu dicukupkan sampai 100 ml (Depkes RI, 1995).

* 1.
	2. 1.
		2.
		3.
		4.
		5.
		6.
		7.
		8.

## **Pembuatan Simplisia**

Pembuatan simplisia dilakukan dengan cara bagian bunga kecombrang yang telah dikumpulkan dan masih segar, dibersihkan dari zat pengotor yang menempel, lalu dicuci dengan air mengalir sampai bersih setelah itu ditiriskan dan di timbang. Setelah itu bunga kecombrang dirajang menjadi bagian yang lebih kecil, lalu dikeringkan di dalam lemari pengering dengan suhu 40-50˚C selama 5 hari sampai simplisia menjadi kering. Simplisia kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk simplisia dan di ayak, dan ditimbang lalu disimpan dalam wadah plastik yang tertutup rapat (Depkes RI, 1985).

## **Karakterisasi Simplisia**

### **Makroskopik**

Pemeriksaan makroskopik dilakukan terhadap simplisia bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) dengan cara memperhatikan warna, bentuk, bau dan ukurannya.

### **Mikroskopik**

Pemeriksaan mikroskopik dilakukan terhadap serbuk simplisia bunga kecombrang (*Etlingera elatior (Jack)* R.M.Sm) dengan cara sampel serbuk simplisia bunga kecombrang diletakkan diatas kaca objek, dan ditetesi dengan kloralhidrat ditutup dengan *cover glass*, lakukan viksasi sampai jernih kemudian diamati di bawah mikroskop (Depkes RI, 1979).

### **Penetapan Kadar Air Pada Simplisia**

Penetapan kadar air dilakukan dengan metode azeotropi. Alat terdiri dari labu alas bulat 500 ml alat penampung dan pendingin, tabung penyambung dan penerima 10 ml.

1. **Penjenuhan Toluene**

Sebanyak 200 ml toluene dan 2 ml air suling dimasukkan ke dalam labu alas bulat, dipasang alat penampung dan pendingin, kemudian di destilasi selama 2 jam. Destilasi dihentikan dibiarkan dingin selama 30 menit, kemudian volume air didalam tabung penerima dibaca dengan ketelitian 0,05 ml.

1. **Penetapan Kadar Air Simplisia**

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia yang telah ditimbang seksama dimasukkan ke dalam labu yang berisi toluene jenuh tersebut, lalu dipanaskan hati-hati selama 15 menit. Setelah toluene mendidih, kecepatan tetesan diatur 2 tetes tiap detik samapi sebagian air terdestilasi, kemudian kecepatan destilasi dinaikkan sampai 4 tetes tiap detik. Setelah semua air tersdestilasi selama 5 menit, kemudian tabung penerima dibiarkan mendidih pada suhu kamar. Setelah air dan toluene memisah sempurna, volume air dibaca dengan ketelitian 0,05 ml. selisih kedua volume air dibaca sesuai dengan kandungan air yang terdapat dalam bahan yang diperiksa. Kadar air dihitung dalam persen (v/b) (Depkes RI, 1995).

Rumus perhitungan Penetapan Kadar air:

$$\% Kadar air =\frac{Volume air akhir-Volume air awal}{Berat sampel} x 100\%$$

### **Penetapan Kadar Sari Yang Larut Dalam Air**

Sebanyak 5 g serbuk simplisia yang telah dikeringkan dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml air-kloroform (2,5 ml kloroform dalam air 1 liter) menggunakan labu tersumbat sambil sesekali dikocok selama 6 jam pertama kemudian dibiarkan selama 18 jam. Saring 20 ml filtrate hingga kering dalam cawan dangkal berdasarkan rata yang telah ditara dan dipanaskan pada suhu 105° C sampai bobot tetap. Kadar sari yang larut dalam air dihitung dalam persen terhadap bahan yang dikeringkan (Depkes RI, 1995).

Rumus Perhitungan Penetapan Kadar Sari Larut dalam air:

$$\% Kadar sari larut air =\frac{\left(berat cawan berisi-berat cawan kosong\right)x pengenceran}{Berat sampel} x 100\%$$

### **Penetapan Kadar Sari Larut Dalam Etanol**

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia yang telah dikeringkan dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml etanol 96% menggunakan labu tersumbat sambil sesekali dikocok selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam. Saring uapkan 20 ml filtrat hingga kering dalam cawan berdasar rata yang telah ditara dan dipanaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap. Kadar sari yang larut dalam etanol dihitung dalam persen terhadap bahan yang telah dikeringkan (Depkes RI, 1995).

Rumus Penetapan Kadar Sari Larut dalam Etanol:

$$\% Kadar sari larut etanol=\frac{\left(berat cawan berisi-berat cawan kosong\right) x pengenceran}{Berat sampel} x 100\%$$

### **Penetapan Kadar Abu Total**

Sebanyak 2 g serbuk simplisia yang telah dikeringkan digerus dan ditimbang seksama dimasukkan dalam krus porselin yang telah dipijar dan ditara, kemudian diratakan. Krus dipijar perlahan-lahan sampai arang abis, kemudian didinginkan san ditimbang sampai diperoleh bobot tetap kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikering (Depkes RI, 1995).

Rumus Penetapan Kadar Abu Total :

$$\% Kadar abu total=\frac{\left(berat krus berisi-berat krus kosong\right)}{Berat sampel} x 100\%$$

### **Penetapan Kadar Abu Yang Tidak Larut Dalam Asam**

Abu yang telah diperoleh di penetapan kadar abu dididihkan dengan 25 ml asam klorida encer selama 5 menit, kumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam, saring melalui kertas saring bebas abu, cuci dengan air panas dan pijarkan hingga bobot tetap, kemudian dinginkan dan timbang. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitungkan terhadap bahan yang telah dikeringkan (Depkes RI, 1995).

Rumus Penetapan Kadar Abu yang Tidak Larur Dalam Asam:

$$\% Kadar abu tidak larut asam=\frac{\left(berat krus berisi-berat krus kosong\right)}{Berat sampel} x 100\%$$

* 1.
	2.

## **Pembuatan Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm)**

 Pembuatan ekstrak etanol bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack)R.M.Sm) dilakukan secara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 500 gram serbuk simplisia dimasukkan kedalam sebuah wadah, dituangi pelarut etanol 96% (3750 ml) ditutup, didiamkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk, lalu diperas diperoleh maserat I. Kemudian ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan etanol 96% (1250 ml) kemudian didiamkan ditempat sejuk terlindung dari cahaya selama 2 hari, sehingga diperoleh maserat II. Maserat I dan II digabungkan dan dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu tidak lebih dari 50°C hingga diperoleh ekstrak kental (Depkes RI, 1979).

## **Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia dilakukan terhadap simplisia dan ekstrak etanol bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) sebagai sampel dilakukan untuk memeriksa adanya senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid/triterpenoid dan glikosida.

* 1.

### **Pemeriksaan Alkaloid**

 Serbuk simplisia dan ekstrak etanol bunga kecombrang ditimbang sebanyak 0,5 gram ditambahkan 1 ml HCI 2N ditambahkan 9 ml air suling, lalu dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit dan didinginkan lalu disaring. Filtrat dipakai untuk test alkaloida

* 1. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Mayer, akan terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning.
	2. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Bouchardat, akan terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam.
	3. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Dragendorff akan terbentuk warna merah atau jingga.

 Jika terjadi endapan atau kekeruhan paling sedikit 2 tabung reaksi pada percobaan di atas, positif alkaloida (Depkes RI, 1995).

### **Pemeriksaan Flavonoid**

Serbuk simplisia dan ekstrak etanol bunga kecombrang ditimbang sebanyak 1 gram ditambahkan 10 ml aquadest panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas, ke dalam 5 ml filtrat ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 1 ml HCl, dan 2 ml amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah. Flavonoid positif jika terjadi warna merah, kuning jingga dan lapisan amil alkohol (Depkes RI, 1995).

### **Pemeriksaan Tanin**

Serbuk simplisia dan ekstrak etanol bunga kecombrang ditimbang sebanyak 1 gram disari dengan 10 ml aquadest lalu disaring filtratnya diencerkan dengan akuades sampai tidak berwarna. Larutan diambil sebanyak 2 ml dan ditambahkan 1-2 tetes larutan pereaksi besi (III) klorida 1%. Jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adannya tanin (Depkes RI, 1995).

### **Pemeriksaan Saponin**

Serbuk simplisia dan ekstrak etanol bunga kecombrang ditimbang sebanyak 0,5 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 ml aquadest panas dan didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik timbul busa yang mantap tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. ditambahkan 1 tetes larutan asam klorida 2N, bila buih tidak hilang menunjukkan adanya saponin (Depkes RI, 1995).

### **Pemeriksaan Steroid/Triterpenoid**

Serbuk simplisia dan ekstrak etanol bunga kecombrang ditimbang sebanyak 1 gram dimaserasi dengan 20 ml eter selama 2 jam, maserat disaring, lalu filtrat diuapkan dalam cawan penguap. Pada sisa tambahkan 2 tetes pereaksi Liebermann-Burchard. Bila timbul warna ungu atau merah yang kemudian menjadi biru atau biru hijau menunjukkan adanya steroid atau jika nenimbulkan warna merah, pink, atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid (Harborne, 1987).

### **Pemeriksaan Glikosida**

Serbuk simplisia dan ekstrak etanol bunga kecombrang ditimbang sebanyak 3 gram, disari dengan 30 ml campuran etanol 96% dengan akuades (7:3) ditambah dengan 10 ml HCl 2N, direfluks selama 10 menit, didinginkan dan disaring. Diambil 20 ml filtrat ditambahkan 25 ml aquadest dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M, dikocok dan didiamkan selama 5 menit dan disaring. Filtrat dimasukkan ke dalam corong pisah dan disari dengan 20 ml campuran kloroform dan isopropanolol (3:2) dilakukan sebanyak 3 kali. Kumpulan sari air di uapkan pada suhu tidak lebih dari 50°C sisanya dilarutkan dalam 2 ml methanol.

 Diambil 0,1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi diuapkan di atas penangas air, ditambahkan 2 ml air dan 5 tetes pereaksi Molish. Ditambahkan 2 ml asam sulfat pekat perlahan-lahan melalui dinding tabung, terbentuknya cincin berwarna ungu pada batas kedua cairan menunjukkan adanya komponen gula (glikon) (Depkes RI, 1989).

## **Sterilisasi Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan dalam uji aktivitas antibaktei ini, disterilkan terlebih dahulu sebelum dipakai.Alat-alat yang berbentuk gelas di sterilkan menggunakan kertas perkamen. Bahan-bahan seperti Media pertumbuhan disterilkan menggunakan autoklat pada suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara fiksasi/dibakar menggunakan pemanas bunsen dan selalu semprotkan alcohol 70% ke daerah kerja sebelum memulai perlakuan (Narulita, 2017).

## **Pembuatan Larutan dan Media Uji**

### **Pembuatan Nutrient Agar (NA)**

Komposisi:

Beef extract 3 g

Pepton 5 g

Agar 12 g

Aquadest ad 1000 ml

Cara Pembuatan:

Ditimbang NA sebanyak 20 g dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 1000 ml, lalu ditambahkan air sedikit demi sedikit dan diaduk hingga NA larut, kemudian larutan tersebut dipanaskan hingga terlarut dengan sempurna. Diangkat dan ditutup mulut labu Erlenmeyer dengan kapas yang dibalut dengan kain kasa dan dibungkus dengan kertas perkamen. Media disterilkan di dalan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. (Fardiaz, 1993).

### **Pembuatan Mueller Hinton Agar (MHA)**

Komposisi:

Beef extract 2 g

Casein hydrolysate 17,5 g

Starch 1,5 g

Agar 17 g

Aquadest ad 1000 ml

Cara Pembuatan:

Ditimbang MHA sebanyak 38 g dilarutkan ke dalam aquadest steril sedikit demi sedikit. Kemudian dicukupkan volume hingga 1 L, setelah itu media panaskan sampai terlarut dengan sempurna. Sterilkan media di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit. Media MHA dituangkan pada cawan petri steril, didiamkan pada suhu kamar hingga memadat, kemudian disimpan pada suhu 4°C (Utomo dkk,2018).

### **Pembuatan Larutan NaCl 0,9 %**

Komposisi:

Natrium Klorida 0,9 g

Aquadest ad 100 ml

Cara pembuatan:

Ditimbang NaCl sebanyak 0,9 g dilarutkan kedalam aquadest sedikit demi sedikit dalam labu takar 100 ml sampai larut dengan sempurna. Kemudian ditambahkan kembali aqaudest sampai garis tanda, larutan tersebut dimasukkan dalam labu Erlenmeyer steril yang tertutup dan larutan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Depkes RI, 1979).

### **Pembuatan Larutan Standard Mc. Farland**

Komposisi:

Larutan asam sulfat 9,95 mL

Larutan barium Klorida 0,05 mL

Cara pembuatan:

 Sebanyak 9,95 ml asam sulfat dan 0,05 ml barium klorida dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu dikocok kedua larutan tersebut hingga keruh. Larutan Standard Mc, Farland digunakan sebagai pembanding kekeruhan dengan suspense mikroba. Apabila kekeruhan hasil suspense bakteri sama dengan kekeruhan suspensi standar Mc. Farland makan konsentrasi 108 CFU.mL (Fitri dkk, 2015).

### **Pembuatan Larutan DMSO 1%**

Sebanyak 1 ml larutan DMSO pekat dimasukkan kedalam beaker galss, kemudian diencerkan sedikit demi sedikit dengan aquadest sampai 100 mL.

## **Formula Sediaan Serum Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack)R.M.Sm)**

Rancangan formula untuk membuat sediaan serum dari ekstrak bunga kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) dengan formula acuan (Rosnani dkk, 2023) dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

**Tabel 3.1 Modifikasi Formula Sediaan Serum Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (Etlingera elatior (Jack) R.M.Sm)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **No** | **Nama Bahan** | **Formula (%)** | **Fungsi** |
| **F0** | **F1**  | **F2** |
| 1. | Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang | - | 30 | 50 | Zat aktif |
| 2. | Tween 80 | 20 | 20 | 20 | Surfaktan |
| 3. | TEA | q.s | q.s | q.s | *Alkalinizing agent* |
| 4. | Gliserin | 20 | 20 | 20 | Humektan |
| 5. | Metil Paraben | 0,3 | 0,3 | 0,3 | Pengawet |
| 6. | Propil Paraben | 0,3 | 0,3 | 0,3 | Pengawet |
| 7. | Etanol 70% | 1 | 1 | 1 | Konsolven |
| 8. | Viscolam | 1,5 | 1,5 | 1,5 | *Gelling agent* |
| 9. | Aquadest ad | 100 | 100 | 100 | Pelarut |

**Keterangan :**

|  |  |
| --- | --- |
| F0 : | Formulasi sediaan serum tanpa mengandung ekstrak etanol bunga kecombrang |
| F1 : | Formulasi sediaan serum mengandung 30% ekstrak etanol bunga kecombrang |
| F2 : | Formulasi sediaan serum mengandung 50% ekstrak etanol bunga kecombrang |

Cara pembuatan:

Viscolam dengan aquadest (1:1) digerus ke dalam lumpang, lalu ditambahkan tween 80 gerus homogen, tambahkan gliserin gerus homogen, kemudian tambahkan TEA 3 tetes gerus sampai homogen hingga terbentuk basis serum. Metil paraben dan Propil paraben dilarutkan dengan aquadest panas dalam beaker gelas, kemudian masukkan ke dalam lumpang gerus sampai homogen. Tambahkan ekstrak etanol bunga kecombrang gerus sampai homogen, kemudian tambahkan etanol 70% gerus sampai homogen, dicukupkan dengan aquadest ad 100 ml gerus sampai homogen (Rosani *et al*, 2023).

Penggunaan kombinasi pengawet metil paraben dan propil paraben yaitu dapat meningkatkan aktivitas anti mikroba yang di tunjukkan pada pH 4-8 (Rosani *et al*, 2023).

## **Evaluasi Mutu Fisik Sediaan Serum Ekstrak Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm)**

1. 1.
	2.

### **Uji Organoleptis**

Uji dilakukan secara visual. Komponen yang dievaluasi meliputi bentuk, warna dan bau sediaan serum ekstrak etanol bunga kecombrang (Hasrawati *et al,* 2020).

### **Uji Homogenitas**

Diambil sediaan serum sebanyak 0,1 g kemudian dioleskan pada kaca objek, dimana sediaan dilihat susunannya. Homogenitas ditunjukkan dengan tidak adanya partikel kasar (Depkes RI, 1979).

### **Uji pH**

Pengukuran pH sediaan dilakukan dengan menggunakan alat pH meter. Sebelum melakukan pengukuran pH, alat pH meter terlebih dahulu dikalibrasi menggunakan larutan dapar standar netral (pH 7,01) dan larutan dapar pH asam (pH 4,01). Kemudian elektroda dicuci dengan aquadest, lalu dikeringkan dengan tisu. Sediaan serum dibuat dalam konsentrasi 1% yaitu ditimbang 1 gram sediaan dan dilarutkan dalam 10 mL aquadest. Kemudian elektroda dicelupkan dalam larutan tersebut. Dibiarkan alat menunjukkan nilai pH sampai konstan. Angka yang ditunjukkan pada pH meter merupakan pH sediaan (Hidayah, 2023). Nilai pH sediaan yang memenuhi kriteria pH kulit yaitu 4,5-6,5 (Tranggono dan Latifah, 2007).

### **Uji Daya Sebar**

Uji daya sebar dilakukan dengan cara sediaan serum ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian diletakkan dalam kaca bulat transparan, kemudian kaca lainnya diletakkan di atasnya selama 1 menit (Rini dkk, 2023). Setelah itu penambahan dilakukan setiap 1 menit dengan beban 50 gram dan diukur diameter penyebarannya (Tsabitah dkk, 2020). Sediaan yang baik memiliki daya sebar antara 5-7 cm (Rini dkk, 2023).

### **Uji Daya Lekat**

Uji daya lekat dilakukan dengan menggukana alat tes daya lekat. Serum ditimbang sebanyak 0,25 g diletakkan diatas obyek glass, kemudian diletakkan dengan object glass lainnya diatas serum tersebut dan diberi beban 50 g. Selanjutnya dipasang objek glass pada alat tes. Kemudian dilepas dengan memberi beban seberat 80 gram dan dicatat waktunya hingga kedua obyek glass tersebut terlepas (Mukhlishah dkk, 2016). Serum yang baik memiliki daya lekat > 4 detik (Rini dkk, 2023).

### **Uji Viskositas**

Sediaan serum dimasukkan kedalam alat viscometer menggunakan spindle nomor 3 dengan kecepatan 60 rpm rentang kekentalan yang dapat dibaca yaitu 100-4000 cPs (Hasrawati dkk, 2020).

### **Uji Stabilitas**

Pada uji stabilitas ini menggunakan metode cycling test. Sediaan disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam dan suhu 40°C selama 24 jam dilakukan selama 6 siklus atau selama 12 hari dan diamati terjadinya perubahan fisik dari sediaan serum (Asanah dkk, 2023).

## **Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm)**

Pengujian antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi kertas cakram yang terdiri dari beberapa perlakuan yaitu ekstrak etanol bunga kecombrang dengan konsentrasi (10%, 30%, 50%, 70% dan 90%), kontrol positif dan negatif.

Tuangkan 15 mL media MHA yang sudah disterilkan ke dalam cawan petri dan didiamkan hingga memadat, lalu diambil suspensi bakteri *P. acne*, *S. aureus, dan S. epidermidis* menggunakan cutton swab steril dan goreskan diatas permukaan media MHA.

Dipipet 60 µL (3 tetes) kedalam kertas cakram ekstrak etanol bunga kecombrang dengan masing-masing konsentrasi 10%, 30%, 50%, 70% dan 90%. Kontrol negative menggunakan DMSO dan Kontrol positif menggunakan antibiotik Clindamycin. Kemudian ditempelkan pada permukaan media MHA yang telah dioleskan dengan bakteri secara hati-hati menggunakan pinset. Lalu media di inkubasi kedalam incubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong yang ditandai dengan zona bening (Pinarsi, 2021).

## **Uji Antibakteri Serum Ekstrak Etanol Bunga Kecombrang (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm)**

Pengujian antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi kertas cakram yang terdiri dari beberapa perlakuan yaitu serum ekstrak etanol bunga kecombrang dengan konsentrasi (30% dan 50%), kontrol positif dan negatif.

Tuangkan 15 mL media MHA yang sudah disterilkan ke dalam cawan petri dan didiamkan hingga memadat, lalu diambil suspensi bakteri *P. acne*, *S. aureus, dan S. epidermidis* menggunakan cutton swab steril dan goreskan diatas permukaan media MHA.

Dipipet 60 µL (3 tetes) kedalam kertas cakram serum ektrak etanol bunga kecombrang dengan masing-masing konsentrasi 30% dan 50%. Kontrol negatif menggunakan blanko serum dan Kontrol positif menggunakan serum acne dipasaran. Kemudian ditempelkan pada permukaan media MHA yang telah dioleskan dengan bakteri secara hati-hati menggunakan pinset. Lalu media di inkubasi kedalam incubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong yang ditandai dengan zona bening (Pinarsi, 2021).

## **Analisis Data**

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini menggunakan program SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) dengan menggunakan metode *one way* ANOVA (*Analisis of Variance*).