

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian dilakukan pada bulan April 2015 di laboratorium Fitokimia dan laboratorium Farmasetika, Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan dan Keolahragaan, Universitas Negeri Gorontalo.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan adalah: Autoclaf (*hirayama*), batang pengaduk, cawan petri (*pyrex*), cawan porselin, gelas ukur (*pyrex*), gelas kimia (*pyrex*), inkubator (*memmert*), kaca arloji, kertas sendok tanduk, pH meter, pipet tetes, rak tabung tabung reaksi, timbangan analitik, wadah maserasi.

Bahan yang digunakan adalah : Aquadestilata ,Bunga Cengkeh, etanol 96%, FD & C Orange, Gliserin, NaCl infus water, Natrium Lauril Sulfat, Nutrient agar, Sakarin, Na. Fosfat, Menthol.

#### **3.3 Cara Kerja**

##### **3.3.1 Pengambilan Sampel**

Sampel bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L), diambil di Desa Momalia, Kecamatan Posigadan, Kabupaten Bolaang Mongondow Selatan pada 1 tempat yang sama. Pengambilan dilakukan pada saat bunga kuncup.

##### **3.3.2 Pengolahan Sampel**

Sampel yang digunakan yaitu bunga cengkeh. Dimana setelah pengambilan sampel, sampel dibersihkan dari tangkainya. Kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan karena pada paparan suhu yang tinggi dapat mengakibatkan hilangnya kandungan minyak atsiri pada cengkeh tersebut. Setelah kering dibuat dalam bentuk serbuk kasar dan siap digunakan sebagai bahan penelitian.

##### **3.3.3 Ekstraksi**

Pada penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi. Dimana Serbuk kasar bunga cengkeh ditimbang sebanyak 650 gram, dimasukkan ke dalam wadah maserasi kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% sampai semua sampel terendam dan dibiarkan selama 24 jam dan sekali-kali dilakukan pengadukan

untuk mempercepat proses ekstraksi zat aktifnya. Setelah itu disaring, filtrat akan diuapkan dengan rotavapor sehingga mendapatkan ekstrak etanol kental. Dan residu atau ampas direndam lagi dengan pelarut yang sama sampai berlangsung keadaan konsentrasi yang seimbang di dalam dan diluar sel dengan ditandai beningnya cairan penyari tersebut. Diperoleh ekstrak kental etanol dan dilakukan studi formulasi mouthwash.

### 3.3.4 Pembuatan Sediaan Mouthwash

#### 3.3.4.1 Tabel Rancangan Formula

Bahan	Fungsi	Formula (%) (v/v)		
		1	2	5
Ekstrak bunga cengkeh	Zat aktif antibakteri	0,5	1,5	2,5
Sodium Lauril Sulfat	Pembusa	1,0	1,0	1,0
Gliserin	Humektan dan pengawet	20	20	20
Natrium Sakarin	Pemanis	0,3	0,3	0,3
Natrium Fosfat Monobasic	Buffer	0,064	0,064	0,064
Natrium Fosfat Dibasic	Buffer	0,043	0,043	0,043
FD & C orange	Pewarna	qs	qs	qs
Menthol	Perasa dan pendingin	qs	qs	qs
Aquadest ad 100 ml	Pelarut			

#### 3.3.4.2 Proses Pembuatan Mouthwash

Pada setiap formula terdapat konsentrasi zat aktif yang berbeda-beda. Ekstrak bunga cengkeh dengan konsentrasi yang berbeda-beda dicampurkan terlebih dahulu dengan gliserin. Kemudian dibuat larutan Natrium lauril sulfat dan sakarin ditambahkan ke dalam campuran ekstrak bunga cengkeh dan gliserin, diaduk hingga homogen kemudian dicek pH. Dibuat larutan pendapar dan dicek pHnya agar sesuai dengan pH yang diinginkan. Setelah itu dicampurkan semua larutan tersebut hingga homogen. Ditambahkan dengan pewarna FD & C orange dan menthol secukupnya dan diaduk hingga tercampur rata dan homogen. Larutan yang dihasilkan kemudian disaring dan dikemas dalam wadah botol.

### **3.4 Evaluasi Sediaan Obat Kumur**

#### **3.4.1 Uji Stabilitas sediaan**

a. Uji Organoleptik yang meliputi warna, rasa, bau, dan kejernihan. Pengujian ini dilakukan selama 1 minggu.

b. Uji pH

Pengujian pH ini dilakukan dengan menggunakan alat pH meter. Dimana elektroda dicelupkan pada larutan mouthwash ekstrak bunga cengkeh dan dibiarkan beberapa saat sampai diperoleh pembacaan yang stabil, lalu nilai pH dicatat.

#### **3.4.2 Uji cemaran mikroba**

##### **3.4.2.1 Pembuatan Media Nutrient Agar**

Ditimbang 5 gram nutrient agar dan dilarutkan kedalam 250 ml air. Kemudian dipanaskan hingga membentuk warna bening kemudian disterilisasi bersama alat dan bahan lain yang akan digunakan.

##### **3.4.2.2 Penyiapan sampel**

Disiapkan alat dan bahan yang akan digunakan, kemudian dilakukan sterilisasi. Dilakukan pengerjaan secara aseptis, dan pengenceran sampel dibuat sebanyak 3 kali hingga diperoleh sampel dengan tingkat pengenceran  $10^0$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , dan  $10^{-3}$ . Untuk masing-masing sampel dimana dibuat larutan blanko dari masing-masing formula dengan cara dipipet masing-masing formula sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan kedalam tabung yang berisi 9 ml NaCl infus water yang telah disterilkan, kemudian dihomogenkan dengan cara divorteks. Setelah larutan blanko dibuat kemudian dilakukan pengenceran  $10^{-1}$  dimana dipipet 1 ml dari larutan blanko kemudian dimasukkan kedalam tabung yang telah berisi 9 ml NaCl infus water yang telah disterilkan dan dihomogenkan dengan menggunakan vorteks. Diambil 1 ml dari pengenceran  $10^{-1}$  dimasukkan ke dalam tabung pengenceran  $10^{-2}$  yang telah berisi 9 ml NaCl infus water yang telah disterilkan kemudian dihomogenkan dengan vorteks. Diulangi pengerjaan yang sama untuk pengenceran  $10^{-3}$ .

### **3.4.2.3 Pengujian sampel**

Setelah pengenceran dibuat, diambil 1 ml sampel dari tiap tingkat pengenceran yaitu  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  kemudian masing-masing dimasukkan kedalam cawan petri yang telah berisi medium nutrisi agar dengan metode tuang. Dihomogenkan dengan cara memutar cawan petri membentuk angka 8 lalu dibiarkan memadat. Kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu  $37^{\circ}$  C.