

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen di laboratorium. Dalam penelitian ini akan diamati senyawa kimia yang terkandung di dalam ekstrak kulit batang pohon kelapa, serta menguji efektivitas bakteri terhadap sediaan obat kumur dari ekstrak kulit batang pohon kelapa.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Waktu

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai Mei

3.2.2 Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Jurusan Kimia, FMIPA Universitas Cenderawasih Jayapura dan pengujian aktivitas bakteri di Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Sains, Universitas Hasanudin

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah penangas air, maserasi, pH meter, neraca analitik, rotary evaporator, tempat hasil sediaan obat kumur dan alat-alat gelas laboratorium, cawan porselin. Inkubator.

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah ekstrak kulit batang pohon kelapa, etanol, peppermint oil, aquadest, gliserin, sorbitol, dan natrium benzoat, biakan bakteri *Staphylococcus muntans*, media NA 28 g (*Nutrien Agar*).

3.3.3 Tahapan Penelitian

Tahapan dimulai dari pengolahan sampel, skrining fitokimia, pembuatan formulasi obat kumur dan pengujian bakteri.

3.4 Prosedur Kerja

3.4.1 Pengambilan Sampel

Tempat pengambilan sampel Kulit Batang Pohon Kelapa (*Cocos nucifera* L.) di Arso 2 kabupaten Keerom.

3.4.2 Penyiapan Sampel

Simplisia kulit batang pohon kelapa diambil dengan cara mengupas kulit batang, kemudian simplisia dipotong-potong, selanjutnya simplisia dibersihkan dengan air mengalir agar kotoran yang melekat pada simplisia terangkat hingga bersih. Kemudian simplisia kulit batang pohon kelapa yang sudah dicuci bersih selanjutnya dikeringkan dibawa sinar matahari selama ± 3 hari hingga kering, setelah itu simplisia yang sudah kering diblender kemudian diayak menggunakan ayakan 200 mesh sampai diperoleh serbuk halus dari kulit batang pohon kelapa.

3.4.3 Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak kulit batang pohon kelapa dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 200 gram simplisia kulit batang pohon kelapa yang sudah diblender kemudian dicampur dengan etanol 96% sebanyak 800 mL. Maserasi dilakukan selama ± 3 hari kemudian disaring untuk mendapatkan hasil filtrat ekstrak, filtrat yang diperoleh kemudian dilanjutkan dengan evaporasi (penguapan) menggunakan rotary evaporator dan water bath untuk memisahkan pelarut etanol sehingga didapatkan ekstrak kental kulit batang pohon kelapa.

3.4.4 Skrining Fitokimia

Analisis fitokimia dilakukan untuk mengetahui komponen bioaktif yang terkandung dalam suatu bahan alam. Analisis fitokimia yang dilakukan meliputi uji flavonoid, alkaloid, saponin, triterpenoid dan steroid dan Tanin (Najoan *et al* 2016; Septiani, 2019).

a. Flavonoid

Diambil 0,10 g ekstrak kulit batang pohon kelapa. Kemudian dilarutkan dalam 2 mL air panas, dididihkan selama 5 menit. Filtrat sebanyak 1 mL ditambahkan 0,05 mg logam dan 4-5 tetes HCL pekat. Uji positif

ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Halimah, 2010).

b. Saponin

Diambil 0,10 g ekstrak kulit batang pohon kelapa, ditambahkan 4 mL air dan sambil dikocok selama 1 menit. Ditambahkan 2 tetes HCl 1N . Bila busa yang terbentuk stabil $\pm$ 7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin (Halimah, 2010).

c. Triterpenoid

Diambil 0,10 g ekstrak kulit batang pohon kelapa dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform dan ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Campuran ini selanjutnya ditambahkan 1-2 mL H₂SO₄ pekat dimulai dari dinding tabung. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin violet menunjukkan adanya terpenoid (Halimah, 2010).

a. Alkaloid

Sebanyak 0,2 g ekstrak ditambahkan 1 ml larutan HCl 2 M dan 19 ml akuades, kemudian dipanaskan selama 5 menit, campuran didinginkan dan kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dianalisis dengan pereaksi Wegner, Meyer dan dragendroff. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan cokelat dengan pereaksi Wegner, endapan kuning dengan pereaksi Meyer dan endapan merah jingga dengan pereaksi dragendroff (Septiani, 2019).

b. Tanin

Diambil 0,2 g ekstrak dilarutkan dalam 20 ml air panas, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan dengan 2 -3 tetes larutan FeCl₃ 1 %. Adanya tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat (Septiani, 2019).

3.5 Pembuatan Sediaan Obat Kumur

Sediaan obat kumur dibuat dalam 4 formulasi, tanpa ekstrak, dengan ekstrak 5%, ekstrak 15% dan ekstrak 30% masing-masing formula 100 mL, formulasi dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 1. Formulasi Sediaan Obat Kumur

Bahan	Satuan		Formulasi				Fungsi
			K-	F1 1,25%	F2 2,5%	F3 3,75%	
Ekstrak kulit batang kelapa	gram	-	-	1,25	2,5	3,75	Zat aktif
Pepermintoil	mL	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	Aroma
Sorbitol	mL	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	Pemanis
Na-Benzozat	gram	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Pengawet
Gliserin	mL	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	<i>Wetting agent</i>
Aquadest <i>add</i>	mL	100	100	100	100	100	Pelarut

Keterangan : F= Formula

Tahapan pembuatan sediaan obat kumur yakni pertama siapkan alat dan bahan yang telah ditimbang. Kemudian ekstrak kulit batang pohon kelapa dimasukkan ke dalam mortir, ditambahkan gliserin dan digerus hingga larut. Tujuan penambahan gliserin untuk menambah rasa manis. Kemudian ditambahkan sorbitol dan Natrium benzoat ke dalam mortir dan digerus kembali hingga homogen. Penambahan natrium benzoat sebagai pengawet dan untuk mencengah pertumbuhan mikoorganisme dalam sediaan obat kumur. Lalu ditambahkan aquades ke dalam mortir hingga bisa dituang, kemudian disaring dan dimasukkan ke dalam botol, kemudian ditambahkan sisa aquades hingga 100 mL. Kemudian ditambahkan peppermint oil ke dalam botol, diaduk rata, kemudian ditutup rapat.

3.6 Evaluasi formula Obat kumur

a. Uji sifat fisik

Uji organoleptik sediaan obat kumur ekstrak kulit batang pohon kelapa dilakukan secara langsung meliputi parameter pengamatan : tekstur, warna, dan aroma selama 30 hari (Nigam *et al.*, 2020).

b. Uji pH

Pengukuran pH dengan menggunakan pH meter, dicelupkan kedalam obat kumur selama beberapa menit. Standar pH obat kumur herbal yang baik yaitu 5-7 dilakukan selama 30 hari (Hidayanto, 2017).

3.7 Uji Aktivitas antibakteri

Sediaan obat kumur ekstrak Kulit batang pohon kelapa diuji aktivitas antibakterinya melalui beberapa tahap menggunakan metode difusi agar (Kirby-Bauer).

3.7.1 Penyiapan sampel uji antibakteri

Sediaan obat kumur dengan berbagai konsentrasi dari ekstrak kulit batang pohon kelapa 1,25%, 2,5%, dan 3,75% dibuat dalam wadah petri. Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas bakteri.

3.7.2 Pengujian Antibakteri

Metode difusi agar (Kirby-Bauer) digunakan untuk menguji antibakteri (Trisia dkk., 2018). Dengan menggunakan kapas swab steril, Petridish ditanam dengan bakteri *Staphylococcus muntans*, dari suspensi inokulum di media MHA. Petridish digores merata ke permukaan media MHA. Selanjutnya, diletakkan di atas kertas cakram yang sebelumnya telah diberikan berbagai konsentrasi formula obat kumur (F1, F2, F3, dan F4) dan diinkubasi selama dua puluh empat jam dalam inkubator pada suhu 37 derajat Celcius. Adanya zona bening menunjukkan bahwa adanya agen antimikroba dalam ekstrak daun salam menghalangi pertumbuhan mikroba. Daerah zona bening diukur dengan jangka sorong yang diukur dalam satuan millimeter (mm). Hasil dicatat, dimasukkan ke dalam tabel dan dibuat kedalam grafik.