

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 3 bulan (Maret – Maret 2025) di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Dan Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Bhamada Slawi.

3.2 Alat Dan Bahan

3.2.1 Alat Penelitian

Alat- alat yang digunakan dalam penelitian yaitu oven (Gentra), timbangan analitik (aeADAM), *Rotary evaporator* (Haocheng), *Waterbath* (dss), *Magnetic stirrer* (IKA C-MAG HS 4), *Homogenizer* (OS20-S), Autoklaf (Alamerican), *laminar air flow* (LAF), inkubator (Mammert IN 55), kertas cakram (Oxoid), dan alat gelas (*Pyrex*) meliputi erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi, batang pengaduk, corong, dan *beacker glass*. Serta alat lain yang tidak bermerek meliputi Kompor listrik, mortir dan stemper, toples kaca, pipet tetes, batang L, rak tabung reaksi, pinset, chamber, krush porselen, bunsen, jarum ose, Ph meter, dan jangka sorong.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan- bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu ekstrak etanol daun suji (*Dracaena angustifolia* Roxb.), HPMC, HEC, propilen glikol, propil paraben, etanol 96%, aquadest, metanol, bakteri *Propionibacterium acnes*, NA (nutrien agar), kertas cakram, antibiotik klindamisin, kapas, kertas saring, palstik *wrap*,

aluminium foil dan kain flanel. Serta bahan lain berupa bahan teknis diantaranya indikator Ph universal, serbuk nutrien agar (NA), pereaksi Mayer, pereaksi Dragendof, pereaksi Wagner, serbuk Mg, HCl pekat, FeCl₃, H₂SO₄, BaCl₂, dan NaCl.

3.3 Rancangan penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan yaitu penelitian eksperimental laboratorium yang meliputi pengumpulan tumbuhan bahan, pengolahan sampel, pembuatan ekstrak tumbuhan, karakterisasi ekstrak, skrining fitokimia, pengujian antibakteri ekstrak, pembuatan sediaan *acne patch*, uji evaluasi sediaan *acne patch*, serta uji antibakteri untuk mengetahui aktivitas sediaan *acne patch* dari ekstrak etanol daun suji terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*. Penelitian ini dilakukan dengan variabel sebagai berikut:

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang sengaja dirubah untuk diamati pengaruhnya terhadap variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini adalah variasi konsentrasi ekstrak etanol daun suji (5%, 10%, dan 20%) pada formulasi sediaan *acne patch*.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah evaluasi fisik dan diameter zona hambat bakteri *Propionibacterium acnes* sediaan *acne patch* ekstrak etanol daun suji.

3.3.3 Variabel Terkontrol

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah pembuatan ekstrak, pembuatan formulasi sediaan *acne patch*, metode uji antibakteri, sterilisasi alat, media pertumbuhan bakteri, suhu dan waktu inkubasi, teknik pembiakan, dan waktu pengamatan.

3.4 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian pembuatan ekstrak etanol daun suji dan formulasi sediaan *acne patch* ekstrak etanol daun suji serta uji aktivitas antibakteri dari sediaan *acne patch* ekstrak etanol daun suji terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* meliputi:

3.4.1 Pengumpulan Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman suji (*Dracaena agustioflia* Roxb.) yang didapat dari Desa Wanacala, Kecamatan Songgom, Kabupaten Brebes, Jawa Tengah. Bagian yang digunakan adalah daun tua dan tidak berlubang atau masih utuh, daun suji tua yang terletak pada pangkal tangkai batang dan berwarna hijau tua (Novria, 2018).

3.4.2 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Farmasi Program Studi Sarjana Farmasi Universitas Bhamada Slawi. Determinasi dilakukan bertujuan untuk memastikan kebenaran identitas tanaman yang diinginkan (Istiqomah *et al.*, 2021).

3.4.3 Pembuatan Serbuk Simplisia

Daun suji yang telah dikumpulkan sebanyak 3Kg kemudian dilakukan sortasi basah, setelah itu daun dicuci dengan air mengalir hingga bersih, lalu ditiriskan. Selanjutnya daun suji dirajang kecil-kecil, selanjutnya dikeringkan dalam oven suhu 40°C sampai kering. Daun yang sudah kering selanjutnya diblender hingga halus, kemudian diayak menggunakan ayakan 40 mesh lalu ditimbang (Novria, 2018).

Perhitungan rendemen simplisia dilakukan setelah didapatkan simplisia daun suji dengan menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot simplisia kering (gram)}}{\text{Bobot simplisia basah (gram)}} \times 100\%$$

(FHI, 2017)

3.4.4 Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak etanol daun suji dilakukan dengan metode remaserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 3000 mL. Daun suji yang kering dan telah dihaluskan, ditimbang sebanyak 300 gram lalu dimasukkan kedalam toples kaca. Maserasi dilakukan dalam 3 tahap, tahap pertama simplisia direndam dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1300 mL lalu toples ditutup dan didiamkan selama 3 x 24 jam terlindung dari cahaya, rendaman diaduk sebanyak 3 kali dalam sehari. Satu kali pengadukan dilakukan selama ± 10 menit. Setelah 3 hari, dilakukan penyaringan dan residunya dimaserasi tahap kedua dengan ditambahkan penyari

lagi sebanyak 1000 mL, dimaserasi selama 2 hari lalu disaring dan residunya dimaserasi tahap ke tiga dengan ditambahkan penyari lagi sebanyak 700 mL, dimaserasi selama 1 hari lalu dilakukan penyaringan kembali. Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* 50°C. Ekstrak sampel selanjutnya dibebaskan etanol dengan diuapkan menggunakan *waterbath* dengan suhu 40°C untuk mendapatkan ekstrak kental (Nurhasanah, 2024; (FHI, 2017)).

Perhitungan rendemen ekstrak dilakukan setelah didapatkan ekstrak kental daun suji dengan menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak kental (gram)}}{\text{Bobot simplisia awal (gram)}} \times 100\%$$

(FHI, 2017)

3.4.5 Standardisasi Ekstrak

1. Uji Parameter Spesifik

Uji parameter spesifik dilakukan dengan pengamatan secara organoleptis dengan menggunakan panca indra untuk mengamati bentuk, warna, dan bau dari ekstrak etanol daun suji.

2. Uji Parameter Non Spesifik

a. Uji Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan dengan cara menimbang ekstrak etanol daun suji sebanyak 1 gram pada lempeng aluminium foil yang tersedia di dalam alat *Moisture Balance* dengan suhu 105°C selama 10 menit dan secara otomatis pada alat akan muncul hasil nilai kadar air ekstrak. Kadar memenuhi

syarat apabila nilai persen kadar air yang diperoleh <10% (Dayanti *et al.*, 2023).

b. Uji Susut Pengerinan

Uji susut pengerinan dilakukan dengan menggunakan 1-2gram ekstrak etanol daun suji dimasukkan dalam ke botol timbang dangkal tertutup yang sebelumnya sudah dipanaskan terlebih dahulu pada suhu 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Botol timbang digoyangkan untuk meratakan ekstrak hingga melapisi dinding botol setebal 5 – 10 mm, kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 105°C selama 30 menit dalam keadaan tutup terbuka. Setiap sebelum pengerinan, botol ditimbang dalam keadaan tertutup diletakkan dalam desikator hingga suhu ruang dan keringkan kembali pada suhu penetapan hingga bobot tetap. Batas maksimal susut pengerinan menurut Farmakope Herbal Indonesia yaitu tidak lebih dari 10% (FHI, 2017).

$$\% \text{ susut pengerinan} = \frac{\text{berat awal} - \text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100\%$$

c. Uji Penetapan Kadar Abu Total

Penetapan kadar abu total dilakukan dengan cara menimbang ekstrak etanol daun suji sebanyak 2gram dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijarkan sebelumnya pada suhu 600°C dan ditara. Ekstrak dalam krus silikat dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, kemudian didinginkan terlebih dahulu baru kemudian

dilakukan penimbangan. Kadar abu total yang diperoleh dihitung terhadap berat bahan uji dan dinyatakan dalam % (Sambode *et al.*, 2022). Syarat kadar abu total yaitu $\leq 16,6\%$ (FHI, 2017). Perhitungan kadar abu total menggunakan rumus dibawah ini:

Keterangan:

W0: Bobot krus kosong (g)

W1: Bobot ekstrak awal (g)

W2: Bobot krus + ekstrak setelah diabukan (g)

$$\% \text{ kadar abu total} = \frac{W2 - W0}{W1} \times 100\%$$

(FHI, 2017)

d. Kadar Abu Tidak Larut Asam

Uji kadar abu tidak larut asam dilakukan dengan menggunakan abu yang diperoleh dari hasil uji penetapan kadar abu total, dididihkan dalam 25 mL HCl encer selama 5 menit. Dikumpulkan bagian abu yang tidak larut dalam HCl dengan cara disaring melalui kertas saring bebas abu. Kemudian dilakukan pencucian dengan air panas dan dipijarkan dalam krus pada suhu 600°C dan ditimbang hingga bobotnya tetap. Kadar abu yang tidak larut dalam larutan asam klorida dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b. Syarat kadar abu tidak larut asam yaitu $\leq 2,30\%$ (FHI, 2017). Perhitungan kadar abu tidak larut asam dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar abu tidak larut asam} = \frac{W2 - (C \times 0,0076) - W0}{W1} \times 100\%$$

Keterangan:

W0 : Bobot krus kosong (g)

W1 : Bobot ekstrak awal (g)

W2 : Bobot krus + abu tidak larut asam (g)

C : Bobot kertas saring (g)

3.4.6 Skrining fitokimia

1. Uji Alkaloid

Analisis senyawa alkaloid dari ekstrak etanol daun suji dilakukan dengan melarutkan 0,5gram ekstrak dalam tabung reaksi dengan larutan HCl 2 N sebanyak 1 ml dan 9 ml aquadest lalu dipanaskan dan disaring. Kemudian filtrat dibagi dalam 3 tabung dan direaksikan dengan pereaksi Mayer, pereaksi Dragendof, dan pereaksi Wagner. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih/ warna kuning keruh pada pereaksi Mayer dan timbulnya endapan berwarna coklat kemerahan pada pereaksi Dragendof, dan pereaksi Wagner (Fajriaty *et al.*, 2018).

2. Uji Flavonoid

Analisis senyawa flavonoid ekstrak etanol daun suji dilakukan dengan menggunakan 0,5gram ekstrak dilarutkan dengan aquades 2,5 ml kemudian dimasukan kedalam tabung reaksi, dan ditambahkan 0,2mg serbuk Magnesium dan HCl pekat 3 tetes lalu dipanaskan diatas penangas air selama 15 menit dan dikocok dengan kuat, biarkan hingga memisah. Warna

kuning kemerahan hingga merah menunjukkan bahwa sampel positif mengandung senyawa flavonoid (Pratiwi *et al.*, 2023).

3. Uji Saponin

Analisis senyawa saponin ekstrak etanol daun suji dilakukan dengan menggunakan 1 gram ekstrak dilarutkan dengan aquades 10 ml dalam tabung reaksi, dipanaskan 2-3 menit, didinginkan lalu dikocok selama 1 menit. Jika muncul busa diamkan $\pm$ 10 menit. Apabila ditambahkan 1 tetes HCl 2N busa tidak hilang dan dapat bertahan selama 10 menit sehingga ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak daun suji positif mengandung saponin (Pratiwi *et al.*, 2023).

4. Uji Tanin

Analisis senyawa tanin ekstrak etanol daun suji dilakukan dengan menggunakan 1mg ekstrak dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan dengan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Larutan berubah warna hijau kehitaman atau biru tua menunjukkan bahwa sampel ekstrak mengandung tanin (Pratiwi *et al.*, 2023).

5. Uji Triterpenoid/steroid

Ekstrak etanol daun suji dilarutkan dengan pelarut yang sesuai kemudian ditambahkan asam asetat glasial dan H₂SO₄ pekat (pereaksi Liebermann Burchard) 1 mL lalu didiamkan. Selanjutnya ditambahkan 2-3 tetes H₂ SO₄ (P) . Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah

jingga atau ungu, sedangkan adanya steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau atau biru (Kurnia *et al.*, 2022).

3.4.7 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Suji

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun suji dilakukan untuk memastikan aktifitasnya terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* pada konsentrasi tertentu untuk kemudian diformulasikan pada sediaan *acne patch*. Proses ujinya yaitu:

1. Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat menggunakan metode panas kering dan panas basah dan kimiawi (Ramadhani, 2020). Sterilisasi panas kering digunakan untuk alat laboratorium berbahan logam seperti jarum ose, pinset dan spatula dilakukan pemijaran dengan cara ujung alat diarahkan pada nyala api bunsen hingga warnanya merah menyala pijar. Kemudian sterilisasi panas basah digunakan untuk alat laboraorium berbahan kaca dengan menggunakan autoklaf. Alat-alat yang disterilisasi dengan cara ini yaitu diantaranya erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur, gelas beker batang pengaduk dan pipet dicuci terlebih dahulu lalu ditutup dengan kapas yang telah dibalut dengan kassa. Selanjutnya semua alat yan akan disterilisasi tadi dimasukkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Sterilisasi kimiawi menggunakan etanol 70% untuk mensterilkan peralatan besar seperti *laminar air flow* (LAF) (S. Wulandari *et al.*, 2022).

2. Pembuatan Media *Nutrien* Agar (Na)

Pembuatan media *Nutrien* Agar (Na) dilakukan dengan melarutkan 2,8 gram *Nutrien* Agar (Na) dalam 100 ml air suling. Dipanaskan pada kompor hingga semua serbuk melarut. Setelah itu disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit (S. Wulandari *et al.*, 2022), kemudian media didinginkan pada suhu kurang lebih 45°C. Media tersebut kemudian dituangkan secara aseptik ke dalam gelas kimia dan cawan Petri steril berukuran 90 mm, ditutup dan dibekukan hingga membentuk cawan agar (Maharani *et al.*, 2023).

3. Proses Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan pada medium NA miring secara *in vitro* (NA miring). Sterilkan jarum ose dengan pemanas Bunsen dan biarkan beberapa saat. Selanjutnya, sampel bakteri diambil satu cuplik dari media lama. Selanjutnya goreskan zigzag pada permukaan media NA miring. lalu inkubasi NA miring dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24-48 jam (Helmi *et al.*, 2023).

4. Pembuatan Larutan Standar Mc Farland 0,5

Mc Farland buatan digunakan untuk menyesuaikan standar perkiraan jumlah bakteri dalam suspensi bakteri dengan cara membandingkan kekeruhannya. Standar Mc Farland 0,5 setara dengan jumlah perkiraan bakteri dengan nilai 105-108 CFU/mL (Aviany & Pujiyanto, 2020)

Pembuatan larutan standar Mc Farland 0,5 dilakukan dalam 3 tahap, yaitu :

a. Pembuatan larutan BaCl_2 1%

Ditimbang 1 gram BaCl_2 dengan hati-hati. Kemudian dilarutkan dengan air suling secukupnya hingga larut sempurna lalu masukkan dalam labu ukur 100 mL. Tambahkan air suling ke dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen. Pindahkan larutan ke dalam botol reagen yang bertutup rapat dan berwarna gelap. Simpan larutan BaCl_2 1% di lemari es (Rosmania & Yanti, 2020).

b. Pembuatan larutan H_2SO_4 1%.

Ditimbang 1 gram H_2SO_4 dengan hati-hati. Kemudian dilarutkan dengan air suling secukupnya hingga larut sempurna lalu masukkan dalam labu ukur 100 mL. Tambahkan air suling ke dalam labu ukur 100 mL hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen. Pindahkan larutan ke dalam botol reagen yang tertutup rapat. Simpan larutan H_2SO_4 1% pada suhu kamar (Rosmania & Yanti, 2020).

c. Pembuatan Larutan McFarland 0,5.

Dipipet larutan BaCl_2 1 % sebanyak 0,05 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi tutup ulir. Kemudian dipipet juga larutan H_2SO_4 1 % sebanyak 9,95 ml.

Dicampurkan kedalam tabung reaksi tutup ulir yang sudah berisi larutan BaCl_2 1 %. larutan ini di vortex sampai tercampur sempurna. Penyimpanan larutan di dalam kulkas (Rosmania & Yanti, 2020).

5. Pembuatan Suspensi Bakteri

Koloni bakteri uji yang telah diremajakan diambil dengan jarum ose kemudian dimasukkan dalam gelas beker yang berisi 10 mL NaCl 0,9% dan disuspensikan hingga homogen. kemudian diukur kekeruhan suspensi dengan cara membandingkannya dengan larutan McFarland yang telah dibuat sebelumnya (Zahara *et al.*, 2022).

6. Pembuatan Suspensi Klindamisin 1%

Pembuatan suspensi antibiotik klindamisin dilakukan dengan menimbang 0,1 gram klindamisin kemudian dilarutkan dengan akuades steril sebanyak 10 ml. Suspensi klindamisin digunakan sebagai kontrol positif pada uji antibakteri sampel uji (Gunarti *et al.*, 2021)

7. Pembuatan Variasi Konsentrasi Ekstrak

Konsentrasi ekstrak etanol daun suji (*Dracaena angustifolia* Roxb.) dibuat dalam 3 variasi konsentrasi dengan menggunakan pelarut DMSO 5% (Rizki *et al.*, 2021). Ditimbang kebutuhan ekstrak untuk membuat masing-masing variasi konsentrai dimasukkan dalam erlenmeyer kemudian ditambahkan etanol 96% hingga volume 10 mL. masing-masing ekstrak dibuat

dalam konsentrasi 5%, 10% dan 20% (Nirmala, Hazar, *et al.*, 2022).

Tabel 3. 1 Variasi Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Suji

Konsentrasi akhir ekstrak (%)	Berat ekstrak (gram)	DMSO 5% (mL)
5	0,5	Add 10
10	1	Add 10
20	2	Add 10

8. Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak etanol daun suji

Proses pengujian antibakteri *Propionibacterium acnes* dilakukan dengan menggunakan metode difusi sumuran. Ekstrak etanol daun suji konsentrasi 5%, 10% dan 20% sebagai sampel yang diujikan terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. Etanol 96% digunakan sebagai kontrol negatif dan sebagai kontrol positif digunakan antibiotik klindamisin 1%. Pengujian dilakukan dalam 3 kali replikasi pada masing-masing konsentrasi. Media NA yang telah disiapkan dituangkan suspensi bakteri sebanyak $\pm 100\mu\text{L}$, kemudian diratakan dengan menggoyangkan cawan petri lalu didiamkan selama 5 menit. Kemudian dibuat lubang sumuran menggunakan *corkborer* steril baru kemudian dimasukkan 15-20 μL sampel. Setelah semua sampel dimasukan pada masing-masing sumuran kemudian dilakukan proses inkubasi. Cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator. Efektifitas antibakteri ditunjukkan oleh adanya zona hambatan. Zona hambatan dapat terlihat sebagai area jernih atau bersih yang

mengelilingi cakram (Rahmawati, 2020). Zona hambat yang terbentuk kemudian diukur dengan perhitungan berikut:

$$\text{Zona hambat} = \frac{(D1-D3)+(D2-D3)}{2}$$

Keterangan:

D1 = Diameter horizontal zona bening

D2 = Diameter vertikal zona bening

D3 = diameter sumuran

3.4.8 Formulasi Sediaan *Acne Patch*

Sediaan *acne patch* ekstrak etanol daun suji akan dibuat dalam 4 formulasi dimana variasi konsentrasi ekstrak disesuaikan dengan hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak daun suji pada tahap sebelumnya dan untuk basis dan bahan pengawet masing-masing konsentrasinya disamakan pada setiap formulasi. Rincian formulasi *acne patch* ekstrak etanol daun suji dapat dilihat pada tabel 3.2.

Tabel 3. 2 Formula *Acne Patch* Estrak Etanol Daun Suji
(Kaluku *et al.*, 2022)

Komposisi	Formula (%)				Fungsi	Range (%)
	F0	F1	F2	F3		
EEDS	-	5	10	20	Antibakteri	-
HPMC	2,5	2,5	2,5	2,5	Polimer	2-5
HEC	2,5	2,5	2,5	2,5	Polimer	-
Propilen Glikol	15	15	15	15	<i>Plasticizer</i>	15-30
Propil Paraben	0,1	0,1	0,1	0,1	Pengawet	0,01-0,6
Etanol 96%	Add 100%	Add 100%	Add 100%	Add 100%	Pelarut	-

Keterangan:

EEDS : Estrak Etanol Daun Suji

HPMC : Hidroxypropil Methyl Cellulose

HEC : Hidroxy Ethyl Cellulose

3.4.9 Pembuatan Sediaan *Acne Patch* Ekstrak Etanol Daun Suji

Pembuatan *acne patch* ekstrak etanol daun suji menggunakan teknik *solvent casting*, yaitu dibuat dengan melarutkan polimer dan *plasticizer* dalam pelarut yang mudah menguap, kemudian obat/bahan aktif dilarutkan atau disuspensikan ke dalamnya. Selanjutnya larutan dimasukkan ke dalam cetakan, diuapkan pelarutnya sampai kering, dan akhirnya diperoleh suatu film atau *patch*. Pertama ditimbang semua kebutuhan bahan sesuai formulasi. Polimer dilarutkan terlebih dahulu dengan etanol 96% lalu diamkan selama 10 menit. Setelah itu campurkan ekstrak etanol daun suji dalam campuran polimer diikuti dengan penambahan propilen glikol sebagai *plasticizer*, propil paraben dan etanol add 10 mL, campuran diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 30 menit pada kecepatan 350 RPM. Campuran kemudian didiamkan dalam gelas beker selama 1x24 jam lalu dituang dalam cawan petri diameter $\pm 9\text{cm}^2$ dan simpan pada suhu ruang selama 2 x 24 jam kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 60°C selama ± 20 jam hingga kering. *Patch* yang sudah kering selanjutnya dikeluarkan dari cawan dan dicetak menggunakan *cork borer* yang sudah disterilisasi berdiameter $\pm 10\text{mm}^2$ (Simanullang *et al.*, 2024). Selanjutnya dilakukan evaluasi pada sediaan *acne patch* yang telah dibuat.

3.4.10 Evaluasi Sediaan *Acne Patch* Ekstrak Etanol Daun Suji

1. Uji Organoleptis

Uji organoleptis sediaan *acne patch* ekstrak etanol daun suji dilakukan dengan mengamati tampilan sediaan secara visual yaitu meliputi bentuk, warna, dan aroma sediaan. Sedangkan uji fisik meliputi uji diameter, tekstur, serta gelembung udara, (Mariadi & Wilbert Bernardi, 2023).

2. Uji pH

Uji pH dilakukan dengan mengembangkan *patch* ke dalam cawan porselen yang berisi 50 ml aquadest selama 2 jam pada suhu ruangan. Kemudian dilakukan pengujian dengan menggunakan pH meter dan kertas pH universal (Mariadi & Wilbert Bernardi, 2023). Nilai pH sediaan harus sesuai dengan pH kulit yaitu pada rentang 4,5-6,5 (Agustin *et al.*, 2022)

3. Uji Ketahanan Lipat

Uji ketahanan lipat dilakukan pada masing-masing formula dengan cara melipat sediaan *acne patch* berulang kali hingga pecah atau robek. Banyaknya lipatan dianggap sebagai nilai keawetan formulasi. Jika jumlah lipatannya >200 maka dapat dikatakan memenuhi syarat (Hikma *et al.*, 2024).

4. Uji Ketebalan

Uji ketebalan sediaan *acne patch* ekstrak etanol daun suji dilakukan dengan mengukurnya menggunakan jangka sorong pada 5 sisi yg berbeda dari sediaan. Ketebalan *patch* yang baik dan memenuhi syarat jika ketebalannya ≤ 1 mm (Hikma *et al.*, 2024)

5. Uji Keseragaman Bobot

Uji keseragaman bobot *patch* dilakukan dengan menimbang sediaan *patch* pada setiap formula dengan 3 kali replikasi, kemudian dihitung rata-rata berat *patch* yang diperoleh dan % Koefisien variasi. Dapat dikatakan memenuhi syarat apabila nilai % Koefisien variasi $\leq 5\%$ (Oktania Nurpriatna *et al.*, 2024).

3.4.11 Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan *Acne Patch*

Uji aktivitas antibakteri sediaan *acne patch* ekstrak etanol daun suji diawali dengan sterilisasi alat, penyiapan media dan sampel. Pengujian dilakukan menggunakan metode difusi Kirby Bauer pada cawan petri dengan media NA yang sudah diinokulasi bakteri *Propionibacterium acnes*. Kontrol positif, kontrol negatif dan *Patch* ditempatkan di atas media yang sudah disiapkan dan terinokulasi bakteri dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kontrol positif digunakan *patch* oxy dan kontrol negatif menggunakan *patch* tanpa ekstrak. Pengukuran zona hambat dilaksanakan dengan mengobservasi transisi warna bening pada cawan petri (Simanullang *et al.*, 2024).

Media NA yang telah disiapkan diinokulasikan bakteri menggunakan kassa *swab* steril, kassa *swab* dicelupkan dalam suspensi bakteri, yang telah disamakan kekeruhannya dengan larutan mc farland, lalu digoreskan secara merata pada permukaan media NA, kemudian didiamkan selama 5 menit. *Acne patch* ekstrak daun suji kemudian diletakkan sesuai penataan posisi menggunakan

pinset. Kemudian cawan patri diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Efektifitas antibakteri ditunjukkan oleh adanya zona hambatan. Zona hambatan dapat terlihat sebagai area jernih atau bersih yang mengelilingi cakram (Rahmawati, 2020).

3.5 Analisis data

Data yang diperoleh dari hasil uji evaluasi sediaan *acne patch* serta uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun suji dan sediaan *acne patch* dianalisis menggunakan uji statistik metode *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Data yang diperoleh dapat disajikan dalam bentuk tabel, narasi, dan pembahasan serta diakhiri dengan penarikan kesimpulan.