

## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi merujuk pada keseluruhan objek yang menjadi fokus penelitian. Populasi yang diterapkan dalam studi ini adalah kulit buah pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*) yang diperoleh dari kelurahan Tawamangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Sampel penelitian, digunakan kulit buah pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*) yang berasal dari kelurahan Tawamangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Buah ini dipilih dengan kriteria kematangan yang berkisar antara 90–100 hari, sehingga diperoleh kulit pisang kepok kuning yang telah matang sempurna atau sudah menguning.

### **B. Variabel Penelitian**

#### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama dalam penelitian ini adalah representasi ekstrak kulit buah pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*).

Variabel kedua dalam penelitian ini mencakup pengujian iritasi dermal yang bersifat akut dan evaluasi aktivitas masker gel *peel off* dengan ekstrak kulit buah pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*) pada kulit kelinci albino.

#### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel yang telah dikelompokkan dapat dibedakan menjadi tiga jenis, yaitu variabel bebas, variabel terkontrol, dan variabel tergantung.

Variabel bebas merupakan faktor yang disengaja diubah untuk meneliti dampaknya pada variabel tergantung. Dalam konteks penelitian ini, variabel bebas adalah ekstrak kulit buah pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*).

Variabel terkontrol adalah faktor yang memengaruhi variabel tergantung dan perlu diatur kualifikasinya agar hasilnya dapat direproduksi dengan akurat. Dalam penelitian ini, variabel terkontrol melibatkan ekstrak kulit buah pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*), kemurnian bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, sterilisasi, kondisi penelitian, dan metode penelitian.

Variabel tergantung menjadi pusat perhatian dan kriteria penelitian ini. Variabel tergantung dalam penelitian ini mencakup aktivitas formulasi masker gel *peel off* dengan ekstrak kulit buah pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, serta dampak iritasi akut dermal pada kelinci albino.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, kulit buah pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*) yang telah mencapai tingkat kematangan sempurna atau sudah menguning kulitnya, diperoleh dari kelurahan Tawamangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, kulit buah pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*) yang sudah mencapai tingkat kematangan atau menguning, dibersihkan dengan mencucinya menggunakan air mengalir hingga tidak terdapat kotoran dan debu yang menempel, setelah itu dilakukan pengukusan selama 15 menit untuk menghilangkan getahnya, lalu dilakukan perajangan dan pengeringan dengan suhu 60°C di dalam oven setelah sampel kering dilakukan pengayakan menggunakan ayakan mesh 20.

Ketiga, ekstrak dari kulit buah pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*) diperoleh dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dan kemudian dikonsentrasikan menggunakan *rotary evaporator*.

Keempat, dilakukan identifikasi senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, saponin, alkaloid, dan tanin yang terdapat dalam ekstrak kulit buah pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*).

Kelima, pembuatan masker gel *peel off* dengan ekstrak kulit buah pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*) dilakukan dengan menggunakan ekstrak yang telah dihasilkan melalui metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.

Keenam, observasi terhadap efek iritasi akut dermal dilakukan dengan memeriksa keberadaan eritema dan edema pada punggung kelinci yang diberikan perlakuan masker gel *peel off* berisi ekstrak kulit buah pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*). Evaluasi dilakukan pada interval waktu 1, 24, 48, dan 72 jam setelah pemberian, dengan parameter pengukuran melibatkan dimensi eritema dan udema.

Ketujuh, mikroorganisme yang diujikan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Kedelapan, penilaian aktivitas formulasi masker gel *peel off* dengan ekstrak kulit buah pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan dengan mengamati waktu penyembuhan kulit pada punggung kelinci albino yang telah diinfeksi oleh bakteri tersebut.

### **C. Alat, Bahan dan Hewan Uji**

#### **1. Alat**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pencukur bulu, kasa steril, plester steril non iritan, gunting, spidol, penggaris, timbangan analisis, oven, ayakan no 20, bejana maserasi, inkas, ose, erlenmeyer, gelas ukur, batang pengaduk, cawan porselin, pipet, cawan petri, corong pisah, kain flanel, tabung reaksi, inkubator, *water bath*, *autoclaf*, *lampu spiritus*, *rotary evaporator*.

#### **2. Bahan**

Kulit pisang kepok kuning, bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, etanol 96%, PVA, HPMC, propilen glikol, gliserin, nipagin, nipasol, pereaksi Dragendrof, FeCl<sub>3</sub>, HCl, Mg, Nutrien Agar (NA), NaCl 0,9%, alkohol 96% dan aquadest.

#### **3. Hewan percobaan**

Studi ini memanfaatkan kelinci uji dengan jenis *New Zealand*, yang dikenal dengan karakteristik pertumbuhan yang cepat, sifat yang bersahabat, keunggulan sebagai jenis kelinci, serta memiliki bulu berwarna putih dan berat badan berkisar antara 1,5 hingga 2 kg. Sebagai langkah etika, proses *ethical clearance* telah dilakukan di RSUD Dr. Moewardi untuk memastikan penghormatan terhadap nilai-nilai integritas, kejujuran, dan keadilan dalam pelaksanaan penelitian.

### **D. Jalannya Penelitian**

#### **1. Pengumpulan simplisia**

Kulit dari buah pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*) dikumpulkan setelah buahnya mencapai tingkat kematangan yang optimal, menunjukkan warna kekuningan, dan tidak dalam kondisi terlalu matang. Bahan tersebut diperoleh dari kelurahan Tawamangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

#### **2. Determinasi tanaman**

Langkah pertama dalam penelitian ini melibatkan tahap determinasi buah pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*). Proses determinasi ini bertujuan untuk mengidentifikasi keaslian sampel buah

pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*) berdasarkan ciri-ciri morfologi tanaman. Tahap determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Morfologi Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) di Tawamangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

### **3. Penyiapan bahan tanaman**

Bahan yang diambil sebagai sampel adalah kulit buah pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*) yang diperoleh dari kelurahan Tawamangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Buah pisang kepok kuning dipanen pada usia sekitar 90-100 hari, ditandai dengan ciri-ciri buah yang telah mencapai kematangan sempurna atau kulitnya telah berubah warna menjadi kekuningan secara menyeluruh. Selanjutnya, sampel ini dibersihkan dengan air mengalir dan dikeringkan.

**3.1 Pengeringan dan pembuatan serbuk.** Kulit buah pisang kepok kuning dilakukan pengukusan selama 15 menit, supaya getah terpisah lalu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C. Kemudian kulit buah pisang kepok kuning yang sudah kering diserbukkan dengan cara penggilingan menggunakan blender lalu lakukan pengayakan menggunakan ayakan no 20. Berikutnya, serbuk kulit buah pisang kepok kuning disimpan dalam wadah kering dan tertutup untuk mencegah adanya pencemaran. Proses pembuatan serbuk ini dilakukan dengan tujuan memperluas luas partikel bahan yang bersentuhan dengan larutan penyari, sehingga proses penyarian dapat dilakukan secara selektif dan dilanjutkan dengan pemeriksaan mikroskopik.

**3.2 Susut pengeringan serbuk.** Timbang dengan teliti sekitar 1 hingga 2 gram simplisia ke dalam botol timbang dangkal yang telah dipanaskan pada suhu tetap, kemudian lakukan penimbangan. Meratakan bahan di dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol, sehingga membentuk lapisan setebal kira-kira 5-10 mm. Selanjutnya, letakkan dalam ruang pengering dengan membuka penutupnya, dan keringkan pada suhu tetap hingga botol mencapai kondisi yang stabil (FHI II,2017).

### **4. Pembuatan ekstrak etanol 96%**

Berat serbuk kulit buah pisang kepok kuning yang diambil sebanyak 500 gram, lalu ditambahkan dengan 10 bagian pelarut. Serbuk kemudian direndam selama 6 jam pertama dengan sesekali diaduk, dan dibiarkan diam selama 18 jam. Proses pemisahan maserat

dilakukan melalui filtrasi. Langkah penyarian diulang satu kali dengan menggunakan jenis pelarut yang sama dan volume pelarut setengah dari jumlah pelarut pada penyarian awal. Ekstrak dari maserasi etanol pada kulit pisang kepok kuning (*Musa balbisiana*) dikonsentrasikan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40-50°C hingga mendapatkan ekstrak yang berkepadatan tinggi (FHI II,2017).

## **5. Karakteristik ekstrak**

**5.1 Pemeriksaan organoleptis ekstrak kulit buahpisang kepok kuning.** Pemeriksaan organoleptis dilakukan dengan mengamati bentuk, warna dan bau dari ekstrak kulit buah pisang kepok kuning.

**5.2 Penetapan kadar air ekstrak kulit buah pisang kepok kuning.** Timbang sampel dengan teliti, sekitar 10 gram, dan masukkan ke dalam wadah yang telah ditara. Lakukan pengeringan pada suhu 105 derajat Celsius selama 5 jam, lalu timbang kembali. Proses pengeringan dan penimbangan dilanjutkan dengan interval 1 jam, teruskan hingga perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak melebihi 0,25% (FHI II, 2017).

**5.3 Penetapan bebas etanol ekstrak kulit buah pisang kepok kuning.** Tujuan dari pengujian ini adalah untuk memverifikasi ketiadaan etanol dalam ekstrak kulit buah pisang kepok kuning. Proses pengujian dilakukan dengan menambahkan sampel asam asetat dan asam sulfat pekat, kemudian dipanaskan. Ekstrak yang tidak mengandung etanol akan menunjukkan ketiadaan bau ester (Depkes RI 1995).

**5.4 Penetapan rendemen ekstrak kulit buah pisang kepok kuning.** Lakukan perhitungan rendemen, yakni persentase berat (b/b) antara hasil rendemen dengan berat serbuk simplisia yang digunakan pada tahap penimbangan. Rendemen sebaiknya memenuhi angka yang telah ditetapkan dalam masing-masing monografi ekstrak (FHI edisi II 2017).

## **6. Identifikasi kandungan kimia**

Identifikasi yang dilakukan dengan maksud untuk mengetahui kebenaran adanya kandungan kimia pada kulit buah pisang kepok kuning. Identifikasi senyawa-senyawa meliputi senyawa, alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin yang dilakukan di laboratorium fitokimia Farmasi Universitas Setia Budi.

**6.1 Identifikasi senyawa flavonoid.** Tabung reaksi diisi dengan ekstrak kulit pisang kepok, kemudian ditambahkan serbuk

magnesium sebanyak 2 mg dan 3 tetes asam klorida pekat pada sampel. Terjadinya perubahan warna menjadi merah, jingga, atau kuning pada larutan menunjukkan keberadaan flavonoid (Pratiwi *et al*, 2018).

**6.2 Identifikasi saponin.** 0,5 gram ekstrak etanol kulit pisang kepok dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian, 10 mL air panas ditambahkan ke dalamnya, diikuti dengan pendinginan dan pengocokan intensif selama 10 detik. Keberadaan saponin ditunjukkan oleh pembentukan buih yang stabil, dengan tinggi buih mencapai 1 cm hingga 10 cm selama setidaknya 10 menit. Pengujian ini juga mengindikasikan keberadaan saponin, karena ketika 1 tetes HCl 2 N ditambahkan, buih tersebut tetap ada tanpa menghilang (Ghozaly, 2017).

**6.3 Identifikasi alkaloid.** Tambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff ke dalam tabung reaksi yang berisi ekstrak kulit pisang kepok. Hasil uji dianggap positif apabila terjadi perubahan warna menjadi jingga dalam waktu 30 menit (Lumowa, 2018).

**6.4 Identifikasi tanin.** 0,5 gram ekstrak etanol kulit pisang kepok dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian disiram dengan 10 mL air panas, dan dipanaskan selama 5 menit. Setelah itu, larutan disaring. Tambahkan 1-2 tetes pereaksi FeCl<sub>3</sub> 1% ke dalam tabung. Terjadinya perubahan warna menjadi biru kehitaman atau hitam kehijauan menunjukkan keberadaan tanin (Ghozaly, 2017).

## 7. Pembuatan masker gel *peel off*

**Tabel 1. Formulasi Masker Gel *Peel Off***

Komposisi	Konsentrasi %	
	F1	F2
Ekstrak kulit pisang kepok	10	5
PVA	12	12
HPMC	2	2
Gliserin	15	15
Nipagin	0,18	0,18
Nipasol	0,02	0,02
Aquades ad	100	100

Dengan metode pengembangan, PVA dilarutkan dalam akuades pada suhu 80°C dan diaduk hingga homogen. Selanjutnya, HPMC dikembangkan dalam akuades dingin hingga mencapai kehomogenan. Kedua larutan kemudian dicampur dalam mortir dan digerus hingga merata.

Formulasi ditambahkan gliserin sambil digerus hingga homogen. Bahan pengawet dilarutkan dengan aquades secukupnya sampai larut kemudian dimasukkan kedalam setiap formulasi dan

digerus sampai homogen. Setelah homogen ekstrak kulit pisang kepok dilarutkan dengan sisa aquades dan menggerusnya sambil memasukkan basis sedikit demi sedikit. Dilakukan evaluasi sediaan meliputi homogenitas, organoleptis, pH, viskositas, kecepatan mengering, dan uji daya sebar sediaan masker gel *peel off*.

## **8. Uji mutu fisik sediaan masker gel *peel off***

**8.1 Uji Organoleptik.** Uji organoleptik dilakukan dengan visual dan dilihat langsung bentuk, warna, bau, dari masker gel *peel off* yang dibuat.

**8.2 Uji Homogenitas.** Masker gel *peel off* diambil pada masing-masing formula secukupnya kemudian dioleskan pada plat kaca, lalu diamati dan diraba massa masker *peel off* menunjukkan homogen dengan tidak adanya bahan padat atau gumpalan pada kaca.

**8.3 Uji pH.** Uji pH dilakukan menggunakan pH meter. Elektroda dikalibrasi dengan dapar standar pH 4 dan pH 7. Kemudian elektroda dicelupkan kedalam sediaan masker gel *peel off* yang telah diencerkan dengan aquadest. Nilai pH yang muncul dilayar dicatat. Pengukuran dilakukan pada suhu ruang.

**8.4 Uji Viskositas.** Pengujian dilakukan pada sediaan masker gel *peel off* dengan menggunakan *Viscometer Brookfield* dengan menggunakan spindel sesuai konsistensi sediaan. Hal ini dilakukan dengan cara mencelupkan spindel ke dalam sediaan masker gel *peel off* kemudian dilihat viskositasnya.

**8.5 Uji daya sebar.** Pengujian dilakukan dengan menggunakan sediaan masker gel *peel off* sebanyak 0,5 gram diletakkan diatas kaca bulat. Kaca ditindih dengan kaca lainnya, diletakkan diatas sediaan, diiamkan selama 1 menit. Catat diameter diperoleh. Kemudian ditambah beban 50 gram dan diiamkan selama 1 menit catat diameter. Penambahan beban dilakukan hingga 200 gram dan setiap penambahan didiamkan selama 1 menit.

**8.6 Uji waktu mengering.** Pengujian waktu sediaan mengering dilakukan dengan menggoreskan sejumlah sampel seperti saat mengaplikasikan masker pada punggung tangan dan kemudian dihitung waktu yang dibutuhkan oleh sediaan untuk mengering hingga dapat dikelupas (Zhelsiana 2016).

## **9. Penyiapan hewan uji**

Hewan uji yang digunakan adalah 3 kelinci albino jantan atau betina yang sehat dan dewasa, berat sekitar 2 kg. Sebelum pengujian

dimulai hewan uji diaklimatisasi pada ruang percobaan selama 5 hari kemudian ditempatkan pada kandang individual (1 kandang perekor). Sekurang-kurangnya 24 jam sebelum pengujian, bulu hewan harus dicukur pada daerah punggung seluas lebih kurang  $10 \times 15 \text{ cm}^2$  untuk tempat pemaparan sediaan uji. Pencukuran dimulai dari area tulang belikat (bahu) sampai tulang pangkal paha (tulang pinggang) dan setengah kebawah badan pada tiap sisi (BPOM, 2014).

#### **10. Dosis uji**

Dosis yang digunakan untuk sediaan uji cair adalah 0,5 mL dan untuk sediaan uji padat atau semi padat sebanyak 0,5 gram, serta dosis yang digunakan dari larutan hasil ekstraksi masing-masing sebanyak 0,5 mL.

#### **11. Uji iritasi akut dermal**

Pada tahap uji iritasi akut dermal ini dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol negatif basis masker gel *peel off*, kontrol positif masker gel *peel off* yang beredar dimasyarakat, dan kontrol normal sebagai pembanding yang merupakan hewan uji yang tidak diberi perlakuan apapun serta formula yang berisi ekstrak kulit buah pisang kepok kuning dengan konsentrasi 10% dan 5%.

**11.1 Sediaan uji diduga mengiritasi atau korosif.** Uji dilakukan dengan menggunakan 1 hewan uji dengan 3 tempelan (patch) pemaparan untuk setiap formula, dan 3 tempelan masing-masing untuk kontrol positif, negatif, dan normal. Tempelan tersebut dibuka pada menit ke 3, jika tidak terjadi iritasi kulit yang serius maka tempelan ke-2 dibuka setelah 1 jam, jika tidak terjadi iritasi kulit yang parah maka tempelan ke-3 dibuka pada jam ke-4 dan ditentukan gradasi cedera kulit. Jika efek korosif tampak setelah 3 menit atau 1 jam, maka uji dihentikan dan semua tempelan dilepas. Pengamatan dilanjutkan selama 14 hari kecuali jika korosif terjadi pada awal pengujian. Tetapi jika tidak terlihat efek korosif setelah pemaparan selama 4 jam, maka pengujian dilanjutkan dengan menambah 2 hewan tambahan yang masing-masing dipaparkan selama 4 jam (BPOM, 2014).

**11.2 Sediaan uji diduga tidak mengiritasi atau korosif.** Uji dilakukan dengan menggunakan 2 hewan uji, masing masing dibuat 1 tempelan dengan periode pemaparan selama 4 jam. Setelah 4 jam residu pemaparan dihilangkan menggunakan air atau pelarut lain. Hewan uji ini akan di amati ada atau tidaknya eritema dan edema yang penilaian respon dilakukan pada jam ke 1, 24, 48, dan 72 setelah



pembukaan tempelan. Jika kerusakan kulit tidak dapat diidentifikasi pada iritasi atau korosi pada jam ke 72, pengamatan dapat dilanjutkan sampai hari ke 14 untuk menentukan reversibilitas.

**Tabel 2. Penilaian Reaksi Pada Kulit**

Pembentukan Eritema	Skor
Tidak ada eritema .....	0
Eritema sangat kecil (hampir tidak dapat dibedakan).....	1
Eritema terlihat jelas.....	2
Eritema sedang sampai parah.....	3
Eritema parah (darah daging) sampai pembentukan sechar yang menghambat penilaian eritema.....	4

Pembentukan Udema	Skor
Tidak ada udema.....	0
Udema sangat kecil (hampir tidak dapat dibedakan) .....	1
Udema kecil (batas area terlihat jelas) .....	2
Udema tingkat menengah (luasnya bertambah sekitar 1 mm)..	3
Udema parah (luas bertambah lebih dari 1 mm dan melebar melebihi area pemaparan oleh sediaan uji) .....	4

Sumber = OECD, 2002

**Tabel 3. Kategori Respon Iritasi Pada Kelinci**

Nilai Rata-rata	Kategori respon
0,0 – 0,4	Iritan sangat ringan ( <i>negligible</i> )
0,5 – 1,9	iritan ringan ( <i>slight</i> )
2,0 – 4,9	Iritan sedang ( <i>moderate</i> )
5,0 – 8,0	Iritan kuat ( <i>severe</i> )

Sumber = ISO 10993-10, 2002

**Tabel 4. Kriteria Penggolongan Sediaan Uji**

Kategori	Kriteria
Kategori 1 Korosif	Respon Korosif terjadi pada pemaparan selama $\leq 3$ menit, pengamatan selama $\leq 1$ jam pada $\geq 1$ dari 3 ekor hewan uji Respon korosif terjadi pada pemaparan selama $> 3$ menit sampai $\leq 1$ jam, pengamatan selama $\leq 14$ hari pada $\geq 1$ dari 3 ekor hewan uji Respon korosif terjadi pada pemaparan selama $> 1$ jam sampai $\leq 4$ jam, pengamatan selama $\leq 14$ hari pada $\geq 1$ dari 3 ekor hewan uji
Kategori 2 Iritan	Skor rata-rata untuk eritema atau udema $\geq 2,3$ sampai $\leq 4,0$ setelah pemaparan selama 4 jam, pengamatan selama 3 hari, pada minimal 2 dari 3 ekor hewan uji Inflamasi tidak sembuh pada hari ke 14 minimal pada 2 ekor hewan uji, terjadi alopecia pada daerah tertentu, hiperplasia, scaling. Terdapat efek eritema atau udema yang jelas pada 1 ekor hewan uji walau tidak memenuhi kriteria diatas
Kategori 3 Iritan ringan	Skor rata-rata untuk eritema atau udema $\geq 1,5$ sampai $\leq 2,3$ setelah pemaparan selama 4 jam, pengamatan selama 3 hari setelah terjadinya reaksi kulit tetapi tidak termasuk kategori seperti diatas, minimal 2 dari 3 ekor hewan uji.

Sumber = GHS, 2009

## 12. Pembuatan suspensi bakteri uji

NA (Nutrient Agar) ditimbang sebanyak 0,46 gram dilarutkan dalam 20 ml aquades (23 g/1000 ml) dan dipanaskan hingga larut

sempurna, lalu dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi sebanyak 5 ml dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 derajat celcius, selama 15 menit. Setelah steril, tabung dimiringkan dan didiamkan hingga memadat.

Sejumlah 1 jarum ose stok bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasi ke dalam media agar miring kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37<sup>0</sup>C selama 24 jam.

Hasil peremajaan bakteri *Staphylococcus aureus* dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan kawat ose steril yang berisi 2 ml NaCl 0,9% kemudian dikocok dan dibandingkan dengan kekeruhan standar *Mc Farland*.

### **13. Pengujian aktivitas antibakteri pada punggung kelinci yang diinfeksi bakteri penyebab jerawat**

Masker gel *peel off*, diuji efek antijerawat dengan hewan uji kelinci jantan putih (*New Zealand White*) berumur  $\pm$  3 bulan, dengan bobot badan 1,5-2 kg. Bulu pada punggung kelinci dicukur kemudian dipilih 3 lokasi penyuntikan dibagian kiri dengan jarak masing-masing lokasi  $\pm$  5 cm. Suspensi *Staphylococcus aureus* diinfeksi secara subkutan sebanyak 0,25 ml pada masing-masing lokasi pada kulit punggung kelinci yang telah disiapkan.

Pengamatan munculnya eritema setelah 24 jam pemberian salep dilakukan setelah 48 jam pada daerah infeksi. Masker gel *peel off* ekstrak kulit buah pisang kepek kuning dioleskan pada lokasi dibagian kiri punggung kelinci, 2 lokasi dibagian kanan sebagai kontrol negatif dan positif. Lokasi penyuntikan ditutup dengan perban steril untuk mencegah terjadinya kontaminasi bakteri. Pemberian masker gel *peel off* dilakukan setiap hari sampai nanah dan eritema hilang. Pengamatan daya kesembuhan dari efek antijerawat dilihat secara makroskopis untuk mengamati lamanya penyembuhan infeksi *Staphylococcus aureus* yang diinfeksi pada kulit punggung kelinci setelah pemberian masker gel *peel off* maksimal 7 hari, kemudian dianalisa di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Parameter adalah mengecilnya diameter eritema dan keringnya luka pada kulit punggung kelinci, menggunakan skor tanpa eritema 0, sangat sedikit eritema (hampir tidak terlihat) 1, eritema jelas terlihat (diameter 25,1 – 30 mm) 2, eritema sedang (diameter 30,1 – 35 mm) 3, eritema berat (gelap merah dengan membentuk eskar, diameter >35mm) 4.

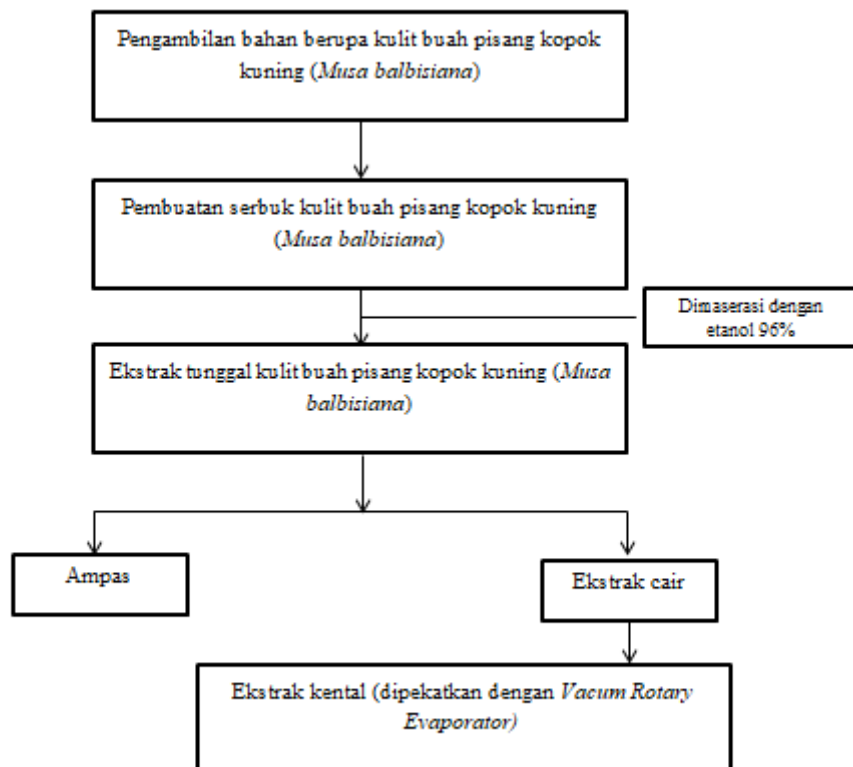
### E. Analisis Hasil

Data hasil uji iritasi akut demal dianalisis dengan melihat permukaan kulit diamati untuk setiap perubahan yang terlihat eritema (kemerahan) dan edema (bengkak) mulai dari jam ke-1, 24, 48, dan jam ke-72 dari pemberian sediaan (Suharsanti, 2018). Data yang diperoleh dianalisa untuk memperoleh indeks iritasi primer kulit (*primary irritation index/PII*) dengan rumus sebagai berikut :

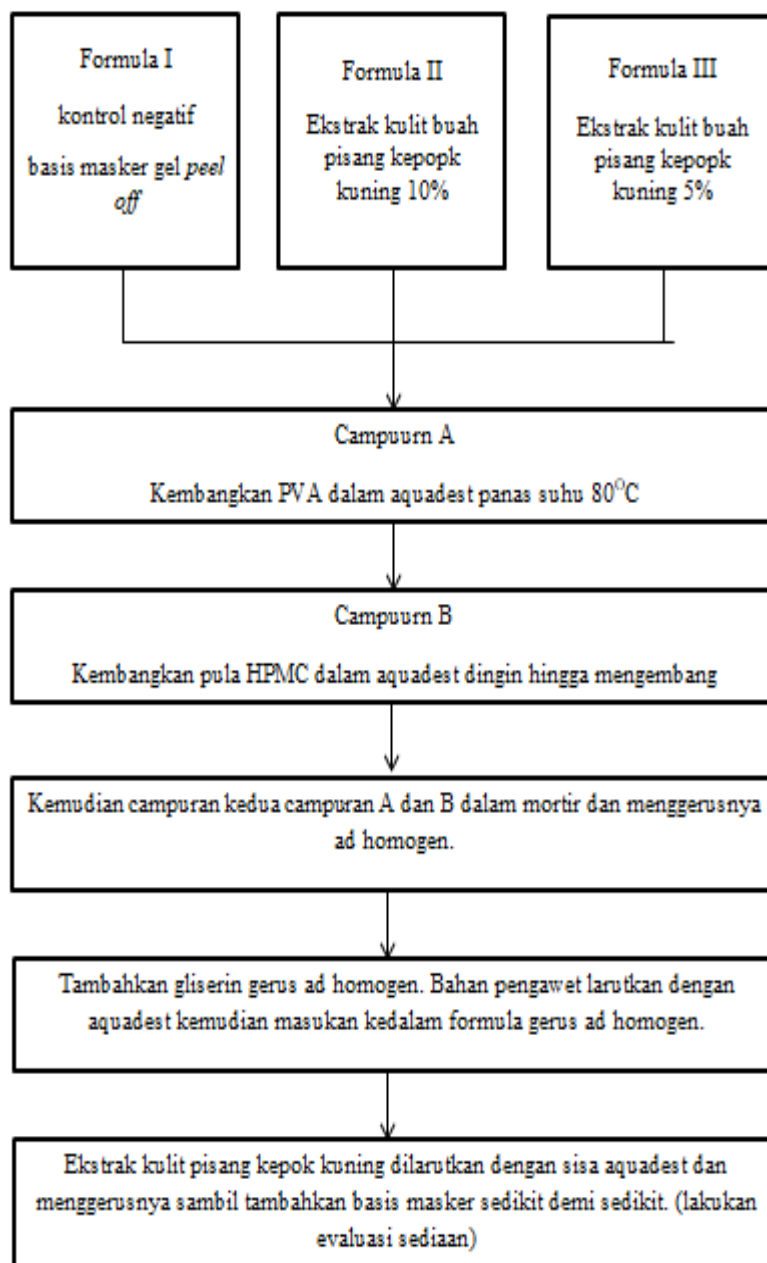
$$PII = \frac{\text{Jumlah semua eritema dan edema}}{\text{Jumlah kelompok} \times \text{Jumlah pengamatan}}$$

Nilai PII digunakan untuk menentukan tingkat iritasi yang tersaji pada tabel 2. Kategori nilai kulit setelah pengamatan dilihat berdasarkan tabel 3 (Dyah, 2020).

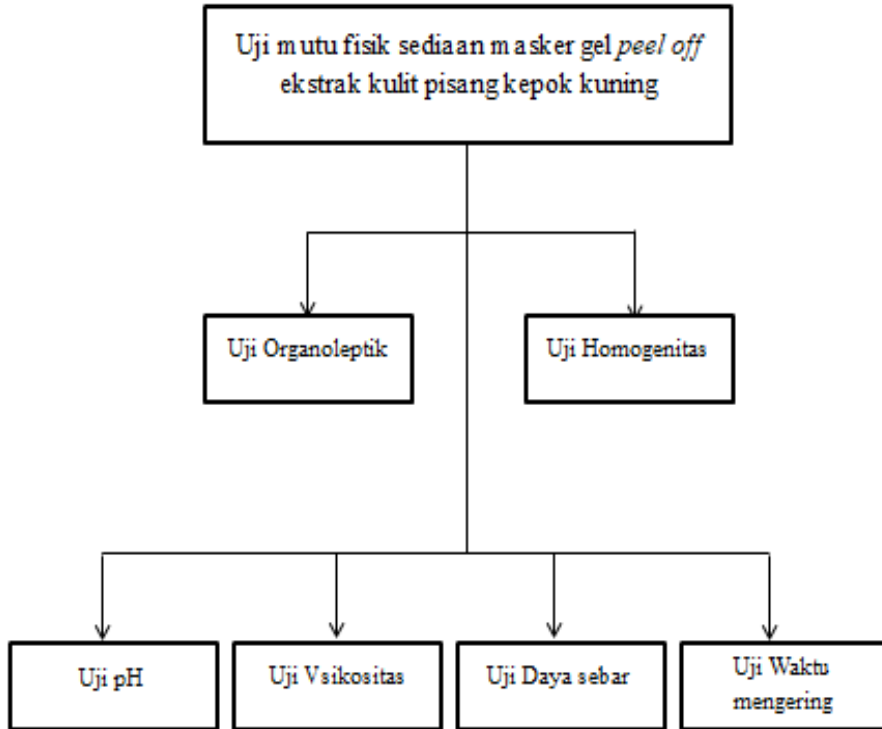
### F. Skema Penelitian



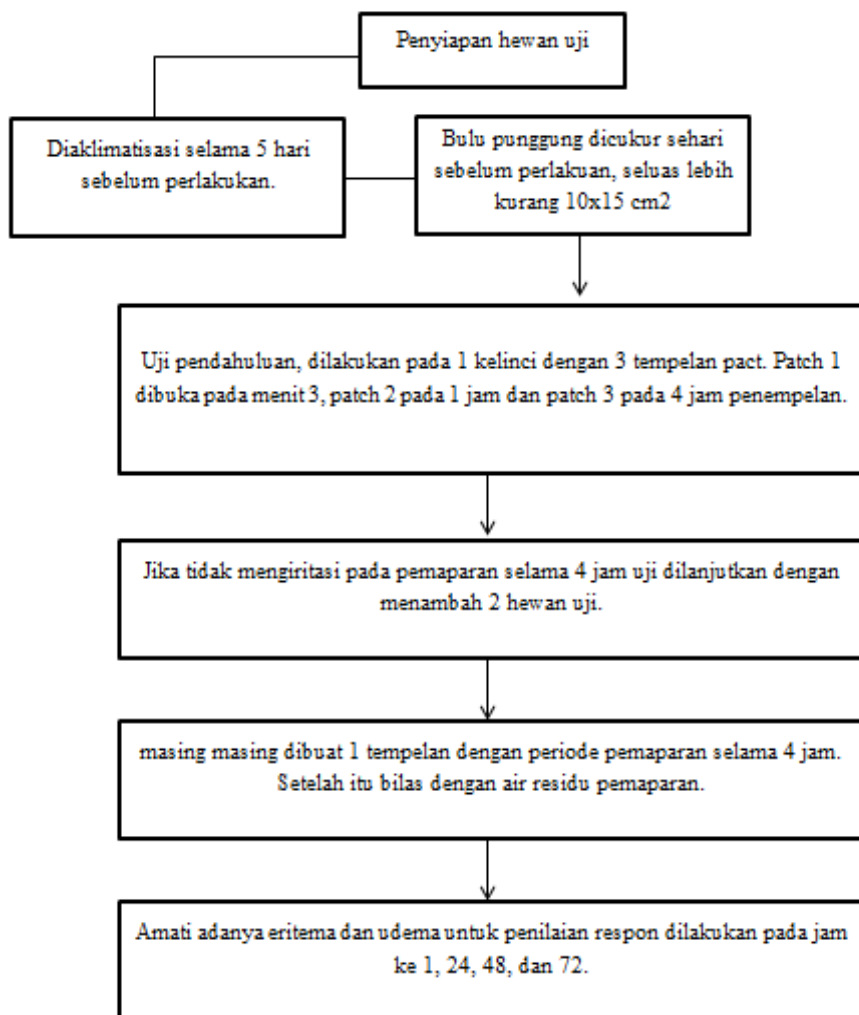
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak



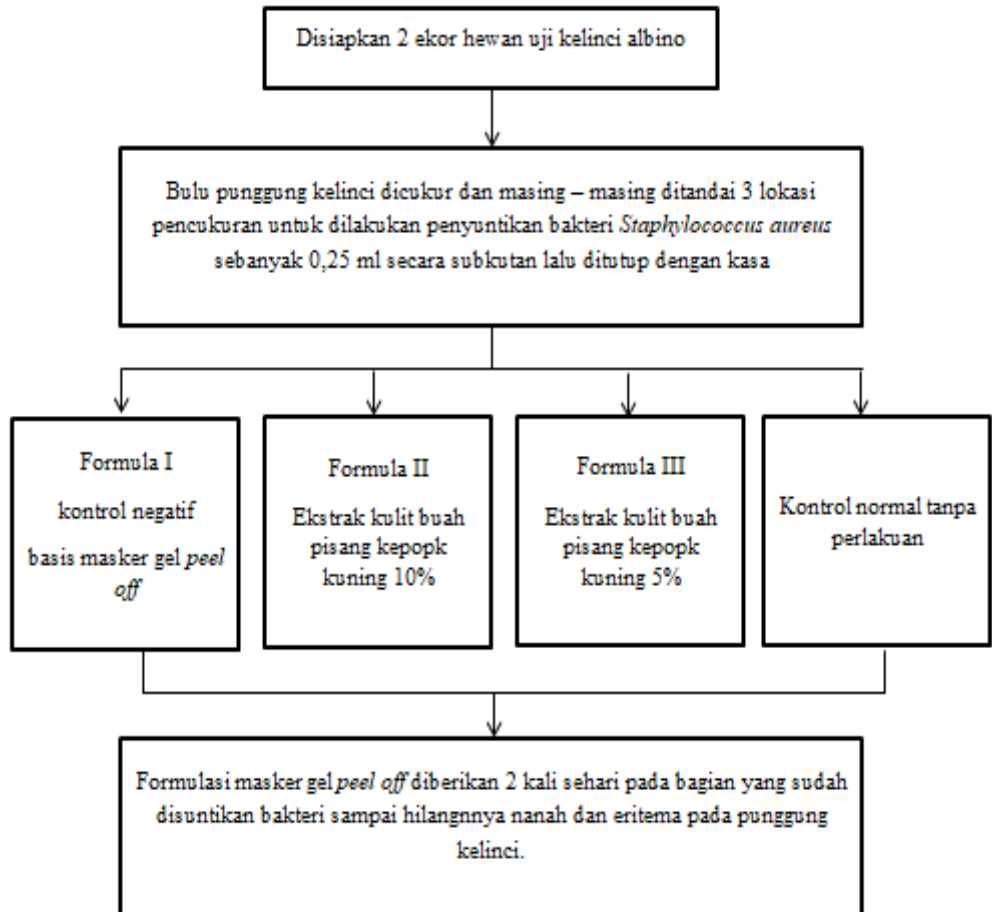
Gambar 3. Skema formulasi masker gel *peel off*



**Gambar 4. Skema uji mutu fisik sediaan**



Gambar 5. Skema uji iritasi akut dermal



Gambar 6. Skema aktivitas formula