

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi merupakan individu yang terdapat dalam ruang lingkup yang ingin diteliti, populasi pertama pada penelitian ini adalah serbuk *Spirulina* yang diperoleh dari PT Alga Bioteknologi Indonesia. Populasi kedua pada penelitian ini adalah krim ekstrak *Spirulina* dengan variasi asam stearat dan trietanolamin.

2. Sampel

Sampel merupakan sebagian dari populasi yang ingin diteliti dimana keberadaannya diharapkan mampu menggambarkan keberadaan populasi yang sebenarnya. Sampel pertama pada penelitian ini adalah serbuk *Spirulina* yang dipilih memiliki warna dan bau khas yang bisa digunakan. Sampel kedua pada penelitian ini ialah krim ekstrak serbuk *Spirulina* variasi asam stearat dan trietanolamin K- FI (12%:2,5%), FI (12%:2,5%), K- FII (10%:2,5%), FII (10%:2,5%), K- FIII (12%:2%), F III (12%:2%), K-IV (10%:2%), dan F IV (10%:2%).

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak serbuk *Spirulina*.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah formula sediaan krim ekstrak serbuk *Spirulina* dengan variasi asam stearat dan trietanolamin.

Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah pengujian mutu fisik dan stabilitas sediaan krim ekstrak *Spirulina*.

Variabel utama keempat dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri sediaan krim ekstrak *Spirulina* terhadap *Staphylococcus epidermidis*.

2. Klasifikasi Variabel Utama

2.1. Variabel bebas. Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas pada penelitian ini ialah perbandingan trietanolaim dan asam stearat.

2.2. Variabel terkontrol. Variabel terkontrol adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel terikat selain variabel bebas, sehingga kualifikasi hasil yang didapatkan bisa diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkontrol pada penelitian ini ialah proses pembuatan ekstrak, proses pembuatan krim, bakteri uji *Staphylococcus epidermidis*, suhu inkubasi, dan lamanya inkubasi.

2.3. Variabel terikat. Variabel terikat adalah titik permasalahan pada penelitian ini. Variabel terikat pada penelitian ialah zona hambat sediaan krim *Spirulina* terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Stabilitas sediaan fisik krim yang meliputi (organoleptis, pH krim, viskositas, daya lekat, daya sebar, homogenitas dan tipe krim).

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Pertama, krim *Spirulina* adalah sediaan krim dengan bahan utama yaitu *Spirulina platensis* didapatkan dari PT Alga Bioteknologi Indonesia yang dibudidayakan dengan media air tawar, menggunakan basis krim ialah *vanishing cream* kombinasi asam stearat dengan trietanolamin.

Kedua, kombinasi asam stearat dan trietanolamin adalah kombinasi untuk membuat sediaan krim dengan tipe M/A, yang diformulasikan menjadi 4 formula dengan perbandingan konsentrasi K-FI (12%:2,5%), FI (12%:2,5%), K-FII (10%:2,5%), FII (10%:2,5%), K-FIII (12%:2%), F III (12%:2%), K-IV (10%:2%), dan F IV (10%:2%).

Ketiga, uji mutu fisik adalah pengujian yang dilakukan untuk mengevaluasi sediaan krim dengan variasi asam stearat dan trietanolamin yang meliputi : uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar, uji daya lekat, dan uji viskositas.

Keempat, uji tipe krim adalah uji yang dilakukan pada sediaan krim, dengan tujuan untuk mengetahui tipe krim. Uji tipe krim dilakukan dengan 3 metode yaitu metode pewarnaan, metode pengenceran, dan metode daya hantar listrik. Kelima, uji stabilitas sediaan krim *Spirulina* dilakukan untuk mengetahui stabilitas sediaan krim setelah sediaan jadi dan setelah dilakukan *Cycling test*.

Keenam, uji antibakteri sediaan krim *Spirulina* dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* sebelum dan sesudah dilakukan *Cycling test*, kemudian dilanjutkan dengan analisis secara anova untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan sebelum dan sesudah *Cycling test*.

Ketujuh, bakteri *Staphylococcus epidermidis* adalah bakteri yang didapatkan dari laboratorium mikrobiologi Universitas Setia Budi. Bakteri ini digunakan untuk uji aktivitas antibakteri krim *Spirulina* dengan 3 kelompok perlakuan yaitu kontrol positif (gentamisin), gentamisin ialah antibiotik yang memiliki daya antibakteri yang baik terhadap bakteri gram positif seperti bakteri *Staphylococcus epidermidis*, kontrol negatif (basis krim pada masing-masing formula) dan sediaan krim *Spirulina*.

Kedelapan, metode difusi adalah salah satu metode uji antibakteri dengan prinsip menginokulasi pelat agar dengan biakan dan membiarkan sampel krim *Spirulina* kedalam media agar. Perlakuan untuk metode ini dilakukan di laboratorium mikrobiologi Universitas Setia Budi.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan sampel yang digunakan pada penelitian ini ialah serbuk *Spirulina platensis* yang dibudidayakan dengan air tawar oleh PT Alga Bioteknologi Indonesia, buffer pH 7, asam stearat, gliserin, metil paraben, setil alkohol, dan akuadest. Biakan bakteri *staphylococcus epidermidis* dengan media yang digunakan ialah *Mannitol Salt Agar* (MSA), *Muller Hinton Agar* (MHA), *Nutrien Agar* (NA), *Brain Heart Infusion* (BHI), disk cakram antibiotik gentamisin, disk cakram kosong. Uji protein : NaOH 10%, CuSO₄ 1%, dan pereaksi ninhidrin.

2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: timbangan analitik, mortir dan stamper, *object glass*, cawan porselen, alat sonikator, alat sentrifugasi, tabung reaksi, pinset, spatula, cawan petri steril, kapas steril, tabung reaksi, lampu spirtus, inkubator, erlenmeyer, wadah kaca tertutup, jangka sorong, tabung reaksi, penjepit, tempat tabung reaksi, pipet volum, jarum ose, spuit, oven, pH meter dan brookfield.

D. Jalannya Penelitian

1. Isolasi protein serbuk *Spirulina*

Ekstraksi protein pada serbuk *Spirulina* dilakukan dengan proses sonikasi serbuk *Spirulina* dilakukan dengan alat sonikator dengan menimbang *Spirulina* 1000 gram yang kemudian disonikasi dengan kecepatan 40 kHz selama 45 menit. Serbuk *Spirulina* yang telah

disonikasi kemudian disentrifugasi pada kecepatan 1000 rpm selama 20 menit, endapan dibuang dan lapisan supernatan dikumpulkan (Nihal *et al.*, 2018). Larutan $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ sebanyak 50 mg ditambahkan ke dalam 100 ml isolat protein sambil diaduk untuk mencapai saturasi 50%. Larutan didiamkan selama 120 menit, kemudian disentrifugasi kembali pada kecepatan 1200 rpm selama 30 menit. Endapan biru dicairkan dalam buffer Natrium-fosfat 0,005 M (pH-7,0). Buffer Natrium-fosfat 0,005 M (pH-7,0) dibuat dengan cara mencampurkan 70 ml Na_2HPO_4 dengan 20 ml KH_2PO_4 lalu pH diukur sampai pH 7 kemudian disaring untuk mendapatkan isolat protein yang murni (Nihal *et al.*, 2018).

2. Identifikasi senyawa protein *Spirulina*

2.1 Uji Biuret. Sampel diambil 1 ml, dimasukkan dalam tabung reaksi ditambahkan 1 ml larutan NaOH 10% dan ditambahkan 3 tetes CuSO_4 1% kemudian diamati, hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna ungu.

2.2 Uji Ninhidrin. Sampel diambil 1 ml, dimasukkan dalam tabung reaksi ditambahkan 0,5 ml pereaksi ninhidrin, panaskan diatas penangas air, kemudian amati hasil positif terbentuknya warna kompleks biru-ungu.

3. Identifikasi bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

3.1 Identifikasi makroskopis. Identifikasi ini dilakukan dengan cara penanaman bakteri pada *Mannitol Salt Agar* (MSA), dan jarum ose dipijarkan kemudian ambil koloni bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan digoreskan pada media, kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dalam memfermentasi manitol. Bakteri yang dapat memfermentasi manitol akan menghasilkan perubahan warna merah menjadi kuning, sedangkan bakteri yang tidak dapat memfermentasi manitol tidak menghasilkan perubahan warna (Badan Standardisasi Nasional, 2015).

3.2 Identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram. Menurut Lutpiatina, 2017 dilakukan pewarnaan Gram pada koloni yang tumbuh pada *Mannitol Salt Agar* (MSA). Preparat ulas diletakkan pada kaca objek, teteskan Gram A (kristal violet sebagai pewarna utama) dan diamkan selama 1 menit, cuci dengan air mengalir, teteskan Gram B (lugol iodine sebagai mordan) dan diamkan selama 1 menit, cuci kembali dengan air mengalir, teteskan Gram C (etanol sebagai blanko) diamkan

selama 30 detik, cuci pada air mengalir, teteskan kembali dengan pewarna Gram D (safranin sebagai pewarna penutup) dan diamkan selama 2 menit, cuci kembali dengan air mengalir, lalu keringkan dan amati di bawah mikroskop. Pewarnaan ini dilakukan untuk membedakan bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Pewarnaan Gram positif menghasilkan warna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif menghasilkan warna merah (Bogut *et al.*, 2014).

3.3 Identifikasi biokimia. Identifikasi bakteri *Staphylococcus epidermidis* dilakukan sebanyak 2 uji, yaitu uji katalase serta uji koagulase.

Uji katalase, dimana suspensi biakkan uji ditanam pada media nutrien cair dengan volume 0,5 kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam ditambah 2-3 tetes H₂O₂ 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus epidermidis* (Karimela *et al.*, 2017).

Uji koagulase, dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui ada atau tidak enzim koagulase yang dapat dihasilkan oleh bakteri *Staphylococcus epidermidis*, caranya dengan memasukkan plasma sitrat kedalam tabung reaksi steril secara aseptis selanjutnya memasukkan sebanyak 2-3 ose bakteri campurkan ke dalam tabung. Tabung diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gumpalan plasma pada dasar tabung (Dewi, 2013).

4. Identifikasi aktivitas anti bakteri serbuk *Spirulina* dan ekstrak serbuk *Spirulina*

Identifikasi serbuk *Spirulina* dan ekstrak serbuk *Spirulina* dilakukan untuk mengetahui isolat protein terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Identifikasi *Spirulina* dilakukan dengan perbedaan konsentrasi isolat protein antara lain 20%, 25%, dan 30%, perbedaan konsentrasi serbuk spirulina antara lain 20%, 25%, dan 30%, dengan K⁺.

4.1 Pembuatan media agar. Ditimbang media yaitu *Nutrien Agar (NA)* 2,8 gram, kemudian dilarutkan dengan 100 ml akuadest kedalam erlenmeyer. Media dipanaskan diatas penangas air sampai media agar benar-benar homogen. Disimpan pada lemari pendingin dan dipaskan kembali saat digunakan.

4.2 Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Bakteri diperoleh dari laboratorium mikrobiologi Universitas Setia Budi. Bakteri yang diambil selanjutnya diinokulasi pada media *Nutrient Agar*

(NA) dengan cara digores untuk meremajakan bakteri, diambil 1 ose dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media *Beain Heart Infusion* (BHI), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur bakteri diambil dengan jarum tabung steril kemudian disuspensikan dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan suspensi bakteri yang sama dengan standar kekeruhan Mc.Farland yaitu 0,5 atau setara dengan 1,5x10⁸ CFU/ml. Standar populasi inokulum bakteri yang digunakan adalah 5x55 CFU/ml dengan nilai serapan 0,5 sesuai standar Mc.Farland. Konsentrasi suspensi bakteri sebesar 1,5x10⁸ CFU/ml digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri (CLS, 2012). Tujuannya untuk menyamakan dengan standar Mc Farland yaitu jumlah bakteri yang digunakan pada saat penelitian harus sama dan tidak terlalu banyak atau terlalu sedikit pada saat pengujian (Wardaniati et al., 2017)

4.3 Uji Aktivitas antibakteri serbuk *Spirulina* dan ekstrak serbuk *Spirulina*. Uji bakteri pada uji pendahuluan menggunakan meote cakram dengan 3x replikasi dengan menggunakan 6 cawan petri. Prosedur ini dilakukan dengan cara menyiapkan media *Mueller Hirton Agar* (MHA) yang telah disterilkan. Kemudian dalam agar yang sudah steril dituangkan pada masing-masing cawan petri steril, lalu didiamkan hingga padat. Media agar yang sudah padat digoreskan suspensi bakteri, kemudian cakram kosong dimasukkan pada pot salep yang berisi pengenceran dengan masing-masing konsentrasi 20%, 25% dan 30%, diletakkan cakram yang terdapat sampel pada media. Tujuan digunakan metode cakram karena metode cakram lebih mudah untuk mengukur zona hambat yang terbentuk karena isolat mudah beraktivitas pada media agar.

5. Pembuatan formula krim *Spirulina*

Formulasi pembuatan krim diambil berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Nuralifah *et al.*, 2018) dengan memodifikasi variasi pada basis krim yang digunakan.

Tabel 2. Formulasi Krim Ekstrak daun sirih
(Nuralifah *et al.*, 2018)

Bahan	F0 (%)	FI (%)	FII (%)	FIII (%)	FIV (%)
Ekstrak daun sirih	-	0,5	1	1,5	2
Asam stearat	12	12	12	12	12
Trietanolamin	3	3	3	3	3
Setil Alkohol	2	2	2	2	2
Gliserin	8	8	8	8	8
Metil paraben	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2

Propil paraben	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Rose Oil	3 tts				
Akuades	Add 100				

Tabel 3. Formulasi krim antijerawat serbuk *spirulina*

Bahan	K-FI (%)	FI (%)	K-FII (%)	FII (%)	K-FIII (%)	FIII (%)	K-FIV (%)	FIV (%)
Serbuk <i>Spirulina</i>	-	25	-	25	-	25	-	25
Asam stearat	12	12	10	10	12	12	10	10
Trietanolamin	2,5	2,5	2,5	2,5	2	2	2	2
Setil Alkohol	2	2	2	2	2	2	2	2
Gliserin	8	8	8	8	8	8	8	8
Metil paraben	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Propil paraben	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Akuades	Add 100	Add 100	Add 100	Add 100	Add 100	Add 100	Add 100	Add 100

Keterangan :

Kontrol negatif : Basis krim tanpa pemberian ekstrak serbuk *Spirulina*

Kontrol positif : Disk cakram antibiotik gentamicin 1%

K- FI : asam stearat : trietanolamin (12%:2,5%)

FI : asam stearat : trietanolamin (12%:2,5%)

K- FII : asam stearat : trietanolamin (10%:2,5%)

FII : asam stearat : trietanolamin (10%:2,5%)

K- FIII : asam stearat : trietanolamin (12%:2%)

F III : asam stearat : trietanolamin (12%:2%)

K-IV : asam stearat : trietanolamin (10%:2%)

F IV : asam stearat : trietanolamin (10%:2%)

Sediaan krim *Spirulina* dibuat dengan mencampurkan bahan fase minyak dan fase air. Bahan yang digunakan pada fase minyak adalah (asam stearat dan setil alkohol), sedangkan pada fase air (trietanolamin, gliserin, metil paraben dan akuadest). Fase minyak dan fase air dipanaskan dengan suhu yang sama yaitu 70°C, setelah fase minyak meleleh seluruhnya fase minyak dimasukkan ke dalam mortir yang telah dipanaskan sebelumnya. Fase air kemudian ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam mortir yang mengandung fase minyak sambil terus diaduk. Tambahkan ekstrak serbuk *Spirulina* sedikit demi sedikit kemudian digerus hingga diperoleh massa krim yang homogen (Husnani *et al.*, 2019). Sediaan krim dibuat dalam 8 formula dengan membandingkan variasi konsentrasi asam stearat dan trietanolamin, dilanjutkan dengan uji mutu fisik sediaan krim, uji tipe sediaan krim, uji tabilitas dan uji aktivitas antibakteri.

6. Uji Mutu Fisik Sediaan Krim *Spirulina*

6.1 Organoleptis. Pengujian organoleptik dilakukan dengan mengamati bentuk krim, warna dan bau krim (Husnani *et al.*, 2019)

6.2 Homogenitas. Pengujian homogenitas dilakukan dengan cara krim *Spirulina* dioleskan pada kaca objek yang bersih. Kaca objek dikatupkan dengan kaca objek lain, kemudian diamati. Homogenitas ditunjukkan dengan tidak adanya butiran kasar (Kindangen *et al.*, 2018).

6.3 Viskositas. Uji viskositas dilakukan dengan alat Viscometer Brookfield dengan spindle no 7 dan waktu 5 detik. Spindle temperatue dicelupkan bersamaan ke dalam krim. Viskositas diketahui dengan mengamati layar pada alat berhenti. Persyaratan viskositas krim yang baik adalah antara 2000-50000 cP (Erwiyanti *et al.*, 2018).

6.4 Uji Daya Lekat. Sediaan krim *Spirulina* ditimbang 0,5 gram, kemudiaan diletakkan pada object glass yang telah ditentukan luasnya (oleskan pada bagian yang halus) pada alat uji. Object glass yang lain pada permukaan yang halus diletakkan diatas krim tersebut. Kemudian ditelakkan beban 500 gram selama 5 menit. Beban seberat 80 gram dilepaskan sehingga menarik object glass bagian bawah. Persyaratan untuk uji daya lekat ialah waktu lekatnya harus lebih dari 2-300 detik (Swastika *et al.*, 2013).

6.5 Daya sebar. Sediaan krim *Spirulina* ditimbang 0,5 gram, kemudiaan diletakkan pada 2 lempeng kaca. Lempeng kaca bagian atas ditimbang terlebih dahulu kemudian diletakkan diatas krim dan dibiarkan 1 menit. Diatasnya diberi beban tambahan 50 gram, dibiarkan 1 menit dan diukur diameter sebaranya. Kemudian ditambah lagi beban tambahan maksimum 150 gram dan diukur kembali diameter sebaranya (Swastika *et al.*, 2013).

6.6 pH. Pengukuran pH menggunakan pH meter, alat terlebih dahulu dikalibrasi dengan larutan dapar pH netral (pH 7,01) dan larutan dapar pH asam (pH 4,01) hingga alat menunjukkan pH tersebut. Elektroda dicuci dengan akuadest lalu keringkan dengan tisu. Sediaan dilarutkan dalam akuades hingga 50 ml, kemudian elektroda dicelupkan dalam larutan. Dibiarkan alat menunjukkan pH konstan. Rentang pH krim berkisar antara 4.0 – 7.5 (Yumas, 2016).

7. Uji Tipe Krim

7.1 Metode pemberian warna. Krim dioleskan pada kaca objek kemudian ditetesi dengan metilen blue jika warna dominan biru maka

tipe krim M/A. Krim dioleskan pada kaca objek ditetesi dengan sudan III jika warna dominan merah maka tipe krim A/M.

7.2 Metode pengenceran. Krim ditimbang 0,5 gram kemudian dimasukkan dalam beaker glass ditambah akuadest dan diaduk, jika diperoleh campuran homogen maka tipe krim M/A. Krim ditimbang 0,5 gram kemudian dimasukkan dalam beaker glass ditambah minyak dan diaduk, jika diperoleh campuran homogen maka tipe krim A/M.

7.3 Metode pengukuran daya hantar listrik. Celupkan alat viskometer pada sampel krim kemudian amati pergerakan jarum volmeter, jika terjadi pergerakan maka tipe krim M/A dan jika tidak terjadi pergerakan maka tipe krim A/M.

8. Uji Stabilitas Krim *Spirulina*

Uji stabilitas sediaan krim menurut Nisa *et al.*, 2017 dan Dewi *et al.*, 2014 yaitu metode *Cycling test* dilakukan dengan menyimpan sediaan krim dalam berbagai konsentrasi suhu 4°C selama 24 jam lalu dipindahkan ke dalam oven bersuhu 40° ± 2°C selama 24 jam (satu siklus). Uji dilakukan sebanyak 6 siklus, kemudian diamati perubahan fisik yang terjadi yaitu berupa ada atau tidaknya pemisahan, viskositas, organoptis dan pH.

9. Sterilisasi alat dan bahan.

Sterilisasi alat dilakukan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Pinset dan jarum ose disterilkan dengan cara dipijarkan pada bunsen yang menyala.

10. Persiapan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif.

10.1 Kontrol positif. Pada penelitian ini yang digunakan sebagai kontrol positif ialah disk cakram antibiotik gentamisin.

10.2 kontrol negatif. Pada penelitian ini yang digunakan sebagai kontrol negatif ialah basis krim.

11. Pembuatan media agar.

Ditimbang media yaitu *Nutrien Agar* (NA) 2,8 gram, kemudian dilarutkan dengan 100 ml akuadest kedalam erlenmeyer. Media dipanaskan diatas penangas air sampai media agar benar-benar homogen. Disimpan pada lemari pendingin dan dipaskan kembali saat digunakan.

12. Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Bakteri didapatkan dari laboratorium mikrobiologi Universitas Setia Budi. Bakteri yang diambil kemudian diinokulasikan dengan cara digoreskan pada media *Nutrien Agar* (NA) untuk peremajaan bakteri,

diambil 1 ose dan dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi media Beain Heart Infusion (BHI), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Biakan bakteri diambil dengan jarum ose steril lalu disuspensikan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl 0,9% sampai didapat kekeruhan suspensi bakteri yang sama dengan kekeruhan standar Mc.Farland 0,5 setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. Standar populasi inokulum bakteri yang digunakan sebesar 5×10^5 CFU/ml dengan nilai absorbansi 0,5 sesuai dengan standar Mc.Farland Konsentrasi suspensi bakteri ialah $1,5 \times 10^8$ CFU/ml yang digunakan pada pengujian aktivitas antibakteri (CLS, 2012). Tujuan disamakan dengan standar Mc Farland yaitu agar banyaknya bakteri yang digunakan pada saat penelitian jumlahnya sama serta tidak terlalu banyak atau tidak terlalu sedikit pada saat pengujian (Wardaniati *et al.*, 2017).

13. Uji Aktivitas antibakteri sediaan krim serbuk *Spirulina* dengan metode cakram.

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode cakram dengan 3x replikasi dalam 3 cawan petri. Pengujian ini dilakukan dengan menyiapkan media *Mueller Hirton Agar* (MHA) yang steril, kemudian dituangkan pada masing-masing cawan petri steril, lalu didiamkan hingga padat. Media agar padat digoreskan suspensi bakteri, kemudian cakram kosong di masukkan pada pot salep yang berisi pada setiap formulasi sediaan krim *Spirulina*, diletakkan cakram yang terdapat sampel pada media, cawan diinkubasi selama 18 - 24 jam pada suhu 37°C . Metode cakram digunakan pada uji aktivitas antibakteri karena metode cakram lebih mudah untuk mengukur zona hambat yang terbentuk karena isolat mudah beraktivitas pada media agar.

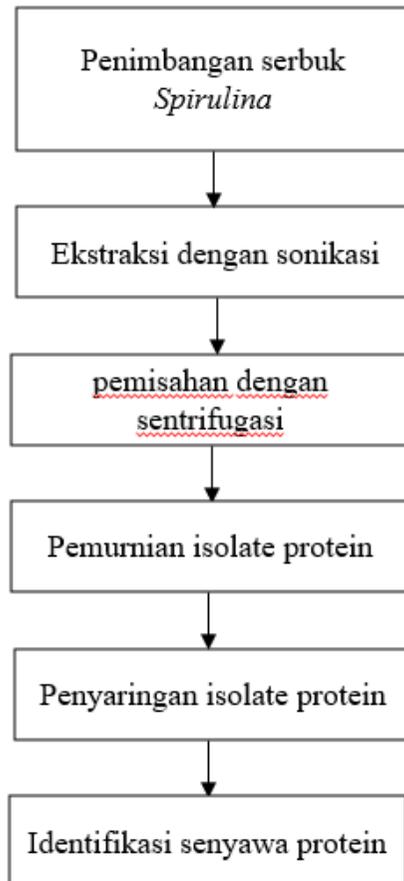
E. Analisis Hasil

Analisis hasil pengujian dari berbagai parameter uji mutu fisik antara lain viskositas, organoleptis, daya lekat, daya sebar, pH, uji stabilitas antara lain viskositas, organoleptis, pH, uji pendahuluan aktivitas antibakteri serbuk *Spirulina* serta ekstrak serbuk *Spirulina*, dan uji antivitas antibakteri formula krim *Spirulina* terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dianalisis menggunakan program SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*). Data hasil penelitian dianalisis dengan *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui normalitas data. Data yang didapat terdistribusi normal sig.>0,05 dilakukan uji homogenitas menggunakan *Levene Test* dan selanjutnya dianalisis dengan *One Way*

Anova. Hasil terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji *Pos Hoc test* untuk mengetahui perbedaan setiap formula.

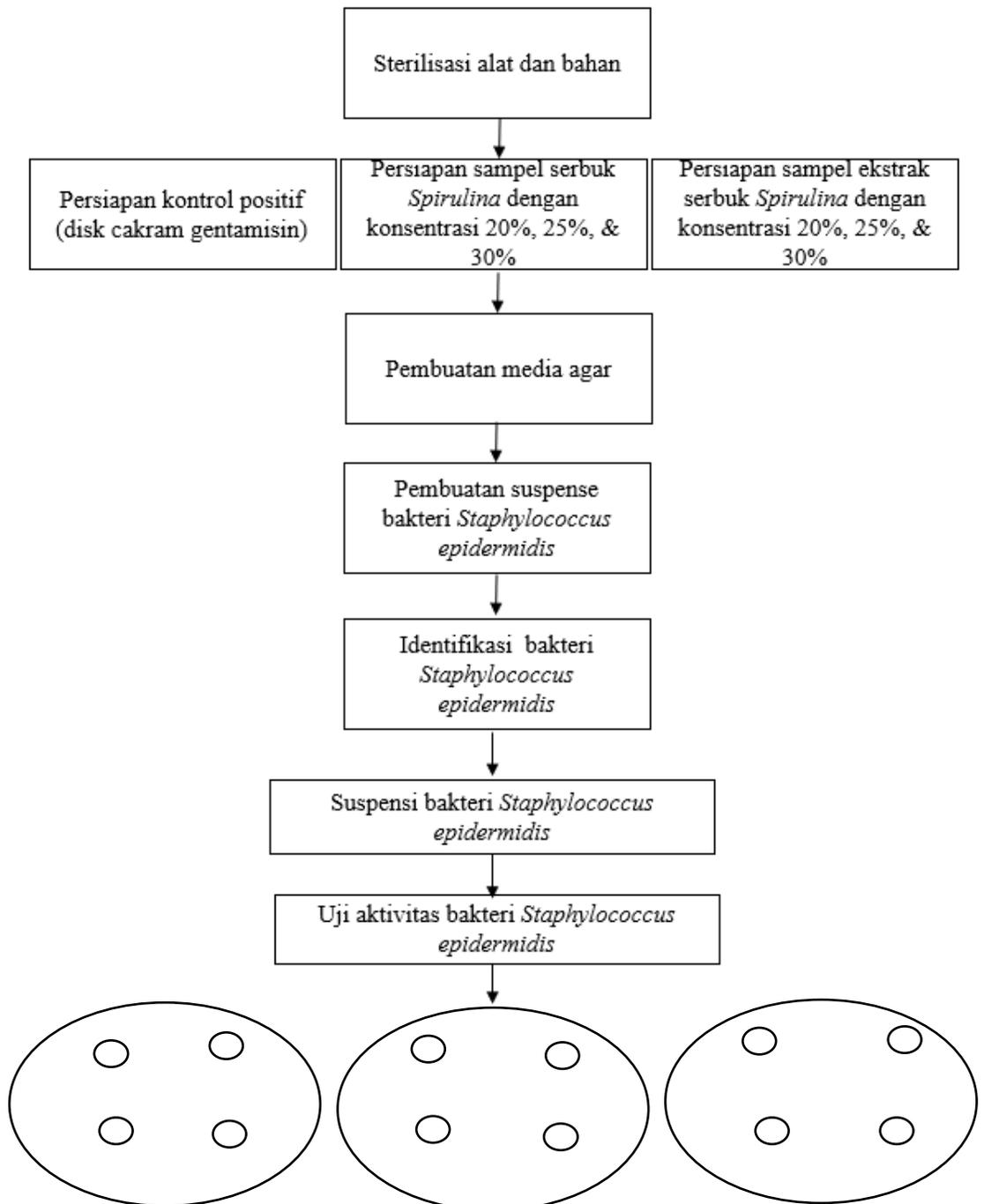
F. Skema Penelitian

1. Uji Pendahuluan Pembuatan Ekstrak Serbuk *Spirulina*



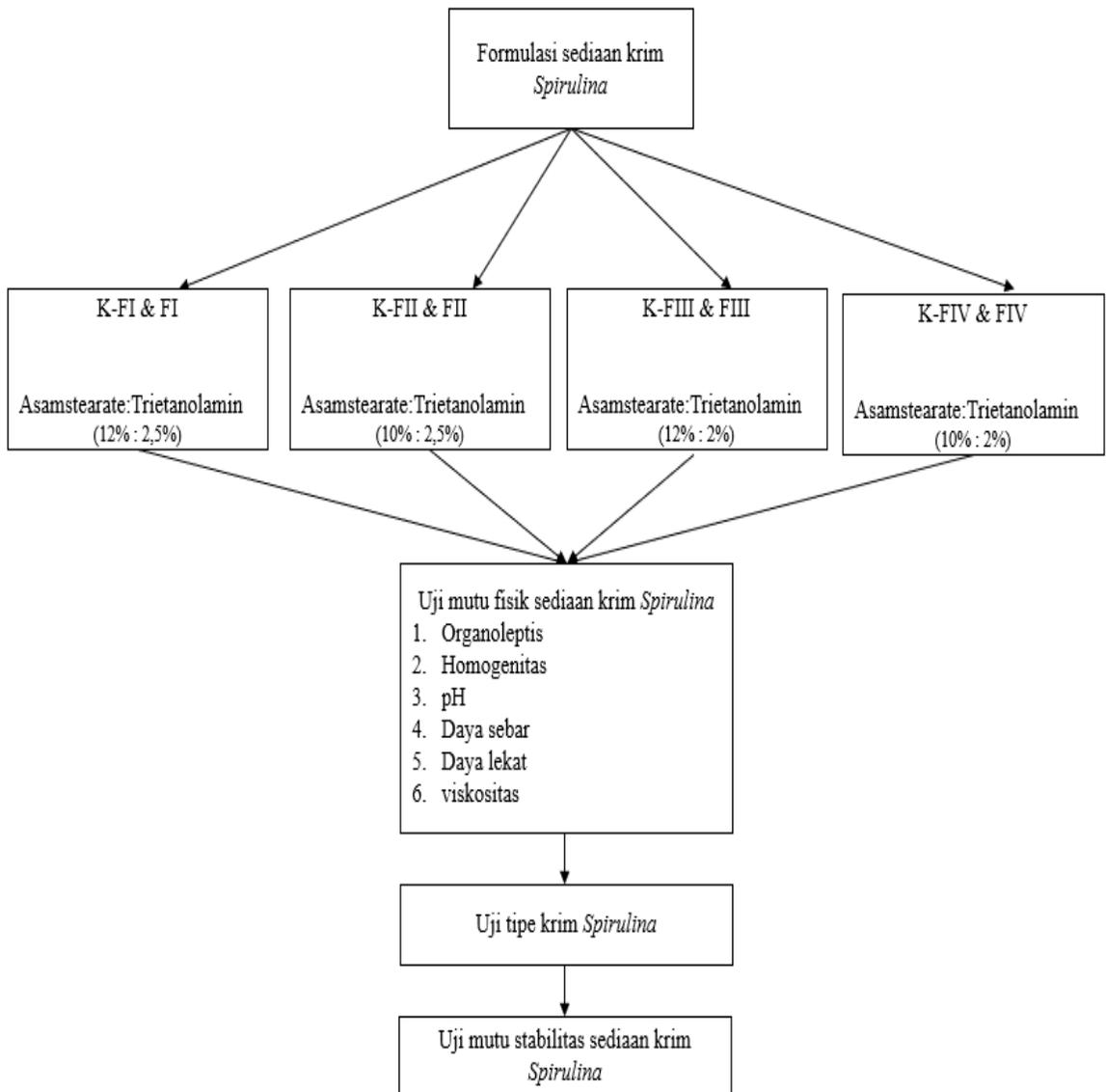
Gambar 12. Skema Pembuatan Ekstrak Serbuk *Spirulina*

2. Uji Pendahuluan Pembuatan Ekstrak Serbuk *Spirulina*



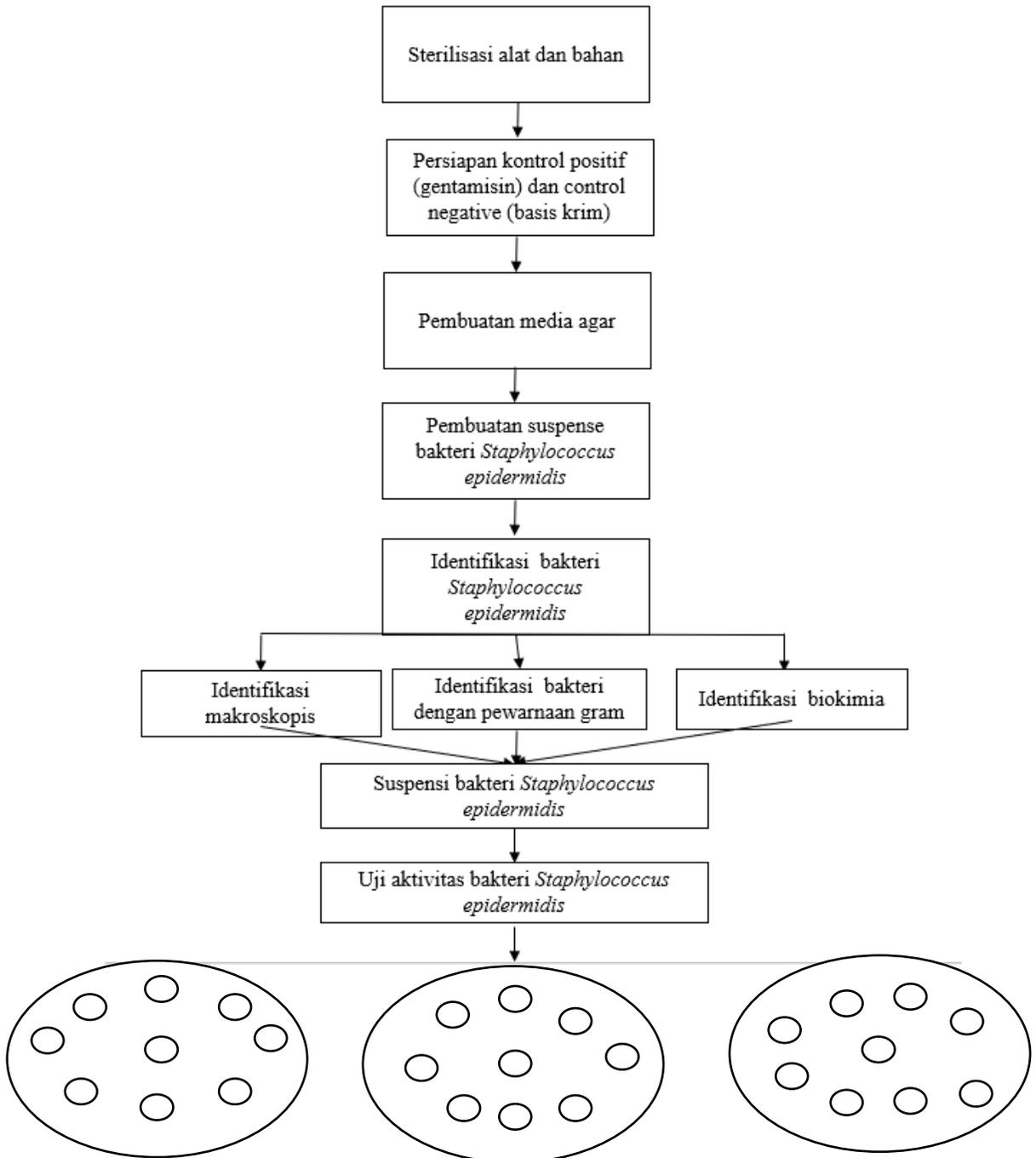
Gambar 13. Uji Pendahuluan Pembuatan Ekstrak Serbuk *Spirulina*

3. Pembuatan Formulasi Sediaan Krim *Spirulina*



Gambar 14. Pembuatan Formulasi Sediaan Krim *Spirulina*

4. Uji Antibakteri



Gambar 15. Uji Antibakteri