

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah keseluruhan objek penelitian. Kelompok penelitian ini mencakup semua sediaan *Clay mask* yang mengandung ekstrak daun kelor. Sediaan *Clay mask* ekstrak daun kelor ini menjadi fokus utama penelitian.

Sampel merupakan bagian dari populasi penelitian. Sampel dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak daun kelor (5%, 7,5%, dan 10%) dan variasi komposisi kaolin dan xanthan gum.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah sediaan *Clay mask* yang mengandung ekstrak daun kelor

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah Konsentrasi kaolin dan xanthan gum dalam *Clay mask* ekstrak daun kelor

Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah mutu fisik dan stabilitas sediaan *Clay mask* ekstrak daun kelor.

Variabel utama keempat dalam penelitian ini adalah kemampuan antibakteri *Clay mask* ekstrak daun kelor pada bakteri *Staphylococcus aureus*

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang diidentifikasi digolongkan ke dalam berbagai jenis variabel seperti variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel terikat.

Variabel bebas adalah variabel yang dapat diubah-ubah untuk melihat bagaimana pengaruhnya terhadap variabel lain. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi ekstrak daun kelor dengan variasi kaolin dan xanthan gum.

Variabel terikat adalah variabel yang diamati untuk mengukur pengaruh yang ditimbulkan oleh variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah uji mutu fisik dan aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

Variabel terkontrol adalah variabel yang mempengaruhi variabel terikat, sehingga kualifikasi harus dikendalikan agar hasil yang diperoleh tidak tersebar atau tidak dapat sepenuhnya diulang oleh

peneliti lain. Variabel terkendali dalam penelitian ini meliputi bakteri *Staphylococcus aureus*, ekstrak daun kelor, proses pembuatan suspensi, suhu, sterilisasi, tingkat pengolesan, metode penelitian, kesterilan laboratorium penelitian, kondisi peneliti, metode difusi, jumlah bakteri dalam suspensi, dan media.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun kelor adalah daun yang didapat dari Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, daun segar dan sehat dipilih secara acak, kemudian dicuci dengan air mengalir, dipotong kecil-kecil, dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di tempat yang terlindung dari sinar matahari hingga kering. Serbuk dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk yang halus, kemudian dilakukan ekstraksi.

Kedua, ekstrak daun kelor adalah ekstrak yang dihasilkan melalui ekstraksi ultrasonik dengan etanol 96% sebagai pelarut.

Ketiga, sediaan *Clay mask* adalah pembuatan sediaan dengan basis thickener agent kaolin dan xanthan gum.

Keempat, mutu fisik sediaan *Clay mask* dengan variasi konsentrasi kaolin dan xanthan gum adalah uji yang meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji viskositas, uji daya sebar, uji daya lekat, uji lama waktu mengering.

Kelima, bakteri *Staphylococcus aureus* adalah bakteri uji yang diperoleh dari Universitas Setia Budi Surakarta.

Keenam, aktivitas antibakteri *Clay mask* ekstrak daun kelor adalah uji aktivitas menggunakan metode cakram disk untuk menentukan aktivitas antibakteri dari sediaan yang berdasarkan ukuran zona bening yang terbentuk. Zona bening yang terbentuk dari pengujian antibakteri merupakan hasil dari kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan untuk ekstrak maserasi dan uji fitokimia yaitu Erlenmeyer, mesin blender, neraca analitik, gelas ukur, pisau, pipet tetes, toples kaca, saringan, toples, beaker glass, vacum rotary evaporator, desikator, oven, waterbath, kurs porselen, lampu spirtus, ayakan mesh no 60.

Alat untuk pembuatan dan uji mutu fisik *Clay mask* yaitu mortir dan stamper, sudip, neraca analitik, tabung reaksi, beaker glass, batang pengaduk, gelas ukur, Erlenmeyer, cawan porselin, pipet tetes, kaca transparan, moisture balance, viskometer Brookfield, pH meter.

Alat untuk uji aktivitas antibakteri adalah LAF, vortex mixer, jangka sorong, korek api, rak tabung reaksi, cawan petri, lampu spiritus, jarum ose, pH meter, pinset, kapas, label, inkubator, autoclave, oven, mikropipet, boor prop, object glass, mikroskop, ent-kas, kertas coklat, pipet pasteur steril.

Alat yang digunakan untuk pewarnaan Gram adalah object glass, pipet tetes, mikroskop. Alat untuk uji katalase dan koagulase yaitu jarum ose, pipet volume, object glass, deck glass, tabung reaksi, bunsen.

2. Bahan

Bahan sampel yang akan digunakan pada penelitian ini adalah daun kelor segar yang diperoleh dari daerah Tawangmangu, kab. Karanganyar, Jawa Tengah dan etanol 96% yang digunakan untuk ekstraksi. Bahan pengujian ekstrak antara lain reagen Dragendroff, reagen Wagner, Etanol 96%, H_2SO_4 , CH_3COOH , HCl pekat, logam Mg, air hangat, FeCl_3 .

Bahan yang digunakan untuk proses pembuatan *Clay mask*: ekstrak daun kelor, Kaolin, Kaolin e, Propilen glikol, Nipagin, Xanthan gum, *Oleum rosae*, dan aquadest. Bahan yang digunakan untuk pengujian antibakteri: bakteri *Staphylococcus aureus*, *Clay mask* merk X, klindamisin solution 1,2%, media Muller Hinton Agar (MHA), media Nutrient Agar (NA), media MSA, kristal violet, safranin, cairan H_2O_2 , koagulase plasma, larutan Mc. Farland, larutan lugol.

Bahan yang digunakan untuk uji pewarnaan Gram adalah pewarna kristal violet, pewarna lugols iodine, etanol 96% atau aseton, dan safranin. Bahan untuk uji biokimia yaitu H_2O_2 3%, BHI, plasma EDTA, dan bakteri *Staphylococcus aureus*.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tujuan penentuan tanaman kelor adalah untuk memastikan identitas sampel daun yang digunakan dalam penelitian. Hal ini dilakukan dengan membandingkan karakteristik fisik tanaman dengan panduan identifikasi yang telah disepakati. Langkah ini krusial agar

dapat menghindari kesalahan penggunaan sampel yang dapat mempengaruhi akurasi hasil penelitian. (Diniatik, 2015). Determinasi tanaman daun kelor dilakukan di RSUP Kesehatan dr. Sardjito.

2. Pengumpulan Bahan

Bahan penelitian yang digunakan adalah daun kelor segar yang diperoleh dari RSUP Kesehatan dr. Sardjito. Daun yang dipakai adalah daun yang berwarna hijau segar dan tidak layu. Daun kelor diolah menjadi bubuk halus dengan cara diblender dan diayak dengan ayakan 60 mesh. Berat serbuk diukur dengan menggunakan neraca analitik sesuai kebutuhan pembuatan ekstrak.

3. Pemeriksaan susut pengeringan serbuk

Penyusutan selama proses pengeringan serbuk daun kelor diukur dengan alat moisture balance. Pertama, 2 gram serbuk ditimbang dan dimasukkan ke dalam alat yang berlapiskan alumunium. Alat akan berbunyi alarm saat nilai susut pengeringan serbuk sudah konstan. Pengukuran ini diulang sebanyak 3 kali untuk memastikan hasilnya akurat, dengan syarat kelembapan serbuk yang dihasilkan tidak lebih dari 10% (DepKes R1, 2000).

4. Pembuatan ekstrak daun kelor

Serbuk daun kelor sebanyak 500 gram diekstrak dengan 5000 mL etanol 96% dalam erlenmeyer kemudian dilakukan sonikasi. Ekstraksi dilakukan pada suhu 35°C. Hasil ekstrak kemudian disaring dan dipekatkan menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental.

5. Pemeriksaan organoleptis ekstrak daun kelor

Kualitas ekstrak daun kelor dievaluasi berdasarkan sifat fisiknya, yaitu bentuk, warna, dan bau.

6. Penetapan kadar air ekstrak daun kelor

Penetapan kadar air ekstrak menggunakan metode gravimetri dengan menimbang 10 gram ekstrak ke dalam wadah yang telah ditara. Pengeringan kadar air menggunakan oven suhu 105°C. Lakukan penimbangan setiap 1 jam sekali sampai perbedaan penimbangan berturut-turut tidak melebihi 0,0005 gram.

7. Identifikasi kandungan senyawa ekstrak daun kelor dengan uji fitokimia

Kandungan senyawa dalam ekstrak daun kelor dianalisis menggunakan metode skrining fitokimia. Metode ini meliputi

pengujian terhadap beberapa golongan senyawa, yaitu tanin, saponin, flavonoid, dan steroid/triterpenoid. (Khaerati, 2011) :

7.1. Tanin. 1 mL ekstrak daun kelor direbus bersama 10 mL air, lalu disaring. Pemberian larutan FeCl_3 1% beberapa tetes mengakibatkan warna berubah menjadi coklat kehijauan atau biru kehitaman, menandakan adanya tanin dalam ekstrak (Gustiana, 2022).

7.2. Saponin. 0,5 gram ekstrak daun kelor dilarutkan dalam 10 ml air panas dalam tabung reaksi. Inkubasi dan diaduk hingga berbusa, campuran dicampur dengan larutan HCl 2N. Kehadiran saponin dalam ekstrak terbukti dengan pembentukan busa stabil selama 10 menit (Kristianingsih, 2018).

7.3. Flavonoid. Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun kelor dilarutkan dalam etanol dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Lalu, bubuk magnesium, HCl pekat, dan amil alkohol dimasukkan. Larutan dikocok dengan keras dan kemudian didiamkan sampai terjadi perpecahan. Perubahan warna menjadi merah atau coklat di lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid golongan flavon dalam ekstrak (Lianah, 2021).

7.4. Steroid/Triterpenoid. Ekstrak daun kelor sebanyak 0,5 gram dicampur dengan 15 tetes asetat anhidrida dan 5 tetes asam sulfat pekat. Kehadiran warna biru menandakan keberadaan senyawa steroid, sedangkan warna merah menunjukkan keberadaan senyawa terpenoid (Kristianingsih, 2018).

7.5. Alkaloid. Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditimbang lalu ditambahkan 1 mL larutan asam klorida 2 N dan 9 mL akuades, kemudian dipanaskan selama dua menit menggunakan penangas air. Setelah pemanasan, campuran disaring dan filtrat yang diperoleh digunakan untuk pengujian senyawa alkaloid. Sebanyak 0,5 mL filtrat dimasukkan ke dalam tiga tabung reaksi yang berbeda, kemudian masing-masing tabung diberi pereaksi spesifik, yaitu Mayer, Bouchardat, dan Dragendorff. Terbentuknya endapan atau kekeruhan pada minimal dua dari tiga tabung uji menandakan hasil positif terhadap keberadaan alkaloid. Uji dinyatakan positif jika terbentuk endapan atau kekeruhan pada setidaknya dua dari tiga percobaan (Depkes RI, 1995).

7.6. Uji bebas etanol. Pengujian bebas etanol dilakukan guna memverifikasi bahwa ekstrak daun kelor tidak mengandung etanol lagi. Eksperimen ini melibatkan pencampuran ekstrak dengan H_2SO_4 dan

CH₃COOH, lalu dipanaskan. Tidak adanya aroma ester yang spesifik menunjukkan hasil yang positif tidak mengandung etanol (Kurniawati, 2015).

8. Sterilisasi Alat

Seluruh alat dan media pertumbuhan mikroba yang akan digunakan harus menjalani proses sterilisasi terlebih dahulu untuk mencegah kontaminasi serta pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan. Proses sterilisasi dapat dilakukan melalui tiga metode, yaitu sterilisasi dengan udara kering, sterilisasi menggunakan uap air panas, dan sterilisasi uap air panas bertekanan. Metode sterilisasi udara kering biasanya dilakukan dengan oven, yang digunakan untuk mensterilkan peralatan laboratorium berbahan kaca seperti labu erlenmeyer, cawan petri, dan tabung reaksi, pada suhu 170–180°C selama dua jam. Untuk bahan cair yang tidak tahan terhadap suhu tinggi oven, digunakan sterilisasi uap air panas menggunakan alat sterilisator uap Arnold pada suhu 100°C selama 30 menit. Sementara itu, sterilisasi uap air panas bertekanan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C pada tekanan 2 atm selama 15 menit, yang dilengkapi dengan katup pengaman sebagai pengatur tekanan (Majidah *et al.*, 2014).

9. Peremajaan bakteri

Staphylococcus aureus yang telah dikultur murni diambil secara aseptik menggunakan ose steril dan diinokulasi pada medium agar miring Nutrient Agar (NA). Medium tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Wijayanti dan Safitri, 2018).

Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dibuat dengan mengambil 1 ose bakteri dan memasukkannya ke dalam tabung berisi medium Brain Heart Infusion (BHI). Suspensi dihomogenkan menggunakan alat vorteks dan kekeruhannya disesuaikan dengan standar kekeruhan McFarland 0,5 (Agustin *et al.*, 2018).

10. Identifikasi bakteri

10.1. Identifikasi bakteri pada media MSA. Satu ose *Staphylococcus aureus* dipindahkan dari suspensi BHI ke agar MSA untuk isolasi. MSA Media kemudian dibiarkan tumbuh pada suhu 37°C selama 24 jam (Dewi, 2013). Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada media MSA terlihat dengan adanya perubahan warna media dari merah ke kuning (Hayati *et al.*, 2019).

10.2. Identifikasi morfologi secara pewarnaan Gram. Karakteristik Gram dan struktur bakteri dapat dilihat melalui teknik

pewarnaan Gram. Cara ini melibatkan menorehkan bakteri uji pada kaca objek, memperbaiki di atas api Bunsen, dan mencelupkan kristal violet selama 1-2 menit. Pewarna sisa disiram dengan air mengalir, lalu preparat disiram dengan larutan lugol selama 30 detik sebelum dibilas kembali. Kemudian sampel dilarutkan dengan alkohol 96% sampai warnanya hilang, dan dibersihkan dengan udara yang mengalir. Langkah terakhir adalah membiarkan safranin meresap selama 2 menit, menyiramkan air mengalir, dan mengeringkan preparat. Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x (Hayati *et al.*, 2019). *Staphylococcus aureus* dianggap positif karena memiliki karakteristik sebagai bakteri Gram-positif berbentuk kokus yang bergerombol seperti anggur dan berwarna ungu ketika diperbesar di bawah mikroskop 100x.

10.3. Identifikasi biokimia secara fisiologi. Uji katalase dipakai untuk membedakan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengujian dilakukan dengan meneteskan H_2O_2 pada kaca preparat dan menambahkan satu ose inokulum dari media MSA. Bahan-bahan dicampurkan hingga merata lalu diperhatikan. Pengamatan yang menunjukkan adanya gelembung gas (O_2) menandakan adanya hasil positif pada tes katalase, yang merupakan ciri khas dari genus *Staphylococcus* (Hayati *et al.*, 2019). Pemeriksaan koagulasi dilakukan untuk mendeteksi apakah bakteri mengeluarkan enzim koagulasi, yang menjadi tanda khas dari *Staphylococcus aureus*. Eksperimen ini dilakukan dengan mengambil sejumlah kecil bakteri dan memasukkannya ke dalam 1 ml media BHI. Campuran diamati selama 24 jam. Setelah masa inkubasi, 1 ml plasma dari kelinci ditambahkan dan campuran kemudian diinkubasi selama 4 jam lagi. Apabila tidak ada pembentukan gumpalan, maka inkubasi akan dilanjutkan selama 24 jam. Hasil negatif pada uji koagulasi menampilkan tidak adanya gumpalan seperti gel, sedangkan hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya gumpalan pada tabung (SNI, 2015).

11. Aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan merendam cakram disk ke dalam sampel yang akan diuji. Media MHA diinokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan kapas steril dengan cara digoreskan sebanyak tiga kali pada seluruh permukaan media. Media yang telah diinokulasi disiapkan dalam 5 disk cakram. Setiap disk cakram direndam dengan ekstrak daun kelor 5%, 7,5%, dan 10%,

klindamisin 1,2% sebagai kontrol positif, dan DMSO 5% sebagai kontrol negatif. Diameter area hambatan di sekitar cakram dihitung dengan menggunakan jangka sorong (Lubis, 2020)

12. Formulasi *Clay mask* dengan ekstrak daun kelor

Tahap awal pembuatan *Clay mask* dengan ekstrak daun kelor adalah menentukan formulasi yang tepat. Formulasi ini didasarkan pada penelitian Ardhanay *et al.*, (2022) yang menghasilkan *Clay mask* dengan mutu fisik dan stabilitas yang baik. Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan *Clay mask* ini meliputi ekstrak daun kelor, Kaolin, bentonit, Propilen glikol, Nipagin, Xanthan gum, *Oleum rosae*, dan aquadest. Perencanaan formula yang akan dilakukan sebagai berikut:

Tabel 1. Rumusan formula *Clay mask*

Bahan	Formula %						Fungsi
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	
Ekstrak daun kelor	10	-	10	-	10	-	Zat aktif
Kaolin	27	27	24	24	21	21	Thickener agent
Bentonit	3	3	3	3	3	3	Thickener agent
Propilenglikol	10	10	10	10	10	10	Humectant
Xanthan Gum	1	1	1,5	1,5	2	2	Thickener agent
TEA	2	2	2	2	2	2	Emulsifier
Nipagin	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	Pengawet
Nipasol	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	Pengawet
<i>Oleum Rosae</i>	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	Pengaroma
Aquades	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Pelarut

(Erinda, 2022)

Keterangan :

F1 : *Clay mask* 27 : 1 kaolin dan xanthan gum dengan ekstrak

F2 : *Clay mask* 27 : 1 kaolin dan xanthan gum tanpa ekstrak

F3 : *Clay mask* 24 ; 1,5 kaolin dan xanthan gum dengan ekstrak

F4 : *Clay mask* 24 : 1,5 kaolin dan xanthan gum tanpa ekstrak

F5 : *Clay mask* 21 : 2 kaolin dan xanthan gum dengan ekstrak

F6 : *Clay mask* 21 : 2 kaolin dan xanthan gum tanpa ekstrak

13. Prosedur pembuatan *Clay mask*

Kaolin didispersikan dalam 25 mL air panas pada suhu 40-50°C dan digerus menggunakan mortir hingga homogen. Kemudian, xanthan gum ditambahkan dan digerus hingga homogen. Propilen glikol dan ekstrak daun kelor ditambahkan dan digerus hingga homogen. Selanjutnya, nipagin dan nipasol yang telah dilarutkan dalam trietanolamina (TEA) dimasukkan ke dalam mortir sambil terus digerus hingga sediaan homogen. Kemudian, bentonit ditambahkan sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga homogen. *Oleum rosae*

ditambahkan, dan terakhir, sisa air ditambahkan, kemudian digerus hingga homogen. Sediaan disimpan pada suhu ruang (20-25°C).

14. Evaluasi sediaan mutu fisik *Clay mask* ekstrak daun kelor

14.1 Uji organoleptis. Uji organoleptis dilakukan dengan pengamatan langsung meliputi: bentuk, warna, tekstur sediaan, dan bau sediaan *Clay mask* dengan ekstrak daun kelor (Yuniarsih *et al.*, 2020).

14.2 Uji homogenitas. Uji homogenitas *Clay mask* dilakukan untuk memastikan tidak ada campuran yang tidak tercampur dengan baik. Caranya dengan menimbang 0,1 gram sampel uji dan meletakkannya di antara dua kaca objek. Pengamatan dilakukan terdapat partikel kasar atau ketidakhomogenan di bawah kaca. Uji ini penting untuk memastikan kualitas *Clay mask*, karena campuran yang tidak homogen dapat menyebabkan tekstur yang kasar dan tidak nyaman saat digunakan (DepKes RI, 1979).

14.3 Uji pH. Untuk mengetahui tingkat keasaman *Clay mask* Ekstrak Daun Kelor, dapat dilakukan pengukuran pH menggunakan pH meter atau pH universal. Caranya, celupkan elektroda pH meter ke dalam larutan *Clay mask*. Hasil angka pH akan ditampilkan pada layar alat. Alternatifnya menggunakan kertas pH universal. Cocokkan hasil warna indikator dengan tabel warna untuk menentukan nilai pH. Catat hasil pengukuran pH. Menurut Yuniarsih *et al.*, (2020), *Clay mask* Ekstrak Daun Kelor dengan pH ideal berkisar antara 4,5 - 7. Rentang pH ini dianggap aman untuk kulit wajah (Safilla, 2022).

14.4 Uji viskositas. Viskositas, atau kekentalan, merupakan parameter penting dalam formulasi sediaan *Clay mask* Ekstrak Daun Kelor. Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer Brookfield. Alat ini bekerja dengan mencelupkan gasing atau kumparan ke dalam sampel *Clay mask* dan memutarnya pada kecepatan 20 rpm menggunakan spindel nomor 6. Nilai viskositas kemudian ditampilkan pada layar viskometer. Menurut Qur'aniati (2022), nilai viskositas yang ideal untuk *Clay mask* Ekstrak Daun Kelor berkisar antara 4.000 hingga 40.000 cps. Viskositas ini memastikan tekstur *Clay mask* yang mudah diaplikasikan dan nyaman digunakan pada wajah.

14.5 Uji daya sebar. Daya sebar *Clay mask* Ekstrak Daun Kelor diuji dengan cara menempatkan 1 gram sampel pada kaca transparan. Pada permukaan kaca bening, letakkan beban seberat 50 gram dan 100 gram dan biarkan selama 1-2 menit. Kemudian, ukurlah

diameter penyebaran *Clay mask* saat menambahkan setiap beban. Eksperimen ini diulang tiga kali untuk mendapatkan hasil yang lebih tepat. Daya sebar yang memenuhi kriteria *Clay mask* Ekstrak Daun Kelor adalah 5-7 cm. Kemampuan *Clay mask* dalam meratakan diri di permukaan kulit wajah dinyatakan oleh nilai ini (Safilla, 2022).

14.6 Uji daya lekat. Daya rekat *Clay mask* Ekstrak Daun Kelor diukur dengan meletakkan 500 mg sampel di atas kaca objek pertama. Setelah itu, pasang kaca objek kedua dan pijat dengan beban 1 kg selama 1 menit. Setelah itu, angkat beban dan catat waktu yang diperlukan untuk kedua kaca objek terlepas. Proses uji ini dijalankan tiga kali untuk mendapatkan hasil yang lebih tepat (Ardhany, 2022).

14.7 Uji lama waktu mengering. Untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan *Clay mask* ekstrak daun kelor untuk mengering, dilakukan pengujian dengan mengoleskan 0,5 gram sediaan pada kaca objek. Waktu yang dibutuhkan untuk sediaan mengering diamati dan dicatat. Menurut standar mutu, *clay mask* ekstrak daun kelor yang ideal memiliki waktu kering antara 10 hingga 25 menit (Safilla, 2022).

14.8 Uji Stabilitas. Uji stabilitas sediaan *clay mask* dilakukan terhadap variasi suhu melalui uji *cycling*. Uji dilakukan sebanyak 6 siklus. Sampel disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam, kemudian dipindahkan ke suhu 40°C selama 24 jam. Proses ini diulang sebanyak 6 kali dan dihitung sebagai 1 siklus. Sebelum dan sesudah uji siklus termal, dilakukan pengujian organoleptik, homogenitas, daya lekat, daya sebar, pH, dan viskositas (Dewi, 2010).

15. Aktivitas antibakteri sediaan pasta ekstrak daun kelor

Uji antibakteri *Clay mask* dilakukan dengan cara sumuran. Kapas lidi steril digunakan untuk mengambil suspensi bakteri uji dan ditransfer ke media MHA. Bagian belakang cawan petri dibagi menjadi lima bagian dengan garis spidol. Sebanyak 1 gram *Clay mask* diambil menggunakan spud dan dimasukkan pada lubang sumuran. Basis gel tanpa ekstrak daun kelor sebagai kontrol negatif, sedangkan F1, F2, F3, dan *Clay mask* sebagai kontrol positif. Pengujian telah dilakukan sebanyak 3 kali replikasi (Fitryanti *et al.*, 2019). Inkubasi dilakukan selama 18 jam pada suhu 37°C di dalam inkubator. Pengukuran zona bening yang terbentuk dilakukan untuk melakukan observasi zona hambat (Indarto *et al.*, 2019).

Ukuran zona bening yang terbentuk diukur secara horizontal dan vertikal dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm). Penentuan kekuatan daya antibakteri ditentukan oleh hasil pengukuran zona bening. Kategori kekuatan daya antibakteri dikelompokkan berdasarkan ukuran zona hambat: 5 mm atau kurang kategori lemah, 5-10 mm sedang, 10-20 mm kuat, dan 20 mm hingga lebih sangat kuat (Khairani., *et al*, 2019).

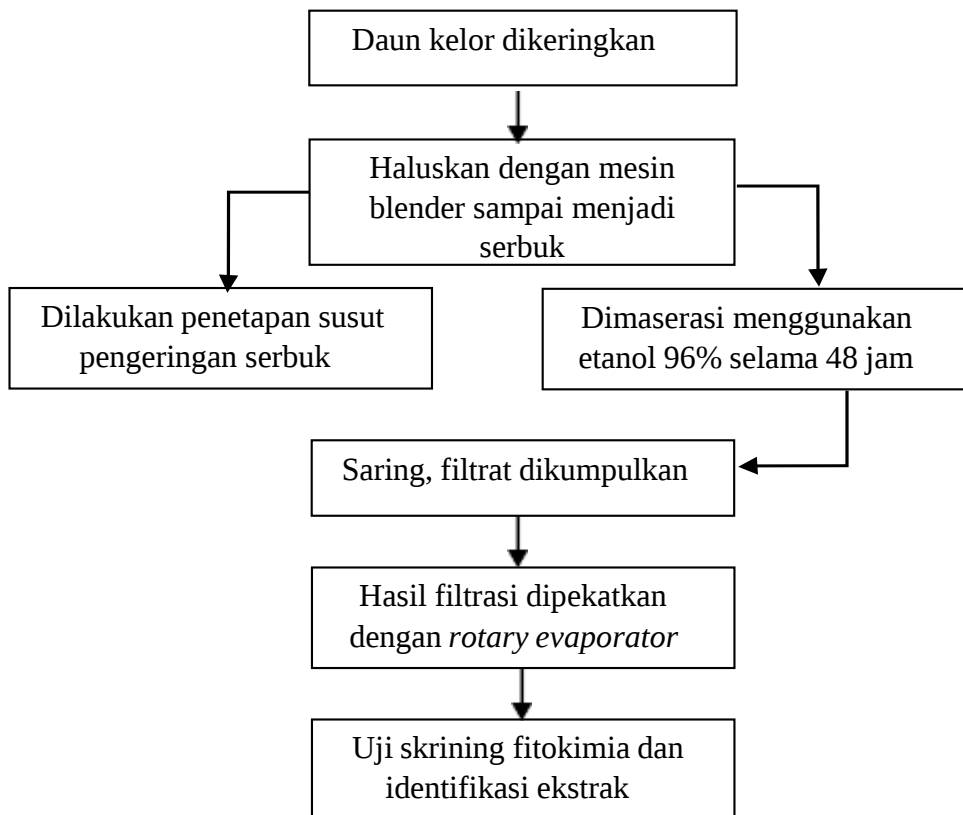
E. Analisis Data

Data mutu fisik *Clay mask* diperoleh dari penelitian yang mencakup berbagai uji seperti organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, daya lekat, lama waktu mengering, dan stabilitas dipercepat *Clay mask*. Pengujian statistik normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk test*. Distribusi normal dan homogen jika ($p > 0,05$) akan melibatkan ANOVA, sedangkan jika tidak normal ($p < 0,05$) akan melibatkan uji *Kruskal-Wallis*; stabilitas formula diuji menggunakan uji *T-test* (Puspitasari, 2014).

Metode *Shapiro-wilk* digunakan sebagai uji untuk melihat pengaruh *Clay mask* dari ekstrak daun kelor pada variasi konsentrasi kaolin dan xanthan gum dengan mengukur zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Jika sesuai dengan distribusi normal ($p > 0,05$), hasilnya dianalisis dengan *analisis variance (ANOVA)* pada rentang 95% dan jika tidak berdistribusi normal, hasilnya dianalisis dengan *Kruskal-Wallis*. Uji *Tukey* dilakukan untuk menentukan konsentrasi mana yang berpengaruh. Uji stabilitas dianalisis menggunakan uji *T-test*.

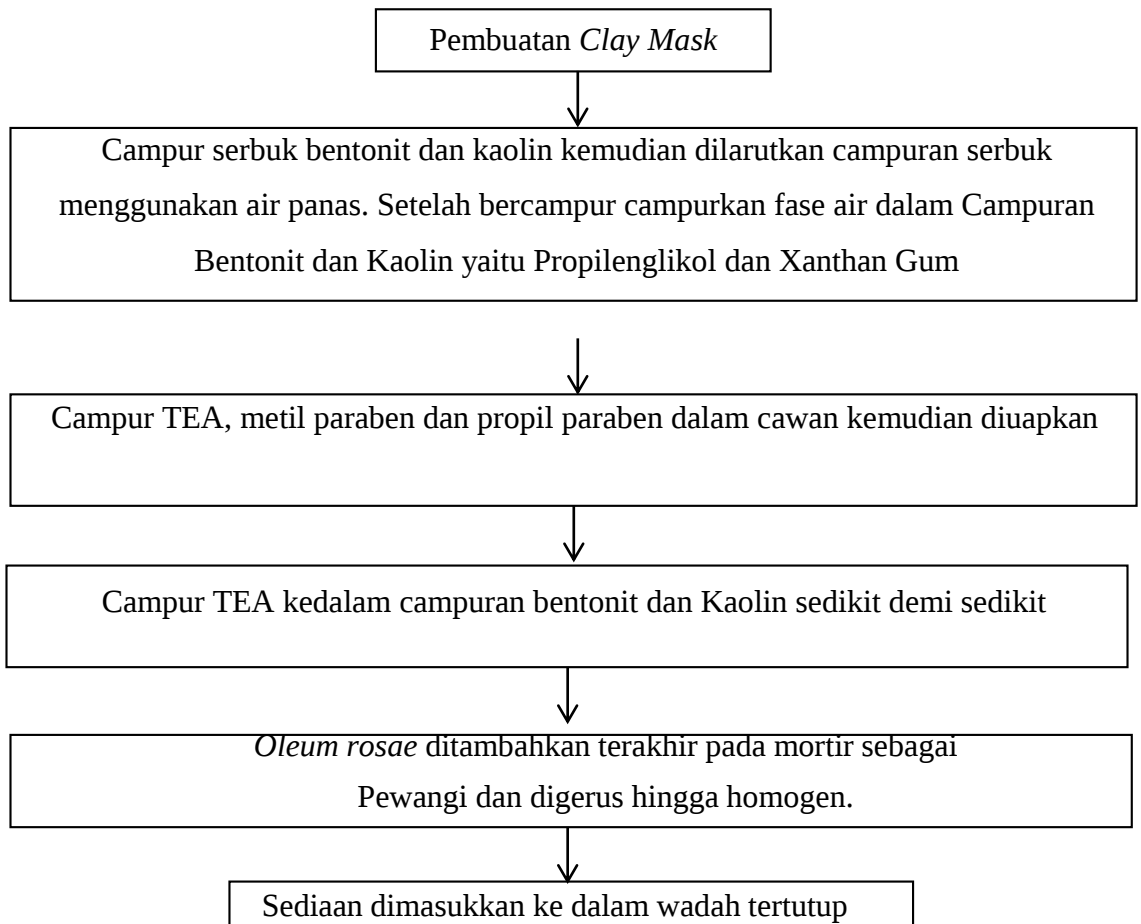
F. Skema Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak



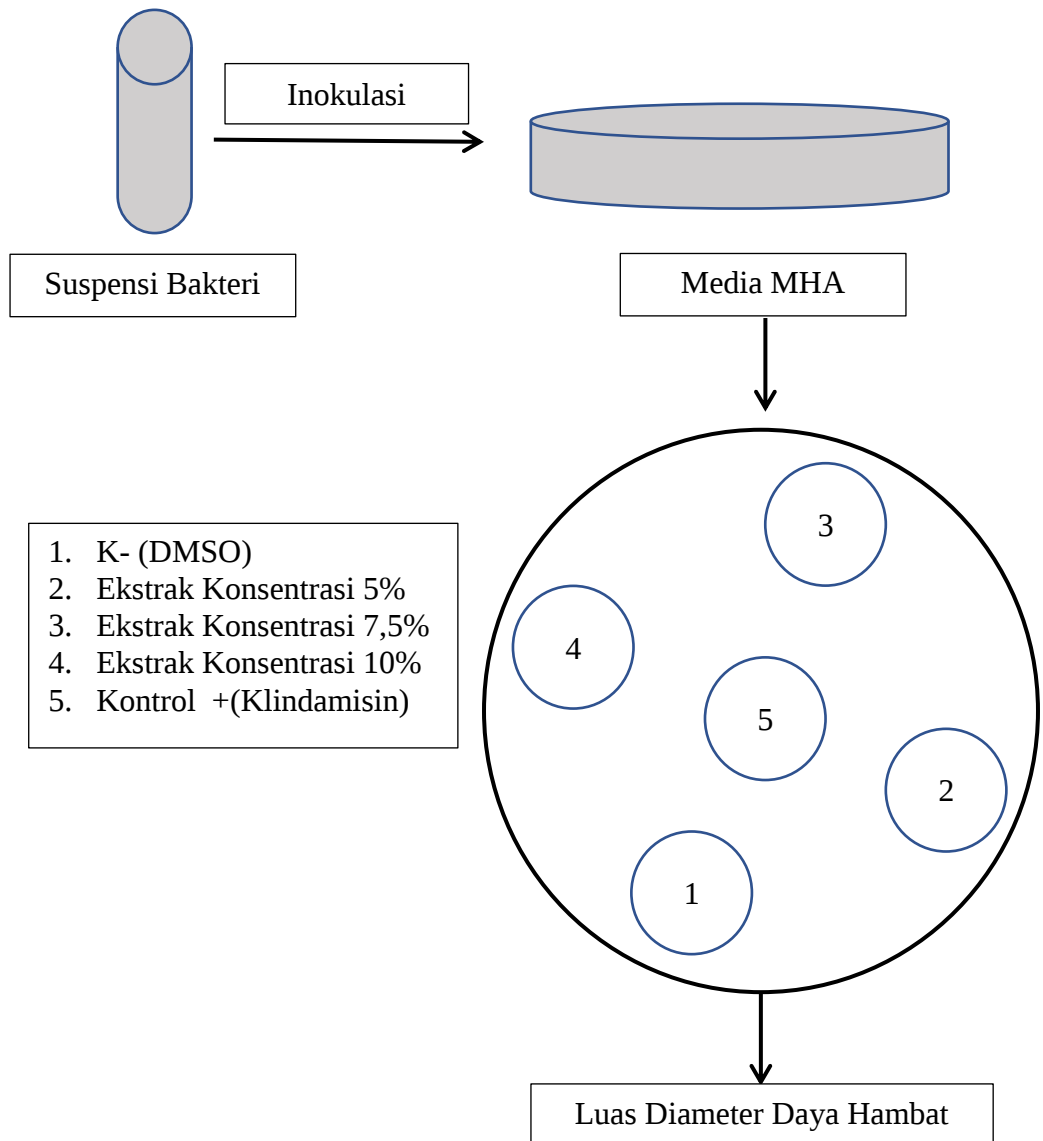
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak

2. Pembuatan *Clay mask*



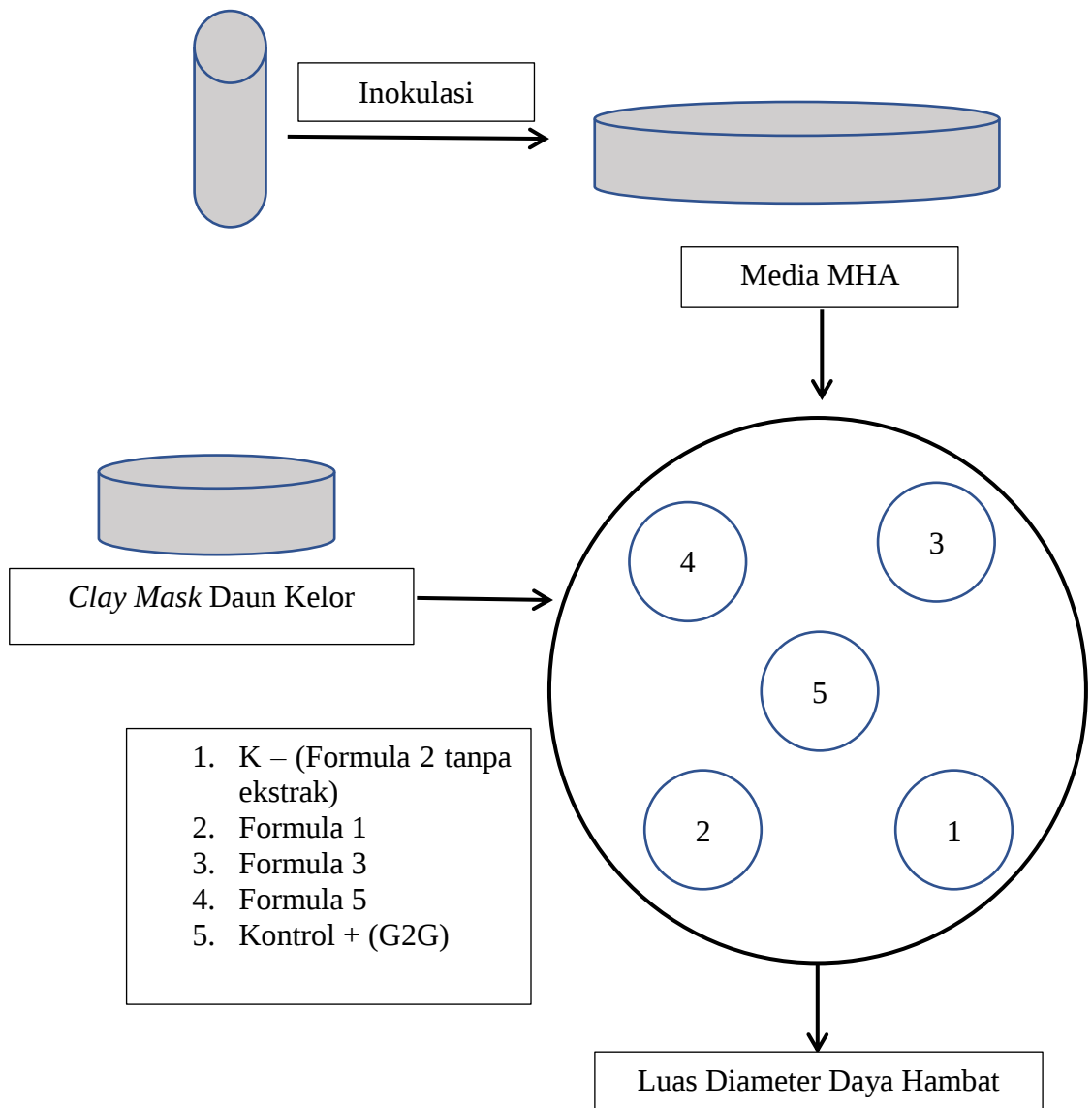
Gambar 3. Skema pembuatan *Clay mask*

3. Uji Aktivitas Antibakteri



Gambar 4. Skema uji aktivitas antibakteri

4. Pengujian aktivitas antibakteri *Clay mask*



Gambar 5. Skema Pengujian aktivitas antibakteri *Clay mask*