

BAB III

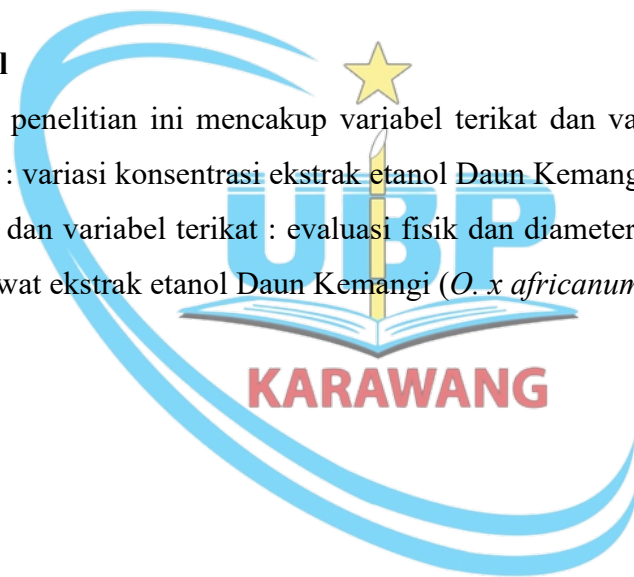
METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang telah dilaksanakan menerapkan eksperimental tentang formulasi dan uji efektivitas antibakteri sediaan serum antijerawat ekstrak etanol Daun Kemangi (*O. x africanum* L.). Formula sediaan serum ekstrak etanol daun kemangi akan di uji aktivitas antibakterinya menerapkan metode difusi melalui cara cara sumuran.

3.2 Variabel

Variabel penelitian ini mencakup variabel terikat dan variabel bebas. Dengan variabel bebas : variasi konsentrasi ekstrak etanol Daun Kemangi (*O. x africanum* L.) sediaan serum dan variabel terikat : evaluasi fisik dan diameter zona hambat sediaan serum antijerawat ekstrak etanol Daun Kemangi (*O. x africanum* L.).



3.3 Definisi Operasional Penelitian

Tabel 3.1 Definisi Operasional Penelitian

No	Variabel	Definisi	Alat ukur	Cara ukur	Hasil ukur	skala
1.	Ekstrak etanol daun kemangi	Proses ekstraksi daun kemangi menggunakan pelarut etanol 96% dan cara maserasi	Timbangan	Menimban g	Berat	Rasio
2.	Sediaan serum	formulasi sediaan serum serta evaluasi fisik	Timbangan	Menimban g	Berat	Numerik
			Viskometer	Mengukur	Nilai visko	Numerik
			pH meter	Mengukur	Nilai pH	Numerik
			Kertas grafik	Mengukur	Nilai daya sebar	Numerik
3.	Aktivitas antibakteri sediaan serum antijerawat	Pengujian aktivitas antibakteri berupa pengukuran diameter zona hambat bakteri	Objek glass	Visualisasi	Homogenitas	Ordinal
			Jangka sorong	Mengukur	Luas	Numerik

3.4 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan diantaranya: Daun Kemangi (*O. x africanum* L.) diperoleh dari Kotabaru Karawang, etanol 96%, aquadest, *carbomer*, gliserin, *trietanolamine*, natrium benzoat, trietanolamin dan dinatrium EDTA, NaCl 0,9%, media *Tryptic Soy Agar* serta bakteri *Staphylococcus aureus*.

3.5 Peralatan Penelitian

Alat penelitian yang dipergunakan antara lain : timbangan analitik, corong, gelas ukur (PYREX), alat- alat gelas (PYREX), beaker glass (PYREX), Erlenmeyer (PYREX), tabung reaksi (PYREX), *waterbath* (CECIL), rak tabung, spatula, *rotary evaporator*, pH meter (ISTEK), viskometer (BROOKFIELD), alat uji sifat fisik, wadah

serum, cawan petri, jarum ose, api bunsen, autoklaf (ALP), stirrer, *Laminar Air Flow*, *incubator* (ECOCELL), hot plate (NESCO®LAB), mikropipet (ECOPIPPETTE™).

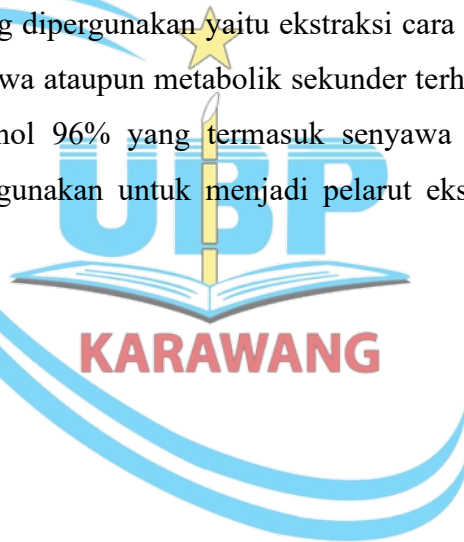
3.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

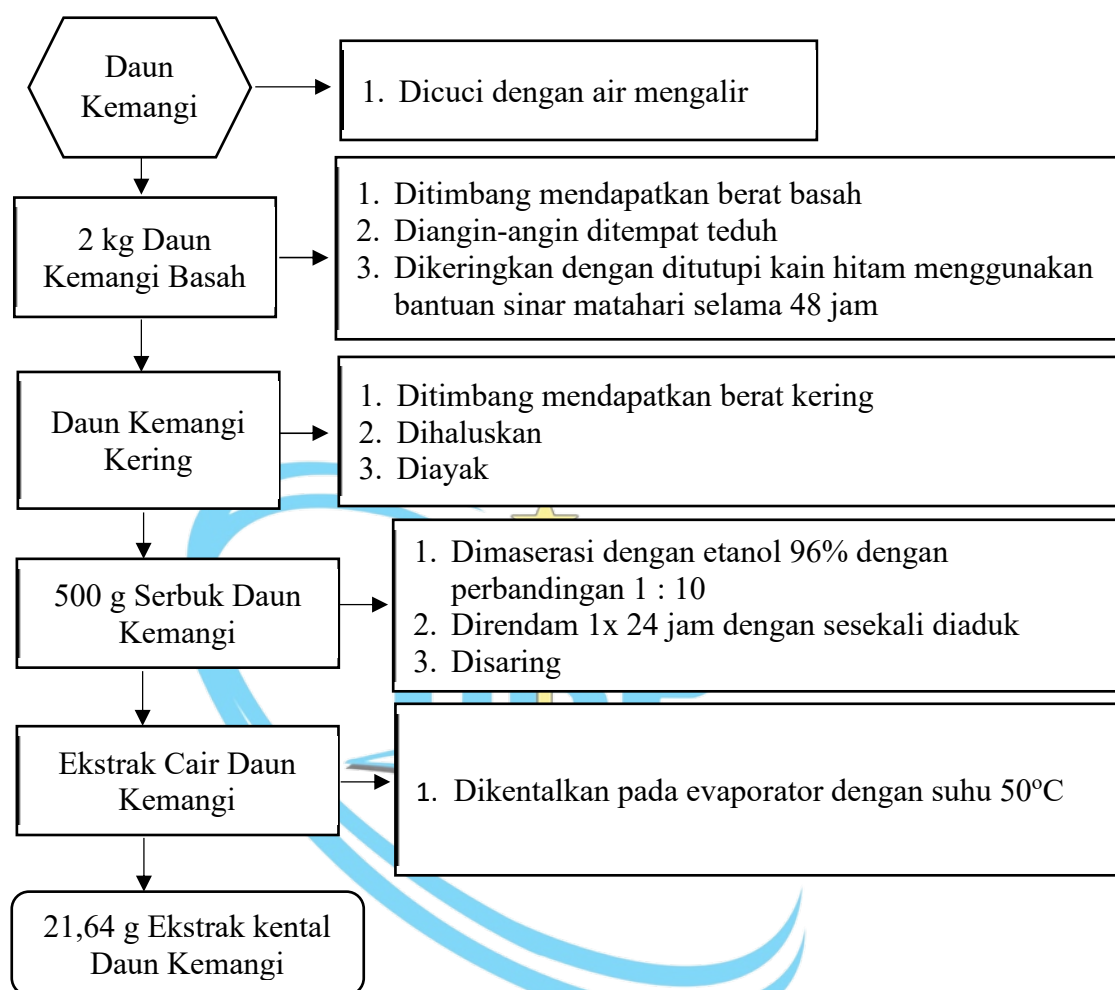
Penelitian dilakukan di laboratorium Bahan Alam Fakultas Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang. Determinasi dilaksanakan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai dengan Mei 2021

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Ekstraksi Daun Kemangi

Metode ekstraksi yang dipergunakan yaitu ekstraksi cara dingin yakni maserasi dikarenakan menarik senyawa ataupun metabolik sekunder terhadap tanaman melalui memanfaatkan pelarut etanol 96% yang termasuk senyawa polar yang gampang menguap maka baik dipergunakan untuk menjadi pelarut ekstrak (Daryono *et al.*, 2014).



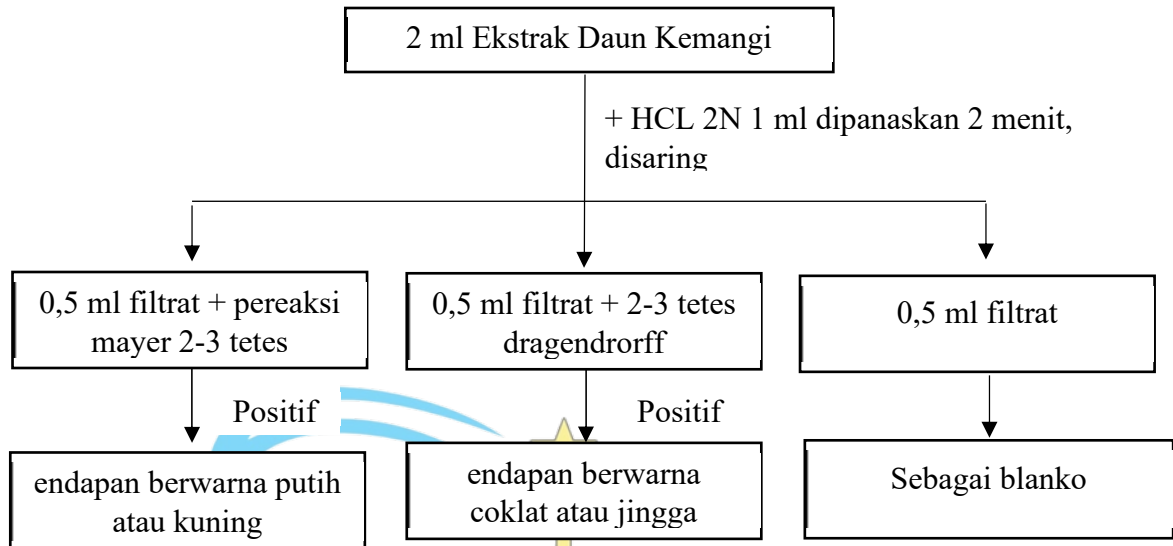


Gambar 3.1 Diagram Alir Ekstraksi

3.7.2 Skrinning Fitokimia

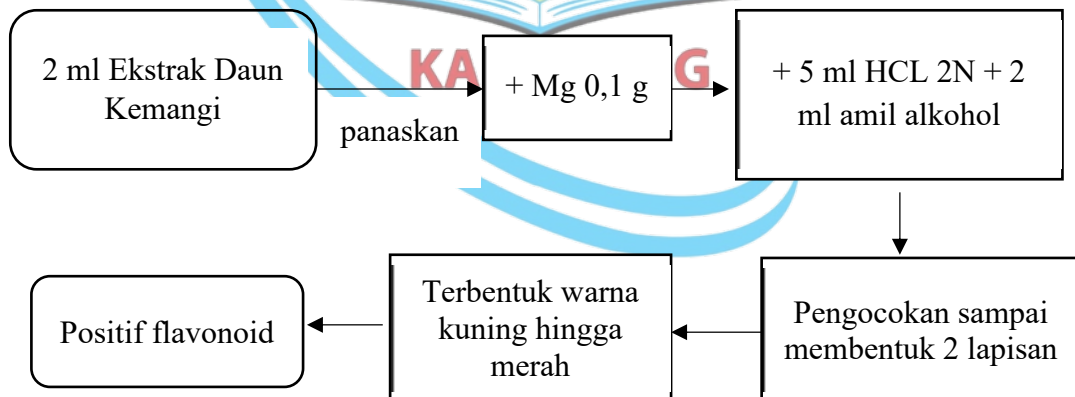
Skrinning fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder dengan menunjukkan ada tidaknya senyawa yang terkandung dalam suatu tanaman. Uji skrinning fitokimia antara lain : (Fikayuniar, 2020)

a. Uji Alkaloid



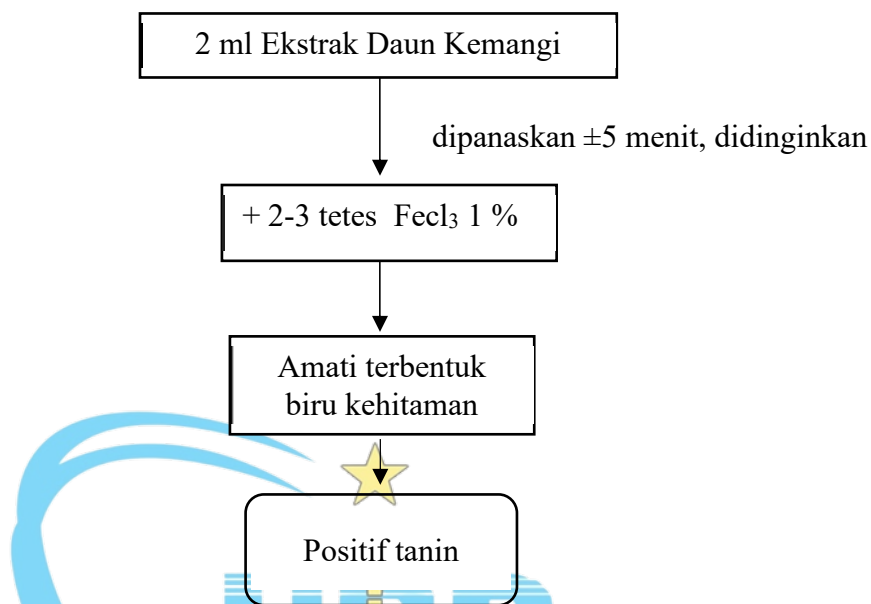
Gambar 3.2 Diagram Alir Uji Alkaloid

b. Uji Flavonoid



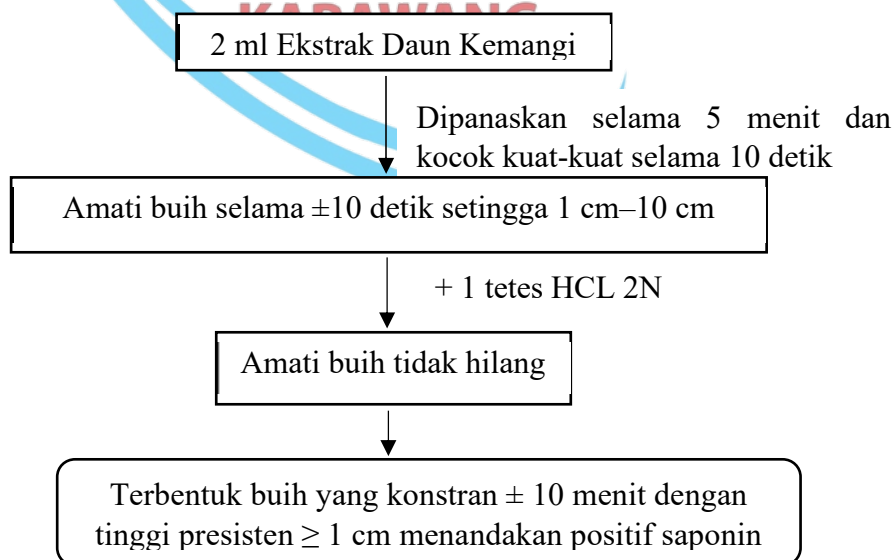
Gambar 3.3 Diagram Alir Uji Flavonoid

c. Uji Tanin



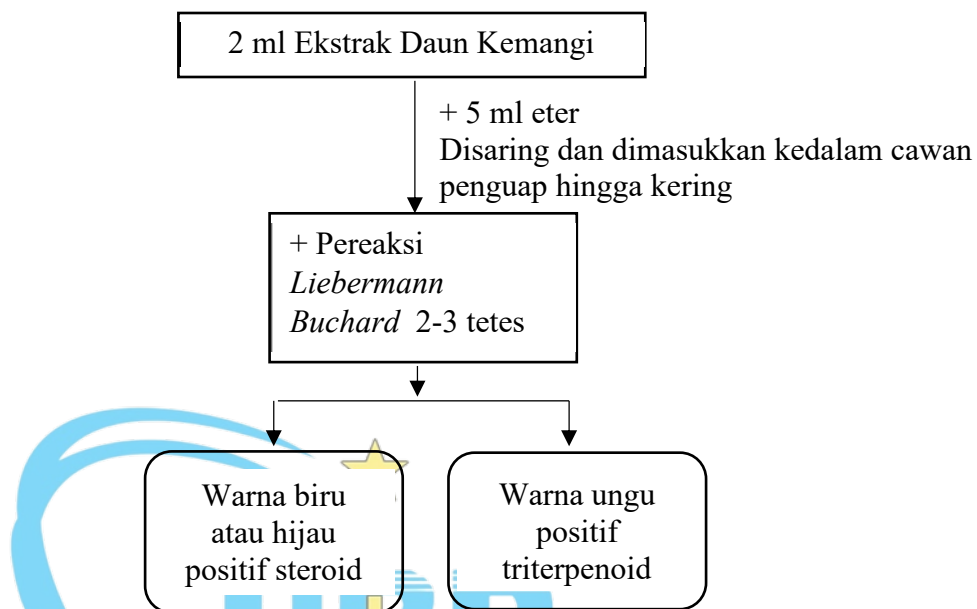
Gambar 3.4 Diagram Alir Uji Tanin

d. Uji Saponin



Gambar 3.5 Diagram Alir Uji Saponin

e. Uji Triterpenoid dan Steroid



Gambar 3.6 Diagram Alir Uji Triterpenoid dan Steroid

3.7.3 Formula Sediaan Serum

Formula Serum yang dibuat pada Tabel 3.2 dalam penelitian ini bersumber dari penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Dedhi, 2018). Adapun formulanya sebagai berikut :

Tabel 3.2 Formulasi Serum

Bahan	F0 (%)	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)	Rentang konsentrasi	Fungsi
Ekstrak Daun Kemangi	-	1,25	2,5	5	-	Zat Aktif
Carbomer	1	1	1	1	0,5-2,0%	<i>Gelling agent</i>
Gliserin	5	5	5	5	< 30	<i>Humektan</i>
Triethanolamine	3	3	3	3	-	<i>Buffering</i>
Na benzoat	0,15	0,15	0,15	0,15	-	Pengawet
Dinatrium EDTA	0,2	0,2	0,2	0,2	-	Pengkhelat
Aquadest	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	-	Pelarut

Catatan: Formula (Dedhi, 2018) dimodifikasi dengan memvariasikan konsentrasi Daun Kemangi 1,25%; 2,5%; 5% serta mengubah basis (*carbomer*) dan eksipien (dinatrium EDTA dan natrium benzoat).

3.7.4 Pembuatan Sediaan Serum

Pembuatan beberapa formula serum diawali dengan melarutkan ekstrak etanol Daun Kemangi menggunakan air aquadest secukupnya, melarutkan diantrium EDTA, melarutkan natrium benzoat, kemudian panaskan air untuk melarutkan karbomer. 100 ml setelah air mendidih masukan 1 g karbomer kedalam mortir kemudian ditambahkan sedikit demi sedikit air panas aduk hingga homogen, tambahkan 0,2 g dinatrium EDTA yang sudah dilarutkan dengan air aduk hingga homogen, tambahkan 0,15 g natrium benzoat aduk hingga homogen, tambahkan 3 g trietanolamin aduk hingga homogen, kemudian tambahkan beberapa variasi ekstrak etanol daun kemangi sedikit demi sedikit aduk hingga homogen pada masing-masing formula yaitu pada F1 konsentrasi ekstrak daun kemangi 1,25%, pada F2 konsentrasi 2,5%, pada F3 konsentrasi 5% dan terakhir tambahkan 5 gr gliserin aduk hingga homogen (Dedhi, 2018)

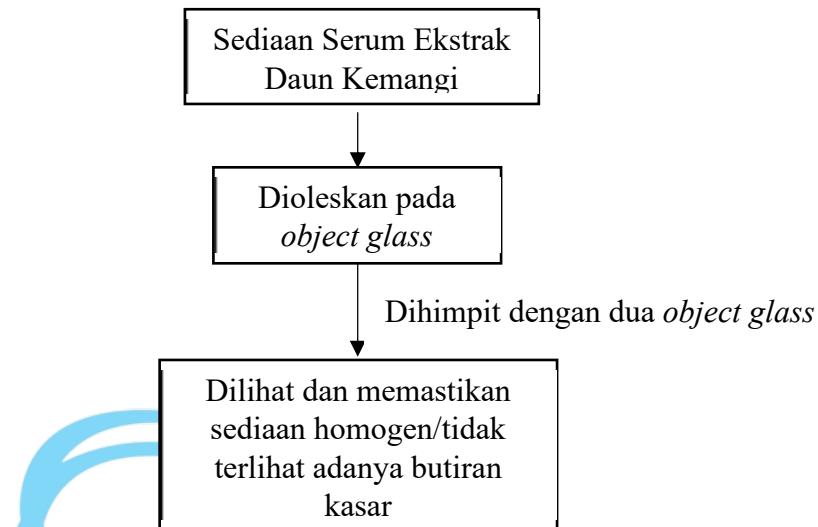
3.7.5 Uji Evaluasi Fisik

a. Uji Organoleptik



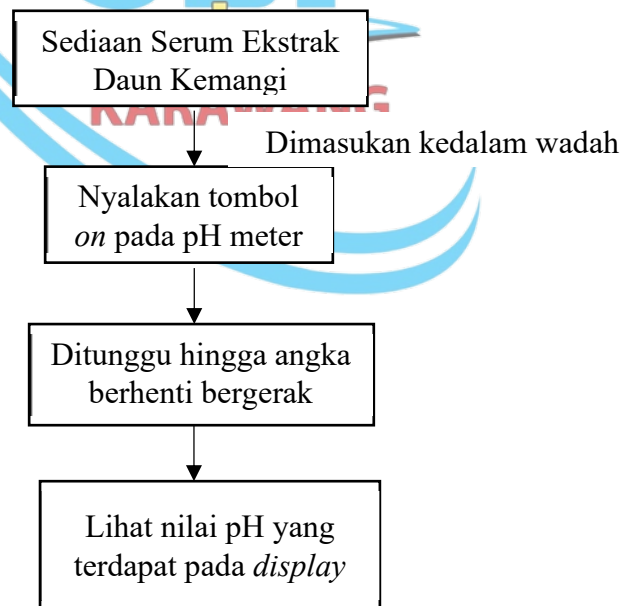
Gambar 3.7 Diaram Alir Uji Organoleptik

- b. Uji Homogenitas (Ditjen POM, 1985).



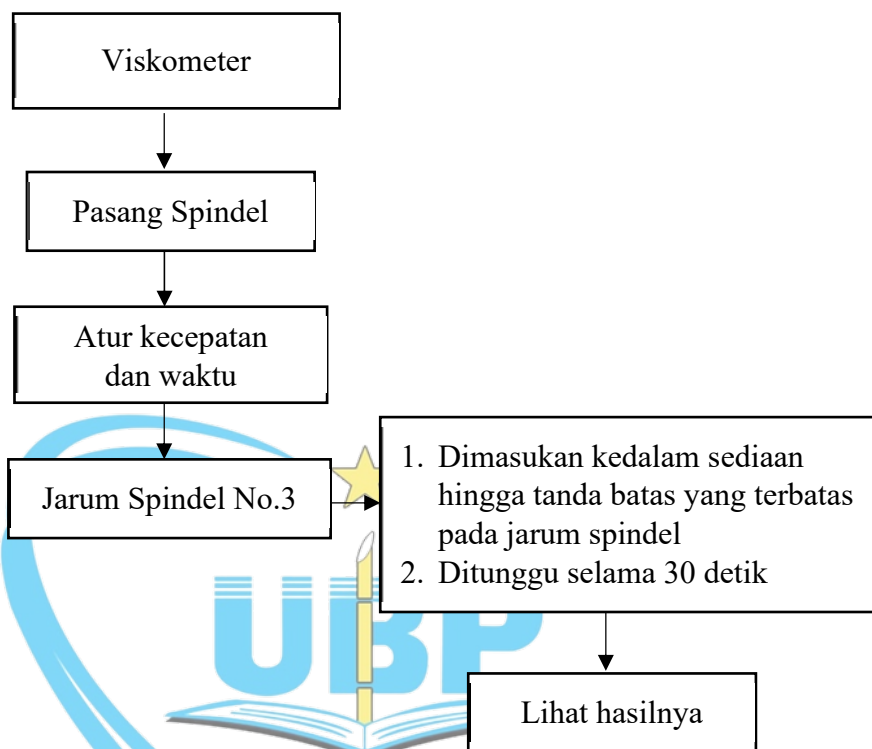
Gambar 3.8 Diagram Alir Uji Homogenitas

- c. Uji pH (Ojha et al., 2019) dan Froelich *et al.*, 2013).



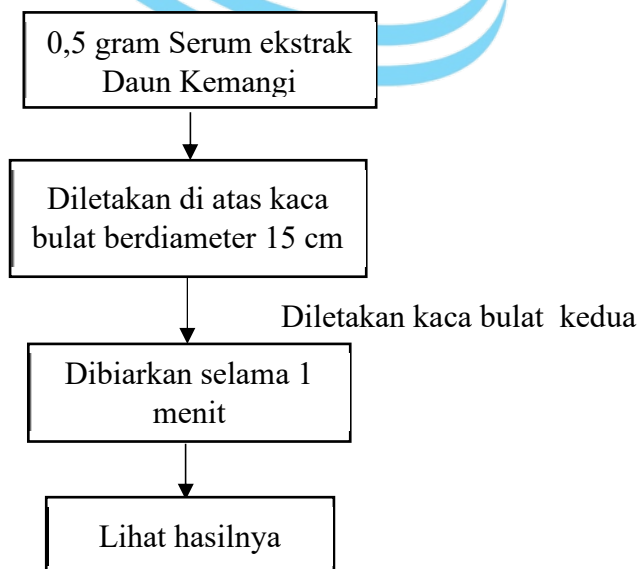
Gambar 3.9 Diagram Alir Uji pH

- d. Uji Viskositas (Septiani S, dan Wathoni N, 2011).



Gambar 3.10 Diagram Alir Uji Viskositas

- e. Uji Daya Sebar (Dedhi, 2018)



Gambar 3.11 Diagram Alir Uji Daya Sebar

3.7.6 Proses Pengujian Aktivitas Antibakteri

a. Sterilisasi Alat

Dicuci bersih semua alat yang akan digunakan, lalu dikeringkan dan bungkus dengan kertas coklat, kemudian alat-alat yang digunakan disterilkan dengan menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit sampai 30 menit.

b. Pembuatan Stok Bakteri

Dibuat stok bakteri dilakukan dengan metode goresan, dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan murni bakteri *S. aureus* dalam tabung reaksi yang berisi media agar miring, kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C (Nurhayati, 2011).

c. Pembuatan Media TSA (*Tryptone Soya Agar*)

Diambil Media TSA (*Tryptone Soya Agar*) sebanyak 4 g dilarutkan dalam 100 ml aquades menggunakan erlenmeyer. Selanjutnya dihomogenkan dengan stirrer di atas hot plate sampai mendidih. Sebanyak 5 ml dituangkan pada tabung reaksi steril dan ditutup dengan aluminium foil. Media disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dibiarkan pada suhu ruangan selama kurang lebih 30 menit sampai media memadat pada kemiringan 30°C. Media agar miring digunakan sebagai inokulasi bakteri (Lay, 1994).

d. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Dimasukkan 10 ml NaCl 0,9% kedalam masing-masing tabung reaksi, diambil bakteri uji yang telah diinokulasikan dengan menggunakan kawat ose steril dan disuspensikan ke dalam tabung yang berisi larutan NaCl 0,9% hingga diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar kekeruhan larutan Mc. Farland 0,5%.

e. Pembuatan Stok Variabel Konsentrasi

Stok Serum Ekstrak Daun Kemangi akan dibuat dalam beberapa konsentrasi 1,25%, 2,5% dan 5%, basis gel *carbopol* (kontrol negatif) dan serum acne (kontrol positif) masing-masing sebanyak 2 g kemudian dilarutkan dalam 2 ml aquades.

3.7.7 Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri sediaan serum Ekstrak Daun Kemangi dilakukan dengan metode difusi agar, dengan cara mengukur diameter hambatan pertumbuhan bakteri terhadap bakteri *S. aureus*. Cara pengujiannya yaitu sumuran yang sudah dibuat pada media pengujian ditetaskan larutan uji menggunakan mikropipet, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam, setelah itu diukur diameter zona hambat (zona jernih) di sekitar sumuran menggunakan jangka sorong (Kindangen *et al.*, 2018).

3.7.8 Analisis Data

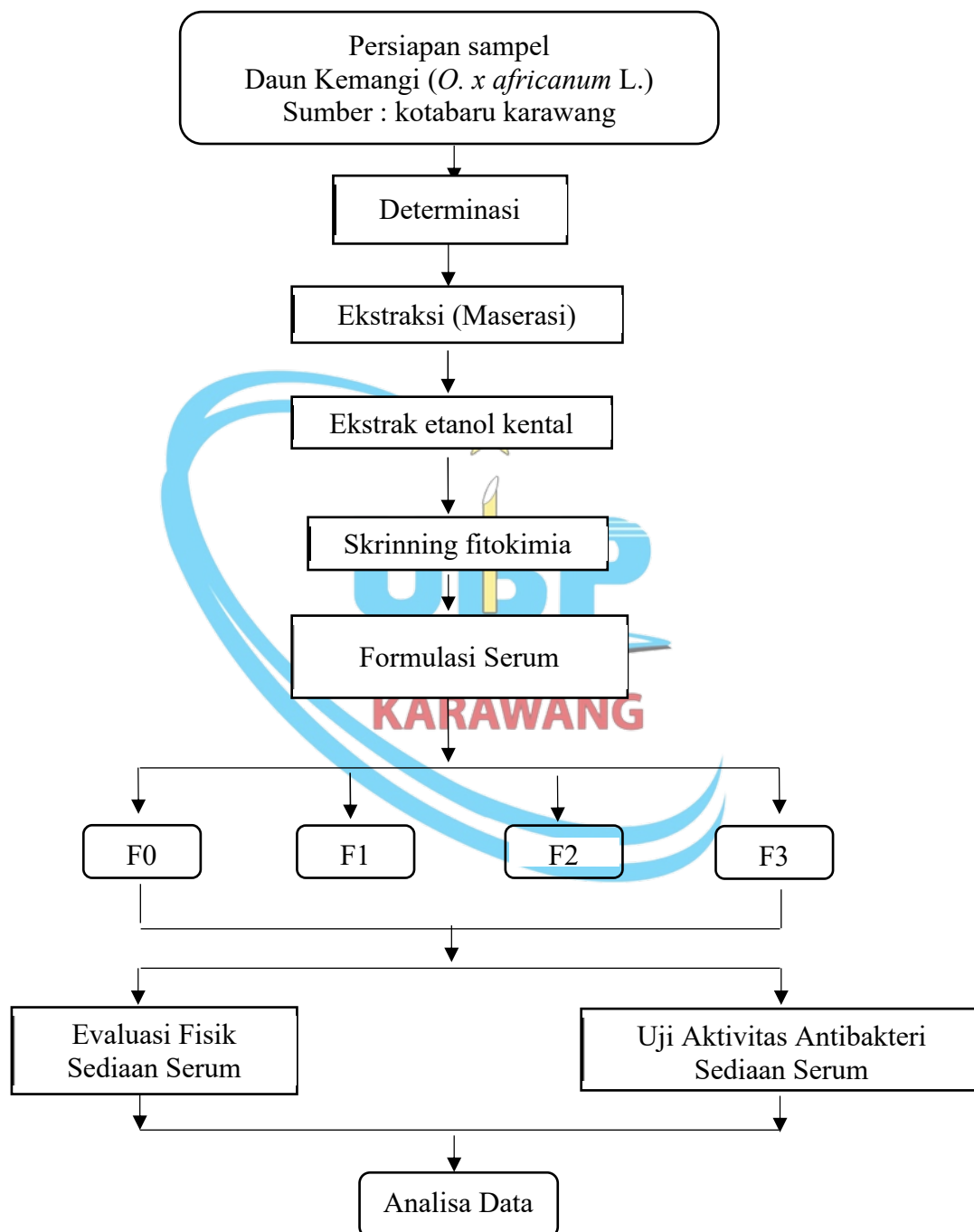
Data dianalisis secara statistik meliputi hasil evaluasi fisik (uji viskositas, pH dan daya sebar) dan uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sediaan serum ekstrak etanol Daun Kemangi (*O. x africanum* L.). Hasil data yang diperoleh dianalisis menggunakan metode *one way anova* (varian satu arah) dengan program SPSS

3.7.9 Cara Penafsiran dan Penyimpanan Data

H0: Konsentrasi ekstrak etanol Daun Kemangi tidak berpengaruh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

H1: Konsentrasi ekstrak etanol Daun Kemangi berpengaruh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

3.8 Diagram Alir Penelitian



Gambar 3.12 Diagram Alir Penelitian

