

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Januari sampai Juni 2025 di Laboratorium Teknologi Farmasi dan Laboratorium Biologi Farmasi Prodi Farmasi S-1 Universitas Bhamada Slawi.

3.2 Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah toples maserasi, oven (Getra), timbangan analitik, blender (Philips), *waterbath* (biobase), *viscometer brookfield*, inkubator, autoklaf, kompor listrik, lampu bunsen, cawan porselen, mortir, stemper, tabung reaksi (*pyrex*), rak tabung reaksi, pipet tetes, mikropipet, gelas ukur (*pyrex*), gelas beaker (*pyrex*), erlenmeyer (*pyrex*), batang pengaduk, kaca objek, batang L, cawan petri, jarum ose, pinset, dan penggaris.

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah daun kemangi (*Ocimum basilicum* L), aluminium sulfat, kertas saring, kertas cakram, pH stik, plastik warp, etanol 96%, FeCl_3 0,1%, HCl 2N, BaCl_2 1%, H_2SO_4 , NaCl, metilen biru, vaselin album, setil alkohol, propilenglikol, tween-80, metil paraben, propil paraben, minyak jeruk, aquadest, *Nutrient Agar* dan stok bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

3.3 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental di Laboratorium Program Studi S-1 Farmasi di Universitas Bhamada Slawi.

a. Variabel Bebas

Variabel bebas yaitu variabel yang memengaruhi variabel lain yang sifatnya berdiri sendiri. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi ekstrak daun kemangi dan aluminium sulfat.

b. Variabel Terikat

Variabel terikat yaitu variabel yang dipengaruhi oleh variabel lain yang sifatnya tidak dapat berdiri sendiri. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah uji sifat fisik sediaan deodoran yang meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar, uji daya lekat, uji viskositas dan uji tipe krim serta uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus epidermidis*.

c. Variabel Terkendali

Variabel terkendali yaitu variabel yang menjembatani pengaruh variabel bebas dan variabel terikat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah pengambilan simplisia, metode maserasi, metode pembuatan deodoran, dan pembuatan bakteri.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Determinasi Penelitian

Determinasi dilakukan di Laboratorium Farmasi Bahan Alam Program Studi S-1 Farmasi di Universitas Bhamada Slawi.

3.4.2 Penyiapan Simplisia

Simplisia yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kemangi segar berwarna hijau muda, daun diambil pada pagi hari yang bertujuan untuk mengurangi resiko penguapan air dan mempertahankan kandungan pada tanaman. Daun kemangi sebanyak 6 kg kemudian disortasi basah dengan cara dicuci pada air mengalir

lalu ditiriskan. Selanjutnya dikeringkan dengan menggunakan *oven drying* pada suhu kurang dari 60°C. Setelah simplisia kering, kemudian diblender dan diayak menjadi serbuk dengan ukuran yang homogen. Selanjutnya disimpan dalam wadah kering tertutup rapat dalam ruangan yang terlindungi dari cahaya matahari (Ariani *et al.*, 2020).

3.4.3 Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 500 g dimasukkan ke dalam wadah maserasi, kemudian direndam menggunakan 2,5 L etanol 96%. Wadah maserasi ditutup rapat dan disimpan pada tempat yang terlindungi dari cahaya matahari langsung selama 5 hari sambil dilakukan pengadukan 1x sehari. Hasil maserasi kemudian disaring untuk memisahkan cairan etanol dengan ampasnya. Kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* dan *waterbath* untuk memperoleh ekstrak kental (Ariani *et al.*, 2020). Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang dan dihitung besar rendemen, dengan rumus :

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh}}{\text{bobot simplisia awal}} \times 100\%$$

3.4.4 Parameter Ekstrak

1. Parameter Spesifik

Parameter spesifik meliputi uji organoleptik. Uji Organoleptik melibatkan penilaian sensoris atau penggunaan manusia untuk mengukur karakteristik yang dapat dideteksi melalui panca indera,

pengujian ini membantu dalam mengevaluasi kualitatif ekstrak, seperti bentuk, warna, dan bau (Krismayadi *et al.*, 2024).

2. Parameter Non Spesifik

a. Susut Pengerinan

Sebanyak 1 g ekstrak dimasukkan kedalam botol timbang bertutup yang sebelumnya telah dioven pada suhu 105°C selama 30 menit dan sudah ditara. Sebelum ditimbang, ekstrak diratakan dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol. Kemudian keringkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Sisa zat setelah pengeringan pada suhu 105°C selama 30 menit ditimbang hingga diperoleh bobot yang konstan dan dinyatakan dalam bentuk persen (%). Nilai susut pengeringan yang baik yaitu tidak lebih dari 10% (FHI, 2017).

Rumus susut pengeringan: (Solikah, *et al.*, 2023)

$$\%SP = \frac{B1 - B2}{B1} \times 100\%$$

Keterangan:

B1=Berat sampel awal (g)

B2=Berat sampel akhir (g)

b. Kadar Air

Kadar air ditentukan menggunakan alat *moisture analyzer* dengan menimbang ekstrak sebanyak 1 g lalu dimasukkan ke dalam alat dan ditunggu hingga kadar air sampel muncul (Astuti *et.al.*, 2024).

c. Penetapan Kadar Abu Total

Sebanyak 1 g ekstrak ditimbang seksama dimasukkan kedalam krus silikat yang sebelumnya telah dipijarkan dan ditimbang. Kemudian masukkan krus silikat berisi ekstrak kedalam tanur yang telah diatur pada suhu 600°C selama 1 jam. Kemudian suhu pada tanur diturunkan hingga 40°C. Keluarkan krus silikat berisi abu ekstrak secara hati-hati. Kemudian ditimbang dan dihitung kadar abu yang telah diperoleh. Nilai kadar abu total yang baik yaitu tidak lebih dari 10% (FHI, 2017).

Berikut rumus kadar abu total (Solikah, et al., 2023)

$$\text{Kadar Abu Total (\%)} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan:

W0 = Bobot cawan kosong (g)

W1 = Bobot ekstrak awal (g)

W2 = Bobot cawan + Bobot ekstrak setelah diabukan (g)

d. Uji Bebas Etanol

Ekstrak daun kemangi sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam cawan kemudian ditambah 2 tetes larutan H₂SO₄ dan 2 tetes larutan asam asetat kemudian dipanaskan. Dikatakan bebas etanol jika ekstrak tidak memiliki bau ester yang khas dari etanol (Tivani *et al.*, 2021).

3.4.5 Uji Skrining Fitokimia

a. Uji Flavanoid

Ekstrak daun kemangi sebanyak 0,1 g ditambah 5 mL etanol dan beberapa tetes FeCl_3 sampai terjadi perubahan warna. Kandungan flavonoid ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru, ungu, hijau, merah maupun hitam. Apabila sampai 20 tetes FeCl_3 belum terjadi perubahan warna, maka hasil flavonoid negatif (Kumalasari & Andiarna, 2020).

b. Uji Alkaloid

Ekstrak daun kemangi sebanyak 0,1 g ditambah 10 mL HCl 2N dan dipanaskan selama 2 menit sambil terus diaduk. Saring campuran ekstrak daun kemangi dan HCl 2N setelah dingin. Filtrat ditambahkan 5 mL reagen wagner (iodium dan kalium iodida). Kandungan alkaloid ditunjukkan dengan perubahan warna kuning kecoklatan dan terdapat endapan berwarna kecoklatan (Kumalasari & Andiarna, 2020).

c. Uji Saponin

Ekstrak daun kemangi sebanyak 0,5 g ditambahkan aquadest sebanyak 5 mL dan dikocok kuat-kuat, lalu ditambahkan 1-2 tetes HCl 2N. Uji positif adanya saponin pada larutan ditandai dengan terbentuknya busa/buih (Kumalasari & Andiarna, 2020).

d. Uji Tanin

Ekstrak daun kemangi sebanyak 0,5 g dipanaskan dalam 20 mL aquadest di dalam tabung reaksi. Saring dan tambahkan beberapa tetes FeCl_3 0,1% sampai berubah warna. Hasil positif

mengandung tanin ditunjukkan dengan munculnya warna hijau kecoklatan atau warna biru hitam (Kumalasari & Andiarna, 2020).

3.4.6 Formulasi Sediaan Deodoran

Tabel 3.1 Formulasi sediaan deodoran krim

Bahan	Konsentrasi (%)				Fungsi Bahan	Range	Literatur
	F0	F1	F2	F3			
Ekstrak daun kemangi	-	3	5	7	Zat aktif	-	(Oktaviana <i>et al.</i> , 2019)
Aluminium Sulfat	-	2	2	2	Zat aktif	-	(Mayangsari <i>et al.</i> , 2024)
Setil alkohol	2	2	2	2	Emulgator	2-5%	(Rowe <i>et al.</i> , 2023) : 155
Vaselin album	10	10	10	10	Basis	10-30%	<i>Handbook of excipient ed VI</i> : 481
Tween-80	2	2	2	2	Surfaktan	2%	<i>Handbook of excipient ed VI</i> : 651
Propilen glikol	9	9	9	9	Humektan	≤15%	<i>Handbook of excipient ed VI</i> : 592
Metil paraben	0,02	0,02	0,02	0,02	Pengawet	0,02-0,03%	<i>Handbook of excipient ed VI</i> : 390
Propil paraben	0,09	0,09	0,09	0,09	Pengawet	0,02-0,18%	<i>Handbook of excipient ed VI</i> : 596
Minyak jeruk	1 tetes	1 tetes	1 tetes	1 tetes	Pengaroma	2 tetes	(Rizqi Amaliyah <i>et al.</i> , 2020)
Aquadest	ad 50	ad 50	ad 50	ad 50	Pelarut	-	-

3.4.7 Pembuatan Sediaan Deodoran

Formulasi deodoran krim dibuat dari kombinasi ekstrak daun kemangi dan aluminium sulfat dengan cara memisahkan bahan-bahan menjadi dua bagian, yaitu bahan fase minyak dan bahan fase air.

Bahan-bahan yang larut minyak yaitu vaselin album, setil alkohol dimasukkan ke dalam mortir untuk dipanaskan dan diaduk hingga homogen. Pada fase air yaitu tween-80, propilenglikol, metil paraben, propil paraben, aquadest juga dipanaskan seperti fase minyak. Aluminium sulfat dipanaskan secara terpisah menggunakan sebagian aquadest. Fase minyak dan fase air dipanaskan dan diaduk pada suhu 70°C secara terpisah hingga homogen. Setelah kedua fase masing-masing telah homogen, kemudian dilakukan pencampuran antara fase minyak dan fase air hingga tercampur merata. Tambahkan ekstrak daun kemangi dan minyak jeruk diaduk hingga homogen, kemudian masukkan ke dalam wadah deodoran (Timur dan Latifah, 2019).

3.4.8 Evaluasi Sifat Fisik Deodoran

a. Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan mengamati tampilan fisik sediaan meliputi warna, bau dan tekstur dari deodoran (Sinaga *et al.*, 2020).

b. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan cara menimbang 0,1 g deodoran, kemudian dioleskan pada sekeping kaca transparan kemudian diamati. Homogenitas ditunjukkan dengan tidak adanya butiran kasar (Sinaga *et al.*, 2020).

c. Uji pH

Dicelupkan stik pH kedalam sediaan deodoran kemudian catat pH yang dihasilkan (Timur dan Latifah, 2019).

d. Uji Daya Sebar

Sebanyak 0,5 g krim diletakkan diatas kaca besar yang berdiameter 15 cm, kaca lainnya diletakkan diatasnya dan dibiarkan selama 1 menit. Setelahnya, di atas kaca ditambahkan 150 g beban tambahan dan didiamkan selama 1 menit lalu diukur diameter yang konstan (Timur & Latifah, 2019).

e. Uji Daya Lekat

Sebanyak 0,5 g krim diletakkan di atas gelas obyek yang telah ditentukan luasnya. Obyek glass yang lain diletakkan di atas sediaan tersebut, kemudian ditambahkan beban 1 kg selama 5 menit. *Obyek glass* dipasang pada alat tes. Beban seberat 80 g dilepas. Waktu hingga kedua gelas obyek tersebut terlepas dicatat, kemudian replikasi dilakukan sebanyak 3 kali (Muthoharoh & Rianti, 2020).

f. Uji Viskositas

Deodoran diamati tingkat kekentalannya dari masing-masing konsentrasi ekstrak dengan menggunakan *viscometer brookfield*. Kemudian dipasang *spindle* ukuran 4 dan rotor dijalankan dengan kecepatan 30 rpm (Timur & Latifah, 2019).

g. Uji Tipe Krim

Sejumlah sediaan krim diletakkan pada kaca arloji, kemudian tambahkan 1 tetes metilen biru, diaduk dengan batang pengaduk. Bila metilen biru tersebar merata berarti tipe krim yang dihasilkan adalah minyak dalam air (M/A). Sedangkan bila timbul bintik-

bintik biru krim yang dihasilkan adalah air dalam minyak (A/M) (Mardikasari *et al.*, 2020).

3.4.9 Uji Antiperspiran

Pengujian dilakukan dengan cara menimbang 2 buah kapas dengan berat yang sama. Satu kapas diberikan sediaan deodoran krim dan kapas lainnya tidak diberikan sediaan. Letakkan kapas pada ketiak seorang panelis kemudian ditunggu selama 1 jam. Setelah 1 jam kedua kapas tersebut ditimbang kembali, dilihat perbandingan beratnya (Dwinita *et al.*, 2019). Hasil yang diperoleh dimasukkan dalam rumus untuk menghitung volume penurunan keringat. Rumus uji antiperspiran :

$$\text{Selisih} = \text{Berat Akhir} - \text{Berat Awal}$$

Keterangan:

Nilai awal : Berat kapas sebelum ditempelkan pada ketiak panelis

Nilai akhir : Berat kapas setelah ditempelkan pada ketiak panelis

3.4.10 Pengujian Bakteri

1. Pembuatan Media Nutrient Agar (NA)

Pembuatan media dilakukan dengan menimbang media *Nutrient Agar* sebanyak 8 g kemudian dilarutkan dengan aquadest sebanyak 400 mL dalam erlenmeyer dan ditutup dengan kapas lalu dilapisi plastik warp. Selanjutnya dipanaskan dan diaduk hingga homogen kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya media dituang ke dalam tabung

reaksi steril sebanyak 5 mL. Kemudian dimiringkan dengan kemiringan 30-45°C. Bagian mulut tabung reaksi disumbat dengan kapas yang dibalut kain kasa steril, kemudian ditunggu sampai media memadat (Athaillah dan Sugesti, 2020).

2. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan disterilkan dicuci terlebih dahulu dan dikeringkan. Semua alat yang digunakan harus melalui proses sterilisasi alat seperti cawan petri, batang L, tabung reaksi, erlenmeyer, gelas ukur, dan pipet volume. Semua alat dibungkus menggunakan kertas dan ditali dengan benang jagung agar tidak lepas, selanjutnya disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Untuk alat seperti jarum ose dan pinset disterilkan dengan cara direndam dengan alkohol selama 2 menit kemudian dipijarkan dengan api bunsen (Budiarti *et al.*, 2024).

3. Peremajaan Bakteri

Diambil satu koloni biakan murni bakteri *Staphylococcus epidermidis* dari kultur murninya menggunakan ose yang sudah disterilkan, kemudian inokulasi dengan cara mengambil 1 ose bakteri lalu goreskan pada media agar miring, selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Athaillah dan Sugesti, 2020).

4. Pembuatan Larutan MC Farland

Larutan MC Farland dipakai sebagai standar kekeruhan suspensi bakteri uji. Larutan MC Farland 0,5 dibuat dengan

melarutkan larutan BaCl_2 1% sebanyak 0,5 mL dan larutan H_2SO_4 1% sebanyak 9,95 mL. Larutan kemudian divortex sampai tercampur sempurna (Athaillah dan Sugesti, 2020).

5. Pembuatan Suspensi Bakteri Uji

Larutan suspensi bakteri uji dibuat dengan cara mengambil media hasil uji peremajaan sebanyak 2 ose, dimasukkan dalam tabung reaksi steril yang berisi 5 mL larutan NaCl dan dihomogenkan dengan membandingkan kekeruhan 0,5 standar MC Farland (Athaillah dan Sugesti, 2020).

6. Pembuatan Suspensi Klindamisin 150 mg

Sebanyak 150 mg klindamisin dilarutkan dalam 10 mL aquadest steril.

7. Uji Antibakteri Ekstrak Daun Kemangi

Konsentrasi ekstrak daun kemangi dibuat dengan melarutkan ekstrak ke dalam DMSO 5% masing-masing sebanyak 1 mL, dengan konsentrasi 3%, 5%, dan 7%. Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 5% (Kusuma & Ningrum, 2021).

8. Uji Antibakteri Deodoran Krim

Pengujian ini dilakukan dengan metode difusi cakram. Kertas cakram steril diletakkan pada masing-masing formulasi dengan konsentrasi F1 (3%), F2 (5%), F3 (7%), dan F0 (tanpa ekstrak), lalu ditunggu sampai menjadi jenuh. Selanjutnya sebanyak 15 mL medium NA (*Nutrient Agar*) dituang kedalam cawan petri kemudian meletakkan kertas cakram yang telah dijenuhkan dengan sediaan deodoran krim. Kontrol positif yang digunakan

adalah klindamisin. Media yang sudah berisi bakteri uji kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Diameter zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram setelah 24 jam diukur dengan menggunakan penggaris (Masrijal *et al.*, 2022).

Diameter zona hambat diukur dengan rumus :

$$\text{Zona hambat} = \frac{(DV - DC) + (DH - DC)}{2}$$

Keterangan :

DV : Diameter vertikal

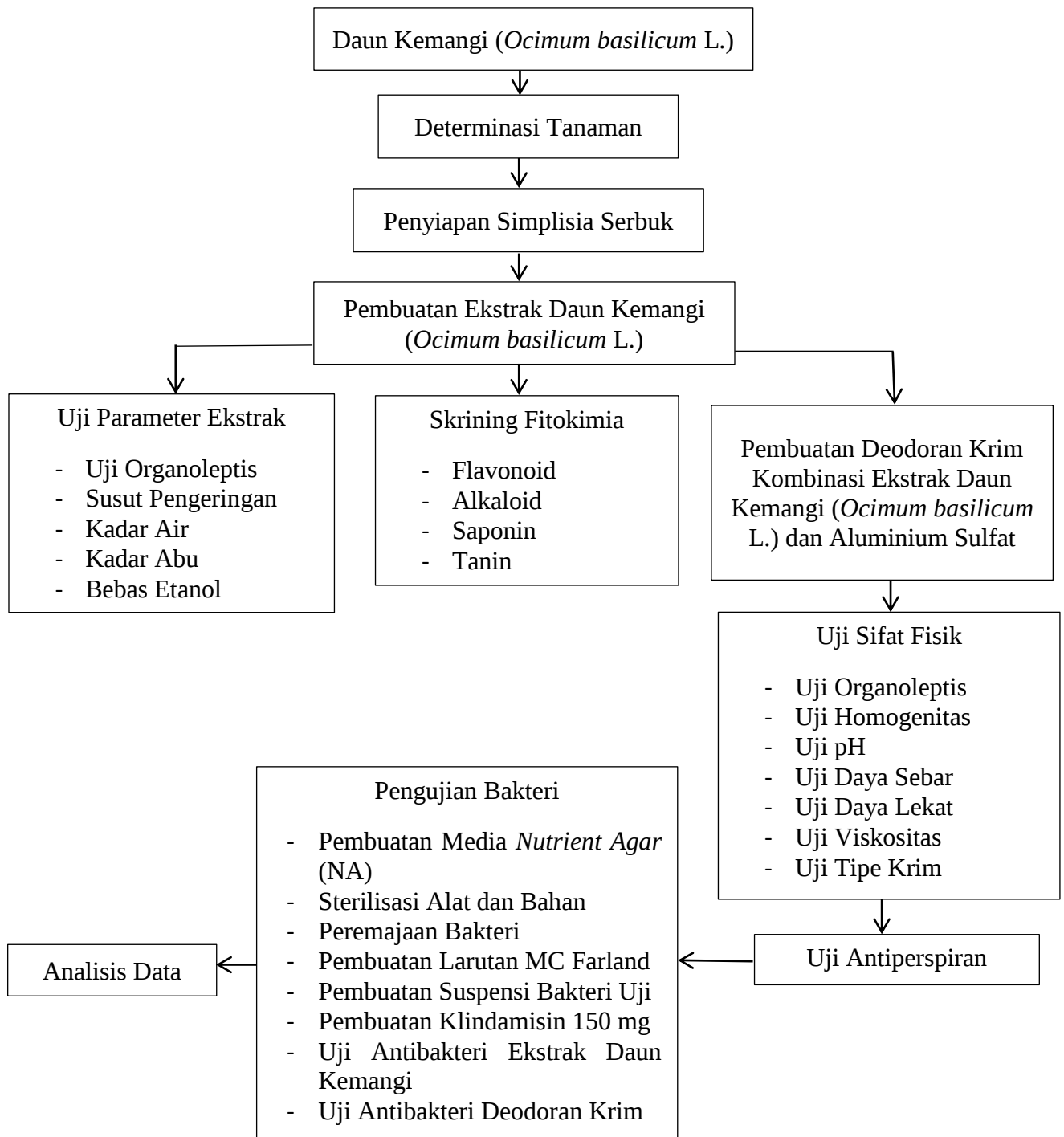
DC : Diameter cakram

DH : Diameter horizontal

3.5 Analisis Data

Hasil data zona hambat kemudian dianalisa dengan menggunakan uji ANOVA (*Analysis Of Variance*) satu arah. *One Way* ANOVA digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan rata-rata untuk lebih dari dua kelompok sampel yang tidak berhubungan. Persyaratan ANOVA yang harus dipenuhi adalah terdistribusi normal dan variasinya homogen, jika syarat ANOVA tidak terpenuhi atau data tidak terdistribusi normal maka dapat dilakukan uji non parametik menggunakan uji *Kruskal Wallis* untuk membandingkan antara F1, F2, dan F3.

3.6 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Bagan Alur Penelitian