

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini bersifat eksperimental dengan jenis pra eksperimen rancangan studi kasus bentuk tunggal (*on shot case study*). Penelitian ini merupakan yang menggunakan kelompok eksperimen saja tanpa kelompok pembanding. Setelah suatu kelompok diberi perlakuan selanjutnya hasil tersebut diobservasi

Penelitian ini dilakukan dengan merancang, membuat formulasi dan mengevaluasi sifat fisik sediaan gel minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dengan variasi konsentrasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum*) berupa organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar dan uji aktifitas bakteri *Staphylococcus aureus* kemudian dianalisa menggunakan analisa univariat.

B. Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah formulasi dan uji aktifitas bakteri *Staphylococcus aureus* sediaan gel minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) sebagai antijerawat dengan dengan konsentrasi 1%, 2%, 3% dan 4%

C. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmastika Jurusan Farmasi Politeknik Kesehatan Tangjungkarang dan Politeknik Negeri Lampung pada tanggal 20 Maret sampai 25 Mei tahun 2020.

D. Alat dan Bahan

1. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik Quatro FH, alumunium foil, gelas ukur (10,0ml, 50,0ml dan 100,0ml), incubator ,bulb, beaker glass (50,0ml, 100,0ml, 250,0ml), labu ukur (50,00ml), pipet ukur (10ml), pipet mikro (100 μ l, 100-1000 μ l), erlenmeyer (250ml), tabung reaksi,

kaca arloji, mortir, stamper, cawan porselen (50ml), cawan petridish, pipet tetes kertas perkamen, batang pengaduk, pot plastik, objek glass, pH-009(I)A pen type pH meter standart , hotplate maspion, anak timbangan 125mg, lampu spritus, LAF, autoclave, sudip, spatula, kertas buram dan penggaris, jangka sorong kenmaster.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilcum L.*) , HPMC, propilenglikol, nipagin, aquadest, media yang digunakan adalah nutrient agar dan nutrient broth, bakteri *Staphylococcus aureus*, NaCl 0,9%, Bacl 1%, H₂SO₄ 1%.

E. Prosedur Kerja

1. Penelitian ini diawali dengan melakukan formulasi gel antijerawat menggunakan formula dari jurnal penelitian Pelen, dkk 2016 dengan menggunakan minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilcum L*) dengan kemurnian 100% (grade untuk penelitian) dibuktikan berdasarkan *Certificate of Analysis* (CoA), selanjutnya harus dilakukan identifikasi minyak dengan metode umum minyak atsiri maupun metode khusus berupa uji organoleptik minyak untuk memastikan standar mutu dan kandungan minyak atsiri daun kemangi tersebut yang sesuai dengan persyaratan.

1. Formulasi Sediaan Gel

Formulasi Gel (Pelen, Wullur, Citraningtyas, 2016)

HPMC	7%
Propilenglikol	30%
Nipagin	0,1%
Air ad	100

Tabel 3.1 Formulasi Sediaan Gel Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dalam persen (%)

No	Fungsi	Komposisi	Formula Gel dalam %				
			F0	F1	F2	F3	F4
1	Zat aktif	Minyak Atsiri Daun Kemangi	-	1	2	3	4
2	Pembentuk gel	HPMC	7	7	7	7	7
3	Humektan	Propilengikol	30	30	30	30	30
4	Pengawet	Nipagin	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
5	Pelarut	Aquadest ad	100	61,9	60,9	59,9	58,9

Tabel 3.2 Formulasi Gel Ekstrak Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) untuk 20 gram

No	Fungsi	Komposisi	Jumlah bahan (gram)				
			F0	F1	F2	F3	F4
1.	Zat aktif	Minyak Atsiri Daun Kemangi	-	0,2	0,4	0,6	0,8
2.	Pembentuk gel	HPMC	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
3.	Humektan	Propilengikol	6	6	6	6	6
4.	Pengawet	Nipagin	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
5.	Pelarut	Aquadest	20	12,4	12,2	12	11,8

Formula F0 : Basis Gel tanpa minyak atsiri daun kemangi

Formula F1 : Konsentrasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) 1%

Formula F2 : Konsentrasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) 2%

Formula F3 : Konsentrasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) 3%

Formula F4 : Konsentrasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) 4%

2. Perhitungan bahan

- a. Ditimbang minyak atsiri daun kemangi untuk masing-masing formula di cawan porselen dengan neraca elektrik
- b. Ditimbang HPMC sebanyak 1,4 gram untuk masing masing formula di atas perkamen dengan timbangan elektrik
- c. Ditimbang propinglikol untuk tiap formula masing-masing sebanyak 6 gram di cawan porselen dengan timbangan elektrik

- d. Ditimbang nipagin untuk tiap formula masing-masing sebanyak 0,002 gram dicawan porselen dengan timbangan elektrik
- e. Diukur aquadest untuk masing-masing tiap formula
3. Pembuatan gel
 - a. Disiapkan alat dan bahan
 - b. Panaskan aquadest hingga mendidih kemudian masukan HPMC kedalam mortar, lalu di panaskan kembali di atas hotplate hingga larut (campuran 1)
 - c. Metil paraben di larutkan dalam propilenglikol, kemudian ditambahkan sedikit demi sedikit kecampuran 1, aduk sampai homogen (campuran 2)
 - d. Kemudian basis gel yang sudah jadi dimasukkan kedalam mortar, lalu di tambahkan dengan minyak astiri daun kemangi sedikit demi sedikit gerus hingga homogen
 - e. Gel yang dihasilkan dimasukkan kedalam wadah gel
4. Pengulangan

Pengulangan pada eksperimen ini adalah

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(5-1) \geq 1$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$n \geq 5$$

keterangan : n=pengulangan

 t=perlakuan

F. Pengujian Sediaan Gel

1. Uji Organoleptis

Uji organoleptis merupakan cara pengujian dengan menggunakan alat indera manusia sebagai alat ukur terhadap penilaian suatu produk. Pengamatan ini digunakan untuk mendeskripsikan warna, aroma dan tekstur terhadap sediaan yang dihasilkan.

2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan oleh peneliti dengan cara mengoleskan sediaan gel di objek glass dan diamati susunan partikel yang masih menggumpal atau tidak.

3. Uji pH

Pengujian pH dilakukan oleh peneliti dengan pengamatan nilai pH gel yang tertera pada pH meter yang langsung dicelupkan kedalam sediaan dibandingkan dengan persyaratan pH untuk kulit wajah yaitu 4,5-6,5.

4. Daya Sebar

Pengujian daya dilakukan oleh peneliti yaitu dengan cara sebanyak 1 gram sediaan gel diletakkan dengan hati-hati di atas kaca berukuran 20×20 cm. Selanjutnya ditutup dengan kertas mika dan diberikan pemberat di atasnya dengan bobot mencapai 125 gram, kemudian diukur diameter yang terbentuk setelah 1 menit.

5. Uji Aktifitas Bakteri *S.aureus*

a. Peralatan : Inkubator, cawan petri, beaker glass, erlenmeyer, gelas ukur, batang pengaduk, timbangan elektrik, hot plate, kapas steril autoklaf, oven, spatula, lampu spiritus, aluminium foil, kertas roti.

b. Bahan : Sediaan gel antijerawat minyak atsiri daun kemangi, nutrient agar, aquadest.

c. Prosedur

1. Sterilisasi Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini dibersihkan dan dikeringkan terlebih dahulu, kemudian dibungkus dengan kertas pembungkus. Sterilisasi dengan menggunakan oven pada suhu 150°C selama kurang lebih 1 jam 9 (Romadhon, 2015)

2. Pembuatan Nutrient Agar

Ditimbang 2,8 gram nutrient agar dan di masukkan ke dalam Erlenmeyer, ditambahkan dengan aquadest 100ml, lalu dipanaskan di atas hot plate hingga mendidih sambil diaduk sampai homogen. Kemudian media disterilkan dengan cara bagian mulut Erlenmeyer ditutup dengan kapas dan dengan kertas yang diikat dengan karet gelang, kemudian dimasukkan kedalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C . Tuang media steril ke dalam cawan petri secara aseptis di dalam LAF.

3. Pembuatan Standard Mac Farland

H₂SO₄ 1% sebanyak 9,5 ml dicampurkan dengan larutan BaCl₂ 1% sebanyak 0,5 ml, lalu dikocok sampai homogen. Standar kekeruhan ini dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditutup rapat. Setiap akan digunakan untuk membandingkan suspensi larutan dikocok terlebih dahulu (Maliku, 2010).

4. Pembuatan suspensi bakteri

Satu ose biakan bakteri yang telah diremajakan pada media NA disuspensikan kedalam tabung 5 ml media NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Suspensi bakteri tersebut diencerkan menggunakan NaCl 0,9%. Steril sampai kekeruhannya setara dengan larutan standar Mc. Farland (Nuria, 2013).

5. Pengujian Aktivitas Bakteri *S.aureus*

Pengujian aktivitas antibakteri sediaan gel minyak atsiri daun kemangi dilakukan dengan metode difusi agar, dengan cara mengukur diameter hambatan pertumbuhan bakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Cara pengujiannya yaitu metode sumuran yang sudah dibuat pada media pengujian diteteskan sediaan gel minyak atsiri daun kemangi sebanyak 10 µl menggunakan mikropipet, kemudian diinkubasi dalam indikator pada suhu 37°C selama 24 jam, setelah itu diukur diameter zona hambat (zona jernih) di sekitar sumuran menggunakan jangka sorong kemudian hasil yang didapat dikurangi diameter sumuran 7mm (Kindangen, Yamlean, dan Wewengkang).

G. Teknik Pengumpulan Data

Pada penelitian ini dilakukan uji pH , uji organoleptis, uji homogenitas dan uji daya sebar pada sediaan gel yang dihasilkan

1. Uji Organoleptis

Uji ini merupakan uji yang dilakukan menggunakan panca indera manusia dengan mengamati, warna, tekstur dan aroma dari sediaan gel yang dihasilkan, dapat dilakukan oleh peneliti. Data yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabel.

2. Uji Homogenitas

Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah sediaan yang dibuat homogen atau tidak dengan cara mengoleskan sejumlah tertentu gel pada objek glass dan diamati adakah partikel yang masih menggumpal atau tidak tercampur sempurna. Uji ini dilakukan oleh peneliti.

3. Uji Daya Sebar

Uji ini dilakukan oleh peneliti untuk mengetahui daya penyebaran gel pada kulit. Uji ini dilakukan dengan mengukur diameter penyebaran gel yang terbentuk pada lempeng kaca setelah 1 menit menggunakan penggaris terhadap 3 sediaan gel yang dihasilkan, data yang diperoleh dimasukkan ke dalam table dan dibandingkan dengan persyaratan literatur dengan keterangan memenuhi syarat (MS) jika diameter daya sebar yang dihasilkan berkisar antara 5 – 7 cm

4. Uji pH

Uji ini dilakukan oleh peneliti dengan melaukan pengukuran menggunakan pH meter terhadap sediaan gel yang dihasilkan dan dicatat nilai pH yang tertera pada pH untuk kulit wajah yaitu 4,5 - 6,5.

5. Uji Aktifitas Bakteri *S. aureus*

Uji ini dilakukan oleh peneliti untuk melihat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilcum L.*) pada pengumpulan data dilakukan dengan cara mengukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar sumuran yang dihasilkan oleh gel minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilcum L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada formula yang memenuhi persyaratan homogen, pH dan daya sebar dalam satan milimeter.

H. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengelolaan data

a. *Editing*

Pengecekan kembali data yang diperoleh dari hasil pengamatan. Pengecekan dilakukan terhadap semua lembar pengujian yang meliputi homogenitas, organoleptis, lembar pengujian pH, daya sebar dan uji aktifitas bakteri *S.aureus* dengan memeriksa kelengkapan data untuk diproses lebih lanjut.

b. *Coding*

Setelah data diedit, dilakukan pengkodean yakni merubah bentuk kalimat atau huruf menjadi data angka/bilangan yang dimaksudkan untuk memudahkan dalam melakukan analisis.

c. *Entering*

Data-data yang telah selesai di *editing* dan *coding* selanjutnya dimasukkan kedalam aplikasi pengolahan angka dan kata untuk dianalisis. Data dimasukkan ke dalam program computer pengolah table dan data disesuaikan dengan kode yang sudah diberikan untuk masing-masing evaluasi seperti organoleptis, homogenitas lalu dianalisis untuk mendapatkan persentase

d. Tabulasi

Setelah data dianalisis, hasil yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel. Data pada program computer pengolah table dan data dibuat dalam bentuk tabel agar lebih mempermudah dalam menganalisis dan disajikan dalam bentuk grafik agar lebih mudah dalam pemahaman.

2. Analisis Data

Teknik analisis data dalam penelitian ini menggunakan analisis univariat, yaitu analisis yang dilakukan terhadap tiap variable dari hasil penelitian. Analisis ini hanya menghasilkan distribusi seperti jumlah panelis yang memilih variable organoleptis, pH, homogenitas dan daya sebar yang di dapat yang telah diketahui jumlah distribusinya.