

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Penelitian eksperimental yang bertujuan agar dapat mengetahui karakteristik krim dan aktivitas antioksidan dengan variasi konsentrasi ekstrak daun kemangi (*Ocimum tenuiflorum*), dibuat dalam sediaan krim.

#### **B. Lokasi dan Waktu Penelitian**

1. Penelitian dikerjakan di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta. Waktu penelitian dilakukan dari bulan Juli-September.
2. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta pada bulan Juni.
3. Analisis aktivitas antioksidan dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta pada bulan Agustus-September.

#### **C. Variabel Penelitian**

1. Variabel Bebas  
Variabel bebas ialah variasi konsentrasi ekstrak daun kemangi
2. Variabel Terikat  
Variabel terikat ialah karakteristik krim ekstrak daun kemangi yaitu organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, viskositas dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

#### **D. Definisi Operasional**

1. Krim ialah bentuk semi padat yang dibuat sesuai penggunaan topikal (Depkes RI, 1979).
2. Menurut SNI, untuk sediaan yang digunakan untuk pemakaian luar seperti salep, krim, nilai pH yang baik yaitu berkisar 4,5- 8.
3. Menurut SNI untuk uji viskositas standar yang baik berkisar 2000-50.000 cPs (SNI, 1996).

4. Untuk uji daya sebar pada sediaan krim yaitu antara 5-7 cm, sehingga bertambah besar daya sebar maka banyak krim terabsorpsi (SNI, 1996).
5. Untuk uji daya lekat pada krim yang baik yaitu lebih dari 4 detik (Rachmalia et al., 2016).

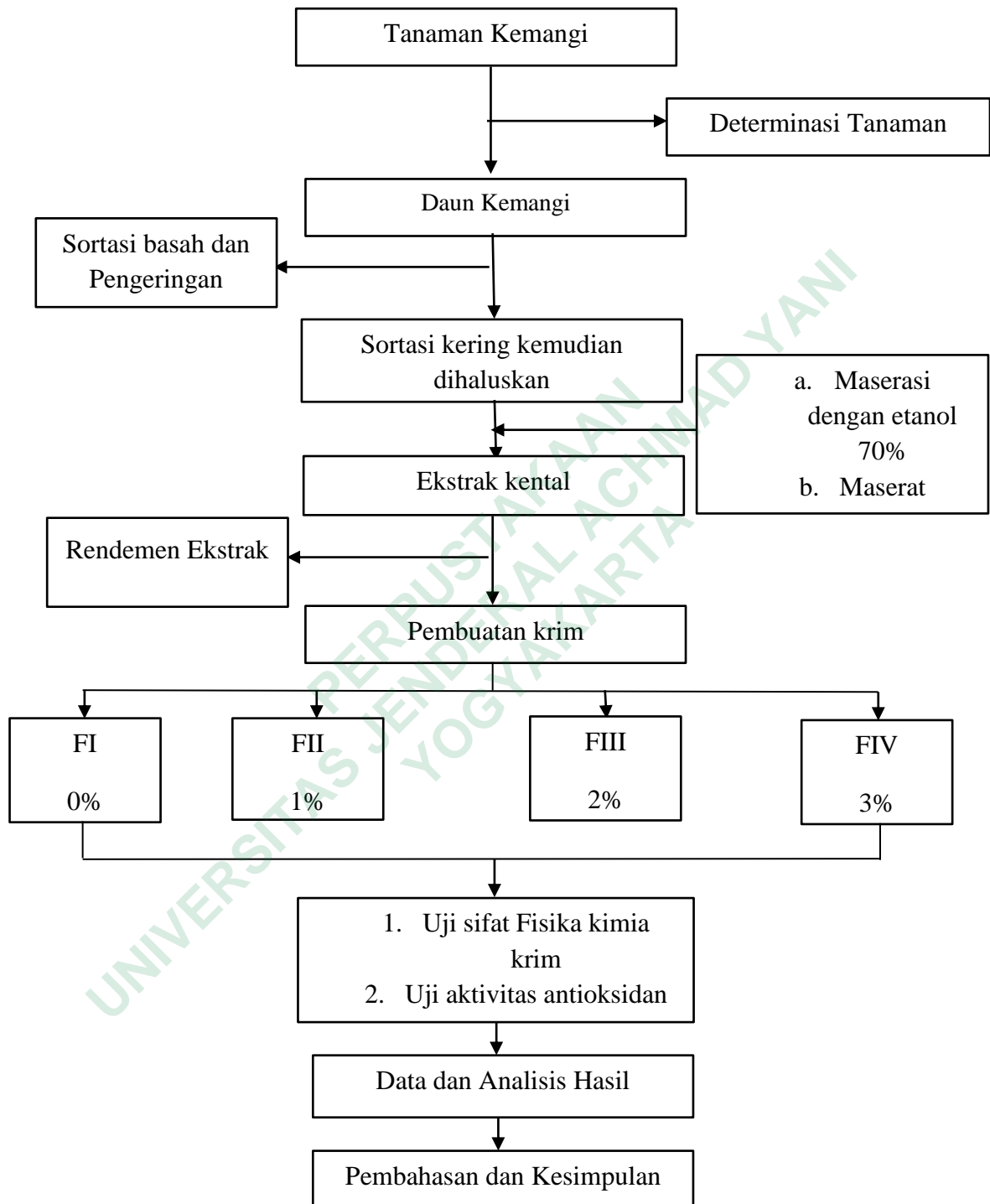
#### **E. Alat**

Ayakan 40 mesh, batang pengaduk, cawan porselin, gelas beaker (*Iwaki Pyrex*), gelas ukur (*Iwaki Pyrex*), kaca arloji, kompor listrik, labu takar (*Iwaki Pyrex*), mikropipet (*eppendorf*), mortir, neraca analitik (*Ohaus*), oven, pipet tetes, pipet volume (*Iwaki Pyrex*), propipet, sendok besi, Steamper, Spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10S UV-Vis*), sudip, tabung reaksi (*Iwaki Pyrex*), termometer, toples kaca/wadah maserasi, *viscometer Brookfield*, vortex (*Ohaus*).

#### **F. Bahan**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Daun kemangi diperoleh dari Desa Ngaringo Kecamatan Jaten Kabupaten Karanganyar. Bahan yang digunakan yaitu adeps lanae, asam sulfat pekat, aquadest, blue tip, etanol 70% , kertas pH, metanol p.a, DPPH (*2,2 diphenyl-1-pikrilhidrazil*), pereaksi dragendroff, pereaksi wagner, pereaksi mayer, paraffin liquidum, setil alkohol, Span 80, Tween 80, metil paraben, propil paraben, vitamin C, pereaksi FeCl<sub>3</sub>, tabung sentrifugasi, yellow tip.

### G. Skema Jalannya Penelitian



## H. Metode dan Pengolahan

### 1. Determinasi Tanaman Daun Kemangi

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

### 2. Pengumpulan Bahan

Daun kemangi diperoleh Desa Ngaringo Kecamatan Jaten Kabupaten Karanganyar. Daun dibeli pada bulan Mei yang memiliki kualitas baik, daun yang segar dan warna hijau, dicuci menggunakan air yang mengalir.

### 3. Pembuatan Serbuk Simplisia Kemangi

Daun kemangi yang sudah dicuci, dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C selama 48 jam. Selanjutnya daun kemangi kering dihaluskan dengan blender sampai membentuk serbuk dan di ayak menggunakan ayakan 40 mesh, setelah itu serbuk ditimbang dan dihitung prosentasi bobot kering dibandingkan dengan bobot basah.

### 4. Pembuatan Ekstrak daun Kemangi

Simplisia dari daun kemangi diekstraksi dengan pelarut etanol 70% menggunakan cara maserasi, sampel selama 3 hari setiap 24 jam dilakukan pengadukan sehingga mendapatkan hasil yang baik dengan menggunakan perbandingan 1:4. Selanjutnya ekstrak disaring dengan kertas saring, kemudian ekstrak diuapkan diatas kompor sampai terbentuk ekstrak kental.

Rendemen dari ekstrak daun kemangi dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang dihasilkan}}{\text{Bobot bahan (simplisia)}} \times 100\%$$

## 5. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Kemangi

### a. Uji Alkaloid

Diambil ekstrak sebanyak 3 mL ditambahkan 4 tetes Reagen Dragendroff, Wagner, Mayer pada masing-masing ekstrak. Ekstrak menunjukkan warna orange kemerahan pada Reagen Dragendroff positif adanya alkaloid, ekstrak menunjukkan endapan berwarna coklat kemerahan pada Reagen Wagner positif adanya alkaloid, ekstrak menunjukkan endapan berwarna kuning pada Reagen Mayer positif adanya alkaloid (Surahmaida & Umarudin, 2019).

### b. Uji Flavonoid

Diambil ekstrak 10 mg ditambahkan 5 ml etanol. Kemudian ditambah 3 tetes pereaksi  $\text{FeCl}_3$  hingga berubah menjadi warna hijau, ungu, merah, dan hitam menunjukkan positif flavonoid. Jika sampai 20 tetes pereaksi  $\text{FeCl}_3$  tidak menunjukkan perubahan warna maka hasilnya negatif adanya flavonoid (Hanani, 2017).

### c. Uji Saponin

Ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 10 mL air panas selanjutnya didinginkan, dikocok selama 10 detik. Jika berbentuk buih selama kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm, maka positif mengandung saponin, pada penambahan HCL 2N maka buih akan hilang (Simamaremare, 2014).

### d. Uji Terpenoid dan Steroid

Diambil ekstrak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan kloroform sebanyak 0,5 mL, jika terdapat bentuk cincin yang berwarna coklat, merah atau jingga diantara batas larutan maka mengandung terpenoid. Dimasukkan 0,5 mL asam asetat anhidrat dan ditambahkan 2 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  melalui dinding tabung reaksi, apabila terbentuk lingkaran berwarna kehijauan maka positif steroid (Susanti et al., 2014).

e. Uji Tanin

Sebanyak ekstrak 2 ml ditambah 5 tetes reagen  $\text{FeCl}_3$  dimasukkan dalam tabung reaksi. Jika timbul reaksi warna biru tua ataupun hitam kehijauan maka ada kandungan tanin (Nuryanti & Pursitasari, 2014).

6. Formula Krim Ekstrak Daun Kemangi

Formulasi dasar krim berdasarkan penelitian ini mengacu pada penelitian (Musfandy, 2017).

**Table 1. Formulasi Krim**

Bahan	Formula krim (%)			
	F0 (%b/v)	F I (%b/v)	F II (%b/v)	F III (%b/v)
Ekstrak kulit buah jeruk	0	5	10	15
Asam stearat	5	5	5	5
Parafin cair	1,5	1,5	1,5	1,5
Gliserol	5	5	5	5
Setil Alkohol	5	5	5	5
Span 80	5	5	5	5
Tween 80	5	5	5	5
Adeps Lanae	5	5	5	5
Metil Paraben	0,18	0,18	0,18	0,18
Propil Paraben	0,02	0,02	0,02	0,02
Aquadest ad	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100

Modifikasi dilakukan adalah perubahan pada konsentrasi ekstrak daun kemangi, dan asam stearat dari sejumlah tetap sama.

**Table 2. Hasil Modifikasi Formula (Musfandy, 2017)**

Bahan	Formula			
	F0 (% b/v)	F I (%b/v)	F II (%b/v)	F III (%b/v)
Ekstrak daun kemangi	0	1	2	3
Parafin cair	5	5	5	5
Setil alkohol	5	5	5	5
Gliserol	15	15	15	15
Span 80	5	5	5	5
Tween 80	5	5	5	5
Adeps Lanae	5	5	5	5
Metil Paraben	5	5	5	5
Propil Paraben	0,02	0,02	0,02	0,02
Aquadest	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100

#### 7. Pembuatan Krim Ekstrak Daun Kemangi

Pembuatan krim ekstrak daun kemangi dibuat menggunakan metode peleburan. Fase minyak meliputi adeps lanae, setil alkohol, parafin cair, span 80 dan propil paraben dalam cawan porselin dipanaskan diatas penangas air. Fase air dibuat dengan melarutkan metil paraben, gliserol, dan tween 80 dengan aqua dest, selanjutnya fase minyak dan fase air dimasukan dalam mortir panas diaduk sampai terbentuk corpus emulsi

dipertahankan pada suhu 70°C. Kemudian ditambahkan sedikit demi sedikit ekstrak aduk sampai homogen, sediaan yang sudah jadi dimasukan dalam wadah tertutup rapat.

8. Uji Karakteristik Fisika Kimia Krim Ekstrak Daun Kemangi

a. Uji Organoleptis

Sediaan diamati dengan indra penglihatan (mata) meliputi bau, warna, bentuk dan tekstur dari sediaan krim.

b. Uji Homogenitas

Uji homogenitas fisik memakai object glass dengan mengoleskan krim sampai terbentuk lapisan tipis, selanjutnya ditutup dengan object glass yang baru. Krim terlihat homogen jika tidak terlihat partikel kasar.

c. Uji Viskositas

Uji Viskositas krim memakai viscometer brookfield, krim dimasukan kedalam beaker glass selanjutnya dipasang spindle dan rotor dijalankan. Kemudian dipasang rotor pada viscometer dan menguncinya melawan arah jarum jam (Azkiya et al., 2017) .

d. Uji pH

Uji pH dilakukan menggunakan pH stik yang dimasukan ke dalam sediaan krim, didiamkan hingga timbul warna, kemudian warna yang muncul dicocokkan pada indikator pH (Puspita et al., 2021).

e. Uji Daya Sebar

Diambil krim 0,5 gram sampel selanjutnya diletakan di antara 2 lempeng gelas ,pada bagian lempeng gelas bagian atas ditimbang terlebih dahulu dan diletakan di atas sampel. Setelah 1 menit diameter sampel yang menyebar diukur pada bagian sisi kemudian dirata-rata. Penambahan beban sebesar 50 gram dilakukan setiap 1 menit dilakukan setelah pengukuran diameter penyebaran sampel hingga beban total mencapai 250 gram. Replikasi 3 kali.(Pratama & Zulkarnain, 2015).



f. Uji Daya Lekat

Diambil krim 100 mg diletakan di antara dua objek glass yang telah ditentukan luasnya. Di atasnya, ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit. Kemudian , objek glass dipasang pada alat tes, beban 21 gram dilepaskan dan dicatat waktu hingga kedua objek glass tersebut terlepas. Replikasi 3 kali. (Elcistia & Zulkarnain, 2019).

g. Uji Stabilitas Fisika

Diambil sampel krim secukupnya ditempatkan dalam tabung sentrifugasi (diameter 1 cm) dan disentrifugasi 5000 rPm 5 menit kemudian ditunggu pemisahan fase (Wulandari, 2016).

9. Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH

a. Pembuatan Larutan DPPH

Diambil 5 mg DPPH dilarutkan dalam 100 ml metanol p.a dimasukan labu takar, kemudian diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 50 ppm.

b. Pembuatan Blangko

Diambil sebanyak 3,5 ml DPPH 50 ppm menggunakan pipet. Berikutnya dibiarkan selama 30 menit, kemudian dilihat absorbansi pada spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 515 nm.

c. Uji aktivitas antioksidan ekstrak daun kemangi (*Ocimum tenuiflorum*)

Membuat larutan stock 100 ppm ditimbang sampel sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan menggunakan metanol sampai homogen hingga volume 100 ml. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan konsentrasi larutan 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, dan 8 ppm, diambil 0,5 ml dengan konsentrasi berbeda kemudian tambahkan 4 ml DPPH, berikutnya campur sampai homogen lalu diamkan di suhu ruangan dalam waktu 30 menit, dilihat serapan pada spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 514 nm.

d. Pengukuran aktivitas radikal bebas sampel pembanding (Vitamin C)

Disiapkan larutan stok 100 ppm, ditimbang vitamin C 10 mg yang dilarutkan dalam methanol absolut sampai homogen,

ditambahkan hingga 100 ml. Kemudian dibuat pengenceran berbagai konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, dan 15 ppm. Diambil 0,5 ml sampel dengan konsentrasi yang berbeda, diambil 4 ml DPPH 50 ppm, dicampur sampai homogen, berikutnya didiamkan suhu ruangan dalam 30 menit, dilihat absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis panjang gelombang 515 nm.

- e. Pengukuran aktivitas antioksidan Formula dengan kadar ekstrak daun kemangi 0%, 1%, 2%, 3%

Sampel krim ditimbang sebanyak 10 mg kemudian ditambahkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 100 ml selanjutnya divortex selama 2 menit, diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm, pada konsentrasi ekstrak 0%, 1%, 2% dan 3% dengan masing-masing konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm, dihitung dengan menggunakan rumus pengenceran. Diambil sampel dengan konsentrasi yang berbeda, dicukupkan volume dengan metanol p.a sampai tanda batas dalam labu ukur 5 ml, berikutnya disetiap konsentrasi diambil 0,5 ml dan ditambahkan 4 ml larutan DPPH, divortex selama 2 menit dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang, selanjutnya diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm.

#### 4. Teknik Pengumpulan Data Dan Analisis Data

Teknik pengambilan data dengan mencatat hasil pengamatan telah dilakukan, memakai analisis data deskriptif dan analisis statistik