

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Studi formulasi pasta gigi ini menggunakan pendekatan eksperimental. Uji stabilitas fisik formulasi pasta gigi yang mengandung ekstrak daun kemangi dengan metode ekstraksi maserasi hasil studi dapat dilihat dengan menggunakan uji organoleptik, homogenitas, pH, daya sebar, daya lekat, viskositas dan percepatan penyimpanan.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

- a. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistemik Jurusan Biologi fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang.
- b. Pembuatan ekstrak daun kemangi dan pengujian metabolit sekunder dilakukan di Laboratorium Fitokimia Universitas Ngudi Waluyo Ungaran.
- c. Formulasi pasta gigi dan uji karakteristik fisik pasta gigi dilakukan di Laboratorium Teknologi Universitas Ngudi Waluyo Ungaran.
- d. Stabilitas penyimpanan pasta gigi dilakukan di Laboratorium Farmakoterapi, Laboratorium Biologi dan Laboratorium Teknologi Universitas Ngudi waluyo.

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan selama bulan Januari - Februari 2023.

C. Subjek Penelitian

Ekstrak etanol daun kemangi merupakan bahan aktif yang digunakan dalam pembuatan pasta gigi. Ada tiga perbandingan konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini: 2,5%, 5%, dan 10%, konsentrasi tersebut dilihat dari penelitian sebelumnya yang diteliti oleh (Nurmashita *et al.*, 2015) menggunakan daun kemangi yang memiliki aktivitas antibakteri. Formulasi pasta gigi ekstrak daun kemangi ini dilihat dari evaluasi karakteristik fisik meliputi uji organoleptis, pH, viskositas, daya sebar, daya lekat, homogenitas dan uji stabilitas penyimpanan dipercepat.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variasi konsentrasi menurut penelitian sebelumnya (Nurmashita *et al.*, 2015) yang menggunakan variasi konsentrasi 2,5% b/v, 5% b/v, dan 10% b/v ekstrak etanol daun kemangi dengan metode maserasi dan konsentrasi penambahan bahan Na-CMC yang bervariasi merupakan variabel bebas pada penelitian ini.

2. Variabel tergantung

Pengujian metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin pada ekstrak daun kemangi sebelum digunakan sebagai formulasi. Pengujian karakteristik fisik meliputi uji homogenitas, pH, daya sebar, daya

lekat, viskositas dan stabilitas penyimpanan formulasi pasta gigi sesuai dengan syarat yang telah ditentukan.

3. Variabel terkontrol

Tanaman daun kemangi dengan area yang sama, waktu yang sama, dan suhu yang sama yang digunakan dalam penelitian ini berfungsi sebagai variabel terkontrol.

E. Pengumpulan Data

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya batang pengaduk, corong kaca, timbangan analitik Ohaus PX224/E, blender miyako BL101PL, beker glass, gelas ukur, spatula, sendok tanduk, bunsen, pematik api, cawan porselin, tabung reaksi, sudip, kain flanel, kertas saring, *climatic chamber* Memmert, water bath DHH-88, *centrifuge* PLC-05, tabung sentrifugasi, viskosimeter Brookfield DV2T , spindle no 64, alat ukur daya sebar, beban 150 gram, alat ukur daya lekat, *stopwatch*, kulkas, jangka sorong Mitutoyo, rotary evaporator AeLAB model RE100-PRO, ayakan 60 mesh, pH meter Ohaus Starter 3100, mortir dan stamper, pot salep, *moisture analyzer* OHAUS MB90.

2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah Daun kemangi (desa Jimbaran), Kalsium karbonat Semarang, Sorbitol, Natrium Lauril Sulfat, Natrium CMC, Gliserin, Natrium Benzoat, Aquadest, Etanol 96% (farmasetika, Toko Kimia Indrasari, Semarang).

3. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan dilaboratorium Ekologi dan Biosistemik Fakultas Sains dan Matematika Program Studi Biologi Universitas Diponegoro Semarang untuk memastikan keakuratan dari daun kemangi yang akan digunakan dalam penelitian.

4. Pengumpulan Sampel

Daun kemangi diperoleh dari petani sayur di Desa Jimbaran Kecamatan Bandungan. Pemanenan daun kemangi dilakukan pada pagi hari.

a. Pengolahan sampel

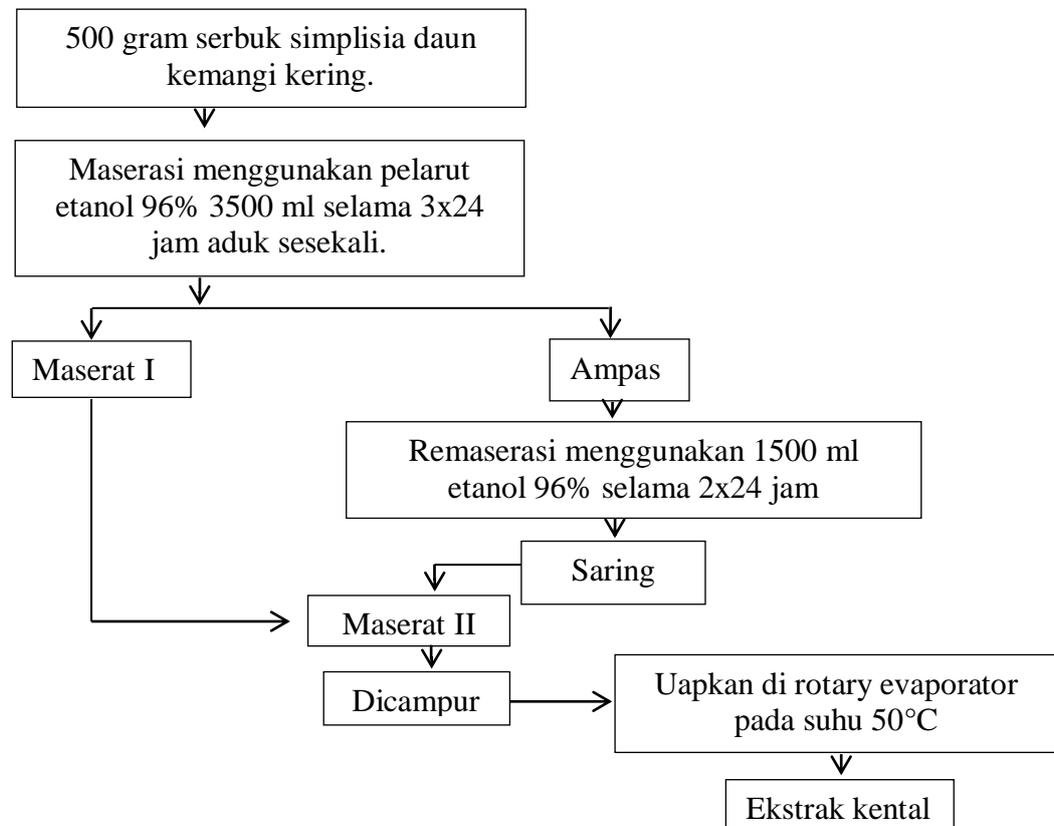
Daun kemangi yang telah dipisahkan dari batang dan bunga seberat 1 kg adalah sampel yang digunakan. Pertama, daun kemangi dicuci hingga bersih di bawah air mengalir kemudian dipotong tipis-tipis dan dikeringkan. Setelah daun kering dan mudah patah (rapuh), pengeringan selesai dan simplisia ditimbang. Simplisia digiling menjadi serbuk halus dengan cara diblender hingga benar-benar halus, diayak dan ditimbang serbuk keringnya. Serbuk kering kemudian dimasukkan ke dalam wadah tertutup untuk mencegah paparan sinar matahari.

b. Pembuatan ekstrak

Pembuatan ekstrak daun kemangi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Langkah awal yang dilakukan adalah dengan menimbang daun kemangi kering dan proses maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10, atau 500 gram simplisia dan 5000 ml etanol 96%. Daun kemangi dimaserasi sebanyak 500 gram dan 3500 ml etanol 96% selama 3x24 jam, diaduk sesekali setiap enam jam untuk menjenuhkan serbuk. Maserat pertama kemudian disaring menggunakan kain flanel. Setelah maserasi awal selesai, sisa 1500 ml pelarut digunakan untuk maserasi kedua. Maserat kemudian dipindahkan ke wadah tertutup dan dibiarkan di tempat yang sejuk dan terhindar dari paparan matahari selama 2 hari. Pembuatan ekstrak kental daun kemangi dilakukan dengan cara maserat yang sudah didapatkan dipanaskan dalam rotary evaporator dengan suhu 50°C sehingga mendapatkan ekstrak kental daun kemangi.

Perhitungan rendemen ekstrak :

$$\frac{\text{Bobot ekstrak (akhir)}}{\text{Bobot bahan baku (awal)}} \times 100\%$$



Gambar 3.1 Pembuatan Ekstrak

c. Uji Metabolit Sekunder

a) Uji Alkaloid

Ekstrak daun kemangi diambil sebanyak 10 mg, tambahkan 10ml HCl ke dalam 10 mg ekstrak kemangi, panaskan selama 2 menit sambil terus diaduk, saring setelah dingin dan tambahkan dengan 5 ml HCl dan reagen Wagner (yodium dan kalium iodida). Jika terdapat endapan dan warna kuning kecoklatan pada daun kemangi, maka daun kemangi positif mengandung alkaloid (Ballo *et al.*, 2021).

b) Pengujian Flavonoid

Ekstrak daun kemangi diambil 10 mg tambah 5 ml etanol dan beberapa tetes FeCl_3 sampai berubah warna. Kandungan flavonoid dapat dilihat apabila warna berubah menjadi hijau, biru, merah, ungu maupun hitam. Apabila sampai ditambah 20 tetes FeCl_3 belum terjadi perubahan warna, maka flavonoid negatif (Kumalasari & Andiarna, 2020).

c) Pengujian Tanin

Ekstrak daun kemangi diambil sebanyak 0,5 gram, masukkan kedalam tabung reaksi dan dipanaskan dengan 20 ml aquadest, saring dan tambahkan beberapa tetes FeCl_3 0,1% hingga warnanya berubah. Warna hijau kecoklatan atau biru kehitaman menunjukkan adanya tanin dalam ekstrak daun kemangi (Ballo *et al.*, 2021).

d) Pengujian Saponin

Ekstrak daun kemangi diambil sebanyak 0,5 gram, masukkan kedalam tabung reaksi dan tambahkan 5 ml air suling dikocok kuat. Saponin dapat dideteksi dalam ekstrak daun kemangi dengan melihat adanya busa, yang merupakan tanda adanya saponin (Kumalasari & Andiarna, 2020).

d. Formulasi Pasta Gigi

Formulasi pasta gigi merupakan suatu pembuatan sediaan dari bahan aktif berupa ekstrak yang kemudian dibuat sebagai bentuk sediaan

contohnya pasta gigi. Berikut adalah tabel formulasi pembuatan pasta gigi ekstrak daun kemangi yang peneliti kembangkan berdasarkan jurnal penelitian yang diteliti oleh (Nurmashita *et al.*, 2015) dan (Asrina, 2019).

Tabel 3.1 Formulasi Pasta Gigi Ekstrak Daun Kemangi
(*Ocimum basilicum* L)

Nama bahan	Fungsi	Formulasi (% b/v)		
		F1	F2	F3
Ekstrak Daun Kemangi U	Bahan aktif	2,5	5	10
Kalsium Karbonat	Abrasif	30	35	40
Natrium Carboxy Methyl Cellulose	Bahan pengikat	1,5	3	4,5
Gliserin	Humektan	10	10	10
Natrium lauryl sulfat	surfaktan	2	2	2
Sorbitol	Pemanis	0,1	0,1	0,1
Natrium benzoat	Pengawet	0,1	0,1	0,1
Aquadest	Pelarut	Ad 100 mL	Ad 100 mL	Ad 100 mL

e. Fungsi Bahan Pada Pasta Gigi

Fungsi dari bahan-bahan yang dibutuhkan untuk membuat pasta gigi :

- a) Ekstrak daun kemangi adalah komponen yang digunakan dalam pasta gigi untuk menambah warna, dimana pasta gigi sebelumnya berwarna putih tulang ketika ditambah ekstrak daun kemangi menjadi warna hijau mint.
- b) Kalsium karbonat berfungsi sebagai bahan abrasif yang dapat membantu menghilangkan plak dan noda pada gigi.

- c) Natrium CMC berfungsi sebagai bahan pengental pada sediaan pasta. Hal ini dapat memberikan bentuk dan stabilitas pasta gigi serta memberikan konsistensi yang seimbang pada sediaan pasta gigi sehingga mudah diambil dari wadah dan melekat pada sikat gigi.
- d) Gliserin berfungsi sebagai bahan humektan atau pelembab yang memberikan tekstur dan menjaga agar tekstur sediaan pasta gigi lembab. Bahan ini juga dapat digunakan. Gliserin juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan pelarut, pemanis serta digunakan sebagai bahan untuk menaikkan kekentalan pada pasta gigi.
- e) Natrium lauryl sulfat berfungsi sebagai bahan surfaktan dapat memberikan efek pembusa ketika pasta gigi dioleskan kesikat gigi dan digunakan.
- f) Sorbitol sebagai bahan perasa pasta gigi yang memberikan rasa manis pada sediaan pasta yang digunakan, penggunaan sorbitol tidak akan mempengaruhi fermentasi gula pada tubuh.
- g) Natrium benzoat dimanfaatkan sebagai bahan pengawet yang berfungsi untuk mencegah kontaminasi bakteri pada pasta gigi dan mempertahankan produk keasliannya.

- h) Aquadest digunakan sebagai bahan pelarut yang digunakan untuk melarutkan bahan-bahan pasta gigi dan mempertahankan konsistensinya.

f. Pembuatan Formulasi Pasta Gigi

Cara Pembuatan Pasta gigi yaitu dengan memasukkan Na-CMC kedalam mortir kemudian ditambahkan air panas, diaduk sampai mengental lalu keluarkan dari mortir (fase I). Masukkan kalsium karbonat, natrium benzoat kedalam mortir, digerus lalu tambahkan gliserin, aduk sampai homogen (fase II). Campurkan fase I dan fase II diaduk sampai terbentuk massa pasta. Tambahkan ekstrak daun kemangi, aduk lalu tambahkan natrium lauryl sulfat, diaduk dan terakhir tambahkan sorbitol, aduk hingga homogen (Asrina, 2019).

g. Evaluasi Karakteristik Fisik Pasta Gigi

a) Pengujian Organoleptis

Pengamatan objektif terhadap rasa, warna, bau dan tekstur digunakan untuk melakukan uji organoleptik (Sidoretno & Nasution, 2020). Jika pasta gigi lolos uji organoleptik dan memenuhi standar SNI 12-3524-1995 untuk kualitas pasta gigi, yang meliputi sediaan pasta gigi lembut yang konsistensinya seragam, bebas dari gelembung udara dan tersusun atas partikel-partikel yang terpisah, maka pasta gigi tersebut dapat diterima.

b) Pengujian pH

Pengukuran pH dilakukan dengan mengambil pasta gigi sebanyak 1 gram kemudian tambahkan air sebanyak 10ml aduk hingga homogen, kemudian mencelupkan elektroda kedalam sediaan pasta gigi tunggu beberapa saat hingga pH meter mengalami perubahan, kemudian catat nilai pH yang didapatkan (Sidoretno & Nasution, 2020). Cara pengujian nilai pH dapat dilakukan dengan cara mengukur sediaan secara langsung menggunakan pH meter sebanyak tiga kali lalu diambil rata-ratanya. pH sediaan dikatakan baik jika memenuhi nilai standar mutu pasta gigi berdasarkan SNI No.12-3524-1995 yaitu sebesar 4,5-10,5.

c) Pengujian Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan meletakkan sedikit sediaan pada objek kaca, menutupinya dengan objek kaca lain, dan memeriksa objek kaca secara visual untuk melihat apakah ada butiran. Jika terdapat butiran, maka pasta gigi tersebut tidak homogen; jika tidak, maka tidak ada butiran pasta gigi yang homogen (Gusnawati *et al.*, 2022). Menurut SNI No.12-3524-1995, pasta gigi harus homogen, bebas dari gelembung udara, gumpalan dan partikel-partikel yang terpisah agar dapat dikatakan baik.

d) Pengujian Daya Sebar

Pasta gigi diambil sebanyak 0,5 gram, letakkan sampel di atas alat penyebar, tutup alat dan diamkan sampel selama satu menit, diameter daya sebar tersebut diukur. Selanjutnya ditambah beban 50, 100, 150 gram diamkan selama satu menit kemudian diukur diameter daya sebar yang konstan (Warnida *et al.*, 2016).

e) Pengujian Daya Lekat

Untuk melepaskan objek kaca dari pasta gigi, timbang 0,25 gram sampel dan letakkan di atas objek kaca. Tutupi dengan benda kaca lain dan berikan beban seberat 1 kg di atas sediaan pasta gigi. Setelah 5 menit, gunakan beban seberat 80 gram untuk mengangkat objek kaca. Dengan menggunakan *stopwatch*, catat durasi pengangkatan beban (Gratia *et al.*, 2021).

f) Pengujian Viskositas

Viskositas pasta gigi diukur dengan menggunakan *viscometer BrookField*, sediaan yang sudah jadi dimasukkan kedalam wadah atau pot salep sebanyak 25 gram, spindle bernomer 64 dipasang dan rator dijalankan dengan kecepatan 10 rpm, catat hasil viskositas (Afni *et al.*, 2015).

g) Pengujian Sentrifugasi

Pasta gigi diambil sebanyak 10 gram, dimasukkan ke dalam tabung sentrifus, tutup dengan kapas dan putar dengan kecepatan

3750 rpm selama 30 menit. Jika tidak ada perubahan bentuk atau fase, penyimpanan dianggap berhasil (Syurgana *et al.*, 2017).

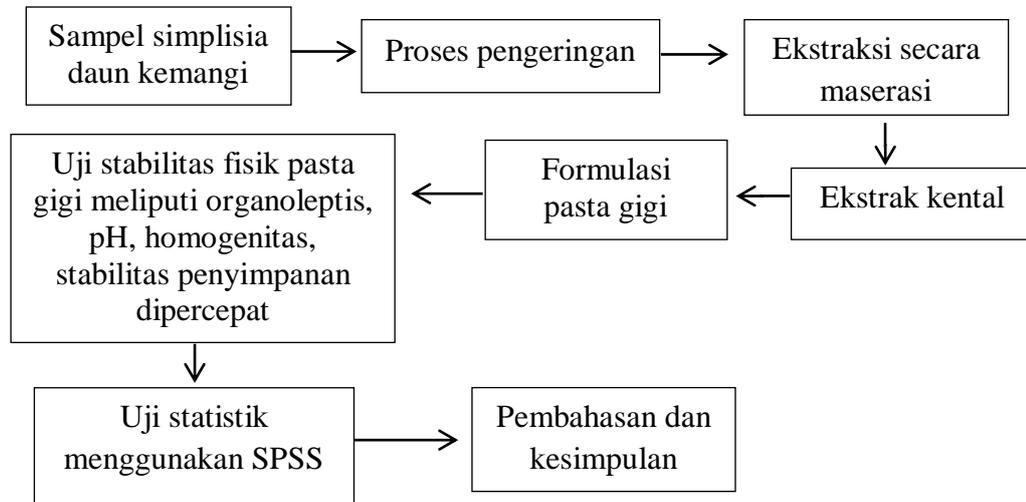
h) Pengujian Stabilitas penyimpanan dipercepat

Uji stabilitas penyimpanan dilakukan dengan tujuan untuk menilai stabilitas pasta gigi selama penyimpanan. Fungsi dan keunggulan pasta gigi akan hilang ketika produk tidak stabil, yang dapat mengganggu minat konsumen. Uji stabilitas dilakukan pada suhu 4°C dan 40°C masing-masing selama 24 jam perlakuan ini adalah satu siklus. Pengujian ini dilakukan selama enam siklus, atau selama duabelas hari (Lestari *et al.*, 2020).

F. Analisis Data

Analisis data menggunakan metode uji ANOVA, analisis data menggunakan SPSS versi 26. Untuk membandingkan pengaruh pH, viskositas, daya lekat, dan daya sebar pasta gigi selama penyimpanan, data dari setiap perlakuan dievaluasi secara deskriptif dan analitik menggunakan uji statistik, khususnya uji normalitas dan homogenitas menggunakan uji *One Way Anova*. Hasil analisis data memiliki nilai signifikan $p=0,05$, yang menunjukkan bahwa sebaran data terdistribusi normal dan variasi data homogen.

G. Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur Penelitian