

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

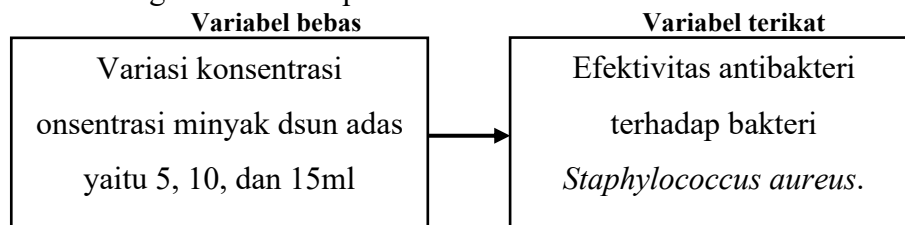
A. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang di gunakan adalah penelitian eksperimental kuantitatif dan kualitatif, bertujuan untuk melakukan formulasi dan pengujian sediaan serum gel yang mengandung minyak daun adas (*Foeniculum Vulgare* Mill). Kegiatan penelitian dilaksanakan di dua lokasi, yaitu Laboratorium Teknologi Farmasi untuk proses pembuatan dan pengujian fisik sediaan, serta Laboratorium Mikrobiologi Farmasi untuk pengujian aktivitas antibakteri.

Tahap pertama yaitu persiapan bahan yang meliputi bahan aktif berupa minyak daun adas dan bahan tambahan yang berfungsi sebagai basis gel. Proses pembuatan serum gel dilakukan dengan menimbang bahan sesuai dengan formula yang telah ditetapkan, melarutkan fase air dan fase minyak secara terpisah, kemudian mencampurkan keduanya hingga terbentuk sediaan yang homogen. Setelah sediaan serum gel terbentuk, dilakukan serangkaian uji fisik yang meliputi uji organoleptik, pH, homogenitas, daya sebar, dan viskositas untuk memastikan kestabilan dan kualitas sediaan.

Tahap berikutnya adalah uji efektivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengujian dilakukan dengan metode sumuran menggunakan media yang telah diinokulasi dengan suspensi bakteri. Sediaan serum gel diteteskan atau dimasukkan ke dalam sumur pada media agar, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi selesai, diamati zona hambat yang terbentuk di sekitar sumur sebagai indikator kemampuan serum gel minyak daun adas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Berikut adalah gambar desain penelitian 3.1



Gambar 3. 1 Desain Penelitian

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2025 - Januari 2026 di dua laboratorium utama, yaitu Laboratorium Teknologi dan Laboratorium Mikrobiologi

Farmasi yang berada di bawah Fakultas Kesehatan Universitas Ngudi Waluyo. Laboratorium bahan alam di gunakan untuk cek kandungan fitokimia pada minyak daun adas. Laboratorium Teknologi digunakan untuk kegiatan formulasi dan pengujian fisik sediaan serum gel minyak daun adas (*Foeniculum vulgare* Mill), sedangkan Laboratorium Mikrobiologi Farmasi digunakan untuk melakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Uji fitokimia berfungsi untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam minyak daun adas (*Foeniculum vulgare* Mill.). Uji ini membantu peneliti mengetahui keberadaan senyawa aktif, seperti flavonoid, fenilik, dan steroid, yang berperan dalam aktivitas biologis minyak daun adas. Selain itu, uji fitokimia memberikan dasar ilmiah dalam menentukan potensi minyak daun adas sebagai bahan aktif dalam pengembangan sediaan farmasi atau kosmetik serta mendukung pelaksanaan penelitian lanjutan secara lebih terarah.

Uji fisik dilakukan untuk menilai mutu dan kestabilan sediaan serum gel yang meliputi uji organoleptik, pengukuran pH, uji homogenitas, uji daya sebar, dan uji viskositas. Hasil uji fisik digunakan sebagai dasar untuk menentukan kelayakan sediaan sebelum dilanjutkan ke tahap pengujian antibakteri.

Uji efektivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi menggunakan metode difusi agar. Media agar terlebih dahulu diinokulasi dengan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*. Sediaan serum gel yang telah memenuhi kriteria uji fisik dimasukkan ke dalam sumur pada media tersebut, kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu yang telah ditentukan. Setelah inkubasi selesai, peneliti mengamati dan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar sumur untuk mengetahui kemampuan serum gel minyak daun adas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

C. Subjek Penelitian

Berikut ini merupakan subjek penelitian:

1. Bahan uji: Pembuatan serum gel dengan penambahan minyak daun adas (*Foenicullum Fulgare* Mill).
2. Mikroorganisme uji: *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari pembelian bakteri.

D. Definisi Operasional

Berikut adalah table definisi operasional 3.1

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

Variabel	Devinisi Oprasional	Cara Ukur/Alat Ukur	Parameter
Konsentrasi Minyak Daun Adas	Jumlah minyak daun adas yang digunakan dalam formula serum gel, dinyatakan dalam mililiter (cm).	Penimbangan menggunakan timbangan analitik sesuai formula (5, 10, dan 15ml).	Mililiter (ml)
Konsentrasi Serum Gel Daun Adas	Sediaan topikal semi padat berbasis gel yang mengandung minyak daun adas sebagai bahan aktif antibakteri.	Dibuat melalui proses formulasi di laboratorium teknologi farmasi.	Sediaan berbentuk gel homogen.
pH Sediaan	Derajat keasaman sediaan serum gel yang menunjukkan tingkat kesesuaian dengan kulit manusia.	Diukur menggunakan pH meter digital yang dikalibrasi.	Nilai pH (4,5-6,5).
Viskositas	Ukuran kekentalan sediaan serum gel yang mempengaruhi kemampuan penyebaran pada kulit.	Diukur menggunakan viskometer	230-1150cPs
Daya Sebar	Kemampuan sediaan serum gel untuk menyebar diatas permukaan kulit.	Diukur dengan metode dua kaca dengan penambahan beban bertahap.	5-7 cm
Daya Lekat	Lama waktu sediaan menempel pada permukaan kulit	Diukur dengan dua kaca objek dan stopwatch.	>1 detik
Efektivitas Antibakteri	Kemampuan serum gel minyak daun adas dalam menghambat pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> .	Uji difusi sumuran pada media <i>Nutrient Agar</i> , diukur dengan jangka sorong.	10-20 mm

E. Variabel Penelitian

Berikut ini adalah variable penelitian sebagai berikut:

1. Variabel bebas: konsentrasi minyak daun adas dalam serum gel (5, 10, dan 15ml).
2. Variabel terikat: daya hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (diameter zona hambat).
3. Variabel kontrol: jenis bakteri, jenis media, volume sampel, waktu dan suhu inkubasi.

F. Pengumpulan Data

1. Alat Dan Bahan Penelitian

A. Alat:

Gelas ukur 100ml, tabung reaksi, rak tabung, erlemeyer, batang pengaduk, beaker glass 50 dan 250ml, sendok tanduk, *waterbath*, botol serum, kertas perkamen, pH meter, jangka sorong, *viscometer*, pipet tetes, kaca alroji, cawan petri, timbangan digital, ultraturax, *stopwatch*, LAF (*Laminar Air Flow*), mikro pipet, pH meter, viscometer, sprangkat alat daya lekat, sprangkat alat daya sebar, oven, *autoclave*, *sputi*, Jasurm ose, bunsen spirtus.

B. Bahan:

Minyak daun adas (*Foeniculum vulgare* Mill), *hydroxyethyl cellulose*, gliserin, *triethanolamine*, tetrasodium EDTA, DMDM hydantoin, aquadest, *nutrient agar* (NA), NaCL 0,9%, bakteri *Staphylococcus aureus*, asam sulfat pekat (H₂SO₄), FeCl₃ 1%, asam asetat glasial, alkohol 70%.

2. Formulasi

Formulasi pembuatan serum gel yang di gunakan mengacu pada penelitian (Saputra *et al.*, 2023). Berikut adalah tabel modifikasi formulasi serum gel minyak daun adas.

Tabel 3. 2 Formulasi Pembuatan Serum Gel Minyak Daun Adas					
Bahan	Range	F1	F2	F3	Fungsi
Minyak daun adas		5ml	10ml	15ml	Zat aktif.
<i>Hydroxyethyl Cellulose</i> (HEC).		1 g	1,1 g	1,2 g	<i>Gelling agent</i>
Gliserin.	1-10%	4 g	4 g	4 g	Humektan
Triethanolamine	2-4%	1 g	1,5 g	2 g	Surfaktan
tetrasodium EDTA	0,05-0,25%	0,2 g	0,2g	0,2g	<i>Chelating agent</i>
DMDM Hydantion	0,1-1%	0,3 g	0,3g	0,3 g	Pengawet
Aquadest		ad100ml	ad100ml	ad100ml	Pelarut

3. Pembutan Serum Gel Minyak Daun Adas

Gelling agent Hydroxyethyl Cellulose (HEC) ditimbang sesuai dengan variasi konsentrasi yang telah ditentukan, kemudian larutkan ke dalam ±20 mL aquadest yang telah disiapkan dalam beaker glass. Campuran tersebut diamkan selama 15 menit hingga HEC mengembang sempurna. Campur dan aduk hingga terbentuk massa yang homogen dan transparan (massa I) Masukan DMDM Hydantoin kemudian tetrasodium EDTA dilarutkan dalam aquadest panas hingga larut sempurna (massa II). Tambahkan Massa II ke dalam massa I dan aduk hingga homogen. Masukan trietanolamin dan gliserin ditambahkan sedikit demi sedikit sambil diaduk hingga diperoleh campuran yang homogen (massa III). Masukan minyak daun adas (*Foeniculum vulgare* Mill). Larutkan dalam propilen glikol hingga larut sempurna (massa IV). Massa IV ditambahkan ke dalam massa III secara bertahap sambil terus diaduk hingga homogen.

Campur tambahkan aquadest sedikit demi sedikit hingga mencapai ad100ml, kemudian aduk kembali hingga terbentuk sediaan serum gel yang homogen (Saputra *et al.*, 2023).

4. Skrining Fitokimia

1) Flavonoid

Minyak daun adas dimasukkan ke dalam tabung reaksi 3-7 tetes, kemudian ditambahkan 1-2 tetes larutan asam sulfat pekat (H_2SO_4) (Larasati & Putri, 2023). Diamati perubahan warna yang terjadi, jika larutan berubah warna menjadi merah tua atau kuning menandakan adanya senyawa flavonoid (Puspa *et al.*, 2017).

2) Fenolik

Minyak daun adas di masukan kedalam tabung reaksi sebanyak 10 tetes ditambahkan 3-4 tetes larutan $FeCl_3$ 1% (Saputra, 2020) . Diamati perubahan warna yang terjadi jika larutan berubah warna menjadi violet kemerahan atau hijau kebiruan menunjukkan positif mengandung fenolik (Yulius Evan, 2024). Perubahan warna tersebut menandakan keberadaan senyawa fenolik dalam minyak daun adas, yang bereaksi dengan larutan $FeCl_3$ 1% dan membentuk kompleks berwarna (Syahanaya *et al.*, 2022)

3) Steroid

Minyak daun adas sebanyak 3-7 tetes dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian tambahkan dengan 1-2 tetes larutan asam asetat glasial dan 1-2 tetes larutan asam sulfat pekat (H_2SO_4) (Puspa *et al.*, 2017). Warna larutan yang berubah biru atau ungu menandakan adanya senyawa steroid (Damayanti *et al.*, 2023).

5. Uji Mutu Fisik Sediaan Serum Gel

a. Uji Organoleptis

Uji organoleptis serum gel dilakukan untuk mengetahui kondisi fisik dari serum (Fitria, 2022). Uji organoleptis dilakukan dengan mengamati perubahan warna, aroma, dan bentuk pada sediaan serum gel yang sudah bercampur dengan basis (Saputra *et al.*, 2023). Pada uji evaluasi tekstur bertujuan untuk mengetahui sensasi kenyamanan sediaan pada kulit (Rukmana, 2023)

b. Uji Homogenitas

Homogenitas Pengujian homogenitas adalah salah satu teknik analisa untuk mengetahui homogen tidaknya dari setiap sampel (Nurrahman *et al.*, 2021). Pemeriksaan homogenitas dilakukan pada preparat kaca, pengamatan dilakukan dengan melihat keberadaan partikel yang belum tercampur secara homogen.

Dilakukan dengan 3 kali replikasi (Rini *et al.*, 2023). Pada sediaan serum gel yang baik tidak ada butiran kasar (Wahidah *et al.*, 2024)

c. Uji pH

Pengukuran pH formula diukur menggunakan pH meter dilakukan dengan cara mencelupkan pH meter ke dalam sediaan serum gel yang telah disiapkan dan hasil dibaca pada monitor pH meter (Fauzah *et al.*, 2024). Sebelum digunakan, pH meter dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan larutan penyangga standar dengan pH 4,0 dan pH 7,0 untuk memastikan keakuratan hasil pengukuran. Setelah proses kalibrasi selesai, elektroda dibersihkan dengan air suling dan dikeringkan menggunakan tisu bebas serat. Selanjutnya, elektroda pH meter dicelupkan ke dalam sediaan serum gel yang telah disiapkan (Nurrahman *et al.*, 2021). Elektroda dibiarkan hingga nilai yang ditampilkan pada layar pH meter menunjukkan angka yang stabil. Nilai pH yang tertera pada alat kemudian dicatat sebagai hasil pengukuran pH sediaan. Sediaan serum gel dinyatakan memiliki pH yang sesuai apabila berada dalam rentang 4,5–6,5, yaitu kisaran pH yang aman dan sesuai untuk penggunaan topikal pada kulit (Hakim *et al.*, 2025)

d. Uji Viskositas

Uji viskositas sediaan serum gel dilakukan menggunakan alat viscometer (Nurrahman *et al.*, 2021). Sediaan serum gel yang akan diuji viskositasnya dimasukkan ke dalam gelas kimia dalam sebanyak 100ml (Rini *et al.*, 2023). Alat viscometer disiapkan dan diatur menggunakan rotor nomor 4 (*spindle 4*) dengan kecepatan putaran 60 rpm. Spindle kemudian diturunkan secara perlahan hingga terendam sempurna dalam sediaan serum gel tanpa menyentuh dasar wadah. Selanjutnya, alat dijalankan dan dibiarkan bekerja hingga jarum atau tampilan digital menunjukkan nilai viskositas yang stabil. Nilai yang terbaca pada viscometer dicatat sebagai hasil pengukuran viskositas sediaan. Sediaan serum gel dinyatakan memiliki rentang viskositas yang baik apabila berada pada kisaran 230–1150 cPs, sesuai dengan standar karakteristik sediaan topikal berbentuk gel (Hakim *et al.*, 2025).

e. Uji Daya Sebar

Sebanyak 0,5gram sediaan serum gel ditimbang dan diletakkan di atas kaca objek bulat (Fauzah *et al.*, 2024). Letakan kaca penutup di atasnya dan dibiarkan selama 1 menit tanpa beban. Setelah itu, diameter sebar diukur dan dicatat sebagai hasil awal. Tambahkan beban sebesar 50gram pada kaca penutup beri beban sebesar 50gram dan dibiarkan selama 1 menit, kemudian diameter sebar diukur dan dicatat.

Prosedur yang sama diulangi dengan beban 100gram selama 1 menit, lalu diukur kembali diameternya. Letakan beban 150gram di atas kaca penutup, dibiarkan selama 1 menit, dan dilakukan pengukuran diameter sebar konstan (Wahidah *et al.*, 2024). Sediaan serum gel dinyatakan memiliki daya sebar yang baik apabila diameter sebar berada pada kisaran 5–7 cm, sesuai dengan kriteria evaluasi sediaan topikal (Hikmah *et al.*, 2023).

f. Uji Daya Lekat

Pengujian daya lekat dilakukan dengan setiap formula sampel serum ditimbang sebanyak 0,25 gram (Irianto *et al.*, 2020). kemudian di letakan di antara 2 gelas objek pada alat uji daya lekat kemudian ditutup dan di beri beban 1000gram selama 5 menit (Rini *et al.*, 2023). Kemudian tuas pada uji daya lekat di tarik dan di catat waktu nya, parameter pada uji daya lekat adalah >1 detik (Sukmawati *et al.*, 2025)

6. Uji Efektifitas Antibakteri

Nutrien Agar (NA) ditimbang sebanyak yang dibutuhkan dilarutkan dalam aquadest kemudian dipanaskan di atas kompor listrik sampai mendidih dan diperoleh larutan jernih. *Nutrient agar* (NA) kemudian disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah media disterilkan dan didiamkan sampai hangat masukan, suspensi bakteri yang telah distandarkan dengan mc farland 0,45. Kemudian masukan 25 ml media ke dalam cawan petri. Setelah media memadat lubangi media agar dengan batang sumuran, masukan masing-masing konsentrasi sesuai formula yang telah ditentukan. Simpan media pada wadah tertutup rapat. Inkubasi pada suhu 37°C selama 1x 24 jam (Nuraeni, 2021). Pengukuran aktivitas antibakteri dilakukan dengan menghitung zona hambat bakteri *staphylococcus aureus* yang diukur dalam satuan mm. Zona hambat yang dimaksud adalah zona bening di sekitar lubang sumuran yang tidak terdapat pertumbuhan bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *staphylococcus aureus* yang diukur dalam satuan mm (Agustin, 2023). Sekala zona hambat antibakteri pada metode sumuran dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 3. 3 Sekala Zona Hambat Antibakteri Metode Sumuran

Sekala	Keterangan
10-20mm	Daya hambat kuat
5-10mm	Daya hambat sedang
<5	Daya hambat lemah

Sumber: Putri *et al.*, 2023

G. Pengolahan Data

1. Uji Anova

Uji *Anova* (*Analysis of Variance*) merupakan uji statistik parametrik yang digunakan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan antara tiga kelompok atau lebih yang bersifat independen. Uji ini digunakan ketika data berdistribusi normal dan memiliki varians yang homogen. Uji *Anova* membandingkan variasi antar kelompok dengan variasi di dalam kelompok. Variasi antar kelompok yang lebih besar dibandingkan variasi di dalam kelompok menunjukkan adanya kemungkinan perbedaan yang signifikan. Apabila nilai $p < 0,05$, maka terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan antar kelompok. Sebaliknya, jika nilai $p > 0,05$, maka tidak terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan. Jika hasil *Anova* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, maka analisis dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc* untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan.

2. Uji Kruskal-Wallis

Uji *Kruskal-Wallis* merupakan uji statistik nonparametrik yang digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan antara tiga kelompok atau lebih yang bersifat independen. Uji ini digunakan sebagai alternatif dari uji *One Way Anova* apabila data tidak memenuhi asumsi normalitas atau homogenitas varians. Dalam pelaksanaannya, uji *Kruskal-Wallis* mengubah data ke dalam bentuk peringkat (ranking), kemudian membandingkan distribusi peringkat antar kelompok yang diuji, jika nilai $p < 0,05$, maka terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok, apabila nilai $p > 0,05$, maka tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok. Jika hasil menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, maka analisis dapat dilanjutkan dengan uji lanjutan (*post hoc*) untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan.

H. Analisis Data

1. Uji Normalitas

Analisis data uji *normalitas* pada olah data SPSS bertujuan untuk mengetahui apakah data penelitian berdistribusi normal atau tidak. Uji *normalitas* merupakan tahap awal sebelum menentukan jenis uji statistik yang akan digunakan karena uji parametrik mensyaratkan data berdistribusi normal, sedangkan uji nonparametrik tidak memerlukan asumsi tersebut. Pengambilan keputusan dilakukan berdasarkan nilai signifikansi (*p-value*), yaitu apabila nilai $p > 0,05$ maka data dinyatakan berdistribusi

normal, sedangkan apabila nilai $p < 0,05$ maka data dinyatakan tidak berdistribusi normal. Hasil uji *normalitas* ini menjadi dasar dalam menentukan apakah analisis selanjutnya menggunakan uji parametrik, seperti *Anova*, atau uji *nonparametrik*, seperti *Kruskal–Wallis*.

2. Uji Homogenitas

Analisis data uji homogenitas pada olah data SPSS bertujuan untuk mengetahui apakah varians antar kelompok dalam suatu penelitian memiliki kesamaan (homogen) atau tidak. Uji *homogenitas* merupakan salah satu syarat dalam penggunaan uji statistik parametrik, seperti *Anova*, karena uji tersebut mengasumsikan bahwa setiap kelompok memiliki varians yang sama. Pada SPSS, uji homogenitas biasanya dilakukan bersamaan dengan uji *Anova* melalui *Levene's Test* yang terdapat pada tabel output *Test of Homogeneity of Variances*. Dasar pengambilan keputusan ditentukan berdasarkan nilai signifikansi (p-value), yaitu apabila nilai $p > 0,05$ maka varians antar kelompok dinyatakan homogen, sedangkan apabila nilai $p < 0,05$ maka varian antar kelompok dinyatakan tidak homogen

3. Uji Post Hoc

Uji *post hoc* dalam pengolahan data menggunakan SPSS dilakukan untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan rata-rata setelah uji utama, seperti uji *Anova*, menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Uji ini merupakan langkah lanjutan karena uji *Anova* hanya menunjukkan terdapat perbedaan secara umum, tetapi tidak menjelaskan kelompok mana yang berbeda. Oleh karena itu, uji *post hoc* digunakan untuk membandingkan setiap pasangan kelompok secara lebih detail. Penentuan hasilnya didasarkan pada nilai signifikansi (p-value). Jika nilai $p < 0,05$, maka kedua kelompok yang dibandingkan memiliki perbedaan yang signifikan, Sebaliknya, jika nilai $p > 0,05$, maka tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok tersebut. Hasil uji *post hoc* membantu peneliti mengetahui secara jelas kelompok mana yang memiliki perbedaan bermakna.