

BAB III METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah suatu keseluruhan obyek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah krim ekstrak daun ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) dengan kombinasi xanthan gum dan asam stearat.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah krim ekstrak daun ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) yang diformulasikan menjadi empat formula dengan variasi konsentrasi emulgator F1 asam stearat 4%; F2-F3 dengan variasi asam stearat : xanthan gum F2 (3:1%); F3 (2:2%); dan F4 xanthan gum 4%.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah sediaan krim daun ketumbar yang diperoleh dari hasil maserasi dengan pelarut etanol 70%. Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah kombinasi basis xanthan gum dan asam stearat dengan variasi konsentrasi. Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah penentuan dari keempat formula manakah yang paling optimal dan stabilitasnya paling baik.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan kedalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkendali.

2.1 Variabel bebas. Dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi xanthan gum dan asam stearat dalam pembuatan sediaan krim.

2.2 Variabel tergantung. Adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria dalam penelitian. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah sifat fisik dari sediaan krim meliputi organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya lekat, daya sebar, tipe emulsi dan stabilitas.

2.3 Variabel terkendali. Adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel variabel tergantung selain variabel bebas, sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah ekstrak tanaman daun ketumbar, bakteri yang

digunakan dalam pengujian yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, waktu inkubasi bakteri, peralatan yang digunakan, proses pembuatan sediaan krim, formulasi krim, tempat tumbuh tanaman, kondisi laboratorium, bahan bahan yang digunakan, kondisi peneliti dan penelitian.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Pertama, daun ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) adalah daun yang berasal dari tanaman ketumbar yang diperoleh dari daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun ketumbar adalah serbuk yang dibuat dari daun ketumbar yang telah dicuci bersih, dipotong tipis, dikeringkan dalam oven $\pm 40^{\circ}\text{C}$, diblender dan diayak dengan ayakan 40.

Ketiga, ekstrak etanolik daun ketumbar adalah hasil serbuk ekstrak daun ketumbar dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% kemudian dipekatkan dengan evaporator hingga diperoleh hasil ekstrak kental.

Keempat, sediaan krim ekstrak daun ketumbar dengan variasi konsentrasi xanthan gum dan asam stearat dengan konsentrasi yang berbeda.

Kelima, bakteri yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Keenam, uji sifat fisik krim adalah pengujian krim terhadap uji organoleptis, pengujian pH, uji homogenitas, uji daya sebar, uji daya lekat, uji viskositas, uji tipe sediaan krim dan stabilitas krim.

Ketujuh, uji aktivitas antibakteri adalah uji yang ditentukan dengan metode difusi dengan mengukur luar daerah hambatan atau daya hambat pertumbuhan bakteri menggunakan sediaan krim ekstrak daun ketumbar (*Coriandrum Sativum* L.) dengan variasi konsentrasi emulgator F1 asam stearat 4%; F2-F3 dengan variasi asam stearat : xanthan gum F2 (3:1%); F3 (2:2%); dan F4 xanthan gum 4%.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan analitik, oven, ayakan nomor 40, blender, *rotary evaporator vakum*, penyaring *buchner*, gelas ukur, erlenmeyer, *beaker glass*, tabung

reaksi, pengaduk kaca, kertas saring, seperangkat alat maserasi yaitu botol maserator, krus porselen, *moisture balance*, corong saringan, *water bath*, cawan porselin, mortir, stamper, pot untuk krim, pipet plastik, viskometer, seperangkat alat uji daya sebar, seperangkat alat uji daya lekat, pH meter/kertas indikator, *object glass*, cawan petri, jarum ose, kapas lidi steril, kotak aseptis inkas, pipet ukur, pembakar spiritus, *autoclave*, incubator, *paper disk*, mikropipet, pinset, *ent-kas*, jangka sorong, *colony counter*, kertas label, kapas dan kertas coklat, mikroskop, LAF, *vortex*, dan pipet *pasteur* steril.

2. Bahan

Daun ketumbar, etanol 70%, asam asetat, asam sulfat pekat, serbuk Mg, reagen Dragendroff, reagen Mayer, reagen Bouchardat, larutan FeCl₃ 1%, NaCl 0,9%, HCl 2N, amil alkohol, cetil alkohol, asam stearat, xanthan gum, nipasol, nipagin, gliserin, aquadest, *Dimetil Sulfoksida* (DMSO), *Nutrient Agar* (NA), bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Sudan III, metilen blue, *Mannitol Salt Agar* (MSA), *Brain Heart Infusion* (BHI), kristal violet, lugol iodine, safranin.

D. Jalannya Penelitian

1. Pengumpulan bahan

Sampel daun ketumbar diperoleh dari daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Daun ketumbar yang dipanen berumur 1-2 bulan berwarna hijau segar dan tidak berlubang, kemudian sampel disortir dan ditimbang lalu dicuci menggunakan aliran air.

2. Determinasi tanaman ketumbar

Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran bahwa tanaman ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada ketumbar terhadap pustaka yang dibuktikan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu.

3. Pengeringan dan penyerbukan serbuk daun ketumbar

Daun ketumbar yang sudah diambil dicuci hingga bersih dikeringkan cara diangin-anginkan sampai mengering. Daun ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) yang telah dikeringkan tahap berikutnya adalah dibuat menjadi bentuk serbuk menggunakan mesin penyerbuk yang terdapat di Universitas Setia Budi Surakarta. Serbuk diayak menggunakan ayakan nomor 40. Serbuk yang telah diayak kemudian ditimbang untuk dihitung rendemen antara bobot kering dan bobot basah

simplisia. Serbuk daun ketumbar diamati secara organoleptis yakni berdasarkan wujud, warna, dan aroma dari serbuk daun ketumbar. Hasil serbuk daun ketumbar disimpan pada wadah plastik berukuran besar.

4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun ketumbar

Penetapan susut pengeringan dalam penelitian ini dilakukan dengan cara menimbang sebanyak masing-masing 1-2 g serbuk daun ketumbar dimasukkan ke dalam botol timbang bertutup yang telah ditara dan telah dilakukan pemanasan sebelumnya pada suhu 105°C. Serbuk yang berada pada botol timbang kemudian diratakan dengan cara botol timbang digoyangkan hingga tebal lapisan berkisar antara 5-10 mm. Botol timbang yang berisi serbuk kemudian dimasukkan ke oven pada suhu 105°C hingga bobot tetap dalam keadaan tutup terbuka. Sebelum melakukan pengeringan, botol timbang dibiarkan dingin hingga suhu ruang dalam eksikator dengan keadaan tertutup. Dilakukan sebanyak tiga kali replikasi lalu dihitung persentasenya (Kemenkes RI, 2017).

5. Pembuatan ekstrak etanol daun ketumbar

Pembuatan ekstrak etanol daun ketumbar dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol dengan perbandingan 1:10 bagian pelarut. Sebanyak 750 g serbuk daun ketumbar dimasukkan ke dalam maserator kemudian ditambahkan pelarut etanol sebanyak 7,5 L dan direndam selama 6 jam pertama sambil sekali-kali diaduk, lalu diamkan selama 18 jam. Maserat dipisahkan dengan cara disaring menggunakan kain flanel kemudian proses penyarian diulangi satu kali menggunakan pelarut yang sama yaitu metanol dengan jumlah volume pelarut sebanyak 3,75 L. Setelah itu, semua maserat dikumpulkan lalu diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak pekat (Kemenkes RI, 2017).

6. Penetapan kadar air ekstrak dan serbuk daun ketumbar

Penetapan kadar air dilakukan dengan cara menimbang sebanyak kurang lebih 10 g sampel, kemudian masukkan ke dalam krus porselen yang telah ditara. Keringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 5 jam dan timbang. Pengeringan dilanjutkan dan setiap selang waktu 1 jam ditimbang hingga bobot konstan atau perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak melebihi 0,25%. Kadar air dihitung dalam % (Kemenkes RI, 2017).

7. Identifikasi senyawa serbuk dan ekstrak daun ketumbar

7.1 Identifikasi flavonoid. Serbuk dan ekstrak daun ketumbar sebanyak 0,1 g dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,1 serbuk Mg, HCl pekat dan pelarut amil alkohol dengan perbandingan (1:1). Campuran dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan adanya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes RI, 1995).

7.2 Identifikasi alkaloid. Serbuk dan ekstrak daun ketumbar sebanyak 0,1 g dalam 3 tabung pertama ditambahkan dengan 5 tetes reagen *Dragendorff*, tabung kedua ditambahkan 5 tetes reagen *Mayer*, dan tabung ketiga ditambahkan 5 tetes reagen *Bouchardat* jika terbentuk endapan jingga maka positif mengandung alkaloid (Ergina *et al.*, 2014).

7.3 Identifikasi saponin. Masukkan serbuk dan ekstrak daun ketumbar dalam tabung reaksi tambahkan 0,1 g tambahkan dengan aquades 5 ml dipanaskan selama 5 menit, lalu didinginkan kemudian dikocok selama 10 detik, lalu didiamkan selama 10 menit. Saponin positif bila muncul buih yang tinggi lebih dari 1 cm, ditambahkan setetes HCl 2N dan busa tidak akan hilang (Yuningsih, 2007).

7.4 Identifikasi tanin. Serbuk dan ekstrak daun ketumbar dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 0,1 g ditambahkan 15 ml aquades, lalu dididihkan selama 5 menit, kemudian ditambahkan 5 tetes pereaksi FeCl_3 jika terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Yuaningsih, 2007).

8. Uji bebas etanol ekstrak daun ketumbar

Pengujian bebas alkohol terhadap ekstrak daun ketumbar menggunakan cara esterifikasi untuk memastikan bahwa ekstrak yang dipakai dalam penelitian bisa terbebas dari etanol, karena ditemukan memiliki efek antiseptik yang bisa mencegah bakteri. Pengujian menggunakan cara memasukkan ekstrak ke dalam tabung reaksi, lalu dimasukkan pereaksi pekat H_2SO_4 serta CH_3COOH , kemudian dipanaskan. Pengujian ekstrak tanpa etanol hasilnya diketahui dengan tidak adanya bau ester yang khas pada etanol (Depkes, 1995).

9. Peremajaan bakteri

Peremajaan bakteri yakni cara untuk menjaga bakteri agar tetap baik. Peremajaan dilakukan dengan cara bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ditanam pada media agar miring NA melalui goresan, kemudian diinkubasi pada suhu 37-38°C dalam waktu 24-48 jam (Yusriana *et al.*, 2014).

10. Pembuatan suspensi bakteri uji

Suspensi bakteri uji dibuat dengan mengambil biakan murni sebanyak 1 Ose dengan menggunakan jarum Ose steril dari biakan bakteri pada agar miring NA, kemudian disuspensikan ke dalam 5 ml media BHI dan dihomogenkan menggunakan vortex shaker selama 15 detik. Pengenceran suspensi bakteri menggunakan BHI ditambahkan hingga mendapatkan kekeruhan sesuai dengan standar kekeruhan *Mc Farland* 0,5 yang setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Penyesuaian suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan standar *Mc Farland* 0,5 dengan tujuan agar jumlah bakteri yang dipakai dalam waktu pengujian jumlah yang sama serta digunakan untuk kepadatan bakteri saat dilakukan pengujian (Ngajow *et al.*, 2013).

11. Identifikasi bakteri

11.1 Identifikasi bakteri secara isolasi. Identifikasi bakteri dilakukan dengan mengisolasi koloni bakteri pada media *mannitol salt agar* (MSA) dalam cawan petri, dilanjutkan dengan inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Koloni bakteri tumbuh hingga diameter 4 mm dalam waktu 24 jam. Koloni akan berbentuk bulat, menonjol, mengkilat, dan halus. *Staphylococcus aureus* membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning keemasan. *Staphylococcus aureus* membentuk pigmen lipid yang memberikan warna kuning keemasan pada koloni. Kuning membedakan *Staphylococcus epidermis* yang menghasilkan warna putih. *Staphylococcus aureus* pada media MSA berwarna kuning, dan area keemasan dikelilingi oleh kapasitas fermentasi manitol (Todar, 2002).

11.2 Identifikasi morfologi secara pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan Gram A (kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (etanol aseton = 1:1 sebagai peluntur), dan Gram D (cat safranin sebagai cat lawan atau penutup). Perlakuan pewarnaan Gram dengan cara buat preparat ulasan yang telah difiksasi, lalu ditetesi dengan Gram A sampai semua ulasan terwarnai. Diamkan selama kurang lebih 1 menit, cuci dengan aliran aquades. Teteskan preparat dengan Gram B, lalu diamkan selama kurang lebih 1 menit dan dikering anginkan. Preparat dilunturkan dengan Gram C dan diamkan selama kurang lebih 30 detik, cuci dengan aliran aquades. Tetesi preparat dengan Gram D dan diamkan selama kurang lebih 1 menit, cuci dengan aliran aquades kemudian kering anginkan. Preparat bakteri

Staphylococcus aureus ATCC 25923 dinyatakan positif apabila menghasilkan warna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur pada saat diamati dibawah mikroskop (Volk dan Wheeler, 1988).

11.3 Identifikasi biokimia secara fisiologi. Identifikasi biokimia secara fisiologi dibagi menjadi 2 cara yaitu katalase dan koagulase. Perlakuan pada uji katalase menggunakan suspensi bakteri yang ditanam pada media *Brain Heart Infusion* (BHI). Hasil dinyatakan positif apabila adanya gelembung udara *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai katalase. Penambahan H₂O₂ akan terurai menjadi 2H₂ dan O₂ hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara (Jawetz *et al.*, 2007).

Uji koagulase dilakukan dengan cara menginokulasi koloni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ke dalam BHI 2 ml kemudian diinkubasi sejumlah 0,2-0,3 ml kedalam tabung reaksi yang telah disterilkan kemudian ditambahkan 0,5 ml koagulase plasma lalu diaduk dan diinkubasi pada suhu 37°C diamati tiap jam sampai 4 jam pertama dan dilanjutkan sampai 24 jam. Hal ini bertujuan untuk mengecek atau melihat koagulan yang terbentuk secara padat atau solid serta tidak jatuh apabila tabung dibalik dan dinyatakan positif bahwa bakteri tersebut *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Jawetz *et al.*, 2007).

12. Aktivitas antibakteri ekstrak daun ketumbar

Sebelum melakukan uji aktivitas sediaan maka dilakukan pengujian aktivitas ekstrak daun ketumbar untuk mengetahui konsentrasi efektif ekstrak daun ketumbar. Uji aktivitas menggunakan metode difusi sumuran. Suspensi bakteri uji diambil dengan kapas lidi steril, kemudian dioleskan pada permukaan medium NA hingga merata pada seluruh permukaan media (Pratiwi dan Wardaniati, 2017). Pengujian aktivitas ekstrak menggunakan cakram dengan diameter 8 mm. Bahan uji yang digunakan yakni ekstrak etanol daun ketumbar dengan konsentrasi 2%, 4%, dan 6% yang telah dilarutkan pada pelarut DMSO, cakram direndam selama 15 menit pada ekstrak yang telah dilarutkan dengan DMSO kemudian cakram dimasukan pada media NA. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran diamati kemudian diukur zona hambat dengan menggunakan penggaris atau jangka sorong, pengujian aktivitas antibakteri ekstrak direplikasi 3 kali.

13. Formula krim daun ketumbar

Pembuatan krim daun ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) menggunakan basis krim minyak terdispersi dalam air (M/A) yaitu basis vanishing krim. Berikut ini adalah formulasi yang digunakan untuk membuat sediaan krim dari ekstrak daun ketumbar. Rancangan formulasi pembuatan krim ekstrak daun ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) dibuat dalam 100 gram.

Tabel 1. Rancangan formulasi sediaan krim ekstrak daun ketumbar

Bahan	Konsentrasi (%)							
	Kb I	Kb II	Kb III	Kb IV	F I	F II	F III	F IV
Ekstrak daun ketumbar	-	-	-	-	6	6	6	6
Cetil alkohol	4	4	4	4	4	4	4	4
Propil paraben	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Asam stearat	4	3	2	0	4	3	2	0
Xanthan gum	0	1	2	4	0	1	2	4
Gliserin	4	4	4	4	4	4	4	4
Metil paraben	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Aquadest ad	100	100	100	100	100	100	100	100

Keterangan :

Kontrol basis 1 : Basis krim tanpa ekstrak dengan asam stearat 4 %

Kontrol basis 2 : Basis krim tanpa ekstrak dengan asam stearat : xanthan gum (3:1%)

Kontrol basis 3 : Basis krim tanpa ekstrak dengan asam stearat : xanthan gum (2:2%)

Kontrol basis 4 : Basis krim tanpa ekstrak dengan xanthan gum 4 %

Formula 1 : Sediaan krim dengan asam stearat 4%

Formula 2 : Sediaan krim dengan asam stearat : xanthan gum (3:1%)

Formula 3 : Sediaan krim dengan asam stearat : xanthan gum (2:2%)

Formula 4 : Sediaan krim dengan xanthan gum 4%

14. Pembuatan sediaan krim daun ketumbar

Pembuatan krim ekstrak etanol daun ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) dibuat dengan cara fase minyak (cetil alkohol, asam stearat, dan propil paraben) dimasukkan dalam cawan porselin dilebur diatas *waterbath* sampai melebur menjadi satu. Fase air yaitu (xanthan gum, gliserin, metil paraben, dan aquadest) dimasukkan dalam beaker glass dan dipanaskan diatas *waterbath* pada suhu 70°C. Ekstrak daun ketumbar dimasukkan ke dalam fase air aduk sampai homogen. Fase minyak dimasukkan ke dalam mortir panas aduk sampai homogen, selanjutnya ditambahkan fase air yang sudah ditambah ekstrak daun ketumbar sedikit demi sedikit aduk secara perlahan dan kontinu sampai terbentuk massa krim. Krim yang sudah jadi masukkan kedalam wadah.

15. Pengujian fisik krim

15.1 Uji organoleptik. Pengamatan secara organoleptis dengan cara tekstur dan warna menggunakan indra penglihatan (secara visual), aroma menggunakan indra penciuman.

15.2 Uji homogenitas. Uji homogenitas dilakukan menggunakan sediaan krim sejumlah 0,5 gram, sediaan diletakan pada objek gelas bagian atas kemudian diratakan dan diamati dengan mata langsung (Naibaho *et al.*, 2013).

15.3 Uji pH. Sampel uji dilakukan pengukuran pH dengan cara : larutan dapar pH 7 digunakan untuk mengkalibrasi elektroda pH meter. Air suling digunakan untuk mencuci elektroda lalu elektroda yang telah dicuci dikering anginkan hingga mengering. Elektroda dimasukan ke dalam sediaan uji. Elektroda dibiarkan hingga layar pH meter menampilkan angka yang konstan. Persyaratan nilai pH yaitu sesuai pH kulit antara 4,5-6,5 (Ida dan Noer, 2012).

15.4 Uji viskositas. Viskositas lotion diukur dengan viscotester dan masing-masing formula direplikasi sebanyak tiga kali. Sebanyak kurang lebih 30 gram dimasukkan ke dalam mangkuk viscotester, kemudian spindle dipasang dan rotor dijalankan. Hasil viskositas dicatat setelah jarum menunjukkan angka yang stabil, pengukuran viskositas dilakukan setiap minggu selama 1 bulan (Mursyid, 2017). Viskositas yang baik memiliki persyaratan yakni antara 2000-4000 cPas (Garg *et al.*, 2002).

15.5 Uji daya lekat. Pengujian daya lekat diuji menggunakan alat uji daya lekat, diawali dengan meletakan krim sebanyak 0,5 gram dengan cara diletakkan pada kaca objek kemudian ditutup menggunakan kaca objek lain. Kaca objek diletakan beban dengan massa beban 1 kg selama 5 menit. Beban dilepaskan seberat 80 gram dan dicatat waktu sampai dengan kedua kaca objek terlepas (Shovyana dan Zulkarnain, 2013). Daya lekat yang baik memiliki persyaratan yakni lebih dari 1 detik (Yusuf *et al.*, 2017).

15.6 Uji daya sebar. Pengujian daya sebar diawali dengan meletakan krim sebanyak 0,5 gram pada alat uji daya sebar berupa kaca transparan, berikutnya ditutup dengan kaca transparan lain pada bagian atasnya, tahapan berikutnya adalah diberi pemberat (50 g dan 100 g) dibiarkan dalam waktu 60 detik untuk kemudian dilakukan pengukuran diameter daerah penyebaran krim dari tiga sisi berbeda penambahan

beban (Shovyana and Zulkarnain, 2013). Daya sebar yang baik memiliki persyaratan yang telah ditentukan yakni 5-7 cm (Garg *et al.*, 2002).

15.7 Uji tipe krim. Terdapat 3 metode dalam uji tipe krim yaitu:

15.7.1 Metode pewarnaan. Metilen biru disiapkan kemudian diteteskan pada krim, apabila sediaan krim memiliki tipe minyak dalam air pada pengujian ini, metilen biru akan terlarut dan terbentuk warna yang merata pada sediaan.

15.7.2 Metode pengenceran. Uji tipe emulsi lain yang dapat dilakukan untuk memperjelas tipe yakni memakai metode pengenceran. Krim daun ketumbar sebanyak satu tetes diteteskan dalam air, emulsi dengan tipe minyak dalam air dapat terdistribusi merata sedangkan tipe air dalam minyak tidak dapat terdistribusi merata (Shovyana and Zulkarnain, 2013).

15.7.3 Metode daya hantar listrik. Krim dimasukkan sebanyak 25 gram kedalam beaker glass, kemudian dihubungkan dengan rangkaian arus listrik. Uji ini didasarkan pada prinsip bahwa air menghantarkan arus listrik sedangkan minyak tidak, apabila lampu menyala maka tipe krim M/A (Marzuki dan Pakki, 2017).

15.8 Uji stabilitas. Pengujian stabilitas krim dengan metode *Cycling test* metode ini untuk mengetahui stabilitas krim terhadap suhu penyimpanan. Prosedur dengan menyimpan sediaan pada suhu 4°C 2 °C selama 24 jam, dilanjutkan dengan pengujian pada suhu 40°C 2 °C selama 24 jam (satu siklus). Pengamatan uji stabilitas menggunakan metode ini dilakukan selama 12 hari dengan total 6 siklus. Pengamatan pada krim dengan melihat uji pH, tipe krim dan viskositas (Suryani *et al.*, 2019).

16. Aktivitas antibakteri sediaan krim ekstrak daun ketumbar

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran. Suspensi bakteri uji diambil dengan kapas lidi steril, kemudian dioleskan pada permukaan medium NA hingga merata pada seluruh permukaan media (Pratiwi dan Wardaniati, 2017). Pengujian aktivitas sediaan menggunakan sumuran dengan *bor proof* 8 mm. Masing-masing bahan uji yang digunakan yakni sediaan krim ekstrak etanol daun ketumbar dengan variasi konsentrasi emulgator F1 asam stearat 4%, F2 asam stearat : xanthan gum (3:1%), F3 asam stearat : xanthan gum (2:2%), F4 xanthan gum 4%. kontrol negatif, dan kontrol positif diambil dengan volume 100 mg (menggunakan neraca analitik) kemudian dimasukkan dalam sumuran yang telah dibuat. Cawan petri kemudian

diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran diamati kemudian diukur zona hambat dengan menggunakan penggaris atau jangka sorong, pengujian aktivitas antibakteri ekstrak direplikasi 3 kali. Kontrol positif pada pengujian ini adalah genalten krim dan kontrol negatif adalah basis sediaan krim.

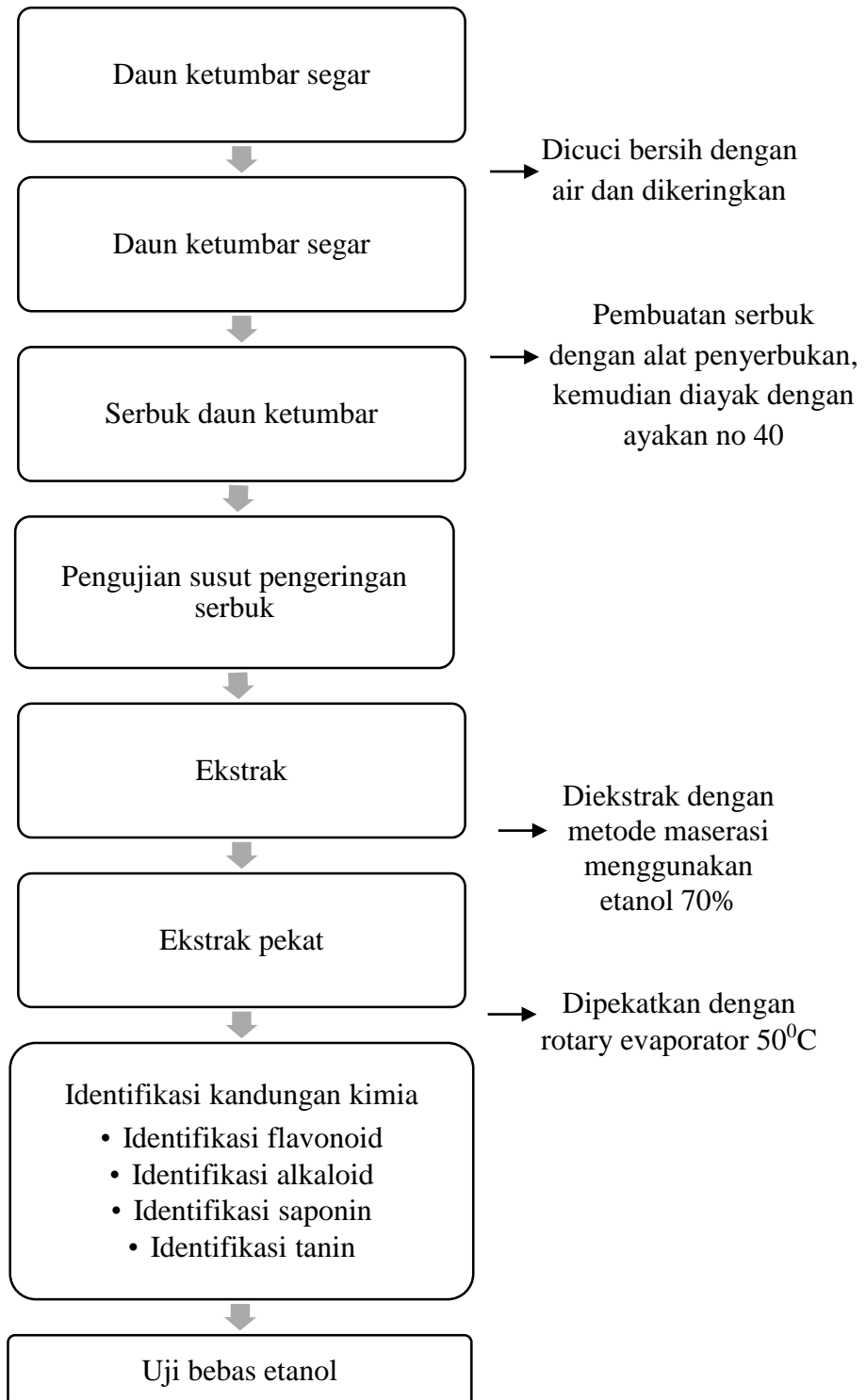
E. Analisis Hasil

Analisis data diameter zona hambat aktivitas antibakteri ekstrak daun ketumbar dalam menghambat *Staphylococcus aureus* dianalisis secara deskriptif dengan mengamati hasil pengukuran diameter zona hambat yang terlihat pada daerah berwarna bening berbagai konsentrasi variasi konsentrasi xanthan gum dan asam stearat dengan ekstrak daun ketumbar terhadap *Staphylococcus aureus*.

Data hasil penelitian uji kualitas fisik berupa uji organoleptik, uji homogenitas, uji viskositas, pemeriksaan pH, daya sebar, dan daya lekat. Data yang telah diperoleh kemudian diolah secara statistik dengan menggunakan metode *Shapiro-Wilk*. Hasil statistik kemudian dianalisis apakah berdistribusi normal atau tidak, jika data berdistribusi normal ($p > 0,05$) maka uji dilanjutkan dengan metode *one way ANOVA* dan dilanjutkan dengan metode *Tukey* untuk mengetahui konsentrasi yang berapa yang mempunyai pengaruh yang sama atau berbeda satu sama lain.

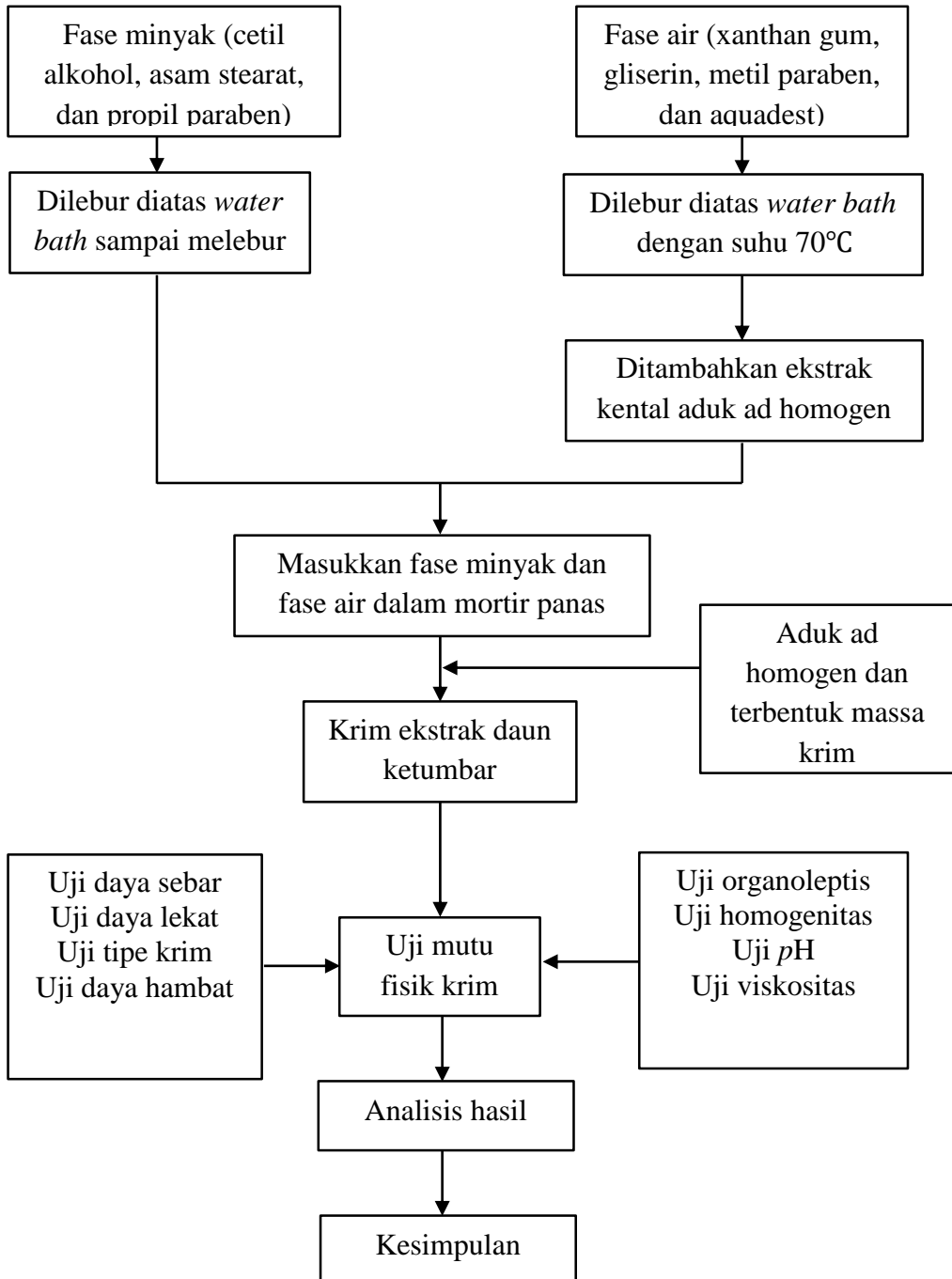
F. Alur Pengujian

1. Pembuatan ekstrak



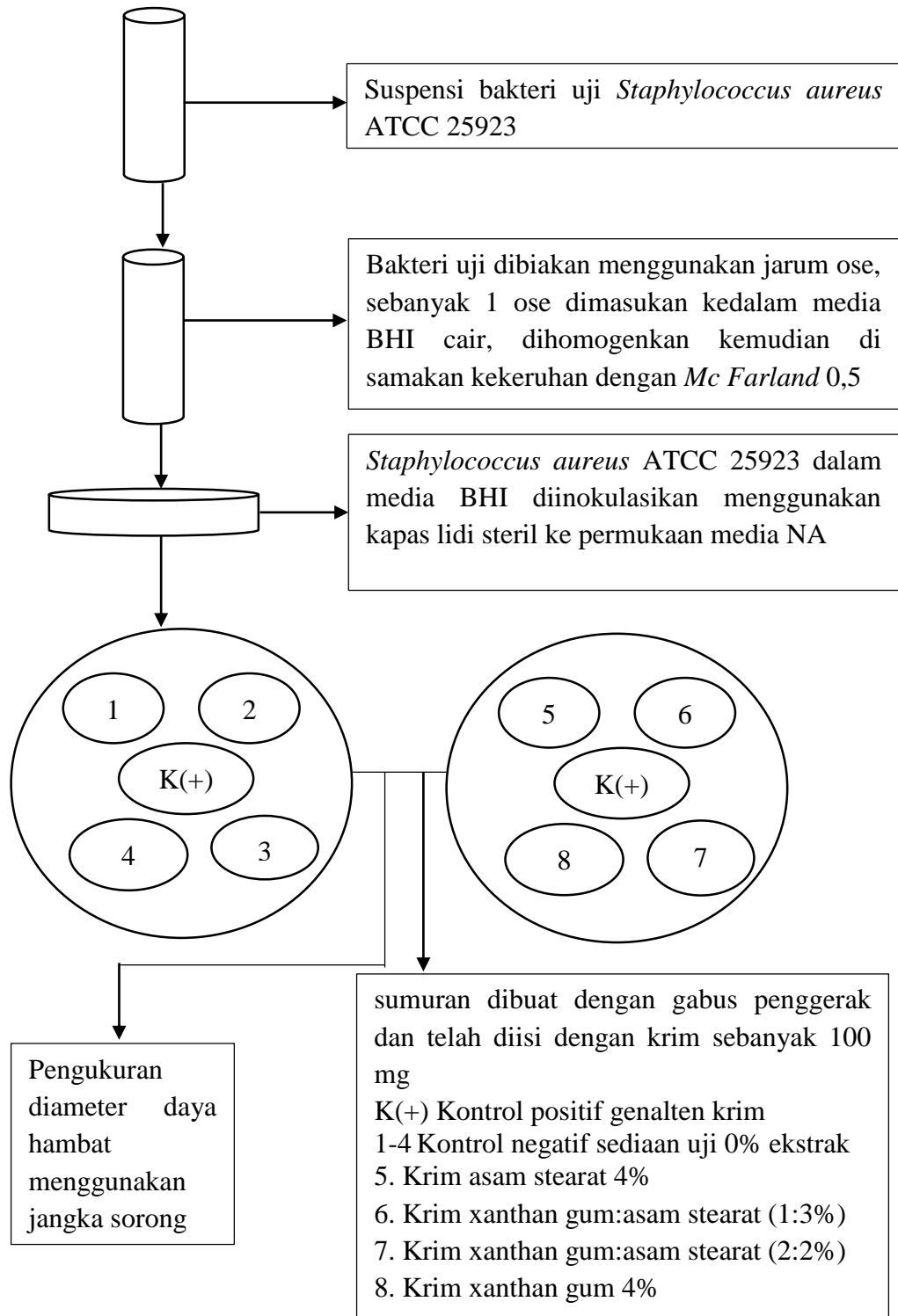
Gambar 4. Skema kerja pembuatan ekstrak daun ketumbar

2. Pembuatan krim ekstrak daun ketumbar



Gambar 5. Skema kerja pembuatan krim ekstrak daun ketumbar

3. Alur pengujian antibakteri



Gambar 6. Skema uji difusi