

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan pra-eksperimental, pada penelitian ini akan dilakukan pembuatan sampo antiketombe dari ekstrak etanol kulit pisang kepok kombinasi ekstrak etanol daun kembang sepatu yang akan di uji aktivitas antijamur terhadap jamur *Malassezia furfur* dan serta pengujian uji sifat fisik pada sediaan sampo antiketombe.

3.2 Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Universitas Buana Perjuangan Karawang dari bulan 1 Maret 2022 hingga 1 Agustus 2022.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel ekstrak etanol kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L*) dan ekstrak etanol daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L*) ini di dapat di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balittro) Bogor Jawa Barat

3.4 Identifikasi Variabel

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi 22.5%, 25% dan 27.5%. Dari ekstrak etanol kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L*)

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pengujian organoleptis, pengujian homogenitas, pengujian daya sebar, pengujian pH, pengujian viskositas dan pengujian tinggi busa.

3.4.3 Operasional Variabel

Tabel 3.1 Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Alat ukur	Skala	Hasil ukur
Variabel Bebas					
1	Konsentrasi sampel ekstrak etanol kulit pisang kepok	Dilakukan 6 pengujian formulasi kadar ekstrak etanol kulit pisang kepok (K-, K+, F1, F2, F3, F4). Dengan konsentrasi 22.5%, 25%, 22.7% dan 22.5% . Zona hambat diameter 0-5 mm Zona hambat diameter 5-10 mm Zona hambat diameter 10-20 mm Zona hambat diameter >20 mm	Jangka sorong Daya hambat lemah Daya hambat sedang Daya hambat kuat Daya hambat sangat kuat	Rasio	mm
Variabel Terikat					
2	Warna	Parameter fisik menggunakan indera mata dalam pengujian sampel sampo antiketombe ekstrak etanol kulit pisang kepok kombinasi ekstrak etanol daun kembang sepatu	Uji organoleptik	Nominal	1. Warna putih 2. Warna putih agak kekuningan
3	Bau	Parameter fisik menggunakan indera penciuman dalam pengujian sampel antiketombe ekstrak etanol kulit pisang kepok kombinasi ekstrak etanol daun kembang sepatu	Uji organoleptik	Nominal	1. Bau lemah 2. Bau tengik
4	Homogenitas	Menerapkan digunakan untuk menilai keseragaman sampel sampo antiketombe ekstrak etanol kulit pisang kepok kombinasi ekstrak etanol daun kembang sepatu kaca kedua diikat ke yang	Uji homogenitas menggunakan kaca objek	Nominal	1. Tidak Homogen 2. Homogen

5	Daya sebar	pertama untuk memeriksa homogenitasnya. Pengujian daya sebar dilakukan untuk mengetahui tingkat daya sebar suatu sediaan gel. Sebuah kaca bundar bersisik diisi dengan 0,5 gram preparat di tengahnya, yang kemudian ditutup dengan kaca bundar lainnya.	Lempeng kaca	Rasio	cm(Centimeter)
6	pH	Nilai pH pada sampo antiketombe ekstrak etanol kulit pisang kepok kombinasi ekstrak etanol daun kembang sepatu yg ditunjukkan sesuai dengan pH kulit oleh pH meter.	pH Meter	Rasio	Angka dalam meter pH
7	Uji Viskositas	Uji viskositas sampo antiketombe ekstrak etanol kulit pisang kepok kombinasi ekstrak etanol daun kembang sepatu	alat Viskometer Brookfield	Rasio	Cp
8	Uji tinggi busa	Untuk memastikan apakah surfaktan dapat menghasilkan busa, ketinggian busa diukur. Spesifikasi tinggi busa berkisar antara 1,3 hingga 22 cm.	Alat ukur sentimeter (cm)	Rasio	Cm

3.5 Alat dan bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan gelas ukur 100 ml (iwaki), beker gelas (iwaki/pyrex), erlenmeyer (pyrex), tabung reaksi, spatula, batang pengaduk. corong gelas (pyrex), cawan petri (pyrex), timbangan analitik (aeADAM), magnetic stirrer,

hot plate (ACIS), cawan porselin, tempat sampo, mikropipet (ecopipette™), penggaris jangka sorong, pH meter (Hann), kapas, kasa steril, sarung tangan dan masker, gunting, kertas label, kertas perkamen, rotary evaporator (STEROGLASS), kawat ose, lampu bunsen, autoklaf (ALP), inkubaator (MMM) dan LAF (NBIOTECH), viskometer Brookfield.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah ekstrak etanol kulit pisang kepok, ekstrak etanol daun bunga sepatu, asam asetat glasial, akuades, gliserol, hidroksi propil metil selulosa, kalium hidroksida, nipagin, Sabouraud Dextrose Agar (SDA), jamur *Malassezia furfur*, Larutan NaCl 0.9%, McFarland 0.5%.

3.6 Pemilihan Sampel

- 1) Ekstrak etanol kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca* L)

Sampel ini dipilih sebagai bahan zat aktif dalam pembuatan sediaan sampo karena telah dipercaya mempunyai senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid yang dipercaya sebagai antijamur (Supriyanti, 2015).

- 2) Ekstrak etanol daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L)

Sampel ini dipilih karena mengandung saponin yang berperan sebagai surfaktan alami. (Annisa E *et al.*, 2021).

3.7 Formulasi Sediaan Sampo Antiketombe

Pembuatan formulasi sediaan sampo antiketombe penelitian mengacu pada formula penelitian (Nurhayani, 2013). Dengan kadar konsentrasi ekstrak etanol kulit pisang kepok mengacu dari penelitian (Rina Dinastutie *et al.*, 2015) dan kadar konsentrasi ekstrak etanol daun kembang sepatu mengacu dari penelitian (Nina & Riska, 2017).

Tabel 3.2. Formulasi Sediaan Sampo Antiketombe ekstrak etanol kulit pisang kepok kombinasi ekstrak etanol daun kembang sepatu. (Nurhayani,2013)

Nama Bahan	Formula					Kegunaan
	F1	F2	F3	K(-)	K(+)	
Ekstrak etanol kulit pisang kepok	22.5%	25%	27.5%	-	Sampo ketokonazol 2%	Zat aktif
Ekstrak etanol daun kembang sepatu	1%	1%	1%	1%		Surfaktan alami
Kalium hidroksida	12%	12%	12%	12%		Zat pengatur larutan Ph
HPMC	2%	2%	2%	2%		Zat pengental
Gliserol	3.5%	3.5%	3.5%	3.5%		Zat pelembab
Nipagin	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%		Zat pengawet
Asam asetat glasial	Ad pH7	Ad pH7	Ad pH7	Ad pH7		Zat pengatur Ph
Aquadest	Ad 100Ml	Ad 100Ml	Ad 100Ml	Ad 100Ml		Zat pelarut

3.7.1 Pembuatan Ekstraksi

a. Ekstrak etanol kulit pisang kepok

Dengan menggunakan proses maserasi, kulit pisang kepok (*Musa paradisiaca L*) diekstraksi dengan Air, etanol 96% digunakan untuk mengekstraksi setiap sampel dalam rasio pelarut terhadap sampel 10:1. Sampel dimasukan dalam *shaker inkubator* dengan waktu 24 jam pada suhu kamar . Dengan menggunakan jumlah pelarut yang sama dengan maserasi awal, filtrat diekstraksi kembali sebanyak dua kali. Ekstrak kental dibuat ketika filtrat yang dihasilkan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C. (Modifikasi Nugroho *et al.* 2016)

b. Ekstrak etanol daun kembang sepatu

Proses maserasi digunakan untuk mengekstraksi daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*). menggunakan 70% etanol sebagai pelarut selama proses maserasi. Daun kembang sepatu di timbang seberat total 1 kg dipanen terlebih dahulu, dicuci di bawah air mengalir, ditimbang basah, kemudian dipotong-potong tipis dan dibiarkan kering selama 5 hari, ditimbang kering, dan terakhir dimaserasi dengan pelarut etanol 70. % hingga 3 liter dalam wadah yang tertutup rapat selama 3 hari, terkadang diaduk atau dikocok. Filtrat kemudian dipisahkan dari ampasnya menggunakan ayakan. *Rotary evaporator* digunakan untuk menguapkan filtrat, dan kemudian dipekatkan dengan penguapan dalam penangas air sampai diperoleh ekstrak kental yang bebas pelarut. (Azzahra F *et al*, 2018).

3.7.2 Prosedur skrining fitokimia

a. Ekstrak etanol kulit pisang kepok

Analisis fitokimia dilakukan dengan menggunakan tabung reaksi yang diisi dengan reagen deteksi kelompok. dilakukan uji fitokimia yang terdiri dari::(Sonja & Syahril, 2017).

1. Alkaloid

Beberapa tetes ekstrak etanol kulit pisang kepok yang telah disiapkan ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Dua tetes reagen Dragendroff diterapkan pada sampel. Jika warna oranye terbentuk setelah 30 menit perubahan, pengujian dianggap berhasil.

2. Tanin

Disiapkan 1 mL ekstrak etanol kulit pisang kepok. Larutan besi (III) klorida pada 1% harus ditambahkan. Perubahan yang diamati menunjukkan adanya komponen tanin, yang menghasilkan warna biru tua atau hitam kehijauan.

3. Flavonoid

Tabung reaksi diisi dengan ekstrak etanol kulit pisang kepok. ditambahkan ke dalam sampel berupa 3 tetes HCl pekat dan 2 mg serbuk magnesium 2 N. Mengocok sampel dan memeriksa setiap perubahan yang terjadi mengungkapkan adanya flavonoid ketika warna merah, oranye, atau kuning muncul dalam larutan.

4. Saponin

Ekstrak etanol kulit pisang kepok disiapkan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Sampel dicampur dengan air panas. Perubahan dalam pembentukan busa dicatat, reaksi dianggap berhasil jika busa tetap stabil selama 30 menit dan tidak hilang ketika ditambahkan 1 tetes HCl 2 N.

b. Ekstrak etanol daun kembang sepatu

Ekstrak etanol daun kembang sepatu menjadi sasaran analisis fitokimia untuk menilai jumlah komponen flavonoid, saponin, dan polifenol yang ada (Louse, 2019).

1. Alkoid

Sampel segar 4g dihancurkan dalam mortar porselen bersama dengan 20 ml kloroform dan 1 ml amonia. Campuran kemudian digiling kembali hingga konsistensi halus dan disaring melalui kapas dan pipet. 10 tetes H_2SO_4 2N harus ditambahkan, dan tabung reaksi harus dikocok selama 30 detik sebelum didiamkan sampai terbentuk dua lapisan. Ambil lapisan atas, bagi menjadi tiga bagian yang sama, dan bagi setiap bagian menjadi tiga tabung reaksi. Dalam setiap tabung reaksi, tambahkan satu atau dua tetes pereaksi Meyer (endapan putih) dan satu atau dua tetes pereaksi Dragendorf (endapan jingga) sebagai kontrol.

1. Flavonoid

Dilakukan dengan menguapkan hingga 3 ml bahan dan mencucinya dengan heksana sampai jernih. Residu disaring setelah dilarutkan dalam 20 cc etanol. Tiga bagian, A, B, dan C, filtrat dipisahkan. Filtrat B dipanaskan dalam penangas air setelah ditambahkan larutan H_2SO_4 pekat dan filtrat A digunakan sebagai blanko. Jika warna berubah menjadi rona hijau kekuninga menunjukkan flavonoid.

2. Saponin

Dilakukan dengan menimbang 0,3 gram ekstrak, memasukkannya ke dalam tabung reaksi, menambahkan 10 ml air suling, mengocok tabung reaksi secara agresif, menambahkan HCL 2N, dan mengamati perkembangan busa yang stabil selama sekitar satu menit..

3. Fenolik

Untuk 1 ml ekstrak sampel, etanol dan 1% larutan FeCl_3 ditambahkan. Warna biru, biru-ungu, atau ungu tua yang dihasilkan dari produksi senyawa fenolik adalah tanda keberadaannya.

3.7.3 Aktivitas antijamur ekstrak etanol kulit pisang kepok (*Musa padisiaca* L)

Hasil penelitian (Tajul K.,2020) banyak fitokimia yang ditemukan dalam kulit pisang kepok yang efisien dalam mencegah jamur *Malassezia furfur* tumbuh. Flavonoid termasuk di antara fitokimia ini, dan mereka dapat merusak dinding sel dan pertahanan membran jamur. Flavonoid akan bergabung dengan sterol atau protein jamur untuk menghasilkan kompleks yang akan menginduksi denaturasi protein, yang akan merusak membran sel jamur. Pada pengukuran aktivitas antijamur dari ekstrak etanol kulit pisang kepok ini mengacu kepada konsentrasi penelitian (Dinastutie *et al.* 2015).

3.7.4 Pembuatan sediaan sampo antiketombe



Gambar 3.1 Diagram alir pembuatan sediaan sampo antiketombe

3.7.5 Uji Sifat Fisik Pada Sediaan Sampo Antiketombe

Pemeriksaan sampo antiketombe uji organoleptik, uji homogenitas, uji daya sebar, uji pH, uji viskositas, dan uji tinggi busa semuanya diperiksa. (Haryanto *et al.*,2017).

1) Uji Organoleptis

Pemeriksaan organoleptik bertujuan untuk mengamati perubahan dari sediaan, yaitu perubahan pada warna, bau dan rasa. Pengujian organoleptis khususnya variasi rasa, aroma, dan warna. Warna, aroma, dan keseragaman semuanya diperiksa selama pengujian organoleptik. Proses pemeriksaan warna melibatkan pengamatan terhadap variasi warna sediaan sampo. Dengan variasi penciuman aroma formulasi sampo, dilakukan pemeriksaan aroma. (Haryanto *et al.*,2017)

2) Uji Homogenitas

Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengamati ada tidaknya partikel pada sampel sediaan homogen atau tidak. Pengujian Dengan menambahkan sekitar 1 ml preparat ke permukaan preparat kaca dan kemudian memeriksanya di bawah mikroskop, homogenitas sampo ditentukan. Itu harus memiliki pengaturan yang homogen dan tidak ada butiran kasar yang terlihat (Haryanto *et al.*,2017)

3) Uji Daya sebar

Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengamati tingkat daya sebar dediaan sampo. Sebuah kaca bundar bersisik diisi dengan 0,5 gram preparat di tengahnya, yang kemudian ditutup dengan kaca bundar lainnya. Untuk berat total 50- 150 gram, diameter distribusi preparat diukur secara membujur dan melintang. Daya sebar 5-7 cm memenuhi persyaratan. (Yusuf *et al.*, 2017)

4) Uji pH

Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengetahui keamanan pada saat di gunakan untuk kulit. Sebuah pH meter digunakan untuk mengukur pH. Menggunakan larutan buffer standar netral (pH 7,01) dan larutan buffer pH asam (pH 4,01) hingga instrumen menampilkan nilai pH, instrumen dikalibrasi terlebih dahulu. Setelah dibersihkan dengan aquades, elektroda dikeringkan dengan tisu. Satu gram sediaan ditimbang hingga satu persen dari total berat sampel, yang kemudian dilarutkan dalam seratus mililiter air suling. Elektroda kemudian direndam dalam larutan setelah itu. Segera setelah tingkat pH stabil, biarkan gadget menampilkannya. pH sediaan ditunjukkan oleh pH meter tersebut. Standar pH sampo diantara lain 4,5-6,5 (Nurhayani,2013).

5) Uji Viskositas

Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengetahui kestabilan sediaan. Sebuah viskometer Brookfield digunakan untuk melakukan penelitian. Siapkan satu set viskometer Brookfield sebagai metode. Pasang spindel nomor 64. Selanjutnya, pilih kecepatan yang diinginkan. Tempatkan sampel di sebelah tanda penanda spindel. Kemudian nyalakan gadget dan mulailah merekam temuan yang ditampilkan (Nurhayani,2013). SNI viskositas adalah 400-4000cps (Febri.,H *et al*, 2021).

6) Uji Tinggi Busa

Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan surfaktan dalam membentuk busa. Dilarutkan sampo sebanyak 0,1g dalam 10 mL air untuk pengukuran. Setelah itu campuran ditempatkan dalam tabung reaksi, ditutup rapat, dan dikocok selama 20 detik sambil

membalik tabung reaksi dengan hati-hati. Ketinggian busa yang terbentuk kemudian diukur. Persyaratan tinggi busa berkisar antara 1,3 hingga 22 cm. (Febri.,H *et al*, 2021).

3.7.6 Uji aktivitas antijamur Sediaan Sampo Antiketombe

1. Pembuatan media Sabouraud Dextrose Agar

Masukan 3,37 g SDA dan 100 mL aquades lalu gabungkan untuk membuat media agar dalam Erlenmeyer 250 mL. Untuk memastikan media tercampur dengan baik, media dipanaskan sampai mendidih. kemudian dididamkan sambil disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 2 atm. (Modifikasi.,Warsinah *et al.*, 2011).

2. Suspensi Jamur

Tambahkan 10 ml NaCL lalu masukan jamur *Malassezia furfur* ketabung reaksi. Campuran kemudian diatur agar memiliki kekeruhan 0,5% larutan McFarland Setelah itu diambil secukupnya dan ditaruh di media tanam (modifikasi.,Amalia, 2019).

3. Uji Metode Difusi Sumuran

Pemeriksaa ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas zona hambat antijamur dengan metode difusi sumuran dari ekstrak etanol kulit pisang kepok(Riza ,P., 2017).

Pembuatan sumur di setiap cawan petri merupakan langkah awal dalam metode difusi sumur dengan konsentrasi 22,5%, 25%, dan 27,5% dari ekstrak etanol kulit pisang kepok. Setelah itu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 25oC. Ruang bersih di sekitar lubang sumur kemudian digunakan untuk memantau dan mengukur zona hambat. Diameter zona hambat juga diukur dengan jangka sorong. pengujian diambil rata-rata dari 3 pengujian (Modifikasi Suryaningrum, 2011).

3.8 Analisis data

Data evaluasi sifat fisik sampo meliputi organoleptik, homogenitas, dianalisis secara deskriptif, sedangkan pengukuran daya sebar, pH, viskositas dan pengukuran tinggi busa serta pengukuran aktivitas antijamur pada sampo antiketombe dianalisis menggunakan STARVIEW dengan taraf kepercayaan 95%.



3.9 Prosedur Peneitian

Gambar 3.2 Prosedur penelitian sediaan sampo antiketombe



