

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode penelitian eksperimental laboratorium, yaitu metode penelitian yang dapat menguji secara benar hipotesis menyangkut hubungan kausal (sebab akibat) yang dilakukan di Laboratorium Bahan alam, Mikrobiologi Universitas Buana Perjuangan Karawang Fakultas Farmasi.

#### **3.2 Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kulit jengkol yang didapat dari Desa Pisangsambo Kec. Tirtajaya Kab. Karawang.

#### **3.3 Bahan dan Alat yang Digunakan**

##### **3.3.1 Bahan**

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: Ekstrak Kulit jengkol (*Pithecellobium lobatum Benth*), Carbopol 940, Sodium lauril sulfat, Propilenglikol, Nipazol, TEA, Pewangi, Aquadest, Jamur *Candida albicans*, Media *Sabouraud Dextrosa Agar (SDA)*, NaCl

##### **3.3.2 Alat**

Alat yang digunakan adalah gelas ukur, gelas beker, Erlenmeyer, aluminium foil, batang pengaduk, timbangan analitik, oven, blender, hot plate, wadah shampo, viscometer brokfield, pH meter digital, wadah maserasi, kertas saring, *vacuum rotary evaporator*, Vial, Autoklap, Inkubator, *Cotton Bud* Steril, Cawan Petri, Batang Sumuran.

#### **3.4 Lokasi penelitian**

Lokasi penelitian dilaksanakan di Laboratorium bahan alam, laboratorium teknologi Universitas Buana Perjuangan Karawang. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Agustus 2022.

#### **3.5 Prosedur Penelitian**

##### **3.5.1 Penyiapan Sampel**

Bahan utama dalam penelitian ini adalah kulit jengkol. Sampel yang di dapat dari Desa Pisangsambo Kec. Tirtajaya Kab. Karawang.

### 3.5.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia dimulai dengan mencuci kulit jengkol, dilanjutkan kulit jengkol dikeringkan, Selanjutnya di sortasi basah dan dilakukan penimbangan untuk proses selanjutnya.

### 3.5.3 Preparasi sampel

Sampel kulit jengkol (*Pithecellobium lobatum Benth*) disiapkan sebanyak 3 kg. Selanjutnya Sampel dicuci dan dipotong berukuran sedang kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C, setelah kering maka sampel berupa simplisia diblender hingga menjadi halus kemudian diayak dengan ayakan 60 mesh.

Ekstraksi sampel Sebanyak 500gram simplisia di ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96 %. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi 2 x 24 jam. Hasil ekstraksi Kemudian diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40 °C sampai menjadi ekstrak kental.

### 3.5.4 Uji Fitokimia

- Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan 0,5 gram ekstrak kulit jengkol air (dan ditambahkan 8 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2N dan ditetesi dengan penguji Dragendroffsebanyak 3 tetes. Hasilnya ditandai dengan endapan Jingga pada reagen Dragendroff.

- Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan dengan 0,5 gram ekstrak kulit jengkol dan ditetesi dengan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, pekat. Hasil ditunjukkan dengan munculnyawarna hijau kekuningan atau hijau kehitaman.

- Uji Saponin

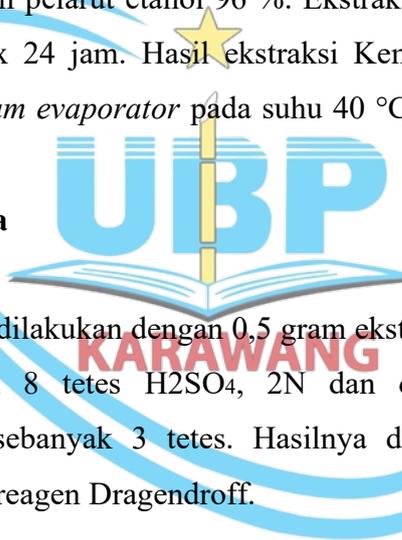
Ekstrak 0,5gram ditambahkan 10 ml aquades hangat, kemudian dikocok selama 30 detik. Hasilnya ditandai dengan adanya buih pada larutan.

- Terpenoid

Uji terpenoid dilakukan dengan mereaksikan 0,5 gram ekstrak kulit jengkol air dengan 10 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, melalui dinding tabung. Hasil di tunjukkan dengan terbentuknya warna hijau dan biru.

- Uji Kandungan Tannin dan Fenolik

Sampel yang sudah dirajang halus di ekstraksi dengan methanol dalam



tabung reaksi. Kemudian hasil ekstraksi ditetesi 2-3 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 1% maka teramati warna biru kehijauan tannin, dan hijau kekuningan untuk fenolik.

### 3.6 Analisis Kadar Hambat Minimum (KHM)

Metode yang digunakan dalam analisis KHM sama dengan penentuan uji aktivitas antijamur, yaitu dengan difusi agar menggunakan metode sumuran. Pengujian antijamur ini digunakan pengenceran jamur *Candida albicans*. Media agar yang steril dituang kedalam cawan petri sebanyak 20 mL, kemudian ditambahkan suspensi jamur, lalu didiamkan sampai memadat. Media yang sudah padat tersebut kemudian ditempatkan pada lubang sumuran dengan diameter 6 mm dan terdapat 4 sumur pada setiap cawan petri. Ekstrak kulit jengkol ditimbang sesuai dengan konsentrasi yang akan diteliti, yaitu 0,75%, 1,5%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 100%.

### 3.7 Formulasi Sediaan Shampo anti Ketombe Ekstrak Kulit Jengkol

Pembuatan formulasi sediaan shampo ekstrak kulit jengkol mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Almawadah 2019, dan ekstrak kulit jengkol mengacu pada penelitian Siti Juariah 2016.

**Tabel 3.1 Formulasi Sediaan Shampo dengan Ekstrak Kulit Jengkol**

| Bahan                 | kegunaan  | F1   | F2 | F3   | K(-) | K(+)           |
|-----------------------|-----------|------|----|------|------|----------------|
| Ekstrak kulit jengkol | Zat aktif | 2,5% | 3% | 3,5% | -    | Ketokonazol 2% |

|                      |                 |       |       |       |       |  |
|----------------------|-----------------|-------|-------|-------|-------|--|
| Carbopol 940         | Pengental       | 1gr   | 1gr   | 1gr   | 1gr   |  |
| Sodium lauril sulfat | Surfaktan       | 3,5gr | 3,5gr | 3,5gr | 3,5gr |  |
| Propilen glikol      | Pelembab        | 10gr  | 10gr  | 10gr  | 10gr  |  |
| Nipasol              | Pengawet        | 0,1gr | 0,1gr | 0,1gr | 0,1gr |  |
| TEA                  | Agen Pengemulsi | 2gr   | 2gr   | 2gr   | 2gr   |  |

|          |         |           |           |           |           |  |
|----------|---------|-----------|-----------|-----------|-----------|--|
| Pewangi  | Parfum  | 1gr       | 1gr       | 1gr       | 1gr       |  |
| Aquadest | Pelarut | Ad<br>100 | Ad<br>100 | Ad<br>100 | Ad<br>100 |  |

### 3.7.1 Pembuatan Shampo Ekstrak kulit jengkol

Dimulai dengan menimbang semua bahan menggunakan timbangan analitik sesuai dengan jumlah yang sudah ditentukan masing-masing. dilanjutkan dengan mengembangkan Carbopol dalam mortir menggunakan aquades, Carbopol dibiarkan hingga mengembang kemudian diaduk secara konstan dan ditambahkan TEA diaduk hingga homogen. Nipasol dilarutkan menggunakan propilenglikol diaduk hingga larut sedangkan sodium lauril sulfat dilarutkan menggunakan aquades sedikit demi sedikit hingga larut diaduk secara perlahan. Nipasol dimasukkan ke dalam mortir yang berisi Carbopol lalu diaduk kemudian menambahkan sodium lauril sulfat yang sudah dilarutkan dan diaduk secara perlahan untuk menghindari penyabunan. Ditambahkan ekstrak kulit jengkol diaduk hingga homogen kemudian ditambahkan aquades, dan shampo yang sudah jadi dipindahkan ke dalam botol.

## 3.8 Uji Fisik Shampo

### 3.8.1 Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan menggunakan panca indera dimana pengamatan dilihat secara langsung warna, dan bau. Hasil pengamatan kemudian langsung dicatat. Pengamatan organoleptik dilakukan dengan mengamati bentuk, bau dan warna sediaan sampo antiketombe yang mengandung berbagai konsentrasi ekstrak kulit jengkol (Anonim, 1992).

### 3.8.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan cara melihat ada tidaknya butiran-butiran kasar pada sediaan sampo dan teksturnya homogen pada sediaan yang telah dibuat secara fisik. Sampo dioleskan pada dengan berbagai konsentrasi di atas kaca arloji, sampo harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terdapat adanya butiran kasar.

### 3.8.3 Uji pH

Uji pH Bertujuan untuk mengetahui keamanan shampo tersebut pada waktu digunakan. pH yang terlalu asam maupun terlalu basa akan mengiritasi kulit kepala. Sampo sebanyak 1 g dilarutkan kedalam 10 mL airdan diukur pH nya dengan menggunakan pH meter digital. Persyaratan pHshampo yang baik yaitu 4,5-6,5 (Nurhayani,2013).

#### 3.8.4 Uji Pengukuran Tinggi Busa

Pengukuran tinggi busa dilakukan untuk mengetahui kemampuan surfaktan dalam membentuk busa supaya dapat mempertahankan sampo pada rambut. Pengukuran dilakukan dengan cara sampo sebanyak 0,1 g dilarutkan dalam 10 mL air. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditutup dan dikocok selama 20 detik dengan cara membalikkan tabung reaksi secara beraturan, Kemudian diukur tinggi busa yang terbentuk. Syarat tinggibusa adalah 1,3 sampai 22 cm (Febri.,H, *et al*, 2021).

#### 3.8.5 Uji Viskositas

Uji viskositas ini dilakukan dengan cara sebanyak 100 gram sampo dimasukkan dalam beaker gelas 100 ml kemudian diukur kekentalannya menggunakan viskometer Brookfield, Bertujuan untuk mengetahui kekentalan dari sediaan shampoo. Syarat uji viskositas yang baik setidaknya 400Cp-4000Cp (Yumas, 2016).

### 3.9 Uji Efektivitas Antijamur *Candida Albicans*

- a. Sterilisasi Alat-alat yang digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan. Tabung reaksi, erlenmeyer, gelas ukur, vial, dan pipet ditutupmulutnya dengan kapas yang dibalut dengan kain kasa, kemudian dibungkus dengan kertas perkamen, lalu disterilkan didalam autoklaf pada suhu 121 °C dan tekanan 15 lbs selama 15 menit. Pinset dan jarum ose disterilkan dengan cara pemijaran di atas nyala api selama beberapa detik. Laminar Air Flow (LAF) dibersihkan dari debu lalu disemprotkan dengan etanol 70 % dibiarkan selama 15 menit dan disterilkan dengan menyalakan lampu UV selama 5 menit sebelum digunakan.
- b. Peremajaan Jamur *Candida albicans* Pemiakan koloni jamur *Candida albicans* dilakukan dengan menggoreskan satu ose kultur murni jamur pada

permukaan agar miring *Sabouraud Dextrosa Agar (SDA)* steril dalam tabung reaksi. Kemudian menutup mulut tabung menggunakan kapas steril dan dilakukan inkubasi pada suhu 37°C . Jamur dibiakan selama 48 jam dan siap untuk digunakan dalam penelitian (Fitriani dkk., 2013).

c. Pembuatan SDA dilakukan dengan mengambil sebanyak 6,5 gram SDA kemudian disuspensikan ke dalam aquades 100 mL dan dilakukan pemanasan hingga media homogen. Mulut erlenmeyer ditutup menggunakan kapas dan di autoklaf 15 menit pada suhu 121°C. Dituang ke dalam cawan petri sebanyak 15 mL media SDA.

d. Pembuatan Suspensi Jamur *Candida albicans* yang telah diremajakan sebelumnya diambil sebanyak 1 ose, kemudian dimasukkan dalam NaCl sebanyak 5 ml dan di bandingkan kekeruhannya menggunakan Mc.Farland

e. Uji aktivitas antijamur ekstrak kulit jengkol terhadap jamur *Candida albicans* Dilakukan dengan menyiapkan suspensi jamur *Candida albicans* sebanyak 100µl lalu dispread di atas media SDA yang sudah memadat. Campuran media SDA dan suspensi ditunggu hingga memadat lalu dibuat sumuran dengan memberi lubang berdiameter 6 mm. Sumuran yang sudah dibuat diberi sampel uji dengan

menggunakan mikropipet dimasukkan ke lubang sumuran. Tiap sumur diisi dengan ekstrak kulit jengkol dengan konsentrasi 2,5% , 3% , 3,5% serta Kontrol positif dan negatif ke dalam sumur pada *petridisk* yang telah diinokulasikan jamur *Candida albicans*. Kemudian dilakukan inkubasi selama 48 jam dengan suhu 37°C untuk mengetahui aktivitas antijamur.

### **3.9.1 Pengujian aktivitas antijamur sediaan shampo**

Shampo ekstrak kulit jengkol diuji aktivitas antijamurnya menggunakan metode sumuran. Pengujian aktivitas antijamur dilakukan dengan memasukan kontrol negatif (K-) dan kontrol positif (K+) yaitu shampoketoconazole 2% dan sampo ekstrak kulit jengkol 2,5%, 3% dan 3,5%. Larutan shampo dipipet dan dimasukkan ke dalam sumuran pada media uji yang telah dilubangi kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama

48 jam. Media uji yang digunakan merupakan media agar dengan

mengandung suspensi *Candida albicans*, Perlakuan tersebut di lakukan secara steril didalam LAF. Aktivitas antijamur dari shampo ekstrak kulit jengkol dapat diketahui dari diameter zona hambat bening yang timbul di sekitar lubang atau sumuran. Kemudian dihitung besarnya diameter menggunakan jangka sorong untuk mengetahui besarnya aktivitas antijamur (Fitriani dkk., 2013).

### 3.10 Alur Penelitian

