

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Dalam penelitian ini dibuat formulasi sediaan sampo antiketombe ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum* (Burm.f) Alston) dengan konsentrasi berbeda yaitu 1,5%, 2% dan 2,5%. Kemudian pengujian sediaan yaitu uji organoleptik, pH, homogenitas, viskositas, tinggi busa dan uji aktivitas antijamur yang akan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Teknologi Fakultas Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang.

#### 3.2 Sampel

Sampel penelitian yang digunakan yaitu sediaan sampo antiketombe ekstrak etanol daun jambu air dengan konsentrasi ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum* (Burm.f) Alston) 1,5%, 2% dan 2,5%.

#### 3.3 Bahan dan Alat yang Digunakan

##### 3.3.1 Bahan

Bahan yang digunakan adalah ekstrak daun jambu air (*Syzygium aqueum* (Burm.f) Alston), etanol 96%, aquades, natrium lauril sulfat, CMC Na, propilen glikol, metil paraben, setil alkohol, tablet ketoconazole 200 mg, *Saboraud Dextrose Agar* (SDA), larutan Mc farland, sampo ketoconazole, biakan jamur *Malassezia furfur*.

### 3.3.2 Alat

Timbangan analitik, beaker glass, gelas ukur (*Pyrex*), labu ukur (*Pyrex*), alat ekstraksi maserasi, tabung reaksi (*Pyrex*), rak tabung reaksi, autoklaf (*ALP*), *rotary evaporator* (*STEROGLASS*), Laminar Air Flow (*NBioteck*), hot plate (*ACIS*), cawan petri (*Pyrex*), lampu bunsen, inkubator (*MMM Group*), jarum ose, batang sumuran, kertas filter, *viscometer* (*Brookfield*), pH indikator (*MERCK*), mortar dan stamper, pipet tetes, mikropipet, *cotton bud*, kertas perkamen, kapas, aluminium foil, kemasan dan wadah sampo, batang pengaduk, jangka sorong, masker, sarung tangan, kertas label.

## 3.4 Variabel Penelitian

### 3.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas yang terlibat pada penelitian ini yaitu sampo anti ketombe ekstrak etanol daun jambu air dan efektivitasnya terhadap jamur *Malassezia furfur* dengan variasi formulasi yaitu F1 (1,5%) ; F2 (2%) ; dan F3 (2,5%).

### 3.4.2 Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah pengujian uji organoleptik, uji pH, uji homogenitas, uji viskositas, uji tinggi busa dan uji aktivitas antijamur.

### 3.5 Tempat dan Waktu Penelitian

#### 3.5.1 Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Teknologi Fakultas Farmasi Universitas Buana Perjuangan Karawang.

#### 3.5.2 Waktu

Waktu pelaksanaan penelitian ini dilaksanakan dari bulan April 2022 – Agustus 2022.

### 3.6 Definisi operasional variabel

Berikut definisi operasional variabel penelitian yang akan dilakukan terdapat pada Tabel 3.1 dibawah ini.

Tabel 3.1 Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
<b>Variabel Bebas</b>					
1	Formulasi sediaan sampo antiketombe ekstrak etanol daun jambu air ( <i>Syzygium aqueum</i> (Burm.f) Alston)	Membuat formulasi sediaan sampo antiketombe ekstrak etanol daun jambu air ( <i>Syzygium aqueum</i> (Burm.f) Alston)	-	Nominal	1. F1,5 : Konsentrasi Ekstrak 1,5% 2. F2 : Konsentrasi ekstrak 2% 3. F2,5 : Konsentrasi ekstrak 2,5%
<b>Variabel Terikat</b>					
1	Uji Organoleptik Warna	Parameter uji yang dilakukan dengan menggunakan indera mata dalam pengujian	Panca indera mata	Nominal	1. Tidak berwarna 2. Warna putih atau hijau kecoklatan

		sediaan sampo antiketombe ekstrak daun jambu air			
2	Uji Organoleptik Bau	Parameter uji yang dilakukan dengan menggunakan indera mata dalam pengujian sediaan sampo antiketombe ekstrak etanol daun jambu air	Panca indera hidung	Nominal	1. Tidak berbau 2. Bau khas ekstrak 3. Bau oleum rosae
5	Uji pH	Parameter uji yang dilakukan pada sediaan sampo antiketombe ekstrak daun jambu air sesuai dengan pH kulit kepala	Indikator pH	Rasio	Angka yang muncul pada pH meter atau warna yang sesuai dengan indikator pH
6	Viskositas	Parameter uji viskositas dilakukan dengan menguji tingkat kekentalan sediaan sampo antiketombe ekstrak etanol	Viskometer	Rasio	cPs

		daun jambu air			
7	Uji Tinggi Busa	Parameter uji tinggi busa dilakukan pengocokan pengocokan selama 20 detik pada sediaan sampo antiketombe ekstrak etanol daun jambu air	Jangka Sorong	Rasio	cm
8	Uji Daya Hambat	Uji daya hambat antijamur sediaan sampo antiketombe ekstrak daun jambu air terhadap <i>Malassezia</i> <i>furfur</i> dilakukan dengan metode difusi sumuran yaitu metode sumuran	Jangka Sorong	Rasio	mm

### 3.7 Prosedur Penelitian

#### 3.7.1 Determinasi tanaman

Determinasi tanaman akan dilakukan dengan tujuan untuk memastikan bahwa tanaman yang akan digunakan pada penelitian ini adalah benar daun jambu air (*Syzygium aqueum* (Burm.f) Alston).

#### 3.7.2 Pembuatan ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum* (Burm.F.) Alston)

Sebanyak 1000 gr serbuk simplisia daun jambu air direndam dengan larutan etanol 96% dengan perbandingan ekstraksi yang digunakan adalah 1:5. Lalu ditutup menggunakan alumunium foil dan dibiarkan selama 5 hari sambil sesekali diaduk. Setelah 5 hari sampel disaring menggunakan kertas saring yang akan menghasilkan filtrat 1 dan residu 1. Filtrat 1 dimasukkan ke dalam beaker glass dan ditutup dengan *alumunium foil*. Kemudian residu 1 ditambahkan larutan yang sama yaitu etanol 96% sebanyak yang dibutuhkan, ditutup dengan menggunakan *alumunium foil* lalu dibiarkan selama 2 hari. Setelah 2 hari, sampel tersebut disaring kembali menggunakan kertas saring yang akan menghasilkan filtrat 2 dan residu 2. Filtrat 1 dan filtrat 2 dicampurkan kemudian dievaporasi menggunakan rotary evaporator. Setelah itu ekstrak ditimbang dan disimpan pada wadah tertutup (Malonda *et al*, 2017).

### 3.7.3 Skrining Fitokimia

#### A. Uji Flavonoid

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan 10 tetes HCl pekat kemudian ditambahkan serbuk magnesium (Mg) secukupnya. Positif mengandung flavonoid apabila terbentuk endapan putih (*Abriyani & Fikayuniar, 2020*)

#### B. Uji Alkaloid

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan 2 ml HCl 2N kemudian dikocok. Lalu larutan ekstrak dibagi menjadi 2 tabung berbeda. Satu tabung diberi reagen 2 tetes dragendorff dan tabung yang lain diberikan 2 tetes reagen mayer. Positif mengandung alkaloid apabila terdapat endapan merah/jingga pada larutan yang ditambahkan reagen dragendorff, sedangkan pada pereaksi mayer akan terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan atas berwarna hijau dan lapisan bawah terdapat endapan (*Abriyani & Fikayuniar, 2020*)

#### C. Uji Saponin

Sebanyak 1 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml air panas, lalu dibiarkan dingin. Setelah larutan dingin kocok kuat selama 10 detik. Positif mengandung saponin apabila terbentuk buih setinggi 1-10 cm dan buih tidak hilang selama 10 menit (*Muthmainnah, 2017*).

#### **D. Uji Tanin**

Sebanyak 3 ml ekstrak direaksikan dengan menambahkan 5 tetes gelatin. Positif mengandung tanin apabila terbentuk endapan putih (Abriyani & Fikayuniar, 2020).

#### **E. Fenolik**

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan dengan 10 tetes  $\text{FeCl}_3$  1% lalu diamati reaksi yang terjadi. Apabila warna larutan ekstrak berubah menjadi warna hitam maka positif mengandung alkaloid (Abriyani & Fikayuniar, 2020).

#### **F. Kuinon**

Sebanyak 1 ml ekstrak ditambahkan 5 tetes NaOH kemudian diamati hasilnya. Jika terjadi reaksi perubahan warna menjadi jingga maka positif mengandung kuinon.

### **3.7.4 Pembuatan sediaan sampo antiketombe ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum* (Burm.F.) Alston)**

#### **A. Formulasi sediaan sampo antiketombe ekstrak etanol daun jambu air**

Formulasi sampo antiketombe ekstrak etanol daun jambu air akan dibuat 100 mL pada setiap formula. Berikut formulasi sampo akan dituliskan pada Tabel 3.2 dibawah ini.

Tabel 3.2 Formulasi Sampo Antiketombe Ekstrak Etanol Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum* (Burm.f) Alston)

Nama Bahan	Formula (%)					Kegunaan
	F1	F2	F3	F0 (-)	(+)	
Ekstrak Etanol Daun Jambu Air	1,5	2	2,5	0	Sampo ketokonazole 2%	Zat Aktif
Sodium Lauryl Sulfate	4	4	4	4		Surfaktan Pimer
CMC Na	7	7	7	7		Pengental
Propilen Glikol	7	7	7	7		
Setil Alkohol	5	5	5	5		Pelembut
Metil Paraben	0,2	0,2	0,2	0,2		Pengawet
Pewangi Oleum Rose	qs	qs	qs	qs		Pewangi
Aquadest	Ad 100 ml	Ad 100 ml	Ad 100 ml	Ad 100 ml		Pelarut

(Hidayah et al, 2021)

### B. Pembuatan sampo antiketombe ekstrak etanol daun jambu air (*Syzygium aqueum* (Burm.f) Alston)

Semua bahan yang digunakan ditimbang sesuai dengan formulasi. CMC dikembangkan dengan cara digerus dan dilarutkan dengan air panas di dalam mortar yang telah dipanaskan (M1). Natrium lauril sulfat (SLS) dilarutkan dengan menggunakan air panas. Kemudian SLS ditambahkan sedikit-sedikit kedalam M1 digerus hingga homogen (M2). Setelah itu M2 dipindahkan ke dalam gelas kimia ukuran 250 ml dan disimpan diatas magnetik stirrer untuk memudahkan proses pengadukan serta agar mendapatkan homogenitas yang baik. Magnetik stirrer diatur dengan suhu 70°C dengan kecepatan 250 rpm. Setil alkohol dileburkan diatas

penangas air kemudian ditambahkan sedikit-sedikit agar tidak terbentuk gumpalan. Setelah homogen, metil paraben dan propilen glikol dimasukkan lalu ditambahkan aquadaest sampai 100 ml kemudian memastikan semua bahan tercampur dan homogen. Sediaan sampo yang sudah jadi didinginkan terlebih dahulu agar pada saat penambahan ekstrak pada sampo tidak merusak zat-zat yang terkandung dalam ekstrak (Hidayah *et al*, 2021).

#### 3.7.5 Uji organoleptik

Pengamatan dilakukan langsung menggunakan panca indera yaitu mengamati warna dan bau sediaan yang dihasilkan oleh sampo antiketombe ekstrak daun jambu air (Fauziah *et al*, 2021).

#### 3.7.6 Uji pH

Pengujian pH dilakukan dengan melarutkan 1 gram sabun cuci tangan cair dengan 10 ml aquadest sampai 10 ml. Setelah itu, elektroda dicelupkan kedalam sampel. Angka yang ditunjukkan oleh pH meter merupakan pH sediaan. Nilai pH harus masuk ke dalam kisaran syarat mutu sediaan sampo Standar Nasional Indonesia No. 06-2692-1992 yaitu dalam kisaran 5 – 9 dan pH kulit kepala yaitu 4,5 – 6,5 (Fauziah *et al*, 2021) ; (Permadi & Mugiyanto, 2018) ; (Nurhikma *et al*, 2018)

### 3.7.7 Uji viskositas

Pengujian viskositas dilakukan dengan memasukkan 100 g sampo ke dalam gelas kimia 100 ml kemudian kekentalan sampo akan diukur menggunakan viskometer Brookfield dengan Spindle No. 3 dengan kecepatan 30 rpm. Viskositas sampo harus dalam rentang 400 – 4000 cPs sesuai dengan ketentuan Standar Nasional Indonesia (1992) (Sambodo & Yani, 2020).

### 3.7.8 Uji tinggi busa

Pengujian tinggi busa dilakukan dengan cara membuat larutan 10% dari sampo kemudian dikocok sampai 10 kali lalu tinggi busa yang dihasilkan dicatat. Persyaratan tinggi busa harus dalam rentang 1,3 – 22 cm (Malonda *et al.*, 2017).

### 3.7.9 Uji aktivitas sediaan

#### A. Sterilisasi alat dan media

Alat, bahan dan media yang tahan panas yang akan digunakan untuk penelitian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Sebelumnya alat-alat tersebut dicuci, dikeringkan dan dibungkus dengan koran. Alat yang tidak tahan panas disterilkan menggunakan alkohol. Alat-alat yang disterilkan menggunakan autoklaf antara lain erlenmeyer, batang pengaduk, cawan petri, jarum ose, media agar, kaca arloji, *cotton bud* (Suwendar, 2019).

B. Pembuatan media Saboraund Dextrose Agar (SDA)

SDA ditimbang sebanyak yang dibutuhkan kemudian dilarutkan dalam aquadest dan dipanaskan dengan *hot plate*. Kemudian media disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Lalu SDA yang telah disterilisasi dituangkan ke dalam cawan petri yang telah disterilkan lalu dinginkan hingga media menjadi padat (Gesar & Retno, 2015).

C. Peremajaan jamur *Malassezia furfur*

*Saboraud Dextrose Agar* yang telah padat ditanami jamur *Malassezia furfur* dengan meng-inokulasikan jamur induk dengan menggunakan jarum ose yang telah dibakar terlebih dahulu dengan Bunsen. Lalu di inkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37°C (Suwendar, 2019).

D. Pembuatan suspensi jamur *Malassezia furfur*

Koloni jamur *Malassezia furfur* diambil satu ose kemudian dimasukkan ke dalam 5 ml NaCl 0,9% dalam tabung reaksi lalu dikocok hingga homogen. Kemudian kekeruhannya disetarakan dengan 0,5 larutan *Mc Farland* (Suwendar, 2019).

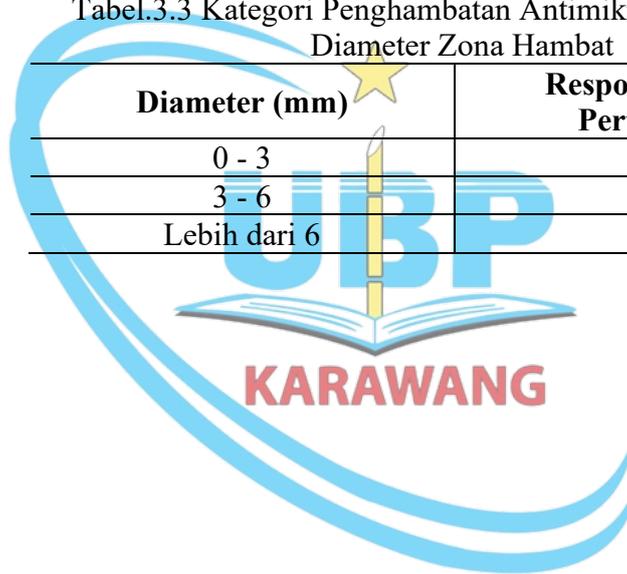
E. Pengujian antijamur metode sumuran

Suspensi bakteri uji diinokulasikan pada media SDA dengan menggunakan cotton bud yang telah diautoklaf. Sumuran dibuat dengan menggunakan batang sumuran. Kemudian dimasukkan sediaan sampo antiketombe ekstrak etanol daun jambu air

(*Syzygium aqueum* (Burm.f) Alston) sebanyak 50  $\mu$ L ke dalam sumuran yang telah dibuat, selanjutnya inkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37°C. Diamati zona bening di sekitar sumuran kemudian diukur menggunakan jangka sorong. Aktivitas antimikroba yang dihasilkan dapat dilihat dari diameter zona bening yang terbentuk. Kategori penghambatan antimikroba menurut Pan *et al.* (2009) adalah sebagai berikut.

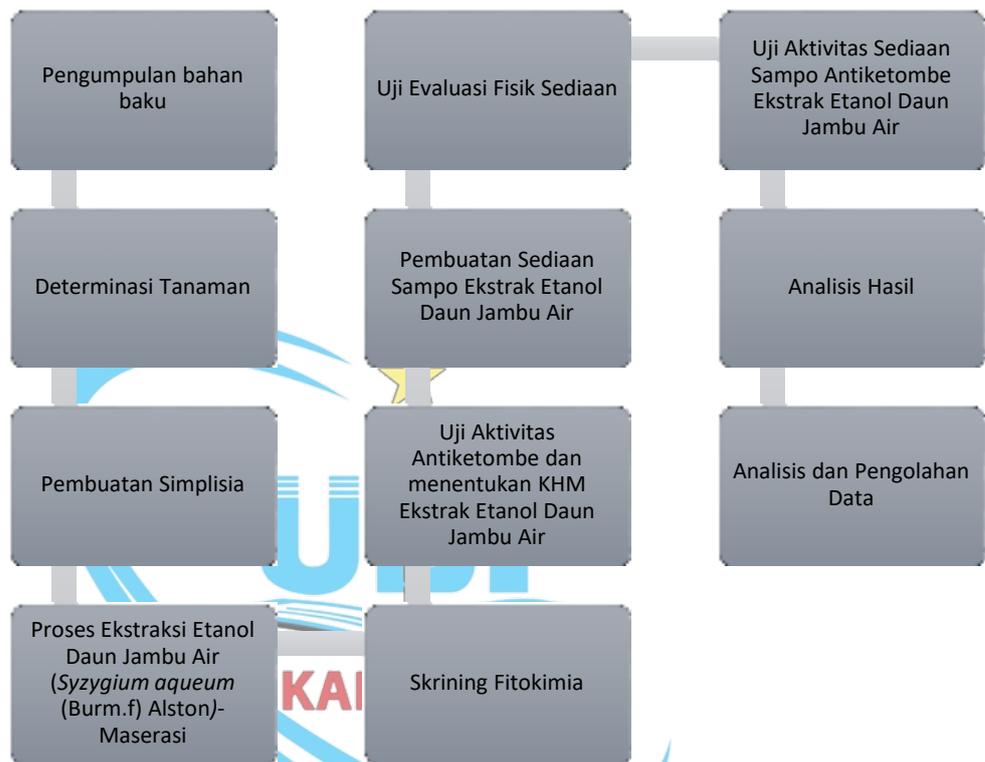
Tabel.3.3 Kategori Penghambatan Antimikroba Berdasarkan Diameter Zona Hambat

Diameter (mm)	Respon Hambatan Pertumbuhan
0 - 3	Lemah
3 - 6	Sedang
Lebih dari 6	Kuat



### 3.8 Alur Penelitian

Alur penelitian ini akan dijelaskan pada **Gambar 3.1** dibawah ini.



**Gambar 3.1** Alur penelitian