

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Metode penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan pendekatan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dimana variasi kelompok perlakuan sediaan sabun mandi cair meliputi kontrol dan sediaan sabun mandi cair menggunakan ekstrak biji buah alpukat 5% b/v; 7,5% b/v; 10% b/v, 12,5% b/v, dan 15% b/v. Pengujian sabun cair dilakukan secara organoleptik, uji homogenitas, uji pH, uji stabilitas busa, uji tinggi busa, uji bobot jenis, uji viskositas, dan uji *cycling*.

3.2. Bahan dan Alat yang Digunakan

3.2.1. Bahan Penelitian

Ekstrak biji buah alpukat yang berasal dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (BALITRO), Kota Bogor, aquadest, asam stearat, cocamid DEA, kalium hidroksida (BRATACHO), VCO (BEORGANIK), NaCl, Na – CMC, natrium benzoat, *Sodium Lauryl Sulfat* (SLS), parfum, vitamin E.

3.2.2. Alat penelitian

Alat – alat yang digunakan adalah timbangan digital, batang pengaduk, gelas kimia 100 mL dan 250 mL (Pyrex ® Iwaki), cawan penguap, sudip, tabung reaksi, gelas ukur 25 mL dan 50 mL (Pyrex ® Iwaki), gelas arloji, erlenmeyer, hot plate (Thermo Scientific), magnetic stirrer bar, pH meter (ISTEK), viskometer (Lamy Rheology), wadah sabun.

3.3. Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi ekstrak biji buah alpukat.

3.4.2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH, uji stabilitas tinggi busa, uji bobot jenis, uji viskositas, dan uji *cycling*.

3.4.3. Definisi Operasional Variabel

Tabel 3.1. Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Skala	Hasil Ukur
Variabel Bebas					
1.	Variasi konsentrasi ekstrak biji buah alpukat	Konsentrasi ekstrak biji alpukat yang digunakan pada masing-masing formula sediaan. Variasi konsentrasi yang digunakan adalah 0% sebagai blanko tanpa ekstrak, dan formula dengan konsentrasi ekstrak sebanyak 5% b/v; 7,5% b/v; 10% b/v, 12,5% b/v, dan 15% b/v.	Uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH, uji stabilitas tinggi busa, uji bobot jenis, uji viskositas.	-	K – K + F5% F7,5% F10% F12,5% F15%

Variabel Terikat					
2.	Bentuk	Pengujian fisik sediaan menggunakan indera penciuman	Organoleptik	Nominal	1. Tidak Berbau 2. Bau Khas Biji Buah Alpukat
3.	Warna	Pengujian fisik sediaan menggunakan indera penglihatan	Organoleptik	Nominal	1. Coklat Muda 2. Coklat 3. Coklat Tua
4.	Uji Homogenitas	Uji homogenitas krim dilakukan dengan cara mengoles krim ekstrak biji buah pada kaca objek, kemudian ditutup dengan kaca objek lain kemudian diamati ada atau tidaknya butiran pada sediaan.	Kaca objek	Nominal	1. Tidak Homogen 2. Homogen
5.	Uji pH	Nilai pH pada formula sediaan dengan variasi konsentrasi.	pH meter	Rasio	Angka dalam pH meter
6.	Uji bobot jenis	Berdasarkan SNI, bobot jenis pada sabun mandi cair yaitu 1,01 – 1,1 g/mL.	Piknometer	Rasio	g/mL
7.	Viskositas	Uji viskositas dengan menggunakan alat	Viskometer <i>Rheology</i>	Lamy Rasio	cP

		Viskometer Lamy Rheology and Plate. Viskositas dibaca pada setiap putaran per menit.		
8.	Uji tinggi dan stabilitas busa	Uji kemampuan membentuk busa dihitung dengan mengukur tinggi busa dan stabilitas busa.	Penggaris stopwatch	dan Nominal Mm

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Teknik Pengumpulan Biji Alpukat

a. Pembuatan Simplisia Biji Buah Alpukat

Biji buah alpukat dipisahkan terlebih dahulu dari daging buahnya, dicuci hingga bersih dari pengotor, ditiriskan, lalu diiris tipis-tipis untuk kemudian ditimbang sebagai berat basah sampel. Setelah itu sampel dikeringkan dalam lemari pengering dengan suhu $\pm 40^\circ$ sampai sampel menjadi kering. Setelah selesai, kemudian sampel kering dihaluskan menggunakan blender hingga sampel kering berubah menjadi serbuk halus lalu ditimbang sebagai berat kering simplisia biji buah alpukat. Setelah itu dilakukan penyimpanan terhadap simplisia pada wadah yang tertutup dengan rapat dan terhindar dari sinar matahari, tidak lupa diberi etiket.

b. Pembuatan Ekstrak Biji Buah Alpukat

Pembuatan ekstrak biji buah alpukat dilakukan dengan metode dingin yakni dengan maserasi. Pertama-tama sebanyak 1 kg serbuk

simplisia dari ekstrak biji buah alpukat direndam dalam 7,5 liter etanol 96%. Etanol dipilih sebagai pelarut dengan alasan etanol merupakan pelarut yang universal sehingga mampu untuk menarik senyawa dalam pelarut yang polar hingga non polar. Serbuk simplisia tersebut direndam dengan etanol 96% di dalam benjana, kemudian benjana ditutup dengan dilakukan pengadukan sebanyak satu hari sekali dalam 5 hari perendaman yang terlindung dari cahaya. Setelah 5 hari, kemudian dilakukan penyaringan, kemudian diserkai dan diperas ampasnya. Ampas dicuci dengan menggunakan etanol 96% sebanyak 2,5 liter di dalam bejana hingga didapat etanol 96% hasil maserasi sebanyak 10 liter. Setelah selesai, maserat dipindahkan ke dalam bejana yang tertutup dan disimpan pada tempat sejuk serta terlindung cahaya selama 2 hari. Kemudian dilakukan pengentalan ekstrak dengan cara diuapkan menggunakan alat rotary evaporator bersuhu 40°C. Setelah mendapat ekstrak kental kemudian ekstrak ditimbang dan dihitung jumlah rendemennya.

3.4.2. Determinasi

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian sehingga menghindari terjadinya kesalahan dalam mengumpulkan bahan. Proses determinasi tanaman dilakukan dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi tanaman yang akan diteliti berdasarkan pustaka yang telah dibuktikan (Widyastuti *et al.*, 2016). Pada penelitian ini determinasi simplisia oleh Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat

Tradisional Kab. Karanganyar, Jawa Tengah dengan menggunakan 1500 g simplisia buah alpukat (*Persea americana* Mill.) bagian yang digunakan ialah biji.

3.4.3. Skrining Fitokimia

Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji busa dan uji Lieberman Burchard. Uji ini dilakukan dengan mengidentifikasi senyawa fitokimia yang terdapat pada ekstrak biji buah alpukat.

a. Uji alkaloid

Identifikasi alkaloid dilakukan menggunakan pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat (II), Wagner (iodin dalam kalium iodida) dan Dragendroff (bismut nitrat dalam kalium iodida). Ekstrak dilarutkan dengan larutan kloroform beramonia di dalam tabung reaksi, kemudian dikocok lalu disaring. Setelah itu, ditambahkan 1 ml asam sulfat 2 N ke dalam filtrat dan dikocok sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan yang terletak pada bagian atas (asam) dipipet dan dimasukkan ke dalam 3 buah tabung reaksi. Tabung reaksi pertama ditambahkan 3 tetes pereaksi Meyer, tabung reaksi kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorf dan tabung reaksi ketiga ditambahkan 3 tetes pereaksi Wagner. Adanya senyawa alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada tabung reaksi pertama dan timbulnya endapan berwarna coklat kemerahan pada tabung reaksi kedua dan ketiga (Yanti dan Yulia., 2019).

b. Uji Flavonoid

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi serbuk magnesium (Mg) dan asam klorida pekat (HCl).

Penambahan serbuk Mg bertujuan agar membentuk ikatan dengan gugus karbonil pada senyawa flavonoid. Penambahan HCl bertujuan untuk membentuk garam flavilium yang ditandai dengan perubahan warna menjadi merah jingga (Yanti dan Yulia., 2019).

c. Uji saponin

Identifikasi saponin dilakukan dengan melarutkan sampel dalam akuades kemudian dipanaskan selama 15 menit lalu dikocok selama 10 detik. Jika terbentuk buih yang stabil selama kurang lebih 10 menit dan ditambahkan beberapa tetes asam klorida 2 N, maka sampel tersebut positif mengandung saponin (Yanti dan Yulia., 2019).

d. Uji tanin/polifenol

Identifikasi tanin/polifenol dilakukan dengan menambahkan larutan FeCl₃ 35% terhadap sampel. Sampel yang mengandung polifenol akan membentuk senyawa kompleks Fe³⁺ tanin / polifenol dengan ikatan koordinasi dengan terjadinya perubahan warna menjadi biru kehitaman atau hijau kecoklatan. Hal ini terjadi karena atom O pada tanin / polifenol dapat mendonorkan pasangan elektron bebasnya ke Fe³⁺ yang memiliki orbital d kosong membentuk ikatan kovalen koordinat untuk menjadi suatu senyawa kompleks (Yanti dan Yulia., 2019).

e. Uji steroid

Identifikasi steroid dilakukan dengan melarutkan sampel dengan pereaksi Liebermann Burchard (asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat). Sampel yang mengandung senyawa golongan steroid akan berubah warna

menjadi hijau kebiruan. Sedangkan senyawa golongan triterpenoid akan berubah warna membentuk cincin coklat atau violet (Yanti dan Yulia., 2019).

3.4.4. Formulasi Sediaan Sabun Mandi Cair

Formulasi sediaan sabun mandi cair pada penelitian ini mengacu pada formulasi yang telah dilakukan (Mursal *et al.*, 2021). Pada formulasi sediaan sabun mandi cair pada penelitian ini terdapat tiga jenis formulasi yaitu F_{sls}, F₀ dan formulasi dengan variasi ekstrak 5% b/v; 7,5% b/v; 10% b/v, 12,5% b/v, dan 15% b/v.

Tabel 3.2. Rancangan Formula Sabun Mandi Cair

Nama Bahan	Konsentrasi Formulasi (%b/v)							Fungsi
	F _{sls}	F ₀	F ₅	F _{7,5}	F ₁₀	F _{12,5}	F ₁₅	
Ekstrak biji buah alpukat	-	-	5	7,5	10	12,5	15	Zat aktif
VCO	20	20	20	20	20	20	20	Asam lemak
KOH	4	4	4	4	4	4	4	Basa/alkali
Na CMC	3	3	3	3	3	3	3	Emulgator
SLS	1	-	-	-	-	-	-	Surfaktan
Cocomid DEA	2	2	2	2	2	2	2	Penstabil busa
Asam Stearat	2	2	2	2	2	2	2	Penstabil busa
Na Benzoat	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Pengawet
NaCl	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	Pengatur kekentalan
Vitamin E	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	Antioksidan
Parfum	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	Pengharum
Aquadest	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Pelarut

Keterangan :

F_{sls} : sabun mandi cair dengan SLS

F_{0%} : sabun mandi cair tanpa SLS dan kstrak

F_{5%} : sabun mandi cair dengan konsentrasi ekstrak sebesar 5 %

F_{7,5%} : sabun mandi cair dengan konsentrasi ekstrak sebesar 7,5 %

F_{10%} : sabun mandi cair dengan konsentrasi ekstrak sebesar 10 %

F_{12,5%} : sabun mandi cair dengan konsentrasi ekstrak sebesar 12,5 %

F_{15%} : sabun mandi cair dengan konsentrasi ekstrak sebesar 15 %

3.4.5. Pembuatan Sediaan Sabun Mandi Cair

Prosedur pembuatan sediaan sabun mandi cair pada penelitian ini mengacu pada formulasi yang telah dilakukan Mursal (2021).

a. Pembuatan Sabun Mandi Cair dengan Sodium Lauril Sulfat (SLS)

VCO dan asam stearat dipanaskan hingga suhu 70°C, diaduk perlahan hingga larut dan homogen. Campuran minyak ditambahkan KOH yang telah dilarutkan sedikit demi sedikit, campuran diaduk menggunakan magnetic stirrer dengan kecepatan 300–400 rpm selama 15–40 menit hingga terbentuk pasta sabun (campuran 1). Na CMC dikembangkan dengan aquadest di dalam mortir, ditambahkan NaCl yang telah dilarutkan dengan aquadest sedikit demi sedikit hingga homogen lalu pindahkan kedalam gelas kimia (campuran 2). Dimasukkan campuran 1 kedalam campuran 2 aduk hingga homogen. Suhu diturunkan, ditambahkan sodium lauril sulfat (SLS) yang telah dilarutkan dengan aquades sedikit demi sedikit hingga homogen. Ditambahkan cocamid DEA aduk hingga homogen. Ditambahkan Na benzoat yang telah dihaluskan, aduk hingga homogen. Ditambahkan vitamin E aduk hingga homogen. Campuran sabun ditambahkan aquades hingga 100 g, aduk hingga homogen. Ditambahkan pengaroma jeruk secukupnya aduk hingga homogen. Sediaan sabun mandi cair yang sudah homogen dimasukkan kedalam wadah bersih yang telah disiapkan.

b. Pembuatan Sabun Mandi Cair dengan Ekstrak Biji Buah Alpukat

VCO dan asam stearat dipanaskan hingga suhu 70°C, diaduk perlahan hingga larut dan homogen. Campuran minyak ditambahkan KOH

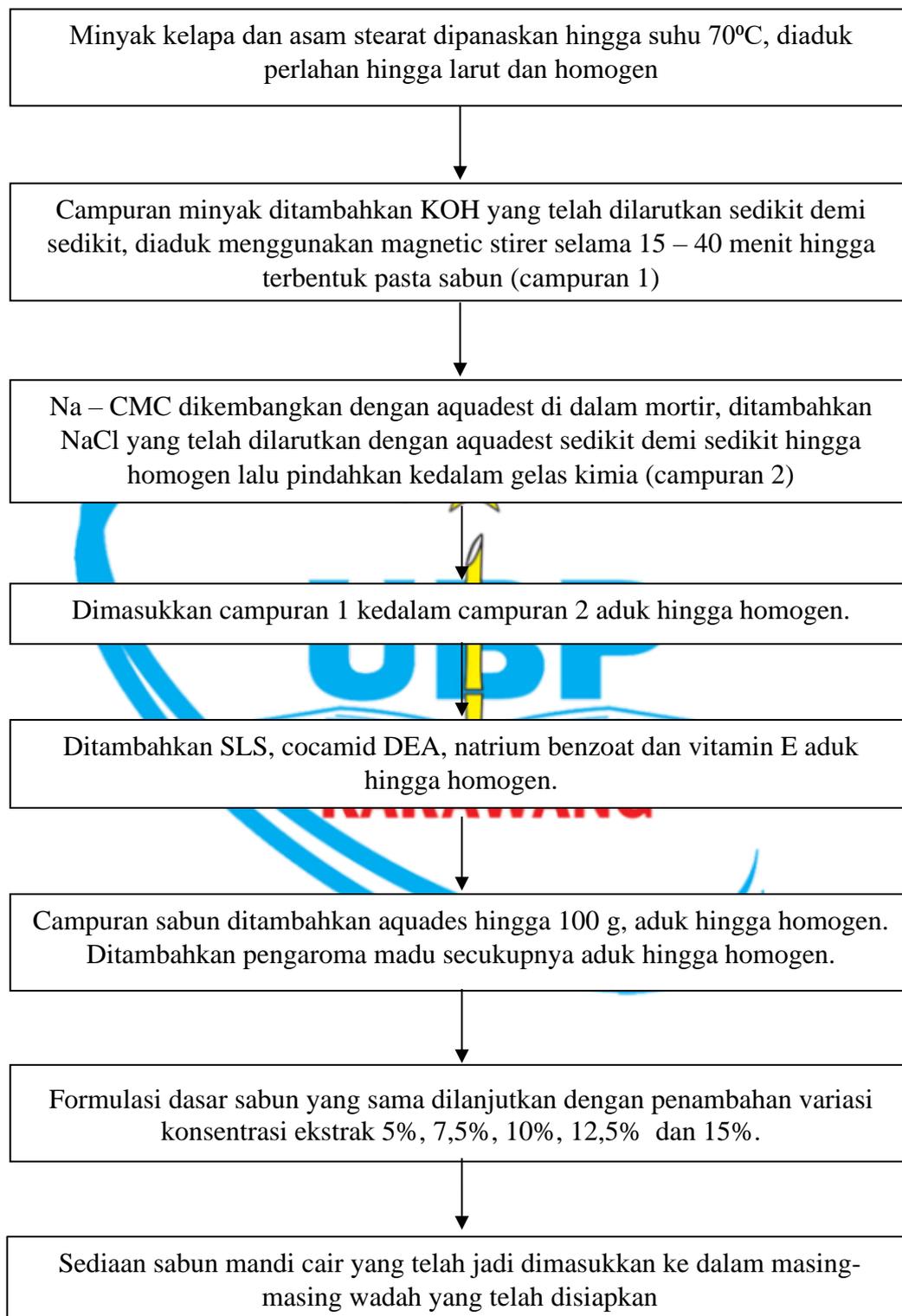
yang telah dilarutkan sedikit demi sedikit, campuran diaduk menggunakan magnetic stirer dengan kecepatan 300–400 rpm selama 15–40 menit hingga terbentuk pasta sabun (campuran 1). Na CMC dikembangkan dengan aquadest di dalam mortir, ditambahkan NaCl yang telah dilarutkan dengan aquadest sedikit demi sedikit hingga homogen lalu pindahkan kedalam gelas kimia (campuran 2). Dimasukkan campuran 1 kedalam campuran 2 aduk hingga homogen. Suhu diturunkan, ditambahkan ekstrak biji buah alpukat dengan variasi konsentrasi, aduk hingga homogen. Ditambahkan cocamid DEA aduk hingga homogen. Ditambahkan Na benzoat yang telah dihaluskan aduk hingga homogen. Ditambahkan vitamin E aduk hingga homogen. Campuran sabun ditambahkan aquades hingga 100 g, aduk hingga homogen. Ditambahkan pengaroma jeruk secukupnya aduk hingga homogen. Sediaan sabun mandi cair yang sudah homogen dimasukkan kedalam wadah bersih yang telah disiapkan.

c. Pembuatan Sabun Mandi Cair tanpa SLS dan Ekstrak Biji Buah Alpukat

VCO dan asam stearat dipanaskan hingga suhu 70°C, diaduk perlahan hingga larut dan homogen. Campuran minyak ditambahkan KOH yang telah dilarutkan sedikit demi sedikit, campuran diaduk menggunakan magnetic stirer dengan kecepatan 300 – 400 rpm selama 15 – 40 menit hingga terbentuk pasta sabun (campuran 1). Na – CMC dikembangkan dengan aquadest di dalam mortir, ditambahkan NaCl yang telah dilarutkan dengan aquadest sedikit demi sedikit hingga homogen lalu pindahkan kedalam gelas kimia (campuran 2). Dimasukkan campuran 1 kedalam

campuran 2 aduk hingga homogen. Suhu diturunkan, Ditambahkan cocamid DEA aduk hingga homogen. Ditambahkan Na benzoat yang telah dihaluskan aduk hingga homogen. Ditambahkan vitamin E aduk hingga homogen. Campuran sabun ditambahkan aquades hingga 100 g, aduk hingga homogen. Ditambahkan pengaroma jeruk secukupnya aduk hingga homogen. Sediaan sabun mandi cair yang sudah homogen dimasukkan kedalam wadah bersih yang telah disiapkan.





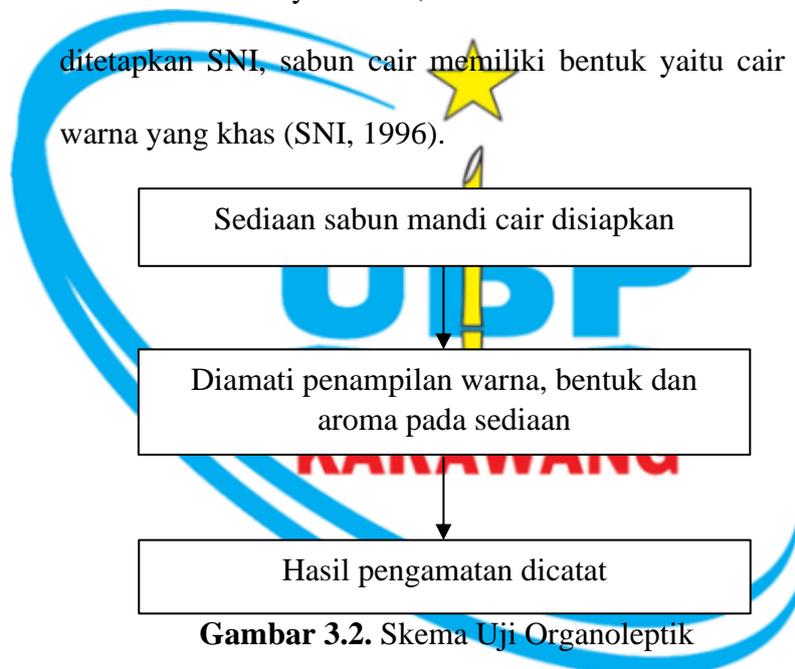
Gambar 3.1. Prosedur Kerja Formulasi Sabun Mandi Cair

3.4.6. Evaluasi Sediaan Sabun Mandi Cair

Uji sifat fisik yang akan dilakukan pada sediaan sabun mandi cair sesuai dengan SNI (1996) diantaranya, uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH, uji stabilitas tinggi busa, uji bobot jenis, uji viskositas.

a. Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan untuk melihat tampilan fisik suatu sediaan diantaranya warna, bentuk dan bau. Menurut standar yang ditetapkan SNI, sabun cair memiliki bentuk yaitu cair serta bau dan warna yang khas (SNI, 1996).



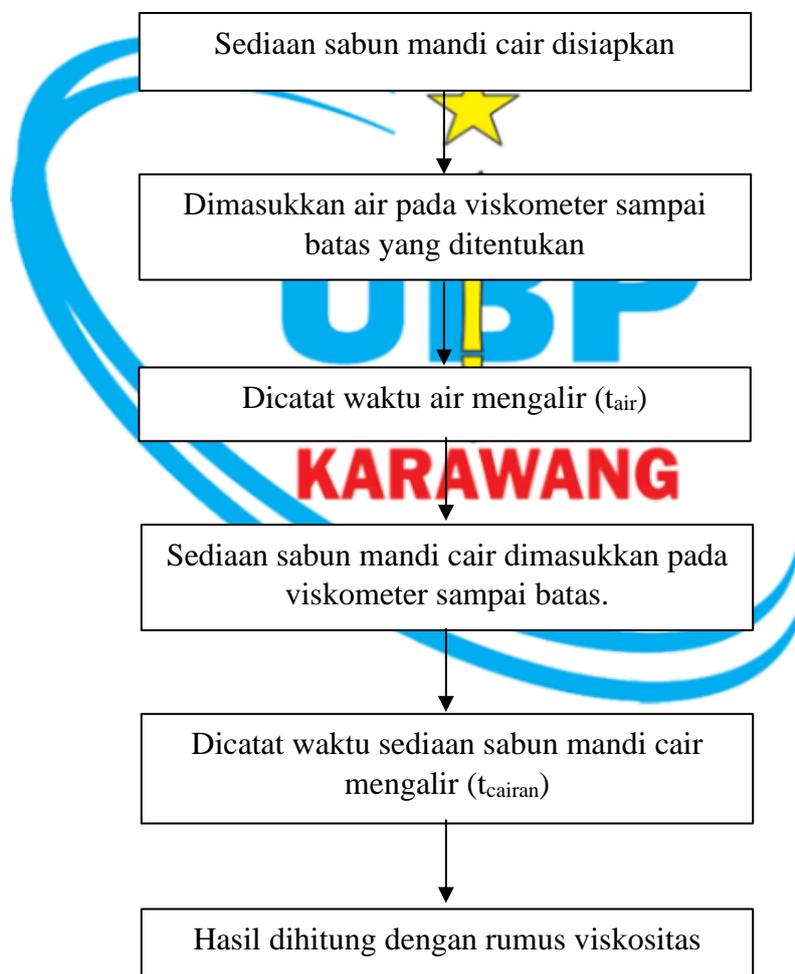
Gambar 3.2. Skema Uji Organoleptik

b. Uji homogenitas

Timbang 0,1 g sampel sabun mandi cair, lalu dioleskan secara merata dan tipis diatas kaca transparan. Komposisi sediaan harus memiliki susunan yang seragam dan tidak ada partikel besar yang terlihat (Cahyaningsih, *et al.*, 2019).

c. Uji Viskositas

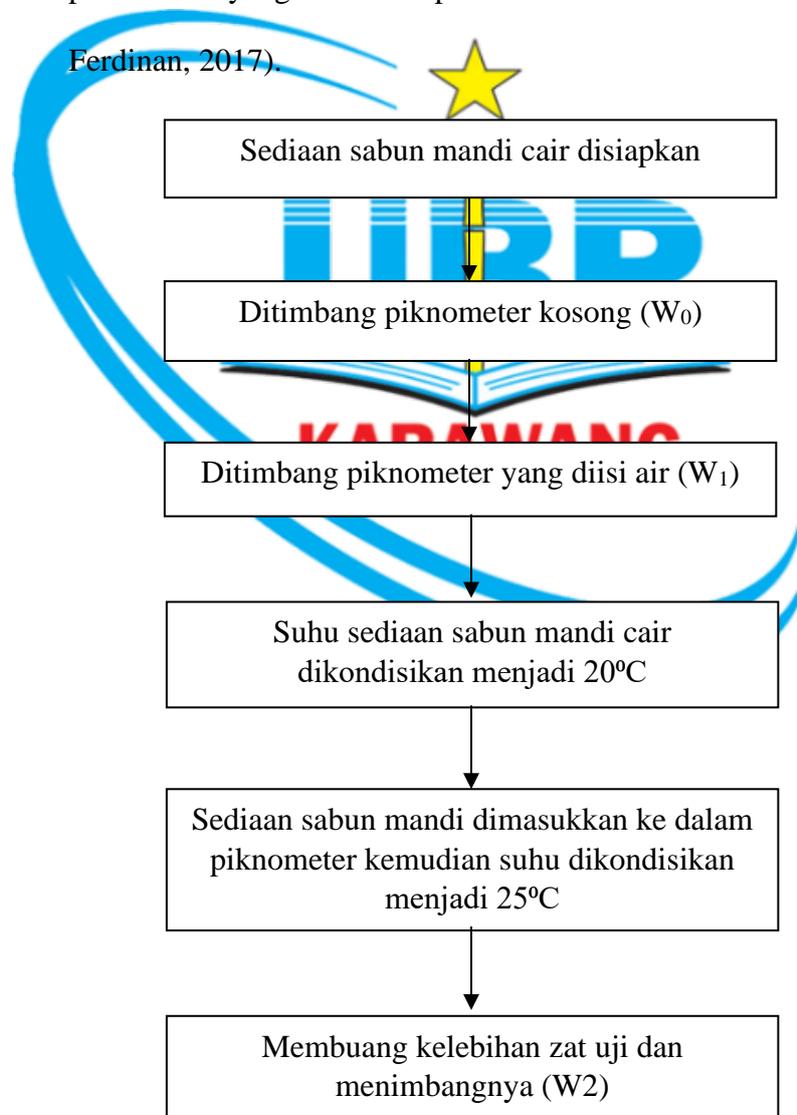
Viskositas sediaan sabun mandi cair diukur dengan menggunakan viskometer lamy rheology menggunakan spindle no. 4 pada kecepatan 3 rpm dan shear rates yang sama dan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Nilai standar sabun cair yang telah ditetapkan oleh SNI yaitu 10000 – 65000 cP (Cahyaningsih *et al.*, 2019).



Gambar 3.3. Skema Uji Viskositas

d. Uji Bobot Jenis

Menurut standar yang telah ditetapkan SNI, standar bobot jenis pada sabun cair yaitu 1,01 – 1,1 g/mL. Berat jenis sabun mandi cair ekstrak biji buah alpukat dilakukan dengan menggunakan piknometer. Ditimbang piknometer kosong dan dicatat beratnya. Piknometer tersebut kemudian diisi air dan ditimbang. Ditempatkan pada piknometer yang sama sampel sabun kemudian ditimbang (Sari dan Ferdinan, 2017).



Gambar 3.4. Skema Uji Bobot Jenis

Rumus bobot jenis:

$$\rho \text{ air} = \frac{W1 - W0}{V \text{ air}}$$

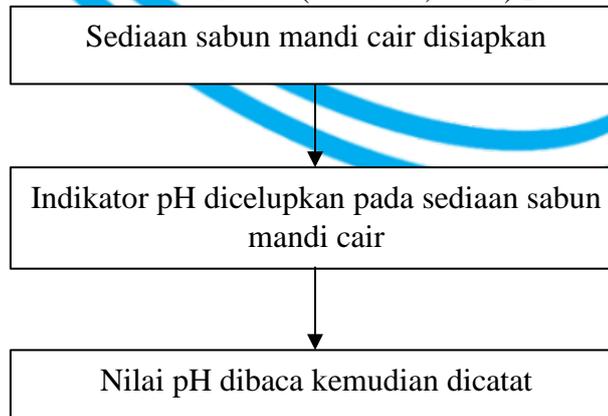
$$\rho \text{ uji} = \frac{W2 - W0}{V \text{ air}}$$

Keterangan:

ρ air : Bobot jenis air
 ρ uji : Bobot jenis zat uji
 W0 : Berat piknometer kosong
 W1 : Berat piknometer + air
 W2 : Berat piknometer + zat uji

e. Uji pH

Uji pH sediaan dilakukan dengan menggunakan pH meter. Metode pengujian pH dilakukan dengan terlebih dahulu memastikan pH meter telah terkalibrasi, kemudian elektroda yang telah dibersihkan dengan aquades dicelupkan ke dalam sampel sabun mandi cair untuk diuji pada suhu ruang. Nilai pH yang ditunjukkan jarum pH meter kemudian dicatat. Menurut SNI, pH sabun mandi cair yang diperbolehkan antara 8 – 11 (Indrasari, 2016).



Gambar 3.5. Skema Uji PH

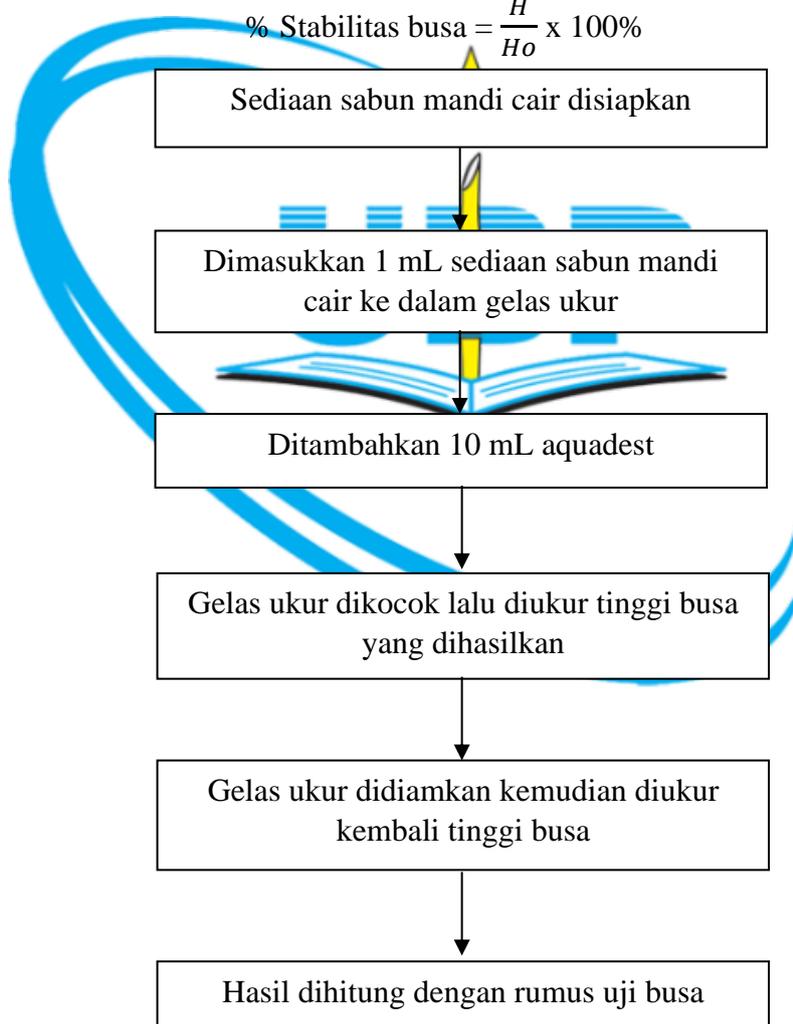
f. Uji Tinggi dan Stabilitas Busa

Uji tinggi dan stabilitas busa dilakukan dengan melarutkan sampel ke dalam air pada gelas ukur. Banyaknya sampel dan air yang

digunakan dicatat. Gelas ukur digoyangkan menggunakan tangan hingga 10 kali. Kemampuan membentuk busa dihitung dengan mengukur tinggi busa dan stabilitas busa diukur dengan menghitung waktu busa mulai hilang. Berdasarkan SNI 16-4085-1996 sabun yang baik memiliki tinggi busa 1,3 – 22 cm (Adibowo *et al.*, 2020).

Gambar 3.6. Skema Uji Tinggi Busa
Rumus uji stabilitas busa:

$$\% \text{ Stabilitas busa} = \frac{H}{H_0} \times 100\%$$



Keterangan

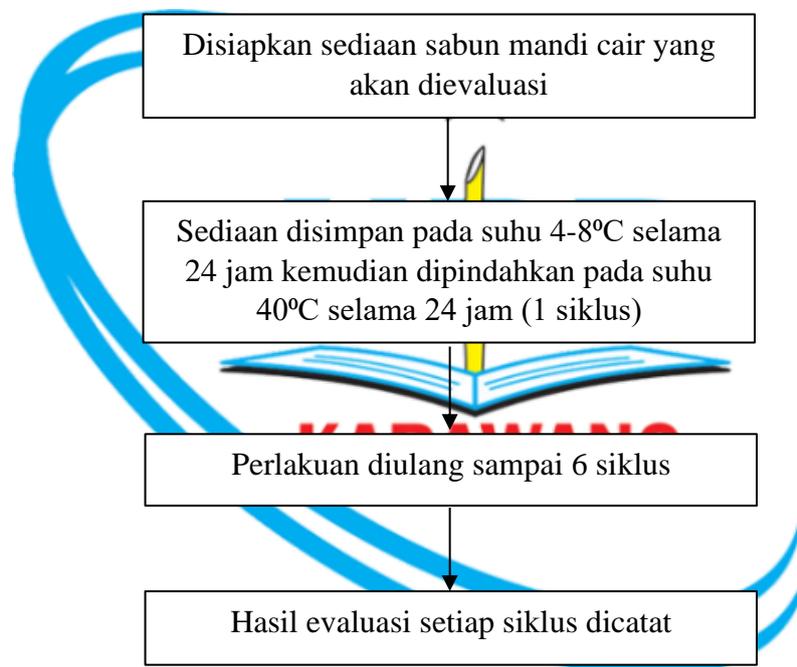
H : tinggi busa setelah 5 menit (cm)

H₀ : tinggi busa awal (cm)

3.4.7. Uji Stabilitas Sediaan

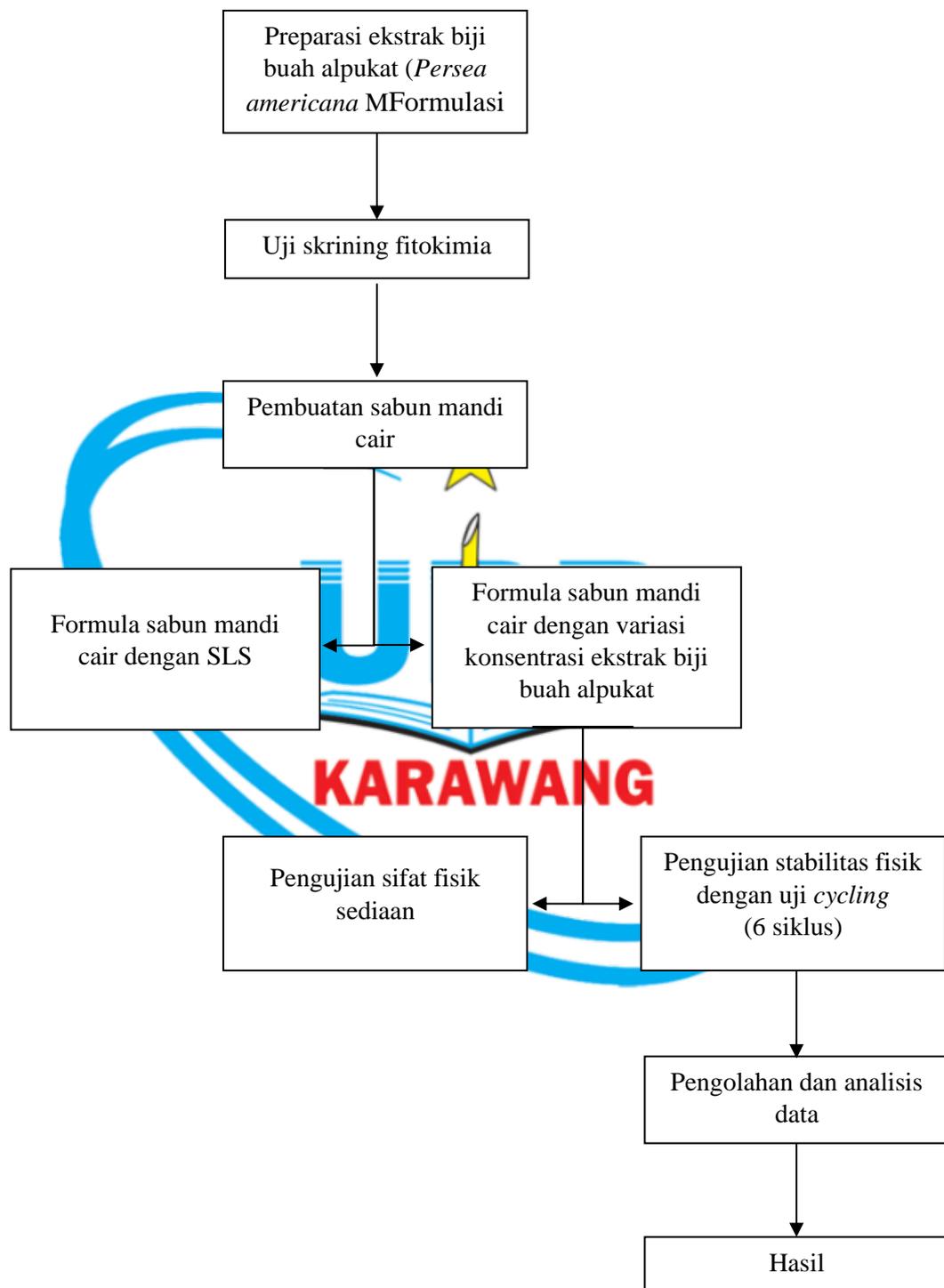
Uji stabilitas yang akan dilakukan ialah uji *cycling* yakni pengujian yang dipercepat dengan menyimpan sediaan pada suhu dingin ($4-8^{\circ}\text{C}$) selama 24 jam lalu dipindahkan kedalam oven yang bersuhu 40°C selama 24 jam. Perlakuan ini adalah satu siklus. Percobaan ini diulang sebanyak enam siklus dan di evaluasi sediaan pada setiap siklus (Suryani *et al.*, 2017).

Gambar 3.7. Skema Uji *Cycling*



3.5. Analisis Data

Data fisik sediaan sabun cair, meliputi uji bobot jenis, uji viskositas dan uji tinggi busa, dan uji *cycling* kemudian diuji statistik menggunakan uji ANOVA satu arah (*one way ANOVA*), apabila ada beda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95%. Data yang telah diolah kemudian ditampilkan dalam bentuk tabel dan grafik.



Gambar 3.8. Diagram Alur Penelitian