

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental yang disebut juga sebagai rancangan percobaan dengan tujuan mengetahui penggunaan ekstrak daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) sebagai bahan aktif dalam formulasi sampo antiketombe dengan konsentrasi F0=0%, F1=5%, F2=10% dan F3=15% dengan dilakukan pengulangan sebanyak 6 kali. Evaluasi sifat fisik yang dilakukan dalam penelitian ini berupa uji organoleptik evaluatif (warna, bau dan tekstur), uji homogenitas, uji asam (pH), uji tinggi busa, uji viskositas, uji antiketombe/uji daya hambat.

B. Subjek Penelitian

Subjek penelitian kali ini adalah sampo cair ekstrak daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) yang dibuat menjadi 4 formula dengan konsentrasi 0% tanpa ekstrak daun binahong (F0), 5% dengan ekstrak daun binahong (F1), 10% dengan ekstrak daun binahong (F2), dan 15% dengan ekstrak daun binahong (F3).

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmasetika Jurusan Farmasi Kementerian Kesehatan Politeknik Kesehatan Tanjungkarang pada bulan April-Mei 2025.

D. Pengumpulan Data

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas standar laboratorium, aluminium foil, ayakan, batang pengaduk, lampu spiritus, cawan

porselin, cawan petri, gelas ukur, corong gelas, erlenmeyer, beaker gelas, tabung reaksi, hot plat, ose bulat, ose jarum, autoklaf, laminar air flow, oven, jangka sorong, pH meter digital, spatula, timbangan analitik, wadah sampo.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian kali ini adalah bagian daun binahong, buah jeruk nipis, decyl glucoside, cocamidoprophyl betaine, Na CMC, asam sitrat, menthol, metil paraben, aquadest, pH digital.

E. Prosedur Kerja Penelitian

1. Determinasi Daun Binahong Merah

Pada penelitian ini, tahap pertama adalah proses determinasi daun binahong merah yang diperoleh dari Unit 2 Tulang Bawang. Determinasi dilakukan di Laboratorium Botani Universitas Lampung.

2. Pembuatan Simplisia Daun Binahong Merah (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) menurut (Ginting dkk, 2021)

- a. Diambil 5 kg daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) yang segar, dilakukan sortasi basah, yaitu memisahkan daun cengkeh dari tanah dan material lain yang tidak diinginkan seperti batang dan tangkai.
- b. Lalu dicuci daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) dengan air bersih yang mengalir untuk menghilangkan kotoran dan debu.
- c. Lalu dipotong daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) menjadi ukuran yang lebih kecil 2-3 cm untuk mempercepat proses pengeringan.
- d. Letakkan daun di atas rak atau anyaman bambu di tempat teduh, tidak langsung terkena sinar matahari, dengan sirkulasi udara yang baik dan ditutupi dengan kain hitam.
- e. Pastikan daun binahong merah benar-benar kering agar tidak mudah berjamur.
- f. Tahap pengolahan selanjutnya adalah sortasi kering, dimana bahan yang rusak atau terkena kotoran dipisahkan dari daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen).

- g. Selanjutnya ditimbang daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) yang sudah kering, simplisia yang didapatkan sebanyak 3 kg.
- h. Kemudian daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) dihaluskan menjadi serbuk kering dengan menggunakan blender dan dihasilkan sebanyak 950g.
- i. Simplisia daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) dapat diolah lebih lanjut menjadi ekstrak.

3. Pembuatan Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen)

Simplisia daun binahong diekstraksi dengan metode maserasi, pelarut yang digunakan adalah etanol 70% dengan perbandingan 1 : 7 (serbuk larutan penyari) yaitu sebanyak 6,3L. Simplisia daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) dimasukkan kedalam wadah bersama dengan etanol 70%. Proses ekstraksi didiamkan selama 3 hari dan sesekali diaduk selama 5 menit tiap 12 jam, selanjutnya dilakukan re maserasi kembali selama 2 hari sebanyak 2,7L etanol 70%. Penyaringan dilakukan dengan kertas saring dan hasilnya disebut filtrat. Setiap filtrat dimasukan ke dalam *rotary evaporator* dengan suhu 40°C. Hasil ekstrak yang didapatkan selanjutnya dimasukkan ke dalam cawan porselen diatas *waterbath* sehingga menjadi ekstrak kental (Marjoni, 2016: 46).

4. Uji Fitokimia Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen)

Uji fitokimia meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, tannin / polifenol, terpenoid dan steroid. Uji ini dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak daun binahong (Amaliya, 2024)

a. Uji Alkaloid

Uji alkaloid dilakukan dengan cara mengambil 5 ml ekstrak daun binahong kemudian di larutkan di cawan petri dan di teteskan 3-4 tettes menggunakan pereaksi mayer (*kaliun tetraidonerkurat* (II)) wagner (*iodin* dalam *kalium iodida*) dan dragendroff (*bismuth nitrat* dalam *kalium iodide*), kemudian di amkan selama 5 menit di dalam tabunreaksi sampel yang mengandung alkaloid akan membentuk endapan jingga hingga sampai kecoklatan dan terbentuk endapan apabila direaksikan dengan masing-masing dari ketiga reagen tersebut (Amaliya, 2024).

b. Uji Flavanoid

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan pereaksi serbuk magnesium (Mg) dan asam klorida pekat (HCl). Dengan cara diambil 5 ml ekstrak daun binahong dilarutkan dicawan petri kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi tambahkan serbuk magnesium (Mg) 0,5 g dan tambahkan asam klorida pekat (HCL) sebanyak 2-3 tetes amati perubahan warnanya menjadi merah jingga.

c. Uji Saponin

Uji 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 positif mengandung saponin.

d. Uji Terpenoid dan Steroid

Uji terpenoid/steroid dilakukan dengan melarutkan sampel dengan pereaksi Lieberman burchard (asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat). Diambil 5 ml kemudian dilarutkan di cawan petri dimasukkan ke dalam tabung reaksi terus diteteskan 3-4 tetes pereaksi lieberman ditunggu diamkan dan amati warna yang berubah menjadi biru kehitaman.

5. Formula Sampo Antiketombe Yang Direncanakan

Formulasi sediaan yang digunakan mengacu pada penelitian sebelumnya yaitu formulasi (Ginting dkk, 2021). Pada penelitian ini dibuat sampo anti ketombe dengan konsentrasi ekstrak daun binahong yang berbeda: 0%, 10%, 15% dan 20%.

Formula sampo anti ketombe dengan (%) adalah sebagai berikut:

Tabel 3.1 Formulasi sediaan sampo cair ekstrak daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) dalam persen.

Bahan	Formula Dalam Persen (%)				FUNGSI
	F0	F1	F2	F3	
Ekstrak Daun Binahong	0	5	10	15	Bahan Aktif
Decyl Glucoside	5	5	5	5	Surfaktan

Cocamidopropyl Betaine	10	10	10	10	Pembusa
Na CMC	3	3	3	3	Pengental, Pengemulsi, dan Penstabil
Asam Sitrat	0,05	0,05	0,05	0,05	pH adjuster
Menthol	0,5	0,5	0,5	0,5	Pendingin
Metil Paraben	0,15	0,15	0,15	0,15	Pengawet
Minyak Jeruk Nipis	qs	qs	qs	qs	Corigen Odoris
Aquades ad	100	100	100	100	Pelarut

Tabel 3.2 Formulasi sediaan sampo cair ekstrak daun binahong merah (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) dalam gram.

Bahan	Formula Dalam Gram (g)				Fungsi
	F0	F1	F2	F3	
Ekstrak Daun Binahong	0	5	10	15	Bahan Aktif
Decyl Glucoside	5	5	5	5	Surfaktan
Cocamidopropyl Betaine	10	10	10	10	Pengemulsi dan Penstabil
Na CMC	3	3	3	3	Pengental, Pengemulsi, dan Penstabil
Asam Sitrat	0,025	0,025	0,025	0,025	pH Adjuster
Menthol	0,50	0,50	0,50	0,50	Pendingin
Metil Paraben	0,15	0,15	0,15	0,15	Pengawet
Minyak Jeruk Nipis	qs	qs	qs	qs	Corigen Odoris
Aquades ad	100	100	100	100	Pelarut

Keterangan:

F0: Formula sampo cair antiketombe tanpa penambahan ekstrak daun binahong

F1: Formula sampo cair antiketombe penambahan ekstrak daun binahong 10%

F2: Formula sampo cair antiketombe penambahan ekstrak daun binahong 15%

F3: Formula sampo cair antiketombe penambahan ekstrak daun binahong 20%

6. Pembuatan sampo cair antiketombe menurut (Ginting dkk, 2021)

a. Disiapkan alat dan bahan.

b. Masukkan Na-CMC yang telah ditimbang dalam air panas.

- c. Biarkan beberapa menit sampai mengembang dan diaduk perlahan (massa 1).
- d. Air yang dipanaskan pada suhu 60-70° C sebanyak 20 ml dimasukkan kedalam beaker glass, kemudian tambahkan *decyl glucoside*, aduk sampai larut (massa 2).
- e. Larutkan menthol dengan etanol 70% secukupnya, aduk sampai larut kemudian tambahkan metil paraben aduk sampai homogen.
- f. Larutan *decyl glucoside* (massa 2) dimasukkan sedikit demi sedikit kedalam (massa 1) sambil diaduk perlahan hingga homogen.
- g. Tambahkan *cocamidopropyl betaine* sedikit demi sedikit, aduk homogen.
- h. Masukkan Asam sitrat sedikit demi sedikit aduk *ad* homogen.
- i. Masukkan larutan campuran (3) kedalam campuran (4), aduk perlahan sampai homogen.
- j. Masukkan minyak jeruk nipis sebanyak *qs* aduk *ad* homogen.
- k. Masukkan rendaman ekstrak daun binahong, dan aduk homogen.
- l. Masukkan kedalam botol 100 ml.
- m. Lalu di *ad* kan hingga tanda batas botol sampo 100 ml.

7. Pengulangan

$$(t-1) (r-1) \geq 15$$

$$(4-1) (r-1) \geq 15$$

$$(3) (r-1) \geq 15$$

$$(r-1) \geq 5$$

$$r \geq 5+1$$

$$r \geq 6$$

Keterangan:

t : Jumlah perlakuan

r : Jumlah pengulangan

F. Pengujian Sediaan Sampo Cair

1. Organoleptik

Uji organoleptik merupakan suatu metode pengujian yang menggunakan indera manusia sebagai alat ukur untuk menilai suatu sediaan. Proses evaluasi

meliputi gambaran warna, aroma dan konsistensi sediaan yang telah disiapkan sebelumnya (Yuniarsih; dkk., 2023:597).

2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas merupakan pengujian untuk mengamati partikel dan keseragaman warna benda uji pada kaca arloji. Sediaan tidak boleh mengandung butiran kasar yang tidak tercampur rata ke dalam sediaan dan komposisi, karena harus homogen (Yuniarsih; dkk., 2023:597).

3. Uji pH

Pengujian pH dilakukan menggunakan pH meter digital dengan cara mengencerkan sampo dengan air suling. Elektroda pH meter dicelupkan ke dalam larutan sampai menunjukkan angka yang konstan (Novia; dkk, 2021).

4. Uji Tinggi Busa

Uji ketinggian busa dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui seberapa banyak surfaktan yang dapat menimbulkan busa. Area busa sangat penting dalam sediaan sampo. Masukkan 0,1 gram sampo ke dalam gelas ukur 20 ml, tambahkan 10 ml air suling dan kocok dalam gelas ukur sambil diputar maju mundur selama 20 detik. Ketinggian busa diamati dan diukur. Ketinggian busa yang dibutuhkan antara 1,3 dan 22 cm (Yuhara, 2024:120).

5. Uji Viskositas

Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer Ostwald. Hal ini ditentukan dengan mengukur waktu yang diperlukan suatu zat untuk melewati dua tanda saat mengalir melalui 7 pipa kapiler dengan gaya yang disebabkan oleh cairan tersebut (Novia; dkk, 2021). Dari segi persyaratan mutu, nilai kekentalan SNI distandarisasi menurut Anonim, 1992, dengan kisaran 400–4000 Cp (Hamida dkk, 2024).

6. Uji Daya Hambat

a. Sterilisasi Alat

Semua peralatan gelas yang sudah disediakan dibungkus dengan aluminium foil agar tahan panas. Isi autoklaf dengan air secukupnya, kemudian

masukan alat yang sudah dibungkus dengan aluminium foil kedalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C (Amaliya, 2024).

1) Sterilisasi basah (Steam sterilization Method)

Metode sterilisasi basah dilakukan dengan menggunakan autoklaf, Contohnya peralatan yang terbuat dari plastik, karet peralatan yang terbuat dari kaca seperti botol kultur, gelas beker dan pipet.

2) Metode sterilisasi kering (Dry sterilization Method)

Metode sterilisasi kering biasanya menggunakan oven laboratorium yang tidak dapat basah dan peralatan yang tidak meleleh, contohnya, peralatan yang terbuat dari kaca (glassware) seperti cawan petri (petridish) pipet, tabung reaksi, botol kultur, peralatan yang terbuat dari logam seperti , gunting, pinset, dan ose .

b. Pembuatan Media Potato Dextrose Agar (PDA)

Pembuatan media agar dilakukan dengan mencampurkan 3,9 g PDA dengan 150 ml akuades dalam erlenmeyer. Medium dipanaskan sambil diaduk sampai mendidih agar tercampur dengan sempurna. Kemudian didiamkan dan disterilkan didalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C (Amaliya, 2024).

c. Uji Efektivitas Antijamur

1) Peremajaan kultur murni jamur

Jamur berupa *Candida albicans* yang berasal dari biakan murni, diambil 1 ose jamur (*Candida albicans*) secara aseptis, kemudian diinokulasi pada PDA miring dengan cara di goreskan di medium potato dextrose agar (PDA) miring dan inkubasi pada suhu ruang 25°C selama 3 x 24 jam (Amaliya, 2024).

2) Pembuatan Suspensi

Jamur *Candida albicans* hasil peremajaan selanjutnya diambil 1 ose kemudian disuspensikan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml NaCl 0,9% steril, kemudian dihomogenkan (Amaliya, 2024).

3) Uji Efektivitas Antijamur

Pengujian daun binahong (*Androdera cordifolia* (Ten.) Steenis). Terhadap jamur uji dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan paper disc. Medium PDA steril dipanaskan sampai suhu 45°C dituang 20 ml kedalam cawan petri steril,

biarkan memadat lalu diinokulasi suspensi *Candida albicans* dengan menggunakan swab steril, kemudian masing-masing paper disc direndam ± 15 Menit dalam suspensi ekstrak dengan konsentrasi 10% b/v, 15% b/v, dan 20% b/v, setelah paper disc diletakkan secara aseptis dengan menggunakan pinset steril pada permukaan medium PDA dalam cawan petri, jarak antara paper disc sekitar 20 mm dari tepi cawan petri, kemudian diinkubasi pada suhu 25°C selama 3 x 24 jam.

Pembuatan Pembacaan daerah hambat dari ekstrak daun binahong dilakukan dengan mengukur diameter kertas cakram dan diameter total di sekitar lubang dengan menggunakan jangka sorong. Data diameter yang diperoleh kemudian dikonversikan ke dalam luas dengan menggunakan rumus luas lingkaran yaitu $L = \pi r^2$, dengan $\pi = 3,14$ dan r (jari-jari) = $\frac{1}{2}$ diameter, sehingga akan diperoleh luas total dan luas sumuran. Luas daerah hambat diperoleh dari luas total dikurangi luas sumuran (Ginting; dkk, 2021).

Zona hambat ditunjukkan dengan adanya area bebas dan digunakan untuk mengetahui kekuatan obat yang diuji sebagai antijamur. Diameter zona hambat mempunyai kategori kekuatan antijamur sebagai berikut: zona hambat 20 mm atau lebih tergolong sangat kuat, zona hambat 11-20 mm tergolong kuat, zona hambat 5-10 mm tergolong sedang dan zona hambat 0-4 mm atau kurang tergolong lemah (Sari & Alamsyah, 2024).

G. Teknik Pengumpulan Data

Pada penelitian ini dilakukan uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji tinggi busa, uji antiketombe, uji viskositas untuk memenuhi persyaratan umum formulasi sampo antiketombe. Pengumpulan data yang dilakukan peneliti meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji tinggi busa, uji viskositas, uji antiketombe/daya hambat.

H. Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

a. *Editing*

Editing merupakan kegiatan untuk pengecekan dan perbaikan isian formulir atau kuesioner (Notoatmodjo, 2010:176). Data yang diperoleh dari observasi diperiksa kembali. Pemeriksaan dilakukan pada semua jalur uji organoleptis, uji homogenitas, uji antiketombe, uji pH, uji viskositas, uji tinggi busa, dan uji iritasi dengan memeriksa kelengkapan data untuk diproses lebih lanjut.

b. *Coding*

Setelah semua kuesioner disunting, selanjutnya dilakukan pengkodean, yakni mengubah data berbentuk kalimat atau huruf menjadi data angka atau bilangan. Pemberian kode sangat berguna dalam memasukkan data (*data entry*) (Notoatmodjo, 2010:177). Misalnya pada data organoleptis warna dilakukan pengkodean yaitu

1 = Tidak berwarna

2 = Putih lemah

3 = Putih

c. *Entrying*

Data yang telah melalui proses *editing* dan *coding* kemudian dimasukkan ke dalam program komputer (Notoatmodjo, 2010:177). Data dimasukkan ke dalam program komputer pengolah tabel dan data disesuaikan dengan kode yang sudah diberikan untuk masing-masing pengujian yang meliputi, uji organoleptis, uji homogenitas, uji antiketombe, uji pH, uji viskositas, uji tinggi busa.

d. Tabulasi

Setelah data dianalisis, hasil yang diperoleh dibuat dalam bentuk tabel. Data dibuat dalam bentuk tabel agar mempermudah dalam menganalisis (Notoatmodjo, 2010:176).

2. Analisis Data

Teknik analisis data dalam penelitian ini menggunakan analisis univariat yaitu, analisis dilakukan terhadap masing-masing variabel dari hasil penelitian. Tujuan penelitian adalah untuk menjelaskan atau mendeskripsikan sifat-sifat dari masing-masing variabel penelitian, meliputi penyajian uji homogenitas, pH, viskositas dan stabilitas (Notoatmodjo, 2010).