

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental yang dilaksanakan di laboratorium dengan membuat formulasi dan mengevaluasi sediaan sampo kombinasi ekstrak seledri dan minyak biji anggur yang dibandingkan emulgator yang di variasikan.

3.2. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian formulasi dilakukan di Laboratorium Bahan Alam dan Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Borneo Lestari Banjarbaru-Kalimantan Selatan pada bulan Februari sampai Juni 2024.

3.3. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi pada penelitian ini ialah seluruh sampo (F1-F6) yang dihasilkan menggunakan formulasi berbagai surfaktan (SLS, CDEA, APG, CAPB) sebagai emulgator.

Sampel yang divariasikan pada penelitian ini ialah surfaktan non ionik (CDEA-APG) yang dibuat sebanyak 100 mL untuk evaluasi fisik, stabilitas sampo dan daya pembersihnya. Sedangkan sampel zat aktif adalah tanaman seledri yang diperoleh dari daerah kelurahan Landasan Ulin Utara,

Banjarbaru, dan minyak biji anggur yang dibeli dari PT. Darjeeling Sembrani Aroma.

3.4. Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian formulasi adalah variasi surfaktan non ionik yang digunakan dalam formulasi sampo kombinasi ekstrak seledri dan minyak biji anggur.

3.4.2. Variable Terikat

Variabel terikat dalam penelitian formulasi adalah stabilitas karakteristik fisik formulasi sampo (meliputi tipe emulsi, organoleptis, pH, homogenitas, dan viskositas, tegangan permukaan, pemisahan fase, dan tinggi busa) dan stabilitasnya, serta kemampuan pembersih sampo.

3.5. Prosedur Penelitian

3.5.1. Alat dan Bahan Penelitian

a. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : alat-alat gelas, objek *glass*, timbangan analitik (*Ohaus*[®]), pH meter (*YY-1030*[®]), *Viscometer Brookfield-LVT* (*AMTEK*[®]), *blender* (*PHILIPS*[®]), wadah maserasi, wadah ekstrak, kertas saring, pipet tetes, *magnetic heated stirrer* (*Thermo Scientific*[®]), *waterbath* (*FAITHFUL*[®]), *stopwatch*, termometer, *rotary evaporator* (*IKRF10*[®]), lemari pendingin (*SHARP*[®]), *sentrifuge* (*GEMMY*[®])

PLC-Series), tabung *centrifuge* (*OneMed*[®]), dan *Tensiometer Du Nouy*.

b. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian formulasi ini adalah : Herba Seledri, minyak biji Anggur (*Darjeeling*[®]), etanol 95%, Sodium Lauril Sulfat (SLS) (*Quadrantlab*[®]), *Cocamide Diethanolamine* (CDEA) (PT. Kao Indonesia Chemicals), Alkil Poliglukosida (APG) (PT. BASF Distribution Indonesia), *Cocamidopropyl Betaine* (CAPB) (CV. Eralika Mitra Persada), Hidroksipropil Metilselulosa (HPMC) (*Quadrantlab*[®]), metil paraben (CV. Eralika Mitra Persada), propil paraben (CV. Eralika Mitra Persada), propilen glikol (CV. Eralika Mitra Persada), TEA (PT. Pandu Medikal Banjarmasin), *aquadest* (PT. Pandu Medikal Banjarmasin), sebum buatan (minyak Zaitun, minyak Kelapa, minyak biji Anggur, Parafin *Wax*/padat (lilin), dan Lanolin), benang wol, karet, Metilen biru.

3.5.2. Alur Penelitian

a. Determinasi Tumbuhan

Tumbuhan seledri dideterminasi di laboratorium dasar FMIPA Universitas Lambung Mangkurat.

b. Preparasi Sampel

1. Pengolahan Simplisia Seledri

Tahap ini meliputi pengumpulan sampel, yakni herba seledri sebanyak 2,5 kg, yang dipilih secara acak berdasarkan kesegarannya. Pengolahan bahan baku dilakukan dengan pencucian menggunakan air mengalir, sortasi basah antara herba seledri dengan akar dan zat pengotor lain, cuci kembali dengan bersih, lalu dilakukan perajangan herba menjadi potongan kecil, di keringkan di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam atau oven sampai kering. Herba yang sudah kering disortasi kering dari pengotor yang terbawa saat pengeringan, kemudian dihaluskan dengan *blender* sampai menjadi serbuk simplisia, jika perlu ayak dengan ayakan nomor 40 (Ittiqo, *et al.*, 2022; Kurdiansyah, *et al.*, 2022).

$$\% \text{ Rendemen Simplisia} = \frac{\text{Bobot Simplisia Kering}}{\text{Bobot Simplisia Segar}} \times 100\%$$

Penelitian yang dilakukan Yasir & Nofita (2020), menyebutkan 2 kg daun seledri segar yang diolah menjadi simplisia menghasilkan 870 gram simplisia halus dengan menggunakan ayakan 50 mesh.

2. Ekstraksi Seledri

Tahap ini meliputi perendaman serbuk simplisia sebanyak 200 g menggunakan cairan penyari etanol 96% dengan perbandingan 1 : 10, dengan beberapa kali pengadukan pada

temperatur ruang (kamar) dalam wadah tertutup rapat. Simplisia di remaserasi beberapa kali hingga pelarut hampir bening. Hasil maserasi disaring, ekstrak cair yang diperoleh selanjutnya diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 45-50°C sampai ekstrak cukup kental dan dilanjutkan pemekatan di *waterbath* sampai diperoleh ekstrak kental pekat (Lianah, 2021; Ittiqo, *et al.*, 2022). Ekstrak kental ditimbang sampai bobot tetap dan dihitung rendemennya dengan rumus berikut:

$$\% \text{ Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Bobot Total Ekstrak}}{\text{Bobot Total Serbuk}} \times 100\%$$

Penelitian Ittiqo *et al.* (2022), menyebutkan hasil dari ekstraksi maserasi 100 g simplisia daun seledri dengan etanol 96% menghasilkan ekstrak sebesar 42,71 g dengan 42,71% rendemen.

c. Pembuatan Sebum Buatan

Sebum asli pada manusia mengandung 32% trigliserida, 25% *wax ester*, 27% asam lemak bebas, 6% sterol, dan 10% *squalene* (Gerhardt, *et al.*, 2009). Namun, karena belum adanya formulasi standar atau acuan pasti untuk pembuatan sebum buatan, sehingga berdasarkan kandungan bahan di atas formulasi sebum buatan disederhanakan dengan bahan yang memiliki kandungan serupa yakni menjadi minyak Zaitun 25%, minyak Kelapa 25%, minyak biji Anggur 25%, parafin padat 15%, dan Lanolin 10% yang dibuat menjadi 500 mL. Adapun pembuatan sebum buatan

dengan cara memanaskan parafin padat dan lanolin dalam gelas beker di atas *stirer* 10 menit sampai suhu 60°C, setelah mulai melebur tambahkan ketiga minyak dan di aduk konstan hingga tercampur homogen. Selanjutnya larutan didiamkan selama 15 menit pada suhu ruangan, lalu disimpan dalam wadah tertutup kedap (Azizi, *et al.*, 2019).

d. Formulasi Sediaan Sampo

Tabel 5. Formulasi sampo kombinasi ekstrak seledri dan minyak biji anggur dengan variasi emulgator

Komposisi Bahan	Fungsi	Formulasi (%)						Range (%)
		F1	F2	F3	F4	F5	F6	
Ekstrak Seledri	Zat Aktif	10	10	10	10	10	10	
Biji Anggur (oil)	Zat Aktif	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
SLS	Surfaktan	10	10	10	10	10	10	≈10
CDEA	Surfaktan	7	8,5	10				≈10
APG	Surfaktan				10	15	20	10-25
CAPB	Surfaktan	1	1	1	1	1	1	0,2–25
HPMC	Pengental	1	1	1	1	1	1	0.25-1
Metil paraben	Pengawet	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0.02–0.3
Propil paraben	Pengawet	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0.01–0.6
Propilen glikol	Humektan	15	15	15	15	15	15	≈15
TEA	pH <i>adjusters</i>	qs*	qs*	qs*	qs*	qs*	qs*	
<i>Fragrance</i>	Pewangi	qs*	qs*	qs*	qs*	qs*	qs*	
<i>Aquadest</i>	Pelarut	Ad 100ml	Ad 100ml	Ad 100ml	Ad 100ml	Ad 100ml	Ad 100ml	

Keterangan :

*qs TEA = dapat digunakan 1 %

*qs *Fragrance* = <2%

e. Pembuatan Sampo

Disiapkan alat dan timbang semua bahan yang akan digunakan sesuai dengan perhitungan pada lampiran 9. Dipisahkan fase minyak dan fase air. Fase minyak dibuat dengan cara melarutkan propil paraben dalam minyak biji anggur diaduk dengan pemanasan dalam gelas beker diatas *hot-plate* (Campuran 1). HPMC dikembangkan dengan *aquadest* panas sampai massa semisolid (Campuran 2). Di wadah lain metil paraben dilarutkan dalam Propilen glikol (Campuran 3). larutkan sedikit demi sedikit SLS dengan 20 mL *aquadest* panas disuhu 60-70°C (Campuran 4). Tambahkan surfaktan non ionik (CDEA untuk Formula 1-3 dan APG untuk Formula 4-6) sedikit demi sedikit pada (Campuran 4) dan di aduk sampai homogen (Campuran 5). Campurkan 3 dan 5 sedikit demi sedikit dan aduk perlahan untuk mencegah terbentuk busa berlebih (Campuran 6). Setelah homogen tambahkan CAPB dengan sedikit *aquadest* sedikit demi sedikit dalam (Campuran 6) aduk perlahan hingga larut sempurna.

Kemudian fase minyak dituang ke dalam fase air diikuti ekstrak seledri dituangkan sedikit demi sedikit sambil di aduk berselang (di aduk selama 1 menit istirahat 20 detik) (Campuran 7), lalu tambahkan pengaroma dan aduk konstan 250-rpm dengan *magnetic stirrer* sampai terbentuk emulsi pada suhu ruang (Campuran 8). Lalu cek pH, bila perlu sesuaikan pH 5-9 dengan

penambahan Trietanolamin (TEA) 1%, jika sudah sesuai tambahkan sisa *aquadest* dan diaduk hingga homogen sampai dingin, diamkan sampai busa berkurang lalu kemas. Setiap formula dengan variasi emulgator (surfaktan non ionik CDEA dan APG) dibuat dengan cara yang sama (Maisaroh, 2020; Izzah, 2022).

f. Evaluasi Fisik Sampo

Evaluasi yang dilakukan untuk menguji karakteristik fisik sediaan sampo adalah sebagai berikut :

1) Uji organoleptis

Dilakukan dengan pengamatan oleh peneliti berupa tampilan fisik dari warna yang diharapkan hijau/coklat pucat (tidak jauh berbeda dengan hasil ekstrak), aroma yang khas, dan tekstur/konsistensi sampo yang diharapkan kental.

2) Uji pH

Pengujian menggunakan pH meter, 10 mL sampo dilarutkan dengan 100 mL *aquadest* di dalam gelas beaker, setelah itu mencelupkan elektrode ke dalam sampo yang diencerkan, dan mencatat angka pH yang tertera pada monitor pH meter. Dalam standar nasional Indonesia (1992), pH sampo berkisar di antara 5-9, rentang ini aman untuk kulit kepala dan dapat diterima untuk menghindari iritasi (Sari, *et al.*, 2021). Pengujian ini bertujuan

mengetahui kesesuaian pH yang aman ketika sampo bercampur dengan air dan berkontak langsung di kulit kepala.

3) Uji Homogenitas

Sediaan sampo diamati apakah terdispersi secara merata atau tidak dengan mengocok sediaan sampo lalu mengamatinya sediaan secara mikroskopis dan makroskopis menggunakan kaca preparat. Kemudian dilihat apakah terdapat partikel yang tidak terdispersi secara merata atau tidak seperti adanya partikel kasar / tidak homogen (Rahmayanti, *et al.*, 2023).

4) Uji Tipe Emulsi

Uji untuk menentukan tipe emulsi menggunakan metode pewarnaan larut air (m/a) menggunakan Metilen biru, dengan cara sediaan (0,5 gram emulsi) diletakkan di atas gelas objek/kaca arloji lalu ditetesi 1-2 tetes Metilen biru kemudian diaduk hingga homogen. Jika larut (emulsi berwarna biru secara merata) ketika diaduk maka memiliki tipe minyak dalam air (M/A), jika tidak larut maka memiliki tipe air dalam minyak (A/M) (Cahaya, *et al.*, 2022; Hayati & Balqis, 2020; Rahmayanti, *et al.*, 2023).

5) Uji Viskositas

Viskositas memengaruhi keefektifan dan keefisienan sampo untuk mengalir. Pengukuran viskositas sediaan dilakukan menggunakan *Viscometer Brookfield* pada suhu kamar. 100 mL Sediaan dimasukkan ke dalam beaker glass, kemudian *spindle* no

4 diturunkan hingga batas *spindle* tercelup ke dalam formulasi. Selanjutnya nyalakan alat, atur kecepatan *spindle* berturut-turut 0,3, 0,6, 1,5, 3, 6, 12, 30, 60 rpm. Pengukuran dengan perbedaan rpm, skala dibaca sampai stabil dari seluruh kecepatan yang ada. Pembacaan optimal dinyatakan pada rpm yang sama terbaca semua. Nilai viskositas dihitung dari nilai dial terbaca dikali dengan faktor pengkali nomor *spindle* (Hidayat, *et al.*, 2021).

6) Tegangan Permukaan

Pengukuran tegangan permukaan sampo dilakukan menggunakan Tensiometer *Du Nouy*. Prinsip dari metode ini adalah gaya yang diperlukan untuk melepaskan cincin yang dicelupkan sebanding dengan tegangan permukaan atau antarmuka dari cairan tersebut berdasarkan tingkat konsentrasinya pada titik CMC (konsentrasi kritis misel), dari titik CMC tersebut hingga kenaikan konsentrasi berikutnya yakni hingga tegangan permukaan tidak akan turun lagi (Lubis, *et al.*, 2019).

Perlakuannya adalah dengan menyiapkan 30 ml sampo dalam cawan. Kemudian cawan tersebut diletakkan pada meja pengukuran. Meja pengukuran dinaikkan dengan perlahan sampai cincin melayang berada ditengah cairan, lalu dikunci. Cairan dibiarkan sebentar untuk membiarkan permukaan terbentuk (Lubis, *et al.*, 2019).

Sekrup penurun meja pengukuran diputar dan dipertahankan agar penunjuk tetap terletak di antara bagian hitam dari cakram tanda, sementara sekrup pada penunjuk skala diputar searah dengan putaran jarum jam sampai cincin terlepas dari permukaan larutan. Skala yang ditunjukkan pada alat dicatat. Salah satu kriteria sampo yang baik adalah dapat menurunkan tegangan permukaan air dari 78 dyne/cm menjadi 40 dyne/cm pada rentang konsentrasi 0,1-0,2%, atau maksimum mempunyai tegangan permukaan 27-46 dyne/cm pada konsentrasi 1% (Lubis, *et al.*, 2019).

7) Uji Pemisahan Fase

Pengujian pemisahan fase ini dilakukan dengan cara sampel diambil sebanyak 5 mL kemudian dimasukkan ke dalam tabung *sentrifuge* lalu di *sentrifuge* dengan kecepatan 2500 rpm dalam waktu 15 menit. Setelah itu alat sentrifugasi dimatikan, emulsi diamati dan dicatat pemisahannya (Mirawati, 2012).

8) Uji Tinggi dan Stabilitas Busa

Sebanyak 0,1 g sampo dilarutkan dalam 10 mL air. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditutup dan dikocok sebanyak 10x atau selama 20 detik dengan cara membalikkan tabung reaksi secara beraturan. Kemudian diukur tinggi busa yang terbentuk dengan penggaris (Hidayat, *et al.*, 2021; Sari, *et al.*, 2021). Fauziah, *et al* (2021) melakukan 2 kali

pencatatan yakni tinggi busa awal yang terbentuk (t_0) dan tinggi busa setelah 20 menit (t_{20}). perbandingan busa dihitung pada waktu t terhadap waktu 0 (Fauziah, *et al.*, 2021). Syarat tinggi busa yang digunakan dalam penelitian Hidayat, *et al.* (2021) dan Sari, *et al.* (2021) adalah 1.3-22 cm. Tinggi busa di uji untuk mengetahui kemampuan surfaktan dalam membentuk busa supaya dapat mempertahankan sampo pada rambut. Adapun perhitungan stabilitas menurut Agustina (2017) adalah sebagai berikut:

$$\% \text{ Stabilitas busa} = \frac{\text{Tinggi Busa Akhir}}{\text{Tinggi Busa Awal}} \times 100\%$$

g. Evaluasi Stabilitas Sampo

Evaluasi stabilitas karakteristik fisik sediaan sampo dilakukan menggunakan uji *cycling test* (penyimpanan dipercepat) sebanyak 6 siklus (12 hari) pada masing-masing formula. Pada proses ini umumnya sediaan disimpan pada suhu dingin atau rendah 4°C selama 24 jam dalam kulkas lalu dipindahkan ke dalam oven pada suhu tinggi 40°C selama 24 jam, proses ini dihitung sebagai satu siklus *cycling test*. Pengamatan sifat fisik sediaan dilakukan sebelum dan sesudah penyimpanan menggunakan metode ini (Sari, *et al.*, 2021). Namun pada pengujian kali ini dicukupkan pada suhu dingin 4°C dan suhu kamar 20-25°C ± 2°C untuk mengetahui bagaimana stabilitas sampo ketika disimpan sehari-hari diluar suhu penyimpanan ekstrim. Adapun pengamatan yang dilakukan setelah penyimpanan dipercepat diantaranya :

1) Uji Organoleptis, pH, dan Homogenitas

Dilakukan seperti pada uji karakteristik fisik sampo dengan memeriksa tampilan fisik dari sediaan meliputi warna, aroma, dan tekstur/konsistensi di cek perubahannya dari evaluasi sampo sebelumnya. Uji pH dilakukan menggunakan pH meter di cek perubahannya. Homogenitas sediaan sampo diamati apakah terdispersi secara merata atau tidak dengan cara mengocok sediaan sampo lalu mengamatinya.

2) Uji Viskositas

Pengukuran viskositas dilakukan setelah uji stabilitas menggunakan *Viscometer Brookfield* pada suhu kamar seperti di awal sebelum uji stabilitas pada uji karakteristik fisik sampo (Jusnita & Syah, 2017).

3) Uji Tegangan Permukaan

Dilakukan setelah uji stabilitas seperti pada uji karakteristik fisik sampo menggunakan Tensiometer *Du Nouy*.

4) Uji Pemisahan Fase

Pemisahan fase kembali diuji dengan cara serupa pada uji karakteristik fisik sampo yakni 5 mL sampel dalam tabung di *sentrifuge* dengan kecepatan 2500 rpm dalam waktu 15 menit. Hasil pemisahan emulsi diamati dan dicatat pemisahannya.

5) Uji Tinggi dan Stabilitas Busa

Dilakukan seperti pada uji karakteristik fisik sampo 0,1g/10mL sampel dalam tabung reaksi, ditutup dan dikocok sebanyak 10x atau selama 20 detik. Kemudian diukur tinggi busa yang terbentuk dengan penggaris.

h. Evaluasi Kemampuan Pembersih

Pengujian daya pembersih sampo dilakukan dengan cara menimbang benang wol sebanyak 5 gram, lalu di celupkan dalam sebum buatan dan ditimbang berat totalnya, setelah itu di ikat dengan karet. Selanjutnya benang wol di rendam dalam larutan 200 mL air berisi 1 gram sampo pada gelas *beaker* 500 mL, kemudian aduk selama 4 menit dengan kecepatan 50 pengadukan per menit. Kemudian bilas perlahan, keringkan, dan timbang kembali benang wol tersebut. Pengerjaan dilakukan 3 kali untuk setiap sampel, persentase kotoran yang dibersihkan dihitung (Sari, *et al.*, 2021). Sari, *et al.* (2021) menyebutkan sampo yang beredar dipasaran memiliki standar daya bersih sekitar 18%-23%. Namun menurut Pravitasari *et al* (2021), syarat kemampuan pembersihan sampo yang baik berada pada rentang 18-30%. Adapun rumus perhitungan tersebut sebagai berikut :

$$DP = \frac{T}{C} \times 100\% \text{ atau } 100(1-T/C)$$

Keterangan:

DP: % daya detergensi (pembersih),

C: berat sebum pada sampel kontrol (berat sebum pada benang),

T: berat sebum pada sampel uji (berat sisa sebum pada benang).

3.6. Analisis Data

Data dalam penelitian formulasi adalah hasil observasi dan dokumentasi eksperimen berupa pemberian perlakuan variasi pada sampel terhadap hasil evaluasi. Data yang diperoleh dari evaluasi fisik sediaan meliputi organoleptis, homogenitas, tipe emulsi, dan hasil pemisahan fase disajikan secara deskriptif. Sedangkan data hasil penelitian seperti uji pH, tegangan permukaan, stabilitas tinggi busa, dan viskositas, serta uji daya pembersih dilakukan secara statistik menggunakan perangkat lunak SPSS versi 24. Data di analisis dengan metode *shapiro-wilk* untuk menentukan normalitas dan homogenitas data. Jika data tidak normal maupun homogen maka di uji non parametrik menggunakan *wilcoxon*.

Jika terdistribusi normal di uji dengan ANOVA (*Analysis of Variance*) pada taraf nyata 5%, kemudian uji T-test untuk mengetahui pengaruh variabel emulgator terhadap hasil evaluasi. Untuk melihat hasil signifikansi dari uji *cycling test* maka di uji menggunakan metode *t-paired test* terhadap parameter uji sifat fisik (Sari, *et al.*, 2021). Formula optimum sampo yang di peroleh dari hasil pengamatan, serta analisa SPSS dari hasil uji stabilitas dan kemampuan pembersih yang memenuhi syarat evaluasi sediaan sampo. Sediaan dengan hasil yang paling memenuhi persyaratan merupakan sampo optimal.