**BAB III**

**METODE PENELITIAN**

* 1. **Rancanganpenelitian**

Penelitianiniadalah*True Experimental* dan rancanganpenelitian yang digunakanyaitumetode*Posttest Only Control Grup Design* Dimana hasilpenelitiandiamatisetelahperlakuanselesai. Penelitianinimeliputipembuatansimplisia, pembuatanekstrak, pembuatan nano ekstrak, pengujianskriningfitokimia, pembuatan shampoo nano ekstrak, evaluasimutufisik shampoo nano ekstrak dan antivitasantiketombe shampoo nanopartikelekstrakbonggol nanas terhadapjaumur*Malaseziafufur.*

* 1. **1. VarianbelPenelitian**

Pada penelitianiniterdapat dua variabelyaituvariabelbebas dan variabelterikat. Variabelbebasdalampenelitianiniadalahsimplisiabonggol nanas, ekstrakbonggol nanas dan nano partikelbonggol nanas *(Ananas comosus*(L) *Merr)* sertavariasikonsentrasinanopartikelekstrakbonggol nanas dalamsedian shampoo. Pada variabelterikatdalampenelitianinidilakukankarakterisasifisiksimplisiabonggol nanas, senyawametabolitsekunder, karakterisasinanopartikelekstrakbonggol nanas *(Ananas comosus)* karakterisasimutufisiksedian shampoo nanopartikelekstrakbonggol nanas dan aktivitasantiketombesedian shampoo nanopartikelekstrakbonggol nanas.

* + 1. **Parameter Penelitian**

Parameter penelitian yang dilakukanadalahsebagaiberikut :

1. Parameter simplisiabonggol nanas: makroskopik, mikroskopik, penetapankadar air, penetapankadar sari larutdalam air, penentapankadar sari larutdalametanol, penetapankadarabu total dan penetapankadarabutidaklarutasam.
2. Parameter skriningfitokimiaekstrakbonggol nanas: senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, steroid, dan glokosida.
3. Parameter karakterisasinanopartikelekstrakbonggol nanas: ukuranpartikel dan morfologi nano partikel.
4. Parameter karakterisasimutufisiksedian shampoo nano ekstrakbonggol nanas: organoleptis, uji pH, viskositas, kadar air, dayabersih, tinggibusa.
5. Parameter aktivitasantiketombe: diameter dayahambatterhadapjamur*Malasezia furfur.*
   1. **Jadwal dan Lokasi Penelitian**
      1. **Jadwal Penelitian**

waktupenelitianakandilaksanakan pada bulanDesembersampai Mei 2024.

* + 1. **Lokasi Penelitian**

Pembuatansimplisia, ekstraksi, skriningfitokimiadilakukan di LaboratoriunmBotani, formulasisedian shampoo dilakukan di LaboratoriumFarmasetik, karakterisasimutufisiksedian shampoo dan *Ultarasonic Homogenizer*dilakukan pada Laboratorium Kimia. Pengujiandayahambat shampoo antiketobeterhadapjamurdilakukakan di LaboratoriumMikrobiologi, Universitas Muslim Nusantara Al-wasliyah Medan. Pengujianukurannanopartikelakandilakukan di Laboratorium Nanomedicine Universitas Sumatra Utara.

* 1. **Bahan**

Bahan yang digukakan pada penelitianiniadalahekstrakbonggol nanas, hidroksiletilselulosa (Thylocell), TEA (DIY chemicals), propilenglikol (Tritunggalkimia), metil paraben (golden era), propil paraben (golden era), Na2EDTA (Rofa), SLS (texapon), *pineapple oil*(aromindo naturals)*,* aquadest.

* 1. **Alat**

Peralatan yang digunakan pada penelitianiniadalah*Homogenizer* (thermos scientific), Ultrasonic (18-one), mikroskop, objek glass, cawan petri (pyrex), alat-alatgelas (pyrex), pipet tetes, blender (Philips), raktabung, nercaanalitik (vernier), penangas air*, hot plate* (thermo scientific) ,lampu Bunsen, kawatose, pH meter (Lutron), cawanpenguap (pyrex), jangkasorong (taffware), PSA (Fritsch).

* 1. **Pengumpulan dan Pembuatan Sampel**
     1. **Pengumpulan Sampel Tumbuhan**

Sampel yang digunakandalampenelitianiniadalabonggol nanas *(Ananas comosus)*, yang didapatkandari salah satupenjualrujakdidaerahmedan. Metode pengambilansampeldilakukandengancara Purposive. Sampel diambildarisatudaerah dan tidakmembandingkandengandaerah lain.

* + 1. **PenyiapanSimplisiaBonggol Nanas**

Bonggol nanas *(Ananas comosus)* masing-masing dicucidengan air mengalir, laluditiriskan dan dipotong tipis kemudianditimbangsebagaiberatbasah. Lalu dikeringkandengan oven pada suhu 40-50℃. Kemudiandilakukansortasiuntukmemisahkankotoran dan bendaasing. Bonggol nanas yang sudahkeringditimbang dan dihaluskanmenggunakan blender dan dimasukkankedalamwadah yang tertutup (Fitri,2020).

* 1. **KarakterisasiSimplisia**
     1. **PemeriksaanMakroskopik**

pemeriksaanmakroskopikdilakukanterhadapsimplisiabonggol nanas *(Anana comosus)*denganmemperhatikanwarna, bau, bentuk, dan ukuran.

* + 1. **PemeriksaanMikroskopik**

Pemeriksaanmikroskopik pada serbuksimplisiabonggol nanas dengancaraserbuksimplisiabonggol nanas diletakkandiatasobjek glass, dan ditetesidenganklorohidratditutupdengan cover glass, lakukanviksasisampaijernihkemudiandiamatidibawahmikroskop (Depkes RI, 1989).

* + 1. **Penetapan Kadar air**

Penetapankadar air dilakukandenganmetodeazeotropi (destilasi toluene). Alat terdiridarilabu alas bulat 500 mL, alatpenampung dan pendingin, tabungpenyambung dan penerima 10 mL.

1. Penjenuhan toluene

Sebanyak 200 mL aquadestdimasukkankedalamlabu alas bulat, dipasangalatpenampung dan pendingin, kemudiandidestilasiselama 2 jam. Destilasidihentikan dan dibiarkandinginselama 30 menit, kemudiaan volume air dalamtabungpenerimadibacadenganketelitian 0,05 mL.

2. Penetapankadar air simplisia

Sebanyak 5g serbuksimplisia yang telahditimbang, dimasukkankedalamlabu alas bulat yang berisi toluene yang telahdijenuhkan, laludipanaskanhati-hatiselama 15 menit. Setelahtoluenmendidih, kecepatantetesandiatur 2 tetes perdetiksampai Sebagian besar air terdestilasi, kemudiankecepatandestilasididaikkanmenjadi 4 tetes perdetik. Setelahsemua air terdestilasi, bagiandalampendingindibilasdengantoluen. Destilasidilanjutkanselama 5 menit, kemudiantabungpenerimatabungdibairkanmendingin pada suhukamar. Setelah air dan toluenmemisahsempurna, volume air dibacadenganketelitian 0,05 mL.selisihkedua volume air yang dibacasesuaidengankandungan air yang terdapatdalambahan yang diperikasa. Kadar air dihitungdalampersen (v/b) (Depkes RI, 1989).

Kadar Air

* + 1. **Penetapankadar Sari Larut Dalam Air**

Sebanyak 5g serbuksimplisiadimaserasidengan 100 mL kloroform p (2,5 mL kloroformdalam 100 mL aquadest) selama 24 jam menggunakanlabutersumbatsambilsesekalidikocokselama 6 jam pertama dan kemudiandibiarkanselama 18 jam, disaring dan kemudian 20 mL filtratdiuapkansampaikeringdalamcawanpenguapkemudiandipanaskan pada suhu 105℃ dan ditimbanghinggadiperolehbobottetap. Kadar sari larutdalam air dihitungdalampersenterhadapbahan yang telahdikeringkandiudara(Depkes RI, 1989).

Kadar Sari Larut Dalam Air

* + 1. **Penetapan Kadar Sari Larut Dalam Etanol**

Sebanyak 5g serbuksimplisiadimaserasiselam 24 jam dengan 100 mL etanol (96%) dalamlabutersumbatsambilsesekalidiadukselama 6 jam pertamakemudiandibiarkan 18 jam. Lalu disaringuntukmenghindaripenguapanetanol, kemudiandiuapkan 20 mL filtrathinggakeringdalamcawanpenguapkemudiandipanaskan pada suhi 105℃ hinggadiperolehbobottetap. Kadar dalampersen sari yang larutdalametanol 96% dihitungterhadapbahan yang telahdikeringkandiudara(Depkes RI, 1989).

Kadar Sari Larut Dalam Etanol

* + 1. **Penetapan Kadar Abu Total**

Sebanyak 2g serbuksimplisiaditimbang, laludimasukkankedalamkrusporselin yang telahdipijarkan dan ditara (ditimbangsampaibobottetap) kemudiankrusdipijar. Pemijarandilakukan pada suhu 600℃ selama 3 jam laludidinginkan dan ditimbanghinggadiperolehbobottetap. Kadar abudihitungterhadapbahan yang telahdikeringkan(Depkes RI, 1989).

Kadar Abu Total

* + 1. **Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam**

Abu yang telahdiperolehdaripenetapankadarabu total, didinginkandengan 25 mL asamkloridaencer, diadukselama 5 menit, bagian yang tidaklarutasamdikumpulkan, disaringdengankertassaringbebasabu, kemudiandicucidengan air panas, residu dan kertassaringdipijar pada suhu 600℃ selama 3 jam kemudiandidinginkan dan ditimbanghinggadiperolehbobottetap. Kadar abutidaklarutasamdihitungterhadapbahan yang telahdikeringkandiudara(Depkes RI, 1989).

Kadar Abu Tidak Larut Asam =

* 1. **PembuatanEkstrakBonggol Nanas**

Metode yang digunakanuntukmendapatkanekstrakbonggol nanas adalahmaserasidenganmenggunakanpelarutetanol 96%. Serbuksimplisiasebanyak 10 bagian (500g) dimasukkankedalambenjanakemudiandituangkan 75 bagian (3750 mL) cairanpenyarietanollaluditutupsambilsesekalidiaduk dan dibiarkanselama 5 hariampasnyadiperas. Kemudianampasnyadicucidengancairanpenyarietanolsecukupnyahinggadiperoleh 100 bagian (5liter) maserat. Kemudianmaseratdipindahkankebejanatertutup, dibiarkanditempatsejuk, terlindungdari Cahaya matahariselama 2 hari dan disaring. Maseratlaludipekatkandengan rotary evaporator laluditimbang (Depkes RI, 1979).

% Rendemen =

* 1. **PembuatanNanopartikelEkstrakBonggol Nanas**

Ekstrakbonggol nanas diadukdenganhogenizerdengankecepatan 1.700 rpm selama3jam. Kemudiandimasukkankedalam ultrasonic homogenizer selam 1 jam.

* 1. **PembuatanLarutanPereaksi**
     1. **LarutanPereaksiBouchardat**

Sebanyak4 gram kalium iodide dilarutkandalam 20 mL aquadest, kemudianditambahkansedikit demi sedikit 2 gram iodium dan dicukupkandenganaquadesthingga 100 mL (Depkes RI, 1989).

* + 1. **LarutanPereaksi Mayer**

Sebanyak1,36 gramraksa (II) kloridadilarutkandalam 60 mL aquadest, pada wadah yang lain ditimbangsebnyak 5 gram kalium iodide laludilarutkandalam 10 mL aquadest. Lalu kedualarutantersebutdicampurkan dan ditambahaquadesthingga 100 mL (Depkes RI, 1989)

* + 1. **LarutanPereaksiDragendorff**

Sebanyak 8 gram bismuth (II) nitratditimbang ,kemudiandilarutkandalam 20 mL asamnitratpekat. Pada wadah lain ditimbang27,2 gram kalium iodide laludilarutkandalam 50 ml aquadest. Kemudiankedualarutandicampurkan dan diencerkandenganaquadesthingga 100 mL (Depkes RI, 1989).

* + 1. **LarutanPereaksiMolish**

Sebanyak3 gram alfa-naftolditambahbeberapa tetes etanolkemudiandilarutkandalamasamnitrat 0,4 N hingga 100 mL (Depkes RI, 1989).

* + 1. **LarutanPereaksiasamklorida 2N**

Sebanyak 17 mL asamkloridapekatdiencerkandenganaquadesthingga 100 mL (Depkes RI, 1989).

* + 1. **LarutanPereaksi Liberman-burchard**

Sebanyak 20 bagianasamasetatanhidratdicampurkandengan 1 bagianasamsulfatpekat dan 50 bagiankloroform. Larutanpereaksiharusdibuatbaru (Harborne,1987).

* + 1. **LarutanPereaksiBesi (III) Klorida**

Sebanyak1 grambesi (III) kloridadilarutkandenganaqudesthingga 100 mL (Depkes RI, 1989).

* + 1. **LarutanPereaksi Timbal (II) Asetat 0,4 M**

Sebanyak15,17 gram timbal (II) asetatdilarutkandalamaquadestbebaskarbondioksidahingga 100 mL(Depkes RI, 1989).

* 1. **SkriningFitikimiaEkastrak dan NanopartikelEkstrakBonggol Nanas**
     1. **Pemeriksaan Alkaloid**

Ekstrakditimbangsebanyak 0,5g kemudianditambahkan 1 mL asamklorida dan 9 mL aquadest, dipanaskanselama 2 menit, dinginkanlaludisaring. Filtratdipakaiuntukpercobaanberikut:

1. Diambil 3 tetes filtrat, laluditambah 2 tetes pereaksimayer, reaksipositifditandaidenganterbentuknyaendapanberwarnaputihataukuning.
2. Diambil 3 tetes filtrat, laluditambahkan 2 tetes pereaksibouchardat, reaksipositifditandaidenganterbentuknyaendapanberwarnacoklatsampaihitam.
3. Diambil 3 tetes filtrat, laluditambahkan 2 tetes pereaksidragendorff, reaksipositifmenunjukkanadanyaendapanwarnamerahataujingga.

Alkaloid dinyatakanpositifjikaterbentukendapan pada percobaan paling sedikit 2 atau 3 perlakuan. Perlakuandiulangiterhadapnanoekstrakbonggol nanas(Depkes RI, 1995).

* + 1. **PemeriksaanFlavanoid**

Ekstrak10 gramditimbangkemudianditambah 100 mL air panas, didihkanselama 5 menit dan disaringdalamkeadaanpanas, filtrat yang diperolehdiambil 5 mL laluditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 1mL HCl pekat dan 2mL amil alcohol, dikocok, dan dibiarkanmemisah. Jika positif flavonoid akanterbentukwarnamerah, kuning, jingga pada lapisan amil alcohol. Perlakuandiulangi pada nanoekstrakbonggol nanas(Depkes RI, 1995).

* + 1. **Pemeriksaan Tanin**

Ekstrakditimbang 0,5g, sampeldisaridengan 10 mL aquadest, lalufiltratnyadiencerkandenganaquadestsampaitidakberwarna. Diambil 2 mL larutanlaluditambhkan 1-2 tetes perekasibesi (III) klorida. Terbentuknyawarnabiruatauhijaukehitamanmenunjukkanadanya tannin. Perlakuandiulngi pada nanoekstrakbonggol nanas (Depkes RI, 1995).

* + 1. **Pemeriksaan Saponin**

Ekstrakditimbangsebanyak 0,5g, sampeldimasukkandalamtabungreaksi dan ditambahkanaquadestpanassebanyak 10 mL, didinginkankemudiandikocokkuat-kuatselama 10 detik, timbulbusaataubuih yang mantaptidakkurang 10 menitsetinggi 1-10 cm. Ditambah 1 tetes larutan HCl 2N, jikabusatidakhilangmenunjukkanadanya saponin. Perlakuandiulangi pada nanoekstrakbonggol nanas (Depkes RI, 1995).

* + 1. **Pemeriksaan Steroid**

Ekstrakditimbangsebanyak 1g, sampeldimaserasidengan 20mL n-heksanselama 2 jam, laludisaring. Filtratdiuapkandalamcawanpenguap. Sisanyaditambahkan 2 tetes asamasetatanihidrat dan 1 tetes asamsulfatpekat. Terjadinyawarnaungumenunjukkanadanya triterpenoid atauwarnahijaumenunjukkanadanya steroid. Perlakuandiulangiterhadapnanoekstrakbonggol nanas(Depkes RI, 1995).

* + 1. **PemeriksaanGlokisida**

Ekstrakditimbangsebanyak 3g, kemudiandisaridengan 30mL campuran 7mL bagianetanol 96% dan 3 bagianaquadestditambahdengan 10mL HCl 2N. direfluksselama 30 menit, didinginkan dan disaring. Diambil 20ml filtratditambah 25mL aquadest dan 25mL timbal (II) asetat 0,4M, dikocok, laludidiamkanselama 5 menit dan disaring. Filtratdisaridengan 20 mL campuran 3 bagiankloroform dan 2 bagian isopropanol dilakukanberulangsebanyak 3 kali. Kumpulkan sari air laludiuapkan pada temperaturtidaklebihdari 50℃. Sisanyadilarutkandalam 2mL air dan 5 tetes pereksimolish. Kemudiansecaraperlahanditambahkan 2mL asamsulfatpekatmemaluidindingtabung, jikaterbentukcincinungu pada batas keduacairanmenunjukkanadanyaglikosida. Perlakuaandiulangiterhadapnanoekstrakbonggol nanas (Depkes RI, 1995).

* 1. **KarakterisasiNanopartikelEkstrakBonggol Nanas**
     1. **Uji UkuranPartikel**

Pengukuranpartikelnanoekstrakbonggol nanas dilakukandengandilihatmenggunakanalat*Partikel Size Analizer* (PSA). Masukkan sampelkedalamkuvethinggaterisipenuh, lalututup cover sensor. Atur suhu 25℃ denganmenekat Temperature pada panel display. Secaraotomatisalatakanmengukurbesarnyaukuranpartikelsebanyakenam kali pengukuran. Hasil akankeluardipanel display membentukgrafik (Destiyana,2018).

* 1. **Sterilisasi Alat**

Alat-alat yang digunakandalam uji aktivitasantijamur, terlebihdahuludisterilkansebelumdipakai. Alat-alatgelasdisterilkandengan oven pada suhu 170℃ selama 1 jam. Media disterilkandiotoklaf pada suhu 121℃ selam 15 menit. Jarum ose dan pinset yang digunakandisterilakanmenggunakanlampu Bunsen.

* 1. **Identifikasi Jamur**

Identifikasijamurdilakukandenganpewarnaan, denganmeneteskan 1 tetes aquadest pada kacaobjek. Lalu ambiljamurdenganmenggunakankawatose, letakkanjamurdiataskacaobjek yang telahditetesiaquadest. Jamur kemudiandifiksasidiatas Bunsen yang menyalasampaikering. Kemudiandiberi 1 atau 2 tetes *lactophenol cotton blue*, laludifiksasi Kembali. Tutupkacaobjekdengankacapenutup. Kemudiandiamatidibawahmikroskopdenganperbesaran 40X (H. Vebriani et al., 2023).

* 1. **Uji AktivitasAntijamurEkstarakBonggol Nanas Terhadap Jamur*Malasezia furfur***

Uji aktivitasantijamurekstrakbonggol nanas terhadapjamur*Malasezia furfur* sebagaibertujuanuntukmenunjukkanhasil optimal sebagaiantiketombe(Yusuf et al., 2020).

* + 1. **Pembuatan Media**

Media yang digunakanyaitu PDA *(Potato Dextrose Agar)*dengankomposisi :

*Potato starch* 4,0 g

*Dextrose* 20 g

*Agar* 15 g

Ditimbangsebanyak 39 g sebuk potato dextrose agar kemudiandimasukkankedalam1000 ml aquadest, dipanaskandiatas hot plate sambilterusdiaduksampaihomogenhinggamendidih. Erlenmeyer disumbatdengankapaskemudiandisterilkandenganmenggunakanautoklaf pada suhu 121℃ selama 15 menit(Yusuf et al., 2020).

* + 1. **PembuatanLarutan NaCl 0,9 %**

Komposisi :

Natrium klorida 0,9 g

Aquadest ad 100 mL

Natrium kloridaditimbangsebanyak0,9 gramlaludilarutkandenganaquadeststerilsedikit demi sedikitsampailarutsempurnadalamlabutakar 100 mL.ditambahkanaquadeststerilsampaitanda batas, dimasukkandalam Erlenmeyer steril yang tertutuplaludisterilkandenganautoklafdengansuhu 121℃ tekanan 1 atm selama 15 menit(Yusuf et al., 2020).

* + 1. **Kultur Jamur**

Kultur jamur*Malasezia furfur*menggunakanmetedo ,pengkulturandilakukan pada mejakerja yang sudahdisterilkandenganalkohol 70% dan semuaalat yang dipakaiuntuk kultur jamurtelahdisterilkan. Jamur diambildenganjarumosesterilkemudianditanam pada media PDA dengancaramenggoreskansecara zig-zag diataspermuakanmediaun,. Lalu diinkubasi pada suhu 25℃ selama 48 jam dan didapatkankolonijamur(Yusuf et al., 2020).

* + 1. **PembuatanSuspensi Jamur**

Diambilbiakanjamurdari media agar miring kemudiandisuspensikandengan 10 ml NaCl 0,9%. Lalu dicampur dan diataurkekeruhannyasamadenganlarutan*Mc Farland*

* + 1. **PembuatanKontrolPositifKetokonazol 2%**

Ketokonazolditimbangsebanyak0,2 g kemudiandilarutkandenganaqadeststerilsebanyak 10 ml dilarutkanhinggalarut dan tercampursempurna (Yusuf et al., 2020).

* + 1. **PembuatanKontrolNegatif**

kontrolnegatif yang digunakan pada pengujianantijamurekstrakbonggol nanas yaitu DMSO

* + 1. **PengujianAktivitasAntijamur**

Tabungreaksi yang berisi media *Potato dextrose Agar* (PDA) sebanyak 15 ml. selanjutnyadituangkan media pada masing-masing cawan petri steril, kemudiandidiamkanselamabeberapamenithingga media padat. Suspenseijamurdiambildenganmenggunakan cotton swab laludigoreskan pada permukaanmediaum. Kemudiandicelupkankertascakramdenganberbagaikonsentrasi, yaitu3,125%, 6,25%, 12,5%, 25% dan 50%,kontrolpositifketokonazol 2% dan kontrolnegatif DMSO setelahitudiletakkandiatas medium. Diamati zona hambatdenganmenggunakanjangkasorong(Yusuf et al., 2020).

* 1. **PembuatanSedian Shampo**
     1. **Formulasi Shampo**

Formulasishampoacuan yang dipilih pada pembuatansedianshampoadalah formula dasar (Jusnita dan Riska,2017) dapatdilihat pada Tabel 3.1 berikut.

**Tabel 3.1.**Komposisi Formula AcuanShampo

|  |  |
| --- | --- |
| **Formula** | **Komposisi (b/v)** |
| Hidroksietilcelulosa | 0,9 |
| Sodium lauril sulfate | 9 |
| TEA | 1 |
| Propilenglikol | 15 |
| Nipagin | 0,18 |
| Nipasol | 0,02 |
| Na2EDTA | 0,1 |
| Aquadest | ad 100 |

Berdasarkanformulasiacuansedianshampodiatasdiformulasikansedianshampodenganmenambahkanekstrakbonggol nanas dan nanoekstrakbonggolnans *(Ananas comosus)* sebagaibahanaktifantijamurpenyebabketombedenganberbagaikonsentrasiyaitu 12,5% dan 1,25%. Berdasarkanhasildayahambatpengujianekstrakbonggol nanas yaitu 12,5% termasukkatagori zona hambatkuat.

**Tabel 3.2**. Formulasi Modifikasi Shampo Antiketombe Dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak dan Nanopartikel Ekstrak bonggol Nanas (Ananas comosus (L.) Merr)

| **Bahan** | **Formula (b/v)** | | | | | **Fungsi** | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **F0** | **F1** | **F2** | **F3** |  | |
| Ekstarakbonggol nanas (g) | - | 12,5 | - | - | Zataktif | |
| Nanoekatrakbonggol nanas (g) | - | - | 1,25 | 1,25 | Zataktif | |
| Hidroksietilcelulosa (g) | 1,05 | 1,05 | 1,05 | 1,05 | Emulgator | |
| Sodium laurilsulfat (g) | 6 | 6 | 6 | 6 | Surfaktan | |
| Trietanolamin (ml) | 1 | 1 | 1 | 1 | Penstabil pH | |
| Propilenglikol (ml) | 15 | 15 | 15 | 15 | Humektan | |
| Metil paraben (g) | 0,18 | 0,18 | 0,18 | 0,18 | Pengawet | |
| Propil paraben (g) | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,02 | Pengawet | |
| Na2EDTA (g) | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | Pengkelat | |
| Pineapple oil (ml) | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | Pewangi | |
| Aquadestad | 100 | 100 | 100 | 100 | Pelarut | |

Keterangan :

F0 : Blanko

F1 : Formula shampodenganekstrakkonsentrasi 12,5%

F2 :Formulasi Shampo dengannanoekstrak 1,25%

F3 :Formulasisediaan nano shampodengannanoekstrak 1,25%

* + 1. **Pembuatan Shampo Ekstrak dan NanopatikelEkstrakBonggol Nanas**

Adapun carapembutansedianshampoadalahsebagaiberikut.

1. Pada pembuatansedianshampodengannanoekstrakyaitu, metil paraben dan propil paraben dilarutkandenganpropilenglikol, Na2EDTA dilarutkandenganaquadest, Larutkan SLS dalam air panas. Hidroksietilselulosadimasukkankedalam beaker yang telahberisiaquadestpanasdiatas hot plate pada suhu 60℃ kemudiandiadukdengan magnetic stirerdengankecepatan 300 rpm, setelah HEC mengentaldimasukkandimasukkanbahan yang telahdilarutkansecaraperlahan, laluditambahkanekstrakbonggol nanas trietanolamin dan pineapple oil, diaduksampaihomogen. Cukupkandenganaquadestsampai 100ml (Jusnita & Syah, 2017).
2. Pada pembuatan nano sedianshampodengannanoekstrakyaitu, metil paraben dan propil paraben dilarutkandenganpropilenglikol, Na2EDTA dilarutkandenganaquadest, Larutkan SLS dalam air panas. Hidroksietilselulosadimasukkankedalam beaker yang telahberisiaquadestpanasdiatas hot plate pada suhu 60℃ kemudiandiadukdengan magnetic stirerdengankecepatn 300 rpm, setelah HEC mengentaldimasukkandimasukkanbahan yang telahdilarutkansecaraperlahan, lalulditambahkanekstrakbonggol nanas trietanolamin dan pineapple oil, diaduksampaihomogen. Cukupkandenganaquadestsampai 100ml (Jusnita & Syah, 2017).Kemuadiansedianshampodihomogenizerdengankecepatan 700rpm.
   1. **EvaluasiFisikSedian Shampo**
      1. **PengujianOrganoleptis**

Pengamatanorganoletisdilakukandenganmengamatiperubahan pada bentuk, bau dan warnaformulasishamponanopartikelekstrakbonggol nanas denganberbagaikonsentrasi(Asjur et al., 2022).

* + 1. **Uji pH**

Timbang 10 gramshampo, larutkandalam 100 mL aquadest dan diukur pH menggunakan pH meter. Shampo yang baikmemilikinilai pH antara 5,0- 9,0(Asjur et al., 2022).

* + 1. **Uji Viskositas**

Pengukuranviskositasmenggunakan viscometer dengan spindle 4. Lalu diatur spindle dengankecepatan 50 rpm. Lalu akanterbacaviskositasshampo. Viskositas yang baik 400-4000cps (Asjur et al., 2022).

* + 1. **Uji Tinggi Busa**

Shampo ditimbangsebanyak0,1 gramdilarutkandalam 10 ml aquadest. Kemudiandimasukkankedalamtabungreaksi, ditutup dan dikocokdengancaramembalikkantabungreaksisecaraberaturanselam 20 detik. Lalu diukurtinggibusa, setelah 5 menitdiukur Kembali tinggibusa(Lestari et al., 2020).

* + 1. **Uji Kadar Air**

Sampel ditimbangasebanyak1 gram pada cawan petri yang telahdiketahui masa awalnya. Cawan petri yang berisisampeldipanaskanmenggunkan oven dengansuhu 103-105℃ selama 24 jam, selanjutnyadilakukanpendinginan pada desikator dan ditimbang. Setelahdingin, sampeldipanaskan Kembali selama 2 jam dan ditimbang. Langkah inilakukansampaiberat yang konstan(Lestari et al., 2020).

* + 1. **Uji Daya Bersih**

Pemeriksaandayapembersihmenggunakanpotonganrambut yang telahdibersihkanditimbangsebanyak ± 5 gramdengan Panjang ± 7 cm, laludiikat dan dibiarkanrambutselama 3-4 hariditempatterbuka, selanjutnyadilakukanpenimbangan Kembali. Air 200 mL dimasukkankedalam beaker glass 500 mL ditambahkan1 gramshampo dan diaduksampaihomogen. Potonganrambut yang sudahkotordimasukkankedalam beaker glass yang berisilarutanshampo, adukselama 4 menit. Potonganrambutdiambilmenggunakanpinset dan dibilasdenganair bersihsedikit demi sedikit. Kemudianpotonganrambutdikeringkanmenggunakanpengeringrambut dan dilakukanpenimbangan Kembali. Dilakukanberulang pada tiapformulasi(Lubis et al., 2019).

* 1. **Uji AktivitasSedian Shampo Ekstrak dan NanopartikelEkstrakBonggol Nanas SebagaiAntiketombe**

Tabungreaksi yang berisi media *Potato dextrose Agar* (PDA) sebanyak 15 ml. selanjutnyadituangkan media pada masing-masing cawan petri steril, kemudiandidiamkanselamabeberapamenithingga media padat. Suspenseijamurdiambildenganmenggunakan cotton swab laludigoreskan pada permukaanmediaum. Kemudiandicelupkankertascakram pada sedianshampoekstrakbonggol nanas, sedianshamponanopartikelekstrakbonggol nanas dan sedianshamponanopartikelekstrakbonggol nanas, kontrolpositifketokonazol 2% dan kontrolnegatif DMSO, shamposalsundigunakansebagaipembanding, setelahitudiletakkandiatas medium. Diamati zona hambatdenganmenggunakanjangkasorong(Yusuf et al., 2020).