

BAB III METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah sediaan pewarna rambut menggunakan zat warna alami ekstrak kayu secang yang mengandung hidrogen peroksida.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan pewarna rambut menggunakan zat warna alami ekstrak kayu secang dengan berbagai variasi konsentrasi hidrogen peroksida.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah hidrogen peroksida sebagai bahan pengoksidasi rambut pada sediaan krim pewarna rambut.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah ekstrak kayu secang sebagai bahan pewarna alami pada sediaan krim pewarna rambut.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini diklasifikasikan menjadi variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkontrol.

Variabel bebas adalah faktor yang dianggap menentukan variabel lainnya. Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu variasi konsentrasi hidrogen peroksida sebagai zat pengoksidasi dalam sediaan krim pewarna rambut.

Variabel tergantung dalam penelitian ini yaitu mutu fisik, intensitas warna dan keamanan sediaan krim pewarna rambut.

Variabel terkontrol dalam penelitian ini yaitu kondisi fisik peneliti, cara pembuatan, kondisi laboratorium, waktu pengamatan, kondisi tanaman, waktu panen dan umur tanaman.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, hidrogen peroksida adalah zat pengoksidasi yang berguna untuk mengubah warna, memudahkan warna dan mempertegas warna yang diinginkan.

Kedua, pewarna rambut oksidatif demipermanen adalah pewarna rambut yang terdiri atas kombinasi zat pengoksidasi dan agen pengalkali dengan variasi konsentrasi hidrogen peroksida sebagai zat pengoksidasi.

Ketiga, krim pewarna rambut adalah sediaan pewarna rambut yang digunakan pada tatarias rambut untuk mewarnai rambut dalam bentuk krim menggunakan pewarna alami ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) yang dibuat dengan variasi konsentrasi hidrogen peroksida.

Keempat, kayu secang adalah bagian batang berkayu dari secang (*Caesalpinia sappan L.*) yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Jawa Tengah.

Kelima, ekstrak kayu secang adalah ekstrak yang dihasilkan dari penyarian dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai terbentuk ekstrak pekat.

Keenam, evaluasi mutu fisik adalah parameter yang digunakan untuk mengetahui kualitas sediaan krim pewarna rambut dengan melakukan uji organoleptis, uji viskositas, uji pH, uji daya sebar, uji daya lekat yang dilakukan terhadap tiap formula sebelum dan setelah dilakukan penyimpanan dipercepat menggunakan metode *cycling test*.

Ketujuh, evaluasi warna rambut adalah parameter yang digunakan untuk mengetahui intensitas dan stabilitas warna yang dihasilkan dengan melakukan pengamatan warna rambut yang dihasilkan dan pengamatan stabilitas warna melalui uji stabilitas warna terhadap pecucian dan stabilitas warna terhadap sinar matahari.

Kedelapan, evaluasi keamanan adalah parameter yang digunakan untuk menyatakan keamanan krim pewarna rambut melalui uji biologis atau uji iritasi.

Kesembilan, rambut yang diputihkan adalah rambut yang telah dihilangkan pigmen warnanya menggunakan bahan pemutih rambut yang kemudian digunakan dalam uji pewarnaan rambut menggunakan sediaan krim pewarna rambut dari ekstrak kayu secang dengan variasi konsentrasi hidrogen peroksida.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi serta pengujian simplisia dan ekstrak adalah alat-alat kaca, timbangan analitik, buret, oven, *rotary evaporator*, mesh nomor 60, *blender*, botol maserasi, *water bath*, *moisture balance*.

Alat-alat yang digunakan untuk pembuatan dan evaluasi sediaan pewarna rambut adalah alat-alat kaca, pH meter, viskometer *Brookfield*, *water bath*, objek *glass*, alat uji daya lekat, ekstensometer.

1. Bahan

2.1 Bahan pewarna rambut. Bahan pewarna rambut yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Jawa Tengah; Setil alkohol; Setostearil alkohol; Natrium benzoat; Disodium EDTA; Propilen glikol; Trietanolamin.

2.2 Bahan basis pewarna rambut. Bahan basis pewarna rambut yang digunakan dalam penelitian ini adalah hidrogen peroksida 50%; Setil alkohol; Setostearil alkohol; Disodium EDTA; Sodium lauril sulfat; Asam asetat; Propilen glikol; Asam benzoat.

2.3 Bahan uji. Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah plaster tahan air, aluminium *foil*, *cotton buds*, pemutih rambut merek Miranda, sampo, rambut hitam dan rambut yang telah diputihkan (rambut yang dihilangkan pigmen warnanya).

Sampel rambut yang digunakan dalam uji hedonik adalah potongan rambut yang diwarnai menggunakan sediaan krim pewarna rambut dari ekstrak kayu secang F1, F2, F3 dan F4.

D. Jalannya Penelitian

1. Pengambilan sampel

Simplisia kayu secang diambil secara acak dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Jawa Tengah dalam keadaan kering.

2. Identifikasi kayu secang

2.1. Identifikasi makroskopis. Identifikasi makroskopis kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) dilakukan dengan cara mencocokkan makroskopi kayu dengan ciri makroskopis simplisia kayu pada monografi *Caesalpinia sappan L.* menurut Materia Medika Indonesia edisi I.

2.2. Identifikasi mikroskopis. Identifikasi mikroskopis dilakukan dengan melihat serbuk kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) menggunakan bantuan alat mikroskopis kemudian dicocokkan dengan ciri mikroskopis simplisia kayu pada monografi *Caesalpinia sappan L.* menurut Materia Medika Indonesia edisi I.

3. Pembuatan serbuk simplisia kayu secang

Simplisia kayu secang dikeringkan kembali dengan alat pengering (oven) pada suhu 40°C sampai kering, setelah kering diserbuk dan diayak menggunakan ayakan nomor 60.

4. Pembuatan ekstrak kayu secang

Sebanyak 500 gram serbuk simplisia kayu secang diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan 5 liter etanol 96% di dalam bejana, ditutup dan dibiarkan selama 3 x 24 jam sambil sering diaduk. Kemudian disaring dengan kertas saring, filtrat ditampung. Filtrat kemudian diuapkan dengan bantuan alat *rotary evaporator* pada temperatur 50-55°C sampai terbentuk ekstrak pekat (Indrawati *et al.* 2016).

5. Identifikasi serbuk kayu secang

5.1. Pemeriksaan organoleptis. Pemeriksaan organoleptis terhadap serbuk kayu secang dilakukan dengan mengamati bentuk, warna dan bau serbuk.

5.2. Penetapan susut pengeringan. Penetapan susut pengeringan serbuk kayu secang dilakukan dengan menggunakan alat *moisture balance*. Serbuk kayu secang ditimbang 2 gram, kemudian dimasukkan alat *moisture balance* pada suhu 105°C dan ditunggu hingga pemanasan selesai. Nilai susut pengeringan dinyatakan dalam satuan persen yang tertera pada *moisture balance*.

6. Identifikasi ekstrak kayu secang

6.1. Pemeriksaan organoleptis. Pemeriksaan organoleptis terhadap ekstrak kayu secang dilakukan dengan mengamati bentuk, warna dan bau ekstrak.

6.2. Penetapan susut pengeringan. Ekstrak kayu secang ditimbang seksama 2,00 g pada *pan* aluminium yang telah disediakan pada alat *moisture balance*, kemudian dilakukan pemanasan sampel pada suhu 105°C dan ditunggu hingga pemanasan selesai, lalu catat hasil yang tertera pada *moisture balance* (Setyawati 2018).

6.3. Penetapan kadar air. Ditimbang lebih kurang 10,0 gram ekstrak kayu secang dan dimasukkan ke dalam labu kering, kemudian ditambahkan 200 mL toluen jenuh air ke dalam labu, dipasang rangkaian alat. Toluene jenuh air dimasukkan ke dalam tabung penerima melalui pendingin sampai leher alat penampung. Labu dipanaskan hati-hati selama 15 menit. Setelah toluene mulai mendidih, kecepatan penyulingan diatur kurang lebih 2 tetes tiap detik, hingga sebagian besar air tersuling. Penyulingan dilanjutkan selama 5 menit. Tabung penerima didinginkan hingga suhu kamar. Setelah air dan toluene memisah sempurna, dibaca volume air. Dihitung kadar air dalam % v / b (Depkes RI 2000).

6.4. Penetapan bobot jenis. Berat jenis ekstrak ditentukan terhadap hasil pengenceran ekstrak sebesar 5% dalam pelarut air. Digunakan piknometer bersih, kering dan telah dikalibrasi dengan menetapkan bobot piknometer dan bobot air yang baru mendidih pada suhu 25°C. Diatur hingga suhu ekstrak cair lebih kurang 20°C, dimasukkan ke dalam piknometer. Diatur suhu piknometer yang telah diisi hingga suhu 25°C, dibuang kelebihan ekstrak cair kayu secang dan ditimbang. Dikurangkan bobot piknometer kosong dari bobot piknometer yang telah diisi. Bobot jenis ekstrak cair kayu secang adalah hasil yang diperoleh dengan membagi bobot ekstrak dengan bobot air, dalam piknometer pada suhu 25°C (Depkes RI 2000).

6.5. Uji bebas etanol. Uji bebas etanol ekstrak kayu secang dilakukan dengan cara esterifikasi etanol. Pengujian dilakukan dengan cara diambil 1 gram ekstrak kayu secang kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan 1 ml asam asetat dan 1 ml asam sulfat pekat lalu dihomogenkan dan dipanaskan diatas bunsen, atas tabung ditutup kapas. Uji positif bebas etanol jika tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol (Praeparandi 1979).

7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak kayu secang

7.1. Identifikasi flavonoid. Sebanyak 1 gram ekstrak dipanaskan dalam 100 ml aquadest dan dididihkan selama 15 menit dan disaring. Sebanyak 5 ml filtrat ditambah serbuk magnesium, HCl pekat dan amil alkohol kemudian dikocok. Hasil positif flavonoid menunjukkan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Farnsworth 1996).

7.2. Identifikasi tanin. Sebanyak 1 gram ekstrak kayu secang dididihkan selama 3 menit dalam 10 ml air suling lalu didinginkan dan disaring. Filtrat diencerkan sampai hampir tidak berwarna, lalu ditambahkan 1-2 tetes pereaksi Besi (III) klorida, jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Harborne 1987).

7.3. Identifikasi saponin. Sebanyak 0,5 g ekstrak kayu secang dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan dan kemudian dikocok kuat selama 10 detik. Jika terbentuk buih yang banyak selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2N menunjukkan adanya saponin (Harborne 1987).

7.4. Identifikasi alkaloid. Sebanyak 0,5 g ekstrak kayu secang ditambahkan 1 mL HCl 2 N dan 9 mL air suling. Lalu dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh digunakan untuk mencampurkan pereaksi mayer, wagner dan dragendorff. Filtrat diambil 3 tetes, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi mayer akan menghasilkan endapan putih atau kuning. Kemudian filtrat diambil 3 tetes, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi wagner menghasilkan endapan coklat hitam. Selanjutnya filtrat diambil 3 tetes, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi dragendorff menghasilkan endapan merah bata. Alkaloid dianggap positif apabila terbentuk endapan atau paling sedikit dua atau tiga dari percobaan di atas (Harborne 1987).

8. Penetapan kadar hidrogen peroksida

Penetapan kadar hidrogen peroksida dilakukan menggunakan titrasi permanganometri. Pertama-tama dipindahkan 1,0 ml larutan sampel hidrogen peroksida pekat dengan memakai sebuah pipet volume ke dalam labu volumetri 100ml dan encerkan dengan air sampai garis tanda. Dikocok dengan saksama.

Dipindahkan 10,0 ml dari larutan tersebut ke dalam erlenmeyer ditambahkan 10 ml asam sulfat encer (1:5) dan dititrasikan dengan kalium permanganat 0,1 N sampai warna merah jambu pucat yang mantap selama 15 detik. Titrasikan diulangi dua penetapan berturut-turut harus cocok dalam batas 0,1 ml. Kemudian dihitung kadar hidrogen peroksida.

9. Penyiapan rambut yang diputihkan

Rambut yang diputihkan (dihilangkan pigmen warnanya) digunakan dalam evaluasi warna rambut, pemutihan dilakukan menggunakan bahan pemutih rambut yang ada dipasaran yaitu pemutih rambut merek Miranda. Pertama-tama disiapkan krim pemutih rambut yang ditempatkan di wadah kemudian dimasukkan rambut yang telah dipotong dan dicuci bersih menggunakan air dan sampo. Wadah ditutup menggunakan aluminium *foil* dan didiamkan selama satu jam agar proses pemutihan rambut berjalan optimal. Kemudian rambut dicuci menggunakan air dan dikering anginkan. Rambut yang telah kering disortir panjangnya dan ditimbang sebanyak kurang lebih 0,1 gram kemudian masing-masing rambut yang telah ditimbang kemudian diikat. Rambut dikontrol panjang dan bobot atau jumlahnya sama bertujuan untuk meminimalkan parameter pengganggu yang dapat mempengaruhi hasil pewarnaan rambut.

10. Pembuatan krim pewarna rambut

10.1. Pembuatan dan formula basis pewarna rambut dengan variasi konsentrasi hidrogen peroksida.

10.1.1 Pembuatan basis pewarna rambut. Ditimbang sejumlah fase minyak yang terdiri atas setil alkohol, setostearil alkohol dan propilen glikol, dimasukkan ke dalam cawan porselen dan dilebur menggunakan *water bath* pada rentang suhu 60°-70°C (Fase 1). Ditimbang sejumlah bahan fase air yaitu hidrogen peroksida, disodium EDTA, sodium lauril sulfat, asam asetat dan air, dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan dipanaskan menggunakan *water bath* pada rentang suhu 60° - 70°C (Fase 2). Lalu fase 1 dan fase 2 dicampurkan perlahan-lahan pada suhu 60° - 70°C sampai terbentuk krim yang baik, kemudian didinginkan sambil diaduk dan sampai terbentuk krim yang homogen. Sediaan yang sudah jadi dimasukkan ke dalam wadah pot krim.

10.1.2 Formula. Total sediaan basis krim pewarna rambut yang dibuat untuk satu formula adalah 50 gram dengan komposisi :

Tabel 2. Formula basis pewarna rambut

Komposisi	Formula%				Fungsi
	I	II	III	IV	
Hidrogen peroksida	-	1	3	5	Pengoksidasi warna
Setil alkohol	6	6	6	6	Emolien, emulgator
Setostearil alkohol	14	14	14	14	<i>Thickening agent</i>
Propilen glikol	15	15	15	15	Humektan
Disodium EDTA	0,1	0,1	0,1	0,1	Pengkelat, penstabil
Sodium lauril sulfat	4	4	4	4	Detergen
Asam asetat	1,6	1,6	1,6	1,6	Agen pengasam
Asam benzoate	0,1	0,1	0,1	0,1	Pengawet
Aquadest ad	100	100	100	100	Pelarut

Keterangan :

Formula 1 : krim basis tidak mengandung hidrogen peroksida

Formula 2 : krim basis mengandung hidrogen peroksida 1%

Formula 3 : krim basis mengandung hidrogen peroksida 3%

Formula 4 : krim basis mengandung hidrogen peroksida 5%

10.2. Pembuatan dan formula pewarna rambut dengan zat warna ekstrak kayu secang.

10.2.1 Formula. Total sediaan pewarna rambut yang dibuat adalah 200 gram yang kemudian akan dicampur dengan formula basis krim pewarna rambut sebanyak 50 gram untuk setiap formula dengan komposisi :

Tabel 3. Formula pewarna rambut

Komposisi	Formula%	Fungsi
Setil Alkohol	5	Emolien, emulgator
Setostearil alkohol	12	<i>Thickening agent</i>
Natrium benzoate	0,1	Pengawet
Disodium EDTA	0,1	Pengkelat, penstabil
Propilen glikol	15	Humektan
Triethanolamin	14	Agen pengalkali
Ekstrak kayu secang	10,5	Zat warna
Aquadest ad	100	Pelarut

Keterangan :

Krim pewarna ekstrak kayu secang konsentrasi 10,5%

10.2.2 Pembuatan Pewarna Rambut. Ditimbang sejumlah fase minyak yang terdiri atas setil alkohol dan setostearil alkohol, dimasukkan ke dalam cawan porselen dan dilebur menggunakan *water bath* pada rentang suhu 60°- 70°C (Fase 1). Ditimbang sejumlah bahan fase air yaitu propilen glikol, disodium EDTA, natrium benzoate, triethanolamin, ekstrak kayu secang dan air dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan dipanaskan menggunakan *water bath* pada suhu rentang suhu 60°- 70°C (Fase 2). Lalu fase 1 dan fase 2 dicampurkan perlahan-lahan pada

suhu 60° - 70°C sampai terbentuk krim yang baik, kemudian didinginkan sambil diaduk dan sampai terbentuk krim yang homogen. Sediaan yang sudah jadi dimasukkan kedalam wadah pot krim.

10.3. Pewarnaan terhadap rambut. Perlakuan digunakan untuk setiap formula. Sebanyak 3 gram basis dan sebanyak 3 gram pewarna rambut dicampurkan dalam *beaker glass*, kemudian diaduk sampai homogen. Campuran krim pewarna rambut kemudian dioleskan ke seluruh bagian rambut diputihkan dan rambut tidak diputihkan yang telah disiapkan, kemudian rambut ditutup dengan aluminium *foil* dan didiamkan selama 40 menit. Rambut dicuci dengan sampo dan dikeringkan.

11. Evaluasi mutu fisik

Evaluasi mutu fisik sediaan krim pewarna rambut dilakukan terhadap masing-masing formula krim pewarna rambut, krim basis serta campuran krim pewarna dan krim basis sebelum dan setelah dilakukan penyimpanan dipercepat menggunakan metode *cycling test*, yaitu sampel disimpan pada suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam lalu dipindahkan kedalam oven yang bersuhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Perlakuan ini adalah 1 siklus dan dilakukan sebanyak 6 siklus (Mardikasari *et al.* 2017). Pengujian yang dilakukan meliputi uji organoleptis, uji viskositas, uji pH, uji daya sebar dan uji daya lekat.

11.1. Uji Organoleptis. Pengamatan dilakukan terhadap tampilan fisik masing-masing formula sediaan yang meliputi bentuk, warna dan aroma (Zaky *et al.* 2015).

11.2. Uji Homogenitas. Pengamatan homogenitas dilakukan terhadap masing-masing formula sediaan dengan meletakkan sediaan krim diantara 2 kaca objek lalu diperhatikan adanya partikel kasar atau homogenitasnya di bawah cahaya (Dewi *et al.* 2014).

11.3. Uji Viskositas. Pengukuran viskositas dilakukan terhadap masing-masing formula sediaan dengan menggunakan viskometer *brookfield* yaitu dengan memasang spindle pada alat kemudian dicelupkan kedalam chamber yang berisi 50 gram sediaan uji pada suhu (25°C). Tiap masing-masing pengukuran dibaca

skalanya ketika jarum merah telah stabil nilai viskositas yang diperoleh (Zaky *et al.* 2015).

11.4. Uji pH. Penentuan pH dilakukan dengan menggunakan alat pH meter, alat terlebih dahulu dikalibrasi dengan larutan dapar standar (pH 7) dan larutan dapar pH asam (pH 4) hingga alat menunjukkan harga pH tersebut. Kemudian elektroda dicuci dengan air dan dikeringkan dengan tissue. Elektroda kemudian dicelupkan dalam sediaan yang dibuat dalam konsentrasi 1% dan dibiarkan hingga alat menunjukkan harga pH sampai konstan. Pengujian pH dilakukan terhadap masing-masing formula sediaan (Zaky *et al.* 2015).

11.5. Uji daya sebar. Pengujian daya sebar dilakukan menggunakan alat ekstensometer dengan krim sebanyak 0,5gram yang diletakkan diatas kaca bulat. Kaca bulat lainnya yang digunakan sebelumnya ditimbang terlebih dahulu dan diletakkan diatas krim kemudian didiamkan selama 1 menit. Diameter krim yang menyebar (rata-rata panjang diameter dari 4 sisi). Kemudian diletakkan beban 50 gram dan didiamkan selama menit, dicatat diameternya. Beban ditambah sampai 200 gram dan setiap penambahan beban didiamkan 1 menit dan diukur diameternya. Pengujian dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali pada masing-masing formula (Afianti & Mimiek 2015 ; Choirunnisa 2018).

11.6. Uji daya lekat. Pengujian daya lekat dilakukan dengan mengoleskan 0,25 gram krim diatas objek glass dan ditutup dengan objek glass lain, kemudian ditekan menggunakan beban 1 kg selama 5 menit, kemudian dipasangkan dengan alat uji. Beban seberat 80 gram dilepaskan dari alat dan dicatat waktu pelepasan objek glass yang melekat. Pengujian dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali pada masing-masing formula (Afianti & Mimiek 2015 ; Choirunnisa 2018).

12. Evaluasi warna rambut

Evaluasi warna rambut dilakukan terhadap masing-masing formula krim basis yang telah dicampurkan dengan krim pewarna. Pengujian yang dilakukan meliputi pengamatan warna yang dihasilkan dan pengamatan stabilitas warna yaitu uji stabilitas warna terhadap pencucian dan uji stabilitas warna terhadap sinar matahari.

12.1. Pengamatan warna yang dihasilkan. Sejumlah rambut yang telah disiapkan dicuci dengan sampo kemudian dioleskan dengan formula pewarna rambut, didiamkan selama 40 menit dan diamati warna yang terbentuk (Zaky *et al.* 2015).

12.2. Pengamatan stabilitas warna. Pengamatan stabilitas warna sediaan krim pewarna rambut meliputi uji stabilitas warna terhadap pencucian dan uji stabilitas warna terhadap sinar matahari.

12.2.1. Uji stabilitas warna terhadap pencucian. Rambut yang telah diberikan sediaan pewarna rambut yang dibuat sebelumnya dicuci dengan menggunakan air bersih dan 1 tetes *shampoo* dan dikeringkan. Pencucian ini dilakukan setiap 2 hari sekali selama satu bulan (Zaky *et al.* 2015).

12.2.2. Uji stabilitas warna terhadap sinar matahari. Uji ini untuk mengetahui stabilitas warna yang dihasilkan terhadap pengaruh paparan sinar matahari, dengan prosedur yaitu rambut yang telah diaplikasikan dengan pewarna rambut, dibilas bersih dan dibiarkan terkena sinar matahari langsung selama 5 jam (pukul 10.00 sampai 15.00) setelah itu diamati perubahan warna (Zaky *et al.* 2015).

13. Evaluasi keamanan

Evaluasi keamanan dilakukan dengan uji iritasi untuk menggambarkan keamanan sediaan pewarna rambut. Uji iritasi dilakukan menggunakan metode *patch test* secara tertutup, bahan penutup terdiri dari kain kasa berbentuk bulat dengan diameter 2 cm dan plaster. Pengujian dilakukan terhadap 10 sukarelawan sehat menggunakan bahan uji dengan konsentrasi tertinggi (Formula IV). Uji ini dilakukan dengan cara kulit sukarelawan yang akan diuji dibersihkan dan dilingkari dengan diameter 2 cm pada lengan atas bagian dalam, kemudian sediaan dioleskan menggunakan *cotton buds* pada tempat yang akan diuji, kemudian ditutup dengan bahan penutup dan dibiarkan selama 24 jam. Kulit tempat aplikasi sediaan uji diamati sebelum bahan uji ditempelkan dan pada 24, 48, 72 jam setelah bahan uji dilepas. Selama penilaian sukarelawan diperbolehkan membasuh kulit tempat aplikasi dengan menggunakan air tanpa sabun, deterjen atau produk kosmetik (Pansang *et al.* 2010; Maharany 2018).

Penilaian derajat iritasi dilakukan dengan dengan cara memberi skor 0 sampai 4 tergantung tingkat keparahan reaksi eritema dan edema pada kulit yang terlihat. Jika tidak ada eritema diberi skor 0, eritema ringan (diameter < 25 mm) diberi skor 1, eritema jelas terlihat (diameter 25,1-30 mm) diberi skor 2, eritema sedang (diameter 30,1-35 mm) diberi skor 3 dan jika terjadi eritema berat (merah gelap dengan membentuk eskar diameter > 35 mm) diberi skor 4. Jika tidak ada edema diberi skor 0, edema sangat ringan (hampir tidak terlihat) diberi skor 1, edema tepi berbatas jelas (ketebalan < 1 mm) diberi skor 2, edema sedang (sekitar 1 mm kulit timbul) diberi skor 3 dan jika terjadi edema berat (pembengkakan yang meluas bahkan di luar area aplikasi dan kulit timbul lebih dari 1 mm) diberi skor 4. Kemudian bahan uji dihitung indeks iritasi dengan menggunakan rumus.

Indeks Iritasi:

$$\frac{(\text{skor eritema } 24+48+72 \text{ jam})+(\text{skor edema } 24+48+72 \text{ jam})}{\text{jumlah sukarelawan}}$$

Indeks iritasi yang diperoleh dibandingkan dengan skor derajat iritasi untuk mengetahui keparahan reaksi iritasi, jika skor derajat iritasi 0,0 maka dapat diartikan tidak mengiritasi, jika skor derajat iritasi 0,1 - 0,4 dapat diartikan sangat sedikit iritasi diberi, jika skor derajat iritasi 0,41-1,9 maka diartikan sedikit iritasi, jika skor yang diperoleh 2,0-4,9 maka tergolong iritasi sedang dan jika skor yang diperoleh 5,0-8,0 digolongkan sebagai iritasi parah.

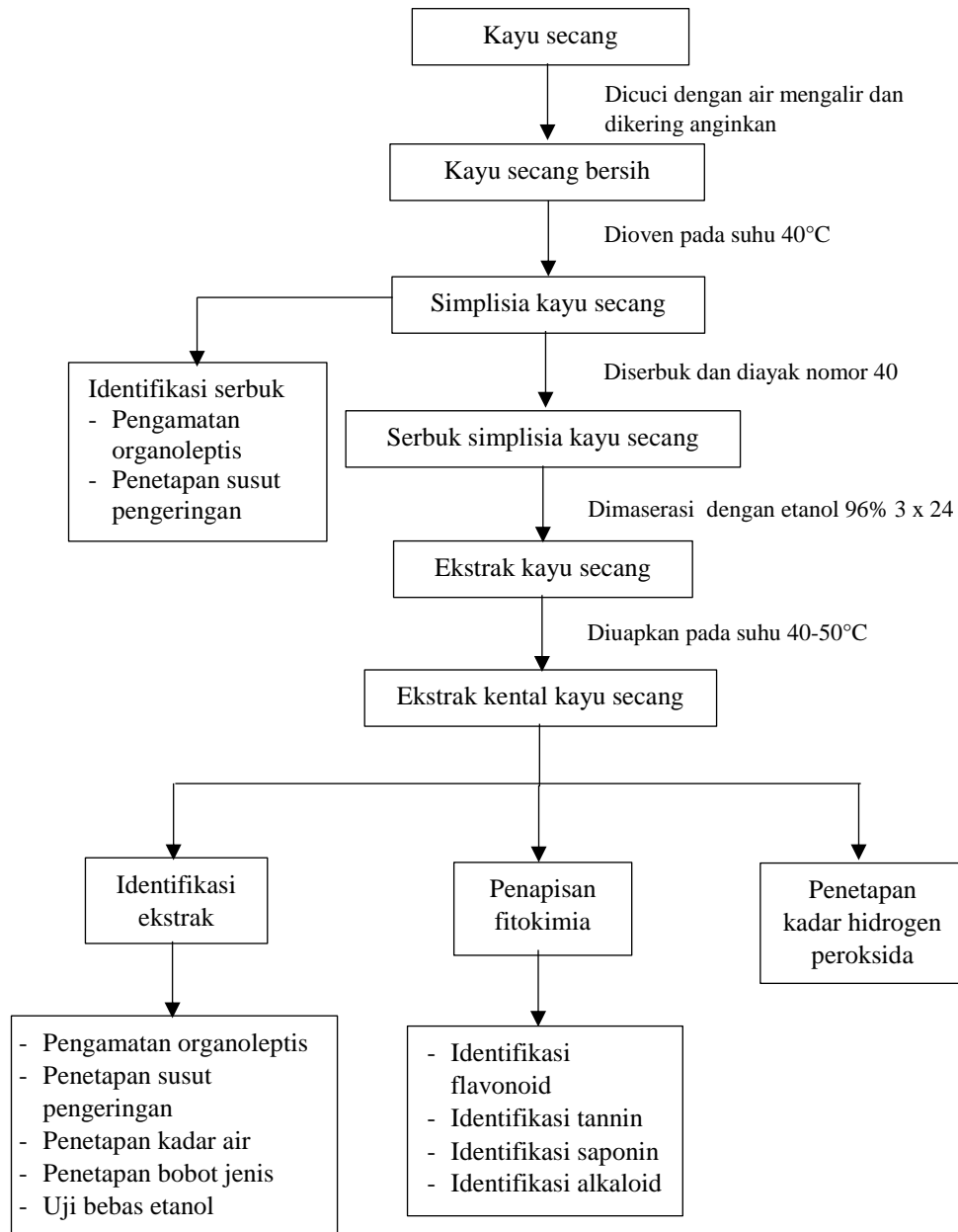
14. Uji hedonik (uji kesukaan)

Uji kesukaan atau hedonik dilakukan terhadap 20 orang sukarelawan yaitu wanita dan pria berusia 19 tahun sampai 50 tahun. Penilaian dilakukan terhadap warna rambut yang dihasilkan dari sediaan (Sari *et al.* 2014). Responden diminta untuk memilih potongan rambut yang telah diwarnai menggunakan sediaan krim pewarna rambut F1, F2, F3 dan F4. Setelah itu, responden diminta untuk memberi penilaian berdasarkan skala hedonik yaitu amat sangat suka, sangat suka, suka, agak suka, netral dan tidak suka (Sofiah & Achsyar 2008). Responden juga diminta untuk mengisikan jenis kelamin dan umur sebagai identitas (Salim 2016).

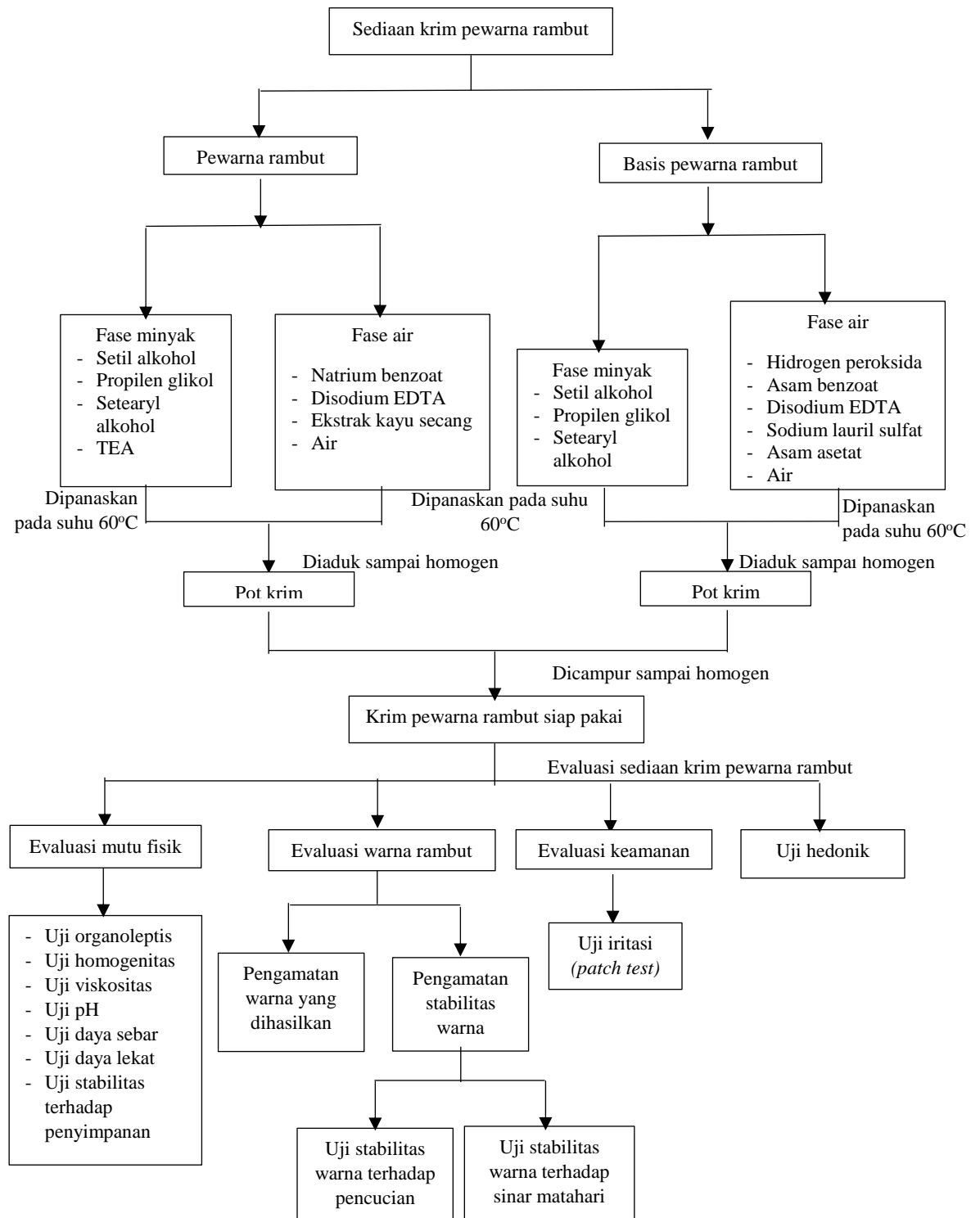
E. Analisis Hasil

Data yang telah diperoleh dari pengujian mutu fisik sediaan krim pewarna rambut seperti uji pH, uji viskositas, uji daya sebar dan uji daya lekat dianalisis menggunakan uji *One-Sample Kolmogorv-Smirnov*. Jika hasil yang diperoleh dari analisis terdistribusi normal ($p > 0,05$), maka dilanjutkan dengan analisis *Paired samples t-test*. Sedangkan data yang diperoleh dari kuesioner uji hedonik dianalisis menggunakan SPSS yaitu analisis frekuensi.

F. Skema Penelitian



Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*)



Gambar 3. Skema pembuatan pewarna rambut