

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi pada penelitian ini adalah *hair gel* ekstrak etanol daun katuk (*Sauvopus androgynus* L. Merr) sebagai penumbuh rambut kelinci *New zealand*.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *hair gel* ekstrak etanol daun katuk dengan variasi konsentrasi carbopol 940 yang berbeda yaitu: 0,2% ; 0,7% ; 1,2%.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah serbuk daun katuk yang diekstraksi dengan cara maserasi dengan pelarut etanol 96%.

Variabel utama kedua adalah variasi konsentrasi carbopol 940 sediaan *hair gel* dari ekstrak etanol daun katuk yang akan dibuat sediaan uji.

Variabel utama ketiga adalah hewan uji yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci jantan usia 2-3 bulan dan berat 1,5-2kg.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diidentifikasi ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel kendali.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi *hair gel* ekstrak daun katuk dengan berbagai macam konsentrasi carbopol 940.

Variabel tergantung merupakan variabel akibat dari variabel utama. Variabel tergantung yang dimaksud pada penelitian ini adalah pusat persoalan yang

merupakan kriteria penelitian. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas pertumbuhan rambut kelinci dari *hair gel* ekstrak etanol daun katuk.

Variabel kendali adalah variabel yang dianggap berpengaruh selain variabel bebas, sehingga perlu ditetapkan klasifikasinya agar dapat diulang dalam penelitian lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini, peralatan yang digunakan, lingkungan, proses pembuatan *hair gel*, pemilihan hewan uji dan peneliti atau manusia.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun katuk adalah daun segar yang diperoleh dari kebun dari daerah pertanian Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun katuk adalah serbuk yang diperoleh dari daun katuk dicuci bersih, daun segar dipotong-potong lalu dioven sampai kering pada suhu 50⁰ C kemudian diblender dan diayak dengan ayakan no 40.

Ketiga, ekstrak daun adalah hasil maserasi serbuk dengan menggunakan pelarut etanol 96% dan dipekatkan dengan evaporator sampai bebas etanol.

Keempat, sediaan *hair gel* ekstrak etanol daun katuk adalah sediaan gel yang diformulasikan dengan berbagai konsentrasi carbopol 940 dalam pembuatan *hair gel*.

Kelima, aktivitas penumbuh rambut adalah kemampuan sediaan *hair gel* untuk menumbuhkan rambut pada punggung kelinci dilihat dari parameter panjang rambut dengan menggunakan jangka sorong dan berat rambut dengan menimbang rambut.

Keenam, stabilitas fisik *hair gel* adalah sifat yang ditunjukkan *hair gel* ekstrak etanol daun katuk meliputi homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, daya lekat, stabilitas.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi botol maserasi, evaporator, pipet tetes, kain flannel, sudip, cawan porselin, neraca analitik, stamper, mortir, *beaker glass*, batang pengaduk, gelas ukur.

2. Bahan

2.1 Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan adalah daun katuk yang segar, yang diperoleh dari pertanian Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

2.2 Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 96%, carbopol 940, metil paraben, propilen glikol, thriethanolamin, air.

2.3 Hewan uji. Hewan uji yang digunakan untuk penelitian ini adalah kelinci jantan galur *New Zealand* dengan berat 1,5-2kg dan berumur ± 3 bulan yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi Surakarta.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi dan deskripsi daun katuk

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel yang digunakan atau determinasi dari daun katuk yang dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan Universitas Setia Budi. Determinasi daun katuk berkaitan dengan ciri-ciri morfologis yang ada pada daun katuk.

2. Pengambilan bahan

Sampel daun katuk yang segar dan berbau khas diambil dari petani daun katuk yang ada di Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

3. Pengeringan bahan dan pembuatan serbuk

Daun katuk yang telah dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dikeringkan dengan cara dioven bertujuan untuk mengurangi kadar air untuk mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri, mencegah bekerjanya enzim dan perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu. Bahan yang dikeringkan juga memudahkan dalam proses penyerbukan (Harborne 1987). Bahan yang sudah

dikeringkan segera diserbuk dengan mesin penyerbuk kemudian diayak dengan ayakan nomor 40. Skema dapat dilihat pada (Gambar 5).

4. Penetapan kadar lembab serbuk daun katuk

Penetapan kadar lembab diukur dengan menggunakan alat *moisture balance*. Bahan diletakkan dalam wadah *moisture content balance* yang sebelumnya telah ditara, kemudian ditutup lalu tekan tombol start, tunggu hingga % kadar lembab keluar pada layar alat (Arista 2013).

5. Pembuatan ekstrak etanol daun katuk

Penyarian dilakukan dengan cara menimbang 1000 gram serbuk, kemudian ditempatkan pada botol kaca berwarna gelap (coklat) kedalamnya dimasukan pelarut etanol 96% sebanyak 7,5 kali bobot serbuk. Kemudian didiamkan selama 3 hari sambil digojok. Maserat disaring dengan kain flannel. Hasil saringan dibilas dengan 2,5 bagian pelarut, saring lagi dengan kain flannel, kemudian satukan semua hasil saringan, endapkan selama 2 hari tanpa penggojokan, hasil endapan disaring dengan kertas saring. Hasil yang didapat dipekatkan dengan alat evaporator pada suhu 40⁰ C sampai pekat. Skema dapat dilihat pada (Gambar 6).

6. Penetapan persen rendemen

Penetapan persen rendemen dengan cara menghitung berat ekstrak kemudian dibagi dengan berat serbuk dan dikali 100%

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk}} \times 100\%$$

7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun katuk

Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun katuk dilakukan untuk mengetahui apakah dalam ekstrak mengandung flavonoid, saponin, tanin, polyphenol, alakloid, triterpenoid yang terkandung dalam ekstrak daun katuk. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun katuk adalah sebagai berikut:

8.1 Identifikasi flavonoid. Metode yang digunakan adalah uji *Sianidin/ Shiba* atau sering juga disebut uji *Willstatter*. Sebanyak 5ml filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan sebuk magnesium, asam hidroklorida pekat,

dan amil alkohol. Campuran dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Hasil positif flavonoid ditunjukkan dengan tebentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (Karisma 2016).

8.2 Identifikasi saponin. Sebanyak 1ml ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah 2ml aquadest lalu dikocok, dipanaskan hingga 2-3 menit lalu didinginkan dan dikocok dengan kuat, uji positif jika terbentuk busa yang kuat (Karisma 2016).

8.4 Identifikasi tanin. Sebanyak 1ml ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan dengan besi (III) klorida. Hasil positif tanin ditunjukkan dengan larutan menjadi biru kehitaman atau hijau kehitaman (Karisma 2016).

8.4 Identifikasi steroid/triterpenoid. Sebanyak 1ml ekstrak diuapkan dalam cawan penguap. Residu ditambahkan beberapa tetes pereaksi *Liebermann-Burchard* yang berisi anhidria asetat dan asam sulfat pekat (2:1). Hasil positif steroid ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru sampai hijau. Terbentuknya warna merah sampai ungu menunjukkan positif triterpenoid (Karisma 2016).

8.5 Identifikasi alkaloid. Sebanyak 1ml ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambah 5 tetes amonia pekat, ditambah 2ml asam sulfat 2N, lalu dikocok, kemudian dipisahkan. Lapisan atasnya dipipet dimasukkan ke 3 tabung reaksi yang berbeda, larutan 1 ditambah 1 tetes indikator mayer, uji positif jika terbentuk endapan putih. Lautan 2 ditambah 1 tetes indikator dragendorf, uji positif jika tebentuk endapan jingga, larutan ke 3 ditambahkan 1 tetes indikator Wagner, uji positif jika terbentuk endapan coklat (Karisma 2016).

8. Pembuatan gel

Pembuatan gel daun katuk dimulai dengan membersihkan dan menyiapkan semua alat yang digunakan dalam penelitian.

Pembuatan gel ekstrak daun katuk. Formula gel :

Tabel 1. Formula *hair gel* penumbuh rambut

Bahan	Konsentrasi Bahan (%)			
	F1	F2	F3	F4
Ekstrak Daun katuk	10	10	10	-
Carbopol 940	0,2	0,7	1,2	1,2
Metil Paraben	0,2	0,2	0,2	0,2
Propilen glikol	5	5	5	5
Triethanolamin (TEA)	0,7	0,7	0,7	0,7
Air ad	100	100	100	100

Keterangan :

Formula 1 : *Hair gel* ekstrak daun katuk dengan penambahan carbopol 0,2%

Formula 2 : *Hair gel* ekstrak daun katuk dengan penambahan carbopol 0,7%

Formula 3 : *Hair gel* ekstrak daun katuk dengan penambahan carbopol 1,2%

Formula 4 : *Hair gel* tanpa ekstrak daun katuk dengan penambahan carbopol 1,2%

Semua bahan yang diperlukan ditimbang dahulu. Carbopol 940 dikembangkan dalam air 20ml. Metil paraben dilarutkan dalam propilen glikol lalu ditambah ekstrak hingga larut. Tambahkan TEA pada carbopol 940 hingga terbentuk massa gel, kemudian larutan propilen glikol dimasukkan kedalam campuran carbopol 940, tambahkan air hingga 100 ml, dan aduk hingga homogen. Skema dapat dilihat pada (Gambar 7).

9. Pembuatan kontrol negatif dan kontrol positif

Dalam penelitian ini menggunakan kontrol negatif sediaan gel yang tidak diberi ekstrak etanol daun katuk. Untuk membuktikan bahwa bahan dari sediaan gel tidak mempunyai aktifitas penyubur rambut pada hewan uji.

Kontrol positif dalam penelitian ini adalah “*Hair Tonic Sariayu*” yang dipercaya dapat meningkatkan pertumbuhan rambut.

10. Pengujian fisik gel

11.1. Uji organoleptis. Uji organoleptik dilakukan untuk melihat tampilan fisik sediaan dengan cara melakukan pengamatan terhadap bentuk, warna dan bau dari sediaan yang telah dibuat.

11.2 Uji homogenitas. Uji homogenitas dilakukan untuk melihat apakah sediaan yang telah dibuat homogen atau tidak. Caranya, gel dioleskan pada *objek glass* dimana sediaan diambil 3 bagian yaitu atas, tengah dan bawah. Homogenitas ditunjukkan dengan tidak adanya butiran kasar (Ditjen POM 2000).

11.3. Uji pH gel. Uji pH dilakukan untuk melihat tingkat keasaman sediaan gel untuk menjamin sediaan gel tidak menyebabkan iritasi pada kulit. pH sediaan gel diukur dengan menggunakan pH meter sebelumnya dikalibrasi terlebih dahulu dengan standar. pH meter dicelupkan ke dalam sampel gel yang telah diencerkan (1:9), diamkan beberapa saat dan hasilnya disesuaikan dengan standar pH meter. pH sediaan yang memenuhi kriteria pH kulit yaitu dalam interval 4,5 – 6,5 (Tranggono dan Latifa 2007).

11.4 Uji daya sebar gel. Uji daya sebar dilakukan untuk menjamin pemerataan gel saat diaplikasikan pada kulit yang dilakukan segera setelah gel dibuat. Gel ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian diletakkan ditengah kaca bulat berskala. Di atas gel diletakkan kaca bulat lain biakan selama 1 menit, ukurlah diameter sediaan menyebar. Atas kaca ditambah beban 50g diamkan selama 1 menit, catat sediaan yang menyebar seperti sebelumnya. Teruskan dengan menambah tiap kali dengan beban tambahan 50g dan catat diameter sediaan yang menyebar setelah 1 menit (Garg *et al.* 2002).

11.5 Uji daya lekat gel. Uji daya lekat dilakukan untuk mengetahui kemampuan gel melekat pada kulit saat digunakan. Gel ditimbang 0,5g diletakkan diatas objek glass yang telah ditentukan luasnya. Letakkan objek glass yang lain di atas sediaan, tekanlah dengan beban 1kg selama 5 menit. Pasang objek glass pada alat uji, lepaskan beban seberat 80g dan catat waktunya hingga kedua objek glass tersebut terlepas (Garg *et al.* 2002).

11.6 Uji viskositas gel. Sediaan dimasukkan dalam *beaker glass*, lalu dipasang spinde. Kemudian spindel diturunkan ke dalam sediaan hingga batas yang ditentukan. Pengukuran dilakukan dengan alat Viskotmeter Rion VT 04, selanjutnya celupkan ke dalam sediaan kemudian alat dihidupkan sampai alat menunjukkan nilai

viskositas sediaan. Nilai viskositas (dPa.s) yang ditunjukkan pada alat merupakan nilai viskositas sediaan (Depkes 1995).

11.7 Uji stabilitas gel. Metode *cycling test*, sediaan gel disimpan pada suhu $4\pm2^0\text{C}$ selama 24 jam, kemudian ke dalam oven yang bersuhu $40\pm2^0\text{C}$ selama 24 jam (satu siklus). Uji sebanyak 6 siklus kemudian diamati perubahan pH dan viskositas sediaan (Djajadisastra 2004).

11. Uji aktivitas pertumbuhan rambut

Hewan uji di adaptasi dengan lingkungan sekitar selama 7 hari, dengan permberian makan yang teratur dan menjaga kebersihan kandang. Hewan uji yang digunakan 6 ekor, dalam 1 kelinci dibagi jadi 6 area pengujian. Semua kelinci dicukur bulunya hingga licin, diberi tanda atau garis pada punggung kelinci untuk membedakan masing-masing area. Letak pengolesan dapat dilihat pada (Gambar 8).

Kelompok pengolesan :

Area I : kelinci dioles *hair gel* ekstrak etanol daun katuk konsentrasi carbopol 0,2% sebanyak 0,2g

Area II : kelinci dioles *hair gel* ekstrak etanol daun katuk konsentrasi carbopol 0,7% sebanyak 0,2g

Area III : kelinci dioles *hair gel* ekstrak etanol daun katuk konsentrasi carbopol 1,2% sebanyak 0,2g

Area IV : kelinci dioles *hair gel* tanpa ekstrak etanol daun katuk konsentrasi carbopol 1,2% sebanyak 0,2g

Area V : kelinci tanpa perlakuan apapun

Area VI : kelinci dioles pembanding “*Hair Tonic Saiayu*” sebanyak 0,2g

Pengolesan dilakukan dua kali sehari setiap pagi dan sore selama 3 minggu. Penentuan daerah pengolesan dilakukan secara acak pada kelinci yang lainnya karena kemungkinan tiap daerah memiliki pertumbuhan rambut yang berbeda-beda. Dengan pengacakan ini diharapkan aktivitas pertumbuhan rambut semua daerah dengan perlakuan yang berbeda dapat terwakili.

12.1 Pengamatan pertumbuhan rambut. Pengamatan panjang rambut pada tiap daerah dilakukan pada hari ke-14, 21 dan 28. Sebanyak 6 helai rambut kelinci secara acak dicabut menggunakan pinset diluruskan dan diletakkan pada objek glass serta ditempelkan dengan selotif kemudian diukur panjangnya dengan menggunakan jangka sorong. Dan data rata-rata rambut yang diperoleh diolah secara statistic untuk melihat apakah ada perbedaan yang bermakna antara daerah uji dengan kontrol.

Selain mengukur panjang rambut, pengukuran bobot rambut juga dilakukan untuk mengetahui kelebatan rambut. Pengukuran bobot dilakukan pada hari ke-28 dengan cara mencukur rambut yang tumbuh pada daerah uji kemudian ditimbang. Hasil yang diperoleh dihitung secara statistic untuk melihat apakah ada perbedaan yang bermakna antara daerah uji dengan kontrol. Skema dapat dilihat pada (Gambar 9).

E. Analisis Data

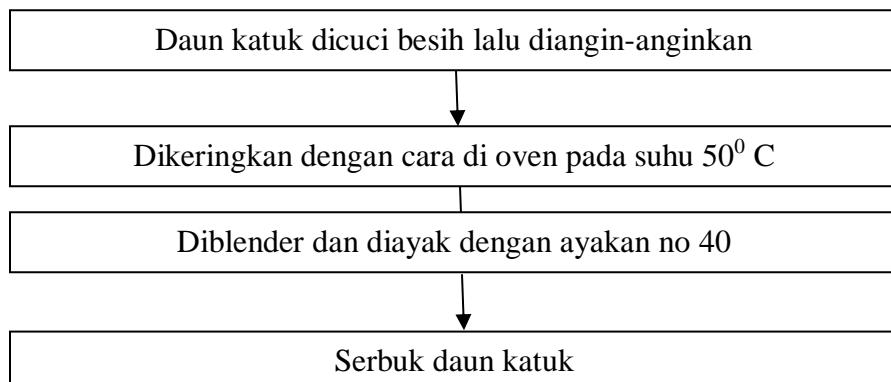
Dari hasil pengujian efek sediaan Hair gel ekstrak daun katuk (*Sauvopus androgynus* (L) Merr.) dengan variasi konsentrasi carbopol diperoleh data pertumbuhan rambut kelinci yang terdiri atas panjang rambut dan bobot rambut dianalisa data menggunakan SPSS. Data dianalisis dengan *shapiro wilk*, Hasil analisa data dengan *uji shapiro wilk* jika nilai $P > 0,05$ lanjut *uji Anova* satu arah, hasil *homogeniti of varian* $< 0,05$ maka dilanjut *uji post hoc (dunned's T3)*.

F. Jadwal Penelitian

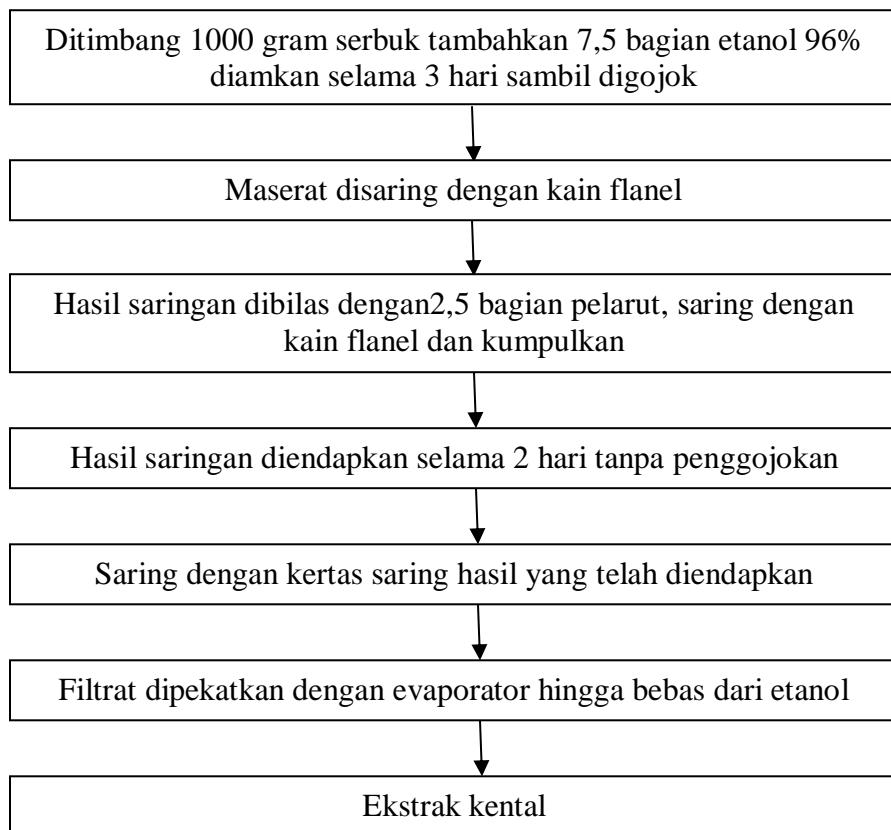
No	Jenis Kegiatan	Tahun 2019	Tahun 2020				
		Des	Jan	Feb	Mar	Apr	Mei
1	Studi pustaka	✓					
2	Persiapan penelitian		✓				
	a. Determinasi tanaman		✓				
	b. Pengeringan dan penyerbukan simplisia		✓				
	c. Maserasi		✓				
3	Penelitian Laboratorium						
	a. Identifikasi kandungan			✓			
	b. Orientasi penelitian			✓			
4	Pengumpulan dan Analisa Data				✓		
5	Penyusunan laporan						✓

Tabel 2. Jadwal Kegiatan Penelitian

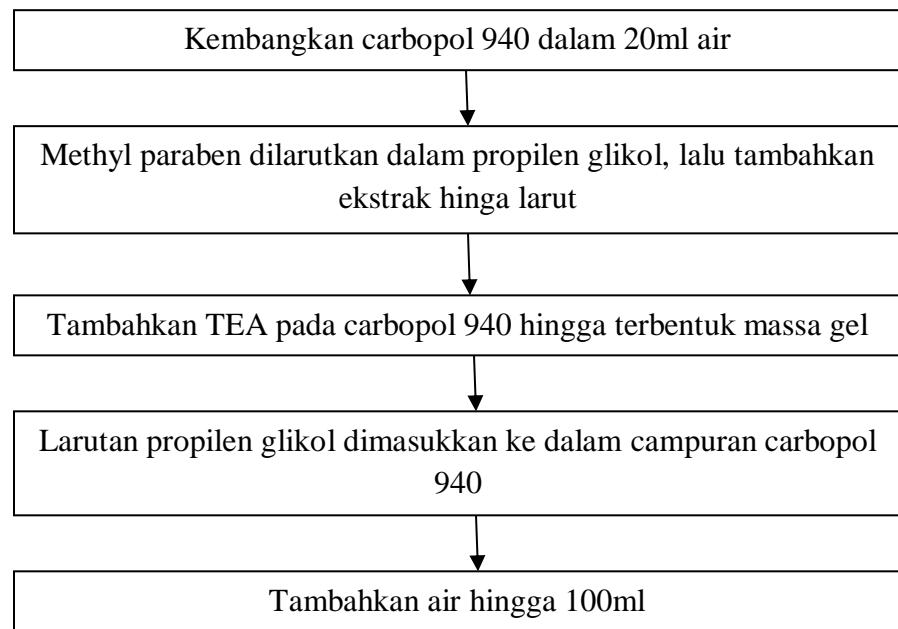
G. Skema Penelitian



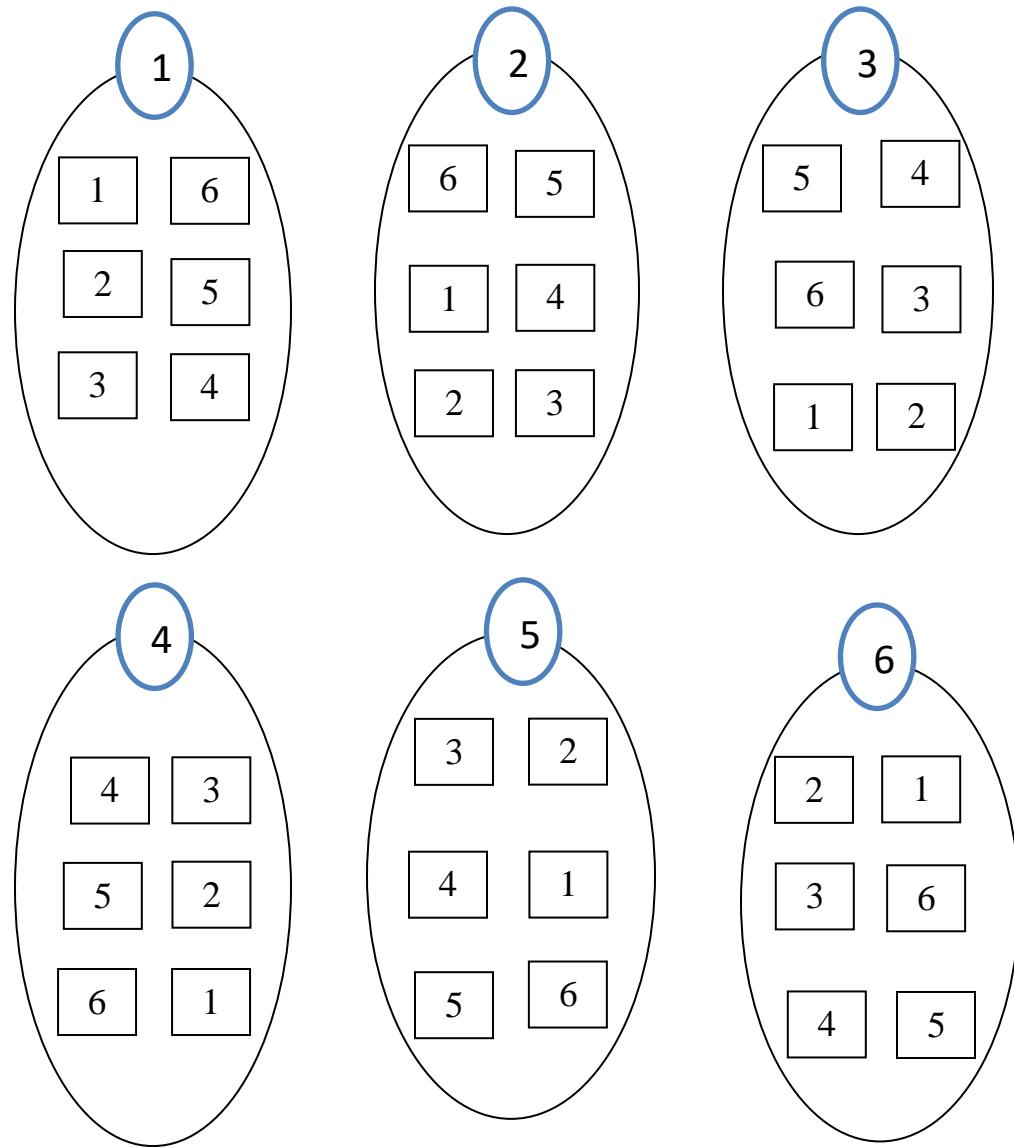
Gambar 5. Skema pengeringan bahan dan pembuatan serbuk



Gambar 6. Skema pembuatan sediaan galenik daun katuk dengan metode maserasi



Gambar 7. Skema pembuatan gel ekstrak daun katuk



Gambar 8. Letak pengolesan sediaan pada kelinci

Keterangan :

Satu kelinci terbagi menjadi 6 bagian pengolesan, tempat pengolesan dibuat secara acak untuk mengetahui pertumbuhan rambut di tiap tempat.

Kelompok 1: *hair gel* ekstrak daun katuk konsentrasi carbopol 0,2%

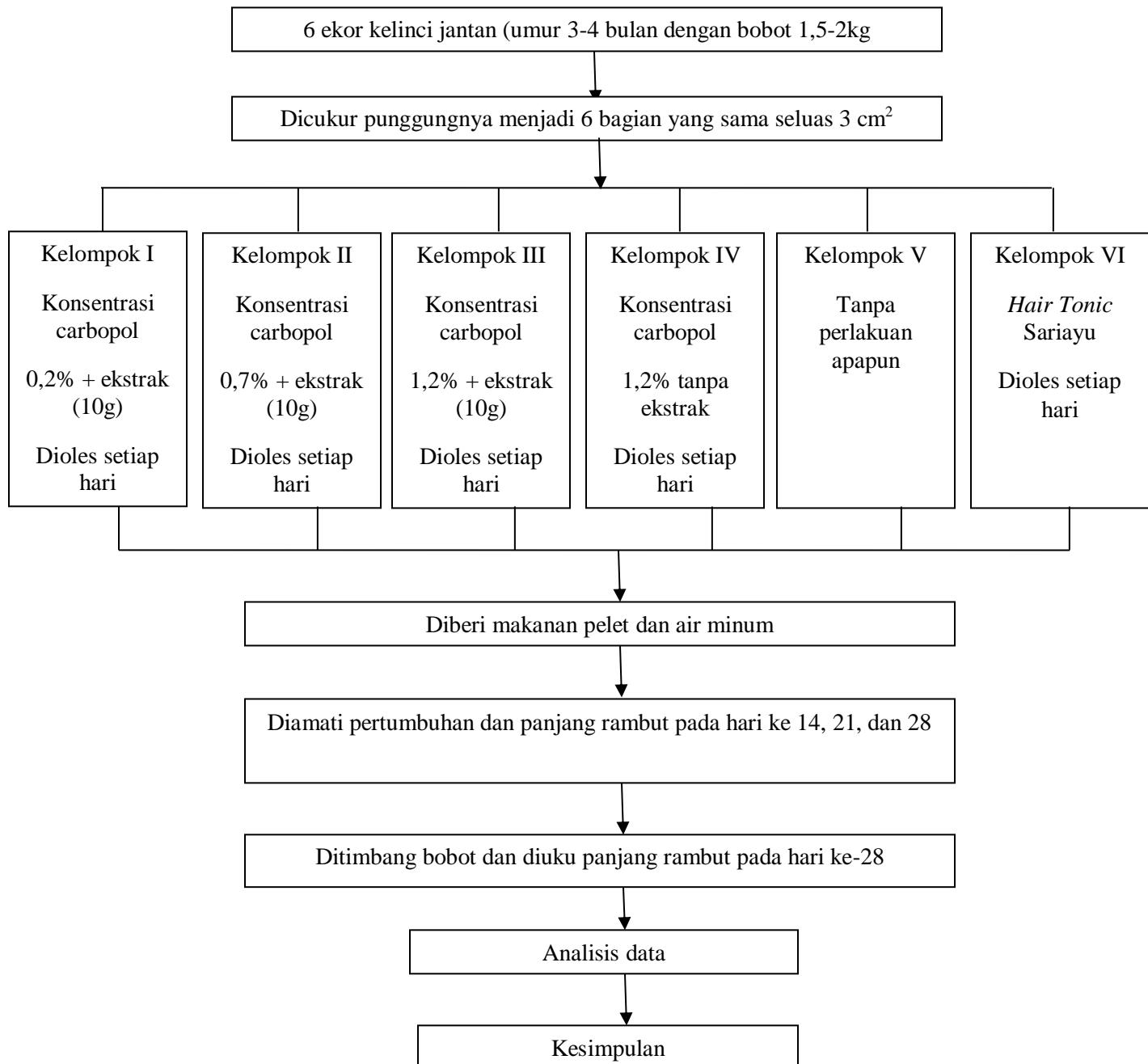
Kelompok 2: *hair gel* ekstrak daun katuk konsentrasi carbopol 0,7%

Kelompok 3: *hair gel* ekstrak daun katuk konsentrasi carbopol 1,2%

Kelompok 4: *hair gel* konsentrasi carbopol 1,2% tanpa ekstrak

Kelompok 5: hewan uji tanpa perlakuan apapun

Kelompok 6: pembanding (*Hair tonic Sariayu*)



Gambar 9 . Skema pengujian aktsivitas pertumbuhan rambut kelinci.