

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan selama 3 bulan dimulai dari bulan Januari-Maret tahun 2025 di Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi Prodi Farmasi S-1 Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Bhamada Slawi.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pipet tetes, tabung reaksi pyrex, blender, timbangan analitik, jangka sorong, kaki tiga, kompor spirtus, penangas, cawan porselin, batang pengaduk, kertas pH, toples kaca, gelas ukur pyrex, beaker glass pyrex, *moisture analyzer*, *rotary evaporator*, *water bath*, *climatic chamber*, pinset, dan catter.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah lidah buaya, kemiri, proxidil (minoxidil 2%), etanol 70%, cera alba, *oleum cacao* (lemak coklat), vaselin album, lanolin, metil paraben, span 80, tween 80, gliserin, aquadest, NaOH, HCl pekat, HCl 1N, HCl 2N, H₂SO₄ 10%, H₂SO₄ pekat, C₄H₆O₃, FeCl₃ 1%, kloroform, pita Mg, pereaksi *mayer*, dan pereaksi *dragendroff*.

3.3. Rancangan Penelitian

3.3.1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi sari lidah buaya, konsentrasi ekstrak kemiri, dan formula sediaan *pomade* yang digunakan.

3.3.2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah hasil evaluasi sediaan *pomade*, dan efektivitas sediaan *pomade* pada pertumbuhan rambut kelinci.

3.3.3. Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah metode ekstraksi bahan, prosedur pembuatan sediaan *pomade*, dan jenis basis *pomade* yang digunakan.

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Determinasi Tanaman

Lidah buaya (*Aloe vera*) didapatkan di Desa Kreman Kecamatan Warureja Kabupaten Tegal dan kemiri (*Aleurites moluccana* (L.) Willd.) didapatkan di Desa Karangduwur (Bendono) Kecamatan Kemiri Kabupaten Purworejo. Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kesesuaian bahan yang diteliti dan kesesuaian nama latin. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Universitas Bhamada Slawi.

3.4.2. Determinasi Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah kelinci *New Zealand White* yang didapatkan dari peternakan kelinci di daerah Kecamatan Pangkah Kabupaten Tegal dideterminasi dengan tujuan mengetahui kesesuaian hewan uji yang diteliti dan kesesuaian nama latin. Determinasi hewan uji dilakukan di Laboratorium Farmakologi Universitas Bhamada Slawi.

3.4.3. Pembuatan Sari Lidah Buaya

Lidah buaya yang telah dikumpulkan kemudian disortasi basah dibersihkan dari kotoran yang melekat, dan dicuci dengan air yang mengalir. Kemudian permukaan daun dikeringkan. Bagian sisi daun yang berduri dibuang dan pangkal daun dipotong sekitar 1 cm, kemudian dikuliti hingga melampaui bagian sel parenkim luar (Santoso et al., 2020). Pembuatan sari dilakukan dengan menggunakan metode perasan dengan menimbang lidah buaya sebanyak 300 gram. Kemudian blender tanpa ditambahkan aquadest, selanjutnya saring dengan kain fanel (Riskiyana et al., 2020).

3.4.4. Pembuatan Ekstrak Kemiri

Sebanyak 2 kg kemiri utuh yang didapat kemudian disortasi basah dibersihkan dari kotoran yang melekat dengan menggunakan air mengalir. Selanjutnya kemiri dipisahkan dari kulitnya didapatkan sebanyak 600 gram simplisia kemiri. Proses ekstraksi kemiri dilakukan dengan metode maserasi menggunakan gram kemiri yang sudah dihaluskan dan direndam dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:5. Proses maserasi dilakukan selama 5 hari pada suhu ruangan dan sesekali diaduk. Kemudian disaring menggunakan kertas saring dan kain flanel, sehingga diperoleh filtrat dan residu. Filtrat yang didapat kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* dan dilakukan proses *waterbath* hingga memperoleh ekstrak kental (Krisyanella et al., 2022).

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak Kental (g)}}{\text{Berat Simplisia Awal (g)}} \times 100\%$$

3.4.5. Standardisasi Ekstrak

Standardisasi merupakan proses penetapan sifat berdasarkan parameter-parameter tertentu untuk mencapai derajat kualitas yang sama (Najib et al., 2016). Tujuan dari standardisasi ekstrak adalah untuk memastikan bahwa ekstrak memiliki kualitas, keamanan, dan efektivitas sesuai dengan standar yang telah ditetapkan:

1. Uji Organoleptis

Pengujian organoleptis dilakukan dengan mengamati secara langsung seperti bentuk, warna, dan aroma dari ekstrak (Yuliana et al., 2022).

2. Susut Pengerinan

Ekstrak ditimbang 1 gram pada botol timbang dangkal tertutup. Botol ini sebelumnya harus dipanaskan 105°C selama 30 menit dan ditara terlebih dahulu. Selanjutnya ekstrak diratakan dalam botol timbang dengan menggoyangkan botol hingga terbentuk lapisan tebal 5-10 mm lalu ditimbang. Dimasukkan ke dalam oven dengan tutup dibuka, dikeringkan pada suhu 105°C hingga diperoleh bobot tetap. Dinginkan dalam desikator hingga suhu kamar, dan dihitung nilai persentasinya. Persyaratan susut pengerinan tidak lebih dari 10% (Utami et al., 2020).

$$\% \text{Susut Pengerinan} = \frac{\text{Berat Sampel Sebelum Dipanaskan}}{\text{Berat Sampel Setelah Dipanaskan}} \times 100\%$$

3. Kadar Air

Kadar air ditentukan menggunakan alat *moisture analyzer* dengan menimbang 1 gram ekstrak masukkan dalam alat dan ditunggu hingga hasil kadar air sampel keluar (Astuti et al., 2024). Standar kadar air yang baik tidak melebihi 10% (Wandira et al., 2023).

4. Kadar Abu

1) Kadar Abu Total

Ekstrak ditimbang 2 gram dan dimasukkan ke dalam kurs silikat yang telah dipijarkan dan ditara. Pijarkan hingga bobot tetap. Kemudian diangkat, didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Jika dengan cara ini arang tidak dapat dihilangkan. Tambahkan air panas lalu saring dengan kertas saring bebas abu. Pijarkan residu dan kertas saring dalam kurs yang sama. Filtrat dimasukkan ke dalam kurs, diuapkan, dipijarkan hingga bobot tetap. Kemudian ditimbang kadar abu total (Rosidah et al., 2020). Parameter standar yang berlaku adalah tidak lebih dari 16,6% (Hidayati et al., 2018).

$$\text{Kadar Abu Total} = \frac{W_0 - W_1}{W_2} \times 100\%$$

Keterangan :

W_0 = Bobot kurs kosong + ekstrak yang telah menjadi abu

W_1 = Bobot kurs kosong

W_2 = Bobot ekstrak

2) Kadar Abu Tidak Larut Asam

Kadar abu yang diperoleh dari penetapan kadar abu, dididihkan dengan 25 mL HCl 10% selama 5 menit. Bagian tidak larut asam dikumpulkan dan disaring dengan melalui kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas, pijarkan hingga bobot tetap, timbang. Hitung kadar abu yang tidak larut dalam asam terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Najib et al., 2016). Standar kadar abu tidak larut asam tidak boleh lebih dari 0,7% (Hidayati et al., 2018).

$$\text{Kadar Abu Tidak Larut Asam} = \frac{W_2 - W_0}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan :

W_0 = Bobot krus kosong (g)

W_1 = Bobot ekstrak (g)

W_2 = Bobot krus + abu yang tidak larut asam (g)

3.4.6. Skrining Fitokimia

1. Identifikasi Senyawa Flavonoid

Identifikasi flavonoid dengan 20 mg ekstrak ditambahkan 3 tetes HCl pekat dan ditambah serbuk Mg sebanyak 2 keping kecil, kemudian larutan dikocok. Jika terjadi perubahan warna menjadi merah, kuning atau jingga menunjukkan adanya senyawa flavonoid (Sulistyarini et al., 2016).

2. Identifikasi Senyawa Saponin

Identifikasi saponin dengan memasukkan 20 mg ekstrak dalam tabung reaksi tambahkan 10 mL air panas, kocok selama 15 menit.

Apabila terdapat busa selama 10 menit dan tingginya 1-10 cm menunjukkan positif mengandung senyawa saponin (Nisa et al., 2022).

3. Identifikasi Senyawa Alkaloid

Sampel ditimbang sebanyak 20 mg dimasukkan dalam mortir tambahkan amonia encer dan kloroform, kemudian disaring. Filtrat ditambahkan dengan 5 mL HCl 2N. Larutan yang didapat dibagi ke dalam tiga tabung reaksi. Tabung pertama sebagai blanko, tabung ke dua ditambahkan 3 tetes pereaksi *mayer*, dan tabung ke tiga ditambahkan 3 tetes pereaksi *dragendorff*. Hasil positif senyawa alkaloid pada pereaksi *mayer* ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih hingga kekuningan. Pada pereaksi *dragendorff* senyawa alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan merah bata (Muliani et al., 2022)

4. Identifikasi Senyawa Tanin

Pengujian senyawa tanin dapat dilakukan dengan 20 mg ekstrak direbus dalam 20 mL aquadest dalam tabung reaksi. Saring dan tambahkan beberapa tetes FeCl_3 1% sampai berubah warna. Hasil positif mengandung tanin ditunjukkan dengan munculnya warna hijau kecoklatan atau biru hitam (Kumalasari & Andiarna, 2020), coklat kehijauan atau biru kehitaman (Satriani et al., 2024), dan kuning kecoklatan (Sinaga et al., 2023).

5. Identifikasi Senyawa Terpenoid dan Steroid

Sebanyak 3 mL kloroform dimasukkan ke dalam 20 mg ekstrak, kemudian ditambahkan 2 mL asam sulfat pekat dan 2 mL asam asetat anhidrat. Positif senyawa steroid ditunjukkan dengan perubahan warna biru atau hijau, sedangkan senyawa terpenoid akan ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah jingga atau ungu (Satriani et al., 2024).

3.4.7. Formulasi

Tabel 3.1. Formulasi Sediaan *Pomade* (Sumber : Riskiyana et al., 2020)

No.	Nama Bahan	Formulasi				Keterangan
		F0	FI	FII	FIII	
1.	Sari Lidah Buaya	0%	15%	10%	5%	Merangsang Pertumbuhan Rambut
2.	Ekstrak Kemiri	0%	5%	10%	15%	Menyuburkan Rambut
3.	Cera Alba	10%	10%	10%	10%	Basis
4.	Lemak Coklat	0,5%	0,5%	0,5%	0,5%	Basis
5.	Vaselin Album	40%	40%	40%	40%	Basis
6.	Lanolin	9%	9%	9%	9%	Pelembab
7.	Metil Paraben	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	Pengawet
8.	Span 80 dan Tween 80	16,67%	16,67%	16,67%	16,67%	Emulgator
9.	Gliserin	Ad 30 gram	Ad 30 gram	Ad 30 gram	Ad 30 gram	Humektan
10.	<i>Oleum Litchi</i>	qs	qs	qs	qs	Pewangi

3.4.8. Pembuatan Sediaan *Pomade*

Proses pembuatan *pomade* yang pertama dilakukan yaitu memasukan span 80 yang berfungsi sebagai emulgator fase minyak ke dalam cawan porselin. Kemudian panaskan diatas penangas,

selanjutnya masukan cera alba, *oleum cacao*, vaselin album, dan lanolin, aduk semua bahan sampai homogen (**campuran I**).

Memasukkan tween 80 yang berfungsi sebagai emulgator fase cair ke dalam cawan poselin, kemudian panaskan di atas penangas. Selanjutnya masukan sari lidah buaya, dan ekstrak kemiri, aduk sampai homogen. Kemudian tambahkan metil paraben ke dalam campuran yang sudah homogen (**campuran II**).

Proses selanjutnya, campuran I dan campuran II dijadikan satu dalam cawan porselin, aduk sampai homogen. Pada penambahan campuran I dan II dilakukan sedikit demi sedikit sambil dilakukan pengadukan untuk mencegah terjadinya penggumpalan dan supaya terbentuk massa yang homogen. Setelah campuran homogen, tuang campuran ke dalam wadah yang disiapkan. Kemudian tunggu hingga mengeras (Riskiyana et al., 2020).

3.4.9. Evaluasi Sediaan *Pomade*

1. Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan untuk mengetahui bentuk, warna, dan aroma dari sediaan *pomade* yang dilakukan dengan menggunakan indra *visual* (Budi Riyanta & Amananti, 2020).

2. Uji Homogenitas

Cara pengujian homogenitas dilakukan dengan penimbangan 0,1 gram *pomade* dioleskan pada kaca objek dan diamati apabila terjadi bagian yang tidak tercampurkan dengan baik. Sediaan

pomade yang baik harus homogen tanpa adanya butiran yang kasar (Nurlely et al., 2021).

3. Uji pH

Uji pH dilakukan untuk memastikan *pomade* sesuai dengan standar yang ditentukan. Uji pH dilakukan menggunakan kertas indikator pH dengan range 4,5 - 6,5 (Auliasari et al., 2018).

4. Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan dengan menimbang sebanyak 0,5 gram *pomade* diletakkan pada tengah kaca bulat berskala, kemudian ditutup dengan kaca bulat lain. Pengukuran diameter penyebaran sediaan secara membujur dan melintang, serta dilakukan tiap penambahan beban 50 gram hingga berat total 150 gram (Irianto et al., 2020). Daya sebar yang baik untuk sediaan semi solid 5-7 cm (Pratasik et al., 2019).

5. Uji Daya Lekat

Uji daya lekat dilakukan dengan menimbang 0,5 gram, sediaan diletakkan pada posisi tengah gelas objek kemudian ditutup dengan objek glass lain. Diberikan beban 1 kg diletakkan diatasnya selama 5 menit. Lepaskan gantung dan catat waktunya hingga kedua gelas objek terlepas (Kharisma & Safitri, 2020). Daya lekat yang baik untuk sediaan topikal adalah lebih dari 4 detik (Pratasik et al., 2019).

3.4.10. Cycling Test

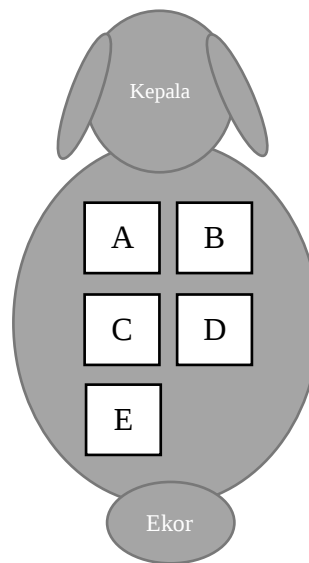
Uji stabilitas dilakukan dengan metode *Freeze-thaw cycling test*. Sampel disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam dan suhu 40°C selama 24 jam (1 siklus). Pengujian dilakukan sebanyak 3 siklus (1 siklus itu selama 48 jam) dan diamat terjadinya perubahan fisik meliputi organoleptis, homogenitas, pH, daya sebar, dan daya lekat (Tari & Indriani, 2023).

3.4.11. Uji Kesukaan (Hedonik)

Uji kesukaan dilakukan untuk mengetahui tingkat kesukaan panelis terhadap pengamatan berupa warna, tekstur, aroma dan kerapihan rambut pada sediaan pomade yang dibuat. Uji kesukaan dilakukan secara visul kepada 20 orang panelis. Setiap panelis diminta untuk mengaplikasikan *pomade* pada rambutnya, kemudian panelis mengisi kuisisioner dengan keterangan 1 = sangat tidak suka, 2 = tidak suka, 3 = suka, 4 = sangat suka (Auliasari et al., 2018).

3.4.12. Uji Iritasi

Hewan uji kelinci diaklimatisasi di ruang percobaan kurang lebih 5 hari. Pencukuran dilakukan 24 jam sebelum pengujian, bulu hewan dicukur pada daerah punggung. Uji iritasi dilakukan dengan mengoleskan sediaan *pomade* sebanyak 0,5 g ke kulit kelinci yang telah dicukur seluas 2x3 cm. Kemudian lokasi paparan ditutup dengan kasa dan diplester.



Gambar 3.1. Lokasi Paparan Sediaan Uji

Keterangan :

- A : Dioleskan formula 0 (basis)
- B : Dioleskan formula I
- C : Dioleskan formula II
- D : Dioleskan formula III
- E : Sebagai kontrol

Setelah 24 jam, plester dan kasa steril dibuka dan area uji dibersihkan dengan air untuk menghilangkan sisa bahan uji. Kemudian hewan uji diamati ada atau tidaknya *eritema* (kemerahan) dan *edema* (bengkak), penilaian respon dilakukan pada jam ke 24, 48, dan 72 setelah pembukaan tempelan. Diberikan skor 0 sampai 4 tergantung dari tingkat keparahan reaksi kulit (BPOM RI, 2022)

Tabel 3.2. Penilaian Reaksi Pada Kulit (BPOM RI, 2022)

Reaksi	Skor
Pembentukan Eritema	
1. Tidak ada eritema	0
2. Eritema yang sangat kecil (hampir tidak dapat dibedakan)	1
3. Eritema terlihat jelas	2
4. Eritema sedang sampai parah	3
5. Eritema parah (merah daging) sampai pembentukan <i>eschar</i> yang menghambat penilaian eritema.	4
Pembentukan Edema	
1. Tidak ada edema	0
2. Edema yang sangat kecil (hampir tidak dapat dibedaka)	1
3. Edema kecil (batas area terlihat jelas)	2
4. Edema tingkat menengah (luasnya bertambah sekitar 1 mm)	3
5. Edema parah (luas bertambah lebih dari 1 mm dan melebar melebihi area paparan dan sediaan uji)	4

Indeks Iritasi Primer kulit (*primary irritation indeks/PPI*) dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Indeks Iritasi Primer} = \frac{A-B}{C}$$

Keterangan :

- A : Jumlah skor eritema dan edema seluruh titik pengamatan sampai pada jam ke 24, 48, dan 72 dibagi jumlah pengamatan.
 B : Jumlah skor eritema dan edema seluruh titik pengamatn kontrol pada jam ke 24, 48, dan 72 dibagi jumlah pengamatan
 C : Jumlah hewan

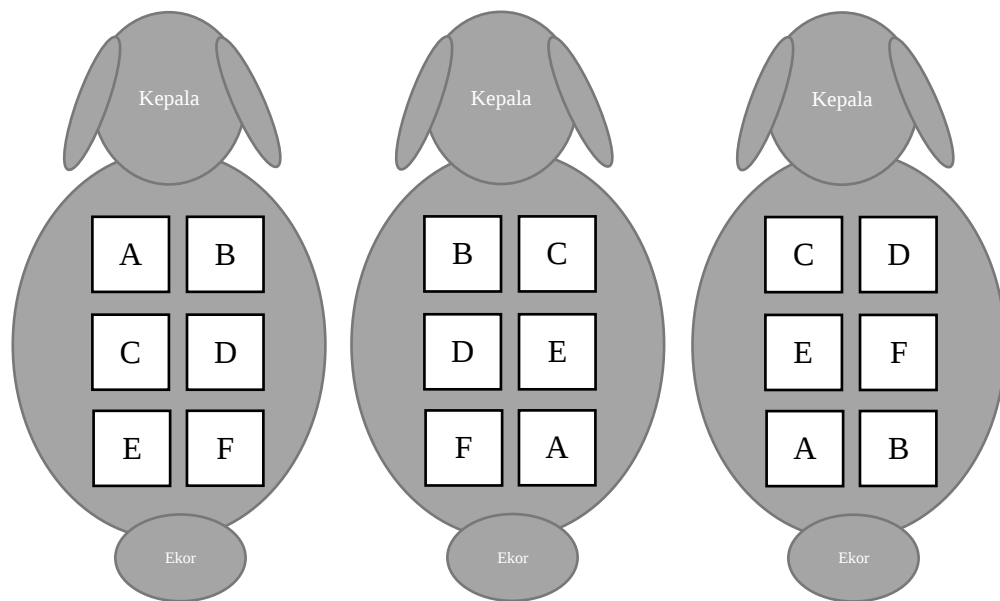
Tabel 3.3. Kategori Respon Iritasi pada Kelinci

Nilai Rata-rata	Kategori respon
0,0 – 0,4	Sangat ringan (<i>negligible</i>)
0,5 – 1,9	Iritan ringan (<i>slight</i>)
2,0 – 4,9	Iritan sedang (<i>moderate</i>)
5,0 – 8,0	Iritan kuat (<i>severe</i>)

3.4.13. Uji Aktivitas Pertumbuhan Rambut Pada Kelinci

1. Penyiapan Hewan Uji

Pengujian aktivitas *pomade* terhadap pertumbuhan rambut kelinci, dimana punggung kelinci dibersihkan dari rambut dengan cara dicukur hingga bersih sampai rambut-rambut halus juga ikut terbang. Kemudian dibagi menjadi 6 bagian yang masing-masing berbentuk segi empat 2x3 cm, dan jarak antar daerah 1 cm. setelah pengukuran dan sebelum dilakukan pengolesan, punggung kelinci yang telah dibagi diolesi dengan etanol 96% sebagai *antiseptic* (Putra, 2024). Bagian-bagian tersebut adalah:



Gambar 3.2. Lokasi Pengaplikasi Pada Kelinci

Keterangan :

A = Daerah A dioleskan formula 0 (basis)

B = Daerah B dioleskan formula I

C = Daerah C dioleskan formula II

D = Daerah D dioleskan formula III

E = Daerah F diberi aquadest sebagai kontrol negatif

F = Daerah E diberi minoxidil 2% sebagai kontrol positif

Sebelum diberi perlakuan, kelinci diaklimatisasi terlebih dahulu selama seminggu agar tidak mengalami stres. Pemberian sediaan *pomade* sari lidah buaya dan ekstrak kemiri dilakukan dengan mengoleskan sediaan setiap pagi dan sore selama 3 minggu. Hari pertama pengolesan dianggap hari ke-1, pemberian *pomade* dilakukan selama 21 hari. Kemudian pada hari ke 7, 14, dan 21 dilakukan pengukuran pada rambut kelinci dengan menggunakan jangka sorong. Pengujian ini dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok A diolesi formula 0 tanpa konsentrasi sari lidah buaya dan ekstrak kemiri (basis), kelompok B diolesi formulasi I (sari lidah buaya 15% dan ekstrak kemiri 5%), kelompok C diolesi formulasi II (sari lidah buaya 10% dan ekstrak kemiri 10%), kelompok D diolesi formulasi III (sari lidah buaya 5% dan ekstrak kemiri 15%), Kelompok E diolesi minoxidil 2% (kontrol positif), dan kelompok F tidak diberikan perlakuan (kontrol negatif) (Riskiyana et al., 2020).

Pengamatan panjang rambut pada tiap daerah dilakukan pada hari ke-7, ke-14, dan ke-21. Sebanyak 10 helai rambut kelinci terpanjang diukur panjangnya dengan jangka sorong (Putra, 2024).

2. Pengukuran Panjang Rambut

Pengukuran rata-rata panjang rambut kelinci dilakukan dengan mengambil 10 helai sampel rambut dari setiap kotak perlakuan yang dilakukan pada hari ke-7, 14, dan 21 (panjang rambut kelinci

setelah diolesi dengan masing-masing perlakuan). Kemudian setiap helai dari 10 sampel rambut pada masing-masing kotak diukur panjangnya menggunakan jangka sorong (Putra, 2024).

3. Pengukuran Bobot Rambut

Pengukuran bobot rambut dilakukan untuk mengetahui kelebatan rambut. Pengukuran dilakukan pada hari ke-21 dengan mencukur rambut yang tumbuh pada daerah uji kemudian ditimbang (Mu'ani & Purwati, 2019).

3.5. Analisis Data

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental yang bersifat deskriptif. Data yang diperoleh dalam penelitian dianalisis secara *One Way* ANOVA dan pengolahan dengan menggunakan SPSS.26