

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi penelitian adalah daun kacang panjang (*Vigna unguiculata* L.) yang masih segar dan muda, yang diambil dengan metode purposive sampling. Metode purposive sampling adalah teknik pengambilan sampel yang tidak didasarkan pada acak, melainkan pada daerah tertentu. Yang didapatkan dari perkebunan daun kacang panjang di Desa Karangsari, Kecamatan Brati, Kabupaten Grobogan, Provinsi Jawa Tengah.

##### **2. Sampel**

Sampel adalah bagian dari populasi yang diambil untuk penelitian. Dalam penelitian ini, sampel yang digunakan adalah daun kacang panjang yang masih segar dan berwarna hijau, yang merupakan bagian bahan utama dari pembuatan sediaan *hair tonic* (Michaela et al., 2024).

##### **3. Teknik sampling**

Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah purposive sampling, yaitu teknik pengambilan sampel secara sengaja berdasarkan pertimbangan tertentu yang sesuai dengan tujuan penelitian. Sampel yang dipilih merupakan sediaan *hair tonic* ekstrak etanol daun kacang panjang yang diformulasikan dengan variasi konsentrasi ekstrak daun kacang panjang serta memenuhi kriteria kelayakan fisik (tidak cacat, permukaan rata, dan ukuran seragam).

#### **B. Variabel Penelitian**

Variabel penelitian adalah sesuatu yang digunakan sebagai ciri, sifat atau ukuran yang dimiliki atau didapatkan oleh satuan penelitian tentang suatu konsep pengertian. Variabel juga dapat diartikan sebagai konsep yang mempunyai bermacam-macam nilai Menurut (Notoadmodjo, 2014), variabel penelitian dibagi menjadi 3 yaitu :

### 1. Variabel Independen

Variabel ini sering disebut dengan variabel bebas, sebab, mempengaruhi atau *independen variables* atau resiko. Variabel independen adalah variabel resiko atau sebab Variabel independen (variasi konsentrasi ekstrak daun kacang panjang (*Vigna unguiculata* L.) sebagai zat aktif pada formulasi sediaan *hair tonic* yang ditinjau dari jumlah % konsentrasi (5%, 10%, dan 15%).

### 2. Variabel Dependen

Variabel ini sering disebut variabel tergantung, terikat, akibat, terpengaruh atau *dependen variables* atau variabel yang dipengaruhi. Variabel dependen merupakan variabel akibat atau efek, Variabel dependen dalam penelitian ini adalah karakteristik dari formulasi *hair tonic* ekstrak daun kacang panjang (*Vigna unguiculata* L.) yang meliputi uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH, uji viskositas, uji bobot jenis sediaan, uji aktivitas pertumbuhan rambut, dan pengamatan pertumbuhan rambut.

### 1. Variabel Kontrol

Variabel kontrol merupakan variable yang dijaga tetap selama penelitian agar tidak mempengaruhi hasil pengamatan terhadap variable dependent. Variable kontrol pada penelitian ini adalah komposisi bahan dasar yang digunakan, dan metode pembuatan *hair tonic*.

## C. Definisi Operasional

1. Daun kacang panjang (*Vigna unguiculata* L.) yang digunakan didapatkan di daerah Purwodadi, Kabupaten Grobogan, Jawa Tengah.
2. Sediaan *hair tonic* ekstrak daun kacang panjang adalah larutan dengan konsentrasi ekstrak 5%, 10%, dan 15%, dibuat dengan bahan pelarut seperti etanol 70%, propilen glikol, metil paraben, menthol, dan aquadest. Sediaan ini diaplikasikan dua kali sehari pada area kulit kelinci yang sudah dicukur.
3. Pertumbuhan rambut kelinci diukur dengan peningkatan panjang rambut pada area aplikasi selama 21 hari. Panjang rambut diukur menggunakan jangka sorong dengan mengambil helai rambut terpanjang dari sampel yang diambil.
4. Pengujian mutu fisik sediaan meliputi pengamatan bentuk, uji organoleptis,

homogenitas tanpa partikel kasar, pH antara 4,5-6,5, serta viskositas dan bobot jenis sesuai standar.

5. Hewan percobaan berupa kelinci jantan *New Zealand White* berusia 4-5 bulan yang digunakan untuk mengamati efek *hair tonic* terhadap pertumbuhan rambut.

#### **D. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Tempat penelitian ini dilakukan di Laboratorium Analisis Kimia, Universitas An Nuur Purwodadi periode penelitian pada bulan Mei sampai Juni tahun 2026. Dan di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta periode penelitian pada bulan Juni – Juli tahun 2026.

#### **E. Alat dan Bahan**

##### **1. Alat**

Alat yang dipergunakan dalam penelitian meliputi gelas ukur, erlenmeyer, beaker glass, batang pengaduk, timbangan, pipet tetes, pencukur rambut, jangka sorong, pinset, gunting, penggaris, kertas hitam, selotip, pH meter, piknometer, *viskometer brookfield* dan spidol (Mulyanti, 2019).

##### **2. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam pembuatan sediaan *hair tonic* meliputi daun kacang panjang, etanol 70%, aquadest, propilen glikol, metil paraben, menthol, dan kontrol positif REGROU (Mulyanti, 2019).

#### **F. Jalannya Penelitian**

##### **1. Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan keaslian dan kebenaran jenis tanaman yang akan digunakan sebagai bahan uji. Daun kacang panjang akan dideterminasi di UPF Pelayanan Kesehatan Tradisional, Kalisoro, Kecamatan Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Tujuan dari determinasi adalah untuk meyakinkan bahwa spesies dari daun kacang panjang yang digunakan adalah spesies *Vigna unguiculata* (L.).

##### **2. Pengumpulan Bahan**

Tanaman daun kacang panjang diperoleh dari daerah Purwodadi Kabupaten Grobogan Provinsi Jawa Tengah. Daun yang dipilih dalam

keadaan segar, berwarna hijau dan bebas dari penyakit.

### **3. Pembuatan Serbuk Daun Kacang Panjang**

Daun kacang panjang yang telah diambil dari pohonnya dicuci dengan air mengalir bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel, setelah itu tahap pengeringan dengan menggunakan menggunakan sinar matahari langsung dengan ditutup kain hitam selama 48 jam hingga kering dan menggunakan oven suhu 50°C selama 6 sampai 8 jam. Setelah kering tahap selanjutnya dilakukan sortasi kering . Setelah itu, simplisia dilakukan penyerbukan menggunakan blender simplisia dan diayak menggunakan ayakan no 40 (Mulyanti, 2019).

### **4. Penetapan Susut Pengeringan Serbuk Daun Kacang Panjang**

Serbuk diuji organoleptis terlebih dahulu, pemeriksaan ini meliputi bau, warna dan bentuk dari serbuk daun kacang panjang. Penetapan susut pengeringan pada serbuk daun kacang panjang dilakukan dengan menggunakan oven. Alat yang digunakan ditara terlebih dahulu dengan akurasi dan suhu yang sesuai. Serbuk ditimbang sebanyak 2 g kemudian dimasukkan dalam alat dengan suhu 105°C selama 30 menit. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali untuk meminimalisir adanya kesalahan. Syarat susut pengeringan dalam simplisia yaitu tidak lebih dari 10%. Penetapan kadar air pada serbuk dilakukan dengan alat *Moisture balance*. Sampel sebanyak 2 gram di letakkan di atas pan aluminium secara merata. Kemudian alat di tutup kembali, alat akan memanaskan sampel hingga menunjukkan nilai kadar air sampel yang terbaca konstan (Nazar *et al.*, 2023).

### **5. Pembuatan Ekstrak Daun Kacang Panjang**

Masukkan 600 g serbuk kering simplisia ke dalam maserator, tambahkan pelarut ethanol 70% sebanyak 6 L. Rendam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Pisahkan maserat dengan cara sentrifugasi, dekantasi atau filtrasi. Ulangi proses penyarian sekurang-kurangnya satu kali dengan jenis pelarut yang sama dan jumlah volume pelarut sebanyak setengah kali jumlah volume pelarut pada penyarian pertama. Kumpulkan semua maserat, kemudian uapkan dengan penguap

vakum atau penguap tekanan rendah dapat juga menggunakan “*rotavapor*” hingga diperoleh ekstrak kental. Hitung rendemen yang diperoleh yaitu persentase bobot (b/b) antara rendemen dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan dengan penimbangan. Rendemen harus mencapai angka sekurang-kurangnya sebagaimana ditetapkan pada masing-masing monografi ekstrak (Dra. Ninik Hariyati, 2022).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak kental (gram)}}{\text{bobot simplisia awal (gram)}} \times 100\%$$

## 6. Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Kacang Panjang

Sebanyak 0,5 g ekstrak yang diambil ditambahkan 2 mL asam asetat dan 2 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, kemudian dipanaskan. Reaksi positif bebas etanol ditunjukkan dengan tidak tercium bau ester wangi. Jika masih tercium bau ester wangi, artinya masih ada kandungan etanol yang mengalami esterifikasi (Priamsari & Rokhana, 2020).

## 7. Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Daun Kacang Panjang

### a. Identifikasi Flavonoid

Sebanyak 0,1 gram ekstrak dimasukkan ke dalam gelas piala, lalu ditambahkan 10 ml aquades. Campuran tersebut dipanaskan sampai mendidih selama 5 menit. Setelah itu, campuran disaring dan filtratnya digunakan sebagai larutan uji. Filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan pita magnesium, 1 ml asam klorida pekat, dan 1 ml amilalkohol. Campuran tersebut dikocok dengan kuat. Uji positif untuk flavonoid terlihat dari munculnya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amilalkohol (Nugrahani *et al.*, 2016).

### b. Identifikasi Saponin

Sebanyak 0,1 gram sampel dimasukkan ke dalam gelas piala, lalu ditambahkan 10 ml air panas dan dipanaskan hingga mendidih selama 5 menit. Setelah itu, campuran disaring dan cairan yang keluar atau filtrat digunakan sebagai larutan uji. Filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang tertutup, lalu dikocok selama sekitar 10 detik, kemudian dibiarkan selama 10 menit. Setelah itu, ditambahkan 1 ml HCl 2M. Adanya saponin

dapat diketahui dari terbentuknya bisa yang stabil (Nugrahani *et al.*, 2016).

c. Identifikasi Fenolik

Identifikasi Fenol dilakukan dengan meneteskan 10 tetes sampel ekstrak daun kacang panjang ke dalam 5 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  1%, jika terjadi perubahan warna menjadi hijau, ungu, biru, atau hitam maka reaksi dianggap positif (Agustina & Handayani, 2017).

d. Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 0.1 gram sampel ditambah 5 mL kloroform dan 3 tetes ammonia. Fraksi kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan 2 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Fraksi dibagi menjadi tiga tabung, masing-masing ditambahkan dengan pereaksi *Dragendorf*, *Meyer*, dan *Wagner*. Alkaloid ditunjukkan adanya endapan putih, pereaksi *Meyer* ditandai dengan endapan coklat pada pereaksi *Wagner* dan pereaksi *Dragendorf* ditandai dengan endapan merah (Usman & Nurpati, 2023).

## 8. Rancangan Formulasi *Hair Tonic* Ekstrak Daun Kacang Panjang

Tabel 1. Formulasi *Hair Tonic*

| Bahan                  | Formulasi (%)   |        |        |        | Khasiat     |
|------------------------|-----------------|--------|--------|--------|-------------|
|                        | Kontrol Negatif | FI     | FII    | FIII   |             |
| Ekstrak kacang panjang | -               | 5      | 10     | 15     | Bahan aktif |
| Ethanol 70%            | 30              | 30     | 30     | 30     | Pelarut     |
| Propilen glikol        | 15              | 15     | 15     | 15     | Humektan    |
| Metil paraben          | 0,1             | 0,1    | 0,1    | 0,1    | Pengawet    |
| Menthol                | 0,3             | 0,3    | 0,3    | 0,3    | Pewangi     |
| Aquadest               | Ad 100          | Ad 100 | Ad 100 | Ad 100 | Pelarut     |

Formula bahan sediaan *hair tonic* ekstrak daun kacang panjang pada penelitian ini sebanyak 100 ml (Mulyanti, 2019). Proses pembuatan *hair tonic* dimulai dengan menimbang bahan-bahan yang diperlukan secara tepat. Ekstrak daun kacang panjang kemudian dilarutkan dalam aquadest. Selanjutnya, metil paraben dilarutkan dalam 5 ml etanol, sementara menthol juga dilarutkan terpisah dalam etanol. Larutan menthol dicampur dengan larutan metil paraben, kemudian propilen glikol ditambahkan secara bertahap sambil diaduk hingga homogen. Setelah itu, larutan ekstrak daun kacang

panjang dicampurkan perlahan ke dalam campuran tersebut, lalu ditambahkan aquadest hingga mencapai volume total 100 ml dan diaduk hingga larut sempurna. Proses yang sama dilakukan untuk pembuatan formula FII dan FIII, dengan perbedaan terletak pada volume bahan aktif yang digunakan.

## 9. Uji Fisik Sediaan *Hair Tonic*

### a. Uji Organoleptis

Pemeriksaan uji organoleptik dilakukan secara visual meliputi bau, warna, dan tekstur visual pada sediaan *hair tonic* (Hasibuan, 2024).

### b. Uji pH

Cara pengujian adalah dengan mencelupkan pH meter ke dalam wadah yang berisi produk, lalu mengatur agar pH meter bisa disesuaikan dengan rentang pH 4 hingga 6. Setelah itu, nilai pH dilihat dan dicatat. Pengaturan pH pada *hair tonic* rambut harus disesuaikan dengan kondisi kulit kepala, yaitu sekitar pH 4 hingga 6,5. Jika pH terlalu asam, bisa menyebabkan kulit menjadi iritasi, sedangkan jika pH terlalu basa, bisa membuat kulit kering dan berisik (Nurjannah *et al.*, 2025).

### c. Uji Homogenitas

Sampel ditimbang sekitar 0,1 gram, lalu diletakkan di objek gelas, selanjutnya diamati dengan tujuan untuk melihat apakah ada partikel kasar atau endapan yang terbentuk pada sediaan tersebut (Usman & Nurpati, 2023).

### d. Uji Viskositas

Viskositas dari setiap rencana tonik rambut diukur selama satu bulan menggunakan alat *viscometer brookfield*. Ketiga formula *hair tonic* rambut tersebut diuji masing-masing dengan spindle nomor 1 dan kecepatan 60 rpm. Viskositas sediaan *hair tonic* yang baik berada di bawah 5 mPas. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui tingkat kekentalan dari produk tonik rambut tersebut (Rinjani *et al.*, 2019).

### e. Uji Bobot Jenis Sediaan

Uji jenis bobot menggunakan piknometer, pertama timbang piknometer yang kosong (W1), lalu isi dengan aquades dan pastikan

bagian luar piknometer sudah kering (W2), setelah itu timbang kembali piknometer yang berisi sampel (W3), kemudian hitung hasilnya dengan rumus :

$$\text{Bobot jenis} = \frac{W_3 - W_1}{W_2 - W_1} \text{ (Lestari et al., 2024).}$$

#### 10. Uji Aktivitas Pertumbuhan Rambut Kelinci

Pertumbuhan rambut pada masing-masing hewan uji diamati pada hari ke-7, 14, dan 21 dengan cara mencabut dan mengukur panjang rambut hewan uji pada setiap perlakuan. Pencabutan dilakukan secara acak sebanyak sekitar 5 helai per bagian pengambilan, lalu dipilih helai rambut yang terpanjang dari setiap helai yang dicabut. Pengukuran panjang pertumbuhan rambut dilakukan menggunakan jangka sorong, dan data hasil pengukuran adalah selisih antara nilai tes awal dan tes akhir (Kriswati, 2020).

Kelinci yang digunakan sudah diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari. Perlakuan ini menggunakan 3 ekor kelinci. Rambut di bagian punggung kelinci dicukur dengan ukuran 2X2 cm<sup>2</sup> menggunakan alat pencukur rambut dan dibagi menjadi 5 kelompok. Kelinci diizinkan beradaptasi selama 24 jam. Sediaan diaplikasikan sebanyak 1 ml untuk diberikan ke punggung kelinci sekali sehari di sore hari selama 21 hari. Kelompok pertama diberi kontrol negatif, kelompok kedua diberi *hair tonic* ekstrak daun kacang panjang dengan konsentrasi 5% (Formula I), kelompok ketiga diberi *hair tonic* ekstrak daun kacang panjang 10% (Formula II), kelompok keempat diberi *hair tonic* ekstrak daun kacang panjang 15% (Formula III). Kelompok kelima diberi kontrol positif berupa *hair tonic* REGROU. Pengamatan dilakukan pada hari ke-7, 14, dan 21. Panjang rambut yang tumbuh diukur menggunakan jangka sorong. (Sembiring & Sianipar, 2024).

##### a. Persiapan Hewan Uji

Hewan yang digunakan dalam uji ini adalah 3 ekor kelinci jantan putih ras *New Zealand* berusia 4-5 bulan dengan berat rata-rata 1,5-2 kg. Sebelum dilakukan uji, hewan perlu diadaptasi terlebih

dahulu di tempat, kandang, dan pakan selama 1 minggu. Kelinci yang mengalami penurunan berat badan lebih dari 10% tidak digunakan dalam uji. Selama masa adaptasi dan uji, hewan diberi makan dan minum dengan jumlah serta jenis yang sama (Mulyanti, 2019).

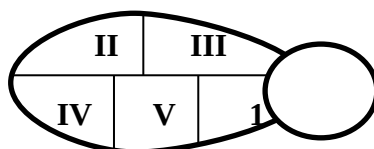
b. Pemberian Perlakuan

Mencukur punggung kelinci hingga bersih dan membentuk kotak persegi. Kotak tersebut kemudian dibagi menjadi 5 bagian dengan ukuran sisi 2,5 cm, lalu diberikan perlakuan berupa *hair tonic* ekstrak etanol daun kacang panjang dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, *hair tonic* (kontrol negatif), dan *hair tonic REGROU* (kontrol positif) serta kontrol normal sebanyak 2 kali sehari, yaitu pada pagi dan sore hari (Kriswati, 2020).

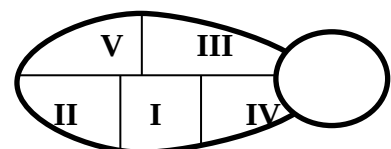
c. Uji Pertumbuhan Rambut

Punggung kelinci dicukur menggunakan gunting dan pisau cukur, kemudian dibagi menjadi 5 daerah dengan masing-masing sisi kurang lebih 2,5 cm, dan antara daerah yang satu dengan daerah lainnya diberi jarak kurang lebih 0,5 cm. Pengolesan dilakukan setiap hari sekali dengan volume setiap kali aplikasi sebanyak 1ml untuk setiap petaknya selama 21 hari. Pada hari ke-22, ukur bobot dan panjang rambut dengan cara mencukur rambut yang tumbuh pada daerah uji, lalu timbang. Ambil sebanyak 5 helai rambut kelinci yang terpanjang dan letakkan pada selotip serta kain hitam sebelum diukur mulai dari pangkal hingga ujung rambut menggunakan jangka sorong (Mulyanti, 2019).

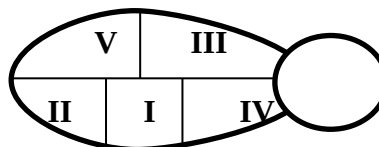
**Perlakuan kelinci 1**



**Perlakuan kelinci 2**



### Perilaku kelinci 3



**Gambar 3.** Perlakuan Pertumbuhan Rambut Pada Kelinci

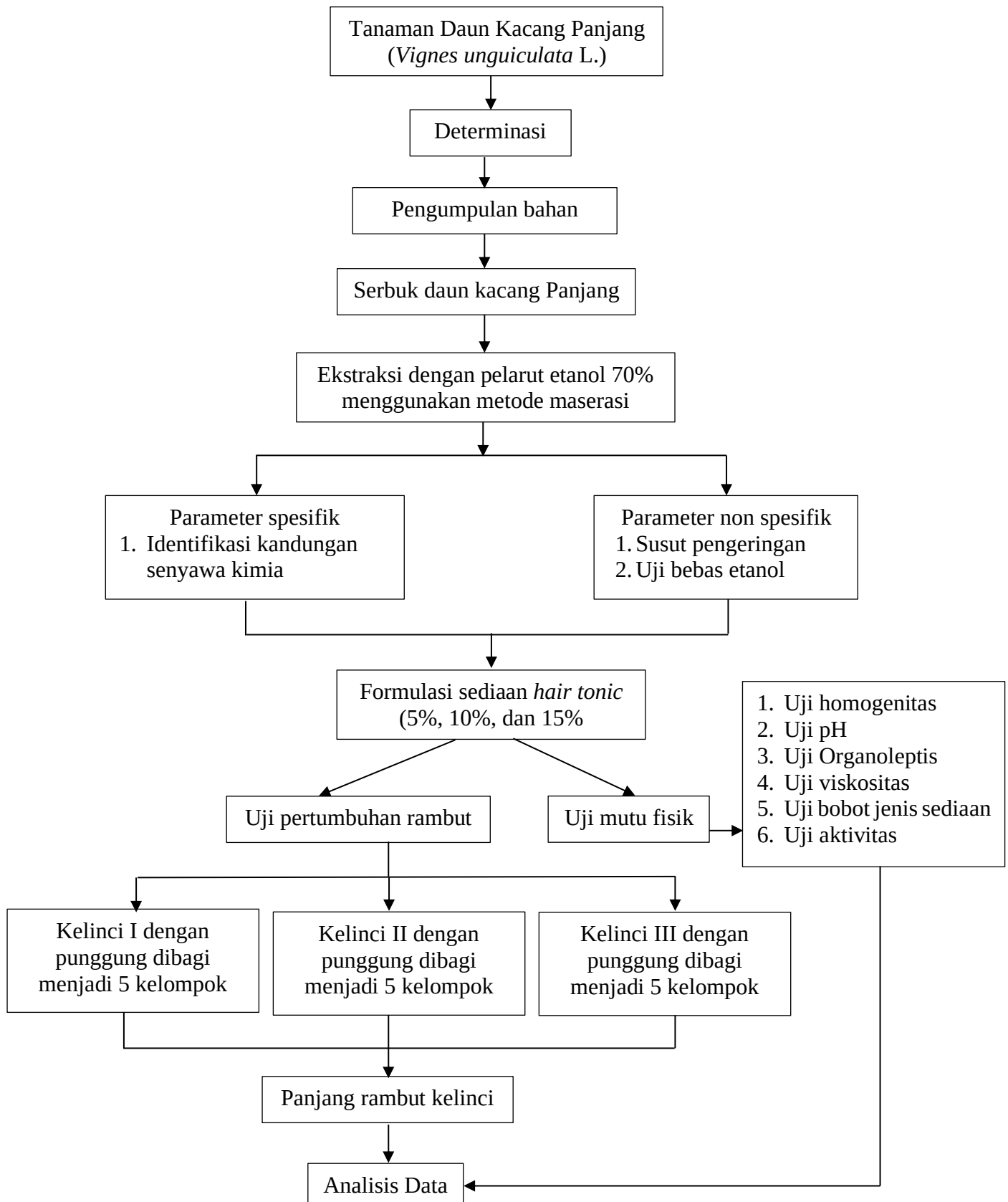
Keterangan bagian perlakuan kelinci :

1. Perlakuan I kontrol positif (*hair tonic* REGROU)
2. Perlakuan II disemprot FI ekstrak kacang panjang 5%
3. Perlakuan III disemprot FII ekstrak kacang panjang 10%
4. Perlakuan IV disemprot FIII ekstrak kacang panjang 15%
5. Perlakuan V kontrol negatif (*hair tonic* tanpa ekstrak)

### G. Analisis Hasil

Pengolahan data pada penelitian ini adalah mencari pengaruh konsentrasi ekstrak daun kacang panjang (*Vigna unguiculata* L.) terhadap pertumbuhan rambut. Mula-mula dilakukan uji normalitas dan homogenitas data, dengan data terdistribusi norma jika nilai probabilitas ( $P \geq 0,05$ ). Pada analisis aktivitas pertumbuhan rambut, jika data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan uji parametrik *Repeated Measure Anova*. Jika data tidak terdistribusi normal maka dilanjutkan uji non parametrik friedman. Selanjutnya pada analisis bobot rambut, jika data terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan uji statistik *One Way Anova (Analysis Of Variance)* menunjukkan nilai signifikansi  $p < 0,05$  dimana hasil yang diperoleh adanya perbedaan signifikan pada setiap perlakuan. Jika data tidak terdistribusi normal atau tidak homogen maka dilanjutkan non parametrik (*Kruskal Wallis*) (Susanti et al., 2025b).

## H. Karangka Jalannya Penelitian



**Gambar 4.** Kerangka Penelitian

