



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI STABILITAS FISIK DAN AKTIVITAS INHIBISI
TIROSINASE TERHADAP KRIM EKSTRAK KULIT BUAH
MANGGIS (*Garcinia mangostana* L.) YANG DIBUAT DENGAN
METODE DINGIN DAN PANAS**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

DEWI NUR ANGGRAENI

0606070623

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
DESEMBER 2010**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Dewi Nur Anggraeni

NPM : 0606070623

Tanda Tangan : 

Tanggal : Desember 2010

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Dewi Nur Anggraeni
NPM : 0606070623
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Uji Stabilitas Fisik dan Aktivitas Inhibisi Tirosinase terhadap Krim Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) yang Dibuat dengan Metode Dingin dan Panas

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DR. JOSHITA DJAJADISASTRA, MS.

DRA. AZIZAHWATI, MS.

PEMBIMBING I

PEMBIMBING II

Tanggal lulus Ujian Sidang Sarjana: 31 Desember 2010

Penguji I : Dr. Herman Suryadi, M.Si, Apt.

Penguji II : Dra. Rosmaladewi Aziz, Apt.

Penguji III: Dr. DR. Katrin, M.S.

TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dewi Nur Anggraeni
NPM : 0606070623
Program Studi : Farmasi Reguler
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Uji Stabilitas Fisik dan Aktivitas Inhibisi Tirosinase terhadap Krim Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) yang Dibuat dengan Metode Dingin dan Panas

Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : Desember 2010

Yang menyatakan


(Dewi Nur Anggraeni)

KATA PENGANTAR

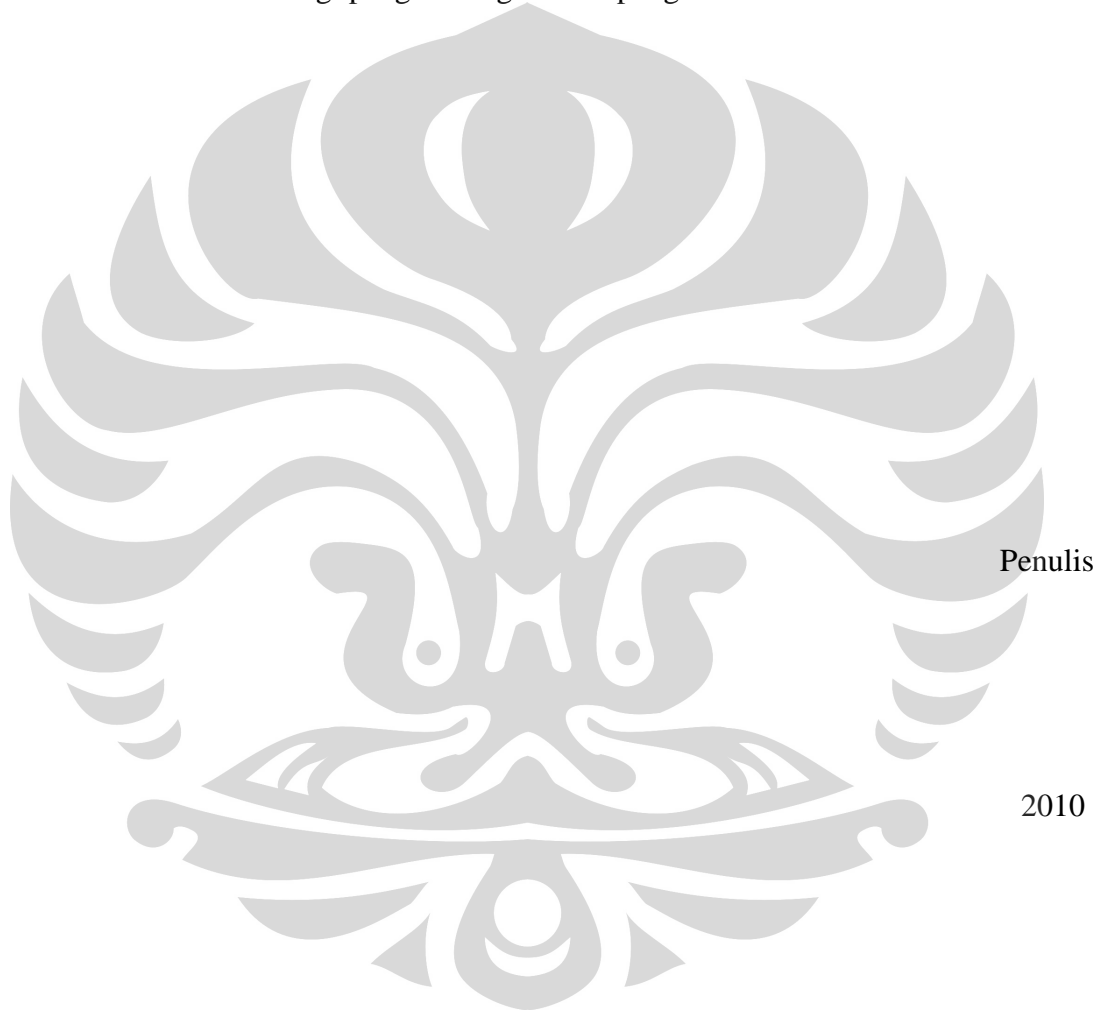
Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah S.W.T. karena atas rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sangatlah sulit bagi penulis untuk dapat menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu penulis secara khusus mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Joshita Djajadisastra, M.S. selaku dosen pembimbing I dan Ibu Dra. Azizahwati, M.S. selaku dosen pembimbing II yang telah banyak memberikan bantuan berupa bimbingan, nasehat, ilmu, dukungan dan motivasi selama penelitian berlangsung dan penyusunan skripsi.
2. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI.
3. Ibu Dr. Katrin MS. selaku pembimbing akademik yang telah banyak memberikan bimbingan dan nasehat selama penulis menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
4. Seluruh staf pengajar, karyawan dan laboran Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah banyak membantu penulis selama masa pendidikan dan penelitian.
5. Bapak, Ibu dan Mas Redy, atas semua dukungan, kasih sayang, perhatian, kesabaran, dorongan semangat, do'a yang tidak henti-hentinya dan dana yang diberikan untuk penulis.
6. Iim, Meri, Memet, Ifka, Mba Endang, Mba Ira, dan teman-teman kos Wisma Putri yang selalu memberikan keceriaan setiap hari dan motivasi untuk penulis selama penelitian.
7. Sista, Ika, Novi, Yuli, Kucel, RM, Alip yang telah menjadi teman-teman kerja di Laboratorium Farmasetika dan Kimia Kuantitatif Farmasi yang kompak dan banyak memberikan bantuan kepada penulis selama penelitian.

8. Teman-teman Farmasi UI angkatan 2006
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang telah memberikan bantuan hingga terselesaikannya skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masihlah jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang membangun. Akhir kata penulis mengharapkan semoga skripsi ini dapat membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.



ABSTRAK

Nama : Dewi Nur Anggraeni
Program Studi : Farmasi
Judul : Uji Stabilitas Fisik dan Aktivitas Inhibisi terhadap Tirosinase Krim Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) yang Dibuat dengan Metode Dingin dan Panas

Kulit buah manggis (*Garcinia Mangostana* L.) merupakan sumber senyawa xanton dan derivatnya yang memiliki aktivitas inhibisi tirosinase. Senyawa ini dapat menghambat proses oksidasi tirosin dan l-dopa dalam mekanisme pembentukan melanin pada kulit. Ekstrak kulit buah manggis diformulasi menjadi krim yang dibedakan metode pembuatan krimnya yaitu metode dingin dan panas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas fisik dan aktivitas inhibisi tirosinase dari formulasi krim ekstrak kulit buah manggis yang dibuat dengan metode dingin dan panas. Uji kestabilan fisik krim dilakukan dengan penyimpanan krim pada suhu yang berbeda yaitu suhu 4°C, suhu kamar, dan suhu 40°C. *Centrifugal test* dan *cycling test* juga dilakukan pada kedua krim. Pengukuran aktivitas penghambatan tirosinase dilakukan dengan metode dopakrom. Dopakrom yang terbentuk pada reaksi invitro diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan krim ekstrak kulit manggis yang dibuat dengan metode dingin dan metode panas menunjukkan kestabilan secara fisik berdasarkan parameter-parameter uji kestabilan fisik. Hasil pengukuran aktivitas penghambatan tirosinase dari krim yang mengandung ekstrak kulit manggis 1,5% yang dibuat dengan metode dingin dan panas berturut-turut 33,91 dan 39,99%. Hasil tersebut menunjukkan aktivitas penghambatan tirosinase oleh ekstrak kulit buah manggis dalam krim tidak dipengaruhi oleh metode pembuatan krim, yaitu metode dingin dan metode panas.

Kata kunci : ekstrak kulit buah manggis, stabilitas fisik, krim, aktivitas penghambatan tirosinase.

xii+ 49 hlm; 36 gambar; 14 tabel; 9 lampiran.

Daftar acuan : 44 (1971-2010)

ABSTRACT

Name : Dewi Nur Anggraeni
Program Study : Pharmacy
Title : Physical Stability and Tyrosinase Inhibition Assay of Mangosteen Pericarp Extract Cream Prepared by Cold and Hot Method

Mangosteen pericarp (*Garcinia mangostana* L.) is a source of xanthone compounds and their derivatives, which have tyrosinase inhibitory activity. These compounds can inhibit the oxidation process of tyrosine and l-dopa in the mechanism of the formation of melanin in the skin. Mangosteen pericarp extract is formulated into a cream preparation method is distinguished from the cold and hot method. The objective of this research is to determine physical stability and tyrosinase inhibition activity of the formulation mangosteen pericarp extract cream which is made with cold and hot method. Physical stability test conducted with storing cream at three different temperatures, the temperature 4°C , room temperature, and temperature $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Centrifugal tests and cycling test was also performed on both cream. Tyrosinase inhibition activity measurement method was used dopachrome. Dopachrome formed in vitro reaction and absorbance was measured using UV-vis spectrophotometer. The research shows that mangosteen pericarp extract cream made with cold and hot method indicates physical stability based parameters of physical stability test. The measurement results tyrosinase inhibitory activity from a cream containing 1.5% mangosteen pericarp extract made with cold and hot methods respectively 33.91% and 39.99%. The results showed inhibition of tyrosinase activity by the mangosteen pericarp extract in cream was not influenced by the method of cream manufacture, that is cold and hot methods.

Keywords : cream, mangosteen pericarp extract, physical stability, tyrosinase inhibition activity.
xii + 49 page : 36 picture, 14 table, 9 appendix
reference : 44(1971-2010)

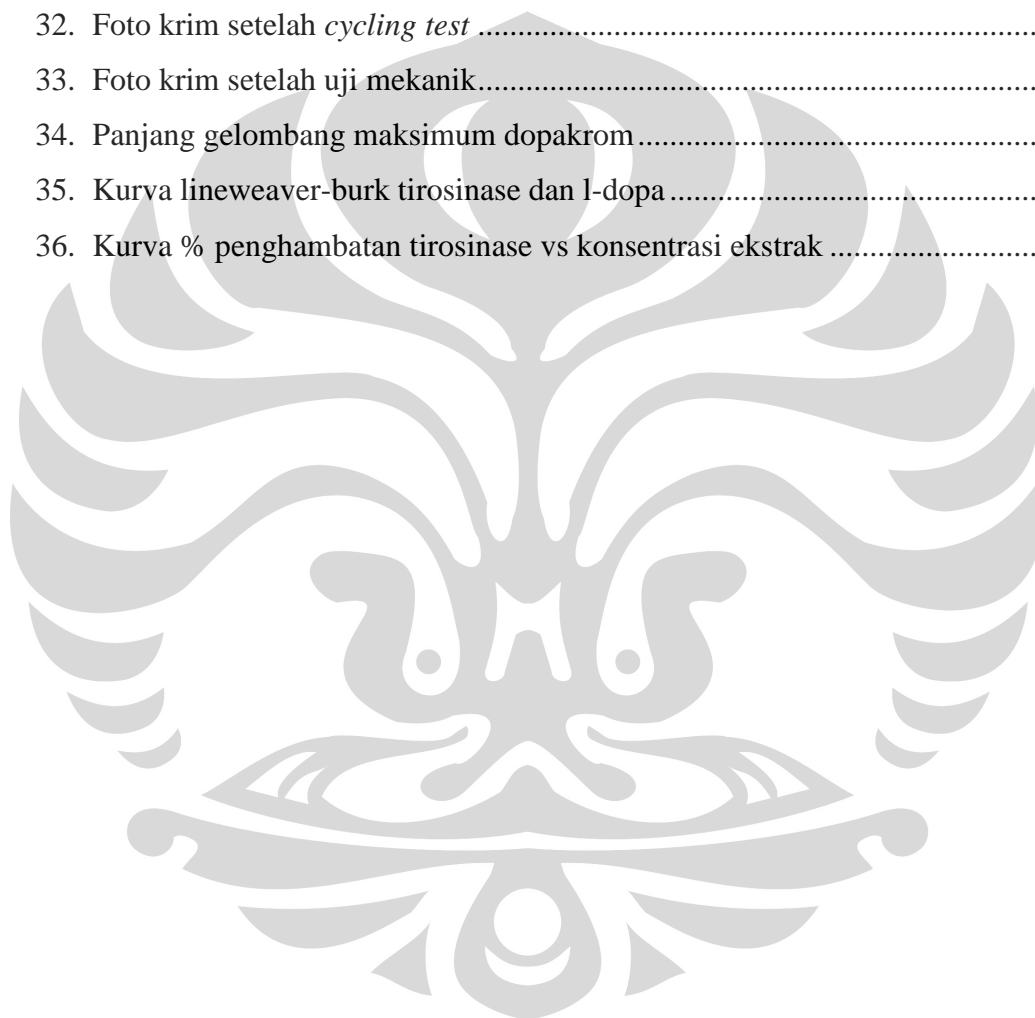
DAFTAR ISI

Halaman judul	i
Halaman pernyataan orisinalitas	ii
Halaman pengesahan.....	iii
Kata pengantar	iv
Halaman persetujuan publikasi karya ilmiah	v
Abstrak	vi
Abstract	vii
Daftar isi.....	viii
Daftar gambar.....	ix
Daftar tabel.....	xi
Daftar lampiran	xii
Bab 1 Pendahuluan.....	1
1.1 Latar belakang	3
1.2 Tujuan penelitian	4
Bab 2 Tinjauan pustaka.....	4
2.1 Mekanisme pigmentasi	4
2.2 Manggis (<i>garcinia mangostana</i> L.)	5
2.3 Krim dan metode pembuatan krim	8
2.4 Kinetika Enzim dan Uji Inhibisi Tirosinase	15
2.5 Spektrofotometer uv-vis	19
2.6 Formulasi krim.....	20
Bab 3 Metode penelitian	24
3.1 Alat dan Bahan	24
3.2 Cara kerja.....	25
Bab 4 Hasil dan pembahasan	34
4.1 Hasil.....	34
4.2 Pembahasan	36
Bab 5 Kesimpulan dan saran.....	46
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran	46
Daftar acuan	47

DAFTAR GAMBAR

1. Mekanisme reaksi pembentukan melanin	5
2. Foto buah manggis (<i>garcinia mangostana l.</i>)	5
3. Rumus bangun beberapa senyawa derivat xanthone (mangostin) dalam kulit buah manggis.	7
4. Kurva michaelis-menten	16
5. Kurva lineweaver-burk	16
6. Kurva lineweaver-burk tipe inhibitor.....	17
7. Spektrum elektromagnetik	19
8. Reaksi pembentukan dopakrom	43
9. Perbandingan aktivitas inhibisi tirosinase krim ekstrak kulit buah manggis	43
10. Ekstrak kental kulit buah manggis (<i>garcinia mangostana l.</i>).....	51
11. Foto awal krim kulit buah manggis 1,5%	51
12. Foto uji stabilitas krim ekstrak kulit buah manggis pada suhu kamar	51
13. Foto uji stabilitas krim ekstrak kulit buah manggis pada suhu rendah.....	52
14. Foto uji stabilitas krim ekstrak kulit buah manggis pada suhu tinggi.....	52
15. Kurva perubahan pH krim pada penyimpanan suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi	53
16. Reogram krim metode dingin minggu ke- 0 dan ke- 8	54
17. Reogram krim metode panas pada minggu ke-0 dan ke- 8.....	55
18. Gambar diameter globul awal krim	55
19. Gambar diameter globul krim minggu ke 2 suhu rendah	56
20. Gambar diameter globul krim minggu ke 2 suhu kamar	56
21. Gambar diameter globul krim minggu ke 2 suhu tinggi	56
22. Gambar diameter globul krim minggu ke 4 suhu rendah	56
23. Gambar diameter globul krim minggu ke 4 suhu kamar	57
24. Gambar diameter globul krim minggu ke 4 suhu tinggi	57
25. Gambar diameter globul krim minggu ke 6 suhu rendah	57

26. Gambar diameter globul krim minggu ke 6 suhu kamar	57
27. Gambar diameter globul krim minggu ke 6 suhu tinggi	58
28. Gambar diameter globul krim minggu ke 8 suhu rendah	58
29. Gambar diameter globul krim minggu ke 8 suhu kamar	58
30. Gambar diameter globul krim minggu ke 8 suhu tinggi	58
31. Perubahan diameter globul krim pada penyimpanan berbagai suhu selama 8 minggu	59
32. Foto krim setelah <i>cycling test</i>	59
33. Foto krim setelah uji mekanik.....	60
34. Panjang gelombang maksimum dopakrom.....	60
35. Kurva lineweaver-burk tirosinase dan l-dopa	60
36. Kurva % penghambatan tirosinase vs konsentrasi ekstrak	61

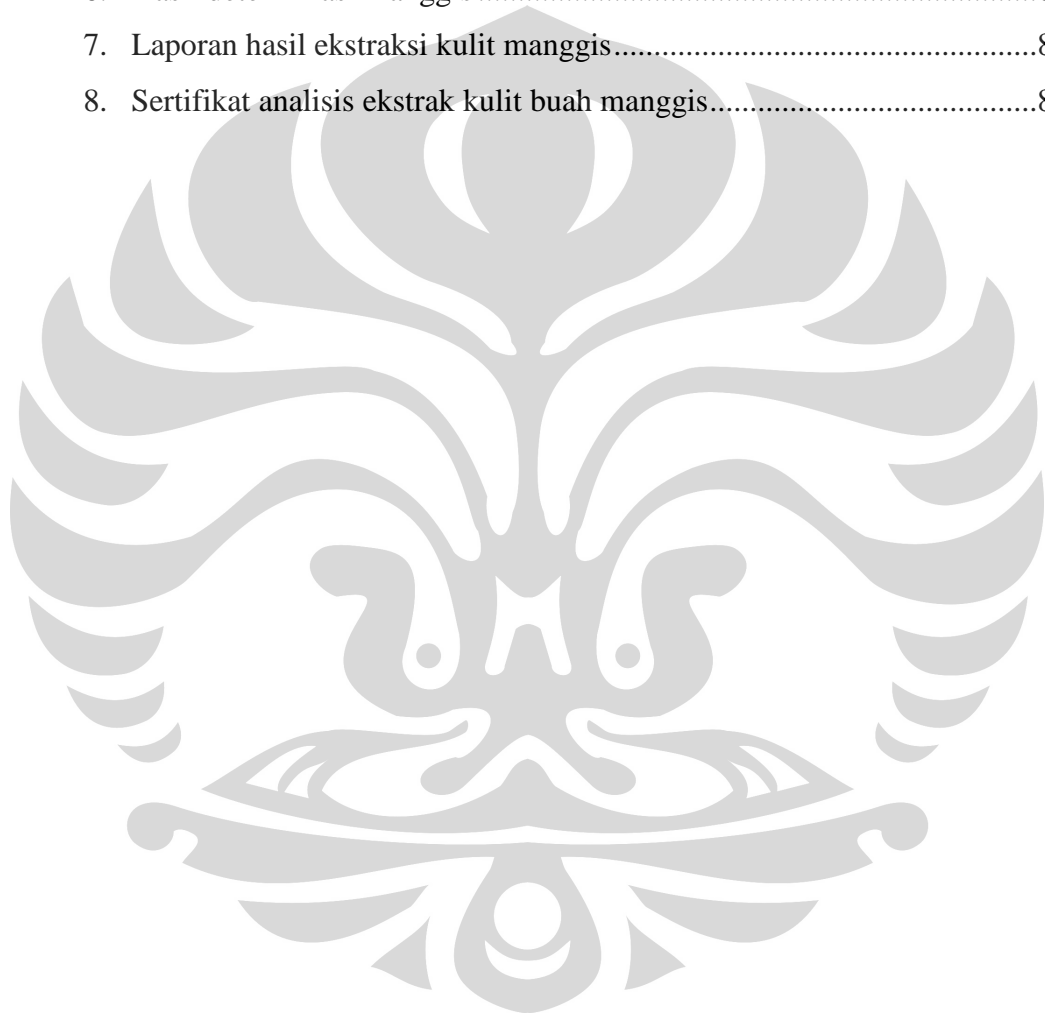


DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Persentase komposisi bahan dalam krim	25
2. Hasil evaluasi krim	62
3. Pengamatan organoleptis krim suhu rendah.....	62
4. Pengamatan organoleptis krim suhu kamar.....	63
5. Pengamatan organoleptis krim suhu tinggi	63
6. Pengukuran pH.....	64
7. Pengukuran diameter globul krim.....	64
8. Nilai viskositas krim awal (minggu ke 0).....	65
9. Nilai viskositas krim minggu ke 8	66
10. <i>Cycling Test</i>	67
11. Uji mekanik.....	67
12. Nilai konsistensi krim	67
13. Data Kurva Lineweaver-Burk L-Dopa dengan dan tanpa inhibitor.....	68
14. Pengukuran aktivitas inhibisi ekstrak kulit manggis	69
15. Pengukuran aktivitas inhibisi tirosinase krim.....	69

DAFTAR LAMPIRAN

1. Perhitungan diameter globul rata-rata krim	70
2. Perhitungan aktivitas inhibisi tirosinase ekstrak kulit buah manggis	79
3. Perhitungan aktivitas inhibisi tirosinase krim	80
4. Sertifikat analisis tirosinase	81
5. Sertifikat analisis Levodopa	82
6. Hasil determinasi manggis	83
7. Laporan hasil ekstraksi kulit manggis	84
8. Sertifikat analisis ekstrak kulit buah manggis	85



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Dewasa ini, kosmetik telah banyak digunakan tidak hanya oleh wanita, tetapi juga oleh pria. Sediaan krim *skin whitening* merupakan salah satu produk kosmetik yang paling banyak diminati oleh masyarakat terutama wanita dewasa yang ingin menjaga kulitnya agar menjadi lebih cerah dan putih. Hal ini disebabkan sebagian besar penduduk Indonesia memiliki kulit yang lebih gelap dari ras-ras kulit bangsa lain di dunia. Kulit yang memiliki warna gelap dikarenakan adanya pigmen eumelanin yang lebih dominan yang memberikan warna gelap, terutama hitam, coklat dan variasinya (Tranggono & Latifah, 2007).

Intensitas warna kulit secara fundamental ditentukan oleh jumlah melanosom yang terdapat di dalam keratinosit dan melanosit, kecepatan melanogenesis di dalam melanosit, dan kecepatan transfer di dalam populasi keratinosit (Tranggono & Latifah, 2007). Salah satu cara untuk mengurangi pigmentasi kulit adalah dengan membatasi produksi melanin dengan menghambat aktivitas tirosinase. Tirosinase mengkatalisis proses pembentukan melanin (Rosen, 2005). Saat ini telah dikembangkan bahan aktif dalam tanaman yang dapat menghambat tirosinase yang digunakan dalam sediaan krim *skin whitening* diantaranya ekstrak licorice, mulberi, teh hijau, dan lain-lain (Djajadisastra, 2003; Gupta, 2001). Biasanya ekstrak tanaman tersebut dalam sediaan krim *skin whitening* digunakan pada konsentrasi 1-10% (Gupta, 2001).

Manggis adalah tanaman yang paling banyak ditemukan di Asia termasuk Indonesia (Tadtong, 2009). Pohonnya dapat mencapai tinggi 6-25 meter dan mempunyai buah berwarna ungu gelap hingga ungu kemerahan. Daging buah manggis berwarna putih, lunak, rasanya manis asam, dan beraroma menyenangkan (Kingham, Jung, Su, Keller & Mehta, 2006). Kulit buah manggis telah diketahui mengandung xanthone dan derivatnya, seperti α -, β -, γ -mangostins yang mempunyai aktivitas biologi sebagai antioksidan, antitumor, antibakterial, antiviral, antifungal, antialergi, dan antiinflamasi (Tadtong, 2009). Penelitian selanjutnya dikatakan bahwa kandungan xanton pada kulit buah manggis juga

memiliki aktivitas inhibisi tirosinase (Tadtong, 2009; Srichayanurak & Phadungkit, 2008).

Dalam penelitian ini digunakan ekstrak manggis yang berasal dari kulit manggis untuk diformulasikan sebagai bahan aktif dalam krim. Krim merupakan sediaan setengah padat berupa emulsi minyak dan air. Krim biasa digunakan dalam produk kosmetik karena penyebarannya yang merata dan mudah dibersihkan, khususnya krim emulsi minyak dalam air (Ansel, 1989).

Terdapat dua metode pembuatan krim, yaitu metode panas dan dingin. Pembuatan krim metode panas dilakukan pada suhu sekitar 70°C sedangkan metode dingin merupakan pembuatan krim tanpa pemanasan pada suhu kurang dari 40°C atau pada suhu kamar (Falestin, 2009). Dalam pembuatan krim metode panas, fase minyak atau lemak dipanaskan pada suhu 70-75°C hingga melebur sempurna. Proses ini memerlukan suhu yang tinggi dan energi mekanik yang besar sehingga untuk *batch* yang besar akan memakan waktu dan biaya (Miller, Henning, Johannpeter & Wiener, 2003). Terdapat pula resiko degradasi bahan aktif akibat pemanasan yang terlalu tinggi (Gutu & Mores, 2000).

Saat ini telah dikembangkan metode pembuatan krim yang dapat menghemat energi dan biaya, yaitu krim metode dingin. Krim dibuat tanpa pemanasan, yaitu pada suhu kurang dari 40°C atau suhu ruang (Gutu & Mores, 2000). Keuntungan dari metode ini, yaitu prosesnya mudah, menghemat waktu produksi dan meningkatkan kapasitas produksi. Bahan yang digunakan untuk pembuatan krim metode dingin adalah bahan-bahan yang tidak memerlukan peleburan dan sudah dalam bentuk basis yang terdiri dari wax, surfaktan, dan humektan (Kurth, 2009).

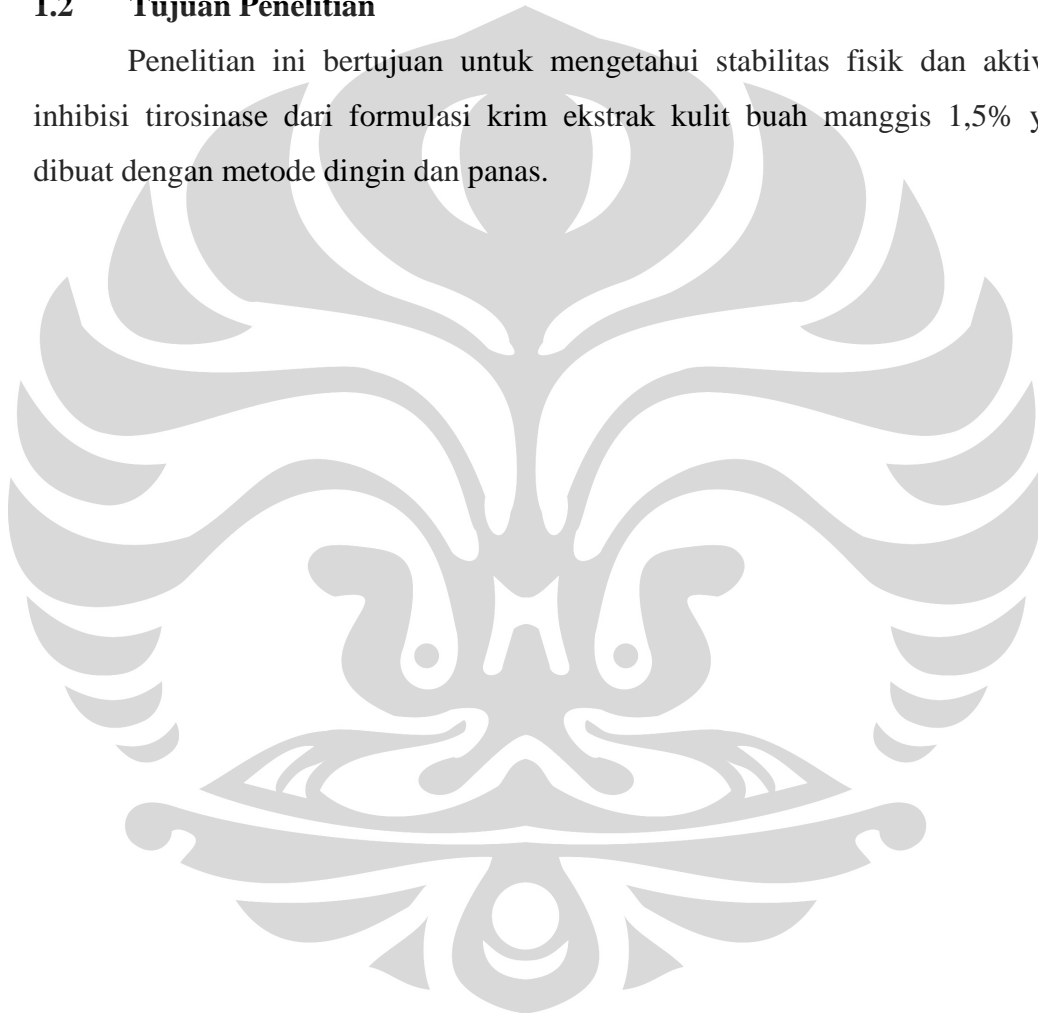
Untuk mengetahui aktivitas inhibisi tirosinase oleh ekstrak kulit manggis yang diformulasikan dalam krim, dilakukan uji menggunakan metode dopakrom (Srichayanurak & Phadungkit, 2008). Kemudian aktivitas tirosinase diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Tadtong, 2009). Perbedaan metode pembuatan krim ekstrak kulit manggis mungkin mempengaruhi aktivitas inhibisi tirosinase.

Pertimbangan yang terpenting bagi sediaan krim dalam bidang farmasi dan kosmetik adalah stabilitas dari produk jadi (Martin, 1993). Sediaan kosmetik yang

stabil masih berada dalam batas yang dapat diterima selama periode penyimpanan dan penggunaan, yaitu sifat dan karakteristiknya sama dengan saat dibuat (Djajadisastra, 2003). Adanya ekstrak kulit manggis dalam sediaan krim mungkin akan mempengaruhi kestabilan fisik krim sehingga perlu dilakukan uji kestabilan fisik krim dari setiap metode pembuatan krim yang mengandung ekstrak kulit manggis sebesar 1,5 %

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas fisik dan aktivitas inhibisi tirosinase dari formulasi krim ekstrak kulit buah manggis 1,5% yang dibuat dengan metode dingin dan panas.



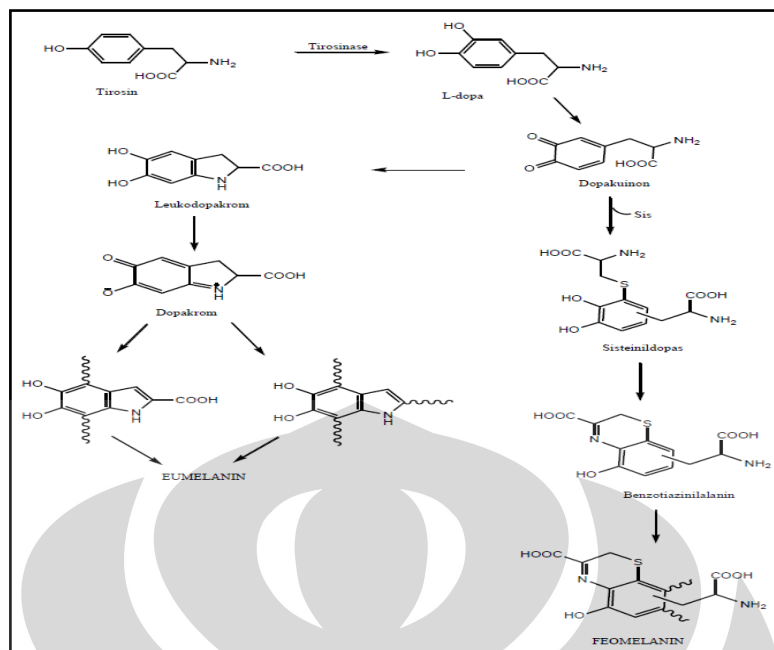
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mekanisme pigmentasi

Proses pembentukan pigmen melanin (melanogenesis) terjadi pada butir-butir melanosom yang dihasilkan oleh sel-sel melanosit yang terdapat diantara sel-sel basal keratinosit di dalam lapisan basal (stratum germinativum) (Tranggono & Latifah, 2007). Pembentukan melanin dipengaruhi oleh genetik, faktor lingkungan, diet, dan pengobatan. *Rate-limiting step* dalam melanogenesis yaitu konversi dari L-tirosin menjadi melanin melalui aksi tirosinase (Majeed, M & Prakash, L, 2008).

Pertama-tama tirosin dioksidasi oleh tirosinase menjadi dihidroksifenilalanin (l-dopa), kemudian menjadi dopakuinon. Dopakuinon dikonversi menjadi eumelanin (hitam,putih, tipe kulit ras Asia) atau feomelanin (merah,kuning). Proses konversi ini melalui pembentukan segera leukodopakrom dan dopakrom (eumelanin) atau sistenildopa (feomelanin) (Majeed, M & Prakash, L, 2008). Bila ada penambahan sistein dan glutation pada dopakuinon akan menyebabkan reaksi enzim yang cepat pada metabolisme melanosit. Pembentukan eumelanin dan peomelanin berada dibawah pengawasan genetik dan sangat tergantung pada kandungan sulfhidril dalam sel melanosit tersebut (Tranggono & Latifah, 2007).

Hal ini menerangkan kemungkinan terjadinya pencampuran kedua warna eumelanin dan feomelanin bila kandungan sulfhidril tidak terlalu rendah untuk menghasilkan eumelanin atau terlalu tinggi untuk mengubah semua dopakuinon menjadi sistenildopa (Tranggono & Latifah, 2007).



Gambar 1. Reaksi pembentukan melanin (Supriyanti, Zackiyah, Putri (tanpa tahun))

2.2 Manggis (*Garcinia mangostana* L.)



Gambar 2. Manggis (*Garcinia mangostana* L.) (Prihatman, 2000)

2.2.1 Taksonomi (Jones & Luchsinger, 1987; Sugati & Ria, 1991)

Kingdom : Plantae
 Divisi : Spermatophyta
 Subdivisi : Angiospermae
 Kelas : Dicotyledonae
 Subkelas : Dilleniidae
 Ordo : Theales
 Famili : Clusiaceae (Guttiferae)
 Genus : *Garcinia*
 Spesies : *Garcinia mangostana* L.

2.2.2 Nama lain

Manggis tumbuh di berbagai daerah di Indonesia, sehingga memiliki berbagai nama seperti di Aceh: Manggoita; di Sumatera Barat: Manggista; di Manado: Manggusta; di Maluku: Manggustan; dan di Makasar: Kirasa (Heyne, 1987).

Manggis juga tumbuh di Negara-negara di dunia dan memiliki berbagai nama, seperti di Belanda: Mangistan; di Prancis: Mangoustan; di Inggris: Mangosteen; di Thailand: Mangkhut; dan di Vietnam: Cang mang cut. (Heyne, 1987; Verheji & Coroner 1997).

2.2.3 Morfologi

Pohon buah manggis merupakan pohon yang selalu hijau daunnya, tingginya sampai 25 m dan besar batangnya 45 cm (Heyne, 1987). Batangnya tegak, kulit batangnya coklat, dan memiliki getah kuning. Pohon manggis mempunyai daun tunggal, bentuk elips memanjang dengan ukuran 12-23 x 4,5-10 cm, dan tangkainya 1,5-2 cm. Bunga betina 1-3 di ujung batang, susunan menggarpu, garis tengah 5-6 cm (18). Buah manggis berbentuk bulat dengan diameter 6-8 cm, berwarna coklat keunguan, dan daging buahnya berwarna putih. Biji berbentuk bulat dengan diameter 2 cm, berwarna kuning, dan dalam satu buah terdapat 5-7 biji. Akar pohonnya tunggang berwarna putih kecoklatan (Sugati & Ria, 1991).

2.2.4 Ekologi dan Penyebaran

Berbagai jenis manggis sebagian besar ditemukan pada iklim tropis yang hangat dan lembab seperti di Asia dan Asia Tenggara. Pohon manggis memerlukan suplai air yang tidak terganggu pada musim kemarau selama 15-30 hari. Pohon manggis tumbuh pada rentang suhu 25-35°C dengan kelembaban lebih dari 80%, tetapi pada rentang suhu 20-25°C juga dapat diterima untuk panen. Tanah yang paling baik untuk ditanami pohon manggis adalah berpori, dalam, basah, asam, dan kaya akan unsur organik (Osman & Milan, 2006).

Manggis hanya diketahui sebagai tanaman budidaya. Pembudidayaan tanaman ini telah lama hanya terbatas di kawasan Asia Tenggara saja, yaitu

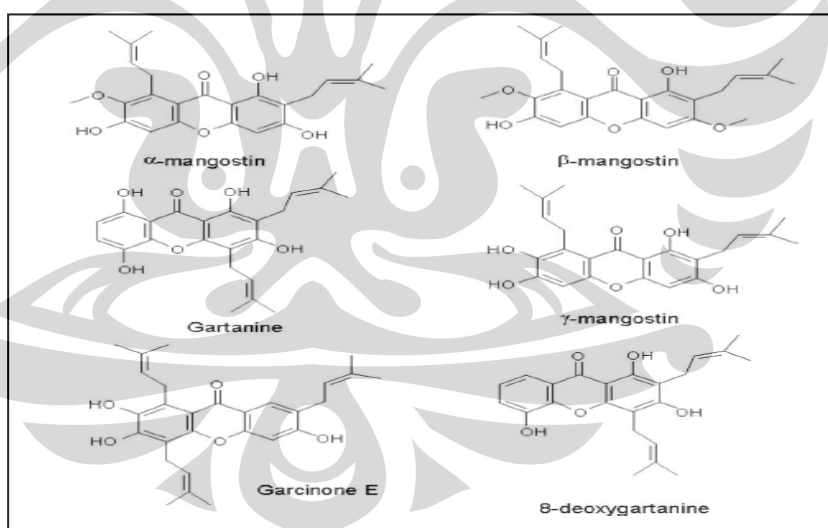
di Indonesia, New Guinea, Mindanao (Filipina), Semenanjung Malaysia, Thailand, Burma, Vietnam, hingga Kamboja (*Flora Kita*, n.d).

2.2.5 Kandungan Kimia

Batang pohon manggis mengandung tannin. Daging buahnya mengandung 7-13% tannin dan bijinya mengandung 3% minyak. Pada kulit buah manggis terdapat kandungan tannin, resin, dan derivat xanton. Beberapa derivat xanton tersebut di antara lain α - mangostin, β - mangostin, γ - mangostin, gartanin, garsinone E. Selain itu terdapat zat yang berperan pada pewarnaan kulit manggis (coklat-ungu), yaitu antosianin (sianidin-3-soforosida dan sianidin glukosida) (Dweck, 2009; Mardawati et al, 2008).

2.2.6 Khasiat dan kegunaan

Derivat xanton dalam kulit manggis memiliki aktivitas antioksidan kuat sehingga dapat menghambat oksidasi L-Dopa menjadi dopakuinon dalam sintesis pigmen melanin. Dengan kata lain derivat xanton tersebut merupakan inhibitor tirosinase, yang mengkatalis oksidasi L-Dopa tersebut. (Tadtong, 2009; Dweck, 2009).



Gambar 3. Rumus bangun beberapa senyawa derivat xanton (mangostin) dalam kulit buah manggis (Chaverri JP et al, 2008)

2.3 Krim dan Metode Pembuatan Krim

Menurut Farmakope Indonesia jilid III, krim adalah sediaan setengah padat, berupa emulsi mengandung air tidak kurang dari 60% dan dimaksudkan untuk pemakaian luar (*Farmakope Indonesia*, 1979).

Sedangkan menurut Farmakope Indonesia jilid IV, krim adalah bentuk sediaan setengah padat mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai (*Farmakope Indonesia*, 1995).

Suatu emulsi adalah suatu sistem yang tidak stabil secara termodinamik yang mengandung paling sedikit dua fase cairan yang tidak bercampur, di mana satu di antaranya didispersikan sebagai bola-bola dalam fase cair lain (Martin, 1993). Terdapat dua tipe emulsi, yaitu jika minyak yang merupakan fase terdispersi dan larutan air merupakan fase pembawa, sistem ini disebut emulsi minyak dalam air M/A. Sebaliknya, jika air atau larutan air yang merupakan fase terdispersi dan minyak atau bahan seperti minyak merupakan fase pembawa, sistem ini disebut emulsi air dalam minyak A/M (King & Barker, 1971).

Kegagalan dari dua cairan yang tidak dapat bercampur untuk tetap bercampur diterangkan dengan kenyataan bahwa gaya kohesif antara molekul-molekul dari tiap cairan yang memisah lebih besar dari pada gaya adhesif antara kedua cairan. Gaya kohesif dari tiap-tiap fase dinyatakan sebagai suatu energi antarmuka atau tegangan pada batas antara cairan-cairan (Martin, 1993). Umur hidup dari tetesan ditingkatkan jika suatu pengemulsi ditambahkan pada kedua cairan yang saling tidak bercampur tersebut (Rieger, 1994)

Tegangan antarmuka adalah gaya persatuan panjang yang terdapat pada antarmuka dua fase cair yang tidak bercampur dan seperti tegangan permukaan, mempunyai satuan dyne/cm (Martin, 1993). Pernyataan ini dapat dinyatakan dalam persamaan di bawah ini.

$$\gamma = \frac{W}{\Delta A}$$

dimana γ adalah tegangan permukaan, W adalah energi yang dibutuhkan untuk memperluas permukaan atau energi bebas permukaan, dan ΔA adalah kenaikan luas permukaan (King & Barker, 1971).

Suatu energi bebas antarmuka yang tinggi cenderung untuk mengurangi daerah antarmuka yang membuat sistem tersebut tidak stabil secara termodinamik, dimana partikel-partikel tersebut berenergi tinggi dan cenderung untuk mengelompok kembali sedemikian rupa untuk mengurangi

luas permukaan total dan memperkecil energi bebas antarmuka untuk mencapai suatu keadaan yang stabil (Martin, 1993).

Krim tersusun atas tiga bahan, yaitu bahan dasar, bahan aktif dan bahan tambahan. Bahan dasar terdiri atas fase minyak, fase air dan emulgator sedangkan bahan tambahan seperti pengawet, pengkhelet, pengental, pelembab, pewarna dan pewangi ditambahkan pada krim untuk memenuhi karakteristik yang diinginkan (Rieger, 1994)

Emulgator atau zat pengemulsi merupakan komponen yang paling penting agar memperoleh emulsi yang stabil (Anief, 2000). Emulgator bisa dibagi menjadi 3 golongan, yaitu zat aktif permukaan, koloida hidrofilik, dan partikel padat (Martin, 1993). Pemilihan emulgator harus disesuaikan dengan jenis dan sifat krim yang dikehendaki (*Farmakope Indonesia*, 1979). Agar berguna dalam sediaan farmasi, emulgator harus mempunyai kualitas tertentu, yaitu harus dapat dicampurkan dengan bahan formulatif lainnya dan tidak boleh mengganggu stabilitas atau efikasi dari zat aktif, harus stabil, tidak bersifat toksik, dan juga harus mempunyai bau, warna dan rasa yang lemah (Ansel, 1989).

Humektan digunakan untuk mencegah penguapan air baik dari sediaan maupun dari permukaan kulit, selain itu juga digunakan untuk mencegah kekeringan dan meningkatkan kekentalan. Bahan-bahan yang biasanya digunakan sebagai humektan pada krim adalah gliserol, propilen glikol dan sorbitol dengan konsentrasi sekitar 5% (Billany, 2006).

Antioksidan digunakan untuk mencegah ketengikan pada krim karena krim mengandung minyak. Hal-hal yang harus diperhatikan dalam pemilihan antioksidan adalah warna, bau, potensi, sifat iritan, toksisitas, stabilitas, dan kompatibilitas (Lund, 1994)

Pengawet digunakan untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme. Pengawet yang cocok untuk digunakan pada krim adalah pengawet yang mempunyai spektrum aktivitas yang luas, lebih baik bersifat bakterisid, tidak toksik, mempunyai kelarutan yang tinggi dalam air, kompatibel dengan bahan lainnya, stabil dan aktif dalam rentang pH yang luas, tidak berbau dan berasa (Lund, 1994)

Ada beberapa metode pembuatan sediaan emulsi, yaitu: metode gom kering (metode kontinental), metode gom basah (metode inggris), metode botol, dan metode beaker . Metode gom kering cocok untuk emulsi yang dibuat dari emulsifier gom kering. Emulsi utama dibentuk dengan menggunakan seluruh minyak yang dibutuhkan. Gom kering sebanyak satu perempat bagian minyak didispersikan ke dalamnya. Ketika gom didispersikan ke dalam minyak, air ditambahkan sebanyak setengah bagian minyak, pada saat yang sama, diaduk secara cepat hingga terbentuk korpus emulsi. Setelah terbentuk korpus emulsi, sisa air ditambahkan sedikit demi sedikit hingga habis sambil diaduk (King & Barker, 1971).

Metode gom basah cocok untuk pembuatan emulsi menggunakan musilago atau gom mudah larut sebagai agen pengemulsi. Metode ini dipilih jika emulgator yang digunakan harus dilarutkan/didispersikan terlebih dahulu kedalam air misalnya metilselulosa. Satu bagian gom dilarutkan dalam 2 bagian air, kemudian minyak ditambahkan sedikit demi sedikit sambil diaduk dengan cepat hingga terbentuk korpus emulsi. Ketika minyak sudah ditambahkan semua, cukupkan volume emulsi dengan air (King & Barker, 1971).

Metode botol digunakan untuk emulsi dari bahan-bahan menguap dan minyak-minyak dengan kekentalan yang rendah. Metode ini merupakan variasi dari metode gom kering atau metode gom basah. Emulsi terutama dibuat dengan pengocokan kuat dan kemudian diencerkan dengan fase luar. Dalam botol kering, emulgator yang digunakan satu perempat bagian dari jumlah minyak. Ditambahkan dua bagian air lalu dikocok kuat-kuat, suatu volume air yang sama banyak dengan minyak ditambahkan sedikit demi sedikit sambil terus dikocok, setelah emulsi utama terbentuk, dapat diencerkan dengan air sampai volume yang tepat (King & Barker, 1971).

Metode Beaker digunakan untuk pembuatan emulsi menggunakan surfaktan sintetis sebagai agen pengemulsi. Bahan-bahan dibagi menjadi dua fase, yaitu fase air dan minyak. Kemudian surfaktan dilarutkan ke dalam salah satu fase dimana surfaktan tersebut mudah larut. Jika perlu melelehkan beberapa bahan, komponen-komponen dari dua fase dimasukan

ke dalam beaker terpisah dan diletakan di atas water bath, kemudian dipanaskan pada suhu 70°C. Ketika dua fase tersebut mencapai suhu yang sama, fase internal ditambahkan ke fase eksternal sambil diaduk dengan cepat sebelum mengalami pendinginan (King & Barker, 1971).

Saat ini telah dikembangkan metode pembuatan emulsi yang dapat menghemat energi dan biaya. Pada industri *skin care*, teknologi yang penting dalam hal ini adalah emulsifikasi proses dingin, yang menggunakan energi lebih sedikit karena tidak ada pemanasan atau pelelehan bahan yang digunakan. Keuntungan dari metode ini banyak dan bervariasi, yaitu prosesnya mudah, menghemat waktu produksi dan meningkatkan kapasitas produksi. Cara yang mudah untuk membuat emulsi dengan proses dingin adalah dengan menggunakan konsentrat emulsi, konsentrat emulsi cair berwarna putih dengan bau yang lemah cocok untuk penggunaan dalam kosmetik. Konsentrat emulsi mengandung bahan-bahan kosmetik emulsi minyak dalam air (Kurth, 2009)

Pertimbangan yang terpenting bagi sediaan emulsi dalam bidang farmasi dan kosmetik adalah stabilitas dari produk jadi (Martin, 1993). Stabilitas didefinisikan sebagai kemampuan suatu produk obat atau kosmetika untuk bertahan dalam batas spesifikasi yang ditetapkan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan untuk menjamin identitas, kekuatan, kualitas dan kemurnian produk tersebut (Djajadisastra, 2004).

Sediaan kosmetika yang stabil adalah suatu sediaan yang masih berada dalam batas yang dapat diterima selama periode penyimpanan dan penggunaan, dimana sifat dan karakteristiknya sama dengan yang dimilikinya pada saat dibuat (Djajadisastra, 2004). Penyimpanan tiga bulan pada suhu 37-45°C tanpa adanya tanda ketidakstabilan menunjukkan bahwa produk stabil pada suhu kamar 25-30°C selama lebih kurang setahun, dengan menganggap bahwa reaksi yang terjadi pada suhu yang dinaikkan sama dengan reaksi yang terjadi pada suhu kamar (Rieger, 2001).

Kestabilan dari emulsi mempunyai ciri tidak adanya penggabungan fase dalam, tidak adanya *creaming*, dan memberikan penampilan, bau, warna dan sifat-sifat fisik lainnya yang sama dengan yang dimilikinya pada saat

dibuat (Martin, 1993). Suatu emulsi dianggap tidak stabil secara fisik jika menunjukkan peristiwa-peristiwa sebagai berikut :

a. *Creaming*

Fenomena ini terjadi karena penggabungan partikel yang disebabkan oleh adanya energi bebas permukaan. *Creaming* adalah terjadinya lapisan-lapisan dengan konsentrasi yang berbeda-beda di dalam suatu emulsi. *Creaming* ke arah atas terjadi dalam suatu emulsi yang tidak stabil dimana fase dalam mempunyai kerapatan lebih kecil daripada kerapatan fase luar. *Creaming* ke arah bawah dalam emulsi yang tidak stabil dimana kerapatan fase dalam lebih besar daripada kerapatan fase luar (Ansel, 1989). Emulsi yang mengalami ketidakstabilan seperti ini, masih dapat diperbaiki dengan pengocokan karena film antar permukaan masih ada (Martin, 1993; Lund, 1994).

Faktor-faktor dalam persamaan Stokes dapat diubah untuk mengurangi laju *creaming* (Rieger, 1994):

1. Memproduksi emulsi dengan ukuran tetesan yang kecil.
2. Meningkatkan viskositas fase kontinu.
3. Memperkecil perbedaan kerapatan antara fase kontinu dan fase terdispersi.
4. Mengatur konsentrasi fase terdispersi.

b. Flokulasi

Flokulasi adalah penggabungan partikel-partikel akibat gaya tarik menarik melebihi gaya tolak-menolak jika potensial zeta dikurangi di bawah harga tertentu. Potensial zeta inilah yang mengatur derajat tolak-menolak antara partikel-partikel terdispersi yang bermuatan sama dan saling berdekatan. Emulsi yang mengalami ketidakstabilan seperti ini masih dapat diperbaiki dengan pengocokan karena bola-bola minyak masih dikelilingi oleh suatu lapisan zat pengemulsi. (Martin, 1993)

c. *Breaking*

Breaking harus dilihat secara terpisah dari *creaming*, karena *breaking* merupakan proses searah, sedangkan *creaming* merupakan suatu proses

bolak-balik. Krim yang mengalami *creaming* bisa didispersikan kembali dengan mudah, dan dapat terbentuk kembali suatu campuran yang homogen dengan pengocokan karena bola-bola minyak masih dikelilingi oleh suatu lapisan pelindung dari zat pengemulsi. Jika terjadi *breaking*, pencampuran biasa tidak dapat mensuspensikan kembali bola-bola minyak dalam suatu bentuk emulsi yang stabil, karena lapisan yang mengelilingi partikel-partikel tersebut telah dirusak dan minyak cenderung untuk bergabung (Martin, 1993)

d. Inversi

Inversi adalah peristiwa dimana fase luar menjadi fase dalam dan sebaliknya (Jones, 1008)

Prosedur uji stabilitas produk dimaksudkan agar diperoleh informasi yang diinginkan sesingkat mungkin. Untuk itu sampel disimpan pada kondisi yang dirancang untuk mempercepat terjadinya perubahan yang biasanya terjadi pada kondisi normal (Cannel, 1985).

Prosedur pengujian tersebut meliputi (Cannel, 1985) :

a. *Elevated temperatur*

Secara umum dapat diperkirakan bahwa setiap kenaikan suhu 10°C akan mempercepat reaksi dua kalinya. Penyimpanan sampel pada suhu yang sangat tinggi merupakan indikator kestabilan bukan ketidakstabilan (Cannel, 1985).

Untuk kebanyakan emulsi, industri farmasi melakukan uji evaluasi di bawah kondisi eksperimen 5°C , 40°C dan 50°C . Stabilitas baik pada 5°C dan 40°C selama 3 bulan dianggap sebagai stabilitas minimum yang dimiliki oleh suatu emulsi (Ansel, 1989).

b. *Cycling test*

Pengujian stabilitas produk dengan menggunakan perubahan temperatur dan atau kelembaban dalam interval waktu tertentu sehingga produk dalam kemasannya akan mengalami tekanan yang bervariasi daripada tekanan yang statis yang kadang-kadang lebih parah daripada penyimpanan hanya dalam satu kondisi saja. *Cycling test* diterapkan untuk menguji produk cair terhadap kemungkinan mengalami kristalisasi atau berawan, dan untuk

menguji emulsi dan krim sebagai indikator kestabilan emulsi. Setelah sampel melewati 6 siklus, dimana 1 siklusnya disimpan pada suhu $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam, lalu dipindahkan ke oven bersuhu $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam kemudian diamati perubahan fisik yang terjadi. Jika tidak terjadi pemisahan fase berarti sediaan tersebut dinyatakan stabil secara fisik dan kimia dan dapat dibawa ke daerah yang suhunya $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ dan $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ (Cannel, 1985).

c. Uji mekanik (sentrifugasi)

Umumnya diterima bahwa *shelf-life* pada kondisi penyimpanan normal diramalkan dengan cepat mengamati pemisahan dari fase terdispersi karena *creaming* atau penggumpalan bila emulsi dipaparkan pada sentrifugasi. Becher menyatakan bahwa sentrifugasi pada 3750 rpm dalam suatu radius sentrifugasi 10 cm untuk waktu 5 jam setara dengan efek gravitasi untuk kira-kira 1 tahun (Rieger, 1994).

Adapun parameter dari uji kestabilan krim yaitu (Lieberman, Rieger & Banker, 1988):

a. Organoleptis atau penampilan fisik

Diamati adanya perubahan atau pemisahan fase emulsi, timbul bau atau tidak serta terjadinya perubahan warna.

b. Viskositas

Viskositas merupakan tahanan suatu cairan untuk mengalir. Umumnya krim termasuk dalam tipe aliran Non-Newton (Martin, 1993). Kenaikan viskositas akan meningkatkan kestabilan sediaan. Terdapat korelasi antara viskositas dengan ukuran globul, semakin kecil ukuran globul dan semakin besar volume rasio, maka viskositas akan semakin tinggi. Viskositas emulsi akan menurun jika temperatur dinaikkan, dan akan meningkat bila temperatur rendah. Hal ini karena panas yang diperoleh akan memperbesar jarak antar atom sehingga gaya antar atom akan berkurang, jarak menjadi renggang mengakibatkan viskositas krim menurun (Djajadisastra, 2004).

c. Ukuran partikel

Ukuran partikel merupakan indikator utama untuk kecenderungan terjadinya *creaming* atau *breaking* (Djajadisastra, 2004). Analisis ukuran

partikel dapat menggunakan mikroskop optik, pengayakan ataupun sedimentasi. Ukuran partikel dari fase terdispersi menentukan penampilan dan viskositas krim. Diameter globul krim umumnya berkisar antara 0,1 µm sampai dengan 10 µm (Martin, 1993).

c. pH

pH krim sebaiknya sesuai dengan pH kulit, yaitu sekitar 4,5-6,5 karena jika pH krim terlalu basa akan menyebabkan kulit bersisik dan sebaliknya jika pH krim terlalu asam dapat menyebabkan iritasi (Falestin, 2009).

2.4. Kinetika Enzim dan Uji Inhibisi Tirosinase

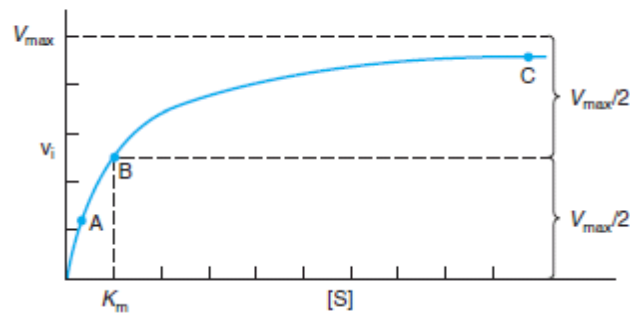
2.4.1 Kinetika Enzim (Murray et al, 2006)

Enzim adalah polimer biologis yang mengkatalisis reaksi kimia. Enzim yang mengkatalisis perubahan satu atau lebih substrat menjadi satu atau lebih produk meningkatkan kecepatan reaksi nonkatalis dengan faktor paling sedikit 10^6 . Kinetika enzim merupakan bagian dari biokimia yang mempelajari pengukuran kuantitatif kecepatan reaksi katalisis enzim dan faktor yang mempengaruhi kecepatan reaksi tersebut.

Reaksi enzim terjadi pada satu substrat dan satu produk. Tetapi pada beberapa enzim mempunyai lebih dari satu substrat. Pada enzim umumnya, jika konsentrasi substrat meningkat, maka kecepatan reaksi (v_i) akan meningkat hingga tercapai kecepatan maksimum (V_{max}). Ketika peningkatan konsentrasi substrat tidak diikuti oleh peningkatan v_i berarti enzim dikatakan jenuh dengan substrat. Persamaan Michaelis-Menten menggambarkan hubungan matematis antara kecepatan reaksi (v_i) dan konsentrasi substrat [S] :

$$v = \frac{V_{maks} [S]}{K_m + [S]}$$

Dimana v =kecepatan reaksi, v_{maks} = kecepatan maksimum yang dicapai pada konsentrasi substrat yang tinggi, k_m = konstanta Michaelis-Menten, dan S = konsentrasi substrat.

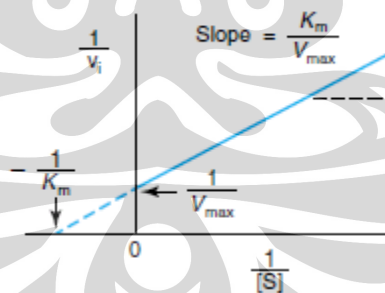


Gambar 4. Kurva Michaelis-Menten (Murray et al, 2006)

Pada kurva Michaelis-Menten sulit untuk menentukan nilai V_{maks} dan K_m . Oleh karena itu, untuk menentukan V_{maks} dilakukan dengan meresiprokalkan kedua sisi persamaan Michaelis-Menten dan menjadi persamaan Lineweaver-Burk:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{maks}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V}$$

Plot resiprokalkan dari kecepatan reaksi ($1/V$) dengan resiprokalkan konsentrasi substrat ($1/S$) memberikan garis lurus. Dari kurva linear ini diperoleh konstanta kinetik pada perpotongan sumbu X dan Y. Intersep sumbu Y adalah $1/V_{maks}$, intersep sumbu X adalah $-1/K_m$ dan garis kemiringan merupakan K_m/V_{maks} .

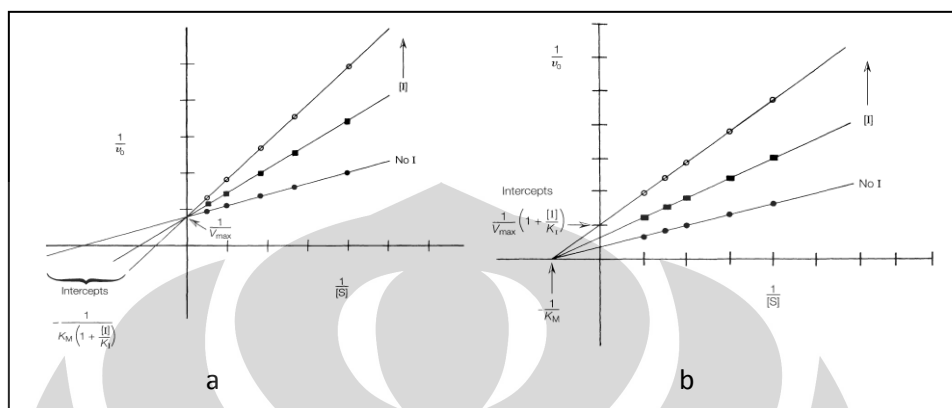


Gambar 5. Kurva Lineweaver-Burk $1/V$ vs $1/[S]$ (Murray et al, 2006)

2.4.2 Inhibisi Enzim (Murray et al, 2006)

Molekul selain substrat dapat berinteraksi dengan enzim yang mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim. Studi mengenai inhibisi enzim dapat memberikan informasi mengenai mekanisme kerja enzim. Proses inhibisi dapat dibagi menjadi 2, yaitu inhibisi kompetitif dan nonkompetitif, tergantung pada cara inhibitor mengganggu kerja enzim.

Inhibitor kompetitif bersaing dengan substrat untuk menempati sisi aktif enzim, sedangkan inhibitor nonkompetitif dapat bereaksi dengan enzim dan ikatan enzim-substrat karena inhibitor tidak terikat pada sisi aktif enzim yang sama dengan substrat.



Gambar 6. Kurva Lineweaver-Burk inhibitor kompetitif (a) dan nonkompetitif (b) (Boyer, 2000)

2.4.3 Uji Inhibisi Tirosinase

Tirosinase adalah enzim yang berperan dalam biosintesis melanin, termasuk dalam menentukan warna kulit dan rambut mamalia. Tirosinase dikenal juga sebagai polifenol oksidase, merupakan Cu-monooksidase yang banyak terdapat di mikroorganisme, hewan, dan tumbuhan. Enzim ini mengkatalisis dua reaksi meliputi oksigen molecular, yaitu hidroksilasi monofenol menjadi o-difenol (aktivitas monofenolase) dan oksidasi o-difenol menjadi o-kuinon (aktivitas difenolase). Kuinon merupakan zat yang sangat reaktif dan dapat berpolimerisasi menjadi bentuk dengan berat molekul yang besaratau pigmen coklat (melanin) atau bereaksi dengan asam amino dan protein yang meningkatkan produksi pigment coklat (Vaya, Nerya, Musa, Izrael, Arie & Tamir, 2003).

Oleh karena itu, inhibitor tirosinase dikembangkan dalam bidang kosmetik sebagai pencerah kulit. Pada penelitian sebelumnya disebutkan bahwa zat yang terkandung pada tumbuhan dapat menghambat enzim tirosinase. Mekanisme inhibisi tirosinase oleh tumbuhan adalah kemampuannya membentuk Schiffbase dengan gugus amino utama pada enzim (Kubo & Hori, 1999).

Aktivitas inhibisi tirosinase ditentukan dengan metode dopachrome dengan berbagai aplikasi yaitu menggunakan L-Dopa, tirosinase, larutan dapar fosfat, dan ekstrak yang akan di uji. L-Dopa bersama ekstrak dan larutan dapar fosfat dicampur, kemudian diinkubasi pada suhu kamar (27-30°C) selama 10 menit. Tirosinase ditambahkan ke dalam campuran tadi, lalu diinkubasi lagi pada suhu kamar (27-30°C) selama 25 menit. Aktivitas enzim dimonitor oleh pembentukan dopakrom pada panjang gelombang maksimum 477,5 nm dengan spektrofotometer UV-Vis. Persentase inhibisi aktivitas tirosinase dihitung dengan rumus sebagai berikut (Srichayanurak & Phadungkit, 2008).

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{serapan A} - \text{serapan B}) - (\text{serapan C} - \text{serapan D})}{(\text{serapan A} - \text{serapan B})} \times 100 \%$$

A adalah serapan dari larutan tanpa sampel tapi mengandung enzim.

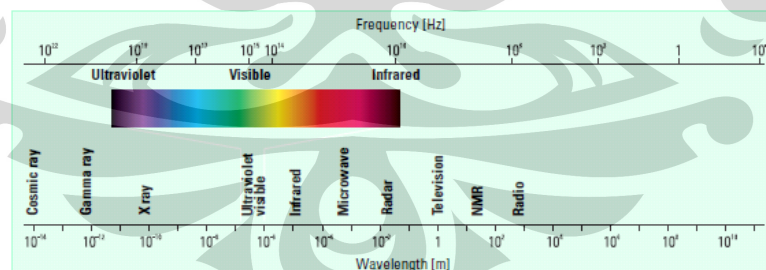
B adalah serapan dari larutan tanpa sampel dan enzim.

C adalah serapan dari larutan yang mengandung sampel dan enzim.

D adalah serapan dari larutan tanpa enzim tapi mengandung sampel.

2.5 Spektrofotometer uv vis (Owen, 2000)

Radiasi ultraviolet (UV) dan visibel merupakan bagian kecil dari spektrum elektromagnetik, yang meliputi bentuk radiasi lain seperti radio, inframerah, kosmik, dan sinar-X.



Gambar 7. Spektrum elektromagnetik (Owen, 2000)

Radiasi elektromagnetik dapat dianggap sebagai kombinasi arus elektrik dan magnetik yang berjalan melalui ruang dengan gerakan gelombang. Karena radiasi beraksi sebagai gelombang, maka dapat diklasifikasikan ke dalam panjang gelombang atau frekuensi, yang dikaitkan dengan persamaan berikut.

$$v=c/\lambda$$

dimana v adalah frekuensi (detik), c adalah kecepatan cahaya ($3 \times 10^8 \text{ ms}^{-1}$), dan λ adalah panjang gelombang (meter). Dalam spektrofotometer UV-vis, panjang gelombang dinyatakan dalam nanometer ($1\text{nm}=10^{-9} \text{ m}$).

Ketika radiasi berinteraksi dengan zat, sejumlah proses dapat terjadi, meliputi refleksi, penyebaran, serapan, fluoresens/fosforesense, dan reaksi fotokimia. secara umum, ketika mengukur spektrum UV-vis hanya diinginkan proses serapan saja yang terjadi. Karena cahaya merupakan energi, penyerapan cahaya oleh zat menyebabkan energi molekul atau atom meningkat. Total energi potensial molekul dinyatakan sebagai penjumlahan energi elektronik, vibrasi, dan rotasi.

$$E_{\text{total}} = E_{\text{electronic}} + E_{\text{vibrational}} + E_{\text{rotational}}$$

Spektrofotometer dapat digunakan untuk mengukur besarnya energi yang diabsorpsi/diteruskan. Jika radiasi yang monokromatik melewati larutan yang mengandung zat yang dapat menyerap, maka radiasi ini akan dipantulkan, diabsorpsi oleh zatnya dan sisanya ditransmisikan.

Hubungan antara intensitas cahaya yang ditransmisikan dengan tebalnya larutan dan hubungan antara intensitas tadi dengan konsentrasi zat, dinyatakan dalam persamaan Lambert-Beer :

$$A = \frac{\log I_0}{I_t} = \gamma \cdot b \cdot c = a \cdot b \cdot c$$

Dimana:

A= serapan

I_0 = intensitas sinar yang datang

I_t = intensitas sinar yang diteruskan

γ = absorbtivitas molekuler (mol.cm.I_t^{-1})

a = daya serap (g.cm.I_t^{-1})

b= tebal larutan/kuvet

c = konsentrasi ($\text{g. I}_t^{-1} \cdot \text{mg.ml}^{-1}$)

Zat yang dapat ditentukan kadarnya menggunakan spektrofotometer UV-Vis adalah zat yang mempunyai gugus kromofor. Gugus kromofor merupakan gugus fungsional yang mengadsorpsi radiasi ultraviolet dan tampak, jika mereka diikat oleh senyawa-senyawa bukan pengabsorpsi

(auksokrom). Hampir semua kromofor mempunyai ikatan rangkap berkonjugasi.

Spektrofotometer UV-Vis digunakan terutama untuk analisa kuantitatif, tetapi dapat juga untuk analisa kualitatif. Untuk analisa kualitatif yang harus diperhatikan adalah membandingkan λ maksimum, membandingkan serapan (A), daya serap (a), $E_{1\text{cm}}^{1\%}$, dan membandingkan spektrum serapan. Faktor-faktor yang mempengaruhi spektrum serapan, yaitu jenis pelarut, pH larutan, kadar larutan, tebal larutan/kuvet, dan lebar celah.

Untuk analisa kuantitatif dilakukan langkah-langkah sebagai berikut:

- 1) Pembuatan spektrum serapan
- 2) Pembuatan kurva kalibrasi
 - a) Pembuatan larutan standar
 - b) Pengenceran sampel

Pembuatan spectrum serapan bertujuan untuk memperoleh panjang gelombang maksimum dari senyawa tersebut dari konsentrasi yang biasa digunakan antara 5-10 ppm ($\mu\text{g/ml}$). Panjang gelombang maksimum perlu dicari untuk digunakan pada penetapan kadar, karena pada λ maksimum diperoleh serapan maksimum, daya serap relatif konstan, dan bentuk serapan landai.

2.6. Formulasi Krim

2.6.1 Emulgade[®] CM

Emulgade[®] CM merupakan basis krim yang dipersiapkan untuk pembuatan krim metode dingin dengan tipe minyak dalam air. Emulgade[®] CM berupa cairan berwarna putih dan berbau lembut. Emulgade[®] CM terdiri dari setostearil isononanoat, cetareth-20, setostearil alkohol, Gliseril stearat, gliserin, setil palmitat, dan cetareth-12. Emulgade[®] CM dapat digunakan untuk pembuatan emulsi M/A dengan metode dingin. Emulgade[®] CM dapat digunakan sebagai basis krim dari produk kosmetik, seperti krim dan losion untuk kulit. Sebagai basis digunakan pada konsentrasi 5-10%. (*New Surfactant*, 2001)

2.6.2 Setostearil isononanoat

Setostearil isononanoat berupa cairan jernih, tidak berbau, berwarna kekuningan, tidak larut dalam alkohol dan petroleum, dan mudah larut dengan minyak lemak dan parafin cair. Setostearil isononanoat digunakan sebagai emolien pada aplikasi kosmetik modern (*Cetiol SN*, 2002).

2.6.3 Setostearil alkohol

Setostearil alkohol merupakan campuran alkohol padat alifatis yang terdiri dari stearyl alkohol dan setil alkohol. Setostearil berupa padatan berwarna putih. Setostearil digunakan sebagai emolien, bahan pengental, dan zat pengemulsi dalam emulsi air dalam minyak dan minyak dalam air. Setostearil bekerja sebagai penstabil emulsi jika digabung dengan zat pengemulsi hidrofilik, seperti zat pengemulsi anionik untuk menghasilkan emulsi minyak dalam air. Setostearil alkohol memiliki titik leleh sebesar 48-55°C (USPNF XVII). Setostearil alkohol larut dalam etanol (95%), eter dan petroleum eter, praktis tidak larut dalam air (Wade et al, 1994).

2.6.5 Gliseril stearat

Gliseril stearat berupa padatan seperti wax, berwarna putih sampai krem, berbau dan berasa lemak. Gliseril stearat digunakan sebagai emulsifier nonionic, stabilizer, emolien, dan plastisizer pada aplikasi kosmetik. Gliseril stearat larut dalam etanol panas (95%), eter, kloroform, aseton panas dan minyak mineral. Tidak larut dalam air, tetapi mudah terdispersi pada air panas dengan bantuan agen anionik atau kationik. (Wade et al, 1994)

2.6.6 Setil palmitat

Setil palmitat berupa serpihan translucent, berwarna putih, berbau aromatic, dan rasa yang lembut. Setil palmitat digunakan sebagai pengental dan emolien pada krim dan ointment pada konsentrasi 1-15%. Setil palmitat larut dalam kloroform dan minyak menguap, sedangkan dalam etanol (95%) dan air tidak larut. (Wade et al, 1994)

2.6.7 Cetareth-12

Cetareth-12 berupa likuid atau padatan wax, berwarna putih dan sedikit berbau. Cetareth-12 digunakan sebagai emulsifier nonionic pada emulsi kosmetik minyak dalam air. (*Cetareth-12*, 2009)

2.6.8 Cetareth-20

Cetareth-20 merupakan surfaktan non-ionik yang dibuatkan dari setil stearyl alkohol dan 20 mol etilen oksida. Cetareth-20 berupa padatan putih berbentuk pastiles. Cetareth-20 digunakan sebagai emulsifier produk kosmetik yang mempunyai HLB tinggi yaitu 15,5. cetareth-20 dapat menstabilkan emulsi ketika dikombinasikan dengan emulsifier lainnya seperti gliseri stearat. Cetareth-20 larut dalam air dan isopropyl alkohol. Konsentrasi cetareth yang biasa digunakan adalah 1-3% (*Cetareth 20*, 2009).

2.6.9 Cosmedia[®] CTH (E)

Cosmedia[®] CTH (E) merupakan likuid dispersi polimer kationik yang digunakan sebagai pelembut, pengental, dan penstabil produk perawatan kulit dan rambut. Konsentrasi Cosmedia[®] CTH (E) yang biasa digunakan adalah 1-3% (*New Ingredients*, 2008).

2.6.10 Butil Hidroksi Toluena

Butil Hidroksi Toluena berupa serbuk atau padatan kristal, berwarna putih atau kuning pucat, dan berbau khas. Butil Hidroksi Toluena digunakan sebagai antioksidan pada kosmetik, makanan, dan farmasetika. Butil Hidroksi Toluena mencegah oksidasi lemak dan minyak serta mencegah kehilangan aktivitas dari vitamin larut lemak. Pada formulasi topical, Butil Hidroksi Toluena digunakan pada konsentrasi 0,0075-0,1%. (Wade et al, 1994)

2.6.11 Propil paraben

Propil paraben berbentuk serbuk kristalin berwarna putih, tidak berbau dan tidak mempunyai rasa. Senyawa ini digunakan sebagai pengawet pada sediaan farmasi. Seperti metil paraben, propil paraben juga lebih aktif melawan ragi dan jamur daripada bekerja sebagai antibakteri. Aktivitas pengawet paraben meningkat dengan bertambah panjangnya rantai alkil.

Pada formulasi topikal propil paraben digunakan pada konsentrasi 0,01–0,6%. Propil paraben mudah larut dalam etanol, metanol, dan propilen glikol (Wade et al, 1994)

2.6.12 Metil paraben

Metil paraben berbentuk serbuk kristal berwarna putih atau tidak berwarna, tidak berbau, dan rasa terbakar pada lidah. Metil paraben digunakan sebagai pengawet antimikroba baik pemakaian tunggal maupun kombinasi dengan propil paraben. Pada formulasi topical, metil paraben digunakan pada konsentrasi 0,02-0,3%. Aktivitas antimikrobanya bekerja pada pH 4-8. Metil paraben mempunyai spektrum kerja yang luas meskipun lebih aktif melawan ragi dan jamur. Metil paraben juga lebih aktif melawan bakteri gram positif dibandingkan bakteri gram negatif. Metil paraben mudah larut dalam etanol, metanol, propilen glikol dan air panas (80°C) (Wade et al, 1994).

2.6.13 Propilen glikol

Propilen glikol dengan rumus struktur $\text{CH}_3\text{CHOHCH}_2\text{OH}$ merupakan suatu cairan kental, jernih, tidak berwarna, dengan rasa yang manis. Propilen glikol banyak digunakan pada formulasi sebagai pelarut, pengawet, dan humektan. Sebagai humektan dapat digunakan dengan konsentrasi 5 % (Wade et al, 1994).

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi

Penelitian dilaksanakan dari bulan September sampai bulan November 2010 di Laboratorium Farmasetika, Laboratorium Farmakognosi, dan Laboratorium Kimia Kuantitatif Departemen Farmasi FMIPA UI.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1601), Neraca analitik tipe 210-LC (Adam, Amerika Serikat), homogenizer (Omni-Multimix Inc., Malaysia), viskometer Brookfield, pH meter tipe 510 (Eutech Instrument, Singapura), sentrifugator (Kubota 5100, Jepang), mikroskop optik (Nikon model Eclipse E 200, Jepang), penetrometer (Herzoo, Jerman), oven (Mettler, Jerman), dan alat-alat gelas.

3.2.1 Bahan

Esktrak metanol kulit buah manggis yang diperoleh dari Balitro yang diekstrak dengan cara maserasi, Emulgade[®] CM (Cognis, Malaysia), Setostearil isononanoat (Cognis, Malaysia), Setostearil alcohol (Cognis, Malaysia), Gliseril stearat (Cognis, Malaysia), Setil palmitat (Cognis, Malaysia), Cetareth-12 (Cognis, Malaysia), Cetareth-20 (Cognis, Malaysia), Gliserin (Brataco Chemika, Indonesia), Cosmedia[®] CTH (Cognis, Malaysia), Propilen glikol (Brataco Chemika, Indonesia), Metil paraben (Cognis, Malaysia), Propil paraben (Cognis, Malaysia), Butil hidroksi toluene (Cognis, Malaysia), Aquadest (Brataco Chemika, Indonesia), L-Dopa (Chengdu Co.Ltd, China), Tirosinase (Sigma-Aldrich, USA), Kalium dihidrogen fosfat (Merck, Indonesia), Dikalium hidrogen fosfat (Merck, Indonesia), Natrium hidroksida (Merck, Indonesia)

3.3 Cara Kerja

3.3.1.1 Perhitungan Formulasi

Krim dibuat dalam dua formulasi yang dibedakan dalam metode pembuatannya. Masing-masing krim mengandung ekstrak kulit buah manggis sebesar 1,5% (b/b). Perhitungan persentase komposisi bahan masing-masing krim seperti pada tabel 1. Tabel 1. Persentase komposisi bahan dalam krim

Bahan	Konsentrasi (%)	
	Metode dingin (krim A)	Metode panas (krim B)
Ekstrak kulit buah manggis	1,5	1,5
Emulgade [®] CM	10	-
Setostearil isononanoat	-	1,5
Setostearil alcohol	-	2
Gliseril stearat	-	2
Setil palmitat	-	2,5
Ceteareth-12	-	3,284
Ceteareth-20	-	1,716
Gliserol	-	5
Propilen Glikol	10	10
Butylhidroksi toluene (BHT)	0,1	0,1
Metil paraben	0,2	0,2
Propil paraben	0,1	0,1
Cosmedia [®] CTH (E)	3	2,5
Aquadest	Ad 100	Ad 100

Komposisi Emulgade[®] CM : setostearil isononanoat, ceteareth-20, setostearil alcohol, gliseril stearat, gliserin, setil palmitat, dan ceteareth-12.

3.3.1.2 Perhitungan HLB

HLB butuh minyak:

Bahan	HLB
Setostearil isononanoat	$\frac{1,5}{8} \times 16,8 = 3,15$
Setostearil alkohol	$\frac{2}{8} \times 15,5 = 3,875$
Gliseril stearat	$\frac{2}{8} \times 3,8 = 0,95$
Setil palmitat	$\frac{2,5}{8} \times 10 = 3,125$
HLB butuh minyak	= 11,1

$$\begin{array}{r}
 \text{HLB Cetareth 12} = 13,4 \\
 \text{HLB ceterareth 20} = 15,5 \\
 \hline
 11,1 \\
 \hline
 4,4 \\
 2,3 \\
 \hline
 6,7
 \end{array}$$

Persentase surfaktan yang digunakan:

$$\text{Cetareth 12} = \frac{4,4}{6,7} \times 5\% = 3,284\%$$

$$\text{Ceterareth 20} = \frac{2,3}{6,7} \times 5\% = 1,716\%$$

3.3.2 Pembuatan krim

3.3.2.1 Krim A

Metil paraben dan propil paraben dilarutkan dalam sebagian propilen glikol, kemudian campur ke dalam air dan ini disebut fase air. Ekstrak kulit buah manggis dilarutkan dalam bagian propilen glikol yang lain, kemudian dicampur dengan fase air lainnya. Bahan-bahan yang merupakan fase minyak yaitu BHT dilarutkan dalam Emulgade[®] CM. Fase minyak dan fase air dicampur dan diaduk dengan homogenizer dengan kecepatan 3400 rpm. Cosmedia ditambahkan sedikit demi sedikit dengan kecepatan pengadukan yang konstan. Krim yang terbentuk kemudian dimasukkan ke dalam wadah pot plastik.

3.4.1.2 Krim B

Metil paraben dan propil paraben dilarutkan dalam sebagian propilen glikol, kemudian dilarutkan dalam aquadest (70%) suhu 70°C bersama dengan gliserin, cetareth-20 dan ekstrak yang sudah dilarutkan dengan sisa propilen glikol sebelumnya. Campuran ini disebut sebagai fase air. Bahan-bahan fase minyak yaitu, setostearil isononanoat, setostearil alkohol, gliseril stearat, cetareth-12, dan setil palmitat dipanaskan pada suhu 70°C sampai melebur. Campur fase air dan minyak, aduk dengan homogenizer dengan kecepatan 3400 rpm. Cosmedia ditambahkan sedikit demi sedikit dengan kecepatan pengadukan yang kontinyu. Massa krim yang terbentuk dibiarkan dingin, dan dimasukkan ke dalam wadah pot plastik.

3.3.3 Evaluasi krim

3.3.3.1 Pengamatan organoleptis

Penampilan pada sediaan diamati adanya pemisahan fase atau pecahnya emulsi, terciumnya bau tengik, adanya perubahan warna dan rasanya pada kulit.

3.4.2.2 Pemeriksaan homogenitas

Sediaan diletakkan diantara dua kaca objek lalu diperhatikan adanya partikel-partikel kasar atau ketidakhomogenan di bawah cahaya.

3.4.2.3 Pemeriksaan pH pada krim

Nilai pH diukur dengan menggunakan pH meter. Mula-mula dilakukan kalibrasi elektrode terlebih dahulu dengan menggunakan dapar standar pH 4 dan 7.

3.4.2.4 Penentuan viskositas dan sifat alir

Evaluasi ini dilakukan untuk mengetahui kekentalan krim yang dibuat, mudah atau sulit mengalir ketika digunakan secara topikal. Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer Brookfield. Caranya yaitu dengan memasang spindel no 6 pada alat kemudian dicelupkan ke dalam sediaan sampai batas tertentu. Alat dinyalakan dengan menekan tombol on, kecepatan alat dipasang pada 0,5 rpm, 1 rpm, 2 rpm, 2,5 rpm, 5 rpm, 10 rpm dan 20 rpm, kemudian dibalik 20 rpm, 10 rpm, 5 rpm, 2,5 rpm, 2 rpm, 1 rpm dan 0,5 rpm secara berturut-turut. Dari masing-masing

pengukuran dengan perbedaan rpm dibaca skalanya ketika jarum merah yang bergerak telah stabil. Nilai viskositas (η) dalam centipoise (cps) diperoleh dari hasil perkalian *dial reading* dengan faktor koreksi khusus untuk masing-masing kecepatan spindel. Sifat aliran diperoleh dengan membuat kurva antara *shearing stress* (F/A) terhadap *rate of shear* (dv/dr). Penentuan viskositas dan sifat alir dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-8 dengan penyimpanan pada suhu kamar.

3.4.2.5 Pemeriksaan diameter globul

Krim diletakkan di atas kaca objek dan ditutup dengan kaca penutup. Kemudian diamati di bawah mikroskop optik dengan perbesaran tertentu. Distribusi ukuran partikel dapat diamati dengan mikrometer yang telah dikalibrasi.

3.4.2.6 Pemeriksaan konsistensi

Pemeriksaan konsistensi dilakukan untuk mengetahui kekerasan krim. Sediaan yang akan diperiksa dimasukkan ke dalam wadah khusus dan diletakkan pada meja penetrometer. Peralatan diatur hingga ujung kerucut menyentuh bayang permukaan krim yang dapat diperjelas dengan menghidupkan lampu. Batang pendorong dilepas dengan mendorong tombol start. Angka penetrasi dibaca lima detik setelah kerucut menembus sediaan. Pemeriksaan konsistensi dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-8 dengan penyimpanan pada suhu kamar.

3.4.3 Pengujian stabilitas krim

3.4.3.1 Metode *cycling test*

Sediaan krim disimpan pada suhu $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam lalu dikeluarkan dan ditempatkan pada suhu $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Perlakuan ini adalah satu siklus. Percobaan diulang sebanyak 6 siklus. Kondisi fisik krim dibandingkan selama percobaan dengan sediaan sebelumnya.

3.4.3.2 Uji stabilitas pada suhu kamar

Stabilitas sediaan krim secara fisik meliputi bau, warna, homogenitas, pH, dan diameter globul dievaluasi pada suhu kamar ($\pm 29^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali.

3.4.3.3 Uji stabilitas pada suhu dingin

Stabilitas sediaan krim secara fisik meliputi bau, warna, homogenitas, pH, dan diameter globul dievaluasi pada suhu antara $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 8 minggu dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali.

3.4.3.4 Uji stabilitas pada suhu hangat

Stabilitas sediaan krim secara fisik meliputi bau, warna, homogenitas, pH, dan diameter globul dievaluasi pada suhu $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 8 minggu dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali.

3.4.3.5 Uji mekanik (sentrifugasi)

Sampel krim disentrifugasi dengan kecepatan putaran 3800 rpm selama 5 jam karena hasilnya ekuivalen dengan efek gravitasi selama 1 tahun. Setelah disentrifugasi, diamati apakah terjadi pemisahan atau tidak antara fase air dengan fase minyak.

3.4.4 Uji Inhibisi Tirosinase (Srichayanurak & Phadungkit, 2008)

3.4.4.1 Pengukuran panjang gelombang maksimum

Untuk menentukan panjang gelombang maksimum, 2,4 ml larutan dapar fosfat 50mM (pH 6,8) dan 0,1 ml larutan L-Dopa (10mM) dipipet ke dalam tabung reaksi. Inkubasi pada suhu kamar selama 10 menit. Kemudian 0,5 ml tirosinase (51 unit/ml) ditambahkan ke dalam tabung reaksi tersebut. Inkubasi lagi pada suhu kamar selama 25 menit agar reaksi berjalan. Kemudian ukur serapannya dengan spektrofotometer UV-vis yang sudah diatur panjang gelombangnya dari 200-600 nm.

3.4.4.2 Penentuan tipe inhibisi tirosinase oleh ekstrak kulit buah manggis

Tipe inhibisi tirosinase oleh ekstrak kuliit buah manggis ditentukan dengan membandingkan kurva Lineweaver-Burk L-Dopa dengan dan tanpa inhibitor.

- a. tanpa inhibitor

Siapkan larutan L-Dopa (10 mM), larutan dapar fosfat 50mM (pH6,8), larutan tirosinase (51 unit/ml), dan 5 tabung reaksi. Masing-masing tabung reaksi terdiri dari:

Bahan (ml)	Tabung				
	1	2	3	4	5
Larutan dapar fosfat	2,4	2,3	2,1	1,8	1,5
L-Dopa	0,1	0,2	0,4	0,7	1
Tirosinase	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Larutan dapar fosfat dan L-Dopa dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit. Setelah itu tirosinase ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Diinkubasi lagi pada suhu kamar (27-30°C) selama 25 menit. Kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV- vis pada panjang gelombang 477,5 nm.

b. dengan inhibitor

Siapkan larutan L-Dopa (10 mM), larutan dapar fosfat 50mM (pH6,8), larutan tirosinase (51 unit/ml), larutan ekstrak kulit buah manggis (15 mg/ml) dan 5 tabung reaksi. Masing-masing tabung reaksi terdiri dari:

Bahan (ml)	Tabung				
	1	2	3	4	5
Larutan dapar fosfat	2,1	2,0	1,8	1,5	1,2
L-Dopa	0,1	0,2	0,4	0,7	1,0
Inhibitor	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Tirosinase	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Larutan dapar fosfat, L-Dopa dan sampel dipipet ke dalam tabung reaksi, kemudian inkubasi pada suhu kamar (27-30°C) selama 10 menit. Setelah itu tirosinase ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Diinkubasi lagi pada suhu kamar (27-30°C) selama 25 menit. Kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 477,5 nm.

3.4.4.3 Pengukuran aktivitas inhibisi tirosinase (IC₅₀) dari ekstrak kulit buah manggis

Ekstrak kulit buah manggis dilarutkan pada pelarut campuran propilen glikol-air (1:1). Kemudian larutan ekstrak dibuat beberapa konsentrasi yaitu 15, 30, 45, dan 60 ppm. Siapkan pula larutan L-Dopa (10 mM), larutan dapar fosfat 50mM (pH6,8), larutan tirosinase (51 unit/ml), dan tabung reaksi. Masing-masing tabung reaksi terdiri dari:

	Tabung A	Tabung B	Tabung C	Tabung D
Larutan dapar fosfat	1,5 ml	2,0ml	1,5 ml	2,0 ml
L-Dopa	0,7 ml	0,7 ml	0,7 ml	0,7 ml
Tirosinase	0,5 ml	-	0,5 ml	-
Pelarut campuran	0,3 ml	0,3 ml	-	-
Inhibitor (ekstrak)	-	-	0,3 ml	0,3 ml

Tabung A, larutan dapar fosfat, L-Dopa dan pelarut campuran dipipet ke dalam tabung reaksi, kemudian inkubasi pada suhu kamar (27-30°C) selama 10 menit. Setelah itu tirosinase ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Diinkubasi lagi pada suhu kamar (27-30°C) selama 25 menit. Kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 477,5 nm.

Tabung B, larutan dapar fosfat, L-Dopa dan pelarut campuran dipipet ke dalam tabung reaksi, kemudian inkubasi pada suhu kamar (27-30°C) selama 35 menit. Kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV- vis pada panjang gelombang 477,5 nm.

Tabung C, larutan dapar fosfat, L-Dopa dan sampel dipipet ke dalam tabung reaksi, kemudian inkubasi pada suhu kamar (27-30°C) selama 10 menit. Setelah itu tirosinase ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Diinkubasi lagi pada suhu kamar (27-30°C) selama 25 menit. Kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 477,5 nm.

Tabung D, larutan dapar fosfat, L-Dopa dan sampel dipipet ke dalam tabung reaksi, kemudian inkubasi pada suhu kamar (27-30°C) selama 35

menit. Kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV- vis pada panjang gelombang 477,5 nm.

Hitung % inhibisinya dan buat kurva % inhibisi vs konsentrasi ekstrak. Persamaan linear dicari dan dihitung IC50 nya.

3.4.4.4 Uji aktivitas inhibisi tirosinase dari krim ekstrak kulit buah manggis

Sampel krim sebanyak 0,3 g diekstraksi dengan 10 ml etanol, kemudian disentrifugasi untuk memisahkan filtrat dengan basis krim. Filtrat ditampung untuk diuji aktivitas inhibisi tirosinasenya. Siapkan larutan L-DOPA (10 mM), larutan dapar fosfat 50mM (pH6,8), larutan tirosinase (51 unit/ml), larutan sampel dan 4 tabung reaksi (A, B, C, D). Masing-masing tabung reaksi terdiri dari:

	Tabung A	Tabung B	Tabung C	Tabung D
Larutan dapar fosfat	1,5 ml	2,0ml	1,5 ml	2,0 ml
L-Dopa	0,7 ml	0,7 ml	0,7 ml	0,7 ml
Tirosinase	0,5 ml	-	0,5 ml	-
Etanol	0,3 ml	0,3 ml	-	-
Inhibitor (sampel)	-	-	0,3 ml	0,3 ml

Tabung A, larutan dapar fosfat, L-Dopa dan etanol dipipet ke dalam tabung reaksi, kemudian inkubasi pada suhu kamar (27-30°C) selama 10 menit. Setelah itu tirosinase ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Diinkubasi lagi pada suhu kamar (27-30°C) selama 25 menit. Kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 477,5 nm.

Tabung B, larutan dapar fosfat, L-Dopa dan etanol dipipet ke dalam tabung reaksi, kemudian inkubasi pada suhu kamar (27-30°C) selama 35 menit. Kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 477,5 nm.

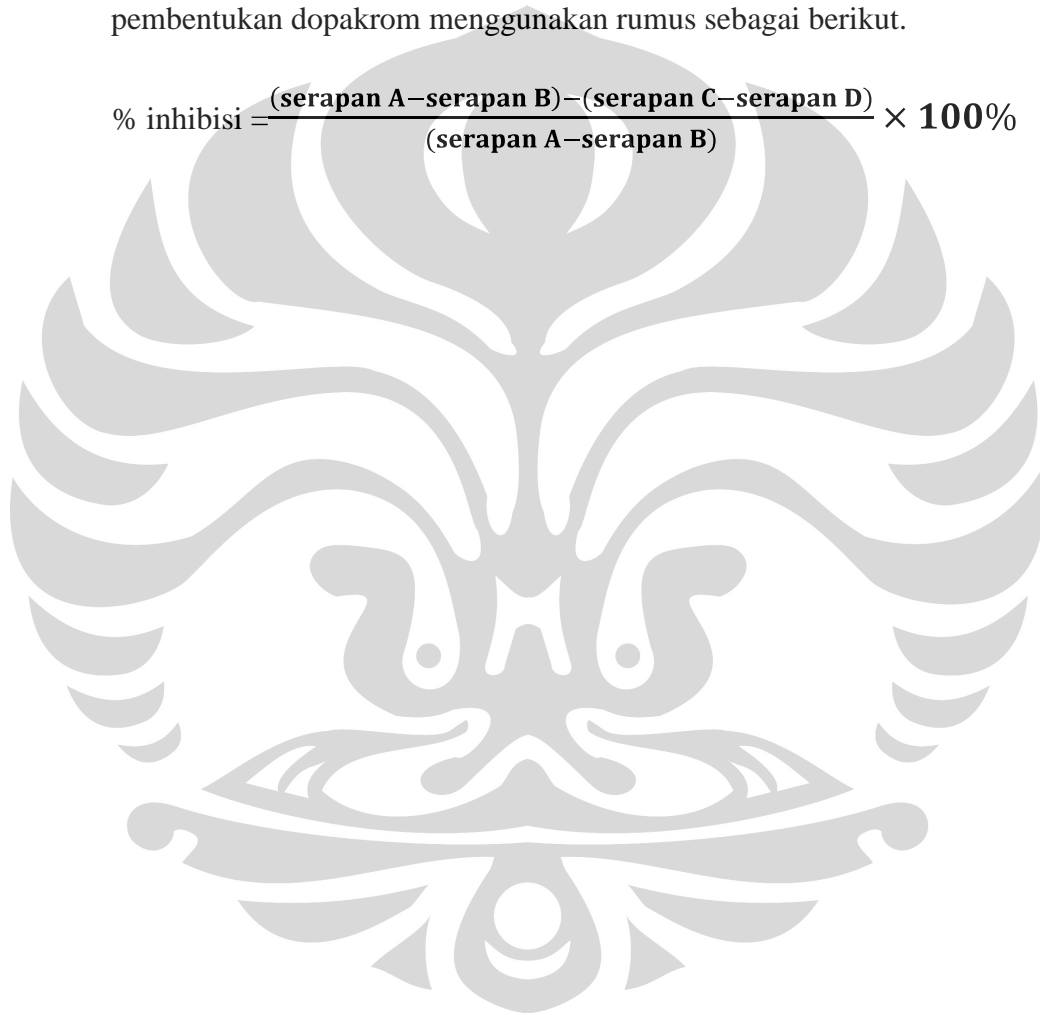
Tabung C, larutan dapar fosfat, L-Dopa dan sampel dipipet ke dalam tabung reaksi, kemudian inkubasi pada suhu kamar (27-30°C) selama 10 menit. Setelah itu tirosinase ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Diinkubasi lagi pada suhu kamar (27-30°C) selama 25 menit. Kemudian

diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 477,5 nm.

Tabung D, larutan dapar fosfat, L-Dopa, sampel dipipet ke dalam tabung reaksi, kemudian inkubasi pada suhu kamar (27-30°C) selama 35 menit. Kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-vis pada panjang gelombang 477,5 nm.

Nilai aktivitas inhibisi tirosinase diperoleh dengan menghitung pembentukan dopakrom menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{serapan A} - \text{serapan B}) - (\text{serapan C} - \text{serapan D})}{(\text{serapan A} - \text{serapan B})} \times 100\%$$



BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Hasil Evaluasi Krim Metode Dingin dan Panas

Hasil evaluasi krim awal (minggu ke-0) diperoleh sifat krim yang lembut, membentuk konsistensi setengah padat, mudah menyebar dan nyaman digunakan pada kulit. Hasil evaluasi awal krim ini dapat dilihat pada Tabel 3 dan gambar organoleptis krim dapat dilihat pula pada Gambar 11.

4.1.2 Hasil Uji Stabilitas

4.1.2.1 Penyimpanan krim pada suhu dingin ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar, dan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$)

Hasil pengamatan organoleptis kedua krim yang berbeda metode pembuatannya yang disimpan pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar, dan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) dapat dilihat pada tabel 4-6 dan gambar 12-14. Nilai pH kedua krim pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar, dan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) dapat dilihat pada tabel 7 dan gambar 15. Kedua krim yang disimpan pada suhu yang berbeda tersebut dari minggu awal (minggu ke-0) hingga minggu terakhir (minggu ke-8) tidak memperlihatkan adanya pemisahan fase antara fase minyak dan fase air.

Hasil pengukuran viskositas kedua krim pada minggu ke 0 dan setelah penyimpanan pada suhu kamar selama 8 minggu dapat dilihat pada tabel 9-10 dan gambar 16-17. Hasil pengukuran diameter globul rata-rata pada suhu 4°C , suhu kamar dan suhu 40°C dapat dilihat pada tabel 8 dan gambar masing-masing globul krim pada tiga suhu penyimpanan yang berbeda dapat dilihat pada gambar 19-30.

4.1.2.2 Pengamatan *cycling test*

Kedua krim setelah dilakukan uji *cycling test* menunjukkan hasil yang stabil karena tidak menunjukkan adanya pemisahan fase antara fase minyak dan fase air. Pengamatan *cycling test* dilakukan setelah 6 siklus

penyimpanan pada suhu $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ dan $40\pm 2^{\circ}\text{C}$. Hasil pengamatan cycling test dapat dilihat pada tabel 11 dan gambar 32.

4.1.2.3 Pengamatan uji mekanik

Kedua krim tidak menunjukkan adanya pemisahan fase setelah dilakukan uji mekanik (sentrifugasi) pada kecepatan 3750 rpm selama 5 jam, dapat dilihat pada gambar 33 dan tabel 12.

4.1.2.4 Pemeriksaan konsistensi

Konsistensi kedua krim mengalami penurunan pada minggu ke-8 dibandingkan dengan konsistensinya pada minggu ke-0. Hasil pengukuran konsistensi yaitu angka kedalaman penetrasi kerucut masing-masing krim pada minggu ke-0 dan minggu ke-8 dapat dilihat pada tabel 13.

4.1.3 Penentuan tipe inhibisi tirosinase oleh ekstrak kulit buah manggis

4.1.3.1 Pengukuran panjang gelombang analisis

Panjang gelombang untuk mengukur aktivitas inhibisi tirosinase adalah pada panjang gelombang 477,5 nm, dapat dilihat pada gambar 34. Aktivitas inhibisi tirosinase oleh krim yang mengandung ekstrak kulit buah manggis ditentukan dengan metode dopakrom berdasarkan adanya pembentukan L-Dopa menjadi dopakrom oleh tirosinase. Kemudian dengan spektrofotometer diukur serapannya pada panjang gelombang 477,5 nm.

4.1.3.2 Hasil penentuan tipe inhibisi tirosinase oleh ekstrak kulit buah manggis

Mekanisme inhibisi oksidasi L-Dopa oleh tirosinase dapat dianalisis melalui kurva Lineweaver-Burk. Berdasarkan kurva Lineweaver-Burk yang dapat dilihat pada tabel 14 dan gambar 35, ekstrak kulit buah manggis merupakan inhibitor kompetitif terhadap tirosinase.

4.1.4 Pengukuran aktivitas inhibisi tirosinase (IC₅₀) dari ekstrak kulit manggis

Pengukuran aktivitas inhibisi tirosinase (IC₅₀) adalah konsentrasi ekstrak yang mempunyai aktivitas inhibisi sebesar 50%. Hasil IC₅₀ dari

ekstrak kulit manggis adalah 18,62 ppm, dapat dilihat pada gambar 36 dan tabel 15.

4.1.5 Uji aktivitas inhibisi tirosinase krim ekstrak kulit manggis

Hasil uji aktivitas inhibisi tirosinase krim ekstrak kulit buah manggis yang dibuat dengan metode panas dan metode dingin dapat dilihat pada tabel 16.

4.2 PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan stabilitas fisik dan aktivitas inhibisi tirosinase pada krim ekstrak kulit buah manggis 1,5% yang dibuat dengan metode dingin dan metode panas. Penelitian dilakukan dalam beberapa tahapan, pada tahap pertama merupakan tahap pembuatan krim ekstrak kulit buah manggis dengan metode dingin dan panas.

Pembuatan krim dengan metode panas dilakukan pada suhu 70°C, sedangkan metode dingin dilakukan pada suhu kamar. Pada pembuatan krim metode panas dibutuhkan suhu yang tinggi untuk meleburkan bahan-bahan yang termasuk fase minyak. Pembuatan krim dengan metode panas lebih membutuhkan waktu dan biaya yang besar dibandingkan dengan pembuatan krim dengan metode dingin.

Pembuatan krim dengan metode dingin mempunyai keuntungan, yaitu yaitu prosesnya mudah, menghemat waktu produksi dan meningkatkan kapasitas produksi. Sedangkan kelemahannya adalah keterbatasan dalam pemilihan bahan. Bahan-bahan yang digunakan untuk pembuatan krim dengan metode dingin adalah bahan-bahan yang sama dengan bahan krim metode panas, tetapi tidak perlu dilebur atau dipanaskan karena sudah tersedia dalam bentuk konsentrat emulsi (Kurth, 2009)

Bahan aktif yang digunakan dalam krim adalah ekstrak kental kulit buah manggis yang mempunyai khasiat selain sebagai antioksidan dapat juga sebagai inhibitor tirosinase yang dapat mengurangi produksi melanin pada kulit. Oleh karena itu, ekstrak kulit buah manggis dapat dikembangkan sebagai bahan aktif kosmetik *skin whitening*.

Ekstrak kulit buah manggis sangat sukar larut dalam air. Sedangkan ekstrak kulit buah manggis mudah larut dalam propilen glikol dengan perbandingan 1:7. Oleh karena itu, ekstrak kulit buah manggis yang akan dimasukkan ke dalam formulasi krim dilarutkan terlebih dahulu didalam propilen glikol. Konsentrasi ekstrak kulit buah manggis yang digunakan dalam formulasi krim sebesar 1,5 % karena agar aktivitas inhibisi tirosinase tidak terlalu besar berdasarkan konsentrasi ekstrak kulit buah manggis yang mempunyai aktivitas inhibisi sebesar 50% (IC50) sebesar 18,62 ppm. Selain itu agar ekstrak kulit buah manggis mudah larut dalam propilen glikol yang digunakan sebanyak 10%.

Krim ekstrak kulit buah manggis yang dibuat dengan metode dingin menggunakan basis krim Emulgade[®] CM yaitu konsentrat emulsi yang telah dipersiapkan untuk pembuatan krim metode dingin. Sedangkan pada pembuatan krim dengan metode panas menggunakan basis krim dengan bahan-bahan penyusun Emulgade[®] CM, yaitu setostearil isononanoat, cetareth-20, setostearil alkohol, gliseril stearat, gliserin, setil palmitat, dan cetareth-12.

Baik krim metode dingin dan panas kemudian dilakukan evaluasi fisik terhadap krim dengan parameter-parameter yang meliputi pengamatan organoleptis, homogenitas, pengukuran pH, viskositas, konsistensi, pengukuran diameter globul, dan sifat alir. Setelah diperoleh hasil evaluasi awal krim dilakukan uji stabilitas selama 8 minggu terhadap krim selama 8 minggu, yaitu uji stabilitas fisik krim pada penyimpanan suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar, dan suhu tinggi (40°C). Kemudian dilakukan uji aktivitas inhibisi tirosinase pada krim ekstrak kulit buah manggis dengan metode dopakrom. Pengujian aktivitas inhibisi tirosinase bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan aktivitas ekstrak didalam krim yang dibuat dengan metode dingin dan metode panas.

4.2.2 Evaluasi Krim

Evaluasi krim dilakukan dengan cara membandingkan keadaan krim sebelum dan sesudah dilakukan uji stabilitas menggunakan parameter-parameter kestabilan fisik sehingga diketahui kestabilan fisik dari krim yang

berbeda metode pembuatannya. Masing-masing krim dibedakan metode pembuatannya, yaitu metode dingin dan metode panas dengan konsentrasi ekstrak kulit buah manggis yang sama.

Penggunaan metode pembuatan krim yang berbeda bertujuan untuk membandingkan kestabilan fisik krim dan tingkat aktivitas inhibisi tirosinase oleh ekstrak kulit buah manggis dalam sediaan krim.

Baik krim metode dingin dan panas berwarna kuning kecoklatan. Warna krim ini ditimbulkan oleh adanya kandungan pigmen antosianin yang berwarna coklat-ungu dan xanton yang berwarna kuning, sehingga menghasilkan warna kuning kecoklatan. Namun, pada krim yang dibuat dengan metode panas menunjukkan warna kuning kecoklatan yang lebih muda dibanding krim yang dibuat dengan metode dingin. Hal ini dikarenakan pada krim metode panas kandungan antosianin warnanya akan memudar akibat pemanasan (Harborne, 2006; Mardawati et al, 2008). Kedua krim berbau khas yang timbul akibat adanya ekstrak kulit buah manggis. Hal ini dapat dihindari dengan penambahan pewangi.

Kedua krim tersebut juga memiliki nilai pH dibawah kisaran pH kulit (4,5-6,5). Hal ini disebabkan oleh ekstrak kulit buah manggis yang bersifat asam dengan nilai pH berkisar antara 3,2-3,5 (Pidianti et.al, 2008). Dari hasil pengukuran pH krim dengan pH meter, diperoleh pH krim metode dingin sebesar 3,24 dan pH krim metode panas sebesar 3,55. Hal ini dapat dihindari dengan penambahan dapar pada formulasi agar pH krim sesuai dengan pH *balance* kulit.

Nilai viskositas krim metode dingin dan metode panas berturut-turut yaitu 75000 cps dan 90000 cps. Viskositas krim metode panas lebih besar dibandingkan krim metode dingin. Hal ini mungkin dikarenakan jumlah fase terdispersi pada krim metode panas lebih besar dibandingkan pada krim metode dingin. Seharusnya viskositas pada kedua krim disamakan agar mudah dalam membandingkan kestabilannya.

Nilai viskositas dapat menentukan sifat aliran dari krim. Menurut hasil yang dapat dilihat pada reogram (gambar 16-17) dapat diperoleh kesimpulan bahwa kedua krim memiliki sifat aliran plastis tiksotropik. Kedua krim sifat

aliran plastis tiksotropik karena terlihat adanya penurunan kurva disebelah kiri dari kurva yang menaik yang menunjukkan bahwa konsistensi lebih rendah pada setiap harga *rate of shear*. Ini menunjukkan bahwa adanya pemecahan struktur yang tidak terbentuk kembali dengan segera jika *stress* dihilangkan atau dikurangi. Gejala ini dikenal sebagai tiksotropik. Tiksotropi adalah suatu sifat yang diinginkan dalam suatu sediaan krim yang mempunyai konsistensi tinggi dalam wadah, namun dapat dituang dan disebar dengan mudah. (Martin et.al, 1993).

Dari hasil pengukuran nilai konsistensi kedua krim yang bisa dilihat pada tabel 13, menunjukkan bahwa kedua krim masih dapat dituang dan disebar di kulit dengan mudah.

Hasil pengukuran diameter globul rata-rata krim ekstrak kulit manggis yang dibuat dengan metode dingin sebesar 0,2181 μm , sedangkan krim metode panas sebesar 0,5349 μm . Diameter globul rata-rata krim metode panas lebih besar dibandingkan krim metode dingin. Pada proses pembuatan krim metode panas, suhu tinggi mengakibatkan energi dalam globul dan tegangan antar muka meningkat sehingga globul cenderung mengalami koalesens (penggabungan) yang lebih cepat (Issaka et al, 2010).

4.2.3 Pengujian Stabilitas Krim

Kedua krim disimpan selama 8 minggu pada tiga kondisi suhu yang berbeda, yaitu suhu rendah ($4\pm 2^\circ\text{C}$), suhu kamar, dan suhu tinggi ($40\pm 2^\circ\text{C}$). Selama waktu penyimpanan dilakukan pengamatan organoleptis, pemeriksaan pH, dan pengukuran diameter globul setiap 2 minggu sekali. Pengukuran viskositas krim dilakukan pada minggu awal (minggu ke-0) dan minggu akhir (minggu ke-8) yang disimpan pada suhu kamar.

Cycling test dilakukan pada dua kondisi suhu yang berbeda, yaitu suhu rendah ($4\pm 2^\circ\text{C}$) dan suhu tinggi ($40\pm 2^\circ\text{C}$) selama 6 siklus atau 12 hari. Uji mekanik (*sentrifugal test*) dilakukan dengan memasukan krim ke dalam tabung sentrifugasi kemudian diputar dengan alat sentrifugator dengan kecepatan 3750 rpm selama 5 jam

4.2.3.1 Penyimpanan krim pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar, dan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$)

4.2.3.1.1 Pengamatan organoleptis

Kedua krim yang disimpan pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar, dan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu tidak menunjukkan adanya gejala pemisahan fase antara fase minyak dan fase air. Hal ini mungkin disebabkan karena zat aktif dan bahan-bahan basis krim terdispersi secara homogen serta jumlah emulgator yang dipakai cukup untuk menstabilkan krim.

Perubahan bau disebut juga ketengikan dapat disebabkan oleh oksigen dari udara yang mengoksidasi lemak atau minyak. Selain itu efek dari cahaya merupakan salah satu katalisator reaksi oksidasi. Kombinasi keduanya dapat mempercepat oksidasi lemak. Baik krim metode dingin maupun metode panas mengalami perubahan bau menjadi sedikit tengik setelah penyimpanan suhu kamar dan suhu tinggi selama 8 minggu.

Perubahan warna yang signifikan terjadi pada kedua krim yang disimpan pada suhu 40°C dimana krim menjadi lebih memudar terutama pada krim yang dibuat dengan metode panas dari warna kuning kecoklatan menjadi kuning muda. Hal ini disebabkan oleh adanya faktor suhu yang mempercepat reaksi kimia karena setiap kenaikan suhu sebesar 10°C dapat mempercepat reaksi kimia 2 sampai 3 kalinya. Terlebih lagi pigmen antosianin akan memudar pada suhu tinggi (Mardawati et al, 2008).

4.2.3.1.2 Pengukuran pH

Kestabilan pH merupakan salah satu parameter yang menentukan kestabilan sebuah sediaan. Nilai pH awal kedua krim berada diluar kisaran pH balance 4,5-6,5, yaitu berkisar antara 3,24-3,55. Hal ini disebabkan oleh adanya ekstrak kulit buah manggis dalam kedua krim tersebut. Ekstrak kulit buah manggis bersifat asam dan memiliki nilai pH berkisar antara 3,2-3,5. pH krim sebaiknya sesuai dengan pH kulit, yaitu sekitar 4,5-6,5 karena jika pH krim terlalu basa akan menyebabkan kulit bersisik dan sebaliknya jika pH krim terlalu asam dapat menyebabkan iritasi.

Kedua krim ekstrak kulit buah manggis yang disimpan pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar, dan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu secara keseluruhan mengalami penurunan pH (gambar 15) tetapi pada minggu ke-6 pH mengalami kenaikan. Pada saat mengukur pH pada minggu ke-6 menggunakan pHmeter yang berbeda dari pH meter yang digunakan untuk mengukur pH pada minggu sebelumnya. Oleh karena itu pengukuran pH yang dihasilkan pada minggu ke-6 tidak terlalu baik. Seharusnya pengukuran pH dari minggu ke-0 hingga minggu ke-8 menggunakan pH meter yang sama, sehingga nilai yang dihasilkan baik dan terlihat apakah ada perubahan atau tidak.

Nilai pH krim pada penyimpanan suhu tinggi selama 8 minggu lebih asam dibandingkan dengan penyimpanan suhu lainnya. Hal ini disebabkan oleh oksidasi senyawa polifenol menjadi senyawa kuinon yang bersifat lebih asam. Hal ini dapat disimpulkan bahwa krim ekstrak kulit buah manggis tidak stabil berdasarkan parameter nilai pH.

4.2.3.1.3 Pengukuran viskositas

Viskositas suatu sediaan krim dapat dipengaruhi oleh faktor pengadukan dan pencampuran saat pembuatan, pemilihan emulgator, zat pengental, ukuran partikel fase terdispersi dan jumlah fase terdispersi (Martin, et.al., 1993). Jika jumlah fase terdispersi meningkat, viskositas juga akan meningkat. Pada penyimpanan suhu kamar, viskositas kedua krim cenderung menurun. Hal ini diperjelas dengan adanya peningkatan ukuran diameter globul rata-rata krim. Makin besar diameter globul rata-rata makin rendah viskositasnya karena konsentrasi fase terdispersi yang terperangkap dalam fase kontinu berkurang (Billany, 2006). Pada penyimpanan suhu kamar, perbedaan viskositas kedua krim pada minggu ke 0 dan minggu ke-8 mengalami penurunan yang cukup besar. Pengukuran viskositas minggu ke-0 menunjukkan hasil yang kurang baik karena pengukuran viskositas tidak dilakukan setelah 24-48 jam tetapi sesaat setelah pembuatan krim.

4.2.3.1.4 Pengukuran diameter globul rata-rata

Krim merupakan suatu sistem yang tidak stabil secara termodinamik yang memiliki kecenderungan partikel-partikel pada krim bergabung untuk mengurangi luas permukaan dan energy bebas permukaannya (Martin, et.al., 1990).

Pada pengamatan kedua krim selama 8 minggu tidak menunjukkan pemisahan fase walaupun terjadi perubahan pada ukuran diameter globul yang terjadi selama proses penyimpanan pada berbagai kondisi suhu. Perubahan diameter globul kedua krim pada penyimpanan suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi selama 8 minggu dapat dilihat pada gambar 31 dan tabel 8 dan perhitungan diameter globul rata-rata dapat dilihat pada lampiran 1. Dapat diperoleh kesimpulan bahwa perubahan diameter globul kedua krim tidak menyebabkan pemisahan fase.

4.2.3.1.5 Pengukuran sifat aliran

Hasil pengukuran viskositas krim yang disimpan pada suhu kamar pada minggu awal (minggu ke-0) dan minggu akhir (minggu ke-8) menunjukkan tidak terjadi perubahan sifat aliran karena sifat aliran tetap bersifat plastis tiksotropik. Hal ini ditandai dengan adanya penurunan kurva disebelah kiri dari kurva yang menaik yang menunjukkan bahwa konsistensi lebih rendah pada setiap harga *rate of shear* (gambar 16 dan 17). Walaupun viskositas kedua krim pada minggu ke-0 dan ke-8 mengalami penurunan tetapi tidak mengubah sifat aliran kedua krim tersebut.

4.2.3.2 *Cycling test*

Cycling test bertujuan untuk menguji kestabilan emulsi pada krim. Krim disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam, setelah itu dipindahkan pada suhu 40°C dan siklus ini dilakukan sebanyak 6 kali. Hasil pengamatan *cycling test* pada kedua krim yang dapat dilihat pada gambar 32 dan tabel 11 tidak menunjukkan adanya pemisahan fase. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa kedua krim ekstrak kulit buah manggis tetap stabil setelah dilakukan *cycling test*.

4.2.3.3 Uji mekanik (*setrifugal test*)

Pengujian krim dengan uji mekanik bertujuan untuk mengetahui kestabilan krim setelah pengocokan yang sangat kuat. Krim dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi, kemudian diputar dengan kecepatan tinggi sebesar 3750 rpm selama 5 jam yang ekuivalen dengan efek gravitasi selama 1 tahun. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada gambar 33 dan tabel 13 sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa krim tidak mengalami pemisahan fase (stabil).

4.2.3.4 Pemeriksaan konsistensi

Pemeriksaan konsistensi dilakukan untuk mengetahui kekerasan krim. Sediaan yang akan diperiksa dimasukkan ke dalam wadah khusus dan diletakkan pada meja penetrometer. Peralatan diatur hingga ujung kerucut menyentuh bayang permukaan krim yang dapat diperjelas dengan menghidupkan lampu. Batang pendorong dilepas dengan mendorong tombol start. Angka penetrasi dibaca lima detik setelah kerucut menembus sediaan.

Dari hasil pemeriksaan konsistensi krim pada minggu ke-8 diketahui bahwa kedua krim menunjukkan peningkatan nilai angka kedalaman penetrasi kerucut. Hal ini berarti kedua krim mengalami penurunan konsistensi dibanding dengan konsistensinya pada minggu ke-0. Penurunan konsistensi sebanding dengan penurunan viskositas pada minggu ke-8.

4.2.4 Penentuan tipe inhibisi tirosinase oleh ekstrak kulit buah manggis

4.2.4.1 Pengukuran panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang untuk uji aktivitas inhibisi tirosinase adalah pada panjang gelombang 477,5 nm karena pada panjang gelombang ini serapan dopakrom maksimum yang ditandai dengan adanya puncak.

4.2.4.1 Hasil penentuan tipe inhibisi tirosinase oleh ekstrak kulit buah manggis

Penentuan tipe inhibisi tirosinase oleh ekstrak kulit buah manggis dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi L-Dopa sebagai substrat. Aktivitas inhibitor enzim ditentukan dengan metode yang sama dengan pengukuran panjang gelombang. Tipe inhibitor dianalisis dengan membuat

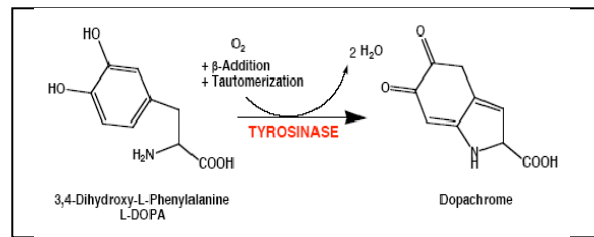
dua kurva Lineweaver-Burk tirosinase dan L-Dopa dengan dan tanpa inhibitor. Dalam hal ini inhibitor adalah ekstrak kulit buah manggis. Berdasarkan kurva Lineweaver-Burk yang terbentuk (gambar 34) dapat diambil kesimpulan bahwa ekstrak kulit manggis merupakan inhibitor kompetitif dari tirosinase. Hal ini dikarenakan kandungan mangostin pada ekstrak kulit buah manggis bersaing dengan substrat untuk menempati sisi aktif enzim sehingga menghambat proses katalisis L-Dopa menjadi dopakrom oleh tirosinase.

4.2.5 Pengukuran aktivitas inhibisi tirosinase (IC50) dari ekstrak kulit manggis

Pengukuran IC50 dari ekstrak kulit manggis dilakukan dengan cara memvariasikan konsentrasi ekstrak dari 15-60 ppm. Kemudian diukur serapannya dan dihitung % inhibisinya. Plot ke dalam kurva antara konsentrasi ekstrak vs % inhibisi. Dari persamaan linear yang didapat dari kurva tersebut, dapat dihitung IC50, yaitu konsentrasi ekstrak yang mempunyai aktivitas inhibisi terhadap tirosinase. Hasil pengukuran IC50 dari ekstrak kulit manggis adalah 18,62 ppm, dapat dilihat pada gambar 36 dan tabel 15.

4.2.6 Pengukuran aktivitas inhibisi tirosinase krim ekstrak kulit buah manggis

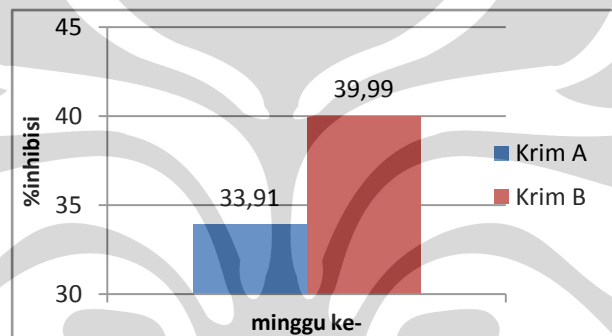
Pengujian aktivitas inhibisi tirosinase dilakukan dengan metode dopakrom. Dopakrom merupakan hasil oksidasi L-Dopa oleh tirosinase. Pembentukan dopakrom ini yang akan diukur dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 477,5 nm. Metode yang digunakan berdasarkan pada penelitian terdahulu (Tadtong, 2009) dengan modifikasi termasuk mengganti jumlah L-Dopa dan enzim yang digunakan. Selain itu penambahan etanol pada tabung A dan B bertujuan untuk menghilangkan pengaruh etanol pada hasil serapan tabung C dan D yang mengandung inhibitor (ekstrak) yang dilarutkan dengan etanol.



Gambar 8. Reaksi pembentukan dopakrom

4.2.4.3 Hasil uji aktivitas inhibisi tirosinase oleh krim ekstrak kulit buah manggis.

Berdasarkan hasil pengukuran aktivitas inhibisi tirosinase oleh krim ekstrak kulit buah manggis (tabel 16) diperoleh % inhibisi terhadap tirosinase sebagai berikut:



Gambar 9. Perbandingan aktivitas inhibisi tirosinase krim ekstrak kulit manggis (A : metode dingin, B: metode panas)

Sebagai kontrol positif digunakan data aktivitas inhibisi tyrosinase produk krim *skin whitening* yang sudah beredar di pasaran yang mengandung zat aktif dimetilmetoksi kromanil palmitat sebagai inhibitor tirosinase. % inhibisi tirosinase dari produk tersebut sebesar 37%. (Chromabright, 2010)

Aktivitas inhibisi tirosinase oleh ekstrak kulit buah manggis pada krim yang dibuat dengan metode dingin dan metode panas tidak berbeda secara signifikan. Hal ini berarti kandungan xanton pada ekstrak kulit manggis stabil dalam kedua krim. Aktivitas inhibisi tirosinase kandungan xanton tidak dipengaruhi oleh proses pemanasan pada saat membuat krim dengan metode panas. Dengan kata lain, aktivitas inhibisi tirosinase ekstrak kulit manggis dalam krim tidak dipengaruhi oleh cara pembuatan krim metode dingin dan panas.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

- 5.1.1 Sediaan krim ekstrak kulit buah manggis 1,5 % yang dibuat dengan metode dingin dan metode panas menunjukkan kestabilan secara fisik berdasarkan parameter uji kestabilan fisik. Sedangkan berdasarkan parameter pH, kedua krim yang disimpan pada suhu rendah dan suhu kamar relatif stabil dan pada suhu tinggi relatif kurang stabil.
- 5.1.2 Aktivitas inhibisi tirosinase ekstrak kulit manggis dalam krim tidak dipengaruhi oleh cara pembuatan krim metode dingin dan panas

5.2 Saran

- 5.2.1 Formulasi krim dapat dikembangkan lebih lanjut agar krim yang dihasilkan lebih baik dalam hal kestabilan fisik maupun kimia.
- 5.2.2 Sebaiknya penelitian mengenai aktivitas inhibisi tirosinase dilakukan juga secara *invivo* agar diketahui efikasinya pada kulit manusia.

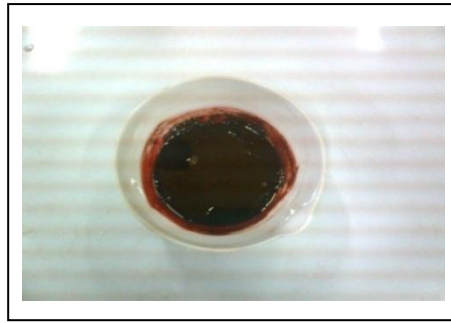
DAFTAR ACUAN

- Anief, M. 2000. *Ilmu Meracik Obat Teori dan Praktik*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta: 132
- Ansel, H.C. 1989. *Pengantar bentuk Sediaan Farmasi*, edisi keempat. Terj. dari *Introduction to Pharmaceutical Dosage Form*, oleh Farida Ibrahim. UI Press, Jakarta: 314-315, 376-390
- Billany, M.R. 2006. *Emulsions*. Dalam: Florence, A.T. & Attwood, D. *Physicochemical Principles of Pharmacy 4th Edition*. Pharmaceutical Press, London: 292-293 dan Lund, W. 1994. *The Pharmaceutical Codex 12th Edition : Principles and Practice of Pharmaceutics*. The Pharmaceutical Press, London: 150
- Boyer, R. 2000. *Modern Experimental Biochemistry 3rd Edition*. Addison Wesley Longman, Inc. USA.
- Cannel, J.S. 1985. Fundamentals of Stability Testing. *International Journal of Cosmetics Science*. 7 (tanpa nomor): 291-303
- Ceteareth-12*. www.cosmetic-ingredient.com. Diakses pada Kamis, 9 juni 2010, pukul 10:26 WIB
- Ceteareth-20*. 2009. www.lotioncrafter.com. Diakses pada Kamis, 9 juni 2010, pukul 10:35
- Cetiol*[®] SN. 2009. Cognis Care Chemical. www.cognis.com. Diakses pada 9 juni 2010, pukul 11:00 WIB
- Chaverri JP, Rodríguez NC, Ibarra MO, Rojas. 2008. Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food and Chemical Toxicology* 46 (2008) 3227–3239
- Chromabright: A Cutting-edge Molecule for a Radiant Skin Tone*. (n.d). Lipotec Group: Spain
- Djajadisastra, J. (2003). *Pemutih yang Tepat dan Aman bagi Wanita Indonesia* disampaikan pada Pharmacy Beauty & Health. 12 September 2003.
- Djajadisastra, J. 2004. *Cosmetic Stability*. Disampaikan pada “Seminar Setengah Hari HIKI” Rabu, 18 Nopember 2004, Hotel Menara Peninsula, Slipi, Jakarta

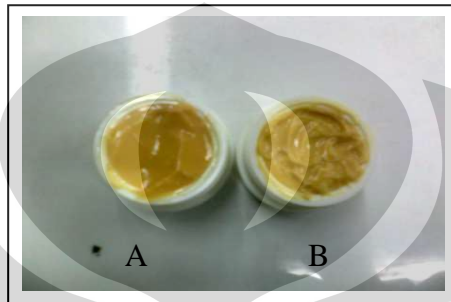
- Dweck, AC. 2009. *A review of Mangosteen (Garcinia mangostana) Linn.* <http://www.dweckdata.com>. Diakses pada 5 januari 2010, pukul 18.26 WIB
- Falestin, SL. 2009. *Evaluasi Kestabilan Fisik Krim Anti-Aging Yang Dibuat Dengan Metode Dingin Dan Metode Panas*. Skripsi Sarjana Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Depok: Universitas Indonesia
- Farmakope Indonesia edisi III*. 1979. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta:8
- Farmakope Indonesia edisi IV*. 1995. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta: 6, 7
- FloraKita – Keanekaragaman Hayati Tumbuhan Indonesia*. Detil Data *Garcinia mangostana* Linn. <http://www.proseanet.org>. Diakses pada 05 januari 2010, pukul 12.37 WIB
- Gupta, Syahm. 2001. *Formulation of Plant-based Skin Whitening Cream*. Diambil dari *issue of Happi* April 2001
- Gutu, S and Mores, L. (2000). Cold Processed Water-In-Oil Emulsions. *World Intellectual Property Organization (WIPO)* : WO/2000/051550
- Hair Styling New Ingredients*. www.thefreelibrary.com. Diakses pada Kamis, 9 Juni, pukul 10:15
- Harborne, JB. 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB, Bandung : 76 dan 96
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III* (Badan Litbang Kehutanan, Penerjemah). Departemen Kehutanan, Jakarta: 1385
- Issaka, S.A., A.H. Nour, R.M. Yunus dan A.H. Nour. 2010. Decolorization and characterization of petroleum emulsions. *J. Applied Sciences*, 10: 215-220.
- Jones, B.J., Luchsinger, A.E. 1987. *Plant Systematic Edisi ke 2*. B&Jo enterprise Pte Ltd, Singapore: 293-335
- Jones, D. 2008. *Fast Track – Pharmaceutics Dosage Form and Design*. Pharmaceutical Press, London: 53
- King, J.C. & Barker, D.Y. 1971. *Emulsification*. Dalam: Martin, E.W. *Dispensing of Medication*. Mack Publishing Company, Pennsylvania: 510-511, 530-532

- Kinghorn, A.D., Jung, H.A., Su, B.N., Keller, W.J., and Mehta, R.G. (2006). Antioxidant Xanthones from the Pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). *J. Agric. Food Chem.* 54 (tanpa nomor): 2077-2082
- Kubo, I & Hori, I.K. 1999. Tyrosinase Inhibitory Activity of the Olive Oil Flavor Compounds. *J. Agric. Food Chem.* 47(tanpa nomor): 4574-4578
- Kurth, Nicole. 2009. Cold Process Emulsions with Hot Performance. <http://www.cognis.com/NR/rdonlyres/9FF803FF-3951-4EED-94F462714146D826/0/0409_HPC_Cold_processable_emulsions.pdf>. Diakses pada Sabtu, 12 Juni 2010, pukul 14:21 WIB
- Lund, W. 1994. *The Pharmaceutical Codex 12th Edition : Principles and Practice of Pharmaceutics*. The Pharmaceutical Press, London: 150-151..
- Majeed, M & Prakash, L. 2008. *A Lighter Skin Toner and More With Natural Actives*. Sabinsa Corporation.
- Mardawati, E et al. 2008. *Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (Garcinia Mangostana L) Dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis Di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya*. Skripsi. Bandung : Universitas Padjajaran
- Martin, A. (1993). *Farmasi Fisik*, edisi ketiga. Terj dari *Physical Pharmacy*, oleh Joshita. UI Press, Jakarta: 925, 1143-1144, 1146, 1147-1148, 1154,
- Murray, RK et al. 2006. *Harper's Illustrated Biochemistry 27th Edition*. The McGraw-Hill Companies, Inc, USA
- New Surfactans*. www.freelibrary.com. Diakses pada Kamis, 9 juni 2010. pukul 10:30 WIB
- Osman, M & Milan, AR. 2006. *Mangosteen – Garcinia mangostana L*. RPM Printed & Design, England: 47-48.
- Owen, T. 2000. *Fundamentals of Modern UV-visible Spectroscopy*. Agilent Technologies, Germany.
- Pidianti, P., Adiwirman, Kurniawati, A. 2008. *Studi Keterkaitan antara Kualitas Buah terhadap Kadar Xanton pada Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.)*. Makalah Seminar Departemen Agronomi dan Hortikultura. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Prihatman, K. 2000. *Manggis (Garcinia mangostana L.)*. BPP Teknologi, Jakarta.

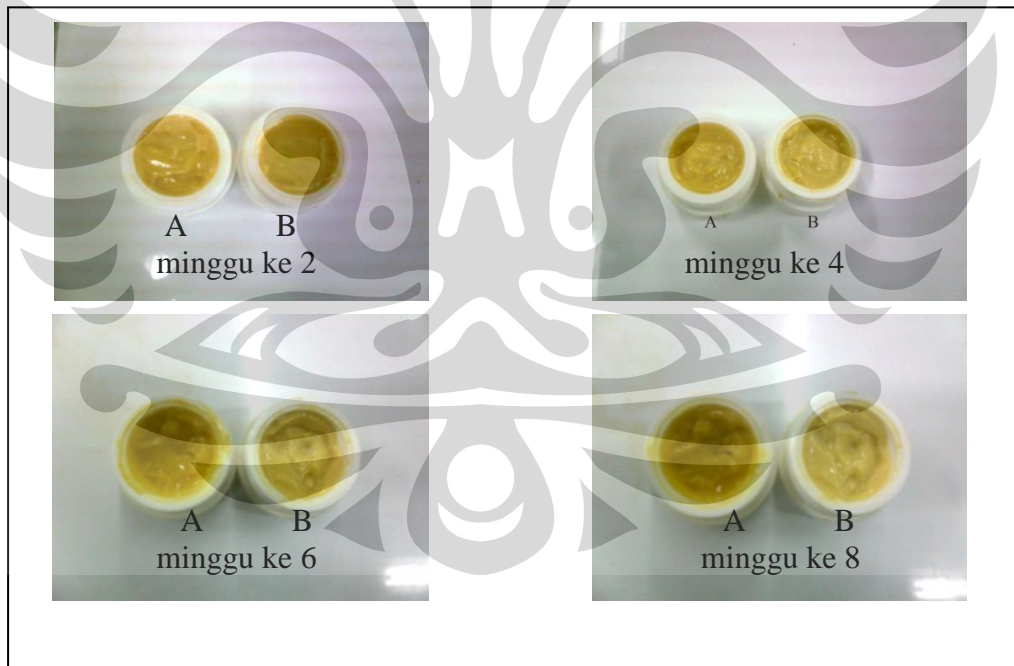
- Rieger, MM. 1994. *Emulsi*. Dalam: Lachman, L., Lieberman, HA. & Kanig, JL (eds). *Teori dan Praktek Farmasi Industri*. Terj. dari *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy* oleh Siti Suyatmi. UI Press, Jakarta: 1029-1088
- Srichayanurak, C and Phadungkit, M. (2008). Antityrosinase And Antioxidant Activity Of Selected Thai Herbal Extracts. *KKU Res J. 13 (6) : 673-676*.
- Sugati, Sri S & Ria, H. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia Edisi ke-1*. Departemen Kesehatan RI-Badan penelitian & Pengembangan Kesehatan, Jakarta
- Supriyanti, Zackiya, Putri. (tanpa tahun). *Studi Inhibisi Ekstrak Metanol Kulit Batang Artocarpus Sp Dalam Mencegah Hiperpigmentasi Kulit*. Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA UPI, Bandung
- Tadtong, Sarin. (2009). Antityrosinase and Antibacterial Activities of Mangosteen Pericarp Extract. *J Health Res. 23(2): 99-102*
- Tranggono, RI & Latifah, F. (2007). *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta: 27-29
- Vaya, J, Nerya, O, Musa, R, Izrael, S, Arie, R.B. & Tamir, S. 2003. Glabrene and Isoliquiritigenin as Tyrosinase Inhibitors from Licorice Roots. *J. Agric. Food Chem. 51(tanpa nomor): 1201-1207*
- Verheji, E. M. W & Coroner, R. E. 1997. *Proses Sumber Daya Nabati Asia Tenggara 2*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
- Wade, A et al. 1994. *Handbook of Pharmaceutical Excipients Second Edition*. London : The Parmaceutical Press



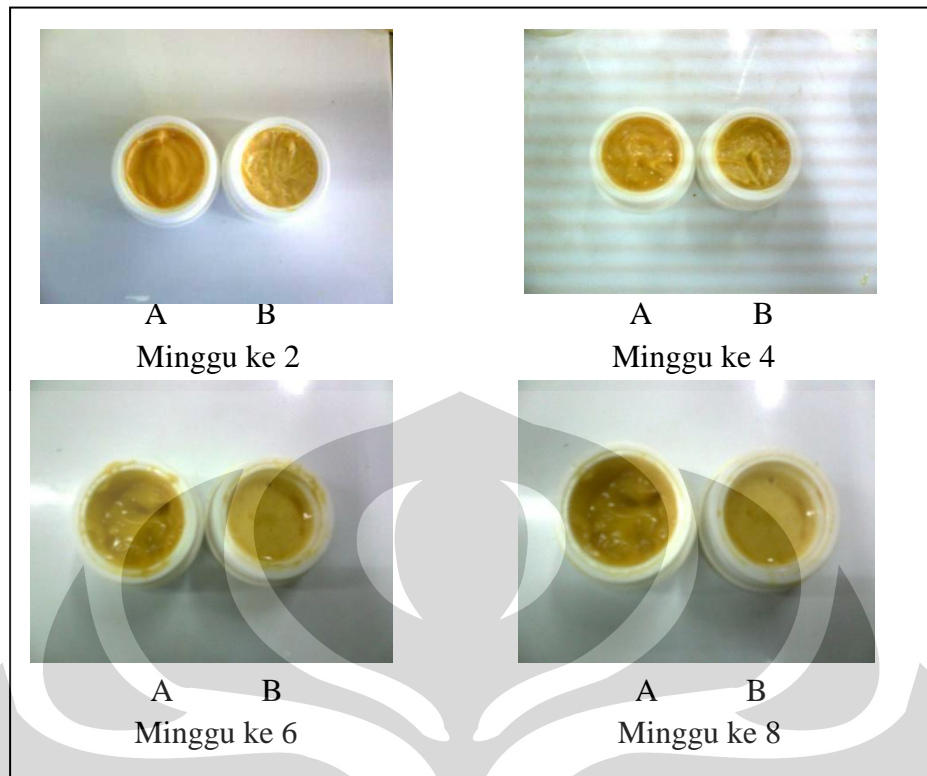
Gambar 10. Ekstrak kental kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L.*)



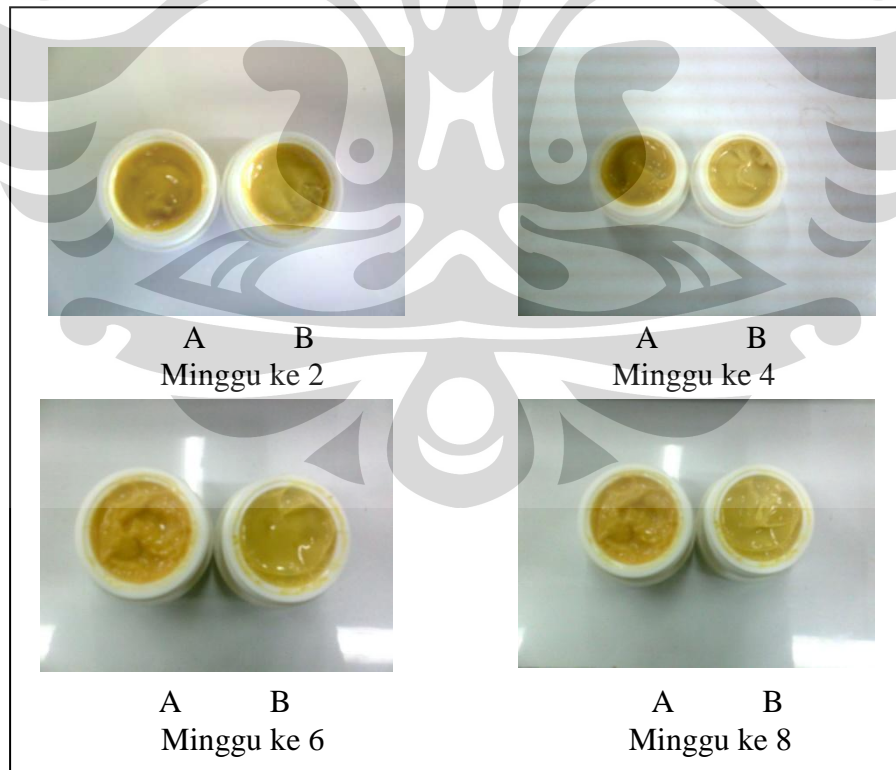
Gambar 11. Foto awal krim kulit buah manggis 1,5% yang dibuat dengan metode dingin (A) dan metode panas (B)



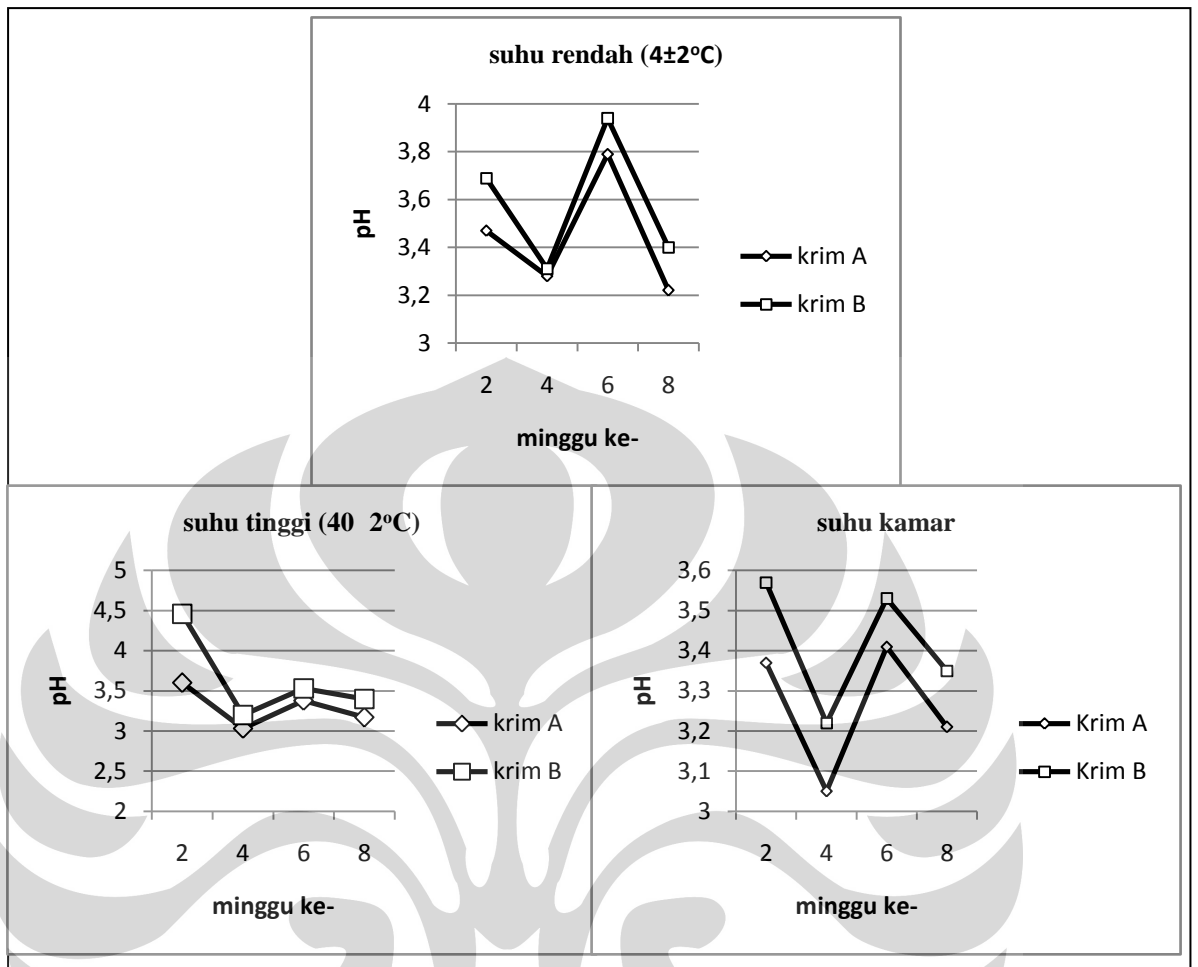
Gambar 12. Foto uji stabilitas krim ekstrak kulit buah manggis pada suhu kamar



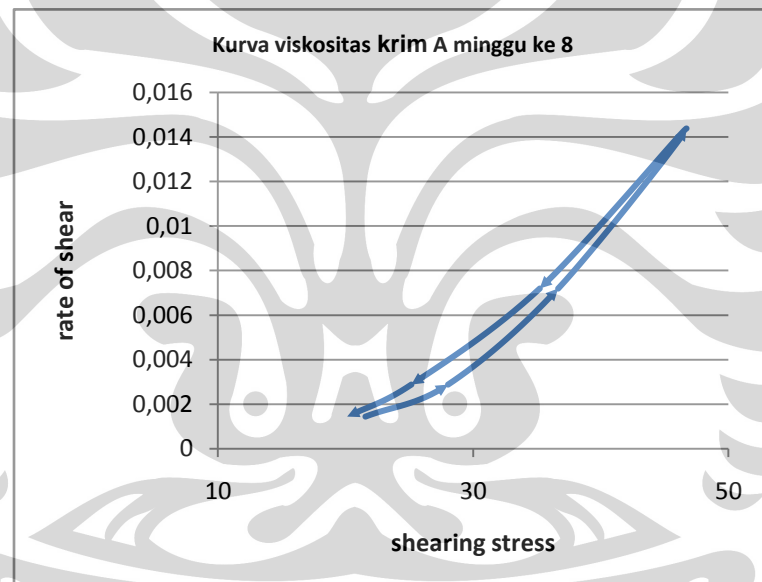
Gambar 13. Foto uji stabilitas krim ekstrak kulit buah manggis pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$)



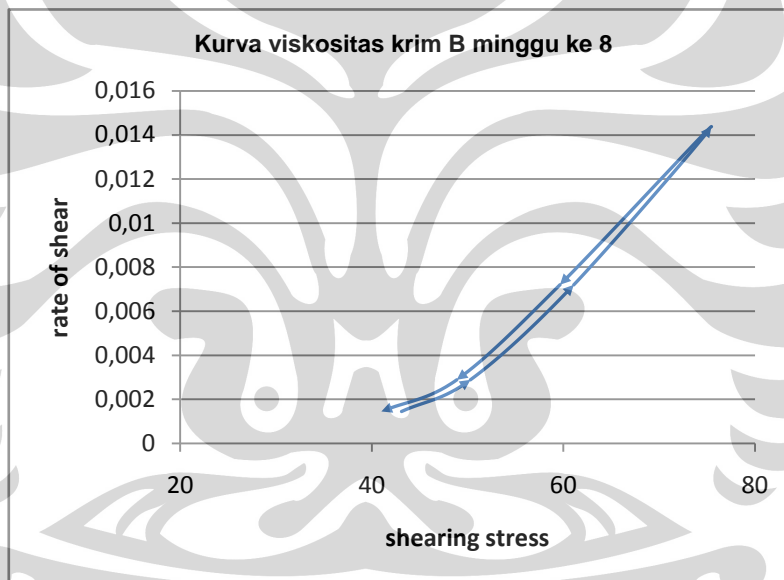
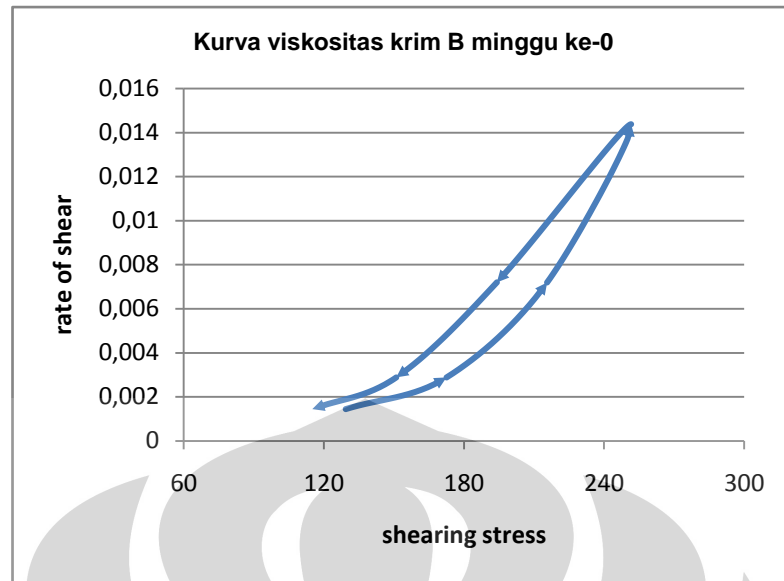
Gambar 14. Foto uji stabilitas krim ekstrak kulit buah manggis pada suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$)



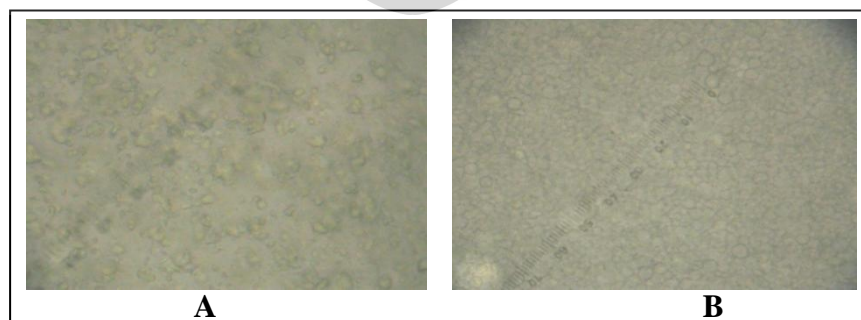
Gambar 15. Perubahan pH krim metode dingin (A) dan panas (B) pada penyimpanan berbagai suhu selama 8 minggu



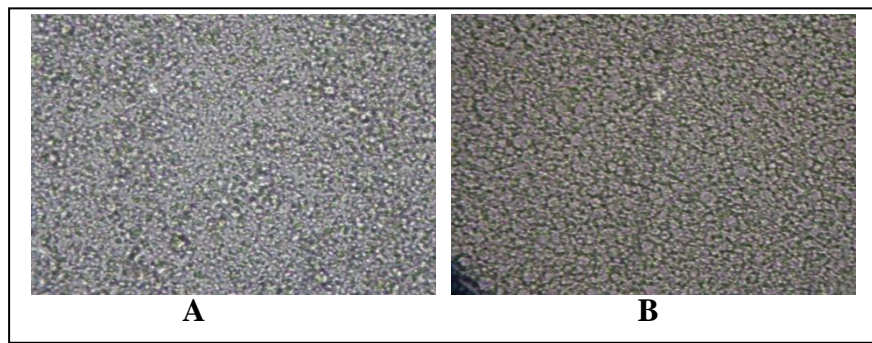
Gambar 16. Kurva viskositas krim ekstrak kulit buah manggis metode dingin (krim A) pada minggu ke- 0 dan ke-8



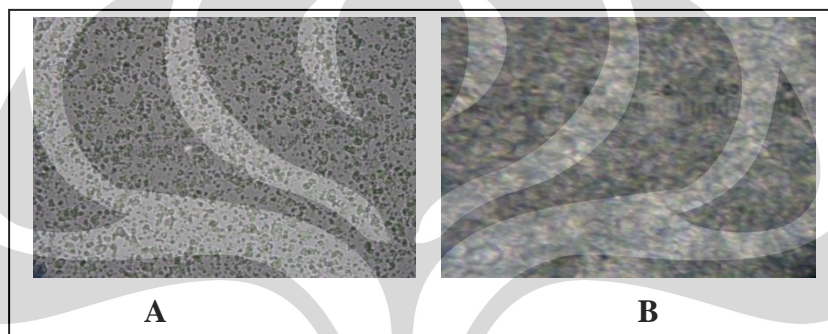
Gambar 17. Kurva viskositas krim ekstrak kulit buah manggis metode panas (krim B) pada minggu ke- 0 dan ke-8



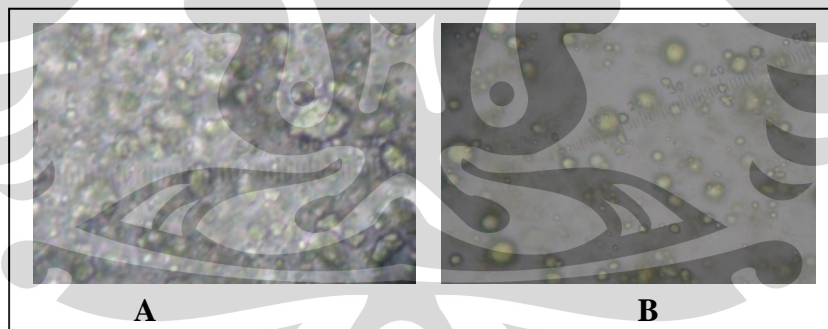
Gambar 18. Diameter globul awal krim ekstrak kulit buah manggis yang dibuat dengan metode dingin (A) dan metode panas (B)



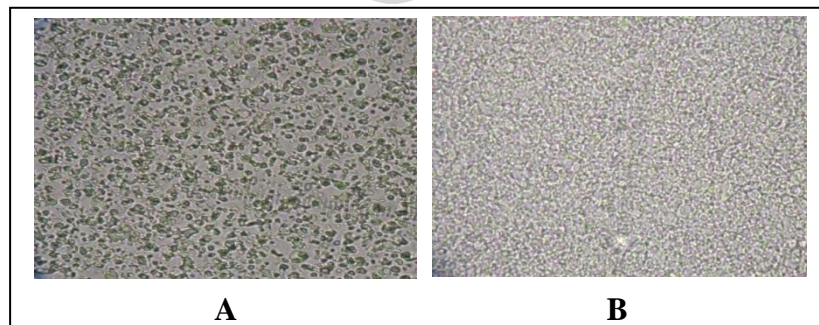
Gambar 19. Diameter globul krim ekstrak kulit buah manggis minggu ke 2 pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$)



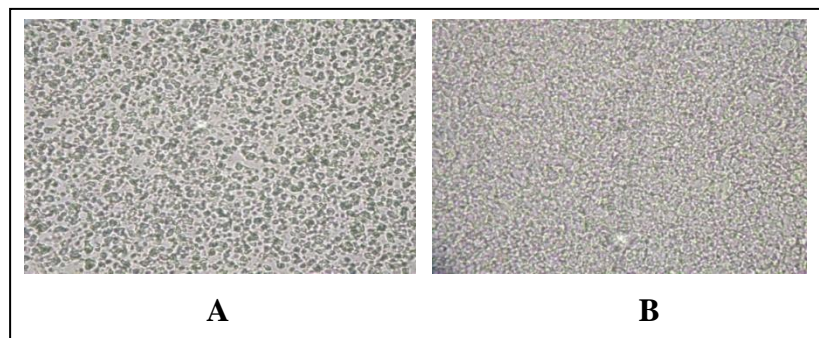
Gambar 20. Diameter globul krim ekstrak kulit buah manggis minggu ke 2 pada suhu kamar



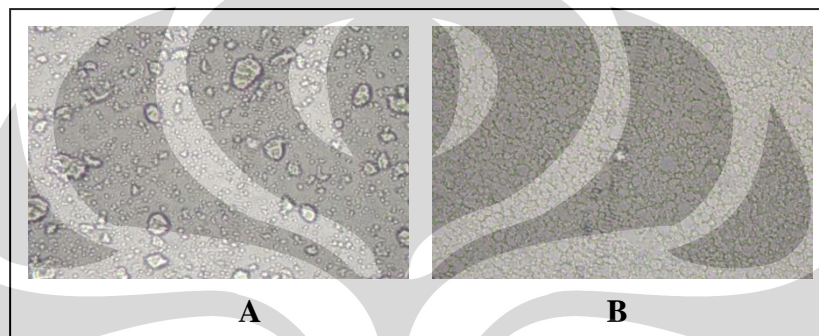
Gambar 21. Diameter globul krim ekstrak kulit buah manggis minggu ke 2 pada suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$)



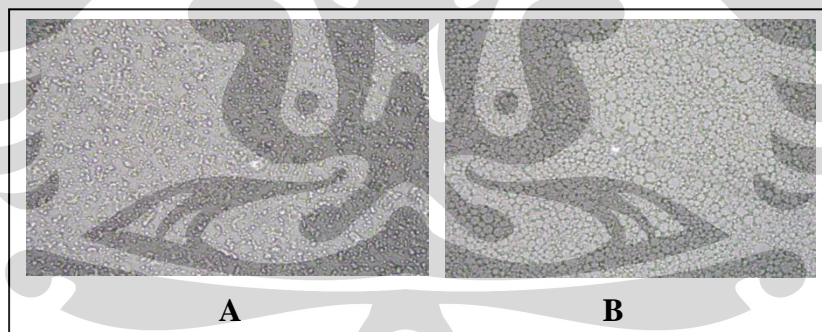
Gambar 22. Diameter globul krim ekstrak kulit buah manggis minggu ke 4 pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$)



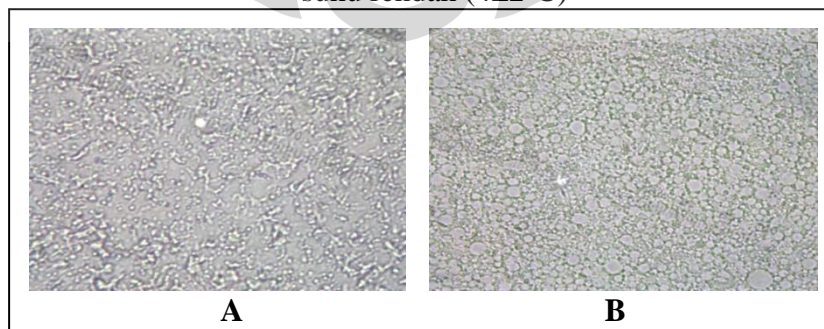
Gambar 23. Diameter globul krim ekstrak kulit buah manggis minggu ke 4 pada suhu kamar



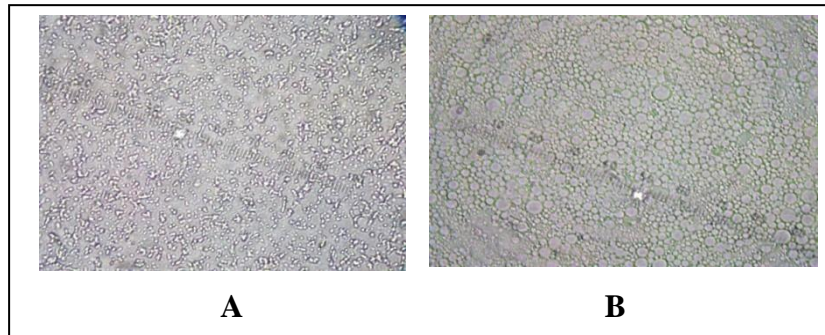
Gambar 24. Diameter globul krim ekstrak kulit buah manggis minggu ke 4 pada suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$)



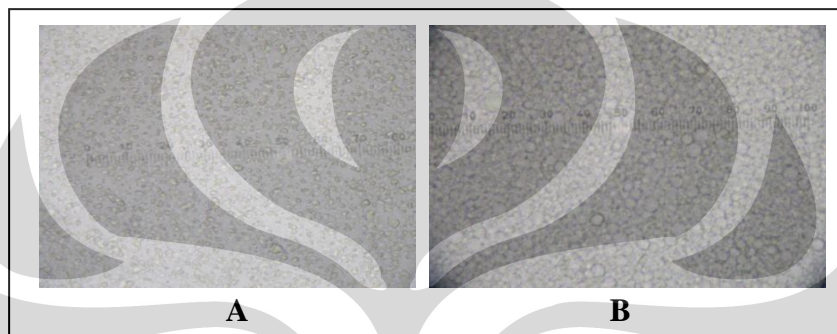
Gambar 25. Diameter globul krim ekstrak kulit buah manggis minggu ke 6 pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$)



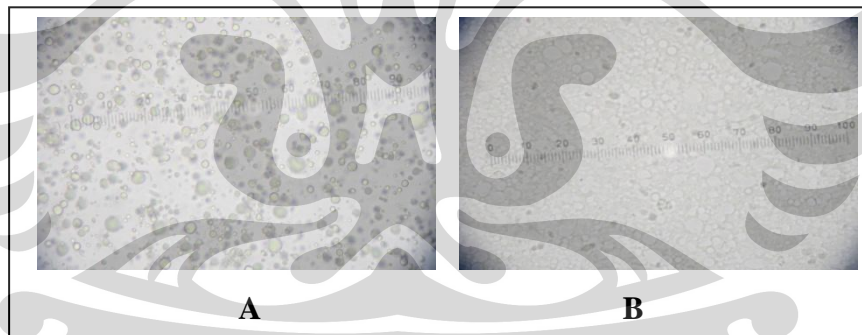
Gambar 26. Diameter globul krim kulit buah manggis minggu ke 6 pada suhu kamar



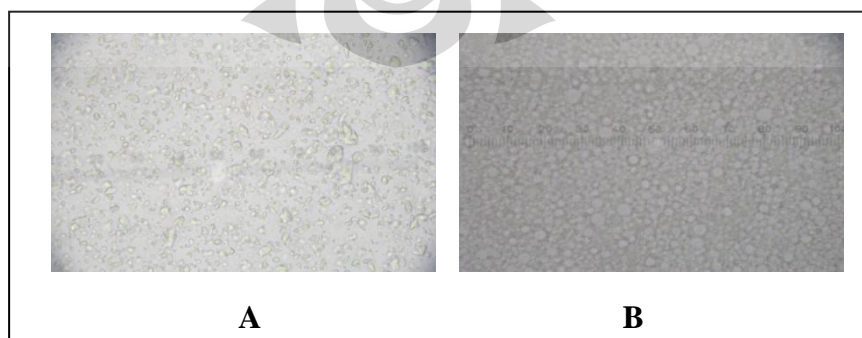
Gambar 27. Diameter globul krim kulit buah manggis minggu ke 6 pada suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$)



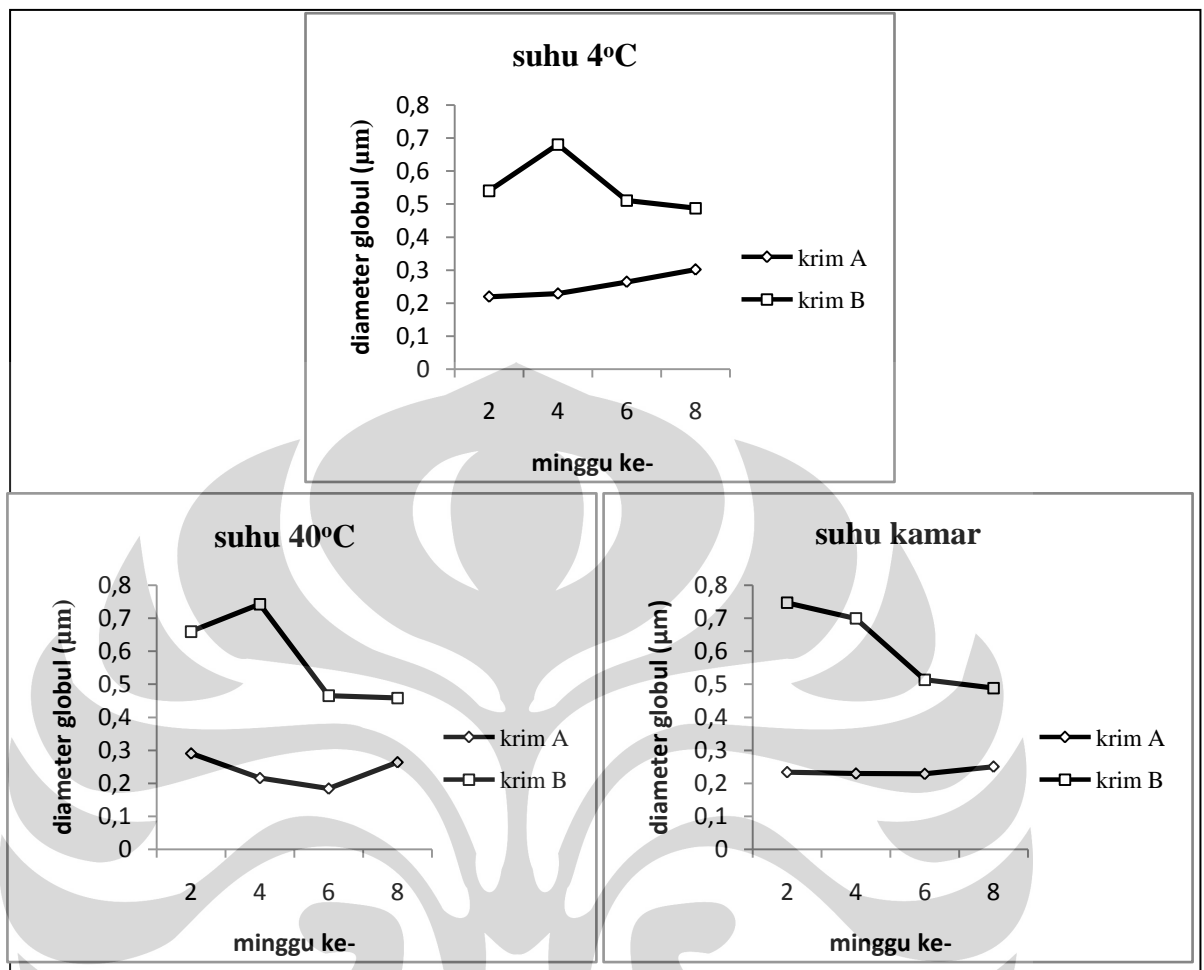
Gambar 28. Diameter globul krim kulit buah manggis minggu ke 8 pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$)



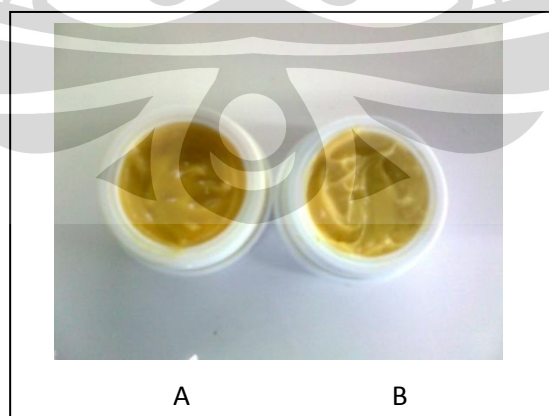
Gambar 29. Diameter globul krim kulit buah manggis minggu ke 8 pada suhu kamar



Gambar 30. Diameter globul krim kulit buah manggis minggu ke 8 pada suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$)



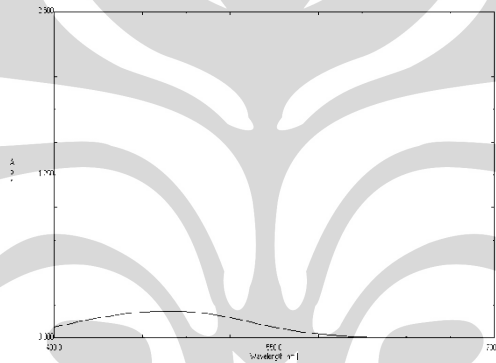
Gambar 31. Perubahan diameter globul krim (A=metode dingin, B=metode panas) pada penyimpanan berbagai suhu selama 8 minggu



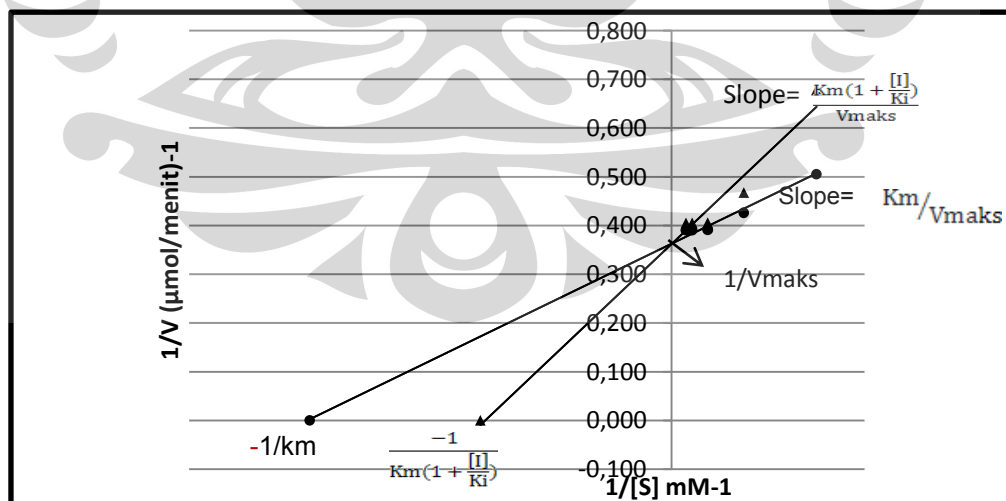
Gambar 32. Foto krim metode dingin (A) dan metode panas (B) setelah *cycling tes*



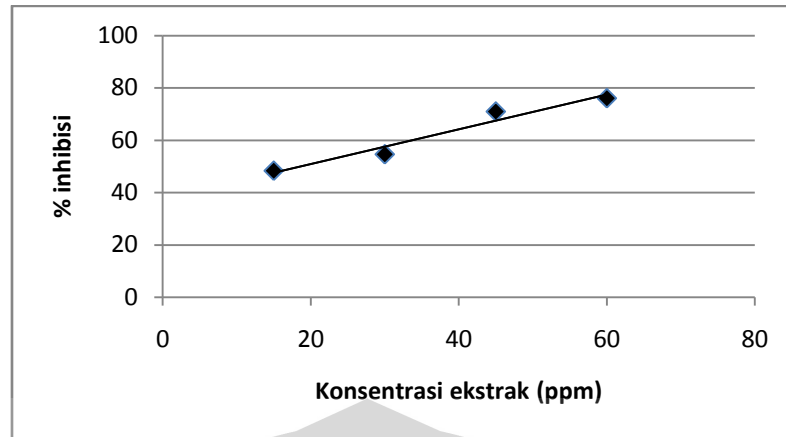
Gambar 33. Foto hasil uji mekanik krim kulit buah manggis, metode dingin (A) dan metode panas (B)



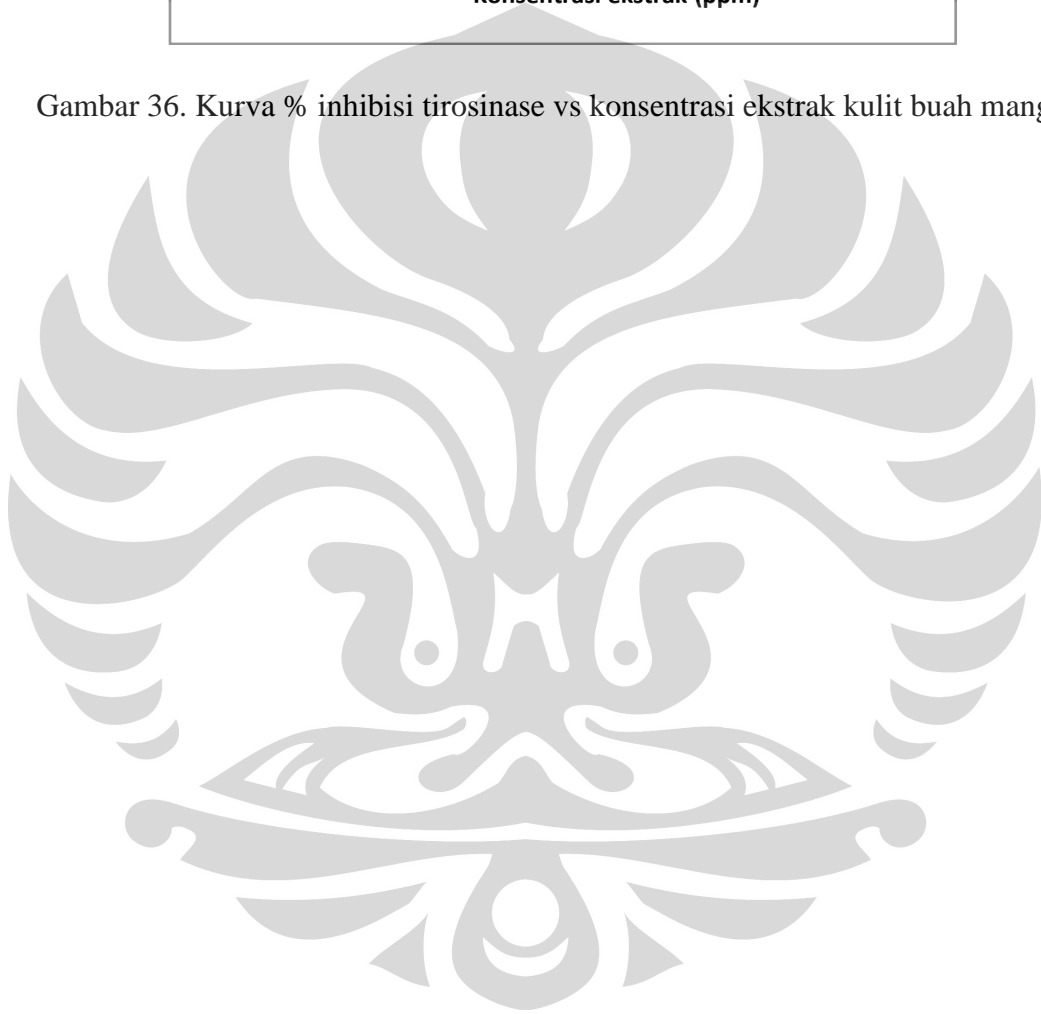
Gambar 34. Panjang gelombang maksimum dopakrom



Gambar 35. Lineweaver-Burk plot tirosinase dan l-dopa tanpa (●) dan dengan inhibitor (ekstrak kulit buah manggis) (▲)



Gambar 36. Kurva % inhibisi tirosinase vs konsentrasi ekstrak kulit buah manggis



Tabel 3. Hasil evaluasi krim ekstrak kulit buah manggis 1,5% yang dibuat dengan metode dingin (A) dan panas (B)

Pengamatan	Krim	
	A	B
Organoleptis	Kuning kecoklatan +++++, berbau khas ekstrak kulit buah manggis, homogen	Kuning kecoklatan +++++, berbau khas ekstrak kulit buah manggis, homogen
pH	3,24	3,55
Viskositas pada 2 rpm (cps)	75000	90000
Diameter globul rata-rata (μm)	0,2181	0,5349

Tabel 4. Pengamatan organoleptis sampel krim ekstrak kulit buah manggis 1,5% yang dibuat dengan metode dingin (A) dan panas (B) pada suhu rendah ($4\pm 2^\circ\text{C}$) selama 8 minggu.

Krim	Minggu	Pengamatan		
		Warna	Bau	Homogenitas
A	2	Kuning kecoklatan +++++	Khas ekstrak	Homogen
	4	Kuning kecoklatan +++++	Khas ekstrak	Homogen
	6	Kuning kecoklatan ++	Tidak berbau	Homogen
	8	Kuning kecoklatan ++	Tidak berbau	Homogen
B	2	kuning kecoklatan +++	Khas ekstrak	Homogen
	4	Kuning kecoklatan +++	Khas ekstrak	Homogen
	6	Kuning kecoklatan ++	Tidak berbau	Homogen
	8	Kuning kecoklatan ++	Tidak berbau	Homogen

Tabel 5. Pengamatan organoleptis sampel krim ekstrak kulit buah manggis 1,5% yang dibuat dengan metode dingin (A) dan panas (B) pada suhu kamar (27°-30°C) selama 8 minggu.

Krim	Minggu	Pengamatan		
		Warna	Bau	Homogenitas
A	2	Kuning kecoklatan +++	Khas ekstrak	Homogen
	4	kuning kecoklatan +++	Khas ekstrak	Homogen
	6	Kuning kecoklatan +++	Tidak berbau	Homogen
	8	Kuning kecoklatan ++	Sedikit tengik	Homogen
B	2	Kuning kecoklatan ++	Khas ekstrak	Homogen
	4	Kuning kecoklatan ++	Khas ekstrak	Homogen
	6	Kuning kecoklatan ++	Tidak berbau	Homogen
	8	Kuning kecoklatan +	Sedikit tengik	Homogen

Tabel 6. Pengamatan organoleptis sampel krim ekstrak kulit buah manggis 1,5% yang dibuat dengan metode dingin (A) dan panas (B) pada suhu tinggi (40 ± 2 °C) selama 8 minggu

Krim	Minggu	Pengamatan		
		Warna	Bau	Homogenitas
A	2	Kuning kecoklatan +++	Khas ekstrak	Homogen
	4	Kuning kecoklatan ++	Khas ekstrak	Homogen
	6	Kuning kecoklatan +	Sedikit tengik	Homogen
	8	Kuning kecoklatan +	Sedikit tengik	Homogen
B	2	Kuning kecoklatan ++	Khas ekstrak	Homogen
	4	Kuning muda +++	Khas ekstrak	Homogen
	6	Kuning muda ++	Sedikit tengik	Homogen
	8	Kuning muda ++	Sedikit tengik	Homogen

Tabel 7. Pengukuran pH krim metode dingin (A) dan panas (B) pada penyimpanan suhu 4°C, suhu kamar, dan suhu 40°C selama 8 minggu

Krim	Suhu	Minggu ke-2	Minggu ke-4	Minggu ke-6	Minggu ke-8
		pH	pH	pH	pH
A	4°C	3,47	3,28	3,79	3,22
	kamar	3,37	3,06	3,41	3,21
	40°C	3,6	3,03	4,00	3,17
B	4°C	3,69	3,31	3,94	3,4
	kamar	3,57	3,22	3,53	3,35
	40°C	4,46	3,20	3,53	3,4

Tabel 8. Pengukuran diameter globul krim metode dingin (A) dan panas (B) pada penyimpanan suhu 4°C, suhu kamar, dan suhu 40°C selama 8 minggu

Krim	Suhu	Minggu ke-2	Minggu ke-4	Minggu ke-6	Minggu ke-8
		d (µm)	d (µm)	d (µm)	d (µm)
A	4°C	0,2192	0,2284	0,2642	0,3015
	kamar	0,2336	0,229	0,2283	0,2503
	40°C	0,2903	0,2156	0,1836	0,2636
B	4°C	0,5399	0,6801	0,5101	0,4871
	kamar	0,7464	0,699	0,5132	0,4883
	40°C	0,6594	0,742	0,4653	0,4583

Tabel 9. Nilai viskositas krim metode dingin (A) dan panas (B) minggu ke-0 pada berbagai kecepatan (rpm)

A=metode dingin, B-metode panas

Krim	Spindle	Kecepatan (rpm)	Dial reading (dr)	Faktor koreksi (f)	Viskositas $\eta = dr \times f$	Shearing stress $F/A = dr \times 7,187$	Rate of shear $dv/dr = F/A \times 1/\eta$
A	6	2	15	5000	75000	107,805	0,0014374
		4	17	2500	42500	122,179	0,0028748
		10	19	1000	19000	136,553	0,0071870
		20	23	500	11500	165,301	0,0143740
		10	19	1000	19000	136,553	0,0071870
		4	17	2500	42500	122,179	0,0028748
		2	14	5000	70000	100,618	0,0014374
B	6	2	18	5000	90000	129,366	0,0014374
		4	24	2500	60000	172,488	0,0028748
		10	30	1000	30000	215,61	0,0071870
		20	35	500	17500	251,545	0,0143740
		10	27	1000	27000	194,049	0,0071870
		4	21	2500	52500	150,927	0,0028748
		2	16	5000	80000	114,992	0,0014374

Tabel 10. Nilai viskositas krim metode dingin (A) dan panas (B) minggu ke-8 pada berbagai kecepatan (rpm)

Krim	Spindle	Kec (rpm)	Dial reading (dr)	Faktor koreksi (f)	Viskositas $\eta = dr \times f$	Shearing stress $F/A = dr \times 7,187$	Rate of shear $dv/dr = F/A \times 1/\eta$
A	6	2	3	5000	15000	21,561	0,0014374
		4	3,9	2500	9750	28,0293	0,0028748
		10	5,1	1000	5100	36,6537	0,0071870
		20	6,5	500	3250	46,7155	0,0143740
		10	4,9	1000	4900	35,2163	0,0071870
		4	3,5	2500	8750	25,1545	0,0028748
		2	3,1	5000	15500	22,2797	0,0014374
B	6	2	6	5000	30000	43,122	0,0014374
		4	7	2500	17500	50,309	0,0028748
		10	8,5	1000	8500	61,0895	0,0071870
		20	10,5	500	5250	75,4635	0,0143740
		10	8,3	1000	8300	59,6521	0,0071870
		4	6,8	2500	17000	48,8716	0,0028748
		2	5,8	5000	29000	41,6846	0,0014374

Tabel 11. *Cycling Test* (suhu 40°C dan 4°C) metode dingin (A) dan panas (B)

Krim	Pengamatan		
	Awal	Siklus ke-6	
		Warna	Pemisahan fase
A	Kuning kecoklatan ++++	Kuning kecoklatan +++	Tidak terjadi pemisahan
B	Kuning kecoklatan +++	uning kecoklatan ++	Tidak terjadi pemisahan

Tabel 12. Uji mekanik (uji sentrifugasi) krim metode dingin (A) dan panas (B)

Krim	Awal	Akhir
A	Tidak terjadi pemisahan fase	Tidak terjadi pemisahan fase
B	Tidak terjadi pemisahan fase	Tidak terjadi pemisahan fase

Tabel 13. Nilai konsistensi krim metode dingin (A) dan panas (B)

Krim	Minggu ke-	Nilai konsistensi (1/10 mm)
A	0	410
	8	480
B	0	380
	8	470

Tabel 14. Data Kurva Lineweaver-Burk L-Dopa dengan dan tanpa inhibitor

Tanpa inhibitor						
Vol L-DOPA (ml)	Konsentrasi [S] L-DOPA (mM)	Serapan (A)	V ($\Delta A/\text{min}$)	V ($\mu\text{mol}/\text{min}$)	$1/[S] \text{ mM}^{-1}$	$1/V (\mu\text{mol}/\text{min})^{-1}$
0,1	0,1014	0,224	2,366	1,972	9,862	0,507
0,2	0,2028	0,2667	2,817	2,348	4,931	0,426
0,4	0,4056	0,2753	2,908	2,423	2,465	0,413
0,7	0,7099	0,2909	3,073	2,561	1,409	0,391
1	1,014	0,3185	3,364	2,804	0,986	0,357

Dengan inhibitor							
Vol L-DOPA (ml)	Konsentrasi [S] L-DOPA (mM)	Vol inhibitor (ml)	Serapan (A)	V ($\Delta A/\text{min}$)	V ($\mu\text{mol}/\text{min}$)	$1/[S] \text{ mM}^{-1}$	$1/V (\mu\text{mol}/\text{min})^{-1}$
0,1	0,1014	0,05	0,196	2,068	1,754	9,862	0,570
0,2	0,2028	0,05	0,243	2,567	2,139	4,931	0,467
0,4	0,4056	0,05	0,2666	2,816	2,347	2,465	0,426
0,7	0,7099	0,05	0,3202	3,382	2,819	1,409	0,355
1	1,014	0,05	0,3292	3,477	2,898	0,986	0,345

Tabel 15. Pengukuran aktivitas inhibisi tirosinase ekstrak kulit buah manggis dengan metode dopakrom secara spektrofotometer UV-vis

Konsentrasi ekstrak (ppm)	% inhibisi
15	48,38
30	54,66
45	70,96
60	76,04

Tabel 16. Pengukuran aktivitas inhibisi tirosinase krim ekstrak kulit buah manggis dengan metode dopakrom secara spektrofotometer UV-vis

krim	replikasi % inhibisi	Rata-rata % inhibisi
metode dingin	34,48	33,91
	33,33	
metode panas	40,68	39,99
	39,31	

Lampiran 1

Perhitungan diameter globul rata-rata

Perhitungan diameter globul krim A pada minggu ke 0

No	Rentang (μm)	Nilai tengah (d)	n	nd
1	0,1250-0,1666	0,1458	136	19,8288
2	0,1667-0,2083	0,1875	-	-
3	0,2084-0,250	0,2292	132	30,2544
4	0,260-0,3016	0,2709	-	-
5	0,3017-0,3433	0,3126	-	-
6	0,3434-0,385	0,3543	-	-
7	0,386-0,4267	0,396	-	-
8	0,4268-0,4684	0,4377	-	-
9	0,4685-0,5101	0,4794	32	15,3408
Jumlah (Σ)			300	65,424

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{0,500 - 0,125}{9} = 0,0416$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\Sigma nd}{\Sigma n} = \frac{65,424}{300} = 0,2181 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim B pada minggu ke 0

No	Rentang (μm)	Nilai tengah (d)	n	nd
1	0,250-0,361	0,3055	120	36,66
2	0,362-0,473	0,4175	-	-
3	0,474-0,585	0,5295	74	39,18
4	0,586-0,697	0,6415	-	-
5	0,698-0,809	0,7535	81	61,03
6	0,810-0,921	0,8655	-	-
7	0,922-1,033	0,9775	20	19,55
8	0,1034-1,145	1,0895	-	-
9	0,1146-1,257	1,2015	5	6,75
Jumlah (Σ)			300	163,17

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{1,250 - 0,250}{9} = 0,111$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\Sigma nd}{\Sigma n} = \frac{163,17}{300} = 0,5439 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim A, t= minggu ke -2, T=4 \pm 2 $^{\circ}$ C

No	Rentang (μm)	Nilai tengah (d)	n	nd
1	0,1250-0,1666	0,1458	132	19,2456
2	0,1667-0,2083	0,1875	-	-
3	0,2084-0,250	0,2292	136	31,1712
4	0,260-0,3016	0,2709	-	-
5	0,3017-0,3433	0,3126	-	-
6	0,3434-0,385	0,3543	-	-
7	0,386-0,4267	0,396	-	-
8	0,4268-0,4684	0,4377	-	-
9	0,4685-0,5101	0,4794	32	15,341
Jumlah (Σ)			300	65,757

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{0,500 - 0,125}{9} = 0,0416$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\Sigma nd}{\Sigma n} = \frac{65,757}{300} = 0,2192 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim B, t= minggu ke -2, T=4±2°C

No	Rentang (µm)	Nilai tengah (d)	n	nd
1	0,250-0,361	0,3055	165	50,41
2	0,362-0,473	0,4175	-	-
3	0,474-0,585	0,5295	-	-
4	0,586-0,697	0,6415	-	-
5	0,698-0,809	0,7535	102	76,85
6	0,810-0,921	0,8655	-	-
7	0,922-1,033	0,9775	22	21,50
8	0,1034-1,145	1,0895	-	-
9	0,1146-1,257	1,2015	11	13,21
Jumlah (Σ)			300	161,97

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{1,250 - 0,250}{9} = 0,111$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{161,97}{300} = 0,5399 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim A, t= minggu ke -2, T=suhu kamar

No	Rentang (µm)	Nilai tengah (d)	n	nd
1	0,1250-0,1666	0,1458	128	18,6624
2	0,1667-0,2083	0,1875	-	-
3	0,2084-0,250	0,2292	124	28,4208
4	0,260-0,3016	0,2709	-	-
5	0,3017-0,3433	0,3126	-	-
6	0,3434-0,385	0,3543	-	-
7	0,386-0,4267	0,396	-	-
8	0,4268-0,4684	0,4377	-	-
9	0,4685-0,5101	0,4794	48	23,0112
Jumlah (Σ)			300	70,094

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{0,500 - 0,125}{9} = 0,0416$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{70,094}{300} = 0,2336 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim B, t= minggu ke -2, T= suhu kamar

No	Rentang (µm)	Nilai tengah (d)	n	nd
1	0,250-0,361	0,3055	96	29,33
2	0,362-0,473	0,4175	-	-
3	0,474-0,585	0,5295	60	31,77
4	0,586-0,697	0,6415	-	-
5	0,698-0,809	0,7535	-	-
6	0,810-0,921	0,8655	-	-
7	0,922-1,033	0,9775	-	-
8	0,1034-1,145	1,0895	91	99,14
9	0,1146-1,257	1,2015	53	63,68
Jumlah (Σ)			300	223,92

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{1,250 - 0,250}{9} = 0,111$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{223,92}{300} = 0,7464 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim A, t= minggu ke -2, T= 40±2°C

No	Rentang (µm)	Nilai tengah (d)	n	Nd
1	0,1250-0,1666	0,1458	-	-
2	0,1667-0,2083	0,1875	76	14.25
3	0,2084-0,250	0,2292	138	31.6296
4	0,260-0,3016	0,2709	-	-
5	0,3017-0,3433	0,3126	-	-
6	0,3434-0,385	0,3543	-	-
7	0,386-0,4267	0,396	-	-
8	0,4268-0,4684	0,4377	-	-
9	0,4685-0,5101	0,4794	86	41.2284
Jumlah (Σ)			300	87.108

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{0,500 - 0,125}{9} = 0,0416$$

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{87.108}{300} = 0,29036 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim B, t= minggu ke -2, T= 40±2°C

No	Rentang (µm)	Nilai tengah (d)	N	nd
1	0,250-0,361	0,3055	63	19,2465
2	0,362-0,473	0,4175	-	-
3	0,474-0,585	0,5295	70	37,065
4	0,586-0,697	0,6415	-	-
5	0,698-0,809	0,7535	132	99,462
6	0,810-0,921	0,8655	-	-
7	0,922-1,033	0,9775	-	-
8	1,034-1,145	1,0895	-	-
9	1,146-1,257	1,2015	35	42,0525
Jumlah (Σ)			300	197,826

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{1,250 - 0,250}{9} = 0,111$$

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{197,826}{300} = 0,6594 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim A, t= minggu ke -4, T=4±2°C

No	Rentang (µm)	Nilai tengah (d)	n	Nd
1	0,1250-0,1666	0,1458	135	19,683
2	0,1667-0,2083	0,1875	-	-
3	0,2084-0,250	0,2292	121	27,7332
4	0,260-0,3016	0,2709	-	-
5	0,3017-0,3433	0,3126	-	-
6	0,3434-0,385	0,3543	-	-
7	0,386-0,4267	0,396	-	-
8	0,4268-0,4684	0,4377	-	-
9	0,4685-0,5101	0,4794	44	21,094
Jumlah (Σ)			300	68,509

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{0,500 - 0,125}{9} = 0,0416$$

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{68,509}{300} = 0,2284 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim B, t= minggu ke -4, T=4±2°C

No	Rentang (µm)	Nilai tengah (d)	N	nd
1	0,250-0,361	0,3055	60	18,33
2	0,362-0,473	0,4175	-	-
3	0,474-0,585	0,5295	96	50,832
4	0,586-0,697	0,6415	-	-
5	0,698-0,809	0,7535	60	45,21
6	0,810-0,921	0,8655	-	-
7	0,922-1,033	0,9775	48	46,92
8	0,1034-1,145	1,0895	-	-
9	0,1146-1,257	1,2015	36	43,254
Jumlah (Σ)			300	204,254

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{1,250 - 0,250}{9} = 0,111$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{204,254}{300} = 0,6801 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim A, t= minggu ke -4, T= suhu kamar

No	Rentang (µm)	Nilai tengah (d)	n	Nd
1	0,1250-0,1666	0,1458	120	17,496
2	0,1667-0,2083	0,1875	-	-
3	0,2084-0,250	0,2292	140	32,088
4	0,260-0,3016	0,2709	-	-
5	0,3017-0,3433	0,3126	-	-
6	0,3434-0,385	0,3543	-	-
7	0,386-0,4267	0,396	-	-
8	0,4268-0,4684	0,4377	-	-
9	0,4685-0,5101	0,4794	40	19,176
Jumlah (Σ)			300	68,76

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{0,500 - 0,125}{9} = 0,0416$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{68,76}{300} = 0,2292 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim B, t= minggu ke -4, T= suhu kamar

No	Rentang (µm)	Nilai tengah (d)	n	nd
1	0,250-0,361	0,3055	48	14,664
2	0,362-0,473	0,4175	-	-
3	0,474-0,585	0,5295	108	57,186
4	0,586-0,697	0,6415	-	-
5	0,698-0,809	0,7535	48	36,168
6	0,810-0,921	0,8655	-	-
7	0,922-1,033	0,9775	60	58,65
8	0,1034-1,145	1,0895	-	-
9	0,1146-1,257	1,2015	36	43,254
Jumlah (Σ)			300	209,922

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{1,250 - 0,250}{9} = 0,111$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{209,922}{300} = 0,699 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim A, t= minggu ke -4, T= 40±2°C

No	Rentang (μm)	Nilai tengah (d)	n	Nd
1	0,1250-0,1666	0,1458	121	17,6418
2	0,1667-0,2083	0,1875	-	-
3	0,2084-0,250	0,2292	155	35,526
4	0,260-0,3016	0,2709	-	-
5	0,3017-0,3433	0,3126	-	-
6	0,3434-0,385	0,3543	-	-
7	0,386-0,4267	0,396	-	-
8	0,4268-0,4684	0,4377	-	-
9	0,4685-0,5101	0,4794	24	11,5056
Jumlah (Σ)			300	64,6734

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{0,500 - 0,125}{9} = 0,0416$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{64,6734}{300} = 0,2156 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim B, t= minggu ke -4, T= 40±2°C

No	Rentang (μm)	Nilai tengah (d)	n	Nd
1	0,250-0,361	0,3055	62	18,941
2	0,362-0,473	0,4175	-	-
3	0,474-0,585	0,5295	60	31,77
4	0,586-0,697	0,6415	-	-
5	0,698-0,809	0,7535	102	76,857
6	0,810-0,921	0,8655	-	-
7	0,922-1,033	0,9775	-	-
8	0,1034-1,145	1,0895	74	80,623
9	0,1146-1,257	1,2015	12	14,418
Jumlah (Σ)			300	222,609

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{1,250 - 0,250}{9} = 0,111$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{222,609}{300} = 0,742 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim A, t= minggu ke -6, T= 4±2°C

No	Rentang (μm)	Nilai tengah (d)	n	Nd
1	0,1250-0,1666	0,1458	88	12,8304
2	0,1667-0,2083	0,1875	-	-
3	0,2084-0,250	0,2292	120	27,504
4	0,260-0,3016	0,2709	-	-
5	0,3017-0,3433	0,3126	-	-
6	0,3434-0,385	0,3543	-	-
7	0,386-0,4267	0,396	62	24,552
8	0,4268-0,4684	0,4377	-	-
9	0,4685-0,5101	0,4794	30	14382
Jumlah (Σ)			300	79,2684

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{0,500 - 0,125}{9} = 0,0416$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{79,2684}{300} = 0,2642 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim B, t= minggu ke -6, T= 4±2°C

No	Rentang (µm)	Nilai tengah (d)	n	Nd
1	0,250- 0,333	0.2915	44	12,826
2	0.334- 0,417	0.3755	81	30,4155
3	0,418-0,501	0.4595	-	-
4	0,502-0,585	0.5435	130	70,655
5	0,586-0,669	0.6275	-	-
6	0,670-0,753	0.7115	-	-
7	0,754-0,837	0.7955	25	19,8875
8	0,838- 0,921	0.8795	-	-
9	0,922-1,005	0.9635	20	19,27
Jumlah (Σ)			300	153,054

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{1,000 - 0,250}{9} = 0,083$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{153,054}{300} = 0,51018 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim A, t= minggu ke -6, T= suhu kamar

No	Rentang (µm)	Nilai tengah (d)	n	Nd
1	0,1250-0,1666	0,1458	198	14,8716
2	0,1667-0,2083	0,1875	-	-
3	0,2084-0,250	0,2292	-	-
4	0,260-0,3016	0,2709	102	53,6382
5	0,3017-0,3433	0,3126	-	-
6	0,3434-0,385	0,3543	-	-
7	0,386-0,4267	0,396	-	-
8	0,4268-0,4684	0,4377	-	-
9	0,4685-0,5101	0,4794	-	-
Jumlah (Σ)			300	68,5098

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{0,500 - 0,125}{9} = 0,0416$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{68,5098}{300} = 0,2283 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim B, t= minggu ke -6, T= suhu kamar

No	Rentang (µm)	Nilai tengah (d)	n	Nd
1	0,250- 0,333	0.2915	99	28,8585
2	0.334- 0,417	0.3755	32	12,016
3	0,418-0,501	0.4595	-	-
4	0,502-0,585	0.5435	102	55,437
5	0,586-0,669	0.6275	-	-
6	0,670-0,753	0.7115	-	-
7	0,754-0,837	0.7955	41	32,6155
8	0,838- 0,921	0.8795	-	-
9	0,922-1,005	0.9635	26	25,051
Jumlah (Σ)			300	153,978

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{1,000 - 0,250}{9} = 0,083$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{153,978}{300} = 0,51326 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim A, t= minggu ke -6, T= 40±2°C

No	Rentang (µm)	Nilai tengah (d)	N	Nd
1	0,1250-0,1666	0,1458	108	15.7464
2	0,1667-0,2083	0,1875	112	21
3	0,2084-0,250	0,2292	80	18.336
4	0,260-0,3016	0,2709	-	-
5	0,3017-0,3433	0,3126	-	-
6	0,3434-0,385	0,3543	-	-
7	0,386-0,4267	0,396	-	-
8	0,4268-0,4684	0,4377	-	-
9	0,4685-0,5101	0,4794	-	-
Jumlah (Σ)			300	55.0824

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{0,500 - 0,125}{9} = 0,0416$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{55,0824}{300} = 0.183608 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim B, t= minggu ke -6, T= 40±2°C

No	Rentang (µm)	Nilai tengah (d)	n	Nd
1	0,250- 0,333	0.2915	145	42.2675
2	0.334- 0,417	0.3755	-	-
3	0,418-0,501	0.4595	-	-
4	0,502-0,585	0.5435	111	60.3285
5	0,586-0,669	0.6275	-	-
6	0,670-0,753	0.7115	-	-
7	0,754-0,837	0.7955	32	25.456
8	0,838- 0,921	0.8795	-	-
9	0,922-1,005	0.9635	12	11.562
Jumlah (Σ)			300	139.614

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{1,000 - 0,250}{9} = 0,083$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{139,614}{300} = 0.46538 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim A, t= minggu ke -8, T= suhu kamar

No	Rentang (µm)	Nilai tengah (d)	n	Nd
1	0,1250-0.1666	0,1458	116	16.9128
2	0.1667-0.2083	0,1875		0
3	0.2084-0,250	0,2292		0
4	0,260-0,3016	0,2709	144	39.0096
5	0,3017-0.3433	0,3126		0
6	0.3434-0.385	0,3543		0
7	0.386-0.4267	0,396		0
8	0.4268-0.4684	0,4377		0
9	0.4685-0.5101	0,4794	40	19.176
Jumlah (Σ)			300	75.0984

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{0,500 - 0,125}{9} = 0,0416$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{75,0984}{300} = 0,250328 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim B, t= minggu ke -8, T= suhu kamar

No	Rentang (μm)	Nilai tengah (d)	n	Nd
1	0,250- 0,3888	0,3914	187	73,1918
2	0,3889-0,5277	0,4583	72	32,9976
3	0,5278-0,6666	0,5972		
4	0,6667-0,8055	0,7361	20	14,722
5	0,8056-0,9444	0,875		
6	0,9445-1,0833	1,0139		
7	1,0834-1,2222	1,1528	16	18,4448
8	1,2223-1,3611	1,2917		
9	1,3612-1,500	1,4306	5	7,153
Jumlah (Σ)			300	146.5092

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{1,5 - 0,250}{9} = 0,1388$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\Sigma nd}{\Sigma n} = \frac{146.5092}{300} = 0.488364 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim A, t= minggu ke -8, T= 40 \pm 2 $^{\circ}$ C

No	Rentang (μm)	Nilai tengah (d)	n	Nd
1	0,125-0,222	0,1735	135	23,4225
2	0,223-0,320	0,2715	140	38,01
3	0,321-0,418	0,3695		0
4	0,419-0,516	0,4675		0
5	0,517-0,614	0,5655	12	6,786
6	0,615-0,712	0,6635		0
7	0,713-0,810	0,7615	8	6,092
8	0,811-0,908	0,8595		0
9	0,909-1,006	0,9575	5	4,7875
Jumlah (Σ)			300	79,098

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{1,00 - 0,125}{9} = 0,0972$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\Sigma nd}{\Sigma n} = \frac{79,098}{300} = 0,26366 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim B, t= minggu ke -8, T= 40 \pm 2 $^{\circ}$ C

No	Rentang (μm)	Nilai tengah (d)	n	Nd
1	0,250- 0,333	0,2915	120	34,98
2	0,334- 0,417	0,3755	-	-
3	0,418-0,501	0,4595	-	-
4	0,502-0,585	0,5435	164	89,134
5	0,586-0,669	0,6275	-	-
6	0,670-0,753	0,7115	-	-
7	0,754-0,837	0,7955	12	9,546
8	0,838- 0,921	0,8795	-	-
9	0,922-1,005	0,9635	4	3,854
Jumlah (Σ)			300	137,514

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{1,000 - 0,250}{9} = 0,083$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\Sigma nd}{\Sigma n} = \frac{137,514}{300} = 0,45838 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim A, t= minggu ke -8, T= 4±2°C

No	Rentang (µm)	Nilai tengah (d)	n	Nd
1	0,125-0,222	0,1735	100	17,35
2	0,223-0,320	0,2715	116	31,494
3	0,321-0,418	0,3695	-	-
4	0,419-0,516	0,4675	76	35,53
5	0,517-0,614	0,5655	-	-
6	0,615-0,712	0,6635	-	-
7	0,713-0,810	0,7615	8	6,092
8	0,811-0,908	0,8595	-	-
9	0,909-1,006	0,9575	-	-
Jumlah (Σ)			300	90,466

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{1,00 - 0,125}{9} = 0,0972$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{90,466}{300} = 0,301553 \mu\text{m}$$

Perhitungan diameter globul krim B, t= minggu ke -8, T= 4±2°C

No	Rentang (µm)	Nilai tengah (d)	n	Nd
1	0,250- 0,3888	0,3914	120	46,968
2	0,3889-0,5277	0,4583	140	64,162
3	0,5278-0,6666	0,5972	-	-
4	0,6667-0,8055	0,7361	32	23,5552
5	0,8056-0,9444	0,875	-	-
6	0,9445-1,0833	1,0139	-	-
7	1,0834-1,2222	1,1528	-	-
8	1,2223-1,3611	1,2917	-	-
9	1,3612-1,500	1,4306	8	11,4448
Jumlah (Σ)			300	146,13

$$K = 1 + 3,322 \log 300 = 9,28 \sim 9$$

$$I = \frac{1,5 - 0,250}{9} = 0,1388$$

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{146,13}{300} = 0,4871 \mu\text{m}$$

Lampiran 2

Perhitungan aktivitas inhibisi tirosinase ekstrak kulit buah manggis
 Nilai aktivitas inhibisi tirosinase diperoleh dengan menghitung pembentukan
 dopakrom menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{serapan A} - \text{serapan B}) - (\text{serapan C} - \text{serapan D})}{(\text{serapan A} - \text{serapan B})} \times 100\%$$

No	Konsentrasi ekstrak (ppm)	Serapan (A)			
		Tabung A	Tabung B	Tabung C	Tabung D
1.	15	0,3220	0,0035	0,1688	0,0044
2.	30	0,3222	0,0037	0,1494	0,0050
3.	45	0,3225	0,0040	0,0975	0,0055
4.	60	0,3221	0,0034	0,0839	0,0076

Perhitungan:

1. Konsentrasi ekstrak 15 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(0,3220 - 0,0035) - (0,1688 - 0,0044)}{(0,3220 - 0,0035)} \times 100\% = 48,38\%$$

2. Konsentrasi ekstrak 30 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(0,3222 - 0,0037) - (0,1494 - 0,0050)}{(0,3222 - 0,0037)} \times 100\% = 54,66\%$$

3. Konsentrasi ekstrak 45 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(0,3225 - 0,0040) - (0,0975 - 0,0055)}{(0,3225 - 0,0040)} \times 100\% = 70,96\%$$

4. Konsentrasi ekstrak 60 ppm

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(0,3221 - 0,0034) - (0,0839 - 0,0076)}{(0,3221 - 0,0034)} \times 100\% = 76,04\%$$

Lampiran 3

Perhitungan aktivitas inhibisi tirosinase krim ekstrak kulit buah manggis
 Nilai aktivitas inhibisi tirosinase diperoleh dengan menghitung pembentukan
 dopakrom menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{serapan A} - \text{serapan B}) - (\text{serapan C} - \text{serapan D})}{(\text{serapan A} - \text{serapan B})} \times 100\%$$

Krim	Replikasi	Serapan (A)			
		Tabung A	Tabung B	Tabung C	Tabung D
Metode dingin	1	0,0191	0,0046	0,0497	0,0402
	2	0,0193	0,0049	0,0493	0,0397
Metode panas	1	0,0190	0,0045	0,0774	0,0688
	2	0,0188	0,0043	0,0753	0,0665

Perhitungan :

Krim metode dingin

$$1. \% \text{ inhibisi} = \frac{(0,0191 - 0,0046) - (0,0497 - 0,0402)}{(0,0191 - 0,0046)} \times 100\% = 34,48 \%$$

$$2. \% \text{ inhibisi} = \frac{(0,0193 - 0,0049) - (0,0493 - 0,0397)}{(0,0193 - 0,0049)} \times 100\% = 33,33 \%$$

$$\text{Rata-rata \% inhibisi} = 33,91\%$$

Krim metode panas

$$1. \% \text{ inhibisi} = \frac{(0,0190 - 0,0045) - (0,0774 - 0,0688)}{(0,0190 - 0,0045)} \times 100\% = 40,68 \%$$

$$2. \% \text{ inhibisi} = \frac{(0,0188 - 0,0043) - (0,0753 - 0,0665)}{(0,0188 - 0,0043)} \times 100\% = 39,31 \%$$

$$\text{Rata-rata \% inhibisi} = 39,99 \%$$

Lampiran 4
Sertifikat Analisis Tirosinase

Certificate Of Analysis

Certificate of Analysis
SIGMA-ALDRICH

Product Name	Tyrosinase from mushroom, lyophilized powder, ≥ 1000 unit/mg solid	
Product Number	T3824	
Product Brand	SIGMA	
CAS Number	9002-10-2	
Storage Temp	-20°C	

TEST	SPECIFICATION	LOT 079K7000 RESULTS
APPEARANCE	REPORT RESULT	LIGHT BEIGE LYOPHILIZED POWDER
TYROSINASE ACTIVITY	NLT 1,000 UNITS/MG SOLID	3,933 UNITS/MG SOLID
UNIT DEFINITION	ONE UNIT WILL CAUSE AN INCREASE IN A280 OF 0.001 PER MINUTE AT PH6.5 AT 25DEGC IN A 3ML REACTION MIX CONTAINING L-TYROSINE.	
POLYPHENOL OXIDASE ACTIVITY	> OR = 50,000 UN/MG SOLID	286,080 UNITS/MG SOLID
UNIT DEFINITION	ONE UNIT WILL CAUSE A DECREASE IN A265 OF 0.001 PER MINUTE AT PH6.5 AT 25DEGC, IN A 3ML REACTION MIXTURE CONTAINING L-BETA-3,4-DIHYDROXYPHENYL-ALANINE (L-DOPA)	
CATECHOL OXIDASE ACTIVITY	> OR = 200,000 UN/MG SOLID	1,079,010 UNITS/MG SOLID
UNIT DEFINITION	ONE UNIT WILL CAUSE A DECREASE IN A265 OF 0.001 PER MINUTE AT PH6.5 AT 25DEGC IN A 3ML REACTION MIXTURE CONTAINING CATECHOL AND ASCORBIC ACID.	
RECOMMENDED RETEST	3 YEARS	NOV 2012
QC RELEASE DATE		18 NOV 2009

Rodney Buelbach
Rodney Buelbach, Manager
Quality Control
St. Louis, Missouri USA

Lampiran 5
Sertifikat Analisis L-Dopa

成都超人植化有限公司
CHENGDU SUPERMAN PLANT & CHEMICAL DEVELOPMENT CO., LTD

质量检测报告
CERTIFICATE OF ANALYSIS

091

产品名称 (Product name): 左旋多巴 (LSDOPA)
 批号 (Batch number): 20090720 报告日期 (Report date): 2009.07.20
 生产日期 (Manufacture date): 2009.07.20 有效日期 (Expiry date): 2012.07.20
 报告编号 (Report number): 09020 数量 (Batch quantity): 75 kg

检验项目 Contents of analysis	英国药典 2000 附册 HP2000	检验结果 Results of analysis
性状 Appearance	白色或乳白色结晶性粉末 White or off-white crystalline powder	符合规定 Qualified
鉴别 Identification	呈阳性反应 Must positive	呈阳性反应 Positive
溶解性 Solubility	应符合规定 Must qualified	符合规定 Qualified
有关物质 Related substances	应符合规定 Must qualified	符合规定 Qualified
酸碱性 Acidity or alkalinity (pH)	4.5-7.0	符合规定 Qualified
吸收系数 Absorptivity	137-247	符合规定 Qualified
旋光度 Optical rotation	+1.37-+1.96	符合规定 Qualified
重金属 Heavy metals	<10ppm	<10ppm
干燥失重 Loss on drying	0.0%	0.18%
硫酸盐 Sulphated ash	0.0%	0.06%
含量 Assay	99.0-103.0%	100.16%


结论: 符合英国药典 2000 版标准
 Conclusion: Up to BP 2000 standard

质量主管: 杨莉
 Quality Assurance Officer: Yang Li

检验员: 田田
 Analyst: Tian Tian

PT. SETIA KAMAN ABADI

Lampiran 6
Hasil Determinasi Buah Manggis



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
(Research Center for Biology)
Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

LIPI

Cibinong, /3 Oktober 2010

Nomor : 1237/IPH.1.02/If.8/X/2010
Lampiran : -
Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan


Kepada Yth.
Bpk./Ibu/Sdr(i). Dewi Nur Anggraeni
Mhs. Univ. Indonesia

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Manggis	<i>Garcinia mangostana</i> L.	Clusiaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Plh. Kepala Bidang Botani
Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Dr. Andria Agusta S.Si.
NIP. 196908161994031003

D:\Ident 2010\Dewi Nur Anggraeni.doc\JJA-SP

Page 1 of 1

Lampiran 7
Laporan Hasil Ekstraksi Kulit Manggi

LABORATORIUM
BALAI PENELITIAN TANAMAN OBAT DAN AROMATIK
Jln. Tentara Pelajar No. 3 Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu, Bogor 16111
Telp. (0251) 8321879 Fax. (0251) 8327010 E-mail : balitrov@telkom.net


DF 5.10.1.2.

LAPORAN HASIL UJI
No. Adm. : 512/T/LAB/IX/10

Kepada Yth.
Dewi Nur Anggraeni
Universitas Indonesia

Kondisi/Identifikasi Contoh : **Simplisia**
Tanggal Penerimaan : **27 September 2010**
Tanggal Pengujian : **4 Oktober 2010**

No	Jenis Contoh	Jenis Pengujian/Pemeriksaan	Hasil Pengujian/Pemeriksaan (No. contoh/kode)	Metode Pengujian
1.	Kulit buah manggis	Ekstrak dgn metanol - Rendemen (%)	15,24	Maserasi

Bogor, 5 Oktober 2010
Manajer Teknis,

Ma'mun, S.Si

- Laporan hasil uji ini berlaku selama 90 hari sejak diterbitkan. Surat menyurat agar mencantumkan nomor administrasi.
- Hasil pengujian di atas hanya berdasarkan contoh uji yang bersangkutan. Laporan ini dilarang diperbanyak kecuali atas persetujuan tertulis dari Laboratorium Pengujian Balitrov.

Lembar kedua : disimpan oleh Manajer Administrasi

Lampiran 8
Sertifikat Analisis Ekstrak Kulit Buah Manggis

LABORATORIUM
BALAI PENELITIAN TANAMAN OBAT DAN AROMATIK
Jln. Tentara Pelajar No. 3 Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu, Bogor 16111
Telp (0251) 8321879 Fax. (0251) 8327010 E-mail : balitro@telkom.net

DE 5.10.1.2

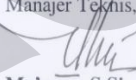
LAPORAN HASIL UJI
No. Adm. : 617/T/LAB/XI/10

Kepada Yth.
Dwi Nur A
Depok

Kondisi/Identifikasi Contoh : Cair
Tanggal Penerimaan : 11 November 2010
Tanggal Pengujian : 22 - 23 November 2010

No	Jenis Contoh	Jenis Pengujian/Pemeriksaan	Hasil Pengujian/Pemeriksaan (No. contoh/kode)	Metode Pengujian
1.	Ekstrak kulit manggis	Uji fitokimia :		Kualitatif
		- Alkaloid	+++	
		- Saponin	++++	
		- Tanin	++++	
		- Fenolik	+++	
		- Flavonoid	++++	
		- Triterfenoid	++++	
		- Steroid	-	
		- Glikosida	++++	

Keterangan :
- : Negatif
+ : Positif lemah
++ : Positif
+++ : Positif kuat
++++ : Positif kuat sekali

Bogor, 24 November 2010
Manajer Teknis,

Ma'mun, S.Si

- Laporan hasil uji ini berlaku selama 90 hari sejak diterbitkan. Surat menyurat agar mencantumkan nomor administrasi.
- Hasil pengujian di atas hanya berdasarkan contoh uji yang bersangkutan. Laporan ini dilarang diperbanyak kecuali atas persetujuan tertulis dari Laboratorium Pengujian Balitro.

Lembar kedua : disimpan oleh Manajer Administrasi