

**STABILITAS FISIK DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI KRIM  
ANTI-AGING YANG MENGANDUNG EKSTRAK COKELAT  
(*Theobroma cacao* Linn.)**

**SHERLY NATALIA  
0305050582**



**UNIVERSITAS INDONESIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN FARMASI  
DEPOK  
2009**

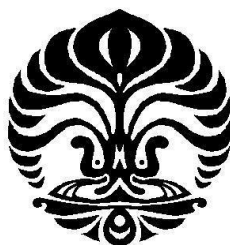
**STABILITAS FISIK DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI KRIM ANTI-AGING YANG MENGANDUNG EKSTRAK COKELAT (*Theobroma cacao* Linn.)**

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Farmasi**

**Oleh:**

**SHERLY NATALIA**

**0305050582**



**DEPOK**

**2009**

SKRIPSI : STABILITAS FISIK DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI  
KRIM ANTI-AGING YANG MENGANDUNG EKSTRAK  
COKELAT (*Theobroma cacao* Linn.)

NAMA : SHERLY NATALIA

NPM : 0305050582

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JULI 2009



Dra. JUHEINI AMIN, MS.  
PEMBIMBING I



Dr. ABDUL MUN'IM, MS.  
PEMBIMBING II

Tanggal lulus ujian sidang sarjana : .....

Penguji I : Joshita Djajadisastra, MS., PhD.

Penguji II : Dra. Azizahwati, MS.

Penguji III : Santi Purnasari, MS.



## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur dan terima kasih penulis kepada Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana Farmasi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, MS selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas selama masa pendidikan dan penelitian berlangsung.
2. Ibu Dra. Juheini Amin, MSi. dan Bapak Dr. Abdul Mun'im, MSi selaku dosen Pembimbing, yang telah bersedia memberikan bimbingan, pengarahan, sumbangan ide-ide dan ilmu-ilmu yang bermanfaat selama penelitian.
3. Papa, Mama, serta kakak dan adikku, yang selalu memberikan perhatian, kasih sayang, doa dan semangat kepada penulis.
4. Ibu Dra. Retnosari Andrajati, MSi., PhD, Apt selaku pembimbing akademik yang telah membimbing penulis selama masa pendidikan di Farmasi FMIPA UI.
5. Ibu Joshita Djajadisastra, MSi., PhD selaku Kepala Bidang Farmasetika Departemen Farmasi FMIPA UI.

6. Ibu Dr. Katrin B, MSi. selaku Kepala Laboratorium Fitokimia yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas selama penelitian.
7. Bapak Dr. Hayun, MSi. selaku Kepala Laboratorium Kimia Farmasi Analisa Kuantitatif yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas selama penelitian.
8. Seluruh staf pengajar dan karyawan Departemen Farmasi yang telah membantu penulis selama masa pendidikan dan penelitian.
9. Teman-teman, Yuhendi, Frans, Fileas, Rendy, Agus, Lia, Panya, Chatrine, Ridwan, Clara, Stevani, Tita, Andy, Edo, Michael, Marcel, Seffy, Raditya, Senny, Andita, Kathie, Susanto, serta semua teman – teman Farmasi angkatan 2005 senantiasa mendukung penulis selama masa pendidikan dan penelitian.
10. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan dorongan semangat, bantuan, bimbingan dan pengarahan selama penelitian dan penyusunan skripsi.

Penulis berharap semoga karya ilmiah ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan dan masyarakat luas.

Penulis

2009

## ABSTRAK

Ekstrak cokelat memiliki kandungan polifenol yang bersifat antioksidan sehingga mampu menghambat reaksi radikal bebas. Pada penelitian ini, ekstrak cokelat dengan konsentrasi 0,5%, 0,75%, dan 1% (b/b) diformulasikan dalam sediaan krim. Adanya ekstrak cokelat dengan konsentrasi yang berbeda-beda dalam krim diperkirakan dapat mempengaruhi kestabilan fisik krim. Uji stabilitas fisik dilakukan dengan suhu penyimpanan kamar,  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}$  C, dan  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}$  C, uji *cycling test*, dan uji mekanik. Parameter kestabilan yang diamati adalah organoleptis, homogenitas, pH, diameter globul, konsistensi, dan viskositas. Krim cokelat 0,5%, 0,75%, dan 1% menunjukkan kestabilan fisik pada penyimpanan suhu kamar,  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}$  C, dan  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}$  C, uji *cycling test*, namun menunjukkan ketidakstabilan pada uji mekanik. Aktivitas antioksidan krim diukur menggunakan metode DPPH dan hasilnya adalah tidak terdapat perbedaan bermakna aktivitas antioksidan krim. Penyinaran sinar UV A dengan MED 60.000 mJ/cm<sup>2</sup> juga tidak memberi perbedaan yang bermakna terhadap aktivitas antioksidan krim

Kata kunci : aktivitas antioksidan, ekstrak cokelat, krim, uji stabilitas fisik

Halaman : xii + 112 halaman: gambar: tabel: lampiran

Acuan : 40 (1986-2009)

## ABSTRACT

Cocoa extract contains flavonoid that have antioxidant properties. It has the ability to block free radical reaction. In this research, 0,5%, 0,75%, and 1% (w/w) cocoa extract were formulated in cream. The addition of cocoa extract in different concentration were predicted can influence physical stability of cream. The physical stability test including the storage at room temperature,  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}$  C, and  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}$  C, cycling test, and mechanical test. Stability parameter were organoleptics, homogeneity, pH, globul's diameter, consistency, and viscosity. Creams showed the physical stability of storage at room temperature,  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}$  C, and  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}$  C, cycling test, but it showed instability of mechanical test. Cream's antioxidant activity were measured by DPPH method. As results, there was no important difference cream's antioxidant activity between creams, and also no important difference showed in cream's antioxidant activity before and after irradiation of UV A ray MED 60.000 mJ/cm<sup>2</sup>.

Key word : antioxidant activity, cacao extract, cream, physical stability testing

Pages : xii + 112 pages: picture: table: appendix

References : 40 (1986-2009)

## DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR .....	i
ABSTRAK.....	iii
ABSTRACT.....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Tujuan Penelitian .....	3
C. Hipotesis .....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	5
A. Kulit.....	5
B. Kosmetik.....	8
C. Sinar matahari.....	7
D. Radikal bebas.....	10
E. Tanaman coklat.....	11
F. Krim.....	13



G. Antioksidan dan Pengukuran aktivitas antioksidan metode DPPH.....	25
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	27
A. Alat.....	27
B. Bahan.....	27
C. Formula Krim.....	28
D. Cara Kerja.....	29
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	35
A. Hasil.....	35
B. Pembahasan.....	39
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	51
A. Kesimpulan .....	51
B. Saran .....	51
DAFTAR ACUAN .....	53

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Rumus bangun setil alkohol.....	14
2. Rumus bangun isopropil miristat.....	15
3. Rumus bangun Span 60.....	16
4. Rumus bangun Tween 60.....	16
5. Rumus bangun propilen glikol.....	17
6. Rumus bangun propil paraben.....	18
7. Rumus bangun metil paraben.....	18
8. Rumus bangun BHT.....	19
9. Gambar rekasi DPPH dengan antioksidan.....	26
10. Foto ekstrak cokelat ( <i>Theobroma cacao</i> Linn).....	58
11. Foto awal krim cokelat.....	58
12. Skema pembuatan krim.....	59
13. Foto krim cokelat uji stabilitas minggu ke-2.....	60
14. Foto krim cokelat uji stabilitas minggu ke-4.....	61
15. Foto krim cokelat uji stabilitas minggu ke-6.....	62
16. Foto krim cokelat uji stabilitas minggu ke-8.....	63
17. Foto globul awal krim.....	64
18. Foto globul krim cokelat 0,5% pada suhu kamar.....	64
19. Foto globul krim cokelat 0,5% pada suhu $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ .....	65
20. Foto globul krim cokelat 0,5% pada suhu $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ .....	65

21. Foto globul krim coklat 0,75% pada suhu kamar.....	66
22. Foto globul krim coklat 0,75% pada suhu $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ .....	66
23. Foto globul krim coklat 0,75% pada suhu $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ .....	67
24. Foto globul krim coklat 1% pada suhu kamar.....	67
25. Foto globul krim coklat 1% pada suhu $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ .....	68
26. Foto globul krim coklat 1% pada suhu $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ .....	68
27. Foto krim hasil <i>cycling test</i> .....	69
28. Foto krim hasil uji mekanik.....	69
29. Foto krim uji aktiviyas antioksidan.....	70
30. Grafik aktivitas antioksidan krim 10.000 ppm sebelum dan sesudah memperoleh sinar UV A.....	70
31. Grafik perubahan viskositas selama 8 minggu pada 2 rpm .....	71
32. Kurva aliran krim coklat 0,5% pada minggu ke-1 dan ke-8.....	72
33. Kurva aliran krim coklat 0,75% pada minggu ke-1 dan ke-8.....	72
34. Kurva aliran krim coklat 1% pada minggu ke-1 dan ke-8.....	72
35. Kurva perubahan pH pada penyimpanan suhu kamar.....	73
36. Kurva perubahan pH pada penyimpanan suhu $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ .....	73
37. Kurva perubahan pH pada penyimpanan suhu $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ .....	73
38. Gambar kurva kalibrasi kuersetin.....	74
39. Gambar alat-alat yang digunakan dalam penelitian.....	75

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Presentase bahan-bahan dalam krim.....	28
2. Hasil evaluasi awal krim.....	76
3. Pengamatan organoleptis sampel krim pada suhu kamar selama 8 minggu.....	77
4. Pengamatan organoleptis sampel krim pada suhu $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 8 minggu.....	78
5. Pengamatan organoleptis sampel krim pada suhu $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 8 minggu.....	79
6. Nilai viskositas krim awal (minggu ke-1) pada berbagai rpm.....	80
7. Nilai viskositas krim akhir (minggu ke-8) pada berbagai rpm.....	81
8. Perubahan pH dan diameter globul pada penyimpanan suhu kamar, $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , dan $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 8 minggu.....	82
9. Nilai konsistensi krim akhir.....	82
10. Hasil cycling test.....	83
11. Hasil uji mekanik.....	83
12. Hasil kurva kalibrasi kuersetin.....	84
13. Kadar flavonoid total ekstrak coklat.....	84
14. Pengukuran aktivitas antioksidan awal krim blangko negatif.....	85
15. Pengukuran aktivitas antioksidan awal krim coklat 0,5%.....	85
16. Pengukuran aktivitas antioksidan awal krim coklat 0,75%.....	86
17. Pengukuran aktivitas antioksidan awal krim coklat 1%.....	86
18. Pengukuran aktivitas antioksidan awal krim blangko positif.....	87

19. Pengukuran aktivitas antioksidan akhir krim blangko negatif.....	87
20. Pengukuran aktivitas antioksidan akhir krim coklat 0,5%.....	88
21. Pengukuran aktivitas antioksidan akhir krim coklat 0,75%.....	88
22. Pengukuran aktivitas antioksidan akhir krim coklat 1%.....	89
23. Pengukuran aktivitas antioksidan akhir krim blangko positif .....	89



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan HLB krim.....	90
2. Perhitungan basis krim.....	91
3. Perhitungan diameter globul awal krim.....	92
4. Perhitungan diameter globul krim coklat 0,5% minggu ke -2 sampai minggu ke-8.....	93
5. Perhitungan diameter globul krim coklat 0,75% minggu ke -2 sampai minggu ke-8.....	96
6. Perhitungan diameter globul krim coklat 1% minggu ke -2 sampai minggu ke-8 .....	99
7. Contoh perhitungan kadar flavonoid total ekstrak coklat.....	102
8. Contoh perhitungan persentase inhibisi.....	103
9. Uji Kruskal-Wallis terhadap persentase inhibisi krim 10 ppm sebelum memperoleh sinar UV A .....	104
10. Uji Kruskal-Wallis terhadap persentase inhibisi krim 100 ppm sebelum memperoleh sinar UV A .....	105
11. Uji Kruskal-Wallis terhadap persentase inhibisi krim 1.000 ppm sebelum memperoleh sinar UV A .....	106
12. Uji Kruskal-Wallis terhadap persentase inhibisi krim 10.000 ppm sebelum memperoleh sinar UV A .....	107
13. Uji Kruskal-Wallis terhadap persentase inhibisi krim 10.000 ppm sesudah memperoleh sinar UV A .....	108
14. Uji Wilcoxon persentase krim 10.000 ppm sebelum dan sesudah krim memperoleh sinar UV A.....	109
15. Sertifikat analisis ekstrak coklat.....	110

16. Sertifikat analisis vitamin c.....	111
17. Sertifikat kalibrasi irradiansi lampu UV A.....	112



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. LATAR BELAKANG

Kulit merupakan organ tubuh terluar sehingga seringkali kulit terpapar lingkungan yang prooksidatif seperti sinar matahari (1). Indonesia merupakan daerah tropis dengan pancaran sinar matahari sepanjang tahun. Sinar matahari terdiri dari sinar ultraviolet (UV), sinar tampak, dan sinar merah. Sinar UV A dan B menyebabkan kerusakan pada kulit karena sinar UV tersebut tidak diabsorpsi ozon sehingga kulit dapat terpapar oleh sinar UV (2).

Paparan sinar UV menyebabkan terbentuknya radikal bebas yaitu ROS (*Radical Oxygen Species*) yang merupakan molekul tidak stabil. ROS akan berikatan dengan komponen sel untuk menjadi stabil, sehingga akan merusak komponen sel seperti lemak, protein, dan asam nukleat (1). Kerusakan komponen sel menyebabkan penuaan dini pada kulit yang ditandai dengan kulit kering, keriput, dan kusam. Untuk mencegah terjadinya hal tersebut diperlukan suatu sediaan kosmetik yang mampu mencegah penuaan dini (1).

Akhir-akhir ini banyak dikembangkan penelitian yang berfokus pada bahan alam, termasuk penelitian di bidang industri kosmetik. Manfaat bahan



alam yang dapat diambil antara lain sifat antioksidannya yang dapat menghambat radikal bebas sehingga antioksidan digunakan untuk mencegah penuaan dini (1).

Antioksidan pada tanaman umumnya adalah golongan polifenol dan vitamin (1). Golongan polifenol berdaya antioksidan karena struktur kimia yang mudah melepaskan  $H^+$  untuk bereaksi dengan radikal bebas. Polifenol hampir ditemukan pada setiap tumbuhan, satu diantaranya adalah pada biji tanaman cokelat (3).

Indonesia merupakan salah satu negara penghasil biji coklat terbesar selain Pantai Gading dan Ghana(4). Biji coklat banyak digunakan sebagai makanan dan minuman ataupun bahan tambahan dalam makanan dan minuman. Selain itu biji coklat diketahui memiliki kandungan senyawa polifenol yaitu flavonoid seperti katekin, epikatekin, dan proantosianidin (5). Katekin dan isomernya, yaitu epikatekin merupakan satu diantara flavonoid yang memiliki daya antioksidan yang paling tinggi dibanding flavonoid lainnya, sehingga memiliki daya hambat yang tinggi terhadap radikal bebas (6).

Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa polifenol yang terdapat pada coklat berkhasiat sebagai antioksidan (7). Penelitian lain menunjukkan coklat adalah antioksidan kuat *ex vivo* dan *in vivo* (8). Selain itu penelitian *ex vivo* penggunaan ekstrak coklat 0,5% dan 0,75% menunjukkan bahwa polifenol coklat mempengaruhi struktur kulit (9).

Dalam penelitian ini digunakan ekstrak coklat yang diperoleh dari biji coklat untuk diformulasikan sebagai bahan aktif dalam krim. Krim merupakan sediaan setengah padat berupa emulsi minyak dan air. Krim banyak diaplikasikan untuk penggunaan pada kulit karena memiliki karakteristik mudah menyebar, mudah dibersihkan, dan tidak lengket (10).

Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak coklat yang diformulasikan dalam krim, dilakukan uji menggunakan metode DPPH/ 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil karena metode ini praktis dan sensitif. Pengujian ini dilakukan sebelum dan sesudah krim memperoleh sinar UV.

Sediaan kosmetik yang stabil yaitu sediaan yang masih berada dalam batas yang diterima selama periode penyimpanan dan penggunaan, yaitu sifat dan karakteristiknya sama dengan saat dibuat (11). Adanya ekstrak coklat dalam krim diperkirakan akan mempengaruhi kestabilan fisik krim sehingga diperlukan uji kestabilan fisik dari tiap krim yang dibuat dengan konsentrasi ekstrak coklat yang berbeda-beda.

## **B. TUJUAN PENELITIAN**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas fisik dan aktivitas antioksidan dari formulasi krim *anti-aging* yang mengandung ekstrak coklat dalam konsentrasi yang berbeda-beda yaitu 0,5%, 0,75%, dan 1% (b/b%).

### C. HIPOTESIS

Krim yang mengandung ekstrak cokelat (*Theobroma cacao* Linn.) dengan konsentrasi 0,5%, 0,75%, dan 1% memiliki perbedaan aktivitas antioksidan.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. KULIT

Kulit merupakan organ tubuh yang terletak paling luar dan memiliki fungsi utama sebagai pelindung dari berbagai macam gangguan dan rangsangan luar. Fungsi perlindungan ini terjadi melalui sejumlah mekanisme biologis, seperti pembentukan lapisan tanduk, respirasi dan pengaturan suhu tubuh, produksi sebum dan keringat, dan pembentukan pigmen melanin untuk melindungi kulit dari bahaya sinar ultraviolet matahari, sebagai peraba dan perasa, serta pertahanan terhadap tekanan dan infeksi dari luar.

Kulit tersusun atas 3 lapisan utama yaitu lapisan epidermis, dermis dan hipodermis (12,13).

##### 1. Lapisan Epidermis

Epidermis merupakan lapisan terluar dari kulit dan umumnya tersusun dari sel-sel epitel. Ketebalan lapisan ini bervariasi tergantung lokasi, yaitu antara 0,05– 1,5 mm.

Epidermis sebagian besar terdiri dari keratinosit yang berfungsi utama menghasilkan filamen protein, keratin, dan bersama komponen lipid lainnya menjadi *barier* perlindungan. Berikut lapisan-lapisan pada epidermis:

a. Lapisan Tanduk (*stratum corneum*)

Lapisan ini merupakan bagian terluar dari epidermis, terdiri atas 10 lapis sel yang pipih, mati, tidak berinti, tidak mengalami proses metabolisme, tidak berwarna, memiliki kandungan air yang rendah. Lapisan ini umumnya mengandung keratin.

b. Lapisan Jernih (*stratum lucidum*)

Lapisan ini terletak dibawah lapisan tanduk, terdiri dari selapis tipis sel yang jernih dan mengandung eleidin.

c. Lapisan Berbutir-butir (*stratum granulosum*)

Lapisan ini terdiri dari sel-sel keratinosit yang berbentuk poligonal dengan butir kasar (*keratohyalin*) dan intinya mengerut. *Keratohyalin* mengandung material yang berperan dalam aggregasi filamen keratin.

d. Lapisan Malphigi (*stratum spinosum*)

Sel-sel pada lapisan ini berbentuk kubus dan berduri, intinya oval dan besar. Setiap sel berisi filamen-filamen kecil yang terdiri atas serabut protein.

e. Lapisan Basal (*stratum germinativum*)

Lapisan ini adalah lapisan terbawah dari epidermis. Pada lapisan ini terdapat sel-sel melanosit. Melanosit tidak mengalami keratinasi dan fungsinya adalah membentuk pigmen melanin.

2. Lapisan Dermis

Lapisan ini lebih tebal daripada epidermis, ketebalannya berkisar antara 2-4 mm dan menyusun sekitar 90-95 % massa kulit. Lapisan ini terbentuk oleh jaringan elastik dan fibrosa padat dengan elemen selular, kelenjar dan

rambut sebagai adneksa kulit. Fungsi dari dermis adalah untuk memberikan nutrisi kepada epidermis dan menghubungkannya dengan jaringan subkutan.

Lapisan ini terdiri atas:

a. *Pars papilaris*, yaitu bagian yang menonjol ke dalam epidermis, berisi ujung serabut saraf dan pembuluh darah.

b. *Pars retikularis*, yaitu bagian bawah dermis yang berhubungan dengan subkutis, terdiri atas serabut penunjang kolagen 75 %, elastin 4 % dan retikulin 0,4%, substansi lainnya 20 %, sel melanosit, sel fibroblast dan sel mast. Kolagen muda bersifat lentur namun dengan bertambahnya usia akan menjadi keras. Retikulin mirip dengan kolagen muda, sedangkan elastin biasanya bergelombang, berbentuk amorf, mudah mengembang dan elastis. Matriks ini juga mengandung serabut saraf, pembuluh darah, folikel rambut, kelenjar sebacea dan lemak.

### 3. Lapisan Hipodermis

Lapisan ini merupakan kelanjutan dermis, terdiri atas jaringan ikat longgar berisi sel-sel lemak di dalamnya. Pada lapisan ini terjadi pembentukan dan penyimpanan lemak. Lapisan sel lemak ini berfungsi sebagai cadangan makanan dan sumber energi. Pada lapisan ini juga terdapat ujung-ujung saraf tepi, pembuluh darah, dan saluran getah bening. Hipodermis ditandai dengan adanya jaringan ikat longgar dan sel-sel yang membentuk jaringan lemak.

## B. KOSMETIK

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 445/MenKes/Permenkes/1998, kosmetik adalah sediaan atau paduan bahan yang siap digunakan pada bagian luar badan (epidermis, rambut, kuku, bibir, dan organ kelamin bagian luar), gigi, dan rongga mulut untuk membersihkan, menambah daya tarik, mengubah penampilan, melindungi supaya tetap dalam keadaan baik, memperbaiki bau badan tetapi tidak dimaksudkan untuk mengobati atau menyembuhkan suatu penyakit (13).

Pengolongan kosmetik berdasarkan kegunaannya, yaitu kosmetik perawatan kulit (pembersih, pelembab, pelindung, dan pengampelas kulit) dan kosmetik riasan/dekoratif. Krim *anti-aging* merupakan salah satu kosmetik perawatan.

## C. SINAR MATAHARI

Radiasi sinar matahari yang menyinari bumi bervariasi antara panjang gelombang 200-3000 nm, yaitu sinar UV, sinar tampak, dan infra merah (13). Sinar UV memiliki panjang gelombang terpendek dan energi yang terbesar. Sinar UV terdiri dari sinar UV A (200-280nm), UV B (280-320nm), dan UV C (320-400nm) (17).

### 1. UV-C (200-290 nm)

Sinar UV C tidak sampai ke permukaan bumi karena diabsorpsi oleh lapisan ozon dibagian statosfer sehingga tidak berbahaya bagi manusia. Peningkatan penggunaan CFC pada alat-alat rumah tangga seperti AC dan lemari es, mengakibatkan penurunan daya filtrasi lapisan ozon sehingga radiasi UV C dapat mencapai permukaan bumi sehingga dapat membahayakan kulit manusia.

### 2. UV-B (290-320 nm)

Radiasi sinar UV B ini mencapai permukaan kulit dengan 70% dipantulkan lapisan epidermis, 20% berpenetrasi lebih dalam ke epidermis, dan 10% mencapai dermis. Sinar UV B ini memiliki *Minimal Erythemat Dose* (MED) antara 20-35 mJ/cm<sup>2</sup> untuk kulit tipe 2 (15).

### 3. UV-A (320-400 nm)

Sinar UV A memiliki energi yang rendah namun berpenetrasi lebih dalam dibanding sinar UV B, 20-30% mencapai dermis. Respon akut terhadap UV A terjadi apabila terpapar dalam jangka waktu yang lama/ kumulatif. Sinar UV A merusak sel dan jaringan. Efek jangka panjang sinar ini adalah menurunkan sintesis jaringan kolagen sehingga elastisitas kulit berkurang. Sinar UV A memiliki *Minimal Erythemat Dose* (MED) antara 50.000-60.000 mJ/cm<sup>2</sup> untuk kulit tipe 2 (15).



#### D. RADIKAL BEBAS

Radikal bebas adalah senyawa yang memiliki elektron bebas tidak berpasangan sehingga tidak stabil. Radikal bebas bersifat sangat reaktif dan mudah berikatan secara kovalen dengan senyawa lain untuk menstabilkan kekurangan elektronnya. Senyawa lain yang kehilangan satu elektronnya akan menjadi tidak stabil sehingga akan mengambil elektron dari senyawa lainnya untuk menjadi stabil, reaksi ini terus berantai (16).

Radikal bebas terbentuk dari banyak faktor, antara lain adalah sinar UV A dan B. Kulit merupakan organ terluar tubuh sering sekali terpapar radikal bebas dari matahari. Radikal bebas mudah berikatan dengan senyawa dalam sel seperti DNA dan protein, contohnya berikatan dengan protein kolagen kulit sehingga kolagen rusak dan menyebabkan kulit menjadi kurang elastis. Selain itu radikal bebas dapat berikatan dengan DNA sehingga sel kulit akan rusak. Sel kulit yang rusak/ abnormal menimbulkan keriput. Kulit yang tidak elastis dan keriput tersebut merupakan tanda penuaan dini (17).

Mekanisme pembentukan radikal bebas terdiri dari tiga tahapan:

1. Inisiasi, yaitu tahap terbentuknya radikal bebas dari molekul yang stabil disebabkan oleh faktor inisiasi seperti sinar x dan sinar UV.
2. Propagasi, yaitu tahap berlanjutnya reaksi radikal bebas yang terbentuk dari proses inisiasi
  - a. Radikal bebas bereaksi dengan hidrogen membentuk radikal alkil

- b. Radikal alkil yang terbentuk bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksida
- c. Radikal peroksida menarik hidrogen dari molekul terdekat membentuk hidroperoksida (metastabil) dan radikal alkil yang baru
- d. Hidroperoksida dapat terdekomposisi secara spontan membentuk radikal dan radikal alkoksi

Kedua radikal bebas yang terbentuk dapat berinteraksi dengan molekul organik yang baru sehingga membentuk radikal alkil baru.

Reaksi ini berulang-ulang sehingga terbentuk radikal bebas yang banyak

3. Terminasi, yaitu tahap terjadinya reaksi antara radikal-radikal bebas

## E. TANAMAN COKELAT

1. Klasifikasi (19)

Dunia : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Bangsa : Malvales

Suku : Sterculiaceae

Marga : Theobroma

Jenis : *Theobroma cacao* Linn.

## 2. Ekologi dan penyebaran (20, 21)

Tanaman cokelat tumbuh pada hutan subtropik, dengan curah hujan 4,8-42,9 dm, temperatur tahunan 18-28,5°C, dan pH 4,3-8,7. Tanaman ini diproduksi secara komersial di Costa Rica, Ghana, Indonesia, Nigeria, Brazil, dan Kamerun.

## 3. Morfologi (20, 22)

Tanaman cokelat merupakan tanaman kecil dengan tinggi 12-25 kaki, bercabang di bagian puncaknya. Batangnya tegak lurus dengan panjang 1,5-2 meter. Kayunya terang dan putih, kulit kayunya tipis, halus, dan kecokelatan. Daunnya lebar, mengkilap, bertulang, halus pada kedua sisinya, panjangnya 8-10 inchi, saat muda berwarna merah dan hijau saat matang. Bunganya kecil, berkelompok, dan berwarna merah muda atau putih.

Buahnya memiliki kulit yang halus, berbentuk lonjong/bulat dengan warna merah/ kuning/ jingga. Buahya mengandung 20-50 biji yang dikelilingi getah putih. Bijinya berukuran 2,5 cm, bagian luar berwarna merah kecokelatan, bagian dalam cokelat gelap dan dibungkus lapisan keputih-putihan, manis dan berminyak.

## 4. Pembuatan ekstrak cokelat

Bahan baku pembuatan ekstrak cokelat adalah *alkalized cocoa cake*, yaitu cokelat yang sudah mengalami proses pres sehingga terbebas dari lemak cokelat. Metode pembuatan ekstrak cokelat yang digunakan PT. Bali Ekstrak Utama adalah maserasi dengan etanol. Setelah dimaserasi dilakukan

evaporasi/penguapan pelarut untuk menghilangkan etanol sehingga didapatkan ekstrak cokelat yang kental.

#### 5. Kandungan kimia dan manfaat ekstrak cokelat

Kandungan kimia ekstrak cokelat adalah polifenol dan tanin. Polifenol yang utama adalah flavonoid, yaitu epikatekin. Epikatekin bermanfaat sebagai antioksidan seperti menurunkan oksidasi LDL, senyawa anti kanker, dan antidiabetes (5,23). Selain epikatekin juga terdapat katekin , proantosianidin, dan kuersetin (5).

#### F. KRIM

Menurut Farmakope Indonesia Edisi IV, krim adalah bentuk sediaan setengah padat yang mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Krim adalah sediaan farmasi berbentuk emulsi (10), yaitu suatu sistem yang terdiri dari bahan terdispersi dalam bahan pendispersi.

Krim berdasarkan jenis emulsinya, terdapat dua jenis yaitu krim air dalam minyak dan minyak dalam air. Krim air dalam minyak yaitu fase air terdispersi dalam fase minyak sedangkan krim minyak dalam air sebaliknya (14).

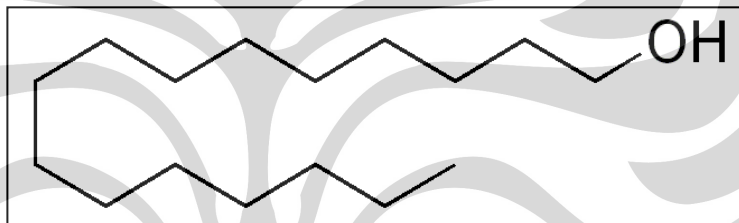
Bahan penyusun krim terdiri dari fase minyak, fase air, emulgator dan bahan tambahan. Bahan tambahan pada krim adalah pengawet, pendapar, pengkompleks, antioksidan dan bahan pembantu lainnya.

## 1. Formulasi krim

### a. Bahan fase minyak

Bahan pada fase minyak digunakan untuk menghambat penguapan air pada kulit sekaligus membentuk basis krim. Bahan fase minyak yang digunakan pada formula ini adalah setil alkohol dan isopropil miristat (14).

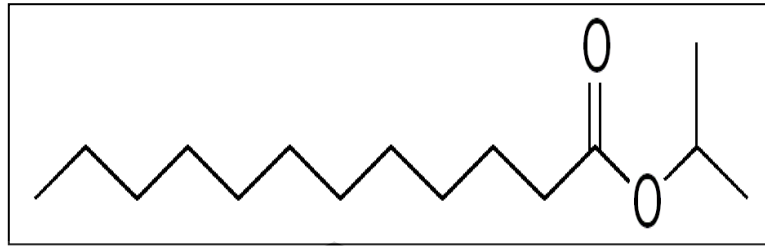
#### 1) Setil alkohol



Gambar 1. Rumus bangun setil alkohol

Setil alkohol digunakan dalam krim karena bersifat emolien, dapat meningkatkan kestabilan, tekstur, dan konsistensi. Setil alkohol berupa serpihan putih atau granul, memiliki bau khas, dan tidak berasa. Senyawa ini larut dalam minyak dan tidak larut dalam air. Sebagai pembentuk basis, setil alkohol digunakan pada konsentrasi 2-10%. Nilai HLB setil alkohol adalah 15,0 dan titik lelehnya 46-52°C (26).

## 2) Isopropil miristat



Gambar 2. Rumus bangun isopropil miristat

Isopropil miristat merupakan basis lemak dengan sifat emolien yang mudah diabsorpsi kulit. Isopropil miristat adalah cairan jernih tidak berwarna dan praktis tidak berbau. Senyawa ini larut dalam aseton, kloroform, etanol, etil asetat, hidrokarbon, toluen; praktis tidak larut dalam gliserin, glikol, dan air. Kegunaan isopropil miristat adalah sebagai emolien, pelarut, dan peningkat viskositas. Konsentrasi yang umum digunakan dalam krim adalah 1-10%. Nilai HLB isopropil miristat adalah 11,5 (26).

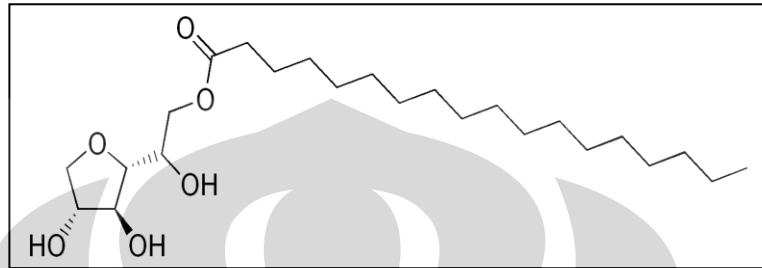
## b. Bahan pengemulsi

Bahan pengemulsi yang digunakan adalah surfaktan yang bekerja dengan menurunkan tegangan antarmuka antara bagian minyak dan air, hal ini disebabkan karena surfaktan terdiri dari bagian yang memiliki afinitas terhadap air dan bagian lain terhadap minyak. Berikut adalah penggolongan surfaktan berdasarkan muatannya yaitu surfaktan anionik, kationik, amfoterik, dan nonionik (25). Surfaktan nonionik lebih banyak digunakan untuk sediaan kosmetik karena tidak bermuatan sehingga penggunaannya pada kulit aman.

Dalam formulasi ini digunakan gabungan surfaktan nonionik yaitu sorbitan monostearat dan polisorbat 60. Penggunaan gabungan surfaktan ini

untuk mencapai nilai HLB yang diinginkan dan membentuk emulsi yang lebih stabil.

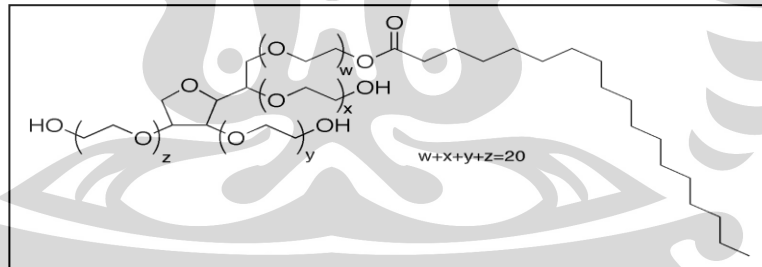
1) Sorbitan monostearat/ Span 60



Gambar 3. Rumus bangun sorbitan monostearat/ span 60

Sorbitan monostearat berbentuk serbuk padat berwarna kuning . Larut dalam minyak dan hampir semua pelarut organik. Senyawa ini tidak larut dalam air. Kegunaannya adalah sebagai emulgator, agen pelarut, dan agen pembasah. Nilai HLB Span 60 adalah 4,7 dan titik lelehnya 53-57°C.

2) Polisorbat 60/ Tween 60

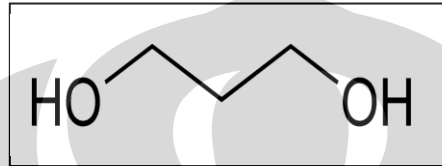


Gambar 4. Rumus bangun polisorbat 60/ tween 60

Polisorbat 60 berbentuk cairan, bening, kental, dan berbau khas lemah. Senyawa ini larut dalam air, propilen glikol, dan tidak larut dalam minyak. Kegunaan tween 60 adalah sebagai emulgator. Nilai HLB tween 60 adalah 14,9 dan titik lelehnya  $\geq 38^\circ\text{C}$ .

### c. Humektan

Penggunaan humektan bertujuan untuk menjaga kelembaban kulit, disamping itu humektan juga berperan untuk mempertahankan kandungan air dari suatu sediaan kosmetik dan mencegah *cap locking*. Formula krim dalam penelitian ini menggunakan propilen glikol sebagai humektan.



Gambar 5. Rumus bangun propilen glikol

Propilen glikol merupakan cairan jernih, tidak berwarna, manis, kental, dan praktis tidak berbau. Senyawa ini larut dalam aseton, kloroform, air, gliserin, eter, dan etanol namun tidak larut dalam minyak mineral. Kegunaan propilen glikol adalah sebagai humektan, plastisizer, pelarut, dan stabilizer. Konsentrasi yang umum digunakan sebagai humektan dalam krim adalah 5-15%. Propilen glikol bersifat higroskopis.

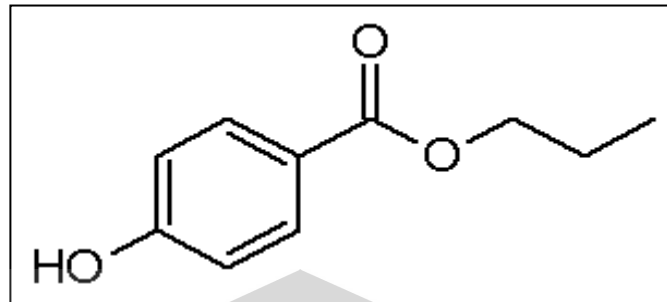
### d. Pengawet

Krim merupakan emulsi dengan komposisi air lebih dari 50% (14). Bagian air mudah ditumbuhi mikroba seperti bakteri dan jamur sehingga diperlukan bahan pengawet untuk menghambat pertumbuhan mikroba. Bahan pengawet juga digunakan untuk mencegah kontaminasi sediaan saat penggunaan maupun penyimpanan.

Pada formula ini digunakan gabungan dua bahan pengawet yaitu propil paraben dan metil paraben untuk memberikan penghambatan sinergis terhadap mikroba.



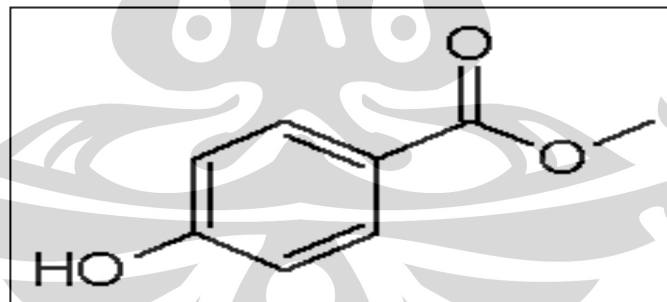
## 1) Propil paraben



Gambar 6. Rumus bangun propil paraben

Propil paraben berbentuk kristal putih, tidak berbau, dan tidak berasa. Senyawa ini sukar larut dalam air, mudah larut dalam alkohol, eter, dan propilen glikol. Propil paraben digunakan sebagai pengawet pada kosmetik. Propil paraben sangat efektif terhadap jamur dan kapang, disamping itu propil paraben aktif terhadap bakteri gram positif daripada bakteri gram negatif. Konsentrasi yang digunakan untuk sediaan topikal adalah 0,01-0,6%.

## 2) Metil paraben

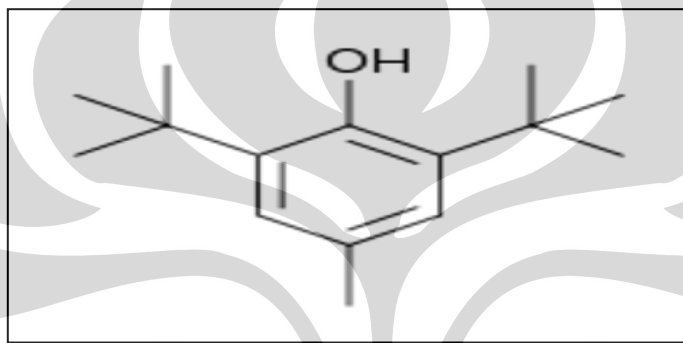


Gambar 7. Rumus bangun metil paraben

Metil paraben berbentuk kristal putih dan tidak berbau. Senyawa ini sukar larut dalam air, larut dalam air panas, mudah larut dalam alkohol, aseton, dan propilen glikol. Metil paraben umum digunakan untuk pengawet pada kosmetik, dengan aktivitas paling efektif untuk jamur dan kapang. Konsentrasi yang digunakan untuk sediaan topikal adalah 0,02-0,3%.

#### e. Antioksidan

Emulsi terdiri dari minyak dan lemak yang memiliki ikatan rangkap yang tidak jenuh sehingga mudah teroksidasi dan menyebabkan ketengikan ataupun menimbulkan reaksi yang tidak diinginkan pada kulit. Antioksidan digunakan untuk menghindari penurunan kualitas suatu sediaan kosmetik karena oksidasi lemak.



Gambar 8. Rumus bangun BHT

Pada formula ini digunakan butil hidroksi toluen (BHT) sebagai antioksidan. Butil hidroksi toluen berupa padatan atau serbuk kristal berwarna putih atau kuning pucat. Senyawa ini mudah larut dalam minyak, aseton, benzen, etanol, eter, metanol, toluen, dan parafin cair; praktis tidak larut dalam air, gliserin, propilen glikol, larutan alkali hidroksida, dan dengan larutan asam mineral encer. Kegunaannya adalah sebagai antioksidan pada konsentrasi 0,5-1%.

#### 2. Sifat alir emulsi

Rheologi berasal dari bahasa Yunani yaitu mengalir (Rheo) dan logos (ilmu), pertama kali digunakan oleh Bingham dan Crawford untuk

menggambarkan aliran cairan dan deformasi dari padatan. Hal yang berhubungan dengan rheologi adalah viskositas dan elastisitas. Viskositas adalah suatu tahanan dari suatu cairan untuk mengalir, makin tinggi viskositas maka akan makin besar tahanannya.

Air dan paraffin cair memiliki viskositas tetapi tidak memiliki elastisitas, cairan seperti itu dinamakan cairan Newton. Dalam kosmetik, sediaan cair termasuk dalam aliran Newton namun sistem dispersi seperti krim dan lotion menunjukkan sifat alir yang kompleks antara viskositas dan elastisitas. Sediaan krim dan lotion termasuk golongan non Newton (14).

Aliran non Newton adalah aliran yang tidak mengikuti persamaan aliran Newton seperti dispersi heterogen, larutan koloid, emulsi, dan suspensi cair. Berdasarkan sifat alirannya, cairan non Newton dibagi menjadi dua yaitu (27):

a. Cairan yang sifat alirnya tidak dipengaruhi oleh waktu

Kelompok ini terbagi atas tiga bagian, yaitu:

1) Plastis

Cairan ini mempunyai sifat tidak akan mengalir sebelum gaya tertentu dilampauinya yang disebut *yield value*.

Kurva aliran plastis tidak melalui titik (0,0) tetapi memotong *shearing stress* pada suatu titik tertentu yaitu *yield value*. Adanya *yield value* disebabkan oleh adanya kontak antara partikel-partikel yang berdekatan yang harus dipecah sebelum aliran dapat terjadi.

## 2) Pseudoplastis

Sejumlah besar produk farmasi seperti polimer menunjukkan aliran pseudoplastis, kurva aliran ini melalui titik (0,0). Hal ini berlawanan dengan aliran plastis sehingga aliran pseudoplastis tidak memiliki *yield value*. Viskositas zat pseudoplastis berkurang dengan meningkatnya *rate of shear*.

## 3) Dilatan

Peningkatan viskositas akan meningkat seiring meningkatnya *rate of shear* karena volume dari sediaan akan naik bila *rate of shear* ditingkatkan.

### b. Cairan yang sifat alirnya dipengaruhi waktu

Kelompok ini juga terbagi atas tiga bagian, yaitu:

#### 1) Tiksotropik

Aliran tiksotropik dijumpai pada zat yang mempunyai aliran plastis dan pseudoplastis. Kurva aliran ini menurun disebelah kiri kurva menaik, hal ini terjadi karena perubahan struktur yang tidak kembali ke keadaan semula dengan segera apabila *stress* dikurangi. Kurva aliran ini bergantung pada *rate of shear* yang meningkat dan berkurang serta lamanya zat mengalami *rate of shear*.

Tiksotropik merupakan sifat aliran yang diinginkan dalam produk farmasi karena memiliki konsistensi tinggi dalam wadah tetapi dapat dituang dan tersebar dengan mudah.

#### 2) Reopeksi

Kurva aliran menurun disebelah kanan kurva menaik maka aliran ini merupakan kebalikan dari aliran tiksotropik.

### 3) Anti-tiksotropik

Aliran ini disebut juga aliran tiksotropik negatif, yaitu terjadi kenaikan konsistensi pada kurva menaiknya. Konsistensi akan bertambah seiring menaiknya waktu *shear*.

### 3. Stabilitas dan uji kestabilan

Emulsi pada dasarnya tidak stabil dan akan rusak ketika dibiarkan selama periode waktu yang lama. Secara umum ketidakstabilan yang dapat terjadi pada emulsi yaitu *creaming*, koagulasi, dan koalesen (14).

a. *Creaming* adalah keadaan partikel dalam emulsi yang kurang rapat cenderung ke atas permukaan. Jika fase terdispersi kurang rapat dibandingkan fase pendispersi maka terjadi *creaming* yang mengarah ke atas seperti pada emulsi minyak dalam air, namun bila fase pendispersi kurang rapat dibandingkan fase terdispersi maka terjadi pengendapan seperti pada emulsi air dalam minyak.

b. Koagulasi adalah peristiwa tarik menarik antara partikel dalam emulsi yang disebabkan tidak adanya gaya tolak menolak antara partikel dalam emulsi sehingga partikel mengalami koagulasi/ penggabungan. Gaya tolak menolak antar partikel terjadi karena muatan listrik yang berbeda dan absorpsi makromolekul. Koagulasi bersifat reversibel.

c. Koalesen adalah peristiwa pemisahan emulsi menjadi dua bagian yaitu tetesan fase internal bergabung membentuk partikel yang lebih besar sehingga terjadi pemisahan antara dua fase. Koalesen bersifat irreversible.

Setiap produk kosmetik diuji stabilitasnya dengan beberapa prosedur, namun pengujian suatu produk tidak mungkin dilakukan dalam jangka panjang karena keterbatasan waktu. Prosedur uji stabilitas dilakukan untuk memperoleh data stabilitas yang diinginkan dalam waktu singkat sehingga sampel disimpan pada kondisi yang dapat mempercepat terjadinya perubahan kestabilan. Pengujian tersebut antara lain (12):

a. *Elevated temperature*

Peningkatan suhu setiap  $10^{\circ}\text{C}$  akan mempercepat reaksi dua sampai tiga kalinya. Peningkatan suhu ini diharapkan mempercepat reaksi dalam produk yang mengarah ketidakstabilan produk.

b. *Cycling test*

Test ini sebagai simulasi perubahan temperatur setiap tahun bahkan setiap harinya selama penyimpanan produk. Oleh karena itu test ini menggunakan perubahan suhu atau kelembaban pada interval tertentu dan jumlah siklus tertentu.

c. Pemaparan terhadap cahaya

Test ini bertujuan untuk melihat ketahanan produk terhadap cahaya selama penyimpanan ataupun distribusi. Test ini harus sesuai dengan intensitas cahaya yang mungkin diterima produk

d. *Centrifugal test*

Test sentrifugasi ini merupakan uji mekanik terhadap produk. Test ini menggambarkan kestabilan produk selama distribusi dan penyimpanan.

Sampel disentrifugasi dengan kecepatan 3750 rpm selama 5 jam. Perlakuan tersebut sama besarnya dengan gravitasi penyimpanan selama setahun (25).

Parameter yang diperhatikan pada uji kestabilan diatas adalah (28):

a. Organoleptis

Pengamatan organoleptis dilakukan dengan mengamati perubahan atau pemisahan fase emulsi, perubahan bau, dan perubahan warna. Perubahan organoleptis merupakan salah satu indikasi ketidakstabilan emulsi.

b. Viskositas

Pengamatan terhadap viskositas dapat menunjukkan apakah terjadi perubahan emulsi seperti *creaming*. Viskositas emulsi memiliki korelasi dengan ukuran globul yaitu semakin tinggi viskositas maka semakin kecil ukuran globul.

c. Ukuran partikel

Perubahan ukuran partikel atau globul pada emulsi dapat menunjukkan ketidak stabilan emulsi. Pada emulsi keruh, diameter globul  $>0,5 \mu\text{m}$ .

d. pH

Sediaan kosmetik untuk kulit yang baik memiliki pH berkisar antara 4,5-6,5 yaitu sesuai dengan pH kulit. Bila pH terlalu asam maka akan mengiritasi kulit dan bila terlalu basa menyebabkan kulit bersisik.

e. Konsistensi

Konsistensi atau kepadatan adalah karakteristik fisik yang penting suatu sediaan semi padat. Pengukuran konsistensi untuk sediaan kosmetik seperti krim digunakan penetrometer bentuk *cone*. Semakin tinggi nilai konsistensi

krim menunjukkan bahwa krim tersebut memiliki karakteristik penyebaran yang baik. Nilai konsistensi krim yang baik adalah  $360 \frac{1}{10}$  mm.

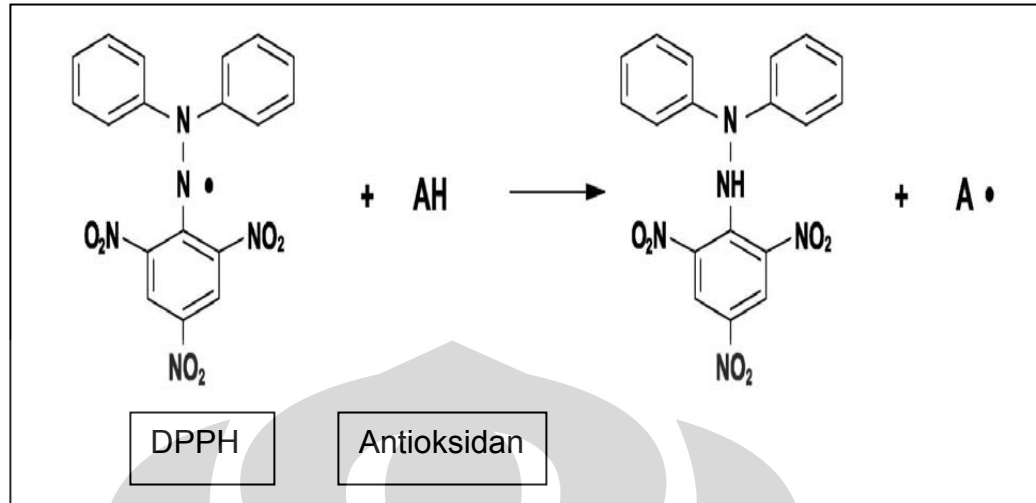
#### **G. ANTIOKSIDAN DAN PENGUKURAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DENGAN METODE DPPH**

Antioksidan adalah senyawa yang memiliki kelebihan elektron sehingga mampu memberikan elektronnya untuk menstabilkan radikal bebas, dengan demikian radikal bebas tidak berikatan dengan senyawa lain untuk menjadi stabil. Kemampuan antioksidan ini digunakan untuk mencegah penuaan dini yang disebabkan radikal bebas (18).

Seiring dengan meningkatnya perhatian terhadap antioksidan maka metode untuk mengukur aktivitas antioksidanpun berkembang. Metode-metode yang ada yaitu metode lipid peroksidasi, tiobarbiturat, malonaldehid,  $\beta$ -karoten bleaching, DPPH, dan tiosianat. Metode DPPH adalah salah satu metode yang populer karena praktis dan sensitif (29).

Metode DPPH ini pertama kali diperkenalkan oleh Blois (1958). Metode pengukuran aktivitas antioksidan metode DPPH menggunakan radikal bebas stabil yaitu 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Prinsip pengujian menggunakan metode DDPH adalah kemampuan antioksidan menetralkan DPPH, dimana DPPH adalah radikal dan antioksidan adalah donor hidrogen ( $H^+$ ) (31).





Hasil penetralan tersebut diukur pada 515-520 nm, karena pada gelombang tersebut DPPH memberi serapan maksimum. Semakin kecil serapan yang dihasilkan artinya semakin banyak DPPH yang dapat dinetralkan oleh antioksidan, hal ini menunjukkan aktivitas antioksidan yang baik.

Persentase inhibisi adalah persentase antioksidan yang mampu menghambat DPPH.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{serapan DPPH} - \text{serapan sampel}}{\text{serapan DPPH}} \times 100$$

Hal-hal yang harus diperhatikan dalam metode DPPH ini adalah minimal volume analisis adalah 4 ml yaitu 2 ml larutan DPPH dan 2 ml larutan sampel, panjang gelombang analisis DPPH juga dapat berubah seiring penurunan aktivitas DPPH 2-4% setiap minggu, pelarut yang baik adalah methanol atau etanol, pH reaksi adalah 5,0-6,0, dan waktu reaksi yang optimum adalah 30 menit dalam ruang gelap.

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. ALAT**

Neraca analitik (Adam AFA-210 LC), Viskometer Brookfield, Oven (Mettler), Mikroskop Optik (Nikon), Kamera digital (Olympus), pH meter (Eutech-Instrument pH 510), Penetrometer (Herzog), Sentrifugator (Kubota 2500), Pipet mikro (Socorex), Homogenizer (Multimixer), Spektrofotometer UV Vis (Jasco V-530), Penangas air, Lemari pendingin (Toshiba), Alat-alat gelas, dan Lampu Fluoresensi (Gold Star)

#### **B. BAHAN**

##### **1. Bahan krim**

Ekstrak kental coklat (Bali Ekstrak Utama), isopropil miristat (Indonesia), setil alkohol (Brataco), span 60 (Tokyo Kasei), tween 60 (Tokyo Kasei), propilen glikol (Brataco), metil paraben (Brataco), propil paraben (Brataco), BHT, asam askorbat (Kalbe Farma).

## 2. Preaksi Kimia

DPPH (Wako), kuersetin (Sigma),  $AlCl_3$  (Merck), natrium asetat (Merck), etil asetat (Merck), HCl (Merck), etanol absolut (Merck), dan metanol (Merck).

## C. FORMULA KRIM

Dalam formulasi dibuat 3 macam krim yang divariasikan dalam konsentrasi ekstrak cokelat yang digunakan yaitu masing-masing 0,5%, 0,75%, dan 1% dalam komposisi basis yang sama. Perhitungan HLB dapat dilihat pada Lampiran 1 dan presentase basis untuk masing-masing krim terdapat dalam Lampiran 2.

Tabel 1  
Presentase bahan-bahan dalam formula krim (b/b%)

Bahan	Blangko negatif (%)	A (%)	B (%)	C (%)	Blangko positif (%)
Ekstrak kental cokelat		0,500	0,750	1,00	
Asam askorbat					0,500
Isopropil miristat	6,000	5,949	5,934	5,92	5,949
Setil alkohol	8,000	7,932	7,912	7,89	7,932
Span 60	0,687	0,681	0,679	0,68	0,681
Tween 60	4,313	4,276	4,266	4,25	4,276
Propilen glikol	10,000	9,915	9,890	9,87	9,915
BHT	0,050	0,050	0,050	0,05	0,050
Metil paraben	0,250	0,250	0,250	0,25	0,250
Propil paraben	0,050	0,050	0,050	0,05	0,050
Aquadest	70,650	70,397	70,219	70,04	70,397

#### D. CARA KERJA

##### 1. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak coklat

Kadar flavonoid total dalam ekstrak coklat diukur dengan menggunakan metode Chang (24) .

##### a. Pembuatan kurva kalibrasi kuersetin

- 1) Sejumlah 25,0 mg kuersetin ditimbang kemudian dilarutkan dalam metanol absolut ad sampai 25,0 ml (1000 ppm).
- 2) Pengenceran kuersetin dibuat dengan mikro pipet dengan memipet 0,1 ml; 0,13 ml; 0,15 ml; 0,18 ml; 0,2 ml; 0,22 ml larutan diatas kemudian dilarutkan dengan metanol ad 10,0 ml.
- 3) Masing-masing larutan diatas dipipet sebanyak 2,0 ml dan ditambahkan pereaksi, yaitu 0,1 ml  $AlCl_3$  10%+ 0,1 ml Natrium asetat 1 M + 2,8 ml air suling.
- 4) Larutan dikocok dengan baik dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit.
- 5) Larutan diatas diukur absorbansinya pada 415 nm, larutan tanpa kuersetin diukur sebagai *baseline*.

##### b. Penetapan kadar flavonoid total metode Chang

- 1) Sejumlah 1,0 g ekstrak coklat ditimbang seksama
- 2) Ekstrak coklat dihidrolisis dengan HCl 4N (dalam metanol) selama 30 menit

- 3) Hasil hidrolisis diekstraksi dengan etil asetat sebanyak 3x (@15ml) dengan corong pisah
  - 4) Bagian etil asetat diuapkan, kemudian residu dilarutkan dengan metanol ad 25,0 ml, larutan inilah yang digunakan sebagai larutan uji
  - 5) 0,5 ml larutan uji dipipet dan ditambahkan pereaksi, yaitu 0,1 ml  $\text{AlCl}_3$  10% + 0,1 ml Natrium asetat 1 M + 2,8 ml air suling.
  - 6) Larutan dikocok dengan baik dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit.
  - 7) Larutan diatas diukur absorbansinya pada 415 nm, larutan tanpa ekstrak diukur sebagai *baseline*.
  - 8) Langkah diatas diulangi untuk dua ekstrak uji lainnya.
2. Pembuatan krim (4)
- 1) Bahan-bahan fase minyak seperti setil alkohol, isopropil miristat, dan span 60 ditimbang dengan seksama.
  - 2) Bahan-bahan fase minyak dilebur pada penangas  $70^\circ\text{C}$  sampai meleleh kemudian dimasukan BHT dan diaduk hingga larut. Bagian ini dinamakan fase minyak.
  - 3) Air dan tween 60 ditimbang dengan seksama kemudian dipanaskan pada suhu  $80^\circ\text{C}$  hingga tween 60 larut sempurna.
  - 4) Metil paraben, propil paraben, dan propilen glikol ditimbang seksama kemudian metil paraben dan propil paraben dimasukkan ke dalam propilen glikol dan diaduk hingga larut.
  - 5) Sejumlah ekstrak coklat ditimbang dengan seksama.

- 6) Bagian propilen glikol dan ekstrak cokelat dicampur dan diaduk homogen. Bagian ini dinamakan fase air.
  - 7) Bagian fase minyak dicampur ke dalam bagian fase air pada suhu  $70^{\circ}\text{C}$  kemudian diaduk dengan *homogenizer* dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit.
3. Evaluasi krim (28)
- a. Pengamatan organoleptis  
Krim diamati pemisahan fase, bau dan warna.
  - b. Pemeriksaan homogenitas  
Krim diletakkan diantara dua kaca objek lalu diperhatikan adanya patikel-partikel kasar atau ketidakhomogenan di bawah cahaya.
  - c. Pemeriksaan pH  
Krim diukur pHnya dengan pH meter.
  - d. Pemeriksaan diameter globul  
Sediaan diletakkan di atas kaca objek dan ditutup dengan gelas penutup, kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop optik menggunakan perbesaran 100 kali yang dilengkapi dengan lensa okuler mikrometer yang telah dikalibrasi. Diameter globul rata-rata dihitung dan dikalikan dengan faktor kalibrasi.
  - e. Penentuan viskositas dan sifat alir  
Viskositas sediaan diukur dengan menggunakan viskometer Brookfield. Krim dimasukkan dalam beaker gelas, selanjutnya pasang spindel nomer 6. Spindel diturunkan hingga batas spindel tercelup ke dalam krim, kemudian

motor dinyalakan dengan menekan tombol *on*. Kecepatan alat diatur mulai dari 2, 4, 10, 20 rpm, lalu dibalik 20, 10, 4, 2 rpm. Dari masing-masing pengukuran dengan perbedaan kecepatan rpm dibaca skalanya dimana jarum merah yang bergerak telah stabil. Selanjutnya, nilai viskositasnya dihitung. Data yang diperoleh diplotkan terhadap tekanan geser ( $\text{dyne/cm}^2$ ) dan kecepatan geser (rpm).

f. Pemeriksaan konsistensi

Konsistensi krim diukur menggunakan penetrometer tipe *cone*. Konsistensi suatu sediaan dipengaruhi oleh bahan penyusunnya.

4. Uji stabilitas krim (12)

a. *Cycling test*

Sampel krim disimpan pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam kemudian dipindahkan pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam (satu siklus), lakukan 6 siklus dan dilakukan evaluasi fisik.

b. Penyimpanan pada suhu tinggi

Sampel krim disimpan pada suhu  $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 12 minggu kemudian dilakukan evaluasi fisik setiap 2 minggu.

c. Penyimpanan pada suhu kamar

Sampel krim disimpan pada suhu  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 12 minggu kemudian dilakukan evaluasi fisik setiap 2 minggu.

d. Penyimpanan pada suhu rendah

Sampel krim disimpan pada suhu  $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 12 minggu kemudian lakukan evaluasi fisik setiap 2 minggu.

e. Uji mekanik

Uji ini dilakukan dengan mensentrifugasi krim agar dapat diketahui terjadinya pemisahan fase dari emulsi. Sampel krim disentrifugasi dengan kecepatan 3750 rpm pada radius sentrifuge 10 cm selama 5 jam karena hasilnya ekuivalen dengan efek gravitasi selama 1 tahun. Setelah disentrifugasi, diamati apakah terjadi pemisahan fase dari krim uji (25).

5. Uji aktivitas krim dengan metode DPPH

a. Pembuatan larutan DPPH 50 ppm

Timbang 5,0 mg DPPH kemudian masukan dalam labu ukur 100 ml, cukupkan volumenya hingga 100,0 ml dengan etanol absolut.

b. Perlakuan sampel krim untuk uji aktivitas antioksidan

Krim dipaparkan dengan lampu fluoresensi yang telah terlebih dahulu dikalibrasi dengan Radiometer LMT No. Seri : 06890222. Melalui kalibrasi diketahui spektrum irradiansi pada panjang gelombang 366 nm (Sinar UV-A), irradiansi lampu adalah  $13,67 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  pada 30 cm.

Sinar UV A mempunyai Minimal Erythemat Dose (MED) antara 50.000-60.000 mJ/cm<sup>2</sup>. Untuk mencapai MED sinar UV A pada 60.000 mJ/cm<sup>2</sup> maka lama pemaparan lampu fluoresensi pada krim selama 5 hari 15 jam 28 menit pada jarak 10 cm.

Adapun perlakuan terhadap krim yaitu:

- 1) Kelompok I= sampel krim langsung dilakukan pengujian untuk mengetahui aktivitas antioksidan awal.



2) Kelompok II= sampel krim diratakan pada kaca objek setebal 1mm kemudian dipaparkan dengan lampu sinar UVA selama 5 hari 15 jam 28 menit pada jarak 10 cm.

c. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

1) Penentuan panjang gelombang maksimum larutan DPPH 50 ppm

Larutan DPPH 50 ppm diukur dengan spektrofotometer UV Vis dan dilihat panjang gelombang maksimum dan serapannya. Panjang gelombang maksimal ini digunakan untuk pengukuran aktivitas sampel. Pengukuran panjang gelombang maksimum dan serapannya ini dilakukan setiap kali pengukuran aktivitas pada tiap sampel.

2) Pengukuran aktivitas

a) Sejumlah 1,0 gram krim coklat uji ditimbang seksama kemudian dilarutkan dengan etanol absolut sampai 25,0 ml sehingga didapatkan larutan uji 20.000 ppm.

b) Pengenceran dilakukan dengan memipet 0,01 ml; 0,1 ml; dan 1 ml larutan diatas kemudian ditambahkan etanol absolut sampai 10,0 ml sehingga didapatkan konsentrasi sampel 2.000 ppm, 200 ppm, dan 20 ppm.

c) Tiap larutan tersebut diambil 2,0 ml kemudian direaksikan dengan 2,0 ml DPPH 50 ppm dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang.

d) Serapan larutan uji diukur pada panjang gelombang 516 nm.

e) Perlakuan yang sama juga dilakukan untuk pengujian aktivitas krim blangko negatif dan blangko positif.

f) %penghambatan/ inhibisi dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\%inhibisi = \frac{\text{serapan DPPH} - \text{serapan sampel}}{\text{serapan DPPH}} \times 100$$

serapan DPPH



..

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. HASIL

##### 1. Penetapan kadar flavonoid total ekstrak cokelat

Hasil penetapan kadar flavonoid total ekstrak cokelat menggunakan metode Chang, didapatkan kurva kalibrasi standar kuersetin yaitu  $y = -0,07933 + 0,03255 x$ , dengan linearitas 0,991,  $y$  adalah serapan dan  $x$  adalah konsentrasi (ppm). Gambar dan tabel kurva kalibrasi dapat dilihat pada Gambar 39 dan Tabel 12. Kadar flavonoid total dalam ekstrak cokelat adalah  $0,16 \% \pm 0.001$  dihitung sebagai kuersetin. Tabel flavonoid total dapat dilihat pada Tabel 13, sedangkan contoh perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 7.

##### 2. Hasil evaluasi krim

Evaluasi awal dapat dilihat pada Tabel 2, foto krim awal dapat dilihat pada Gambar 11, perhitungan globul pada Lampiran 3, dan foto globul krim awal pada Gambar 17.

a. Krim coklat 0,5 % memiliki warna coklat muda (Pantone 482C), berbau khas, homogen, pH 4,71, diameter globul rata-rata 0,863  $\mu\text{m}$ , viskositas 50.000 cps pada 2 rpm, konsistensi 292 1/10 mm, dan sifat alir plastik tiksotropik.

b. Krim coklat 0,75 memiliki warna coklat muda (Pantone 481C), berbau khas, homogen, pH 4,8, diameter globul rata-rata 0,9262  $\mu\text{m}$ , viskositas 50.000 cps pada 2 rpm, konsistensi 327 1/10 mm, dan sifat alir plastik tiksotropik.

c. Krim coklat 1% memiliki warna coklat muda (Pantone 480C), berbau khas, homogen, pH 4,9, diameter globul rata-rata 0,989  $\mu\text{m}$ , viskositas 45.000 cps pada 2 rpm, konsistensi 340 1/10 mm, dan sifat alir plastik tiksotropik.

### 3. Hasil uji stabilitas krim

a. Penyimpanan krim pada suhu kamar,  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , dan  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$

Hasil pengamatan organoleptis dan homogenitas ketiga jenis krim pada suhu kamar,  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , dan  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  dapat dilihat pada Tabel 3-5. Foto masing-masing krim pada penyimpanan suhu kamar,  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , dan  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  minggu ke-2 sampai minggu ke-8 dapat dilihat pada Gambar 13-16. Nilai pH dan diameter globul rata-rata ketiga krim pada penyimpanan suhu kamar,  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , dan  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  dapat dilihat pada Tabel 8. Foto diameter globul pada suhu kamar,  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , dan  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  dapat dilihat pada Gambar 18-26.

Masing-masing krim pada penyimpanan suhu  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  mengalami perubahan warna menjadi lebih gelap, pada penyimpanan suhu  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$

mengalami perubahan warna menjadi lebih terang/ pucat, sedangkan penyimpanan pada suhu ruang tidak terjadi perubahan warna. Hasil pengukuran pH masing-masing krim pada penyimpanan mengalami perubahan yang bervariasi antara 4,73-5,07. Grafik perubahan pH pada penyimpanan suhu kamar,  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , dan  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  dapat dilihat pada Gambar 36-38.

Hasil pengukuran diameter globul rata-rata pada penyimpanan suhu kamar,  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , dan  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  dapat dilihat pada Tabel 8, sedangkan perhitungan diameter globul rata-rata dapat dilihat pada Lampiran 4-6. Hasil pengukuran konsistensi masing-masing krim pada suhu kamar pada minggu ke-1 dan ke-8 dapat dilihat pada Tabel 9 dan perubahan konsistensi dapat dilihat pada Gambar 32. Hasil pengukuran viskositas masing-masing krim pada suhu kamar pada minggu ke-1 dan ke-8 dapat dilihat pada Tabel 6-7 dan perubahan viskositas dapat dilihat pada Gambar 33-35.

b. Pengamatan *cycling test*

Ketiga formula krim menunjukkan hasil yang stabil, yaitu tidak terjadinya pemisahan fase pada krim, dapat dilihat pada Gambar 27. Hasil uji *cycling test* dapat dilihat pada Tabel 10.

c. Pengamatan uji mekanik

Hasil uji mekanik menunjukkan ketiga krim mengalami pemisahan fase berupa pemisahan fase setelah sentrifugasi pada kecepatan 3750 rpm selama 5 jam, dapat dilihat pada Gambar 28. Hasil uji mekanik dapat dilihat pada Tabel 11.

#### 4. Pengukuran aktivitas antioksidan krim dengan metode DPPH

##### a. Penentuan panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang 516 nm adalah panjang gelombang analisis yang diperoleh untuk pengukuran aktivitas antioksidan, yaitu panjang gelombang maksimum larutan DPPH 50 ppm.

##### b. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

###### 1) Pengukuran aktivitas antioksidan awal krim

Sebelum mengalami pemaparan dengan lampu UV A, terlebih dahulu dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan terhadap ketiga krim beserta krim blangko negatif dan blangko positif (Vitamin C 0,5%).

Berdasarkan hasil pengukuran awal aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH didapatkan persentase inhibisi masing-masing krim pada Tabel 14-18 dan contoh perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 8.

Analisis statistika nonparametrik, yaitu Kruskal-Wallis pada persentase inhibisi awal krim blangko positif, coklat 0,5%, coklat 0,75%, coklat 1%, dan blangko positif (Vit. C 0,5%) pada konsentrasi krim uji 10 ppm, 100 ppm, 1.000 ppm, dan 10.000 ppm menunjukkan inhibisi krim tidak berbeda secara bermakna.

2) Pengukuran aktivitas antioksidan krim setelah radiasi sinar UV A 60.000 mJ/cm<sup>2</sup>

Setelah mengalami pemaparan dengan lampu sinar UV A dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH didapatkan persentase inhibisi masing-masing krim pada Tabel 19- 23.

Analisa statistika nonparametrik, yaitu Wilcoxon dilakukan pada krim sebelum dan sesudah memperoleh penyinaran sinar UV A menunjukkan bahwa persentase inhibisi krim sebelum dan sesudah memperoleh penyinaran UV A adalah identik (Lampiran 14). Gambar perubahan aktivitas krim sebelum dan sesudah penyinaran pada konsentrasi 10.000 ppm dapat dilihat pada Gambar 39.

## **B. PEMBAHASAN**

### **1. Tinjauan umum**

Penelitian ini menggunakan tiga formula krim. Masing-masing formula mengandung ekstrak coklat dengan konsentrasi yang berbeda-beda namun menggunakan perbandingan komposisi basis yang sama. Konsentrasi ekstrak coklat yang dipakai yaitu 0,5%, 0,75%, dan 1%. Perbedaan konsentrasi dimaksudkan agar dapat dibandingkan perbedaan stabilitas fisik dan aktivitas antioksidan dalam masing-masing krim sehingga didapatkan

formula yang memiliki kestabilan fisik serta memiliki aktivitas antioksidan yang baik.

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap yaitu tahap pembuatan krim dan tahap evaluasi krim. Pembuatan krim diawali dengan pemilihan bahan-bahan penyusun krim, yaitu isopropil miristat, setil alkohol, span 60, tween 60, propilen glikol, BHT, metil paraben, dan propil paraben.

Isopropil miristat dan setil alkohol dipilih sebagai fase minyak karena memiliki karakteristik pembentuk basis dan emolien yang baik. Span 60 dan tween 60 merupakan emulgator yang umum digunakan karena karakteristik nonionik yang baik untuk kulit. Propilen glikol dipilih sebagai humektan dan anti *cap locking* karena sifatnya yang mampu menahan penguapan air. Metil paraben dan propil paraben sebagai antimikroba, digunakan kombinasi keduanya untuk meningkatkan efektifitasnya. BHT digunakan sebagai antioksidan untuk mencegah oksidasi lemak dalam krim (14,25).

Persentase emulgator yang digunakan berdasarkan perhitungan HLB butuh fase minyak, dapat dilihat pada Lampiran 1. Perhitungan basis masing-masing formula dapat dilihat pada Lampiran 2. Langkah pembuatan krim dapat dilihat pada Gambar 2.

Evaluasi krim yang dilakukan adalah evaluasi fisik dan aktivitas antioksidan. Evaluasi fisik dilakukan pada awal dan uji stabilitas fisik selama 8 minggu. Uji stabilitas fisik dilakukan untuk krim pada penyimpanan suhu kamar,  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , dan  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Evaluasi fisik yang dilakukan yaitu pengamatan organoleptis, homogenitas, pH, diameter globul rata-rata, viskositas,



konsistensi dan sifat alir (28). Selanjutnya dilakukan evaluasi terhadap aktivitas antioksidan terhadap krim sebelum dan sesudah mengalami pemaparan oleh sinar UV A.

## 2. Pengukuran kadar flavonoid total dalam ekstrak cokelat

Kadar flavonoid total dalam ekstrak cokelat diukur dengan metode Chang. Prinsip metode ini adalah pembentukan kompleks stabil antara  $\text{AlCl}_3$  dengan gugus keton pada  $\text{C}_4$ , ataupun gugus hidroksil pada  $\text{C}_3$  atau  $\text{C}_5$  flavon dan flavonol (32).

Percobaan diawali dengan pembuatan kurva kalibrasi kuersetin, dibuat berbagai macam konsentrasi kuersetin dalam metanol absolut. Setiap pengenceran direaksikan dengan  $\text{AlCl}_3$  dan natrium asetat kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit.

Persamaan kurva kalibrasi yang didapat, yaitu  $y = -0,07933 + 0,03255 x$  pada panjang gelombang 437,5 nm dengan linearitas 0,991, y adalah serapan dan x adalah konsentrasi (ppm).

Percobaan selanjutnya adalah penetapan kadar flavonoid total ekstrak cokelat, yang diawali dengan hidrolisis ekstrak menggunakan HCl, hidrolisis tersebut bertujuan untuk membuat semua flavonoid berubah menjadi bentuk aglikon (32). Hasil hidrolisis kemudian diekstraksi dengan etil asetat.

Hasil ekstraksi dilarutkan dengan metanol absolut, larutan ini digunakan sebagai larutan uji, kemudian direaksikan dengan pereaksi seperti  $\text{AlCl}_3$  dan natrium asetat, diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit, dan diukur serapannya pada panjang gelombang 437,5 nm. Serapan yang terbaca

dimasukkan pada persamaan kurva kuersetin sehingga didapat konsentrasi flavonoid dalam ppm.

Kadar flavonoid total dalam ekstrak coklat adalah  $0,16\% \pm 0,001$  ( $n=3$ ) dihitung sebagai kuersetin. Kadar tersebut jauh lebih rendah dari penelitian sebelumnya, yaitu 19-28,6% (23). Perbedaan kadar ini disebabkan karena perbedaan bahan baku coklat yang digunakan, selain itu kadar flavonoid total ekstrak juga dipengaruhi oleh bahan asal ekstrak, pelarut ekstraksi, prosedur ekstraksi, dan peralatan ekstraksi (36).

### 3. Evaluasi krim

Untuk mengetahui kondisi awal dari krim agar dapat dibandingkan dengan kondisi setelah uji stabilitas fisik selama 8 minggu dilakukan evaluasi krim.

Pemeriksaan organoleptis awal menunjukkan perbedaan warna pada ketiga formula krim, hal ini disebabkan karena perbedaan konsentrasi ekstrak coklat dalam krim. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak coklat dalam krim maka semakin gelap warna krim, dapat dilihat pada Gambar 11. Formula krim dengan ekstrak coklat 1 % memiliki warna yang lebih coklat (Pantone 480 C) dibandingkan formula krim dengan ekstrak coklat 0,75% (Pantone 481 C) dan 0,5% (Pantone 479 C).

Pemeriksaan homogenitas terhadap ketiga formula menunjukkan ketiga formula homogen secara fisik, hal ini menunjukkan bahwa bahan-bahan dalam krim terlarut dan bercampur sempurna secara homogen .

Perbedaan konsentrasi ekstrak cokelat juga mempengaruhi nilai keasaman/ pH krim. Larutan ekstrak cokelat 1% dalam air memiliki pH 5,29, sehingga semakin tinggi kandungan ekstrak cokelat dalam krim maka pH krim akan semakin tinggi. Formula krim dengan ekstrak cokelat 1% memiliki pH 4,90 yaitu lebih tinggi dibandingkan formula krim dengan ekstrak cokelat 0,75% (pH 4,80) dan 0,5% (pH 4,71).

Hasil pengukuran terhadap diameter globul menunjukkan bahwa diameter globul rata-rata berkisar 0,863-0,989  $\mu\text{m}$  sehingga ketiga krim masih tergolong dalam emulsi keruh yaitu  $>0,1 \mu\text{m}$  (33). Ukuran diameter globul meningkat dengan peningkatan konsentrasi cokelat dalam krim. Peningkatan ukuran globul disebabkan oleh penurunan tegangan permukaan fase air yang berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi ekstrak cokelat dalam krim (37). Bentuk dan ukuran globul suatu emulsi dipengaruhi oleh jumlah dan efisiensi emulgator, pencampuran, dan pengadukan (34). Bentuk globul ketiga krim menunjukkan semua globul berbentuk bola sehingga dapat disimpulkan pengadukan dalam pembuatan krim dilakukan dengan baik.

Hasil pengukuran viskositas menunjukkan krim 1% memiliki viskositas terendah` dibandingkan dengan krim cokelat 0,75% dan 0,5%. Hal tersebut disebabkan karena ekstrak cokelat yang ditambahkan dalam krim menurunkan viskositas krim.

Konsistensi suatu sediaan berbanding terbalik dengan nilai konsistensinya sehingga krim yang memiliki nilai konsistensi terendah menunjukkan konsistensi/ kepadatan yang tinggi. Krim cokelat 0,5% memiliki

konsistensi tertinggi dibandingkan dengan krim coklat 0,75% dan 1%. Konsistensi krim berhubungan dengan viskositas sediaan sehingga krim dengan viskositas tertinggi memiliki konsistensi tertinggi juga.

Ketiga krim memperlihatkan kurva menurun disebelah kiri kurva menaik, sehingga memiliki aliran plastik tiksotropi (27). Kurva tersebut menunjukkan bahwa krim memiliki konsistensi lebih rendah pada setiap *rate of shear*. Hal ini menunjukkan adanya pemecahan struktur yang tidak terbentuk kembali dengan segera jika stress tersebut dihilangkan atau dikurangi. Aliran tiksotropik adalah sifat alir yang diinginkan dalam suatu sediaan farmasetik, yaitu mempunyai konsistensi tinggi dalam wadah namun dapat dituang dan mudah tersebar dengan mudah (27).

#### 4. Uji stabilitas krim

##### a. Penyimpanan suhu kamar, $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , dan $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$

##### 1) Pengamatan organoleptis dan homogenitas

Pengamatan organoleptis krim pada penyimpanan suhu kamar,  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , dan  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 8 minggu tidak menunjukkan permisahan fase. Hal ini menunjukkan ketiga krim stabil secara fisik pada penyimpanan suhu kamar, suhu  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , dan suhu  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 8 minggu.

Ketiga krim pada suhu penyimpanan berbeda tidak timbul bau tengik, hal ini dapat disimpulkan bahwa fase minyak tidak mengalami oksidasi dan menunjukkan efektifitas kerja BHT sebagai antioksidan fase lemak.

Penyimpanan suhu kamar selama 8 minggu tidak menimbulkan perubahan warna, hal ini menunjukkan krim stabil pada suhu kamar.

Penyimpanan krim pada suhu  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  menunjukkan terjadinya peningkatan warna menjadi lebih gelap dimulai pada minggu ke-4 karena suhu panas menyebabkan jarak antara globul dalam krim berkurang sehingga warna fase air (coklat) menjadi lebih tampak. Penyimpanan krim pada suhu  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  menunjukkan perubahan warna menjadi lebih terang/ pucat mulai minggu ke-2 karena suhu dingin menyebabkan jarak antara globul merenggang sehingga warna yang tampak adalah warna fase lemak (putih).

## 2) Pengukuran pH

Selama penyimpanan 8 minggu pada penyimpanan suhu kamar,  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , dan  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  menunjukkan perubahan pH yang relatif kecil dari tiap minggunya. Hal ini menunjukkan bahwa pH krim stabil selama 8 minggu.

## 3) Pengukuran diameter globul rata-rata

Krim merupakan suatu sistem yang mempunyai energi bebas pada permukaan partikel terdispersinya. Partikel tersebut berenergi tinggi dan cenderung mengelompok kembali (27). Peristiwa penggabungan kembali fase internal yang bersifat reversibel pada sistem emulsi disebut koalesen (14). Fenomena koalesen dapat ditandai dengan terjadinya peningkatan diameter globul (37).

Secara keseluruhan krim mengalami peningkatan diameter globul rata-rata pada penyimpanan suhu kamar,  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , dan  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Diameter globul rata-rata berkisar 1,106-2,6128  $\mu\text{m}$ , menunjukkan bahwa krim termasuk emulsi keruh yaitu  $>0,1 \mu\text{m}$  (33).

Peningkatan ukuran globul ini disebabkan karena suhu menurunkan tegangan antar muka dalam krim sehingga terjadi peningkatan ukuran globul, namun peningkatan ukuran globul ini tidak menimbulkan koalesen.

#### 4) Pengukuran viskositas

Viskositas suatu sediaan dipengaruhi oleh zat pengental, surfaktan, proporsi fase terdispersi, dan ukuran partikel. Ketiga krim mengalami penurunan nilai viskositas antara viskositas awal dengan viskositas setelah penyimpanan pada suhu kamar selama 8 minggu. Penurunan viskositas tersebut disebabkan oleh kenaikan diameter globul (37).

#### 5) Pengukuran konsistensi

Konsistensi adalah karakteristik fisik yang penting suatu sediaan semi padat. Pengukuran konsistensi untuk sediaan kosmetik seperti krim digunakan penetrometer bentuk *cone*. Nilai konsistensi krim meningkat pada minggu ke-8 dibandingkan minggu ke-1, menunjukkan konsistensi krim menurun selama penyimpanan.

#### 6) Pemeriksaan sifat aliran

Sifat aliran krim setelah penyimpanan 8 minggu tidak mengalami perubahan, yaitu tetap plastik tiksotropik, meskipun terjadi pergeseran kurva kearah kanan yang disebabkan penurunan viskositas.

#### b. *Cycling test*

Untuk menguji produk kosmetik terhadap kemungkinan mengalami kristalisasi atau berawan dan untuk menguji kestabilan emulsi maka dilakukan *cycling test* (11).

Pada uji ini, krim dilakukan penyimpanan dalam 6 siklus, tiap siklus adalah penyimpanan 24 jam pada suhu  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  dan 24 jam pada suhu  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Hasil cycling test ketiga formula krim tidak menunjukkan pemisahan fase. Hal ini menunjukkan krim memiliki kestabilan terhadap kristalisasi (33).

c. Uji mekanik

Ketidakstabilan emulsi dapat terjadi dengan perlakuan sentrifugasi. Ketiga formula krim disentrifugasi dengan kecepatan 3750 rpm selama 5 jam karena hasilnya ekuivalen dengan efek gravitasi selama satu tahun. Uji mekanik ini menunjukkan *shelf life* sediaan selama satu tahun (25).

Hasil uji mekanik menunjukkan terjadinya pemisahan fase yaitu emulsi memisah menjadi dua fase, hal ini menunjukkan bahwa krim memiliki *shelf life* yang kurang dari satu tahun. Hal tersebut disebabkan oleh viskositas sediaan yang rendah sehingga pemisahan fase mudah terjadi.

Hukum stokes menjelaskan bahwa laju pemisahan fase berbanding terbalik dengan viskositas, sehingga untuk meningkatkan kestabilan emulsi dapat dilakukan dengan meningkatkan viskositas krim dengan menambahkan bahan peningkat viskositas pada fase luar. Bahan-bahan yang dapat meningkatkan viskositas seperti polimer-polimer larut air, yaitu gelatin dan gom (39,40).

5. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Prinsip pengujian menggunakan metode DPPH adalah kemampuan antioksidan menetralkan radikal. DPPH adalah radikal dan antioksidan sebagai donor hidrogen ( $\text{H}^+$ ). Hasil penetralan DPPH oleh antioksidan diukur

pada panjang gelombang analisis, yaitu panjang gelombang maksimum larutan DPPH. Semakin kecil serapan larutan uji artinya jumlah DPPH semakin sedikit sehingga sampel memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Pada pengujian aktivitas ini yang dihitung adalah persentase penghambatan sampel uji terhadap DPPH yang dinyatakan dalam persentase inhibisi.

a. Pencarian panjang gelombang maksimum

Sebelum melakukan pengukuran aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dilakukan terlebih dahulu penentuan panjang gelombang analisis, yaitu panjang gelombang maksimum larutan DPPH 50 ppm. Berdasarkan literatur, panjang gelombang maksimal DPPH terletak antara 515-520 nm, hasil pengukuran didapat panjang gelombang analisis DPPH 516 nm.

b. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan krim awal

Sebelum memperoleh penyinaran sinar UV A, krim diukur aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH. Semua krim menunjukkan aktivitas antioksidan.

Berdasarkan uji statistika nonparametrik, yaitu Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa persentase inhibisi awal krim blanko positif, coklat 0,5%, 0,75%, 1%, dan blanko positif (Vit. C 0,5%) pada konsentrasi krim uji 10 ppm, 100 ppm, 1.000 ppm, dan 10.000 ppm tidak berbeda secara bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi ekstrak coklat dalam tiap krim tidak memberikan perbedaan aktivitas antioksidan yang bermakna. Hal tersebut terjadi karena komposisi semua krim



mengandung antioksidan lain yang ikut terukur, yaitu BHT yang merupakan antioksidan yang sangat kuat sehingga perbedaan konsentrasi ekstrak coklat tidak memberi perbedaan bermakna terhadap aktivitas antioksidan.

Aktivitas antioksidan dalam krim coklat 0,5%, 0,75%, dan 1% meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak coklat. Hal ini sesuai karena semakin besar ekstrak coklat dalam krim maka semakin besar flavonoid total didalamnya. Penelitian sebelumnya menunjukkan adanya korelasi antara jumlah flavonoid total dengan aktivitas antioksidan, yaitu semakin besar flavonoid total maka semakin besar pula aktivitas antioksidan krim (38).

Aktivitas antioksidan krim coklat 0,5%, 0,75%, dan 1% lebih rendah dari krim Vit. C 0,5%. Hasil tersebut sudah dapat dipastikan sebelumnya karena Vit. C memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dibandingkan flavonoid dalam ekstrak coklat. Selain itu hal tersebut disebabkan karena Vit. C yang digunakan adalah bentuk murninya sedangkan kandungan ekstrak coklat tidak hanya flavonoid.

c. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan krim setelah memperoleh sinar UV A

Uji statistika nonparametrik, yaitu Wilcoxon dilakukan pada krim sebelum dan sesudah memperoleh sinar UV A menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna aktivitas antioksidan krim antara sebelum dan sesudah memperoleh sinar UV A.

Perbedaan aktivitas antioksidan sebelum dan sesudah memperoleh sinar UV A pada krim blangko negatif, coklat 0,5%, 0,75%, 1% yaitu

peningkatan aktivitas antioksidan. Penyinaran dengan sinar UV A akan menghasilkan radikal bebas yang akan bereaksi dengan antioksidan dalam krim sehingga terjadi penurunan aktivitas antioksidan krim, namun pada penelitian ini yang terjadi adalah peningkatan aktivitas antioksidan.

Peningkatan aktivitas antioksidan berhubungan dengan durasi penyinaran krim, yaitu selama 5 hari 15 jam 28 menit, hal ini sangat memungkinkan terjadinya penguapan air yang menyebabkan peningkatan komponen-komponen krim yang bersifat antioksidan, yaitu BHT sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan aktivitas antioksidan krim. Hal tersebut dapat dikurangi dengan menggunakan lampu UV yang memiliki daya iradiasi besar sehingga durasi penyinaran lebih pendek.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. KESIMPULAN

1. Krim coklat 0,5%, 0,75%, dan 1% menunjukkan kestabilan fisik pada penyimpanan suhu kamar,  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , dan  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 8 minggu dan pada *cycling test*. Pengujian mekanik/ sentrifugasi menunjukkan pemisahan fase krim, hal ini menunjukkan *shelf life/* waktu simpan krim yang kurang dari satu tahun.
2. Pengukuran aktivitas antioksidan krim coklat menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa semua krim memiliki aktivitas antioksidan. Selain itu krim coklat 1% memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan krim coklat 0,75% dan 0,5%.

#### B. SARAN

1. Agar dapat memperoleh kestabilan fisik selama *shelf life/* waktu simpan selama setahun perlu ditambahkan bahan untuk meningkatkan viskositas krim seperti gelatin dan gom.

2. Agar dapat diketahui kestabilan krim yang mengandung ekstrak cokelat perlu dilakukan pengujian krim melalui parameter lain yaitu kestabilan kimia kandungan krim selama penyimpanan suhu kamar,  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , dan  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ .
3. Agar dapat diketahui aktivitas kerja antioksidan krim terhadap pengaruh sinar UV dengan tepat sebaiknya menggunakan lampu UV A/ B yang memiliki daya irradiansi yang lebih besar sehingga penguapan air selama penyinaran dapat diminimalkan. Selain itu diperlukan suatu sistem yang dapat mengontrol kelembaban selama penyinaran.
4. Agar diperoleh aktivitas antioksidan yang lebih baik sebaiknya digunakan ekstrak cokelat yang memiliki kandungan flavonoid total 20-30%.

## DAFTAR ACUAN

1. Elsner, P. & Howard I.M. 2000. *Cosmeceuticals drug vs Cosmetics*. Marcel Dekker Inc. New York: 16, 145, 163.
2. Brannon, H. Effect of the Sun on the Skin. <http://dermatology.about.com/cs/beauty/a/suneffect.htm>, 14 Januari 2009 pukul 14.00 WIB.
3. Othman, A. *et al.* 2007. Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Cocoa Beans. *Food Chemistry* 100: 1523-1530.
4. Anonim. [http://www.indonesia.go.id/id/index.php?option=com\\_content&task=view&id=8046&Itemid=699](http://www.indonesia.go.id/id/index.php?option=com_content&task=view&id=8046&Itemid=699), 12 Januari 2009 pukul 14.00 WIB.
5. Jalil, A.M.M. & Amin I. 2008. *Polyphenols in Cocoa and Cocoa Products: Is There a Link between Antioxidant Properties and Health?*. Faculty of Medicine and Health Sciences, Universiti Putra. Malaysia, Departement of Nutrition and Dietetics.
6. Rawel, H.M. & S.E. 2007. *Kulling. Nutritional Contribution of Coffee, Cacao, and Tea Phenolics to Human Health*. Institute of Nutritional Science, University of Postdam. Germany.
7. Rozan, P., *et al.* 2007. Preventive Antioxidant Effects of Cocoa Polyphenolic Extract on Free Radical Production and Cognitive Performances after Heat Exposure in Wistar Rats. *Journal of Food Science* 72 : 203-206.
8. Vinson, J.A., *et al.* 2006. Chocolate is a Powerfull ex Vivo and in Vivo Antioxidant, an Antiatherosclerotic Agent in an Animal Model, and a Significant Contributor to Antioxidant in the European and American Diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 8071-8076.

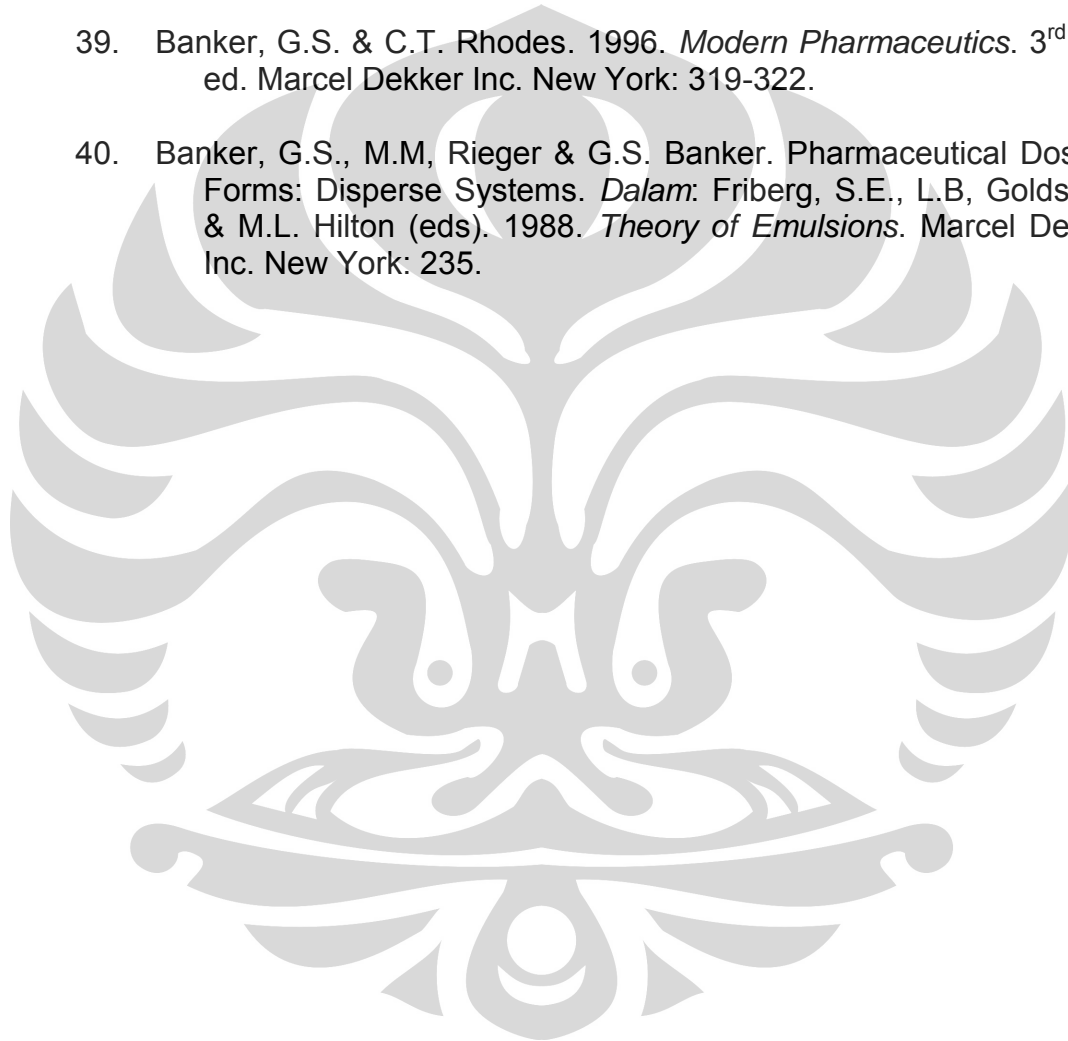
9. Gasser, P., *et al.* 2008. Cocoa Polyphenols and their Influence on Parameters Involved in *ex Vivo* Skin Restructuring. *International Journal of Cosmetic Science* 30: 339-345.
10. Ansel, H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, edisi IV. Terj.dari *Introduction to Pharmaceutical Dosage Form*, oleh Farida Ibrahim. UI-Press. Jakarta: 489-494.
11. Djajadisastra, J. 1988. *Stability Testing of Cosmetic Product*. Personal Care Ingredients Asia Conference. Jakarta.
12. Rieger, M.M. 2000. *Harry's Cosmetology 8th*. Chemical Publishing Co, Inc. New York: 895.
13. Tranggono, R.I. & F. Latifah. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta : 11, 26-27, 118-121.
14. Mitsui, T. 1997. *New Cosmetic Science*. Elsevier Science B.V. Amsterdam: 32.
15. De Polo, K.F. 1998. *A Short Textbook of Cosmetology*. Germany: Verlag fur chemische Industrie. Germany: 86-88, 95-98
16. Anonim. Free Radical Introduction. <http://www.exrx.net/Nutrition/Antioxidants/Introduction.html>, 14 Januari 2009 pukul 12.50 WIB
17. Best, B. Mechanism Aging. <http://www.benbest./lifeext/aging.html>, 14 Januari 2009 pukul 14.10 WIB
18. Anonim. Antioxidants and Free Radicals. <http://www.rice.edu/~jenky/sports/antiox.html>, 14 januari 2009 pukul 12.50 WIB

19. Anonim. [http:// www. ntbg. org/ plants/ plant\\_details. php?plantid=11101](http://www.ntbg.org/plants/plant_details.php?plantid=11101), 18 Desember 2008, pukul 20.18 WIB.
20. Anonim. Theobroma cacao. [http://www.montosogardens.com/theobroma\\_cacao.htm](http://www.montosogardens.com/theobroma_cacao.htm), 18 Desember 2008 pukul 20.15 WIB.
21. Anonim. Theobroma cacao L. [http:// www. hort. purdue. edu/ newcrop/ duke\\_energy/ theobroma\\_cacao. html](http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/theobroma_cacao.html), 18 Desember 2008 pukul 20.10 WIB
22. Anonim. Theobroma.-Cacao. [http://www. henriettesherbal. com/eclectic/kings/theobroma.html](http://www.henriettesherbal.com/eclectic/kings/theobroma.html), 14 November 2008 pukul 18.20 WIB.
23. Ruzaidi, A.M.M., *et al.* 2008. Protective effect of Polyphenol-rich Extract Prepared from Malaysian Cocoa (Theobroma cacao) on Glucose Levels and Lipid profiles in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88: 1442-1447.
24. Chang, C.C., *et al.* 2002. Estimation of Total flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10(3): 178-182.
25. Lachman, L., H. Lieberman & J. L. Kanig. 1994. *Teori dan Praktek Farmasi Industri*. Terj. dari *The Theory and Practice of Industrial Pharmacy*, oleh Siti Suyatmi, J. Kawira, Iis Aisyah. UI-Press. Jakarta: 1035-1036, 1051-1052, 1064-1068.
26. Wade, A., Paul J. Weller. 1994. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, second Edition. The Pharmaceutical Press. London: 47-48, 99-103, 243-244, 310-312, , 375-381, 407-408, 411-413, 432, 473-476.
27. Martin, A., James S., Arthur C. 1983. Dasar-Dasar Kimia Fisik Dalam Ilmu Farmasetik. Terj. dari *Physical Pharmacy*. oleh Yoshita. UI-Press. Jakarta: 1077-1096

28. Joshita. 2002. *Buku Petunjuk Praktikum Farmasi Fisika*. Jurusan Farmasi FMIPA UI. Depok: 22-51.
29. Molyneux, P. 2004. The Use of the Stable Free Radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal Science Technology* 26 (2) : 211-219.
30. Moon, J.K. & Takayuki S. 2009. Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 : 1655-1666.
31. Pisoschi, A.M., *et al.* 2009. Total Antioxidant Capacity of Some Commercial Fruit Juices: Electrochemical and Spectrophotometrical Approaches. *Molecules* 14: 480-493.
32. Humadi, S.S., Viorica Istudor. 2008. Quantitative Analysis of Bio-active Compound in Hibiscus Sabdariffa L. *Farmacia LVI* (6): 699-707.
33. Djajadisastra, J. 2004. Cosmetic Stability. Seminar Setengah Hari HIKI. Jakarta.
34. Riskiana, A. 2004. *Perbandingan Efektifitas Kerja Antioksidan dari Krim Antiaging yang Mengandung berbagai Zat Antioksidan*. Skripsi Perogram Sarjana jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Departemen Farmasi. Depok.
35. Keteren, S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. IP press. Jakarta: 72,92.
36. Anonim. 2003. Herbal Medical products. CRC Press. Stuttgart.



37. Eckmann, B., *et al.* 2000. *Prediction of Emulsion Properties from Binder/ Emulsifier Characteristics*. Eurasphalt & Eurobitume Congress. Barcelona.
38. Nagai, T., *et al.* 2003. Preparation and Antioxidant Properties of Water Extract of Propolis. *Food Chemistry* 80: 29-33.
39. Banker, G.S. & C.T. Rhodes. 1996. *Modern Pharmaceutics*. 3<sup>rd</sup> rev. ed. Marcel Dekker Inc. New York: 319-322.
40. Banker, G.S., M.M, Rieger & G.S. Banker. Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems. *Dalam: Friberg, S.E., L.B, Goldsmith & M.L. Hilton (eds)*. 1988. *Theory of Emulsions*. Marcel Dekker Inc. New York: 235.



Tabel 2  
Hasil evaluasi krim awal

Krim	Warna	Homogenitas	pH	Diameter globul ( $\mu\text{m}$ )	Konsistensi (1/10 mm)	Viskositas (cps)
Cokelat 0,5%	Coklat +	Homogen	4,71	0,863	292	50.000
Cokelat 0,75%	Coklat ++	Homogen	4,80	0,9262	327	50.000
Cokelat 1%	Coklat +++	Homogen	4,90	0,989	340	45.000

Keterangan :

Cokelat + = Pantone 482 C

Cokelat ++ = Pantone 481 C

Cokelat +++ = Pantone 480 C

Tabel 3  
Pengamatan organoleptis sampel krim pada suhu kamar selama 8 minggu

Krim	Minggu ke-	Pengamatan		
		Warna	Bau	Homogenitas
A	2	Coklat +	TB	H
	4	Coklat +	TB	H
	6	Coklat +	TB	H
	8	Coklat +	TB	H
B	2	Coklat ++	TB	H
	4	Coklat ++	TB	H
	6	Coklat ++	TB	H
	8	Coklat ++	TB	H
C	2	Coklat +++	TB	H
	4	Coklat +++	TB	H
	6	Coklat +++	TB	H
	8	Coklat +++	TB	H

Keterangan ;

A = krim coklat 0,5%

B = krim coklat 0,75%

C = krim coklat 1%

Coklat + = Pantone 482 C

Coklat ++ = Pantone 481 C

Coklat +++ = Pantone 480 C

TB = Tidak terjadi perubahan bau

H = Homogen

Tabel 4  
Pengamatan organoleptis sampel krim pada suhu  $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 8 minggu

Krim	Minggu ke-	Pengamatan		
		Warna	Bau	Homogenitas
A	2	Coklat +	TB	H
	4	Coklat ++	TB	H
	6	Coklat ++	TB	H
	8	Coklat +++	TB	H
B	2	Coklat ++	TB	H
	4	Coklat +++	TB	H
	6	Coklat +++	TB	H
	8	Coklat ++++	TB	H
C	2	Coklat +++	TB	H
	4	Coklat ++++	TB	H
	6	Coklat ++++	TB	H
	8	Coklat +++++	TB	H

Keterangan ;

A = krim coklat 0,5%

B = krim coklat 0,75%

C = krim coklat 1%

Coklat + = Pantone 482 C

Coklat ++ = Pantone 481 C

Coklat +++ = Pantone 480 C

Coklat ++++= Pantone 479 C

Coklat +++++= Pantone 478 C

TB = Tidak terjadi perubahan bau

H = Homogen

Tabel 5  
Pengamatan organoleptis sampel krim pada suhu  $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$  selama 8 minggu

Krim	Minggu ke-	Pengamatan		
		Warna	Bau	Homogenitas
A	2	Putih	TB	H
	4	Putih	TB	H
	6	Putih	TB	H
	8	Putih	TB	H
B	2	Coklat +	TB	H
	4	Coklat +	TB	H
	6	Coklat +	TB	H
	8	Putih	TB	H
C	2	Coklat ++	TB	H
	4	Coklat ++	TB	H
	6	Coklat +	TB	H
	8	Coklat +	TB	H

Keterangan ;

A = krim coklat 0,5%

B = krim coklat 0,75%

C = krim coklat 1%

Coklat + = Pantone 482 C

Coklat ++ = Pantone 481 C

Coklat +++ = Pantone 480 C

TB = Tidak terjadi perubahan bau

H = Homogen

Tabel 8  
Perubahan pH dan diameter globul pada penyimpanan suhu kamar, suhu ,  
dan suhu selama 8 minggu

Krim	Suhu	Minggu ke-2		Minggu ke-4		Minggu ke-6		Minggu ke-8	
		pH	d (µm)	pH	d (µm)	pH	d(µm)	pH	d (µm)
A	4°	4,76	1,106	4,75	2,072	4,78	2,185	4,73	2,248
	Kamar	4,73	1,341	4,73	1,932	4,70	2,293	4,71	2,441
	40°	4,67	1,513	4,77	1,932	4,78	2,118	4,73	2,114
B	4°	4,85	1,580	4,87	1,908	4,88	1,939	4,89	2,117
	Kamar	4,83	1,2042	4,84	1,728	4,86	1,962	4,90	2,041
	40°	4,84	1,460	4,86	1,721	4,85	2,328	4,86	2,6128
C	4°	4,98	1,2873	5,02	1,460	5,05	1,775	5,07	2,014
	Kamar	4,94	1,469	4,99	1,869	5,00	2,325	5,00	2,4513
	40°	4,85	1,099	4,92	1,4848	4,94	1,731	4,93	1,875

Keterangan :

A= krim coklat 0,5%

B= krim coklat 0,75%

C= krim coklat 1%

Tabel 9  
Tabel konsistensi krim akhir

Krim	Konsistensi (1/10 mm)
Cokelat 0,5 %	305
Cokelat 0,75 %	337
Cokelat 1 %	350

Tabel 10  
Hasil *cycling test*

Krim	Pengamatan		
	Awal	Siklus ke-6	
	Warna dan bau	Warna dan bau	Pemisahan fase
Cokelat 0,5%	Coklat (+) dan tidak berbau	Coklat muda (++) dan tidak berbau	Tidak terjadi pemisahan fase
Cokelat 0,75%	Coklat (++) dan tidak berbau	Coklat muda (+++) dan tidak berbau	Tidak terjadi pemisahan fase
Cokelat 1%	Coklat (+++) dan tidak berbau	Coklat muda (++++) dan tidak berbau	Tidak terjadi pemisahan fase

Keterangan :

Cokelat + = Pantone 482 C

Cokelat ++ = Pantone 481 C

Cokelat +++ = Pantone 480 C

Tabel 11  
Uji mekanik

Krim	Awal	Akhir
Cokelat 0,5%	Tidak terjadi pemisahan fase	Terjadi pemisahan fase
Cokelat 0,75%	Tidak terjadi pemisahan fase	Terjadi pemisahan fase
Cokelat 1%	Tidak terjadi pemisahan fase	Terjadi pemisahan fase

Tabel 12  
Kurva kalibrasi kuersetin

Standar	Konsentrasi kuersetin (ppm)	Serapan
1	10	0,26772
2	13	0,32505
3	15	0,40772
4	18	0,50210
5	20	0,54123
6	22	0,65874

$$y = a + bx$$

$$a = -0,07933$$

$$b = 0,03255$$

$$r = 0,991$$

$$\lambda = 437,5 \text{ nm}$$

Tabel 13  
Kadar flavonoid total

Sampel	Serapan	Konsentrasi sampel (ppm)	Kadar (%) <sup>a</sup>
1	0,3352	12,8139	0,160
2	0,33385	12,7222	0,159
3	0,3373	12,8788	0,161

<sup>a)</sup> Kadar flavonoid = konsentrasi sampel (ppm) x total volume ekstrak etanol (ml) x faktor pengenceran ÷ berat sampel (µg) x 100 %

Total ekstrak etanol = 25 ml  
Faktor pengenceran = 5  
Berat sampel = 1000000 µg

Kadar flavonoid total dalam ekstrak coklat adalah 0,16% ± 0,001 (n=3)



Tabel 14  
Pengukuran aktivitas antioksidan awal krim blangko negatif

Konsentrasi krim (ppm)	No sampel	Serapan	% inhibisi
10	1	0,47108	15,273
	2	0,47075	15,333
100	1	0,46321	16,689
	2	0,46311	16,707
1000	1	0,45604	17,978
	2	0,45601	17,984
10000	1	0,43202	22,299
	2	0,43181	22,336
Serapan DPPH 516 nm = 0,556			

Tabel 15  
Pengukuran aktivitas antioksidan awal krim coklat 0,5%

Konsentrasi krim (ppm)	No sampel	Serapan	% inhibisi
10	1	0,45213	15,436
	2	0,45201	15,458
100	1	0,44894	16,032
	2	0,44905	16,012
1000	1	0,43632	18,393
	2	0,43544	18,558
10000	1	0,33065	38,157
	2	0,33176	37,949
Serapan DPPH 516 nm = 0,53466			

Tabel 16  
Pengukuran aktivitas antioksidan awal krim coklat 0,75%

Konsentrasi krim (ppm)	No sampel	Serapan	% inhibisi
10	1	0,45979	15,737
	2	0,45965	15,763
100	1	0,45598	16,435
	2	0,45579	16,469
1000	1	0,43725	19,868
	2	0,43432	20,405
10000	1	0,28149	48,413
	2	0,28292	48,151
Serapan DPPH 516 nm = 0,54566			

Tabel 17  
Pengukuran aktivitas antioksidan awal krim coklat 1%

Konsentrasi krim (ppm)	No sampel	Serapan	% inhibisi
10	1	0,46491	15,933
	2	0,46521	15,878
100	1	0,4572	17,327
	2	0,4602	16,784
1000	1	0,43295	21,712
	2	0,43551	21,249
10000	1	0,25167	54,492
	2	0,25079	54,651
Serapan DPPH 516 nm = 0,55302			

Tabel 18  
Pengukuran aktivitas antioksidan awal krim blangko positif

Konsentrasi krim (ppm)	No sampel	Serapan	% inhibisi
10	1	0,45525	16,764
	2	0,45512	16,787
100	1	0,41592	23,955
	2	0,41527	24,074
1000	1	0,02434	95,550
	2	0,0243	95,557
10000	1	0,01943	96,448
	2	0,01966	96,405
Serapan DPPH 516 nm = 0,54694			

Tabel 19  
Pengukuran aktivitas antioksidan akhir krim blangko negatif

Konsentrasi krim (ppm)	No sampel	Serapan	% inhibisi
10	1	0,50742	18,092
	2	0,50727	18,116
100	1	0,49989	19,467
	2	0,49907	19,439
1000	1	0,47811	22,823
	2	0,47847	22,765
10000	1	0,43549	29,703
	2	0,43477	29,819
Serapan DPPH 516 nm = 0,6195			

Tabel 20  
Pengukuran aktivitas antioksidan akhir krim coklat 0,5%

Konsentrasi krim (ppm)	No sampel	Serapan	% inhibisi
10	1	0,49943	18,843
	2	0,50031	18,700
100	1	0,49406	19,716
	2	0,49354	19,800
1000	1	0,44465	27,745
	2	0,44397	27,856
10000	1	0,21788	64,595
	2	0,21851	64,492
Serapan DPPH 516 nm = 0,61539			

Tabel 21  
Pengukuran aktivitas antioksidan akhir krim coklat 0,75%

Konsentrasi krim (ppm)	No sampel	Serapan	% inhibisi
10	1	0,49363	19,058
	2	0,49354	19,073
100	1	0,48794	19,991
	2	0,48713	20,124
1000	1	0,44562	26,931
	2	0,44505	27,024
10000	1	0,18128	70,275
	2	0,1815	70,239
Serapan DPPH 516 nm = 0,60986			

Tabel 22  
Pengukuran aktivitas antioksidan akhir krim coklat 1%

Konsentrasi krim (ppm)	No sampel	Serapan	% inhibisi
10	1	0,48852	19,234
	2	0,48867	19,209
100	1	0,48061	20,542
	2	0,48119	20,446
1000	1	0,39961	33,933
	2	0,40076	33,743
10000	1	0,16024	73,508
	2	0,15972	73,594
Serapan DPPH 516 nm = 0,60486			

Tabel 23  
Pengukuran aktivitas antioksidan akhir krim blangko positif

Konsentrasi krim (ppm)	No sampel	Serapan	% inhibisi
10	1	0,47727	18,120
	2	0,47668	18,221
100	1	0,41521	28,767
	2	0,41538	28,738
1000	1	0,02248	96,143
	2	0,02246	96,147
10000	1	0,02212	96,205
	2	0,02208	96,212
Serapan DPPH 516 nm = 0,58289			

Lampiran 1  
Perhitungan bahan dan HLB krim

Fase minyak yang digunakan:

Isopropil miristat (HLB 11,5)	=	6%
Setil alkohol (HLB 15,0)	=	8%
Total	=	14%

Konsentrasi (%) fase minyak

Isopropil miristat	= $\frac{6}{14} \times 100\%$	= 42,857%
Stearil alkohol	= $\frac{8}{14} \times 100\%$	= 57,143%

HLB butuh fase minyak

Isopropil miristat	= 42,857% x 11,5	= 4,928
Setil alkohol	= 57,143% x 15,0	= 8,571
Jumlah HLB butuh		= 13,499

Jumlah emulgator yang dibutuhkan:

% Tween-60	= $\frac{(13,499 - 4,7)}{(14,9 - 4,7)}$	x 100%	= 86,265%
% Span-60	= 100% - 86,265%		= 13,735%

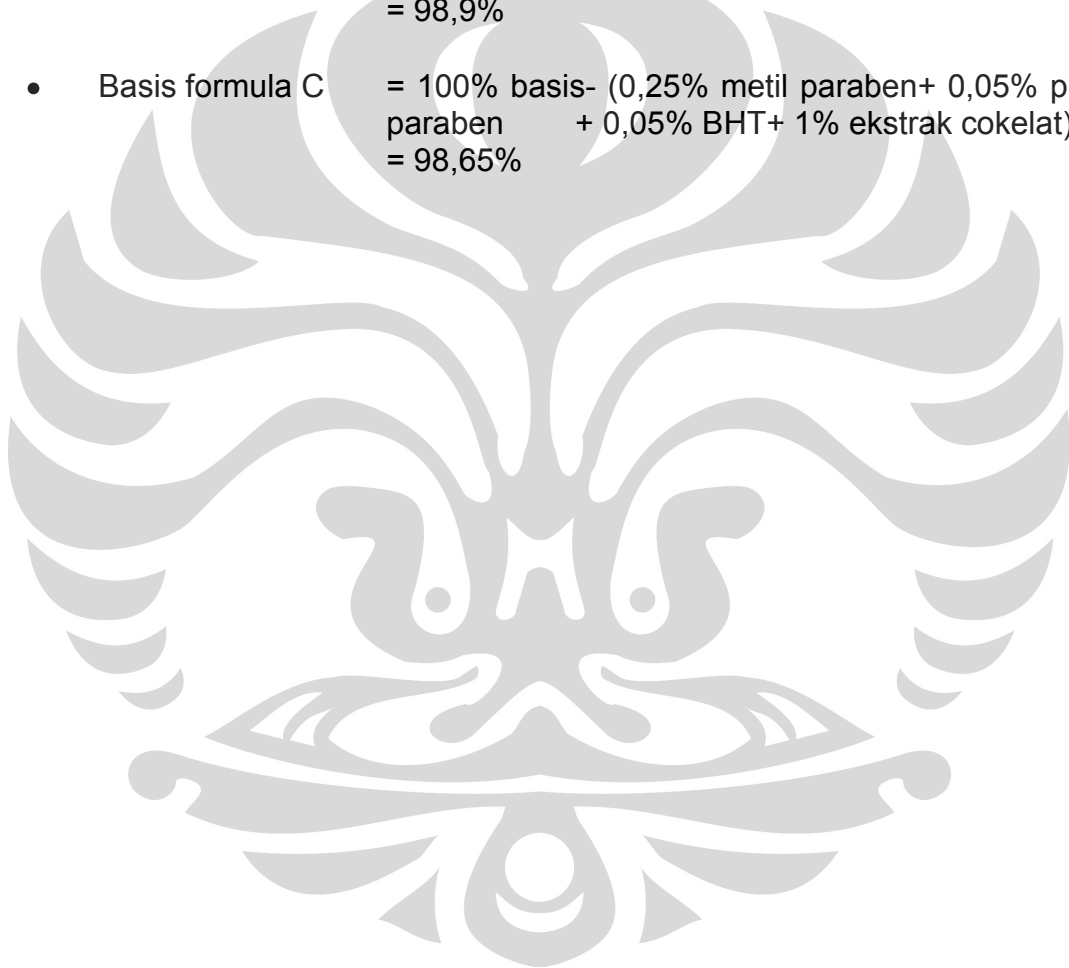
Jadi, jumlah tween-60 yang digunakan adalah 86,265% dan span-60 sebesar 13,735% dari jumlah total surfaktan yang digunakan (5%), yaitu :

Tween 60	: 86,265%/100% x 5% = 4,313%
Span 60	: 13,735%/100% x 5% = 0,687%

## Lampiran 2 Perhitungan basis krim

Perhitungan basis krim untuk masing-masing jenis krim:

- Basis formula A = 100% basis- (0,25% metil paraben+ 0,05% propil paraben + 0,05% BHT+ 0,5% ekstrak coklat)  
= 99,15%
- Basis formula B = 100% basis- (0,25% metil paraben+ 0,05% propil paraben + 0,05% BHT+ 0,75% ekstrak coklat)  
= 98,9%
- Basis formula C = 100% basis- (0,25% metil paraben+ 0,05% propil paraben + 0,05% BHT+ 1% ekstrak coklat)  
= 98,65%







### Lampiran 3 Perhitungan diameter globul awal

n = Jumlah globul

k = kelas =  $1 + 3,322 \log n$

l = interval

- **Krim coklat 0,5%**

T = awal suhu kamar

n = 132

k =  $1 + 3,322 \log 132$

= 8,044 ~ 8

l =  $\frac{1,412 - 0,353}{8} = 0,133$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,353 - 0,486	0,4195	24
0,487 - 0,619	0,553	-
0,620 - 0,752	0,686	30
0,753 - 0,885	0,819	-
0,886 - 1,018	0,952	46
1,019 - 1,151	1,085	-
1,152 - 1,284	1,218	-
1,285 - 1,417	1,351	32

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{113,946}{132} = 0,863 \mu\text{m}$$

- **Krim coklat 1%**

T = awal suhu kamar

n = 136

k =  $1 + 3,322 \log 136$

= 8,0876 ~ 8

l =  $\frac{1,573 - 0,393}{8} = 0,148$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,393 - 0,541	0,467	20
0,542 - 0,689	0,616	-
0,690 - 0,837	0,764	38
0,838 - 0,985	0,9115	-
0,986 - 1,133	1,062	48
1,134 - 1,281	1,208	-
1,282 - 1,429	1,356	-
1,430 - 1,577	1,504	30

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{134,468}{136} = 0,989 \mu\text{m}$$

- **Krim coklat 0,75%**

T = awal suhu kamar

n = 128

k =  $1 + 3,322 \log 128$

= 8

l =  $\frac{1,4985 - 0,346}{8} = 0,144$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,3746 - 0,5186	0,4466	48
0,5187 - 0,6626	0,5907	-
0,6627 - 0,8066	0,7347	24
0,8067 - 0,9506	0,8787	-
0,9507 - 1,0946	1,0227	44
1,0947 - 1,2386	1,1667	-
1,2387 - 1,3826	1,3107	-
1,3827 - 1,4985	1,4406	12

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{118,6394}{128} = 0,9269 \mu\text{m}$$

## Lampiran 4

Perhitungan diameter globul krim Cokelat 0,5% minggu ke-2 sampai minggu ke-8

n = Jumlah globul

k = kelas =  $1 + 3,322 \log n$ 

l = interval

- T = 2 Minggu suhu kamar

n = 80

k =  $1 + 3,322 \log 80$ =  $7,3 \sim 7$ l =  $\frac{2,696 - 0,674}{7} = 0,289$ 

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	N
0,674 - 0,963	0,819	16
0,964 - 1,252	1,108	-
1,253 - 1,541	1,397	24
1,542 - 1,830	1,686	-
1,831 - 2,119	1,975	28
2,120 - 2,408	2,264	-
2,409 - 2,697	2,553	12

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{107,243}{80} = 1,341 \mu\text{m}$$

- T = 4 minggu suhu kamar

n = 92

k =  $1 + 3,322 \log 92$ =  $7,5 \sim 8$ l =  $\frac{3,3363 - 0,834}{8} = 0,312$ 

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,834 - 1,146	0,990	24
1,147 - 1,458	1,303	-
1,459 - 1,770	1,615	28
1,771 - 2,082	1,927	-
2,083 - 2,394	2,239	-
2,395 - 2,706	2,551	24
2,707 - 3,018	2,863	-
3,019 - 3,330	3,175	16

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{177,823}{92} = 1,932 \mu\text{m}$$

- T = 6 minggu pada kamar

n = 136

k =  $1 + 3,322 \log 136$ =  $8,087 \sim 8$ l =  $\frac{3,497 - 0,874}{8} = 0,328$ 

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,874 - 1,202	1,038	32
1,203 - 1,530	1,367	-
1,531 - 1,858	1,695	24
1,859 - 2,186	2,023	-
2,187 - 2,514	2,351	-
2,515 - 2,842	2,679	44
2,843 - 3,170	3,007	-
3,171 - 3,497	3,335	36

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{311,78}{136} = 2,293 \mu\text{m}$$

- T = 8 minggu suhu kamar

n = 116

k =  $1 + 3,322 \log 116$ =  $7,858 \sim 8$ l =  $\frac{3,996 - 0,999}{8} = 0,375$ 

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,999 - 1,374	1,187	16
1,375 - 1,749	1,562	12
1,750 - 2,124	1,937	-
2,125 - 2,499	2,312	48
2,500 - 2,874	2,687	-
2,875 - 3,249	3,062	24
3,250 - 3,624	3,437	-
3,625 - 3,999	3,812	16

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{283,184}{116} = 2,441 \mu\text{m}$$

- T = 2 minggu pada T  $40^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 n = 108  
 $k = 1+3,322 \log 108$   
 $= 7,8 \sim 8$   
 $l = \frac{2,359 - 0,642}{8} = 0,220$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,600 - 0,820	0,710	16
0,821 - 1,040	0,931	-
1,041 - 1,260	1,151	36
1,261 - 1,480	1,371	-
1,481 - 1,700	1,591	-
1,701 - 1,920	1,811	36
1,921 - 2,140	2,031	-
2,141 - 2,360	2,251	20

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n}$$

$$= \frac{163,380}{108} = 1,513 \mu\text{m}$$

- T = 6 minggu pada T  $40^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 n = 148  
 $k = 1+3,322 \log 148$   
 $= 8,209 \sim 8$   
 $l = \frac{3,247 - 0,811}{8} = 0,305$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,811 - 1,116	0,964	16
1,117 - 1,421	1,269	-
1,422 - 1,726	1,574	44
1,727 - 2,031	1,879	-
2,032 - 2,336	2,184	-
2,337 - 2,641	2,489	72
2,642 - 2,946	2,794	-
2,947 - 3,247	3,099	16

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n}$$

$$= \frac{313,464}{148} = 2,118 \mu\text{m}$$

- T = 4 minggu pada T  $40^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 n = 76  
 $k = 1+3,322 \log 76$   
 $= 7,24 \sim 7$   
 $l = \frac{3,00 - 0,758}{7} = 0,32$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,758 - 1,078	0,918	32
1,079 - 1,398	1,239	-
1,399 - 1,718	1,559	20
1,719 - 2,038	1,879	-
2,039 - 2,358	2,199	12
2,359 - 2,678	2,519	-
2,679 - 3,000	2,840	12

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n}$$

$$= \frac{177,823}{92} = 1,932 \mu\text{m}$$

- T = 8 minggu pada T  $40^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 n = 104  
 $k = 1+3,322 \log 104$   
 $= 7,7005 \sim 8$   
 $l = \frac{3,400 - 0,85}{5} = 0,319$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,850 - 1,169	1,010	12
1,170 - 1,488	1,329	-
1,489 - 1,807	1,648	32
1,808 - 2,126	1,967	12
2,127 - 2,445	2,286	-
2,446 - 2,764	2,605	36
2,765 - 3,083	2,924	4
3,084 - 3,402	3,243	8

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n}$$

$$= \frac{219,874}{104} = 2,114 \mu\text{m}$$

- T = 2 minggu pada T  $4^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 n = 100  
 k =  $1+3,322 \log 100$   
 = 7,644 ~ 8  
 l =  $\frac{2,500 - 0,625}{8} = 0,234$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,625 - 0,859	0,742	24
0,860 - 1,093	0,977	-
1,094 - 1,327	1,211	42
1,328 - 1,561	1,445	-
1,562 - 1,795	1,679	-
1,796 - 2,029	1,913	12
2,030 - 2,263	2,147	-
2,264 - 2,500	2,382	8

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{110,682}{100} = 1,106 \mu\text{m}$$

- T = 6 minggu pada T  $4^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 n = 100  
 k =  $1+3,322 \log 100$   
 = 7,644 ~ 8  
 l =  $\frac{3,500 - 0,880}{8} = 0,328$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,880 - 1,208	1,044	16
1,209 - 1,536	1,373	-
1,537 - 1,864	1,701	40
1,865 - 2,192	2,029	-
2,193 - 2,520	2,357	-
2,521 - 2,848	2,685	20
2,849 - 3,176	3,013	-
3,177 - 3,500	3,341	24

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{218,586}{100} = 2,185 \mu\text{m}$$

- T = 4 minggu pada T  $4^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 n = 92  
 k =  $1+3,322 \log 92$   
 = 7,7 ~ 8  
 l =  $\frac{3,370 - 0,843}{8} = 0,316$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,8425 - 1,1585	1,0005	20
1,1586 - 1,4745	1,3166	-
1,4746 - 1,7905	1,6326	32
1,7906 - 2,1065	1,9486	-
2,1066 - 2,4225	2,2646	-
2,4226 - 2,7385	2,5806	16
2,7386 - 3,0545	2,8966	-
3,0546 - 3,3705	3,2126	24

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{190,6336}{92} = 2,072 \mu\text{m}$$

- T = 8 minggu pada T  $4^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 n = 120  
 k =  $1+3,322 \log 120$   
 = 7,907 ~ 8  
 l =  $\frac{3,500 - 0,875}{8} = 0,3282$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,8750 - 1,2032	1,0391	20
1,2033 - 1,5314	1,3674	-
1,5315 - 1,8596	1,6956	30
1,8597 - 2,1878	2,0238	16
2,1879 - 2,5160	2,3520	-
2,5161 - 2,8442	2,6802	22
2,8443 - 3,1724	3,0084	-
3,1725 - 3,5006	3,3366	32

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{269,7664}{120} = 2,248 \mu\text{m}$$

## Lampiran 5

Perhitungan diameter globul krim coklat 0,75% minggu ke-2 sampai minggu ke-8

n = Jumlah globul

k = kelas =  $1 + 3,322 \log n$ 

l = interval

- T = 2 minggu suhu kamar

n = 80

k =  $1 + 3,322 \log 80$ 

= 7,3 ~ 7

l =  $\frac{2,0224 - 0,5055}{7} = 0,2167$ 

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,5055 - 0,7222	0,6139	20
0,7223 - 0,9389	0,8306	-
0,9390 - 1,1556	1,0473	24
1,1557 - 1,3723	1,2640	-
1,3724 - 1,5890	1,4807	24
1,5891 - 1,8057	1,6974	-
1,8058 - 2,0224	1,9141	12

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{96,3394}{80} = 1,2042 \mu\text{m}$$

- T = 4 minggu suhu kamar

n = 88

k =  $1 + 3,322 \log 88$ 

= 7,459 ~ 7

l =  $\frac{3 - 0,75}{7} = 0,321$ 

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,750 - 1,071	0,911	32
1,072 - 1,392	1,232	-
1,393 - 1,713	1,553	12
1,714 - 2,034	1,874	-
2,035 - 2,355	2,195	32
2,356 - 2,676	2,516	-
2,677 - 3,000	2,839	12

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{152,096}{88} = 1,728 \mu\text{m}$$

- T = 6 minggu suhu kamar

n = 136

k =  $1 + 3,322 \log 136$ 

= 8,087 ~ 8

l =  $\frac{3,250 - 0,813}{8} = 0,305$ 

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,813 - 1,118	0,966	36
1,119 - 1,423	1,271	-
1,424 - 1,728	1,576	32
1,729 - 2,033	1,881	-
2,034 - 2,338	2,186	-
2,339 - 2,643	2,491	48
2,644 - 2,948	2,796	-
2,949 - 3,250	3,101	20

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{266,778}{136} = 1,962 \mu\text{m}$$

- T = 8 minggu suhu kamar

n = 124

k =  $1 + 3,322 \log 124$ 

= 7,954 ~ 8

l =  $\frac{3,250 - 0,999}{8} = 0,282$ 

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,999 - 1,281	1,140	8
1,282 - 1,563	1,423	32
1,564 - 1,845	1,705	-
1,846 - 2,127	1,987	40
2,128 - 2,409	2,269	-
2,410 - 2,691	2,551	32
2,692 - 2,973	2,833	-
2,974 - 3,255	3,115	12

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{253,09}{124} = 2,041 \mu\text{m}$$



- T = 2 minggu pada T 40 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C  
n = 96  
k = 1+3,322 log 96  
= 7,585 ~ 8  
l =  $\frac{2,900 - 0,725}{8} = 0,271$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,843 - 0,996	0,919	28
0,997 - 1,267	1,132	-
1,268 - 1,538	1,403	48
1,539 - 1,809	1,674	-
1,810 - 2,080	1,945	-
2,081 - 2,351	2,216	12
2,352 - 2,622	2,487	-
2,623 - 2,900	2,762	8

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{140,14}{96} = 1,460 \mu\text{m}$$

- T = 6 minggu pada T 40 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C  
n = 92  
k = 1+3,322 log 92  
= 7,523 ~ 8  
l =  $\frac{3,996 - 0,999}{8} = 0,375$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,999 - 1,374	1,187	8
1,375 - 1,749	1,562	-
1,750 - 2,124	1,937	52
2,125 - 2,499	2,312	-
2,500 - 2,874	2,687	-
2,875 - 3,249	3,062	24
3,250 - 3,624	3,437	-
3,625 - 3,996	3,812	8

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{214,2}{92} = 2,328 \mu\text{m}$$

- T = 4 minggu pada T 40 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C  
n = 96  
k = 1+3,322 log 96  
= 7,585 ~ 8  
l =  $\frac{2,997 - 0,749}{8} = 0,281$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,749 - 1,030	0,890	20
1,031 - 1,311	1,171	-
1,312 - 1,592	1,452	40
1,593 - 1,873	1,733	-
1,874 - 2,154	2,014	-
2,155 - 2,435	2,295	24
2,436 - 2,716	2,576	-
2,717 - 2,997	2,857	12

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{165,244}{96} = 1,721 \mu\text{m}$$

- T = 8 minggu pada T 40 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C  
n = 120  
k = 1+3,322 log 120  
= 7,907 ~ 8  
l =  $\frac{3,999 - 0,999}{8} = 0,375$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,999 - 1,375	1,187	24
1,376 - 1,750	1,563	-
1,751 - 2,125	1,938	-
2,126 - 2,500	2,313	40
2,501 - 2,875	2,688	-
2,876 - 3,250	3,063	28
3,251 - 3,625	3,438	-
3,626 - 4,000	3,813	28

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{313,536}{120} = 2,6128 \mu\text{m}$$

- T = 2 minggu pada T  $4^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 $n = 112$   
 $k = 1+3,322 \log 112$   
 $= 7,8 \sim 8$   
 $l = \frac{2,797 - 0,999}{8} = 0,225$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,999 - 1,224	1,112	48
1,225 - 1,449	1,337	-
1,450 - 1,674	1,562	24
1,675 - 1,899	1,787	8
1,900 - 2,124	2,012	8
2,125 - 2,349	2,237	16
2,350 - 2,574	2,462	4
2,575 - 2,797	2,686	4

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{177,616}{112} = 1,580 \mu\text{m}$$

- T = 4 minggu pada T  $4^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 $n = 80$   
 $k = 1+3,322 \log 80$   
 $= 7,322 \sim 7$   
 $l = \frac{2,7972 - 0,6993}{7} = 0,2997$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,6993 - 0,9999	0,5496	36
1,0000 - 1,2987	1,1494	-
1,2988 - 1,5984	1,4486	20
1,5985 - 1,8981	1,7483	-
1,8982 - 2,1978	2,0480	8
2,1979 - 2,4975	2,3477	-
2,4976 - 2,7972	2,6474	16

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{152,6422}{80} = 1,908 \mu\text{m}$$

- T = 6 minggu pada T  $4^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 $n = 124$   
 $k = 1+3,322 \log 124$   
 $= 7,954 \sim 8$   
 $l = \frac{2,997 - 0,999}{8} = 0,250$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,999 - 1,249	1,124	24
1,250 - 1,499	1,375	16
1,500 - 1,749	1,625	-
1,750 - 1,999	1,875	8
2,000 - 2,249	2,125	56
2,250 - 2,499	2,375	-
2,500 - 2,749	2,625	-
2,750 - 2,997	2,875	20

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{240,476}{124} = 1,939 \mu\text{m}$$

- T = 8 minggu pada T  $4^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 $n = 92$   
 $k = 1+3,322 \log 92$   
 $= 7,523 \sim 8$   
 $l = \frac{2,999 - 0,750}{8} = 0,282$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,750 - 1,032	0,891	20
1,033 - 1,314	1,174	-
1,315 - 1,596	1,456	-
1,597 - 1,878	1,738	10
1,879 - 2,160	2,020	-
2,161 - 2,442	2,302	32
2,443 - 2,724	2,584	-
2,725 - 3,006	2,866	30

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{194,844}{92} = 2,117 \mu\text{m}$$



## Lampiran 6

Perhitungan diameter globul krim cokelat 1% minggu ke-2 sampai minggu ke-8

n = Jumlah globul

k = kelas =  $1 + 3,322 \log n$ 

l = interval

- T = 2 minggu suhu kamar

n = 72

k =  $1 + 3,322 \log 72$ 

= 7,17 ~ 7

l =  $\frac{2,4975 - 0,624}{7} = 0,267$ 

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,624 - 0,891	0,758	16
0,892 - 1,158	1,025	-
1,159 - 1,425	1,292	32
1,426 - 1,692	1,559	-
1,693 - 1,959	1,826	8
1,960 - 2,226	2,093	-
2,227 - 2,493	2,360	16

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{105,832}{72} = 1,469 \mu\text{m}$$

- T = 4 minggu suhu kamar

n = 116

k =  $1 + 3,322 \log 116$ 

= 7,8 ~ 8

l =  $\frac{3,1678 - 0,792}{8} = 0,297$ 

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,792 - 1,089	0,941	28
1,090 - 1,386	1,238	-
1,387 - 1,683	1,535	28
1,684 - 1,980	1,832	-
1,981 - 2,277	2,129	-
2,278 - 2,574	2,426	52
2,575 - 2,871	2,723	4
2,872 - 3,168	3,020	4

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{216,772}{116} = 1,869 \mu\text{m}$$

- T = 6 minggu suhu kamar

n = 100

k =  $1 + 3,322 \log 100$ 

= 7,644 ~ 8

l =  $\frac{3,400 - 0,999}{8} = 0,3$ 

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,999 - 1,299	1,149	20
1,300 - 1,599	1,450	-
1,600 - 1,899	1,750	16
1,900 - 2,199	2,050	-
2,200 - 2,499	2,350	-
2,500 - 2,799	2,650	44
2,800 - 3,099	2,950	-
3,100 - 3,400	3,250	20

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{232,54}{100} = 2,325 \mu\text{m}$$

- T = 8 minggu suhu kamar

n = 152

k =  $1 + 3,322 \log 152$ 

= 8,248 ~ 8

l =  $\frac{3,500 - 0,875}{8} = 0,3282$ 

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,8750 - 1,2032	1,0391	20
1,2033 - 1,5314	1,3674	-
1,5315 - 1,8596	1,6956	10
1,8597 - 2,1878	2,0238	30
2,1879 - 2,5160	2,3520	-
2,5161 - 2,8442	2,6802	50
2,8443 - 3,1724	3,0084	-
3,1725 - 3,5006	3,3366	42

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{372,5992}{152} = 2,4513 \mu\text{m}$$

- T = 2 minggu pada T  $40^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 $n = 136$   
 $k = 1+3,322 \log 136$   
 $= 8,08 \sim 8$   
 $l = \frac{1,998 - 0,4995}{8} = 0,187$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,4995 - 0,6865	0,5930	24
0,6866 - 0,8735	0,7801	24
0,8736 - 1,0605	0,9671	40
1,0606 - 1,2475	1,1541	-
1,2476 - 1,4345	1,3411	-
1,4346 - 1,6215	1,5281	36
1,6216 - 1,8085	1,7151	-
1,8086 - 1,9980	1,9033	12

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{149,4806}{136} = 1,099 \mu\text{m}$$

- T = 4 minggu pada T  $40^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 $n = 116$   
 $k = 1+3,322 \log 116$   
 $= 7,8 \sim 8$   
 $l = \frac{2,4975 - 0,624}{8} = 0,2340$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,5055 - 0,7222	0,6139	20
0,7223 - 0,9389	0,8306	-
0,9390 - 1,1556	1,0473	24
1,1557 - 1,3723	1,2640	-
1,3724 - 1,5890	1,4807	24
1,5891 - 1,8057	1,6974	-
1,8058 - 2,0224	1,9141	12

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{172,2318}{116} = 1,4848 \mu\text{m}$$

- T = 6 minggu pada T  $40^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 $n = 112$   
 $k = 1+3,322 \log 112$   
 $= 7,807 \sim 8$   
 $l = \frac{3,000 - 0,999}{8} = 0,25$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,999 - 1,249	1,124	36
1,250 - 1,499	1,375	-
1,500 - 1,749	1,625	44
1,750 - 1,999	1,875	-
2,000 - 2,249	2,125	-
2,250 - 2,499	2,375	20
2,500 - 2,749	2,625	-
2,750 - 3,000	2,875	12

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{193,926}{112} = 1,731 \mu\text{m}$$

- T = 8 minggu pada T  $40^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 $n = 148$   
 $k = 1+3,322 \log 148$   
 $= 8,209 \sim 8$   
 $l = \frac{3,000 - 0,750}{8} = 0,282$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,5055 - 0,7222	0,6139	20
0,7223 - 0,9389	0,8306	-
0,9390 - 1,1556	1,0473	24
1,1557 - 1,3723	1,2640	-
1,3724 - 1,5890	1,4807	24
1,5891 - 1,8057	1,6974	-
1,8058 - 2,0224	1,9141	12

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{277,446}{148} = 1,875 \mu\text{m}$$

- T = 2 minggu pada T  $4^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 $n = 68$   
 $k = 1+3,322 \log 68$   
 $= 7,06 \sim 7$   
 $l = \frac{1,998 - 0,4995}{7} = 0,214$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,4995 - 0,7135	0,6065	20
0,7136 - 0,9275	0,8206	-
0,9276 - 1,1415	1,0346	8
1,1416 - 1,3555	1,2486	-
1,3556 - 1,5695	1,4626	20
1,5696 - 1,7835	1,6766	-
1,7836 - 1,9980	1,8908	20

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n}$$

$$= \frac{87,5374}{68} = 1,2873 \mu\text{m}$$

- T = 4 minggu pada T  $4^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 $n = 112$   
 $k = 1+3,322 \log 112$   
 $= 7,8 \sim 8$   
 $l = \frac{2,998 - 0,7495}{8} = 0,281$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,7495 - 1,0305	0,8900	28
1,0306 - 1,3115	1,1711	24
1,3116 - 1,5925	1,4521	28
1,5926 - 1,8735	1,7331	-
1,8736 - 2,1545	2,0141	-
2,1546 - 2,4355	2,2951	16
2,4356 - 2,7165	2,5761	-
2,7166 - 2,9975	2,8571	16

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n}$$

$$= \frac{176,1182}{112} = 1,460 \mu\text{m}$$

- T = 6 minggu pada T  $4^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 $n = 96$   
 $k = 1+3,322 \log 96$   
 $= 7,585 \sim 8$   
 $l = \frac{3,497 - 0,873}{8} = 0,328$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,873 - 1,201	1,037	36
1,202 - 1,529	1,366	-
1,530 - 1,857	1,694	36
1,858 - 2,185	2,022	-
2,186 - 2,513	2,350	-
2,514 - 2,841	2,678	12
2,842 - 3,169	3,006	-
3,170 - 3,497	3,334	12

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n}$$

$$= \frac{170,43}{96} = 1,775 \mu\text{m}$$

- T = 8 minggu pada T  $4^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$   
 $n = 124$   
 $k = 1+3,322 \log 124$   
 $= 7,954 \sim 8$   
 $l = \frac{3,497 - 0,999}{8} = 0,313$

Rentang ( $\mu\text{m}$ )	Nilai Tengah (d)	n
0,999 - 1,312	1,156	36
1,313 - 1,625	1,469	8
1,626 - 1,938	1,782	-
1,939 - 2,251	2,095	36
2,252 - 2,564	2,408	16
2,565 - 2,877	2,721	16
2,878 - 3,190	3,034	4
3,191 - 3,503	3,347	8

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n}$$

$$= \frac{249,746}{124} = 2,014 \mu\text{m}$$

Lampiran 7  
Contoh perhitungan kadar flavonoid total

Kurva kalibrasi yaitu  $y = -0,07933 + 0,03255 x$   
dimana  $y$  = serapan dan  $x$  = konsentrasi (ppm)

Kadar flavonoid = konsentrasi sampel (ppm) x total volume ekstrak etanol (ml) x faktor pengenceran ÷ berat sampel ( $\mu\text{g}$ ) x 100 %

**Sampel 1**

Serapan = 0,3352, sehingga konsentrasi =  $\frac{0,3352 + 0,07933}{0,03255}$   
= 12,8139 ppm

Maka presentase flavonoid total =  $\frac{12,8139 \mu\text{g/ml} \times 25 \text{ ml} \times 5 \times 100}{1000000 \mu\text{g}}$   
= 0,160 %

Lampiran 8  
Contoh perhitungan persentase inhibisi krim

$$\% \text{inhibisi} = \frac{(\text{serapan DPPH} - \text{serapan sampel})}{\text{serapan DPPH}} \times 100$$

Serapan DPPH 516 nm = 0,95603

**Sampel 1**

Serapan = 0,46043

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(0,95603 - 0,46043)}{0,95603} \times 100 = 51,839 \%$$



**Lampiran 9**  
**Uji Kruskal-Wallis H terhadap persentase inhibisi krim 10 ppm sebelum memperoleh sinar UV A (SPSS16.0)**

- Tujuan** : Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna antara masing-masing krim sebelum memperoleh sinar UV A pada konsentrasi 10 ppm
- Hipotesa** :
- Ho** = Persentase inhibisi masing-masing krim pada konsentrasi 10 ppm tidak berbeda secara bermakna
- Ha** = Persentase inhibisi masing-masing krim pada konsentrasi 10 ppm berbeda secara bermakna

**Pengambilan keputusan :**  
 Signifikansi > 0,05, maka Ho diterima  
 Signifikansi < 0,05, maka Ho ditolak

**Ranks**

Sampel	N	Mean Rank
%inhibisi krim blangko negative	2	1.50
krim coklat 0,5%	2	3.50
krim coklat 0,75%	2	5.50
krim coklat 1%	2	7.50
krim blangko positif	2	9.50
Total	10	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	%inhibisi
Chi-Square	8.727
Df	4
Asymp. Sig.	.068

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: sampel

**Keputusan:**

Ho diterima, yaitu persentase inhibisi masing-masing krim pada konsentrasi 10 ppm tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 10  
Uji Kruskal-Wallis H terhadap persentase inhibisi krim 100 ppm sebelum memperoleh sinar UV A (SPSS16.0)

Tujuan : Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna antara masing-masing krim sebelum memperoleh sinar UV A pada konsentrasi 100 ppm

Hipotesa :  
 Ho = Persentase inhibisi masing-masing krim pada konsentrasi 100 ppm tidak berbeda secara bermakna  
 Ha = Persentase inhibisi masing-masing krim pada konsentrasi 100 ppm berbeda secara bermakna

Pengambilan keputusan :  
 Signifikansi > 0,05, maka Ho diterima  
 Signifikansi < 0,05, maka Ho ditolak

**Ranks**

sampel	N	Mean Rank
%inhibisi krim blangko negatif	2	5.50
krim coklat 0,5%	2	1.50
krim coklat 0,75%	2	3.50
krim coklat 1%	2	7.50
krim blangko positif	2	9.50
Total	10	

**Test Statistics<sup>a,b</sup>**

	%inhibisi
Chi-Square	8.727
Df	4
Asymp. Sig.	.068

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: sampel

**Keputusan:**

Ho diterima, yaitu persentase inhibisi masing-masing krim pada konsentrasi 100 ppm tidak berbeda secara bermakna

## Lampiran 11

Uji Kruskal-Wallis H terhadap persentase inhibisi krim 1.000 ppm sebelum memperoleh sinar UV A (SPSS16.0)

Tujuan : Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna antara masing-masing krim sebelum memperoleh sinar UV A pada konsentrasi 1000 ppm

Hipotesa :  
 Ho = Persentase inhibisi masing-masing krim pada konsentrasi 1.000 ppm tidak berbeda secara bermakna

Ha = Persentase inhibisi masing-masing krim pada konsentrasi 1.000 ppm berbeda secara bermakna

Pengambilan keputusan :  
 Signifikansi > 0,05, maka Ho diterima  
 Signifikansi < 0,05, maka Ho ditolak

Ranks

Sampel	N	Mean Rank
%inhibisi krim blangko negatif	2	1.50
krim coklat 0,5%	2	3.50
krim coklat 0,75%	2	5.50
krim coklat 1%	2	7.50
krim blangko positif	2	9.50
Total	10	

Test Statistics<sup>a,b</sup>

	%inhibisi
Chi-Square	8.727
Df	4
Asymp. Sig.	.068

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: sampel

Keputusan:

Ho diterima, yaitu persentase inhibisi masing-masing krim pada konsentrasi 1.000 ppm tidak berbeda secara bermakna.



## Lampiran 12

Uji Kruskal-Wallis H terhadap persentase inhibisi krim 10.000 ppm sebelum memperoleh sinar UV A (SPSS16.0)

Tujuan : Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna antara masing-masing krim sebelum memperoleh sinar UV A pada konsentrasi 10.000 ppm

Hipotesa :

Ho = Persentase inhibisi masing-masing krim pada konsentrasi 10.000 ppm tidak berbeda secara bermakna

Ha = Persentase inhibisi masing-masing krim pada konsentrasi 10.000 ppm berbeda secara bermakna

Pengambilan keputusan :

Signifikansi  $> 0,05$ , maka Ho diterima

Signifikansi  $< 0,05$ , maka Ho ditolak

Ranks

sampel	N	Mean Rank
%inhibisi krim blangko negatif	2	1.50
krim coklat 0,5%	2	3.50
krim coklat 0,75%	2	5.50
krim coklat 1%	2	7.50
krim blangko positif	2	9.50
Total	10	

Test Statistics<sup>a,b</sup>

	%inhibisi
Chi-Square	8.727
Df	4
Asymp. Sig.	.068

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: sampel

Keputusan:

Ho diterima, yaitu persentase inhibisi masing-masing krim pada konsentrasi 10.000 ppm tidak berbeda secara bermakna.

Lampiran 13  
Uji Wilcoxon persentase inhibisi krim 10.000 ppm sebelum dan setelah  
memperoleh sinar UV A (SPSS16.0)

- Tujuan : Untuk mengetahui apakah penyinaran dengan sinar UV A pada MED 60.000 mJ/cm<sup>2</sup> mempengaruhi persentase inhibisi krim
- Hipotesa :
- Ho = Kedua persentase inhibisi krim sebelum dan sesudah memperoleh sinar UV A adalah tidak berbeda secara bermakna
- Ha = Kedua persentase inhibisi krim sebelum dan sesudah memperoleh sinar UV A adalah berbeda secara bermakna
- Pengambilan keputusan :
- Signifikansi > 0,05, maka Ho diterima
- Signifikansi < 0,05, maka Ho ditolak
- Keputusan :
- Pair 1 = signifikansi 0,18 maka Ho diterima yaitu persentase inhibisi krim blangko negatif sebelum dan sesudah memperoleh sinar UV A adalah tidak berbeda secara bermakna
- Pair 2 = signifikansi 0,18 maka Ho diterima yaitu persentase inhibisi krim coklat 0,5% sebelum dan sesudah memperoleh sinar UV A adalah tidak berbeda secara bermakna
- Pair 3 = signifikansi 0,18 maka Ho diterima yaitu persentase inhibisi krim coklat 0,75% sebelum dan sesudah memperoleh sinar UV A adalah tidak berbeda secara bermakna
- Pair 4 = signifikansi 0,18 maka Ho diterima yaitu persentase inhibisi krim coklat 1% sebelum dan sesudah memperoleh sinar UV A adalah tidak berbeda secara bermakna
- Pair 5 = signifikansi 0,18 maka Ho diterima yaitu persentase inhibisi krim blangko positif (Vit. C 0,5%) sebelum dan sesudah memperoleh sinar UV A adalah tidak berbeda secara bermakna

**Test Statistics<sup>c</sup>**

	blangko negatif sesudah - blangko negatif sebelum	cokelat 0,5% sesudah - cokelat 0,5% sebelum	cokelat 0,75% sesudah - cokelat 0,75% sebelum	cokelat 1% sesudah - cokelat 1% sebelum	blangko positif (Vit. C 0,5%) sebelum - blangko positif (Vit. C 0,5%) sebelum
Z	-1.342 <sup>a</sup>	-1.342 <sup>a</sup>	-1.342 <sup>a</sup>	-1.342 <sup>a</sup>	-1.342 <sup>b</sup>
Asymp. Sig. (2-tailed)	.180	.180	.180	.180	.180

a. Based on negative ranks.

b. Based on positive ranks.

c. Wilcoxon Signed Ranks Test

Lampiran 14  
Sertifikat analisis ekstrak coklat



## Certificate of Analysis

- Product : **Cocoa Extract**
- Code : **BEU-CCA.001.2**
- Lot No : **12309-01**
- Typical Physical Properties :
  - Appearance : **Liquid clear, free of foreign matter**
  - Color : **Black to brown viscous liquid**
  - Odor : **Characteristic of Cocoa**
  - pH ( 1 % Solution ) : **6.35**
  - Total solid (% Brix) : **60.0**
  - Density ( 25°C, gr/cm<sup>3</sup> ) : **1.2443**
- Typical Microbiological :
  - Total Plate Count : **< 10,000 cell/ml**
  - Yeast and Mold : **< 100 cell/ml**
  - E. Coli : **Negative**
- Remarks :
 

This product is natural. Store in dry place, in absence of direct sunlight and in full, sealed container
- Shelf life : **January, 2010**
- Packaging :
 

Sealed jerrycans/1 kg

Bali, January 23<sup>th</sup> 2009

QA – QC Supervisor



Narto Hadisaputro

PT BALI EXTRACT UTAMA  
Head Office :  
Wisma UIC, Lt. 3  
Jl. Gatot Subroto kav. 6-7  
Jakarta 12930 - Indonesia  
Phone : +6221-522 2172, 525 5674  
Fax : +6221-520 1617

Plant :  
Dusun Leping, Desa Takmung  
Kecamatan Banjarangkan  
Kabupaten Klungkung  
Bali 80752 - Indonesia  
Phone : +62366-530 2324  
Fax : +62366-530 2345

[www.baliextractutama.com](http://www.baliextractutama.com)

Lampiran 15  
Sertifikat analisis vitamin c



石药集团 维生药业 (石家庄) 有限公司

### Certificate of Analysis

Product: Ascorbic Acid Standard: BP2008/USP31  
 Batch No.: 08115333 Quantity: 2000 kgs  
 MFG Date: Nov.19, 2008 Expiry Date: Nov.18, 2011

Item	Analysis Standard	Result
Characteristics	White crystalline power	Pass
Identification	Positive Reaction	Pass
Melting Point	191~192°C	191.0°C
Specific Rotation	+20.5° ~ +21.5°	+21.2°
pH	2.1~2.6	2.4
Sulfated Ash	≤0.1%	0.04%
Assay	99.5~100.5%	99.7%
Loss of Drying	≤0.15%	0.09%
Heavy Metal	≤0.0003%	<0.0003%
Lead	≤2ppm	<2ppm
Clarity of Solution	Pass	Pass
Color of Solution	≤BY <sub>7</sub>	<BY <sub>7</sub>
Oxalate	≤0.2%	<0.2%
Copper Salt	≤0.0005%	<0.0005%
Ferrite	≤0.0002%	<0.0002%
Arsenic	≤0.0003%	<0.0002%
Organic Volatile Impurities	Pass	Pass

Result: The above product complies with BP2008/USP31 standard.

Manufacturer: Shijiazhuang Pharma. Weisheng Pharm. 石药集团维生药业(石家庄)有限公司  
 SHIJIAZHUANG PHARMA. WEISHENG  
 PHARMACEUTICAL SHIJIAZHUANG CO., LTD.  
 冯振英  
 GENERAL MANAGER

Lampiran 16  
Sertifikat kalibrasi irradiansi lampu UV A

FORM : P01T/10-001



PUSLIT KIM - LIPI

Nomor order : E - 09. 03. 44.  
Sub. Bid. Metr. Radiometri Fotometri.  
Lembar ke 2 dari 2 lembar.

Nama alat : UV Lamp.  
Tipe / No. Seri : T5-10W / BLB.  
Merk / Pabrik : Gold Star.  
Tanggal Pengukuran : 20 April 2009.  
Tempat Pengukuran : Puslit KIM-LIPI

Suhu ruang :  $23 \pm 3$  °C.  
Kelembaban :  $64 \pm 10$  %.

## HASIL PENGUKURAN

Lampu UV $\lambda$ 366 nm Jarak 30 cm	Irradiansi $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ 13.67

Catatan :

Standar Acuan : Radiometer LMT No. Seri : 0689022.  
Sensor No. Seri : 06890222.

Ketertelusuran : Tertelusur ke SI melalui NML - Australia.

Prosedur kalibrasi : PK - UKTO - OPOS.

Ketidakpastian pengukuran pada tingkat kepercayaan 95 % dengan factor cakupan  $k = 2$ , adalah :  $\pm 0.8$  %

Akhir sertifikat / End of certificate.



Alamat : Puslit KIM-LIPI, Kompleks PUSPIPTEK, Serpong - Tangerang 15314  
Telp. (62-021) 7560533 - 7560534 - 7560535 - 7560538 - 7560562 - 7560571, 7560906 Fax. (62-021) - 7560568, 7560064 Telex 45512 PPIT IA

\* Dilarang keras mengutip/memperbanyak dan/atau mempublikasikan sebagian isi Sertifikat ini tanpa seijin Puslit KIM-LIPI  
\* Sertifikat ini sah bila telah dibubuhi cap Puslit KIM-LIPI

