



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI PENGHAMBATAN TIROSINASE DAN STABILITAS
FISIK DARI KRIM YANG MENGANDUNG EKSTRAK KULIT
BUAH DELIMA (*Punica granatum L.*)**

SKRIPSI

**I. Prasista
0606070743**

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



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI PENGHAMBATAN TIROSINASE DAN STABILITAS
FISIK DARI KRIM YANG MENGANDUNG EKSTRAK KULIT
BUAH DELIMA (*Punica granatum L.*)**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana
farmasi

**I. Prasista
0606070743**

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

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : I. Prasista

NPM : 0606070743

Tanda Tangan : 

Tanggal : 9 Desember 2010

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : I. Prasista

NPM : 0606070743

Program Studi : Farmasi


Judul Skripsi : Uji Penghambatan Tirosinase dan Stabilitas Fisik dari Krim yang Mengandung Ekstrak Kulit Buah Delima (*Punica granatum L.*)

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Pharm. Dr. Joshita Djajadisastra M.S., Ph.D ()

Pembimbing II : Dr. Abdul Mun'im M.Si., Apt. ()

Penguji I : Dra. Maryati Kurniadi M.Si., Apt. ()

Penguji II : Dr. Silvia Surini M. Pharm.Sc ()

Penguji III : Dr. Amarila Malik Apt., M.Si ()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : Desember 2010

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : I. Prasista
NPM : 0606070743
Program Studi : Farmasi Reguler
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

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

Uji Penghambatan Tirosinase dan Stabilitas Fisik dari Krim yang Mengandung Ekstrak Kulit Buah Delima (*Punica granatum L.*)

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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta
Pada tanggal : 9 Desember 2010

Yang menyatakan



(I. Prasista)

KATA PENGANTAR

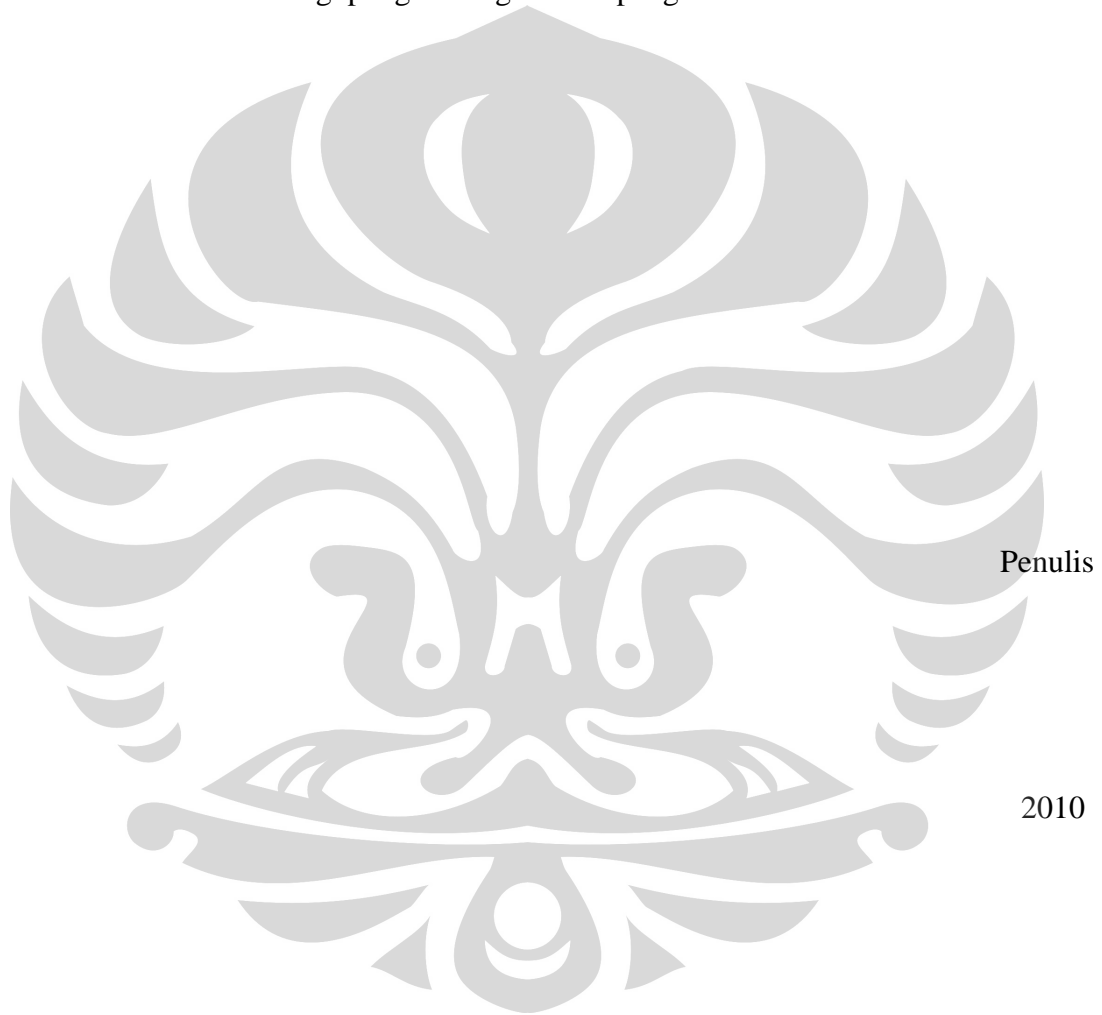
Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah S.W.T. karena atas rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

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

1. Ibu Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS. selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI.
2. Ibu Pharm. Dr. Joshita Djajadisastra M.S., Ph.D selaku dosen pembimbing I dan Bapak Dr. Abdul Mun'im M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing II yang telah banyak memberikan bantuan berupa bimbingan, nasehat, ilmu, dukungan dan motivasi selama penelitian berlangsung dan penyusunan skripsi.
3. Ibu Dr. Katrin M.S. selaku pembimbing akademik yang telah banyak memberikan bimbingan dan nasehat selama penulis menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
4. Seluruh staf pengajar, karyawan dan laboran Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah banyak membantu penulis selama masa pendidikan dan penelitian.
5. Papa, Mama, Sisti, Ece, dan Aji atas semua dukungan, kasih sayang, bantuan, perhatian, kesabaran, dorongan semangat, do'a yang tidak henti-hentinya dan dana yang diberikan untuk penulis.
6. Kak Muti, Rindo, Kucel, Ika, Yuli, Novi, Kak Trimer, Sari, RM, Kak Yulia, Kak Achan, Kak Ase, Kak Linda, yang telah menjadi teman-teman kerja di Laboratorium Farmasetika dan Kimia Kuantitatif Farmasi yang kompak dan banyak memberikan bantuan kepada penulis selama penelitian.

7. Teman-teman Farmasi UI angkatan 2005 dan 2006.
8. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang telah memberikan bantuan hingga terselesaikannya skripsi ini.

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



ABSTRAK

Nama : I. Prasista
Program Studi: Farmasi
Judul : Uji Penghambatan Tirosinase dan Stabilitas Fisik dari Krim yang Mengandung Ekstrak Kulit Buah Delima (*Punica granatum L.*)

Kulit buah delima (*Punica granatum L.*) merupakan sumber asam elegat dan asam galat yang memiliki aktivitas penghambatan tirosinase, serta punicalagin yang merupakan fenolik dalam jumlah dominan pada delima. Senyawa ini dapat menghambat reaksi oksidasi l-tirosin dan levodopa dalam mekanisme pembentukan melanin. Ekstrak kulit buah delima diformulasikan sebagai zat aktif ke dalam dua formula krim dengan konsentrasi 0,5% dan 1%. Uji stabilitas fisik dilakukan dengan penyimpanan sediaan pada tiga suhu yang berbeda yaitu suhu $4 \pm 2^\circ \text{C}$, suhu ruang, dan suhu $40 \pm 2^\circ \text{C}$. Uji mekanik dan *cycling test* juga dilakukan terhadap kedua krim. Pengukuran aktivitas penghambatan tirosinase dilakukan terhadap ekstrak kulit buah delima dan kedua krim yang mengandung ekstrak kulit buah delima melalui pengukuran dopakrom yang terbentuk secara *in vitro*. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah delima memiliki nilai IC_{50} terhadap tirosinase sebesar 1658,33 ppm, sedangkan krim yang mengandung ekstrak kulit buah delima 0,5% dan 1% memiliki nilai IC_{50} terhadap tirosinase secara berurutan sebesar 357,53 ppm dan 485,77 ppm, yang dihitung berdasarkan zat aktif dalam krim. Hal tersebut menunjukkan adanya peningkatan aktivitas penghambatan tirosinase dari zat aktif yang diformulasikan ke dalam krim yang kemungkinan disebabkan oleh hidrolisis punicalagin yang menghasilkan asam elegat pada proses pembuatan krim.

Kata kunci: ekstrak kulit buah delima (*Punica granatum L.*), stabilitas fisik, aktivitas penghambatan tirosinase.

xvi + 54 hlm; 50 gambar; 17 tabel; 12 lampiran.

Daftar acuan : 29 (1979-2010)

ABSTRACT

Name : I. Prasista

Study Program: Pharmacy

Judul : Tyrosinase Inhibition Assay and Physical Stability Testing of Cream Containing Pomegranate Pericarp Extract (*Punica granatum* L.)

Pomegranate pericarp (*Punica granatum* L.) is a source of ellagic acid and gallic acid that have tyrosinase inhibitory activity. It also contains punicalagin which is the dominant phenolic component in pomegranate. These compounds can inhibit oxidation of l-tyrosine and levodopa in the mechanism of melanin formation. Pomegranate rind extracts as an active ingredient is formulated into two formulas of cream with concentrations of 0.5% and 1%. Physical stability test was conducted by storing the creams at three different temperatures, the temperature $4 \pm 20^\circ$ C, room temperature, and temperature of $40 \pm 20^\circ$ C. Mechanical test and cycling test was conducted on both creams. Measurement of tyrosinase inhibitory activity was carried out by in vitro studies on pomegranate rind extract and both creams containing pomegranate rind extract by measuring dopachrome. Results showed that pomegranate rind extract had IC_{50} values of 1658.33 ppm, whereas the creams containing extract of pomegranate rind with the concentrations of 0,5% and 1% had IC_{50} value of 357.53 ppm and 485.77 ppm, respectively, which is calculated based on the active ingredient in the cream. This shows an increase in tyrosinase inhibitory activity of the active ingredient formulated in creams that is likely to be caused by hydrolysis of punicalagin during the cream-making process, which produces ellagic acid.

Key words: pomegranate rind extract (*Punica granatum* L.), physical stability, tyrosinase inhibitory activity

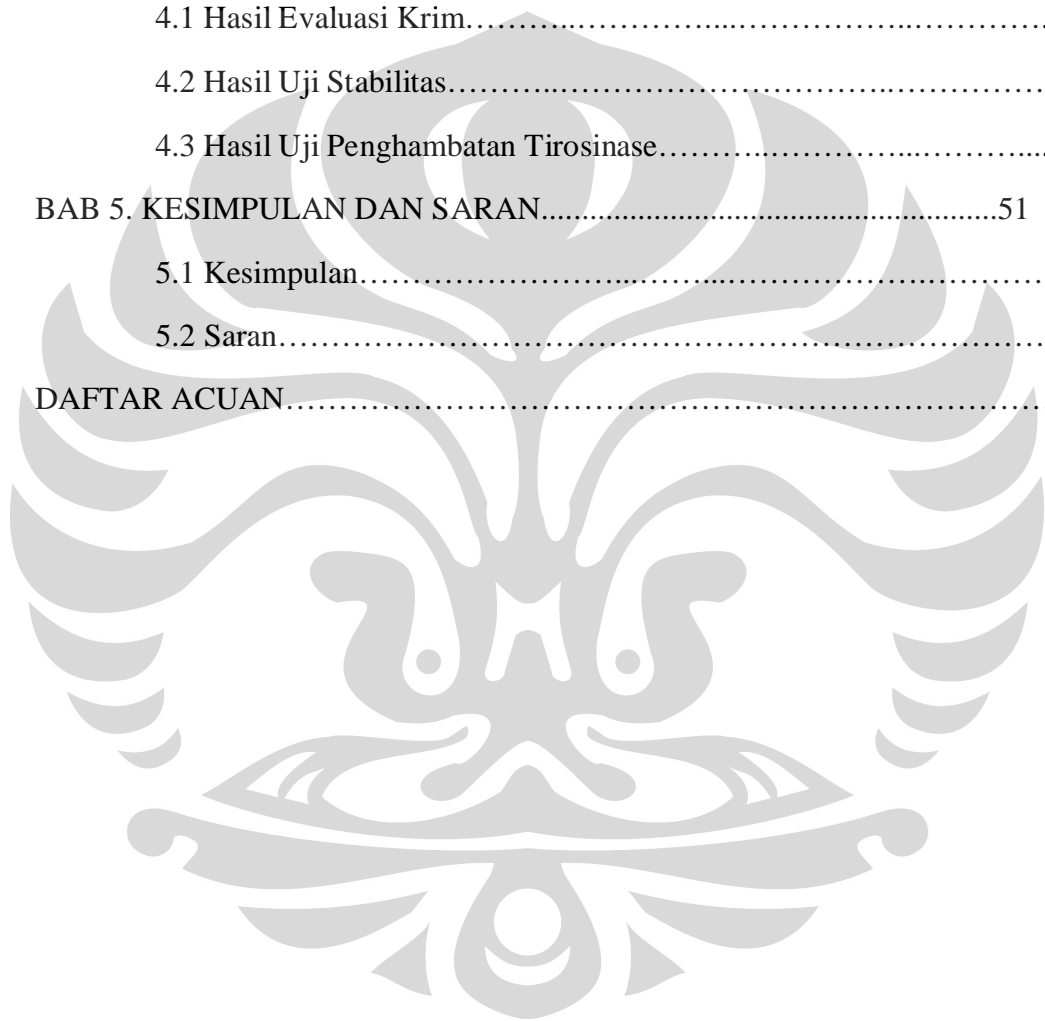
xvi + 54 pages; 50 pictures; 17 tables; 12 appendixes.

References : 29 (1979-2010)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Kulit.....	3
2.2 Mekanisme Pigmentasi Kulit.....	7
2.3 Delima.....	8
2.4 Krim.....	10
2.5 Stabilitas Krim.....	20
2.6 Uji Penghambatan Tirosinase dengan Pengukuran Dopakrom.....	24

BAB 3. METODE PENELITIAN.....	26
3.1 Lokasi.....	26
3.2 Alat.....	26
3.3 Bahan.....	26
3.4 Cara Kerja.....	26
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
4.1 Hasil Evaluasi Krim.....	34
4.2 Hasil Uji Stabilitas.....	36
4.3 Hasil Uji Penghambatan Tirosinase.....	46
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	51
5.1 Kesimpulan.....	51
5.2 Saran.....	51
DAFTAR ACUAN.....	52

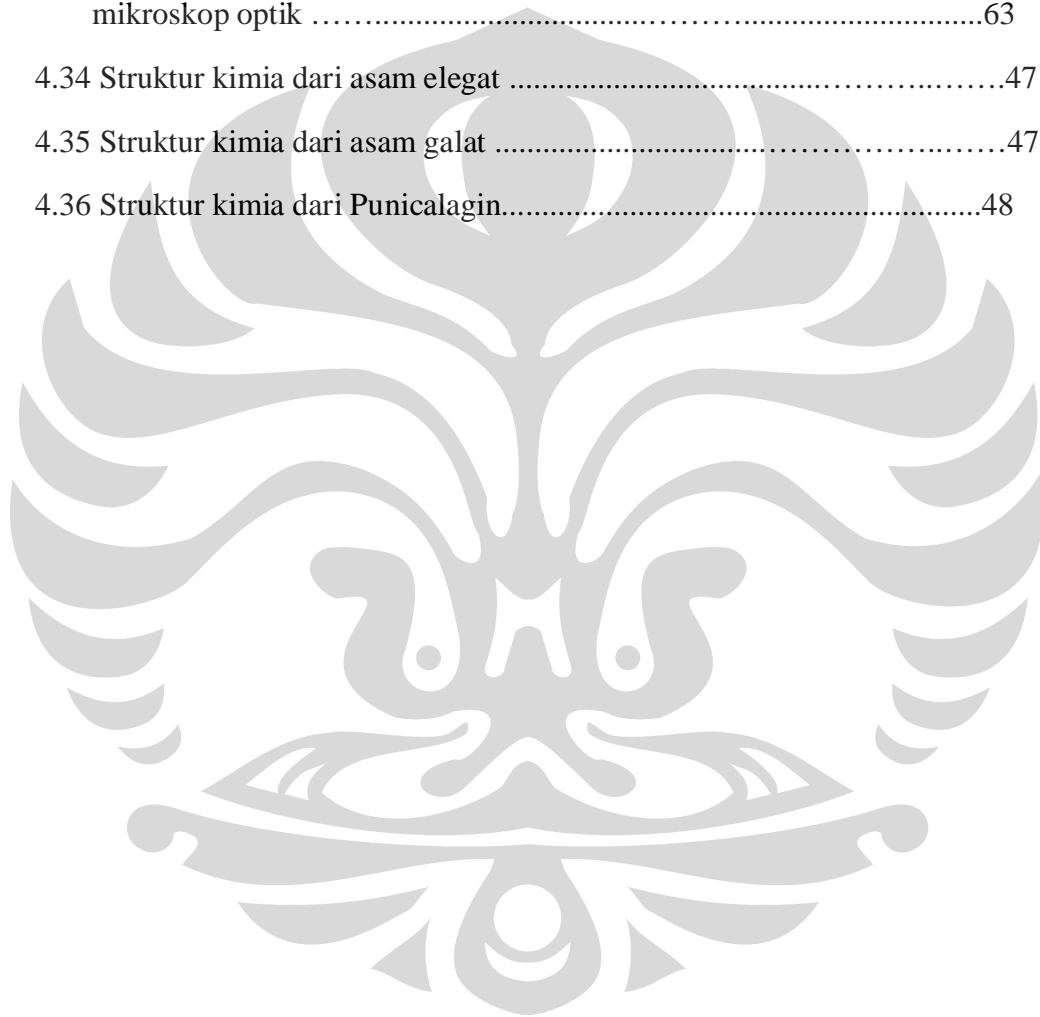


DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
2.1 Struktur kulit	4
2.2 Reaksi Pembentukan Melanin.....	8
2.3 Buah Delima (<i>Punica granatum</i> L.).....	10
2.4 Rumus bangun asam stearat.....	12
2.5 Rumus bangun gliseril monostearat.....	12
2.6 Rumus bangun setil alkohol	13
2.7 Rumus bangun trietanolamin.....	13
2.8 Rumus bangun isopropil miristat.....	14
2.9 Rumus bangun propil paraben.....	15
2.10 Rumus bangun metil paraben.....	15
2.11 Rumus bangun gliserin.....	16
2.12 Rumus bangun butilhidroksitoluen.....	17
2.13 Foto ekstrak kulit buah delima.....	18
2.14 Rumus bangun dimetil sulfoksida.....	19
4.1 Foto hasil pengamatan organoleptis krim A dan B minggu ke-0.....	34
4.2 Foto hasil pengamatan organoleptis minggu ke-2.....	37
4.3 Foto hasil pengamatan organoleptis minggu ke-4.....	37
4.4 Foto hasil pengamatan organoleptis minggu ke-6.....	38
4.5 Foto hasil pengamatan organoleptis minggu ke-8.....	38
4.6 Grafik pH Krim A dan B pada penyimpanan di suhu 4°C selama 8 minggu	39
4.7 Grafik pH Krim A dan B pada penyimpanan di suhu ruang selama 8 minggu	39
4.8 Grafik pH Krim A dan B pada penyimpanan di suhu 40°C	

selama 8 minggu.....	40
4.9 Diameter globul tiap sediaan pada penyimpanan suhu 4°C	41
4.10 Diameter globul tiap sediaan pada penyimpanan suhu ruang.....	41
4.11 Diameter globul tiap sediaan pada penyimpanan suhu 40°C	41
4.12 Grafik Sifat Alir Krim A pada minggu ke-0 dan minggu ke-8.....	42
4.13 Grafik Sifat Alir Krim B pada minggu ke-0 dan minggu ke-8.....	43
4.14 Foto krim sesudah <i>cycling test</i>	44
4.15 Foto krim sesudah uji mekanik	46
4.16 Foto mikroskopik Krim A dan B pada minggu ke-0 dengan perbesaran 400 kali.....	55
4.17 Foto mikroskopik Krim A pada suhu 4° C selama 8 minggu dengan perbesaran 400 kali	56
4.18 Foto mikroskopik Krim A pada suhu ruang selama 8 minggu dengan perbesaran 400 kali	56
4.19 Foto mikroskopik Krim A pada suhu 40° C selama 8 minggu dengan perbesaran 400 kali.....	57
4.20 Foto mikroskopik Krim B pada suhu 4° C selama 8 minggu dengan perbesaran 400 kali.....	57
4.21 Foto mikroskopik Krim B pada suhu ruang selama 8 minggu dengan perbesaran 400 kali	58
4.22 Foto mikroskopik Krim B pada suhu 40° C selama 8 minggu dengan perbesaran 400 kali	58
4.23 Kurva distribusi diameter globul Krim A dan Krim B pada minggu ke-0.....	59
4.24 Kurva distribusi diameter globul Krim A pada minggu ke-2.....	59
4.25 Kurva distribusi diameter globul Krim B pada minggu ke-2.....	59
4.26 Kurva distribusi diameter globul Krim A pada minggu ke-4.....	60
4.27 Kurva distribusi diameter globul Krim B pada minggu ke-4.....	60

4.28 Kurva distribusi diameter globul Krim A pada minggu ke-6.....	60
4.29 Kurva distribusi diameter globul Krim B pada minggu ke-6.....	61
4.30 Kurva distribusi diameter globul Krim A pada minggu ke-8.....	61
4.31 Kurva distribusi diameter globul Krim B pada minggu ke-8.....	61
4.32 Foto spektrofotometer Uv-Vis, waterbath, dan timbangan analitik	62
4.33 Foto pH-meter, sentrifugator, oven, penetrometer, homogenizer, mikroskop optik	63
4.34 Struktur kimia dari asam elegat	47
4.35 Struktur kimia dari asam galat	47
4.36 Struktur kimia dari Punicalagin.....	48



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Data toksisitas dosis tunggal DMSO pada hewan uji.....	20
3.4 Persentase komposisi bahan dalam krim.....	27
4.1 Hasil evaluasi kedua krim pada minggu ke-0.....	61
4.2 Hasil evaluasi kedua krim pada minggu ke-8.....	65
4.3 Hasil pengamatan organoleptis krim A pada suhu 4° C selama penyimpanan 8 minggu.....	66
4.4 Hasil pengamatan organoleptis krim B pada suhu 4° C selama penyimpanan 8 minggu.....	66
4.5 Hasil pengamatan organoleptis krim A pada suhu kamar selama penyimpanan 8 minggu.....	67
4.6 Hasil pengamatan organoleptis krim B pada suhu kamar selama penyimpanan 8 minggu.....	67
4.7 Hasil pengamatan organoleptis krim A pada suhu 40 ± 2° C selama penyimpanan 8 minggu.....	67
4.8 Hasil pengamatan organoleptis krim B pada suhu 40 ± 2° C selama penyimpanan 8 minggu.....	68
4.9 Hasil pengukuran pH krim selama penyimpanan 8 minggu pada suhu 4° C.....	68
4.10 Hasil pengukuran pH krim selama penyimpanan 8 minggu pada suhu kamar.....	69
4.11 Hasil pengukuran pH krim selama penyimpanan 8 minggu pada suhu 40 ± 2° C.....	69
4.12 Hasil pengukuran ukuran globul krim selama penyimpanan 8 minggu pada suhu 40 ± 2° C dalam µm.....	70

4.13 Hasil pengukuran ukuran globul krim selama penyimpanan 8 minggu pada suhu ruang dalam μm	70
4.14 Hasil pengukuran ukuran globul krim selama penyimpanan 8 minggu pada suhu 4°C dalam μm	71
4.15 Hasil pengamatan uji mekanik.....	71



LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan ukuran globul rata-rata krim A dan krim B pada minggu ke-0.....	72
2. Perhitungan ukuran globul rata-rata krim A dan krim B pada minggu ke-2.....	73
3. Perhitungan ukuran globul rata-rata krim A dan krim B pada minggu ke-4.....	75
4. Perhitungan ukuran globul rata-rata krim A dan krim B pada minggu ke-6.....	77
5. Perhitungan ukuran globul rata-rata krim A dan krim B pada minggu ke-8.....	79
6. Hasil uji fitokimia ekstrak kulit buah delima.....	81
7. Perhitungan % penghambatan tirosinase.....	82
8. Perhitungan % penghambatan BHT.....	83
9. Perhitunga viskositas Krim A pada minggu ke-0.....	84
10. Perhitungan viskositas Krim B pada minggu ke-0.....	85
11. Perhitungan viskositas Krim A pada minggu ke-8.....	86
12. Perhitungan viskositas Krim B pada minggu ke-8.....	87



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Hiperpigmentasi merupakan gangguan pigmen wajah yang paling umum. Telah diteliti bahwa peningkatan sintesis melanin secara lokal atau distribusi melanin yang tidak merata dapat menyebabkan pigmentasi lokal atau *spot*. Bahan-bahan pemutih seperti hidrokuinon, arbutin, atau asam kojat telah banyak digunakan sebagai zat aktif dalam produk kosmetik.

Ekstrak tumbuhan yang memiliki aktivitas dalam menghambat pembentukan melanin dapat menjadi pilihan yang baik untuk kosmetik pemutih wajah dan perlindungan terhadap penggelapan kulit. Selain itu, ekstrak dari tumbuhan tersebut juga memiliki efek samping yang relatif lebih kecil dibandingkan pemutih wajah dari bahan kimia. Banyak ekstrak tumbuhan seperti *Morus alba* L. (Moraceae) atau *Glycyrrhiza glabra* Linneva (Leguminosae) telah diteliti oleh Lee et al. (1997), Bernard & Berthon (2000), dan Baurin et al. (2002) sebagai agen pemutih dalam preparasi kosmetik (Ozer, Mutlu, & Kivcak, 2007).

Tirosinase merupakan enzim yang terlibat dalam proses melanogenesis dan mengkatalisis proses oksidasi tirosin menjadi dihidroksi-fenilalanin (DOPA) dan dari DOPA menjadi DOPA quinon. Lee & Kim, (1995), Prota (1996), serta Mora & Baraldi (2000) menyatakan bahwa tirosinase diketahui merupakan metaloenzim yang mengandung tembaga pada *active site*-nya, yang mengkatalisis reaksi tersebut melalui perubahan pada sisi oksidatif dari atom tembaga (Ozer, Mutlu, & Kivcak, 2007).

Buah delima mengandung senyawa-senyawa polifenol seperti asam elegat dan asam galat yang memiliki aktivitas inhibisi enzim tirosinase, serta punicalagin yang merupakan ellagitanin yang ditemukan pada delima. Asam elegat merupakan senyawa fenol yang secara alami terdapat pada berbagai sumber alam. Selain telah diketahui memiliki aktifitas antikarsinogenik,

antifibrosis, dan antioksidan, asam elegat juga memiliki afinitas terhadap tembaga pada *active site* dari tirosinase dan menghambat aktifitasnya. Shimogaki *et al.* telah melaporkan bahwa penggunaan asam elegat secara topikal dapat menekan pigmentasi yang diinduksi UV pada *guinea pig* coklat (Yoshimura, Watanabe, Kasai, Yamakosi, & Koga, 2005). Kubo *et al.* juga telah meneliti aktivitas penghambatan enzim tirosinase dari asam galat. Punicalagin merupakan ellagitanin yang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan asam elegat (Natural Biology Blog, 2009) yang dapat terhidrolisis menghasilkan asam elegat.

Pada penelitian ini, dilakukan pengujian aktifitas penghambatan oleh ekstrak kulit buah delima terhadap tirosinase secara *in vitro*, dimana ekstrak kulit buah delima diformulasikan ke dalam krim dengan dua variasi konsentrasi ekstrak.

1.2 TUJUAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kekuatan aktivitas penghambatan atau daya hambat terhadap enzim tirosinase dari ekstrak kulit buah delima dan krim yang mengandung ekstrak kulit buah delima, serta menguji stabilitas fisik krim yang mengandung ekstrak kulit buah delima tersebut.

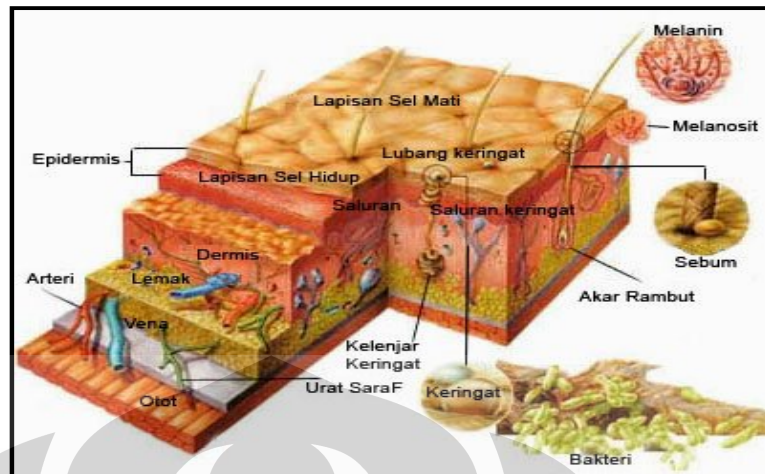
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit

Kulit merupakan salah satu organ terluas dari tubuh kita. Kulit berfungsi untuk melindungi tubuh dari zat-zat yang berbahaya bila masuk ke dalam tubuh. Luas permukaan kulit sekitar 1,6 m². Ketebalan kulit tergantung pada umur, jenis kelamin, dan lokasi kulit tersebut berada pada tubuh (Tranggono & Latifah, 2007).

Kulit manusia terdiri atas tiga lapisan. Lapisan terluar disebut epidermis. Epidermis dibentuk dari beberapa lapisan sel yang ketebalannya sekitar 0,1-0,3 mm. Dari luar ke dalam, lapisan ini disebut stratum korneum, stratum granulosum, stratum spinosum, stratum basal. Stratum basal dibentuk oleh lapisan tunggal sel-sel basal yang berkontak dengan dermis. Di antara stratum korneum dan stratum granulosum terdapat stratum lusidum yang membran selnya transparan (Tranggono, 2007). Lapisan kedua adalah dermis. Dermis dibentuk dari jaringan yang berada dibawah epidermis. Daerah dermis yang berada didekat epidermis disebut papilari dermis, dan dermis yang terletak lebih dalam disebut retikuler dermis. Tidak seperti epidermis, kebanyakan sel-sel dermis tidak berinteraksi seluler antara satu sama lain dan terdapat banyak rongga ekstraseluler. Bagian kulit yang memiliki struktur jaringan makromolekuler ini disebut matriks ekstraseluler. Dermis juga mengandung sel mast yang memproduksi histamin dan serotonin yang bertanggung jawab pada respon alergi, dan fibroblast yang disintesis dan disekresikan oleh matriks ekstraseluler. Bahan dasar dari matriks ekstraseluler adalah glukosaminoglikan atau asam mukopolisakarida, dan protein fibrous. Dermis juga mengandung pembuluh darah, saraf dan rambut, kelenjar keringat dan kelenjar minyak. Lapisan ketiga disebut lapisan subkutan yang merupakan kelanjutan dermis dan berada dibawah dermis. Lapisan subkutan mengandung banyak sel-sel adiposa. Peran utama dari lapisan subkutan adalah pengaturan suhu (Shier, p. 169).



Gambar 2. 1. Struktur kulit (Subowo, 1992)

Kulit memiliki fungsi yang cukup vital bagi tubuh kita, diantaranya (Madison, 2003; Connor, 2003):

1. Fungsi proteksi

Kulit melindungi bagian dalam tubuh manusia terhadap gangguan fisik maupun mekanik, misalnya tekanan, gesekan, tarikan, gangguan kimiawi, seperti zat-zat kimia iritan (lisol, karbol, asam atau basa kuat lainnya), gangguan panas atau dingin, gangguan sinar radiasi atau sinar ultraviolet, gangguan kuman, jamur, bakteri, atau virus. Gangguan fisik dan mekanik ditanggulangi dengan adanya bantalan subkutis, tebalnya lapisan kulit, dan serabut penunjang yang berfungsi sebagai pelindung bagian luar tubuh. Gangguan sinar ultra violet diatasi dengan sel melanin yang menyerap sebagian sinar tersebut. Gangguan kimia ditanggulangi dengan adanya lemak permukaan kulit yang berasal dari kelenjar palit kulit yang mempunyai pH 5-6,5.

2. Fungsi absorpsi

Kulit yang sehat tidak mudah menyerap air, larutan, maupun benda padat. Tetapi cairan yang mudah menguap lebih mungkin mudah diserap kulit, begitu pula zat yang larut dalam minyak. Kemampuan absorpsi kulit dipengaruhi oleh tebal tipisnya kulit, hidrasi, kelembaban udara, metabolisme, dan jenis pembawa zat yang menempel di kulit. (Connor, 2003)

3. Fungsi ekskresi

Kelenjar-kelenjar pada kulit mengeluarkan zat-zat yang tidak berguna atau sisa metabolisme dalam tubuh misalnya NaCl, urea, asam urat, ammonia, dan sedikit lemak. Sebum yang diproduksi kelenjar palit kulit melindungi kulit dan menahan penguapan yang berlebihan sehingga kulit tidak menjadi kering.

4. Fungsi pengindra (sensori)

Kulit mengandung ujung-ujung saraf sensorik di dermis dan subkutis. Badan ruffini yang terletak di dermis menerima rangsangan dingin dan rangsangan panas yang diperankan oleh badan Krause. Badan taktil meissner yang terletak di papil dermis menerima rangsangan rabaan. Demikian pula badan Merkel-Renvier yang terletak di epidermis.

5. Fungsi pengaturan suhu tubuh (termoregulasi)

Kulit melakukan peran ini dengan cara mengeluarkan keringat dan mengerutkan otot dinding pembuluh darah kulit. Pada suhu tubuh yang meningkat, kelenjar kulit mengeluarkan banyak keringat ke permukaan kulit dan dengan penguapan keringat tersebut terbang pula panas tubuh. Mekanisme termoregulasi ini diatur oleh system saraf simpatis yang mengeluarkan zat perantara asetilkolin.

6. Fungsi pembentukan pigmen (melanogenesis)

Sel pembentuk pigmen kulit (melanosit) terletak di lapisan basal epidermis. Sel ini berasal dari rigi saraf, jumlahnya 1:10 dari sel basal. Jumlah melanosit serta jumlah dan besarnya melanin yang terbentuk menentukan warna kulit. Paparan sinar matahari mempengaruhi produksi melanin. Bila paparan bertambah, produksi melanin akan meningkat.

7. Fungsi keratinisasi

Keratinisasi dimulai dari sel basal yang kuboid, bermitosis ke atas berubah bentuk menjadi lebih poligonal yaitu sel spinosum, terangkat ke atas menjadi lebih gepeng, dan bergranula menjadi sel granulosum. Kemudian sel tersebut terangkat keatas lebih gepeng, dan granula serta intinya hilang dan akhirnya sampai di permukaan kulit menjadi sel mati, protoplasmanya mengering menjadi keras, gepeng, tanpa inti yang disebut sel tanduk. Proses ini berlangsung terus-menerus dan berguna untuk fungsi rehabilitasi kulit agar dapat melaksanakan fungsinya dengan baik.

8. Fungsi produksi vitamin D

Kulit juga dapat membuat vitamin D dari bahan baku 7-dihidroksikolesterol dengan bantuan sinar matahari. Namun produksi ini masih lebih rendah dari kebutuhan tubuh akan vitamin D dari luar makanan.

Sinar ultraviolet berpenetrasi kedalam kulit dan bergantung pada panjang gelombangnya. Panjang gelombang yang lebih pendek (UVB, 290-320 nm) pada umumnya diabsorpsi pada epidermis yang mempengaruhi keratinosit. Sedangkan sinar ultra violet dengan panjang gelombang yang lebih panjang (UVA, 320-340) dapat berpenetrasi lebih dalam dan dapat berinteraksi dengan keratinosit dan dermal fibroblast (Barel, 2001, p. 331).

Sinar ultraviolet yang berpenetrasi ke dalam kulit akan mempengaruhi pembentukan melanin. Ketika kulit terpapar radiasi ultraviolet, maka terjadi peningkatan jumlah dan kegelapan dari melanin yang distimulasi oleh hormon MSH (*melanocyte-stimulating hormone*) sebagai upaya perlindungan tubuh melawan radiasi. Melanin akan mempengaruhi warna kulit (Tortora, n.d.).

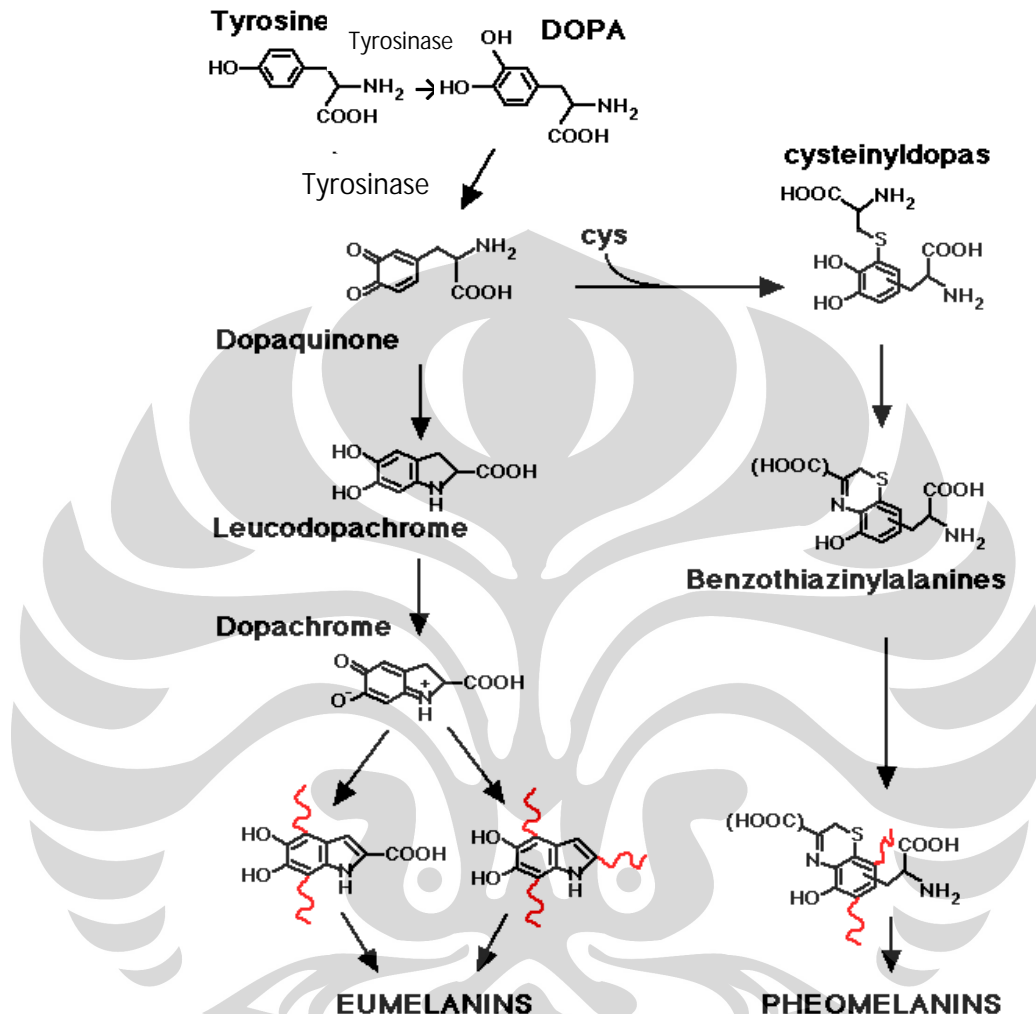
2.2 Mekanisme Pigmentasi Kulit

Warna kulit normal ditentukan oleh jumlah dan sebaran melanin yang dihasilkan oleh melanosom pada melanosit, yang secara genetik jumlahnya telah tertentu. Warna kulit juga dipengaruhi oleh ketebalan kulit, vaskularisasi kulit, kemampuan refleksi permukaan kulit serta kemampuan absorpsi epidermis dan dermis, selain itu juga ada beberapa pigmen lain seperti karoten (kuning), oksihemoglobin (merah), hemoglobin (biru) dan melanin (coklat) yang mempengaruhi warna kulit (Tranggono & Latifah, 2007).

Melanin terbentuk melalui rangkaian oksidasi dari asam amino tirosin dengan melibatkan enzim tirosinase. Tirosinase mengubah tirosin menjadi DOPA, kemudian menjadi dopakuinon. Dopakuinon diubah menjadi dopakrom melalui auto oksidasi sehingga menjadi *dihidroksi indole* (DHI) atau *dihidroksi indole carboxy acid* (DHICA) untuk membentuk eumelanin (pigmen berwarna coklat). Dengan adanya sistein atau glutation, dopakuinon diubah menjadi sisteinil dopa, reaksi ini membentuk feomelanin (pigmen berwarna kuning) (Halaban, 2003). Proporsi jumlah eumelanin dan feomelanin ini akan menentukan warna pada kulit yang bermacam-macam sehingga kulit manusia tidak hanya hitam atau putih saja .

Selain hal tersebut warna kulit seseorang dipengaruhi oleh banyak faktor, baik dari dalam tubuh maupun luar tubuh. Dari dalam tubuh misalnya faktor genetik dan hormonal, faktor genetik ini paling berpengaruh bukan karena jumlah sel melanosit yang berbeda, melainkan bergantung pada jumlah

dan bentuk melanosom. Sedangkan dari luar tubuh misalnya sinar matahari, makanan, ataupun obat. Perpaduan faktor ini akan menghasilkan warna kulit tertentu.



Gambar 2.2. Reaksi Pembentukan Melanin (Jacques, n.d.)

2.3 Delima (Dalimartha, 2006)

Delima (*Punica granatum* L.) berasal dari Timur Tengah, tersebar di daerah subtropik sampai tropik, dari dataran rendah sampai di bawah 1000 mdpl. Tumbuhan ini menyukai tanah gembur yang tidak terendam air, dengan air tanah yang tidak dalam. Delima sering ditanam dikebun-kebun sebagai

tanaman hias, tanaman obat, atau karena buahnya yang dapat dimakan. Klasifikasi ilmiah dari delima menurut Linneaus (1758) adalah sebagai berikut.

Kerajaan : Plantae
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Rosidae
Ordo : Myrtales
Famili : Lythraceae
Genus : *Punica*
Spesies : *P. granatum*

Tanaman ini berupa perdu atau pohon kecil dengan tinggi 2-5 m. Batangnya berkayu, ranting persegi, percabangan banyak, lemah, berduri pada ketiak daunnya, berwarna coklat ketika masih muda, dan hijau kotor setelah tua. Daunnya tunggal, bertangkai pendek, letaknya berkelompok. Helaian daunnya bentuknya lonjong sampai lanset, pangkal lancip, ujung tumpul, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan mengilap, panjang 1-9 cm, lebar 0,5-2,5 cm, warnanya hijau.

Bunganya tunggal bertangkai pendek, keluar dari ujung ranting atau ketiak daun yang paling atas. Biasanya terdapat satu sampai lima bunga, berwarna merah, putih atau ungu, yang berbunga sepanjang tahun. Buahnya buah buni berbentuk bulat dengan diameter 5-12 cm, warna kulitnya beragam seperti hijau keunguan, putih, coklat kemerahan, atau ungu kehitaman. Kadang terdapat bercak-bercak yang agak menonjol berwarna lebih tua. Bijinya banyak, kecil-kecil, bentuknya bulat panjang yang bersegi-segi agak pipih, keras, tersusun tidak beraturan, warnanya merah, merah jambu atau putih.



Gambar 2.3. Buah Delima (*Punica granatum L.*)
(Mediaindonesia.com, 2010)

Sari buah delima mengandung asam elegat dan asam galat yang merupakan polifenol alam pada tumbuhan, serta mengandung asam askorbat. Kulit buahnya mengandung ellagitanin punicalagin yang jika terhidrolisis akan menghasilkan asam elegat (Yoshimura, Watanabe, Kasai, Yamakosi, dan Koga, 2005; Machado, Leal, Amaral, Santos, Silva, Kuster, 2002). Asam elegat dan asam galat telah terbukti memiliki aktivitas inhibisi tirosinase yang berperan dalam proses pigmentasi kulit yang disebabkan oleh UV. Hasil uji *in vitro* mengindikasikan bahwa asam elegat menghambat melanogenesis melalui inhibisi enzim tirosinase. Inhibisi ini disebabkan oleh khelasi atom tembaga pada molekul tirosinase. Sedangkan asam galat diketahui dapat menghambat aktivitas tirosinase (Yoshimura, Watanabe, Kasai, Yamakosi, dan Koga, 2005; Kubo et al., 2003).

2.4 Krim

Menurut Farmakope Indonesia III, krim adalah sediaan setengah padat, berupa emulsi mengandung air tidak kurang dari 60% dan dimaksudkan untuk pemakaian luar (*Farmakope Indonesia*, 1979). Sedangkan menurut FI IV, krim adalah bentuk sediaan setengah padat mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Krim dibagi atas

dua macam, yaitu krim minyak dalam air dan krim air dalam minyak (*Farmakope Indonesia*, 1995).

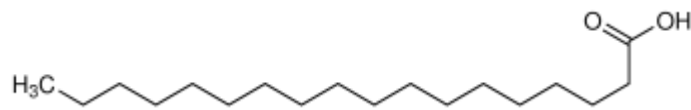
Dalam membuat formulasi sediaan krim yang baik, yang perlu diperhatikan adalah kesesuaian sifat bahan-bahan yang dipilih, yaitu kesesuaian sifat antara bahan aktif dengan bahan pembawanya (basis). Suatu krim terdiri atas bahan aktif dan bahan dasar (basis) krim. Bahan dasar terdiri dari fase minyak dan fase air yang dicampur dengan penambahan bahan pengemulsi (*emulgator*) kemudian akan membentuk basis krim. Selain itu, dalam suatu krim untuk menunjang dan menghasilkan suatu karakteristik formula krim yang diinginkan, maka sering ditambahkan bahan-bahan tambahan seperti pengawet, pengkelat, pengental, pewarna, pelembab, pewangi, dan sebagainya (Buhler, n.d.). Agar diperoleh suatu basis krim yang baik, maka pemakaian bahan pengemulsi sangat menentukan. Dalam penentuan jenis dan komposisi bahan pengemulsi (*emulgator*) yang digunakan dalam pembuatan sediaan farmasetika dan kosmetik, selain mengacu pada formula standar, seringkali ditentukan dengan *trial and error* (Lachman, 1994).

Sebagai bahan pembawa (basis), yang digunakan adalah kombinasi basis nonionik dan anionik, yaitu campuran antara trietanolamin (anionik) dengan gliseril monostearat (nonionik). Pemilihan campuran basis nonionik dan anionik dilakukan agar diperoleh suatu basis yang stabil serta bersifat netral dan tidak menyebabkan iritasi. Selain itu, digunakan juga bahan tambahan yang meliputi emolien, humektan, dan pengawet.

Profil dari bahan-bahan yang digunakan dalam formula krim pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

2.4.1 Bahan pengemulsi

a. Asam Stearat



Gambar 2.4 Rumus bangun asam stearat

(Sumber: Martindale 35)

Asam stearat dalam sediaan topikal digunakan sebagai bahan pengemulsi. Dalam pembuatan basis krim netral (anionik), asam stearat dinetralisasi dengan penambahan alkali. Bahan ini mudah larut dalam benzen, karbon tetraklorida, kloroform, dan eter; larut dalam etanol, heksan, dan propilen glikol; dan praktis tidak larut dalam air. Umumnya, bahan ini tidak toksik dan tidak menyebabkan iritasi. Titik lelehnya di atas 54⁰C. Konsentrasi yang umumnya digunakan dalam sediaan krim adalah sebesar 1-20% (*Pharmaceutical Exipient*, 2001).

b. Gliseril monostearat



Gambar 2.5. Rumus bangun gliseril monostearat

(Sumber: Martindale 35)

Gliseril monostearat dapat digunakan sebagai bahan pengemulsi nonionik, emolien, penstabil, pelarut, dan sebagai *plasticizer* dalam produk makanan, farmasetika, dan kosmetik. Bahan ini larut dalam etanol panas (95%), eter, kloroform, aseton panas, dan minyak mineral; praktis tidak larut dalam air.

Umumnya, bahan ini tidak toksik dan tidak menyebabkan iritasi. Sebagai bahan pengemulsi tunggal digunakan sebesar 5-20% dari basis krim. Tidak lelehnya adalah 55-60⁰C (*Pharmaceutical Exipient*, 2001).

c. Setil alkohol

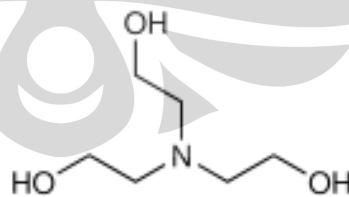


Gambar 2.6. Rumus bangun setil alkohol

(Sumber: Martindale 35)

Setil alkohol dalam krim digunakan sebagai bahan pengemulsi dan bahan pengeras dalam sediaan topikal (krim). Setil alkohol dapat meningkatkan viskositas krim dan meningkatkan kestabilan sediaan. Sebagai bahan pengeras, konsentrasi umum yang digunakan adalah 2-10% dan sebagai bahan pengemulsi digunakan konsentrasi 2-5%. Bahan ini sangat mudah larut dalam etanol 95% dan eter. Kelarutannya akan meningkat jika suhunya dinaikkan. Titik lelehnya adalah 45-52⁰C (*Pharmaceutical Exipient*, 2001).

d. Trietanolamin (TEA)



Gambar 2.7 Rumus bangun trietanolamin

(Sumber: Martindale 35)

Trietanolamin (TEA) dalam sediaan topikal dalam farmasetika digunakan secara luas dalam pembentukan emulsi. TEA digunakan sebagai bahan pengemulsi anionik. TEA sangat higroskopis (*Pharmaceutical Exipient*, 2001).

2.4.2 Bahan emolien

a. Isopropil miristat



Gambar 2.8 Rumus bangun isopropil miristat

(Sumber: Martindale 35)

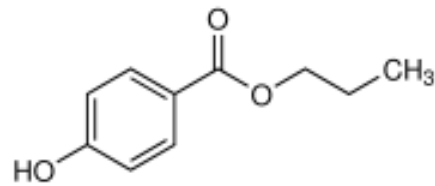
Isopropil miristat merupakan bahan emolien, yaitu bahan yang dapat memberikan rasa halus dan nyaman ketika dipakai pada kulit dan juga mengurangi penguapan air dari kulit. Isopropil miristat dapat meningkatkan penetrasi kulit. Umumnya bahan ini tidak toksik dan tidak mengiritasi. Bahan ini mudah bercampur dengan aseton, kloroform, etanol, etil asetat, lemak, toluen, dan wax; praktis tidak larut dalam gliserin, propilen glikol, dan air. Titik bekunya adalah 3⁰ C dan titik didihnya adalah 140,2⁰ C pada tekanan 2 mmHg (*Pharmaceutical Exipient*, 2001).

b. Parafin cair

Parafin dalam sediaan topikal digunakan untuk meningkatkan titik leleh atau meningkatkan pengerasan (bahan pengeras). Bahan ini larut dalam kloroform, eter, campuran minyak; sedikit larut dalam etanol; praktis tidak larut dalam etanol 95%, aseton, dan air. Parafin tidak toksik dan tidak menyebabkan iritasi (*Pharmaceutical Exipient*, 2001).

2.4.3 Bahan pengawet

a. Propil paraben

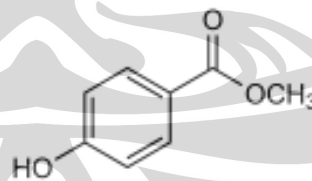


Gambar 2.9 Rumus bangun propil paraben

(Sumber: Martindale 35)

Propil paraben digunakan sebagai bahan pengawet. Aktivitas antimikroba ditunjukkan pada pH antara 4-8. Bahan ini secara luas digunakan sebagai bahan pengawet dalam kosmetik, makanan, dan produk farmasetika. Penggunaan kombinasi paraben dapat meningkatkan aktivitas antimikroba. Bahan ini sangat larut dalam aseton, eter, dan minyak; mudah larut dalam etanol dan metanol; sangat sedikit larut dalam air. Titik didihnya adalah 295°C (*Pharmaceutical Exipient*, 2001).

b. Metil paraben (Nipagin)



Gambar 2.10 Rumus bangun metil paraben

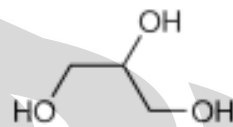
(Sumber: Martindale 35)

Metil paraben dalam formulasi farmasetika, produk makanan, dan terutama dalam kosmetik biasanya digunakan sebagai bahan pengawet. Bahan ini dapat digunakan sendiri maupun dikombinasi dengan jenis paraben lain. Efektifitas

pengawet ini berada pada rentang pH 4-8. Dalam sediaan topikal, konsentrasi yang umum digunakan adalah 0,02-0,3%. Bahan ini sukar larut dalam air, larut dalam air panas, etanol 95%, eter (1:10), dan metanol (*Pharmaceutical Exipient*, 2001).

2.4.4 Bahan Humektan

Gliserin



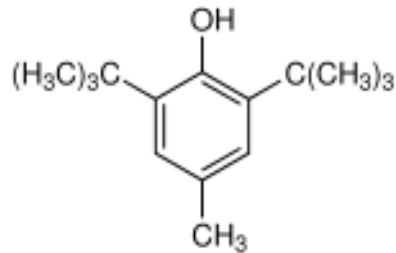
Gambar 2.11 Rumus bangun gliserin

(Sumber: Martindale 35)

Gliserin bersifat higroskopis. Gliserin biasanya ditambahkan dalam formulasi farmasetika dalam berbagai sediaan. Dalam formulasi sediaan topikal dan kosmetik, gliserin biasanya digunakan sebagai emolien, humektan, dan juga bahan pengawet. Fungsi gliserin sebagai humektan adalah untuk mempertahankan tingkat kandungan air dalam produk dengan mengurangi penguapan air selama pemakaian sehingga krim lebih mudah menyebar dan pembentukan kerak dalam wadah yang dikemas dapat dihindari. Bahan ini sedikit larut dalam aseton; praktis tidak larut dalam benzen dan kloroform; dapat bercampur dengan etanol dan metanol; praktis tidak larut dalam minyak (*Pharmaceutical Exipient*, 2001).

2.4.5 Antioksidan

Butilhidroksitoluen



Gambar 2.12 Rumus bangun butilhidroksitoluen

(Sumber: Martindale 35)

Butilhidroksitoluen berbentuk padatan kristalin atau serbuk dengan warna putih atau kuning pucat. Senyawa ini banyak digunakan pada formulasi sebagai antioksidan. Senyawa ini terutama digunakan untuk memperlambat atau mencegah oksidasi dari fase lemak dan minyak. Pada sediaan topikal, bahan ini biasa digunakan sebesar 0,0075-0,1%. BHT mudah larut dalam aseton, benzen, metanol, dan parafin cair. Walaupun telah dilaporkan adanya beberapa reaksi efek samping pada kulit, BHT tetap dinyatakan sebagai zat noniritan dan tidak mensensitasi jika digunakan dengan konsentrasi yang biasa digunakan sebagai antioksidan (*Pharmaceutical Exipient*, 2001).

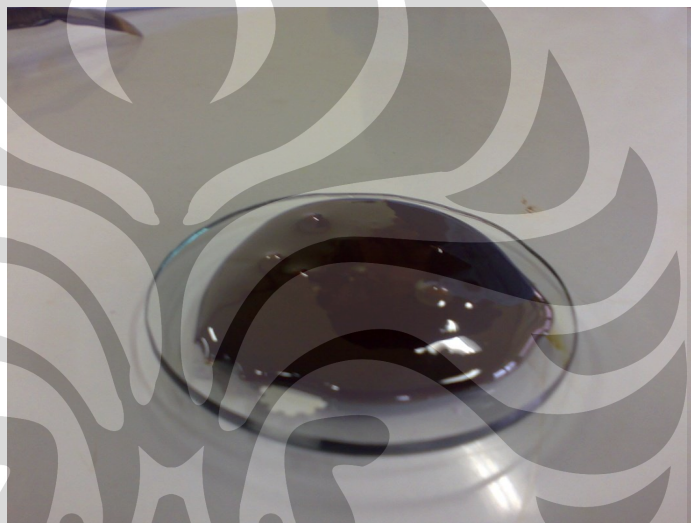
2.4.6 Aquadest

Aquadest adalah air murni yang diperoleh dengan cara penyulingan. Air murni dapat diperoleh dengan cara penyulingan, pertukaran ion, osmosis terbalik, atau dengan cara yang sesuai. Air murni lebih bebas dari kotoran maupun mikroba. Air murni digunakan dalam sediaan-sediaan yang membutuhkan air, terkecuali untuk parenteral, aquadest tidak dapat digunakan.

2.4.7 Bahan Aktif

a. Ekstrak kulit buah delima

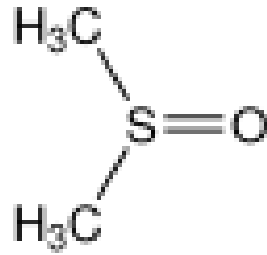
Dalam penelitian ini, krim dibuat dengan menggunakan ekstrak kulit buah delima sebagai bahan aktif. Ekstrak yang dipakai merupakan ekstrak kental yang didapatkan melalui maserasi kulit buah delima dengan pelarut etanol 96%. Kulit buah delima dihaluskan dan dimaserasi dengan etanol 96%, lalu etanol diuapkan hingga didapatkan massa yang kental.



Gambar 2.13 Foto ekstrak kulit buah delima

b. Dimetil sulfoksida (DMSO)

Dalam penelitian ini, digunakan DMSO sebagai pelarut dari ekstrak kulit buah delima. DMSO merupakan cairan tak berwarna, tak berbau, dan tidak toksik yang higroskopis. Cairan ini memiliki titik didih 189°C dan titik leleh $16-19^{\circ}\text{C}$.



Gambar 2.14 Rumus bangun dimetil sulfoksida
(Sumber: Martindale 35)

DMSO dapat melarutkan berbagai zat organik maupun anorganik dan dapat larut dalam air serta dalam pelarut-pelarut organik seperti eter alkohol, pelarut terklorinasi, dan aromatis (Arkema, nd). Penggunaan DMSO pada kulit dalam dosis tinggi dapat menyebabkan rasa panas yang tidak nyaman, gatal, dan eritema. DMSO juga memiliki efek meningkatkan penetrasi obat-obat topikal. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, DMSO memiliki tingkat toksisitas yang rendah. Tabel berikut menunjukkan data keamanan dari DMSO pada kulit yang dinyatakan dalam dosis tunggal LD₅₀. LD₅₀ adalah dosis dalam gram DMSO per kilogram bobot tubuh yang menyebabkan kematian hewan uji sebanyak 50% dibawah kondisi standar.

Tabel 2.1 Data toksisitas dosis tunggal DMSO pada pada kulit hewan uji

Hewan Uji	Toksisitas Dosis Tunggal DMSO dalam LD ₅₀ (g/kg)
Mencit	50
Tikus	40
Guinea pig	-
Ayam	-
Kucing	-
Anjing	>11
Monyet	>11

(Sumber: Gaylord Chemical Company, 2007)

2.5 Stabilitas krim

Stabilitas didefinisikan sebagai kemampuan suatu produk obat atau kosmetik untuk bertahan dalam spesifikasi yang diterapkan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan untuk menjamin identitas, kekuatan, kualitas, dan kemurnian produk. Sedangkan definisi sediaan kosmetik yang stabil adalah suatu sediaan yang masih berada dalam batas yang dapat diterima selama periode waktu penyimpanan dan penggunaan, dimana sifat dan karakteristiknya sama dengan yang dimilikinya pada saat dibuat (Djajadisastra, 2004).

Ketidakstabilan fisika dari sediaan ditandai dengan adanya pemucatan warna atau munculnya warna, timbul bau, perubahan, atau pemisahan fase, pecahnya emulsi, pengendapan suspensi atau *caking*, perubahan konsistensi, pertumbuhan kristal, terbentuknya gas, dan perubahan fisik lainnya. Kestabilan dari suatu emulsi ditandai dengan tidak adanya penggabungan fase dalam, tidak adanya *creaming*, dan memberikan penampilan, bau, warna, dan sifat-sifat fisik lainnya yang baik (Martin, Swarbick, dan Cammarata, 1983).

Ketidakstabilan fisik suatu emulsi atau suspensi dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor yang mempengaruhi kestabilan kimia dari bahan pengemulsi (*emulgator*), *suspending agent*, antioksidan, pengawet, dan bahan aktif (Djajadisastra, 2004).

Gejala-gejala yang menjadi indikator terjadinya kerusakan emulsi antara lain (Djajadisastra, 2004; Martin, Swarbick, dan Cammarata, 1983):

1. *Creaming*, merupakan proses pada emulsi dengan partikel yang kurang rapat cenderung ke atas permukaan sehingga terjadi pemisahan menjadi dua emulsi.
2. Flokulasi, merupakan penggabungan globul yang bergantung pada gaya tolak menolak elektrostatis (*zeta potential*).
3. Koalesen atau penggumpalan, merupakan proses dimana tetesan dua fase internal mendekat dan berkombinasi membentuk partikel yang lebih besar.
4. Inversi, merupakan peristiwa dimana fase eksternal menjadi fase internal atau sebaliknya.

Untuk memperoleh nilai kestabilan suatu sediaan farmasetika atau kosmetik dalam waktu yang singkat, maka dapat dilakukan uji stabilitas dipercepat. Pengujian ini dimaksudkan untuk mendapatkan informasi yang diinginkan pada waktu sesingkat mungkin dengan cara menyimpan sampel pada kondisi yang dirancang untuk mempercepat terjadinya perubahan yang biasanya terjadi pada kondisi normal. Jika hasil pengujian suatu sediaan pada uji dipercepat selama 3 bulan diperoleh hasil yang stabil, hal itu menunjukkan bahwa sediaan tersebut stabil pada penyimpanan suhu kamar selama setahun. Pengujian yang dilakukan pada uji dipercepat antara lain:

a. *Elevated temprature*

Setiap kenaikan suhu 10^0 C akan mempercepat reaksi 2 sampai 3 kalinya, namun secara praktis cara ini agak terbatas karena

kenyataannya suhu yang jauh di atas normal akan menyebabkan perubahan yang tidak pernah terjadi pada suhu normal.

b. *Elevated humidities*

Umumnya uji ini dilakukan untuk menguji kemasan produk. Jika terjadi perubahan pada produk dalam kemasan karena pengaruh kelembaban, maka hal ini menandakan bahwa kemasannya tidak memberikan perlindungan yang cukup terhadap atmosfer.

c. *Cycling test*

Uji ini dilakukan untuk menguji produk terhadap kemungkinan mengalami kristalisasi dan untuk menguji emulsi dan krim sebagai indikator kestabilan emulsi. Uji ini dapat mendorong pertumbuhan partikel dan bisa menunjukkan keadaan yang mungkin terjadi di masa yang akan datang. *Cycling test* dilakukan dengan cara menaruh sediaan pada suhu 4° C selama 24 jam lalu dikeluarkan dan kemudian dipindahkan ke dalam oven dengan suhu 40° C selama 24 jam. Perlakuan ini adalah satu siklus dan percobaan ini diulang sebanyak enam siklus.

d. Uji mekanik (uji sentrifugasi)

Uji mekanik juga merupakan salah satu indikator kestabilan krim. Krim disentrifugasi dengan kecepatan 3750 rpm selama 5 jam dan hasilnya ekuivalen dengan efek gravitasi selama 1 tahun. Uji mekanik ini menunjukkan *shelf life* sediaan selama 1 tahun. (Lachman, 1994)

Parameter-parameter yang digunakan dalam uji kestabilan fisik adalah:

a. Organoleptis atau penampilan fisik

Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengamati adanya perubahan atau pemisahan emulsi, timbulnya bau atau tidak, dan perubahan warna.

b. Sifat aliran (viskositas)

Viskositas suatu sediaan dipengaruhi oleh zat pengental, surfaktan, proporsi fase terdispersi, dan ukuran partikel. Penurunan viskositas dipengaruhi oleh peningkatan ukuran globul (Eckmann et al., 2000). Secara umum kenaikan viskositas dapat meningkatkan kestabilan sediaan (berdasarkan Hukum Stokes) (Martin, Swarbrick, Cammarata, 1983).

c. Ukuran partikel

Krim merupakan suatu sistem yang mempunyai energi bebas pada permukaan partikel terdispersinya. Partikel tersebut berenergi tinggi dan cenderung mengelompok kembali. Perubahan dalam ukuran partikel rata-rata atau distribusi ukuran globul merupakan tolak ukur penting untuk mengevaluasi emulsi, dimana pada emulsi keruh diameter globul berkisar antara 0,1-10 μm . Ukuran partikel merupakan indikator utama kecenderungan terjadinya *creaming* atau *breaking*. Terdapat hubungan antara ukuran partikel dengan viskositas, dimana kenaikan viskositas akan meningkatkan stabilitas sediaan (berdasarkan hukum Stokes). Semakin tinggi viskositas, maka semakin kecil ukuran partikel dan semakin besar volume rasio (Martin, Swarbrick, dan Cammarata, 1983).

d. Pemeriksaan pH

Krim sebaiknya memiliki pH yang sesuai dengan pH kulit, yaitu 4,5-6,5 karena jika krim memiliki pH yang terlalu basa maka dapat menyebabkan kulit menjadi bersisik, sedangkan jika pH terlalu asam maka yang terjadi adalah menimbulkan iritasi kulit (Djajadisastra, 2004).

e. Pengukuran konsistensi

Konsistensi adalah karakteristik fisik yang penting pada suatu sediaan semi solid. Pengukuran konsistensi untuk sediaan kosmetik seperti krim dilakukan dengan menggunakan penetrometer bentuk *cone*.

2.6 Uji Penghambatan Tirosinase dengan Pengukuran Dopakrom (Lintner & Sederma, 2010)

Pengukuran aktivitas pemutih kulit dapat dilakukan dengan tiga cara. Pertama, uji *in vivo* dengan mengukur warna kulit dan jumlah melanin menggunakan instrumen pada kulit yang telah diberikan sediaan. Kedua, uji *ex vivo* dengan menginkubasi kultur epidermis manusia dengan senyawa pemutih lalu mengukur banyaknya *dendrite* yang terbentuk. Ketiga, uji *in vitro* dengan mengukur produk dopakrom. Cara ketiga merupakan cara yang paling mudah dilakukan karena tidak menggunakan manusia sebagai subjek atau kultur epidermis.

Prinsip kerja dari metode *in vitro* ini berdasarkan pada adanya produk dopakrom yang merupakan hasil oksidasi L-DOPA oleh enzim tirosinase. Senyawa pemutih kulit akan berkompetisi dengan L-DOPA tersebut untuk berikatan dengan enzim tirosinase. Kompetisi tersebut akan mengurangi jumlah produk dopakrom yang akan dihasilkan sehingga aktivitas penghambatan senyawa pemutih dapat dihitung. Dopakrom yang terbentuk akan berwarna jingga tua hingga merah sehingga dapat diukur serapannya

dengan cara kolorimetri dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 475 nm. Persen inhibisinya dihitung dengan rumus berikut:

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

DK = dopakrom yang terbentuk tanpa adanya inhibitor

DK' = dopakrom yang terbentuk dengan adanya inhibitor

A = serapan larutan blanko negatif dengan enzim

B = serapan larutan blanko negatif tanpa enzim

C = serapan larutan sampel dengan enzim

D = serapan larutan sampel tanpa enzim

Aktivitas penghambatan dari sampel uji ditentukan dengan IC_{50} , yaitu konsentrasi dimana sampel uji menghambat aktivitas enzim tirosinase sebesar 50%. Kemudian, dari nilai IC_{50} tersebut sampel uji akan dinyatakan ke dalam kriteria berikut ini (Moon, Yim, Song, Lee, & Hyun, 2010):

Kriteria	Nilai IC (<i>inhibitory concentration</i>)
Aktivitas penghambatan tinggi	$IC_{50} < 50$ ppm
Aktivitas penghambatan rendah	Inhibisi < 60% pada konsentrasi 500 ppm
Tidak memiliki aktivitas penghambatan	Inhibisi < 30% pada konsentrasi 500 ppm

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasetika dan Laboratorium Kimia Kuantitatif, Departemen Farmasi, Universitas Indonesia dari bulan Oktober sampai dengan Nopember 2010.

3.2 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis (Jasco V-530, Jepang), pH meter tipe 510 (Eutech Instrument, Singapura), mikroskop optik (Nikon model Eclipse E 200, Jepang), kamera digital (Canon Power Shot A470, Jepang), homogenizer (Omni-Multimix Inc., Malaysia), penetrometer (Herzoo, Jerman), sentrifugator (Kubota 5100, Jepang), oven (Memmert, Jerman), penangas air (Memmert, Hongkong), timbangan analitik tipe 210-LC (Adam, Amerika Serikat), dan alat-alat gelas.

3.3 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tirosinase dari jamur (Sigma, Amerika Serikat), ekstrak kulit buah, levodopa (Chengdu Co.Ltd, China), dikalium hidrogen fosfat, kalium dihidrogen fosfat, natrium hidroksida (Mallinckrodt, Swedia), metanol (Merck, Indonesia), DMSO, asam stearat, setil alkohol, isopropil miristat, trietanolamin, paraffin cair, gliseril monostearat, metilparaben, propilparaben, butilhidroksitoluen, dan gliserin.

3.4 Cara Kerja

3.4.1. Pembuatan Krim

Krim dibuat dalam 2 formula yang berbeda berdasarkan konsentrasi ekstrak yang digunakan sebagai zat aktif, yaitu krim yang

mengandung 0,5% ekstrak dan krim yang mengandung 1% ekstrak. Dibuat juga krim blanko negatif dengan komposisi basis yang sama, tanpa ekstrak.

Perhitungan persentase komposisi bahan masing-masing krim dapat dilihat seperti pada tabel berikut :

Tabel 3.4 Persentase komposisi bahan dalam krim

No.	Bahan	Konsentrasi (%)	
1	Ekstrak kulit buah delima	0,5	1
2	DMSO	0,625	1,25
3	Asam stearat	5	5
4	Setil alkohol	2,5	2,5
5	Paraffin cair	2	2
6	Isopropil miristat	3	3
7	Metil paraben	0,2	0,2
8	Propil paraben	0,02	0,02
9	Trietanolamin	0,7	0,7
10	Gliseril monostearat	2	2
11	Gliserin	8	8
12	BHT	0,05	0,05
13	Aquadest	Ad 100	Ad 100

Formula yang telah ditentukan tersebut lalu dibuat dengan cara menyiapkan aquadest sesuai formulasi, sebagian dicampurkan ekstrak yang sebelumnya telah dilarutkan dengan DMSO. Sisa aquades dipanaskan hingga 70°C untuk melarutkan trietanolamin, gliserin, dan metil paraben. Bahan-bahan yang larut dalam fase minyak yang

meliputi asam stearat, setil alkohol, isopropil miristat, propilparaben, butilhidroksitoluen, dan gliseril monostearat dipanaskan pada suhu 70°C hingga melebur. Campuran fase minyak yang telah bercampur dengan fase air lalu diaduk dengan homogenizer pada suhu 70°C dengan kecepatan 3000 rpm. Setelah basis krim terbentuk, basis dicampur dengan larutan ekstrak hingga homogen. Krim yang dihasilkan kemudian disimpan dalam wadah tidak tembus cahaya.

3.4.2. Evaluasi Fisik Sediaan Krim

Evaluasi dari masing-masing sediaan dilakukan untuk pengamatan organoleptis, homogenitas, pengukuran pH, sifat aliran, konsistensi, dan diameter globul.

a. Pengamatan organoleptis

Pengamatan organoleptis dilakukan dengan memeriksa warna, bau dan adanya pemisahan fase pada krim yang dibuat.

b. Pengamatan homogenitas

Pengamatan homogenitas dilakukan dengan mengamati sebaran partikel krim yang dijepit dengan dua kaca objek. dari sebaran tersebut dapat dilihat apakah krim yang dibuat homogen atau tidak.

c. Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan pada sampel yang diencerkan dengan air, dengan menggunakan alat pH meter yang terlebih dahulu dikalibrasi dengan larutan dapar standar pH 7 dan 4. Pengukuran ini dilakukan untuk mengetahui cocok tidaknya krim jika diberikan pada kulit, krim yang terlalu asam atau terlalu basa akan menimbulkan iritasi pada kulit.

d. Penentuan sifat alir

Sifat alir ditentukan dengan mengukur viskositas dengan viskometer Brookfield dimana nomor spindel yang sesuai dipasang pada alat kemudian dicelupkan dalam beaker glass yang berisi krim. Kecepatan alat dipasang beragam yaitu 2 rpm; 4 rpm; 10 rpm; 20 rpm; dan kemudian dibalik menjadi 20 rpm; 10 rpm; 4 rpm; dan 2 rpm. Pembacaan skala dengan mengamati jarum merah di posisi stabil pada setiap kecepatan. Sifat alir dapat diperoleh dengan membuat kurva *shearing stress* berbanding dengan *rate of shear*. Pemeriksaan sifat alir dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-8 dengan penyimpanan pada suhu kamar.

e. Penentuan konsistensi

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

f. Pengukuran diameter globul rata-rata

Pengukuran ini dilakukan dengan memfoto krim dengan menggunakan mikroskop optik pada perbesaran 40 atau 1000 kali sehingga dapat dihitung ukuran globul emulsi dan distribusi ukurannya.

3.4.3. Uji stabilitas fisik

a. Metode *Cycling Test*

Sampel krim disimpan pada suhu $4\pm 2^\circ\text{C}$ selama 24 jam, lalu dipindahkan ke dalam oven yang bersuhu $40\pm 2^\circ\text{C}$ selama 24 jam (satu siklus). Uji dilakukan sebanyak 6 siklus kemudian diamati adanya pemisahan fase dan atau adanya kristalisasi.

b. Suhu tinggi ($40\pm 2^\circ\text{C}$)

Sampel krim disimpan pada suhu tinggi ($40\pm 2^\circ\text{C}$) selama 8 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, homogenitas), pengukuran pH, dan pengukuran diameter globul rata-rata, untuk setiap 2 minggu.

c. Suhu kamar ($27\text{-}30^\circ\text{C}$)

Sampel krim disimpan pada suhu kamar ($27\text{-}30^\circ\text{C}$) selama 8 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, homogenitas), pengukuran pH, pengukuran diameter globul rata-rata, untuk setiap 2 minggu. Pengukuran viskositas dilakukan pada minggu ke-0 dan ke-8.

d. Suhu rendah ($4\pm 2^\circ\text{C}$)

Sampel krim disimpan pada suhu rendah ($4\pm 2^\circ\text{C}$) selama 8 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, homogenitas), pengukuran pH, pengukuran diameter globul rata-rata, untuk setiap 2 minggu.

e. Uji mekanik (*Centrifugal test*)

Sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dimasukkan ke dalam alat sentrifugator pada kecepatan 3750 rpm selama 5 jam. Perlakuan tersebut sama dengan perlakuan gaya gravitasi selama 1 tahun.

3.4.4. Uji Aktivitas Pemutih secara *In Vitro*

a. Pembuatan dapar fosfat 50 mM dengan pH 6,8

Untuk menyiapkan 200 ml dapar fosfat 50 mM, kalium hidrogen fosfat ditimbang seksama sebanyak 1,36 gram, kemudian dilarutkan dengan aquades 100 ml. Larutan tersebut ditambahkan larutan NaOH 2N sebanyak 11 ml dan ditambahkan aquades hingga hampir mencapai 200 ml. pH larutan diukur dan ditetaskan NaOH hingga pH mencapai 6,8.

b. Pembuatan larutan L-DOPA 2,5 mM

L-DOPA ditimbang seksama sebanyak 24,6 mg, kemudian dilarutkan dengan dapar fosfat dalam labu ukur sampai 50,0 ml. Pada saat preparasi hingga uji penghambatan tirosinase dilakukan, larutan ini dihindarkan dari cahaya.

c. Pembuatan larutan tirosinase

Tirosinase ditimbang seksama sebanyak 1,27 mg kemudian dilarutkan dengan dapar fosfat pH 6,8 dalam labu ukur sampai 10,0 ml. Tirosinase yang terlarut memiliki konsentrasi 496 unit/ml. Setelah preparasi hingga uji penghambatan tirosinase, larutan ini disimpan dalam suhu rendah (2-8° C).

d. Penyiapan sampel ekstrak

Ekstrak ditimbang secara seksama, kemudian dilarutkan dalam metanol 50% dan dibuat pengenceran 100 ppm, 200 ppm, 400 ppm, dan 600 ppm.

e. Penyiapan sampel krim

Sampel krim ditimbang sebanyak 1 g dan ditambahkan 10,0 ml metanol 50%. Campuran tersebut diaduk dan diultrasonikasi selama 30 menit. Kemudian dispersi tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 30 menit, diambil aliquotnya dan dibuat pengenceran dengan metanol 50%.

f. Uji penghambatan Tirosinase

Pengukuran aktivitas penghambatan tirosinase dilakukan dengan metode yang diajukan oleh Kubo and Kinst-Hori (1998).

Empat tabung reaksi disiapkan (A, B, C, D), kemudian pada tiap tabung dipipet 1,0 ml larutan L-DOPA 2,5 mM dan 1,8 ml dapar fosfat 50 mM (pH 6,8) dan diinkubasi selama 10 menit. Setelah diinkubasi, ditambahkan pada tiap tabung:

Tabung A : 0,1 ml dapar fosfat dan 0,1 ml larutan enzim tirosinase

Tabung B : 0,2 ml dapar fosfat

Tabung C : 0,1 ml larutan sampel dan 0,1 ml larutan enzim tirosinase

Tabung D: 0,1 ml dapar fosfat dan 0,1 ml larutan sampel

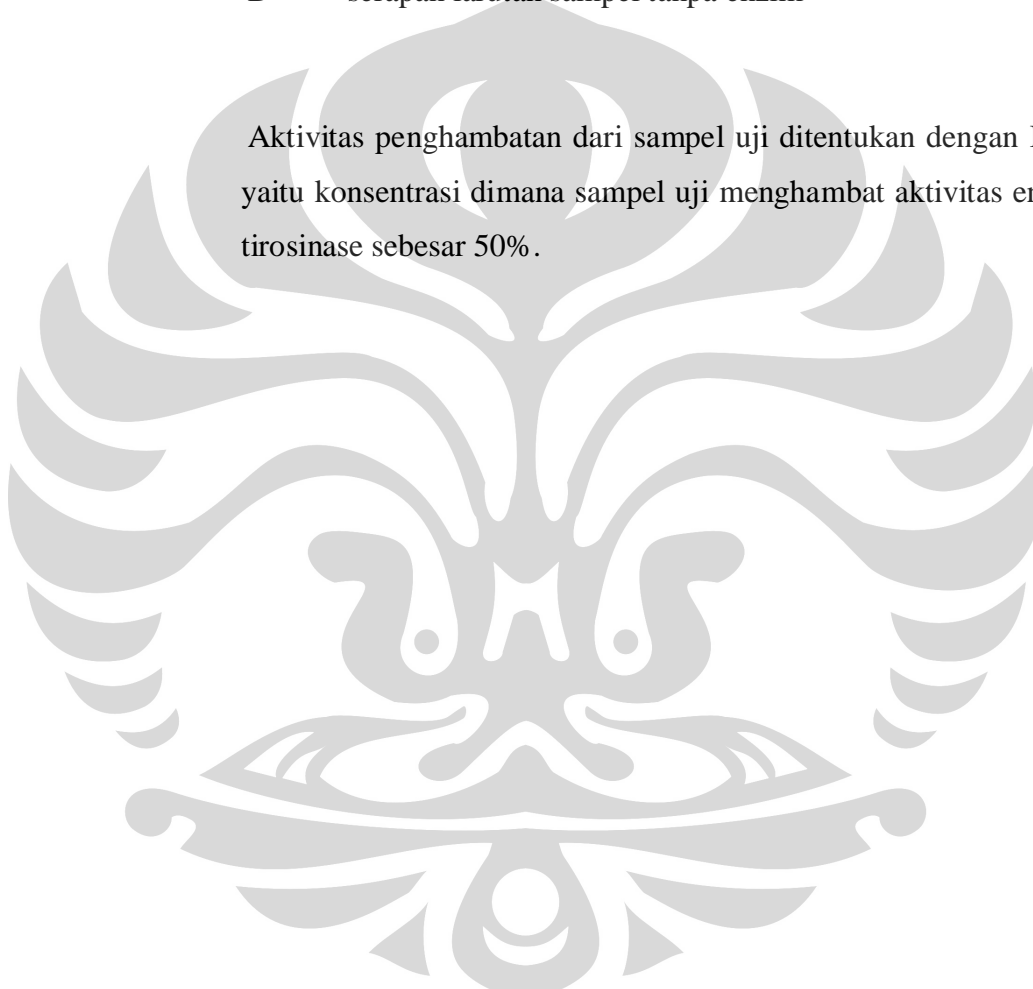
Tabung-tabung tersebut kemudian diinkubasi selama 25 menit dan diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 475 nm.

Nilai aktivitas penghambatan enzim tirosinase diperoleh dengan menghitung penghambatan dopakrom yang terbentuk menggunakan rumus sebagai berikut:

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

- A = serapan larutan blanko negatif dengan enzim
- B = serapan larutan blanko negatif tanpa enzim
- C = serapan larutan sampel dengan enzim
- D = serapan larutan sampel tanpa enzim

Aktivitas penghambatan dari sampel uji ditentukan dengan IC_{50} , yaitu konsentrasi dimana sampel uji menghambat aktivitas enzim tirosinase sebesar 50%.

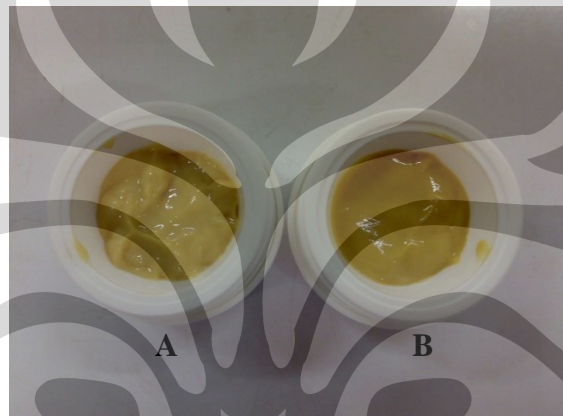


BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Evaluasi Krim

Hasil dari evaluasi kedua krim pada awal penyimpanan (minggu ke-0) diperoleh sifat krim yang lembut, mudah menyebar, membentuk konsistensi setengah padat, dan cukup nyaman ketika dioleskan pada kulit. Hasil evaluasi awal kedua krim ini dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan Tabel 4.1.



Gambar 4.1. Foto hasil pengamatan organoleptis krim A dan B minggu ke-0

Warna krim yang dihasilkan sesuai dengan ekstrak yang ditambahkan. Formula yang mengandung ekstrak kulit buah delima 0,5% berwarna coklat kekuningan, dan formula yang mengandung ekstrak kulit buah delima 1% berwarna coklat kekuningan yang agak lebih gelap dibandingkan dengan krim yang mengandung ekstrak 0,5%. Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa semua krim homogen dengan ditandai semua partikel dalam kaca objek terdispersi merata.

Kedua formula krim yang dihasilkan tidak mengalami perubahan bau. Perubahan bau yang disebut juga ketengikan dapat disebabkan oleh oksigen dari udara yang mengoksidasi lemak atau minyak. Selain itu efek dari cahaya

merupakan salah satu katalisator reaksi oksidasi. Kombinasi keduanya dapat mempercepat oksidasi lemak. Formula yang dibuat tidak mengandung lemak-lemak yang mempunyai ikatan rangkap yang dapat teroksidasi. Oleh karena itu formula yang diuji tidak menunjukkan perubahan bau atau ketengikan.

Krim yang mengandung ekstrak 0,5% memiliki pH 6,6, sedangkan krim yang mengandung ekstrak 1% memiliki pH 6,47. Kedua krim menunjukkan pH ke arah asam karena kandungan ekstrak kulit buah delima yang berupa senyawa-senyawa polifenol bersifat asam lemah. Sifat asam ini bahkan lebih kuat dari kebasaaan yang dimiliki oleh basis yang digunakan dalam formula (*vanishing cream*) sehingga membawa pH krim ke arah asam.

Konsistensi yang dimiliki kedua krim yaitu krim A (formula dengan ekstrak kulit buah delima 0,5%) 348×10^{-1} mm, sedangkan krim B (formula dengan ekstrak kulit buah delima 1%) 368×10^{-1} mm. Pada angka penetrasi tersebut, sediaan krim terasa mudah dioleskan dan disebarkan di kulit. Konsistensi yang dihasilkan dipengaruhi oleh banyaknya bahan penambah konsistensi seperti setil alkohol yang merupakan alkohol rantai panjang berbentuk padat, semakin banyak setil alkohol yang dipakai maka semakin tinggi konsistensinya. Banyaknya setil alkohol yang digunakan jumlahnya sama, baik pada krim A maupun krim B. Adanya perbedaan pada konsistensi kedua krim tersebut tampaknya disebabkan oleh jumlah penggunaan ekstrak kulit buah delima. Makin banyak ekstrak kulit buah delima yang digunakan, angka penetrasi dari sediaan krim terlihat makin besar.

Nilai viskositas pada pengukuran dengan viskometer dengan kecepatan 20 rpm dari krim A adalah 15000 cps, sedangkan dari krim B adalah 8000 cps. Dari hasil yang diperoleh ini, dapat dikatakan bahwa konsentrasi ekstrak kulit buah delima mempengaruhi viskositas sediaan krim. Makin tinggi konsentrasi ekstrak kulit buah delima dalam sediaan krim, maka makin rendah nilai viskositasnya. Hasil pengukuran viskositas dan sifat alir dapat dilihat pada Lampiran 9 sampai Lampiran 12. Sifat laju alir dari kedua krim yaitu pseudoplastis tiksotropik dimana krim memiliki konsistensi lebih rendah pada setiap *rate of shear* sehingga menandakan adanya pemecahan

struktur yang tidak terbentuk kembali dengan segera jika *stress* tersebut dihilangkan atau dikurangi. Hal ini merupakan sifat yang diperlukan pada krim dimana konsistensinya yang tinggi tetapi dapat dengan mudah dioleskan.

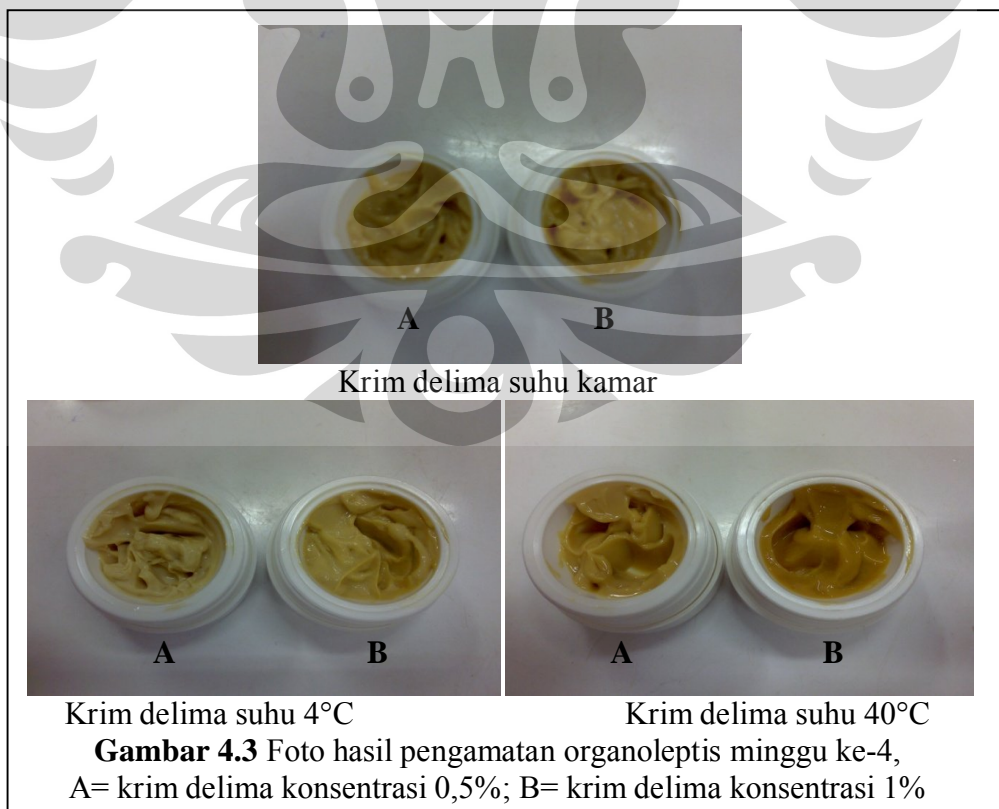
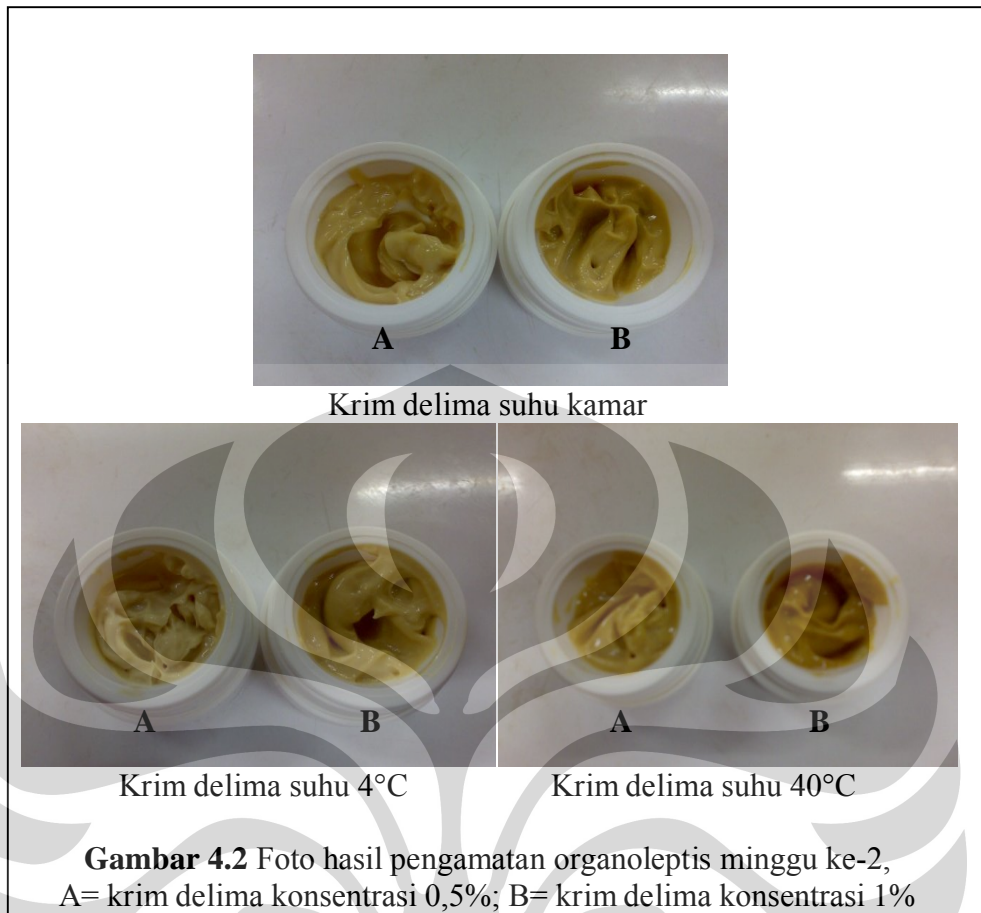
Krim A memiliki diameter globul rata-rata sebesar 2,243 μm , sedangkan krim B memiliki diameter globul rata-rata sebesar 2,258 μm . Hasil tersebut memenuhi persyaratan ukuran diameter globul karena berada dalam kisaran 0,1-10 μm (Martin, Swarbick, & Cammarata, 1983). Bentuk dan ukuran globul ini dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti pengadukan dan jumlah emulgator yang digunakan.

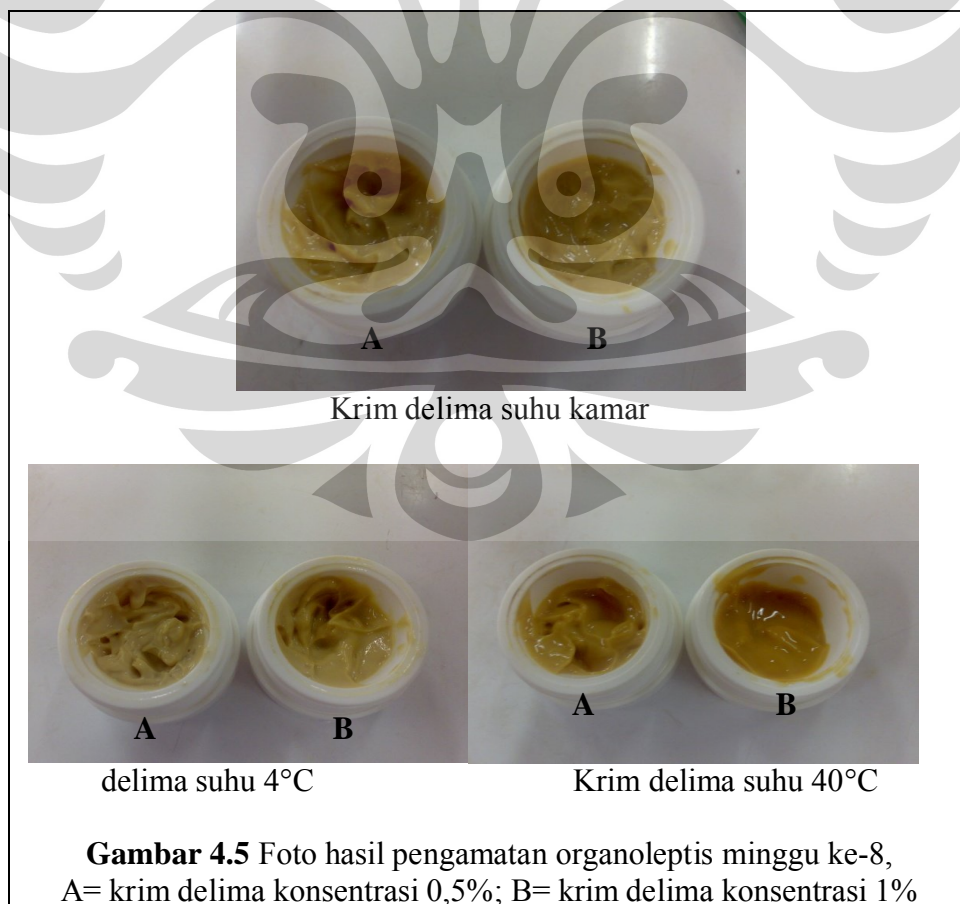
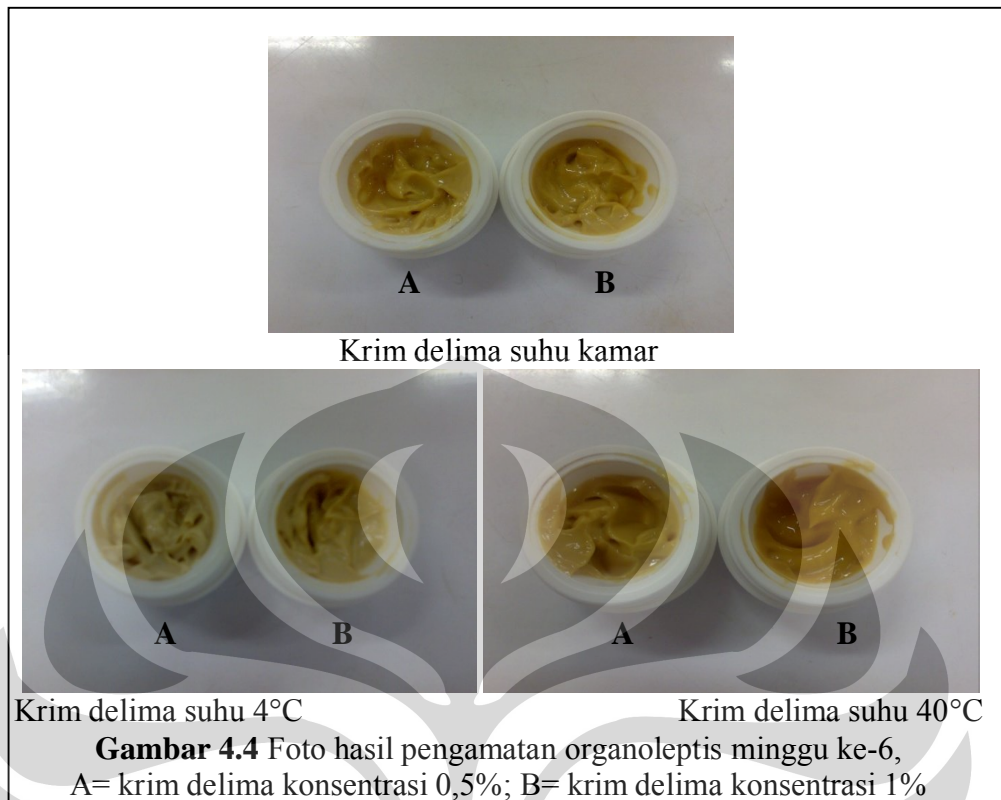
4.2 Hasil Uji Stabilitas

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

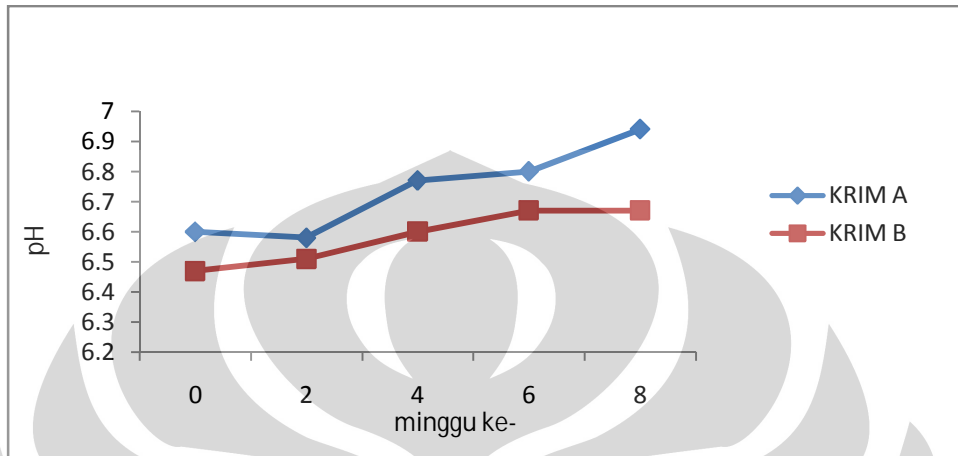
Hasil pengamatan organoleptis pada ketiga krim yang diuji pada penyimpanan dalam suhu $4\pm 2^\circ\text{C}$, suhu kamar, dan suhu $40\pm 2^\circ\text{C}$ selama 8 minggu dapat dilihat pada Gambar 4.2 sampai Gambar 4.5 dan Tabel 4.3 sampai dengan Tabel 4.8. Harga pH ketiga krim pada penyimpanan tiga suhu yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 4.9 sampai Tabel 4.11.

Pada penyimpanan dalam tiga suhu yang berbeda dari minggu awal (minggu ke-0) hingga minggu terakhir (minggu ke-8), tidak terlihat adanya pemisahan fase minyak dan fase air. Masing-masing krim pada penyimpanan suhu $4\pm 2^\circ\text{C}$ mengalami perubahan warna menjadi sedikit lebih muda, pada penyimpanan suhu kamar mengalami perubahan warna menjadi sedikit lebih tua, dan pada penyimpanan suhu $40\pm 2^\circ\text{C}$ mengalami perubahan warna yang cukup signifikan menjadi lebih tua terutama formula yang mengandung 1% ekstrak kulit buah delima. Hal ini disebabkan oleh adanya faktor suhu yang mempercepat reaksi kimia karena setiap kenaikan suhu sebesar 10°C dapat mempercepat reaksi kimia 2 sampai 3 kalinya.

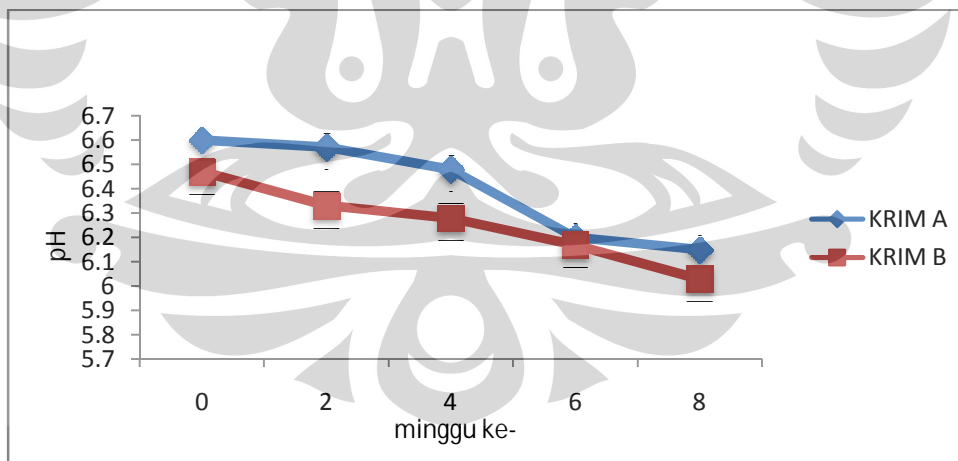




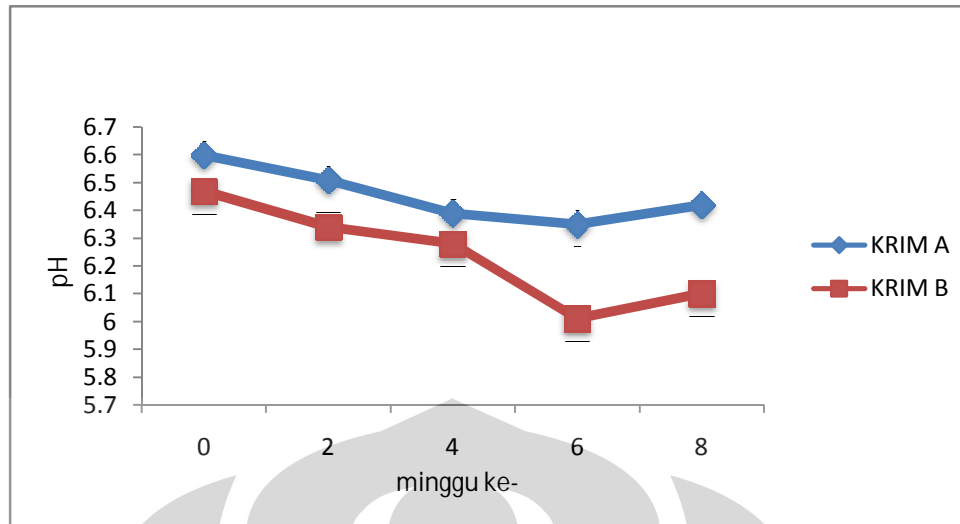
Hasil penyimpanan pada suhu 4° C kedua krim selama 8 minggu memperlihatkan pH yang cenderung meningkat, sedangkan pada suhu kamar dan 40±2° C, pH krim cenderung mengarah ke pH asam.



Gambar 4.6 Grafik pH Krim A dan B pada penyimpanan di suhu 4°C selama 8 minggu

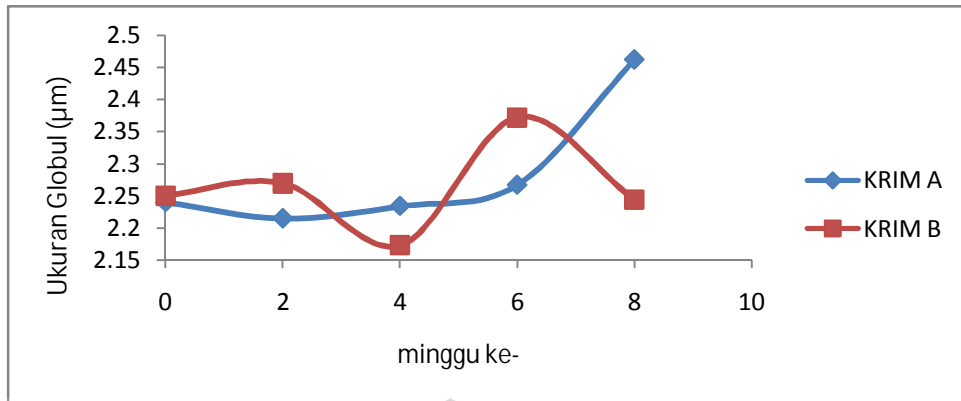


Gambar 4.7 Grafik pH Krim A dan B pada penyimpanan di suhu ruang selama 8 minggu

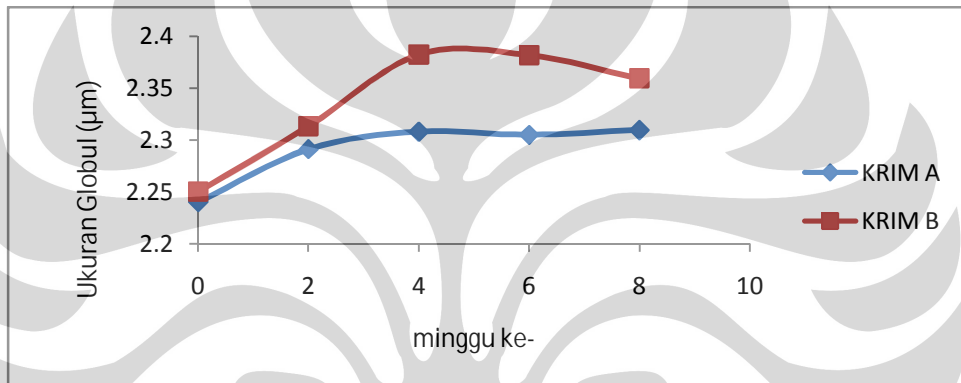


Gambar 4.8 Grafik pH Krim A dan B pada penyimpanan di suhu 40°C selama 8 minggu

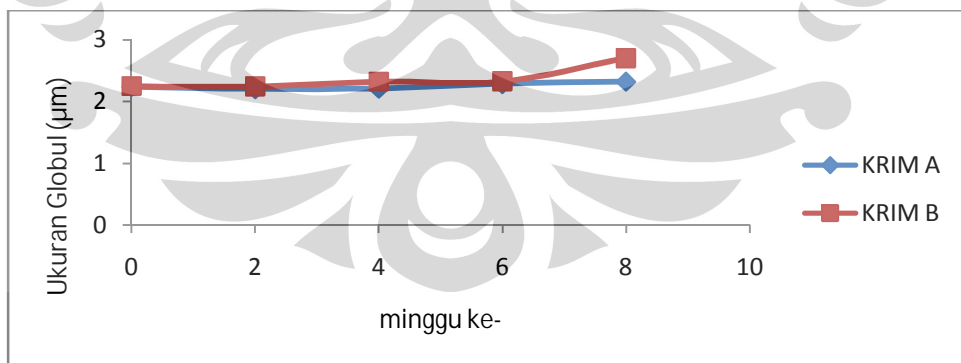
Hasil pengamatan ukuran diameter globul dari kedua krim pada penyimpanan suhu 4° C, suhu ruang, dan suhu 40° C selama 8 minggu dapat dilihat pada Tabel 4.12 sampai Tabel 4.14. Diameter globul dari tiap krim pada penyimpanan di tiap suhu secara umum memperlihatkan kecenderungan menjadi bertambah besar, walaupun pada beberapa kali pengamatan perubahannya tampak tidak beraturan. Krim merupakan suatu sistem yang mempunyai energi bebas permukaan pada partikel terdispersinya, dan secara termodinamika bersifat tidak stabil. Partikel tersebut berenergi tinggi dan cenderung untuk menggabungkan diri kembali untuk mengurangi permukaan total dan memperkecil energi bebas permukaannya. Hal ini disebabkan karena kecenderungan suatu benda untuk menuju ke bentuk dan keadaan yang stabil. Pengadukan pada saat pembuatan krim sebenarnya merupakan suatu transfer energi kepada krim dan krim tersebut akan mempunyai kecenderungan untuk mengelompokkan diri agar mencapai tingkat energi terendah (*ground state*). Oleh karena itu ukuran globul pada krim selalu cenderung bertambah setiap minggunya.



Gambar 4.9 Diameter globul tiap sediaan pada penyimpanan suhu 4°C

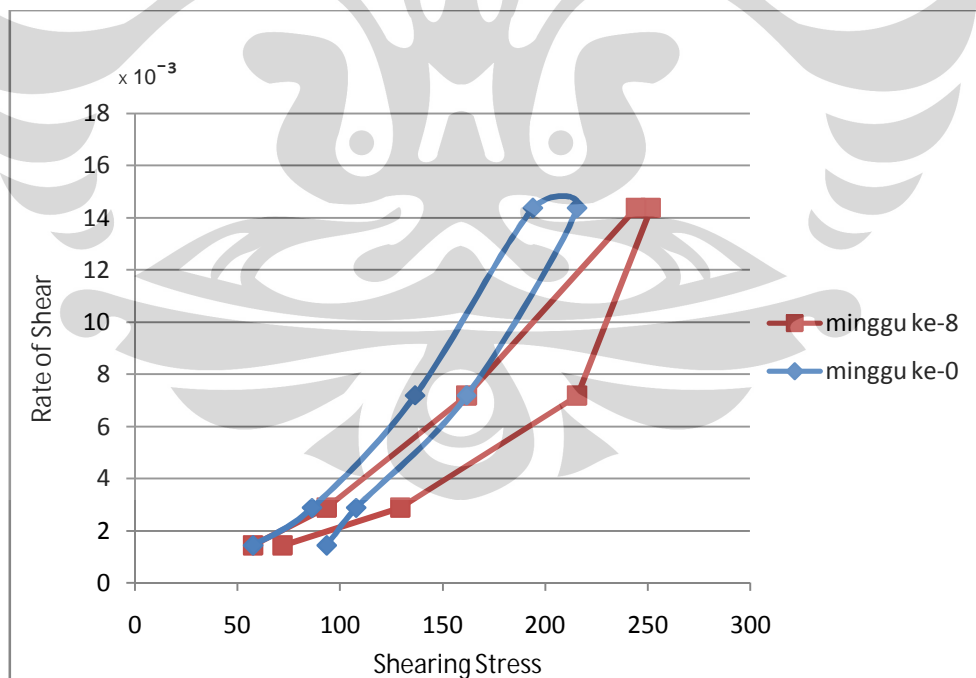


Gambar 4.10 Diameter globul tiap sediaan pada penyimpanan suhu ruang

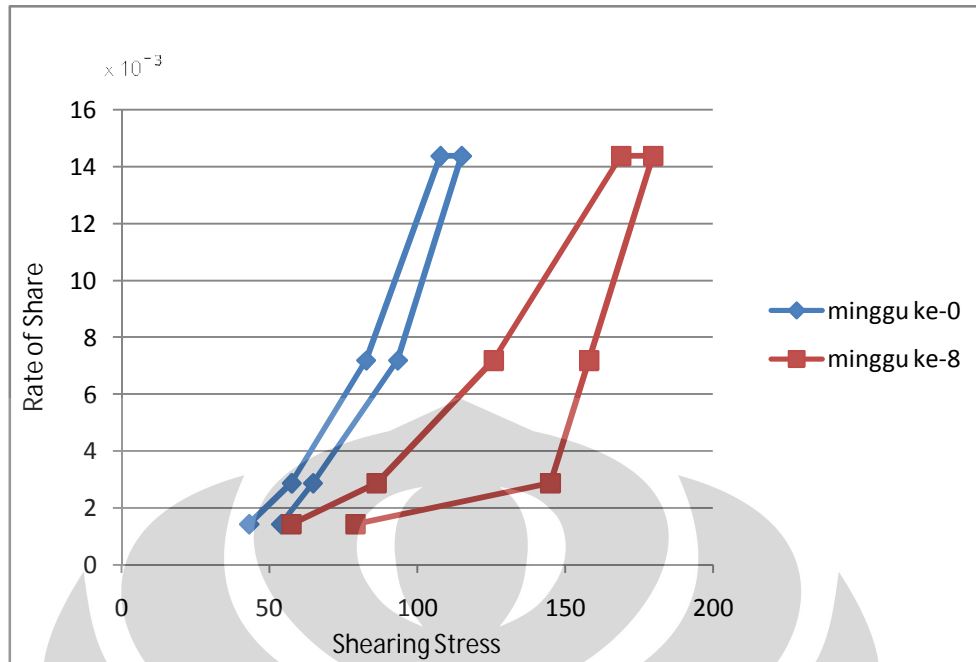


Gambar 4.11 Diameter globul tiap sediaan pada penyimpanan suhu 40°C

Hasil pengukuran viskositas masing-masing krim pada minggu awal (minggu ke-0) dan setelah penyimpanan selama 8 minggu pada suhu kamar dapat dilihat pada Lampiran 9 sampai Lampiran 12, dan grafik sifat alir dari masing-masing krim pada minggu ke-0 dan setelah penyimpanan selama 8 minggu dapat dilihat pada Gambar 4.11 sampai 4.12. Hasil pengukuran pada minggu awal dan setelah penyimpanan selama 8 minggu menunjukkan tidak terjadinya perubahan sifat aliran karena kedua krim tetap bersifat pseudoplastis tiksotropik walaupun terjadi kenaikan viskositas. Hal ini disebabkan karena ada peristiwa tiksotropik saat krim tersebut baru dibuat pada minggu ke-0. Pada proses pembuatan, krim tersebut mengalami pengadukan sehingga saat baru terbentuk krim tersebut memiliki viskositas yang lebih rendah dibandingkan dengan viskositas krim yang telah didiamkan selama 8 minggu, dimana krim tersebut menjadi lebih kental karena krim telah kembali pada struktur yang seharusnya.



Gambar 4.12 Grafik sifat alir Krim A pada minggu ke-0 dan minggu ke-8



Gambar 4.13 Grafik sifat alir Krim B pada minggu ke-0 dan minggu ke-8

Pemeriksaan konsistensi kedua formula krim dilakukan dengan menggunakan penetrometer pada minggu ke-0 dan minggu ke-8 pada penyimpanan di suhu ruang. Pemeriksaan ini bertujuan untuk memeriksa konsistensi sediaan sehingga dapat diketahui apakah sediaan yang dihasilkan termasuk semipadat yang mudah diaplikasikan kepada kulit atau tidak. Hasil penetrasi setelah penyimpanan 8 minggu dari krim A adalah 346×10^{-1} mm, sedangkan dari krim B adalah 362×10^{-1} . Dari hasil pemeriksaan konsistensi kedua krim, terlihat bahwa masing-masing sediaan mengalami sedikit penurunan angka kedalaman penetrasi kerucut yang menunjukkan adanya peningkatan konsistensi pada minggu ke-8 jika dibandingkan dengan minggu ke-0. Hal ini berhubungan dengan peristiwa tiksotropik yang tampak pada peningkatan viskositas pada minggu ke-8. Dengan bertambahnya viskositas krim, konsistensi krim juga meningkat sehingga angka kedalaman penetrasi kerucut dari penetrometer berkurang.

4.2.2 Pengamatan *cycling test*

Cycling test dilakukan untuk menguji produk terhadap kemungkinan mengalami kristalisasi atau berawan dan untuk menguji emulsi sebagai indikator kestabilan emulsi. Perbedaan antara *cycling test* dengan *freeze thaw test* yaitu siklus pada *cycling test* dilakukan dalam suhu 4°C dan suhu tinggi 40±2°C sedangkan pada *freeze thaw* dilakukan pada suhu beku (-4°C) dan suhu tinggi (40°C).

Uji ini dilakukan dengan menyimpan masing-masing sediaan pada suhu 4° C selama 24 jam kemudian dipindahkan ke dalam oven pada suhu 40° ± 2° C selama 24 jam. Perlakuan ini disebut satu siklus, dan siklus ini dilakukan sebanyak 6 kali untuk memperjelas perubahan yang terjadi. Setelah sediaan didinginkan akan terjadi pelepasan air pada sediaan, namun jika film pengemulsi dapat bekerja kembali di bawah tekanan yang diinduksi oleh kristal es sebelum koalesens terjadi maka sistem emulsi tersebut akan stabil pada sediaan krim.

Kedua formula yang diuji menunjukkan hasil yang stabil karena tidak menunjukkan adanya pemisahan fase antara fase minyak dan fase air. Hasil pengamatan secara fisik dari kedua krim setelah *cycling test* dapat dilihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.14 Foto krim sesudah *cycling test*

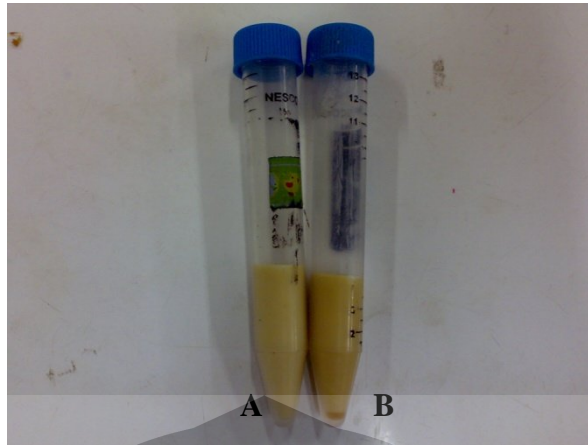
A= krim delima konsentrasi 0,5%; B= krim delima konsentrasi 1%

4.2.3 Pengamatan uji mekanik

Pada kedua formula, dilakukan uji mekanik (sentrifugasi) dengan alat sentrifugator dengan kecepatan 3750 rpm selama 5 jam dimana hasilnya dapat dilihat pada Gambar 4.7.

Uji mekanik atau uji sentrifugasi juga merupakan salah satu indikator kestabilan fisik sediaan semipadat. Hukum Stokes menunjukkan bahwa pembentukan krim merupakan suatu fungsi gravitasi dan kenaikan gravitasi dapat mempercepat pemisahan fase. Efek gaya sentrifugal yang diberikan oleh sentrifugator dengan kecepatan 3750 rpm selama 5 jam dianggap setara dengan efek gaya gravitasi yang akan diterima krim dalam penyimpanan selama setahun.

Pada uji ini, krim A tampak stabil secara fisik yang ditandai dengan tidak adanya pemisahan antara fase air dan fase minyak. Pada krim B tampak adanya sedikit pemisahan antara fase air dan fase minyak, yang berarti bahwa formula krim B tidak tahan terhadap efek gravitasi selama satu tahun. Hal ini kemungkinan disebabkan karena penggunaan emulgator yang kurang cukup untuk menjaga krim B agar tahan terhadap perlakuan yang diberikan (berupa gaya sentrifugal yang setara dengan gaya gravitasi selama setahun). Ekstrak kulit buah delima yang digunakan sebagai bahan aktif dalam krim mengandung senyawa-senyawa yang merupakan fase minyak di dalam krim. Dengan lebih besarnya konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam krim B (dengan komposisi basis yang sama pada krim A dan krim B), maka jumlah fase minyak dalam krim B otomatis akan lebih banyak dibandingkan dengan krim A. Penggunaan jumlah emulgator yang sama dengan krim A tampaknya tidak dapat menjaga krim B dari kerusakan akibat perlakuan yang diberikan.



Gambar 4.15 Foto krim sesudah uji mekanik

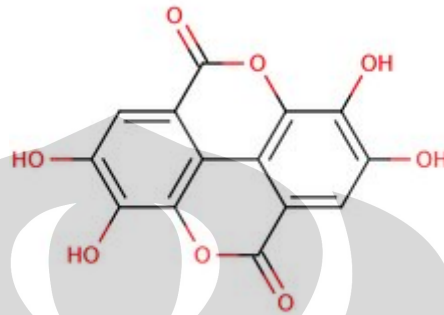
A= krim delima konsentrasi 0,5%; B= krim delima konsentrasi 1%

4.3 Hasil Uji penghambatan tirosinase

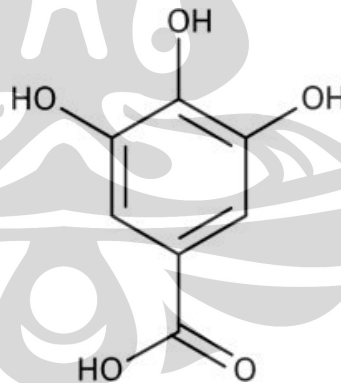
Tirosinase yang juga dikenal sebagai polifenol oksidase (PPO) adalah monooksigenase yang mengandung Cu dimana enzim ini berperan sebagai katalisator pada dua reaksi yang berbeda dalam pembentukan melanin. Pertama, reaksi hidroksilasi L-tirosin (monofenol) menjadi L-DOPA (difenol) dan oksidasi L-DOPA menjadi dopaquinon (senyawa kuinon) (Kim & Uyama, 2005; Kubo et al., 2003). Dopaquinon yang terbentuk akan bereaksi spontan membentuk dopakrom.

Untuk melakukan reaksi enzimatik ini pemilihan substrat sangat penting karena akan sangat berpengaruh pada hasil pengukuran. Substrat yang ada dalam dua reaksi tersebut yaitu L-tirosin dan L-DOPA. Pemilihan L-tirosin sebagai substrat akan menyebabkan produk enzimatik yang dihasilkan yaitu L-DOPA dan dopakrom. Sedangkan panjang gelombang pengukuran adalah pada 475 nm sehingga L-DOPA yang dihasilkan tidak akan terukur serapannya dan hanya dopakrom yang terukur. Oleh karena itu, L-DOPA dipilih sebagai substrat agar produk yang dihasilkan hanya dopakrom saja.

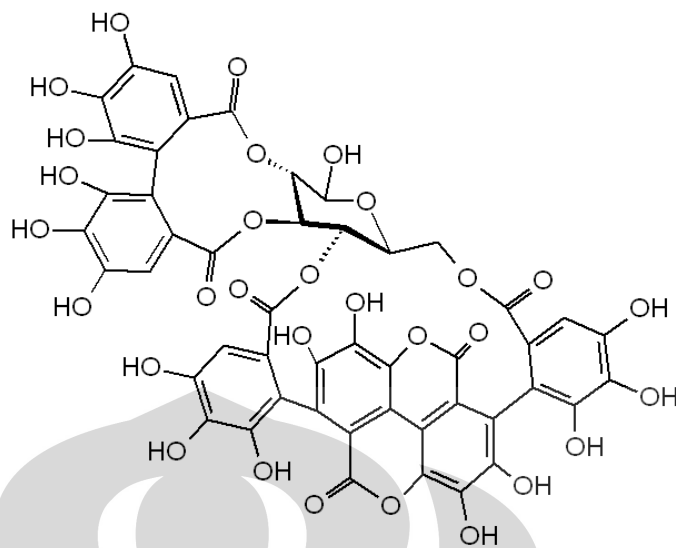
Ekstrak kulit buah delima memiliki aktivitas sebagai penghambat enzim tirosinase karena mengandung asam elegat, asam galat, dan punicalagin. Dalam percobaan kali ini, ekstrak tersebut diformulasikan ke dalam krim pencerah kulit sebagai zat aktif.



Gambar 4.34 Struktur kimia dari asam elegat



Gambar 4.35 Struktur kimia dari asam galat



Gambar 4.36 Struktur kimia dari Punicalagin

Asam elegat (penghambat) dapat berikatan dengan atom Cu pada enzim. Menurut literatur, *active site* yang akan berikatan dengan Cu pada tirosinase adalah pada posisi difenol (Kubo & Kinst-Hori, 1999). Ikatan yang terbentuk antara L-DOPA atau asam elegat dengan Cu pada tirosinase yaitu ikatan khelat yang akan mengoksidasi substrat dan penghambatnya. Produk yang dihasilkan dari substrat yaitu dopakrom yang berwarna jingga tua sampai merah akan berkurang dengan adanya penghambatan ini.

Dari percobaan secara *in vitro* yang telah dilakukan, terlihat bahwa aktivitas inhibisi yang terjadi bergantung pada konsentrasi dari ekstrak yang digunakan sebagai inhibitor. Makin tinggi konsentrasi yang digunakan, maka makin besar hambatan yang terjadi. Hasil yang didapatkan adalah ekstrak kulit buah delima memiliki aktivitas penghambatan dengan nilai IC_{50} sebesar 1658,33 ppm, sekitar hampir 140 kali lebih lemah jika dibandingkan dengan kekuatan penghambatan oleh *Morus alba*, yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 11,9 ppm (Moon, Yim, Song, Lee, & Hyun, 2010) dan juga jauh lebih lemah daripada kojic acid yang memiliki IC_{50} sebesar 8,9 ppm (Rangkadilok, Sitthimonchai, Worasuttayangkurn, Mahidol,

Ruchirawat, Satayavivad, n.d.). Angka IC_{50} sebesar itu membuat ekstrak tersebut tergolong tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap tirosinase (inhibisi < 30% pada konsentrasi 500 ppm) (Moon, Yim, Song, Lee, & Hyun, 2010).

Dalam percobaan ini kemudian dilakukan pengujian aktivitas penghambatan dari ekstrak kulit buah delima secara *in vitro* yang diformulasikan ke dalam krim dengan konsentrasi ekstrak 0,5% (krim A) dan 1% (krim B). Hasil pengukuran menunjukkan krim A memiliki IC_{50} sebesar 357,52 ppm, sedangkan krim B memiliki IC_{50} sebesar 485,77 ppm, dimana keduanya dihitung berdasarkan konsentrasi ekstrak dalam masing-masing krim. Angka-angka tersebut menunjukkan adanya penurunan nilai IC_{50} bila dibandingkan dengan sampel ekstrak sendiri, yang membuatnya tergolong memiliki aktivitas penghambatan terhadap tirosinase, dengan diketahui basis *vanishing cream* sendiri tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap tirosinase (Ozer, Mutlu, dan Kivcak, 2007).

Penurunan IC_{50} dari ekstrak yang telah diformulasikan ke dalam krim kemungkinan terjadi karena terjadinya hidrolisis dari punicalagin pada proses pembuatan krim. Punicalagin merupakan polifenol yang terdapat dalam jumlah dominan dalam buah delima, yang diketahui merupakan ellagitanin yang dapat terhidrolisis. Punicalagin yang terhidrolisis akan menghasilkan galagildilakton, asam elegat, dan glukosa (Machado, Leal, Amaral, dos Santos, da Silva, dan Kuster, 2002), dimana asam elegat dalam berbagai penelitian telah diketahui dapat menghambat aktivitas enzim tirosinase. Kemungkinan inilah yang menyebabkan sediaan krim yang mengandung ekstrak kulit buah delima memiliki aktivitas penghambatan tirosinase yang lebih kuat daripada ekstraknya sendiri hingga sekitar 2 kalinya. Namun pada pengamatan di minggu ke-7, aktivitas kedua krim terlihat sangat menurun. Pada minggu ke-7, nilai IC_{50} dari krim A meningkat hingga 1013,61 ppm sedangkan krim B meningkat hingga 1007,87 ppm. Ini menunjukkan bahwa pada

penyimpanan hingga minggu ke-7 terjadi penurunan aktivitas sebesar 2 sampai hampir 3 kali dibandingkan aktivitas pada minggu awal. Hal ini mungkin disebabkan oleh kurangnya BHT yang digunakan dalam sediaan atau BHT mungkin tidak cukup kuat untuk melindungi zat-zat aktif dalam sediaan karena komponen-komponen fenolik dalam zat aktif mungkin lebih reaktif.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

5.1.1 Ekstrak kulit buah delima memiliki nilai IC_{50} terhadap tirosinase sebesar 1658,33 ppm sehingga tergolong tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap tirosinase, sedangkan sediaan krim dengan ekstrak kulit buah delima sebagai zat aktif memiliki IC_{50} terhadap tirosinase yang lebih kecil yaitu sebesar 357,52 ppm untuk krim yang mengandung ekstrak 0,5% dan 485,77 ppm untuk krim yang mengandung ekstrak 1%, sehingga keduanya tergolong memiliki aktivitas terhadap tirosinase.

5.1.2 Krim yang mengandung ekstrak kulit buah delima 0,5% dan 1% menunjukkan kestabilan secara fisik, namun masa simpan krim yang mengandung ekstrak 1% tidak mencapai satu tahun karena tidak tahan terhadap gaya gravitasi selama setahun.

5.2 Saran

Ekstrak kulit buah delima yang telah diolah dapat dijadikan pilihan di masa mendatang sebagai bahan pemutih kulit karena memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim tirosinase. Sebaiknya dilakukan pengembangan pada formulasi sediaan yang menggunakan ekstrak kulit buah delima karena aktivitasnya dapat menurun dengan cepat di dalam sediaan. Analisis kimia juga sebaiknya dilakukan untuk mengetahui kadar asam elegat, asam galat, punicalagin, serta asam elegat yang dihasilkan dari hidrolisis punicalagin. Uji secara *in vivo* sebaiknya juga dilakukan agar diketahui besarnya efikasi jika digunakan pada manusia.

DAFTAR ACUAN

- Barel, Andre O. (2009). Handbook of Cosmetic Science and Technology (3rd.ed). United States of America: Marcel Dekker,2001:311
- Connor, Steven. (2003). The Book of Skin. New York: Cornell University Press, 176.
- Dalimartha, Setiawan. (4 April, 2006). Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Oktober 4, 2010.
<http://www.pdpersi.co.id/?show=detailnews&kode=1034&tbl=alternatif>
- Djajadisastra, J. (2004). Cosmetic Stability. Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Depok: Seminar Setengah Hari HIKI.
- Eckmann, B., et al. (2000). Prediction of Emulsion Properties from Binder/Emulsifier Characteristic. Eurasphalt & Eurobitume Congress. Barcelona.
- Farmakope Indonesia. (1979). Farmakope Indonesia Edisi III. Departemen Kesehatan RI: Jakarta.
- Farmakope Indonesia. (1995). Farmakope Indonesia Edisi IV. Departemen Kesehatan RI: Jakarta.
- Halaban R, Hebert DN, Fisher E.D. (2003). Biology of Melanocytes. Dalam Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, FM Irwin, Austen KF, Goldsmith Lowell A, Katz S I, editor. *Dermatology in General Medicine* 6th edition. New York: Mc-Graw Hill.
- Handbook of. (1986). Handbook of Pharmaceutical Exipient 2nd Edition. Washington: American Pharmaceutical Association.

- Jacques, S. (n.d.). Optical Absorption of Melanin. November 22, 2010.
<http://omlc.ogi.edu/spectra/melanin/index.html>
- Kim, Y.-J, Uyama, H. (2005). Tyrosinase Inhibitors from Natural and Synthetic Sources: Structure, Inhibition Mechanism and Perspective for the Future. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.* 62(2005) 1707-1723.
- Kubo et al. (2003). Tyrosinase Inhibitors from Galls of *Rhus javanica* Leaves and Their Effects on Insects. *Z. Naturforsch*, 58c, 719-725.
- Lachman, L. (1994). Teori dan Praktek Farmasi Industri. Edisi ke-3. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia, UI Press.
- Lintner, Karl & Sederma France. (n.d). Substantions of Skin Whitening Claims. Oktober 3, 2010.
www.incosmeticsasia.com/files/pres_wkshp1_substantiation_of_skin_whitening_claims.pdf
- Machado, Thelma de B., Leal, Ivana C. R., Amaral, Ana Claudia F., dos Santos, Katia. R. N., da Silva, Marlei G., & Kuster, Ricardo M. (2002). Antimicrobial Ellagitannin of *Punica granatum* Fruits. *J. Braz. Chem. Soc.* 13 vol, 5. September 2002.
- Madison KC. (2003). Barrier function of the skin: "la raison d'être" of the epidermis. *J. Invest. Dermatol.* 121(2),231.
- Martin A, Swarbick J, Cammarata A. (1983). Farmasi Fisik. Jilid II edisi ke-3 terj. Dari Physical Pharmacy oleh Joshita. Jakarta: UI Press.
- Moon J-Y, Yim E-Y, Song G, Lee NH, Hyun C-G. (2010). Screening of elastase and tyrosinase inhibitory activity from Jeju Island plants. *EurAsia J BioSci* 4, 6, 41-53.

Natural Biology. (2009, April 14). Phyto-nutrients Chemical Properties & Definitions. November 22, 2010.

http://www.naturalbiology.net/blogq604-phyto_Nutrients_Chemical_Properities_Definitions.aspx

Pharmaceutical Exipient. (2001). Pharmaceutical Exipient 2001. Washington: American Pharmaceutical Association.

Rangkadilok, N., Sitthimonchai, S., Worasuttayangkurn, L., Mahidol, C., Ruchirawat, M., & Satayavivad, J. (n.d.). Evaluation of Free Radical Scavenging and Antityrosinase Activities of Standarized Longan Fruit Extract.

Sabri, Luknis & Hastono, Sutanto Priyo. (2008). Statistik Kesehatan. Jakarta: PT RajaGrafindo Persada.

Shier, david. Human anatomy & physiology.USA: Mc GrawHill. USA:169


Tortora,Gerald. Principles of Anatomy and physiologi. New York: Harper & Row Publisher.

Tranggono,RIS. & Fatma Latifah. (2007). *Buku Pegangan Ilmu pengetahuan Kosmetik*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama 2007:81-87.

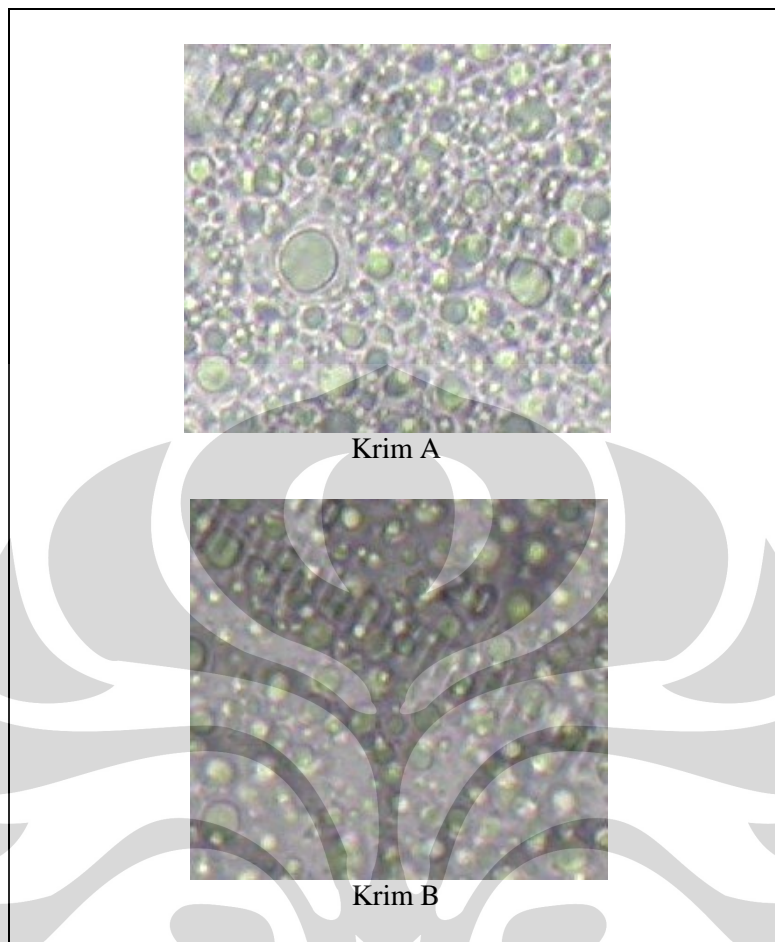
Yoshimura, M., Watanabe, Y., Kasai, K., Yamakosi, J., & Koga, T. (2005). Inhibitory Effect of an Ellagic Acid-Rich Pomegranate Extract on Tyrosinase Activity and Ultraviolet-Induced Pigmentation. *Biosci. Biotech. Bioch.*, 69 (12), 2368-2373.

Ozer, O., Mutlu, B., & K1vcak, B. (2007). Antityrosinase Activity of Some Plant Extracts and Formulations Containing Ellagic acid. *Pharm Biol*, 45, 519-524.

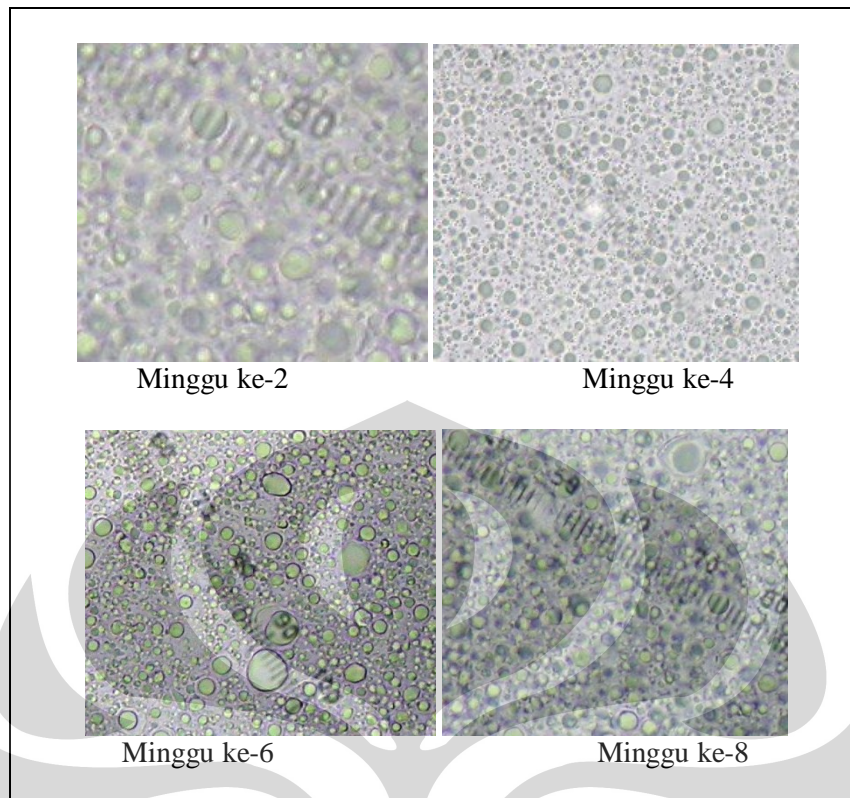
Gaylord Chemical Company (2007, Oktober). *Dimethyl Sulfoxide (DMSO) Health and Safety Information*. Desember 18, 2010. <http://www.gaylordchemical.com/bulletins/bulletin106b/Bulletin106B.pdf>



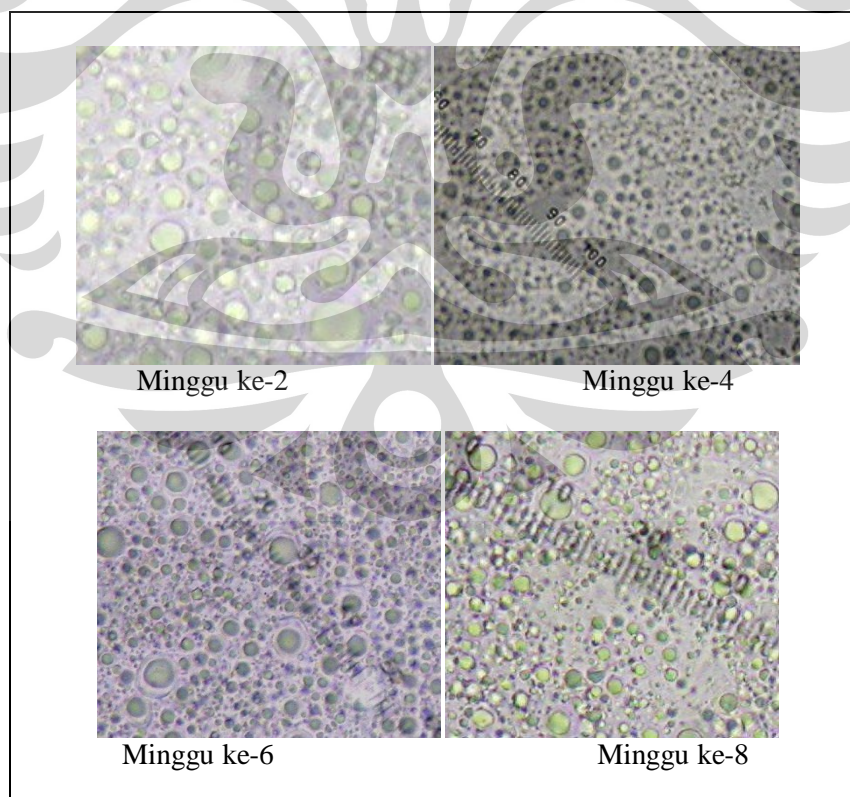
GAMBAR DAN TABEL



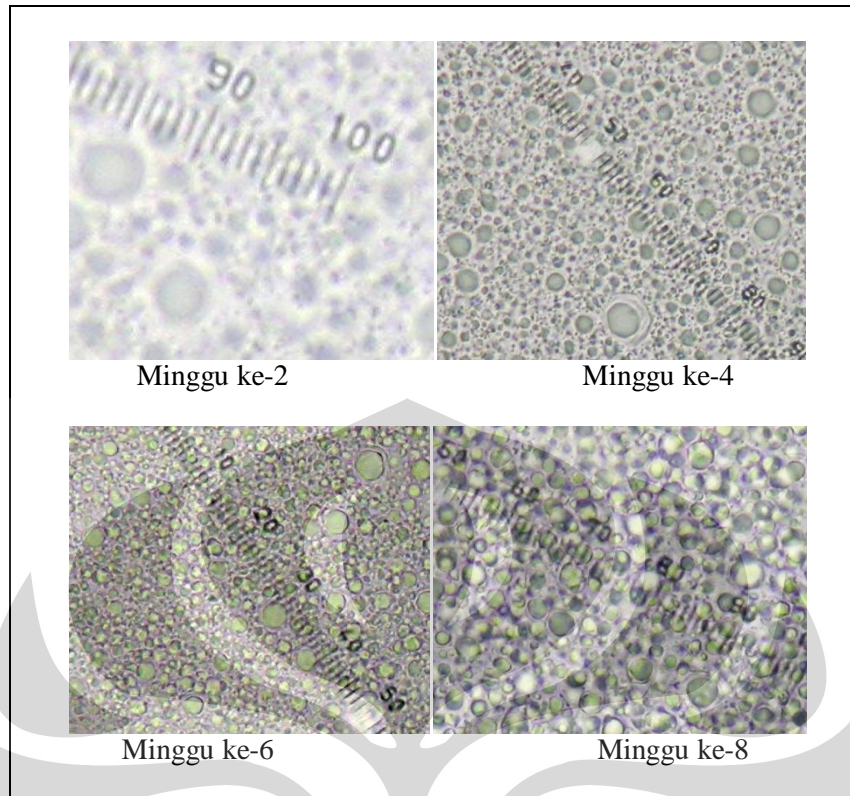
Gambar 4.16 Foto mikroskopik Krim A dan B pada minggu ke-0 dengan perbesaran 400 kali



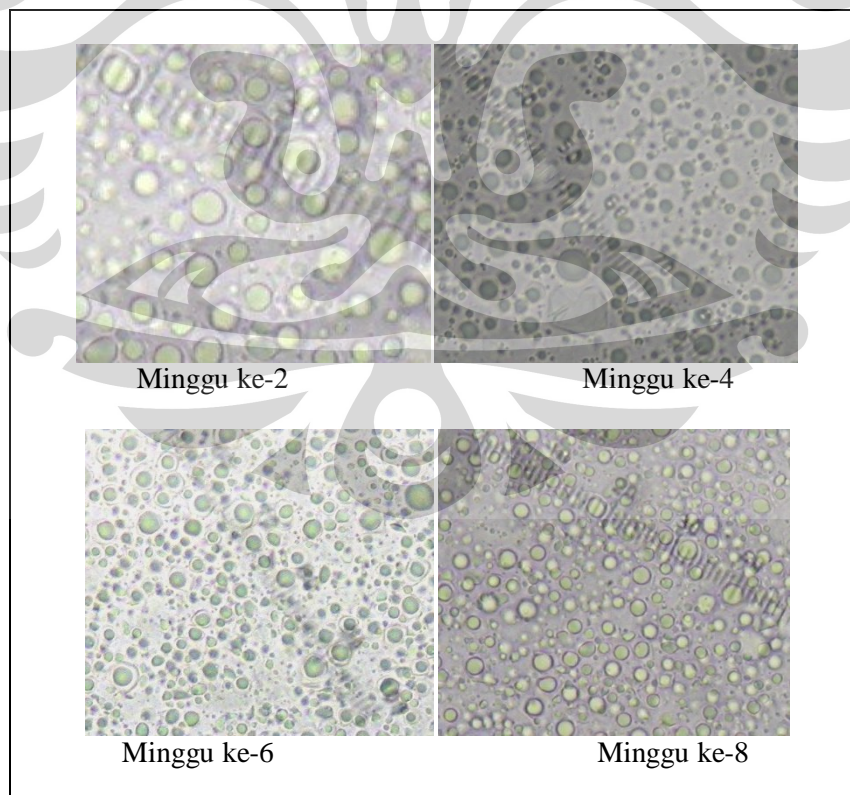
Gambar 4.17 Foto mikroskopik Krim A pada suhu 4⁰ C selama 8 minggu dengan perbesaran 400 kali



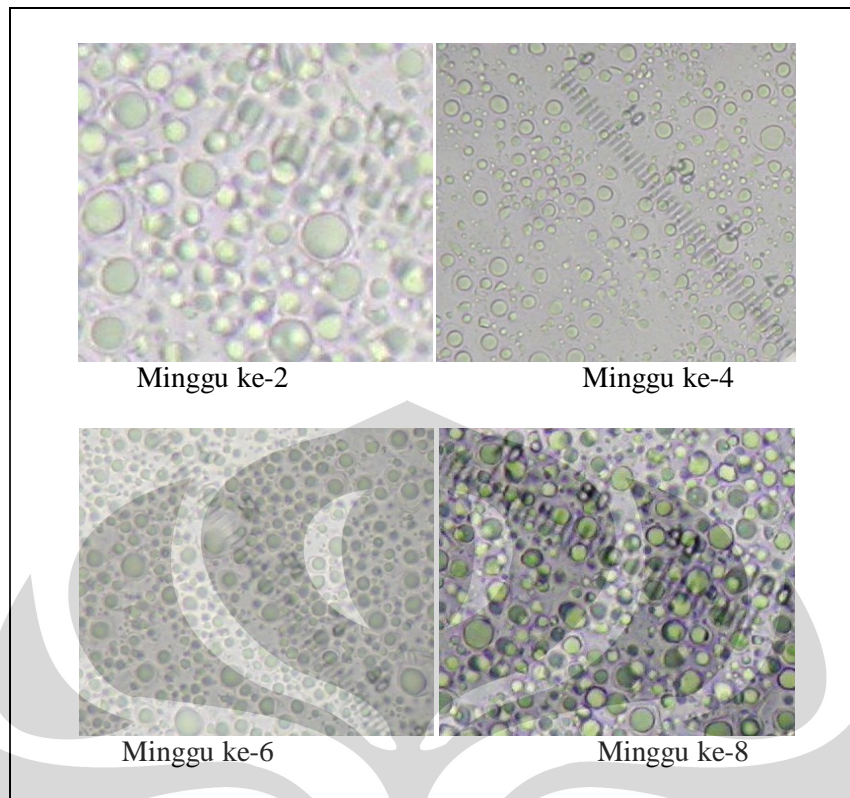
Gambar 4.18 Foto mikroskopik Krim A pada suhu ruang selama 8 minggu dengan perbesaran 400 kali



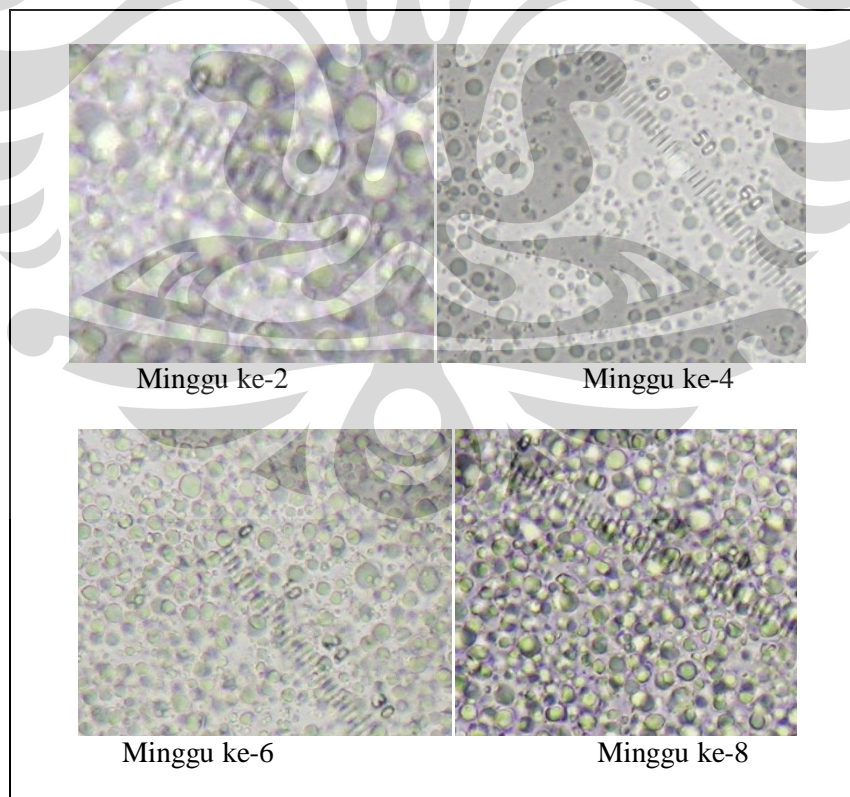
Gambar 4.19 Foto mikroskopik Krim A pada suhu 40⁰ C selama 8 minggu dengan perbesaran 400 kali



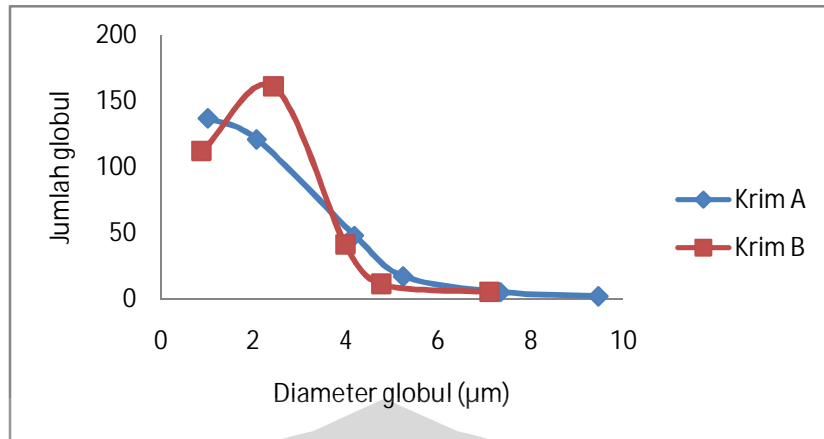
Gambar 4.20 Foto mikroskopik Krim B pada suhu 4⁰ C selama 8 minggu dengan perbesaran 400 kali



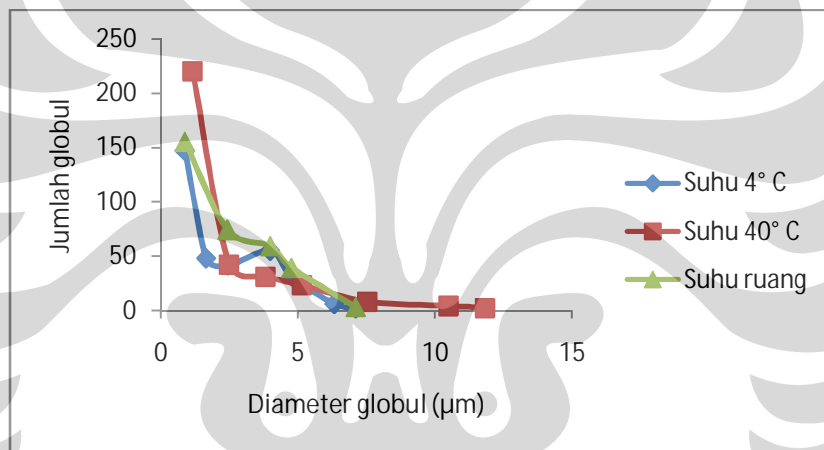
Gambar 4.21 Foto mikroskopik Krim B pada suhu ruang selama 8 minggu dengan perbesaran 400 kali



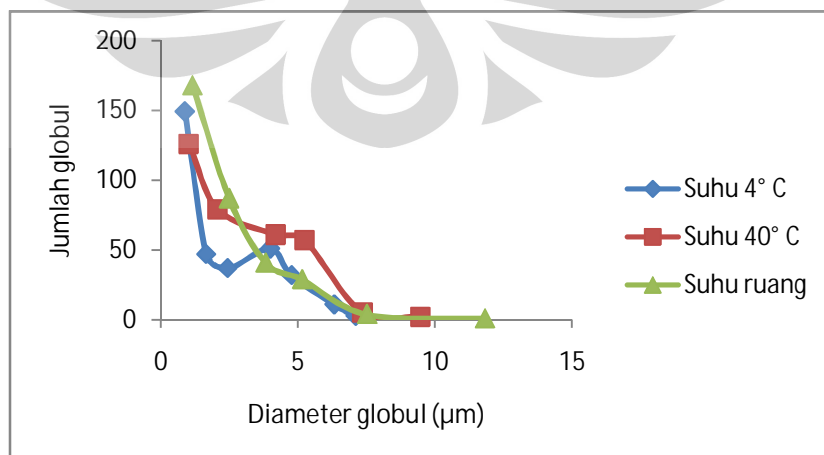
Gambar 4.22 Foto mikroskopik Krim B pada suhu 40⁰ C selama 8 minggu dengan perbesaran 400 kali



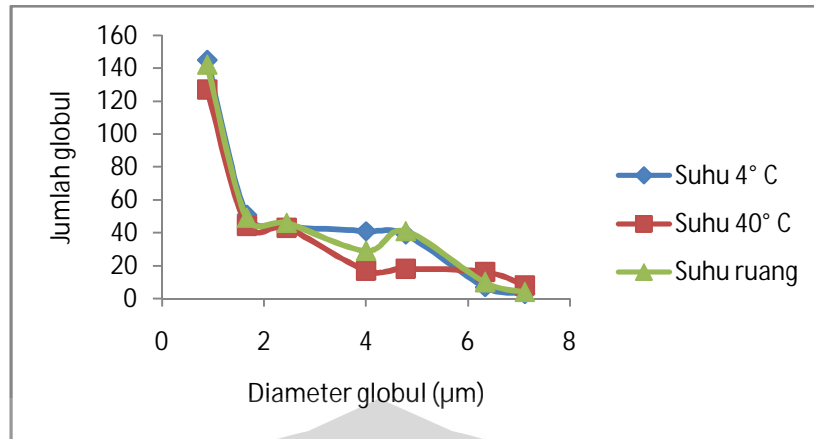
Gambar 4.23 Kurva distribusi diameter globul Krim A dan Krim B pada minggu ke-0



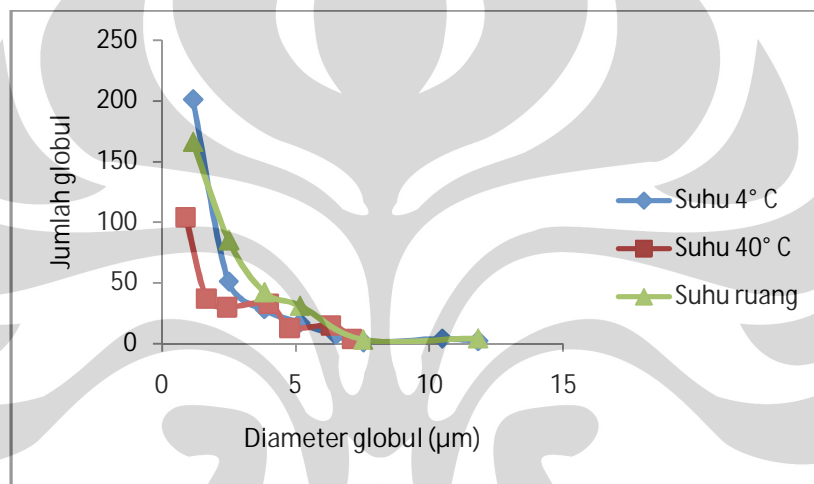
Gambar 4.24 Kurva distribusi diameter globul Krim A pada minggu ke-2



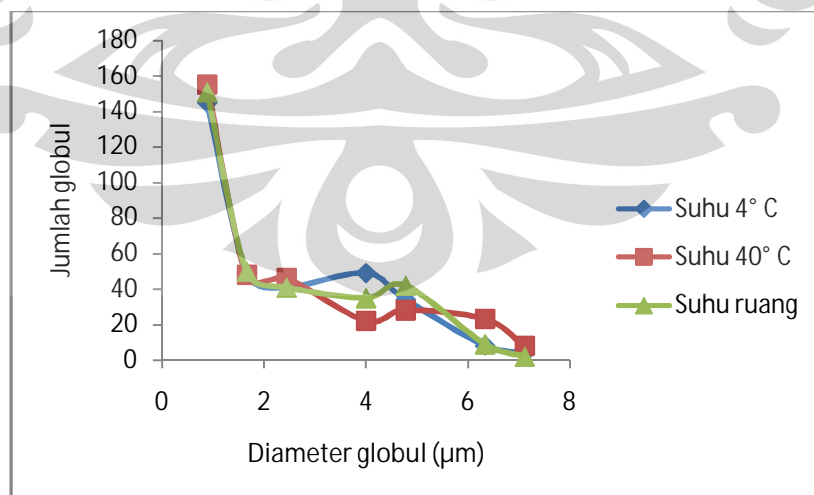
Gambar 4.25 Kurva distribusi diameter globul Krim B pada minggu ke-2



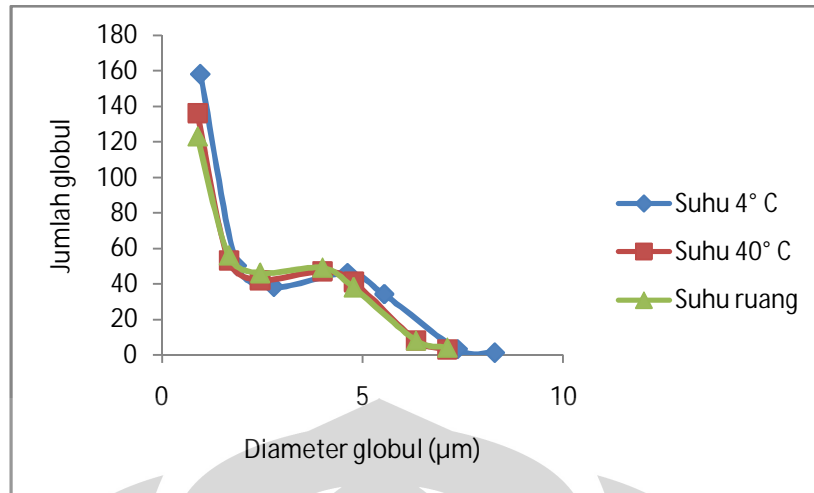
Gambar 4.26 Kurva distribusi diameter globul Krim A pada minggu ke-4



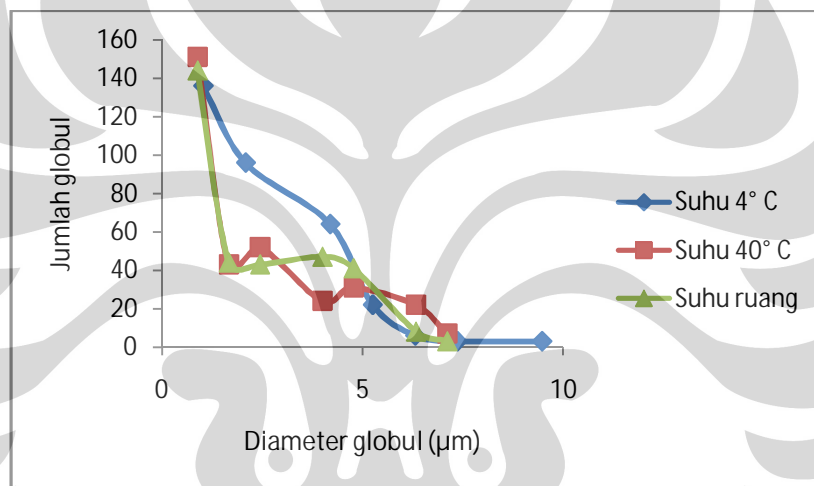
Gambar 4.27 Kurva distribusi diameter globul Krim B pada minggu ke-4



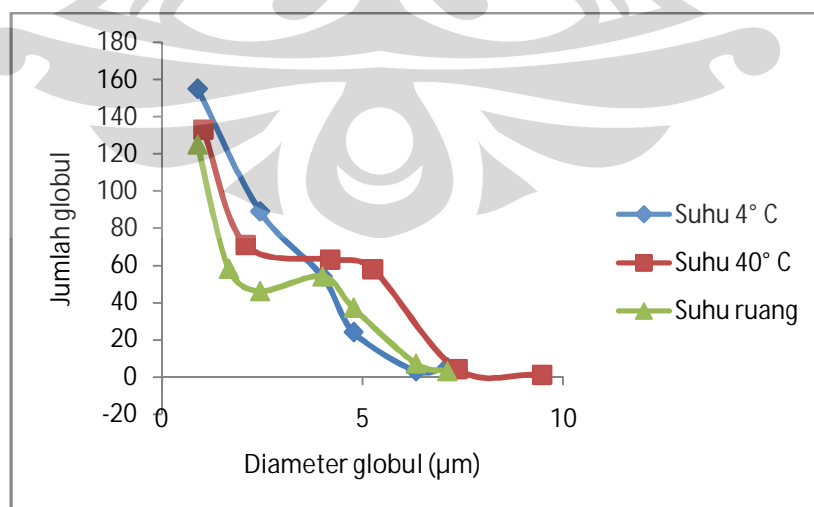
Gambar 4.28 Kurva distribusi diameter globul Krim A pada minggu ke-6



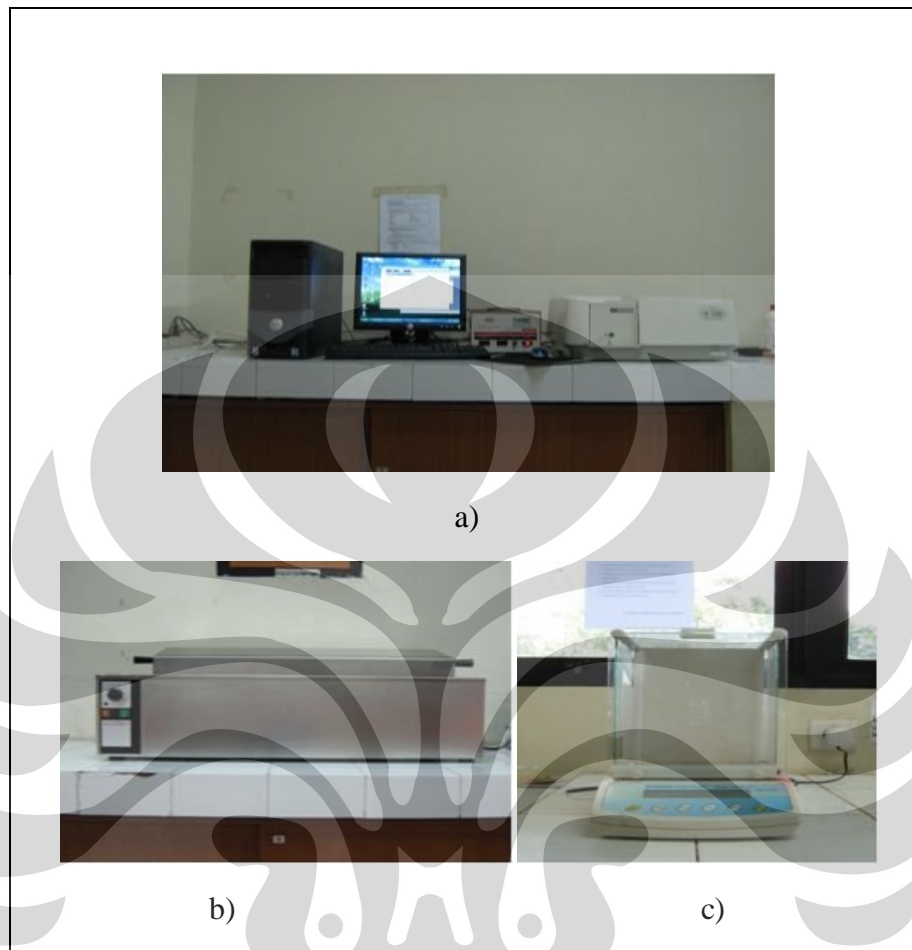
Gambar 4.29 Kurva distribusi diameter globul Krim B pada minggu ke-6



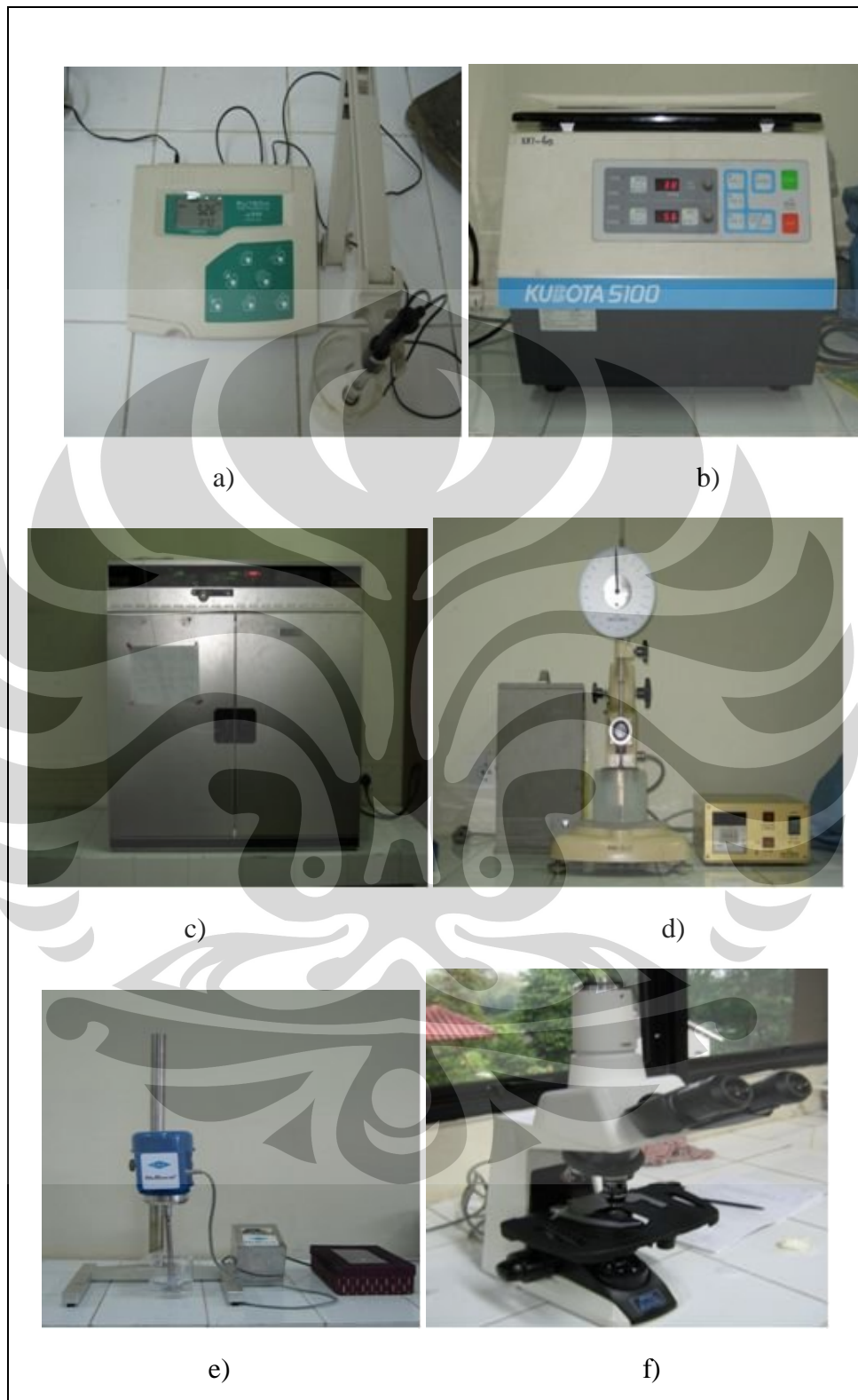
Gambar 4.30 Kurva distribusi diameter globul Krim A pada minggu ke-8



Gambar 4.31 Kurva distribusi diameter globul Krim B pada minggu ke-8



Gambar 4.32 Foto (a) spektrofotometer Uv-Vis, (b) waterbath, (c) timbangan analitik



Gambar 4.33 Foto (a) pH-meter, (b) sentrifugator, (c) oven, (d) penetrometer, (e) homogenizer, (f) mikroskop optik

Tabel 4.1 Hasil evaluasi kedua krim pada minggu ke-0

Formula	Krim A	Krim B
Pengamatan		
Organoleptis	Cokelat kekuningan, berbau seperti jamu, homogen	Cokelat kekuningan yang sedikit lebih pekat, berbau seperti jamu, homogen
pH	6,60	6,47
Angka kedalaman Penetrasi kerucut (1/10 mm)	348	368
Viskositas pada 20 rpm (cps)	15000	8000
Diameter globul rata-rata (μm)	2,24	2,25

Tabel 4.2 Hasil evaluasi kedua krim pada minggu ke-8

Formula	Krim A	Krim B
Pengamatan		
Organoleptis	Cokelat kekuningan, berbau seperti jamu, homogen	Cokelat kekuningan yang sedikit lebih pekat, berbau seperti jamu, homogen
pH	6,15	6,03
Angka kedalaman Penetrasi kerucut (1/10 mm)	345	362
Viskositas pada 20 rpm (cps)	17500	12500
Diameter globul rata-rata (μm)	2,3096	2,359

Tabel 4.3 Hasil pengamatan organoleptis krim A pada suhu 4 °C selama penyimpanan 8 minggu

Minggu ke-	Warna (intensitas) Cokelat Kekuningan	Bau	Homogenitas
2	(+++)	Seperti jamu	Homogen
4	(+++)	Seperti jamu	Homogen
6	(++)	Seperti jamu	Homogen
8	(++)	Seperti jamu	Homogen

Tabel 4.4 Hasil pengamatan organoleptis krim B pada suhu 4 °C selama penyimpanan 8 minggu

Minggu ke-	Warna (intensitas) Cokelat Kekuningan	Bau	Homogenitas
2	(++++)	Seperti jamu	Homogen
4	(++++)	Seperti jamu	Homogen
6	(+++)	Seperti jamu	Homogen
8	(+++)	Seperti jamu	Homogen

Tabel 4.5. Hasil pengamatan organoleptis krim A pada suhu kamar selama penyimpanan 8 minggu

Minggu ke-	Warna (intensitas) Cokelat Kekuningan	Bau	Homogenitas
2	(+++)	Seperti jamu	Homogen
4	(+++)	Seperti jamu	Homogen
6	(++++)	Seperti jamu	Homogen
8	(++++)	Seperti jamu	Homogen

Tabel 4.6. Hasil pengamatan organoleptis krim B pada suhu kamar selama penyimpanan 8 minggu

Minggu ke-	Warna (intensitas) Cokelat Kekuningan	Bau	Homogenitas
2	(++++)	Seperti jamu	Homogen
4	(++++)	Seperti jamu	Homogen
6	(++++)	Seperti jamu	Homogen
8	(++++)	Seperti jamu	Homogen

Tabel 4.7. Hasil pengamatan organoleptis krim A pada suhu 40 ± 2 °C selama penyimpanan 8 minggu

Minggu ke-	Warna (intensitas) Cokelat Kekuningan	Bau	Homogenitas
2	(+++)	Seperti jamu	Homogen
4	(+++)	Seperti jamu	Homogen
6	(++++)	Seperti jamu	Homogen
8	(++++)	Seperti jamu	Homogen

Tabel 4.8. Hasil pengamatan organoleptis krim B pada suhu 40 ± 2 °C selama penyimpanan 8 minggu

Minggu ke-	Warna (intensitas) Cokelat Kekuningan	Bau	Homogenitas
2	(++++)	Seperti jamu	Homogen
4	(++++)	Seperti jamu	Homogen
6	(+++++)	Seperti jamu	Homogen
8	(+++++)	Seperti jamu	Homogen

Tabel 4.9. Hasil pengukuran pH krim selama penyimpanan 8 minggu pada suhu 4°C

Formula Minggu ke-	Krim A	Krim B
	2	6,58
4	6,77	6,6
6	6,8	6,67
8	6,94	6,79

Tabel 4.10. Hasil pengukuran pH krim selama penyimpanan 8 minggu pada suhu kamar

Formula	Krim A	Krim B
Minggu ke-		
2	6,57	6,33
4	6,48	6,28
6	6,2	6,17
8	6,15	6,03

Tabel 4.11 Hasil pengukuran pH krim selama penyimpanan 8 minggu pada suhu 40 ± 2 °C

Formula	Krim A	Krim B
Minggu ke-		
2	6,51	6,34
4	6,39	6,28
6	6,35	6,01
8	6,42	6,10

Tabel 4.12 Hasil pengukuran ukuran globul krim selama penyimpanan 8 minggu pada suhu 40 ± 2 °C dalam μm

Formula	Krim A	Krim B
Minggu ke-		
2	2,204	2,244
4	2,210	2,323
6	2,286	2,326
8	2,321	2,705

Tabel 4.13 Hasil pengukuran ukuran globul krim selama penyimpanan 8 minggu pada suhu ruang dalam μm

Formula	Krim A	Krim B
Minggu ke-		
2	2,291	2,313
4	2,308	2,382
6	2,305	2,3816
8	2,3096	2,359

Tabel 4.14. Hasil pengukuran ukuran globul krim selama penyimpanan 8 minggu pada suhu 4°C dalam μm

Formula Minggu ke-	Krim A	Krim B
2	2,215	2,2695
4	2,234	2,173
6	2,267	2,372
8	2,462	2,244

Tabel 4.15 Hasil pengamatan uji mekanik

Krim	Hasil
A	Stabil (tidak terjadi pemisahan fase)
B	Tidak stabil (terjadi pemisahan fase)



LAMPIRAN

Lampiran 1

Perhitungan ukuran globul rata-rata krim A dan krim B pada minggu ke-0

$$\text{PERBESARAN } 400\times \rightarrow 1 \text{ Skala} = \frac{0,1 \text{ mm}}{40} = 0,0025\text{mm} \\ = 2,5 \mu\text{m}$$

KRIM A (n = 330)

$$k = 1 + 3,322 \log 330 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{10 - 0,5}{9} = 1,056$$

KRIM B (n = 330)

$$k = 1 + 3,322 \log 330 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{7,5 - 0,5}{9} = 0,778$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd	RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,555	1,0275	137	140,7675	0,500 - 1,277	0,888	112	99,456
1,556 – 2,611	2,0835	121	252,1035	1,278 - 2,055	1,666	0	0
2,612 – 3,667	3,1395	0	0	2,056 - 2,833	2,444	161	393,484
3,668 – 4,723	4,1955	48	201,384	2,834 - 3,611	3,222	0	0
4,724 – 5,779	5,252	17	90,1255	3,612 - 4,389	4,000	41	164,000
5,780 – 6,835	6,3075	0	0	4,390 - 5,167	4,778	11	52,558
6,836 – 7,891	7,3635	5	36,8175	5,168 - 5,945	5,556	0	0
7,892 – 8,947	8,4195	0	0	5,946 - 6,723	6,334	0	0
8,948 – 10,004	9,476	2	18,952	6,724 - 7,502	7,113	5	35,565
		330	740,1493			330	745,063

$$d \text{ rata-rata} = \frac{\sum nd}{n} = \frac{740,15}{330} = 2,243 \mu\text{m}$$

$$d \text{ rata-rata} = 2,258$$

Lampiran 2

Perhitungan ukuran globul rata-rata krim A dan krim B pada minggu ke-2

$$\text{PERBESARAN } 400x \rightarrow 1 \text{ Skala} = \frac{0,1 \text{ mm}}{40} = 0,0025 \text{ mm} = 2,5 \mu\text{m}$$

Suhu 4⁰ CKRIM A (n = 330)

$$k = 1 + 3,322 \log 330 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{7,5 - 0,5}{9} = 0,778$$

KRIM B (n = 330)

$$k = 1 + 3,322 \log 324 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{7,5 - 0,5}{9} = 0,778$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	Nd
0,500 – 1,277	0,888	147	132,312
1,278 – 2,055	1,666	48	78,302
2,056 – 2,833	2,444	41	90,428
2,834 – 3,611	3,222	0	0
3,612 – 4,389	4,000	55	204
4,390 – 5,167	4,778	31	152,896
5,168 – 5,945	5,556	0	0
5,946 – 6,723	6,334	6	69,674
6,724 – 7,502	7,113	2	21,339
		330	731,056

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,277	0,888	149	132,312
1,278 – 2,055	1,666	47	78,302
2,056 – 2,833	2,444	37	90,428
2,834 – 3,611	3,222	0	0
3,612 – 4,389	4,000	51	204
4,390 – 5,167	4,778	32	152,896
5,168 – 5,945	5,556	0	0
5,946 – 6,723	6,334	11	69,674
6,724 – 7,502	7,113	3	21,339
		330	748,951

d rata-rata = 2,215 μm d rata-rata = 2,2695 μm **Suhu 40⁰ C**KRIM A (n = 330)

$$k = 1 + 3,322 \log 330 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{12,50 - 0,50}{9} = 1,333$$

KRIM B n = (330)

$$k = 1 + 3,322 \log 330 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{1,00 - 0,50}{9} = 1,056$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,832	1,166	220	256,52
1,833 – 3,165	2,499	42	104,958
3,166 – 4,498	3,832	31	118,792
4,499 – 5,831	5,165	23	118,795
5,832 – 7,164	6,498	0	0
7,165 – 8,497	7,531	8	62,648
8,498 – 9,830	9,164	0	0
9,831 – 11,163	10,497	4	41,989
11,164 – 12,497	11,830	2	23,66
		330	727,361

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,555	1,028	126	129,528
1,556 – 2,611	2,0835	79	164,596
2,612 – 3,667	3,139	0	0
3,668 – 4,723	4,196	61	255,956
4,724 – 5,779	5,252	57	299,364
5,780 – 6,835	6,308	0	0
6,836 – 7,891	7,364	5	36,92
7,892 – 8,947	8,419	0	0
8,948 – 10,004	9,476	2	18,952
		330	740,395

d rata-rata = 2,204 μm d rata-rata = 2,244 μm

Suhu ruangKRIM A (n = 330)

$$k = 1 + 3,322 \log 330 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{7,50 - 0,50}{9} = 0,778$$

KRIM B n = (330)

$$k = 1 + 3,322 \log 330 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{12,5 - 0,5}{9} = 1,333$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,277	0,888	155	137,64
1,278 – 2,055	1,666	0	0
2,056 – 2,833	2,444	74	180,856
2,834 – 3,611	3,222	0	0
3,612 – 4,389	4,000	59	230,00
4,390 – 5,167	4,778	39	186,432
5,168 – 5,945	5,556	0	0
5,946 – 6,723	6,334	0	0
6,724 – 7,502	7,113	3	0
		330	756,174

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,832	1,166	168	195,888
1,833 – 3,165	2,499	87	217,413
3,166 – 4,498	3,832	41	157,112
4,499 – 5,831	5,165	29	140,785
5,832 – 7,164	6,498	0	0
7,165 – 8,497	7,531	4	31,324
8,498 – 9,830	9,164	0	0
9,831 – 11,163	10,497	0	0
11,164 – 12,497	11,830	1	11,830
		330	763,352

d rata-rata = 2,291 μm d rata-rata = 2,313 μm

Lampiran 3

Perhitungan ukuran globul rata-rata krim A dan krim B pada minggu ke-4

$$\text{PERBESARAN } 400x \rightarrow 1 \text{ Skala} = \frac{0,1 \text{ mm}}{40} = 0,0025 \text{ mm} = 2,5 \mu\text{m}$$

Suhu 4⁰ CKRIM A (n = 330)

$$k = 1 + 3,322 \log 330 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{7,5 - 0,5}{9} = 0,778$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,277	0,888	145	128,876
1,278 – 2,055	1,666	51	84,966
2,056 – 2,833	2,444	44	107,536
2,834 – 3,611	3,222	0	0
3,612 – 4,389	4,000	41	164
4,390 – 5,167	4,778	39	186,342
5,168 – 5,945	5,556	0	0
5,946 – 6,723	6,334	7	44,338
6,724 – 7,502	7,113	3	21,339
		330	737,397

$$d \text{ rata-rata} = 2,234 \mu\text{m}$$

KRIM B (n = 311)

$$k = 1 + 3,322 \log 311 = 9,28 \approx 9$$

$$L = \frac{12,55 - 0,5}{9} = 1,333$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,832	1,166	201	234,366
1,833 – 3,165	2,499	51	127,449
3,166 – 4,498	3,832	28	107,296
4,499 – 5,831	5,165	17	87,805
5,832 – 7,164	6,498	7	45,486
7,165 – 8,497	7,531	1	7,831
8,498 – 9,830	9,164	0	0
9,831 – 11,163	10,497	4	41,988
11,164 – 12,497	11,830	2	23,66
		311	675,881

$$d \text{ rata-rata} = 2,173 \mu\text{m}$$

Suhu 40⁰ CKRIM A (n = 273)

$$k = 1 + 3,322 \log 273 = 9,003 \approx 9$$

$$L = \frac{7,5 - 0,5}{9} = 0,778$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,277	0,888	127	112,776
1,278 – 2,055	1,666	44	72,304
2,056 – 2,833	2,444	43	105,092
2,834 – 3,611	3,222	0	0
3,612 – 4,389	4,000	17	68
4,390 – 5,167	4,778	18	86,004
5,168 – 5,945	5,556	0	0
5,946 – 6,723	6,334	16	101,344
6,724 – 7,502	7,113	8	56,904
		273	603,414

$$d \text{ rata-rata} = 2,210 \mu\text{m}$$

KRIM B (n = 238)

$$k = 1 + 3,322 \log 238 = 8,39 \approx 9$$

$$L = \frac{7,5 - 0,5}{9} = 0,778$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,277	0,888	104	92,352
1,278 – 2,055	1,666	37	61,642
2,056 – 2,833	2,444	30	73,32
2,834 – 3,611	3,222	0	0
3,612 – 4,389	4,000	33	140
4,390 – 5,167	4,778	13	62,114
5,168 – 5,945	5,556	0	0
5,946 – 6,723	6,334	15	95,01
6,724 – 7,502	7,113	4	28,452
		238	552,89

$$d \text{ rata-rata} = 2,323 \mu\text{m}$$

Suhu ruangKRIM A (n = 331)

$$k = 1 + 3,322 \log 331 = 9,37 \approx 9$$

$$L = \frac{7,5 - 0,5}{9} = 0,778$$

KRIM B (n = 330)

$$k = 1 + 3,322 \log 330 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{12,5 - 0,5}{9} = 1,333$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,277	0,888	142	126,096
1,278 – 2,055	1,666	49	81,634
2,056 – 2,833	2,444	46	112,424
2,834 – 3,611	3,222	0	0
3,612 – 4,389	4,000	29	156
4,390 – 5,167	4,778	41	195,898
5,168 – 5,945	5,556	0	0
5,946 – 6,723	6,334	10	63,34
6,724 – 7,502	7,113	4	25,452
		331	763,844

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,832	1,166	166	193,556
1,833 – 3,165	2,499	85	212,415
3,166 – 4,498	3,832	42	160,944
4,499 – 5,831	5,165	31	160,113
5,832 – 7,164	6,498	0	0
7,165 – 8,497	7,531	3	23,493
8,498 – 9,830	9,164	0	0
9,831 – 11,163	10,497	0	0
11,164 – 12,497	11,830	4	35,49
		330	786,013

d rata-rata = 2,308 μm d rata-rata = 2,382 μm

Lampiran 4

Perhitungan ukuran globul rata-rata krim A dan krim B pada minggu ke-6

$$\text{PERBESARAN } 400x \rightarrow 1 \text{ Skala} = \frac{0,1 \text{ mm}}{40} = 0,0025 \text{ mm} = 2,5 \mu\text{m}$$

Suhu 4^o CKRIM A (n = 330)

$$k = 1 + 3,322 \log 330 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{7,5 - 0,5}{9} = 0,778$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,277	0,888	145	128,76
1,278 – 2,055	1,666	49	81,634
2,056 – 2,833	2,444	41	100,204
2,834 – 3,611	3,222	0	0
3,612 – 4,389	4,000	49	196
4,390 – 5,167	4,778	34	162,452
5,168 – 5,945	5,556	0	0
5,946 – 6,723	6,334	8	50,672
6,724 – 7,502	7,113	4	28,452
		330	748,174

$$d \text{ rata-rata} = 2,267 \mu\text{m}$$

KRIM B (n = 330)

$$k = 1 + 3,322 \log 330 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{8,75 - 0,5}{9} = 0,917$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,416	0,958	158	151,364
1,417 – 2,333	1,875	50	93,75
2,334 – 3,250	2,792	38	106,096
3,251 – 4,167	3,709	0	0
4,168 – 5,084	4,626	46	212,796
5,085 – 6,001	5,543	34	188,462
6,002 – 6,918	6,46	0	0
6,919 – 7,835	7,377	3	22,131
7,836 – 8,753	8,294	1	8,294
		330	782,893

$$d \text{ rata-rata} = 2,372 \mu\text{m}$$

Suhu 40^o CKRIM A (n = 330)

$$k = 1 + 3,322 \log 330 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{7,5 - 0,5}{9} = 0,778$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,277	0,888	155	137,64
1,278 – 2,055	1,666	48	79,968
2,056 – 2,833	2,444	46	102,424
2,834 – 3,611	3,222	0	0
3,612 – 4,389	4,000	22	88
4,390 – 5,167	4,778	28	133,784
5,168 – 5,945	5,556	0	0
5,946 – 6,723	6,334	23	145,682
6,724 – 7,502	7,113	8	56,904
		330	754,402

$$d \text{ rata-rata} = 2,286 \mu\text{m}$$

KRIM B n = (330)

$$k = 1 + 3,322 \log 330 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{7,5 - 0,5}{9} = 0,778$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,277	0,888	136	120,768
1,278 – 2,055	1,666	53	88,298
2,056 – 2,833	2,444	42	102,648
2,834 – 3,611	3,222	0	0
3,612 – 4,389	4,000	47	188
4,390 – 5,167	4,778	41	195,898
5,168 – 5,945	5,556	0	0
5,946 – 6,723	6,334	8	50,672
6,724 – 7,502	7,113	3	21,339
		238	767,623

$$d \text{ rata-rata} = 2,326 \mu\text{m}$$

Suhu ruangKRIM A (n = 330)

$$k = 1 + 3,322 \log 330 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{7,5 - 0,5}{9} = 0,778$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,277	0,888	151	134,088
1,278 – 2,055	1,666	50	83,3
2,056 – 2,833	2,444	41	100,204
2,834 – 3,611	3,222	0	0
3,612 – 4,389	4,000	35	140
4,390 – 5,167	4,778	42	200,676
5,168 – 5,945	5,556	0	0
5,946 – 6,723	6,334	9	57,006
6,724 – 7,502	7,113	2	14,226
		330	760,62

d rata-rata = 2,305 μm KRIM B (n = 324)

$$k = 1 + 3,322 \log 324 = 9,34 \approx 9$$

$$L = \frac{7,5 - 0,5}{9} = 0,778$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,277	0,888	123	109,224
1,278 – 2,055	1,666	56	93,296
2,056 – 2,833	2,444	46	112,424
2,834 – 3,611	3,222	0	0
3,612 – 4,389	4,000	49	196
4,390 – 5,167	4,778	38	181,564
5,168 – 5,945	5,556	0	0
5,946 – 6,723	6,334	8	50,672
6,724 – 7,502	7,113	4	28,452
		324	771,63

d rata-rata = 2,3816 μm

Lampiran 5

Perhitungan ukuran globul rata-rata krim A dan krim B pada minggu ke-8

$$\text{PERBESARAN } 400x \rightarrow 1 \text{ Skala} = \frac{0,1 \text{ mm}}{40} = 0,0025 \text{ mm} = 2,5 \mu\text{m}$$

Suhu 4⁰ CKRIM A (n = 330)

$$k = 1 + 3,322 \log 330 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{10 - 0,5}{9} = 1,056$$

KRIM B (n = 330)

$$k = 1 + 3,322 \log 330 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{7,5 - 0,5}{9} = 0,778$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1.555	1,028	136	139,808
1,556 – 2.611	2,084	96	200,064
2,612 – 3.667	3,139	0	0
3,668 – 4.723	4,195	64	268,544
4,724 – 5.779	5,252	22	115,544
5,780 – 6.835	6,308	6	37,848
6,836 – 7.891	7,364	3	22,092
7,892 – 8.947	8,419	0	0
8,948 – 10,004	9,476	3	28,428
		330	812,328

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,277	0,888	155	137,64
1,278 – 2,055	1,666	0	0
2,056 – 2,833	2,444	89	217,516
2,834 – 3,611	3,222	0	
3,612 – 4,389	4,000	54	216
4,390 – 5,167	4,778	24	114,672
5,168 – 5,945	5,556	0	0
5,946 – 6,723	6,334	3	19,002
6,724 – 7,502	7,113	5	35,565
		330	740,395

$$d \text{ rata-rata} = 2,462 \mu\text{m}$$

$$d \text{ rata-rata} = 2,244 \mu\text{m}$$

Suhu 40⁰ CKRIM A (n = 330)

$$k = 1 + 3,322 \log 330 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{7,5 - 0,5}{9} = 0,778$$

KRIM B n = (330)

$$k = 1 + 3,322 \log 324 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{10,0 - 0,5}{9} = 1,056$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,277	0,888	151	134,088
1,278 – 2,055	1,666	43	71,638
2,056 – 2,833	2,444	52	127,088
2,834 – 3,611	3,222	0	0
3,612 – 4,389	4,000	24	96
4,390 – 5,167	4,778	31	148,118
5,168 – 5,945	5,556	0	0
5,946 – 6,723	6,334	22	139,348
6,724 – 7,502	7,113	7	49,791
		330	766,071

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,555	1,028	133	136,724
1,556 – 2,611	2,0835	71	147,928
2,612 – 3,667	3,139	0	0
3,668 – 4,723	4,196	63	264,348
4,724 – 5,779	5,252	58	304,616
5,780 – 6,835	6,308	0	0
6,836 – 7,891	7,364	4	29,456
7,892 – 8,947	8,419	0	0
8,948 – 10,004	9,476	1	9,476
		330	892,548

$$d \text{ rata-rata} = 2,321 \mu\text{m}$$

$$d \text{ rata-rata} = 2,705 \mu\text{m}$$

Suhu ruang**KRIM A** (n = 330)

$$k = 1 + 3,322 \log 330 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{7,5 - 0,5}{9} = 0,778$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,277	0,888	144	127,872
1,278 – 2,055	1,666	44	73,304
2,056 – 2,833	2,444	43	105,092
2,834 – 3,611	3,222	0	0
3,612 – 4,389	4,000	47	188
4,390 – 5,167	4,778	41	195,898
5,168 – 5,945	5,556	0	0
5,946 – 6,723	6,334	8	50,672
6,724 – 7,502	7,113	3	21,339
		330	762,177

d rata-rata = 2,3096 μm **KRIM B** (n = 330)

$$k = 1 + 3,322 \log 324 = 9,36 \approx 9$$

$$L = \frac{7,5 - 0,5}{9} = 0,778$$

RENTANG (μm)	NILAI TENGAH	n	nd
0,500 – 1,277	0,888	125	111
1,278 – 2,055	1,666	58	96,628
2,056 – 2,833	2,444	46	112,424
2,834 – 3,611	3,222	0	0
3,612 – 4,389	4,000	54	216
4,390 – 5,167	4,778	37	176,786
5,168 – 5,945	5,556	0	0
5,946 – 6,723	6,334	7	44,338
6,724 – 7,502	7,113	3	21,339
		330	778,515

d rata-rata = 2,359 μm

Ket: $k = 1 + 3,322 \log n$
 $L = \frac{\text{nilai terbesar} - \text{nilai terkecil}}{k}$

k = jumlah kelas
n = jumlah sampel
L = panjang kelas

(Sumber: Sabri & Hastono, 2008)

Hasil uji fitokimia ekstrak kulit buah delima

**LABORATORIUM
BALAI PENELITIAN TANAMAN OBAT DAN AROMATIK**

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

DF 5.10.1.2.

LAPORAN HASIL UJI
No. Adm. : 644/T/LAB/XI/10

Kepada Yth.

I. Prasista

Depok


Kondisi/Identifikasi Contoh : Cairan
Tanggal Penerimaan : 25 November 2010
Tanggal Pengujian : 29 November 2010

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

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

Bogor, 30 November 2010

Manajer Teknis,


Ma'mun, S.Si

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

Lembar kedua : disimpan oleh Manajer Administrasi

Lampiran 7

Perhitungan % penghambatan tirosinase

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

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Kuvet A	Kuvet B	Kuvet C	Kuvet D	% penghambatan	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Ekstrak kulit buah delima	120	0.0222	0.0052	0.0223	0.0062	5.29%	1658.3
	240			0.0234	0.0081	10%	
	480			0.0265	0.0107	7.05%	
	720			0.0267	0.0132	22.94%	
Krim A* (minggu ke-0)	50	0.0070	0.0024	0.0169	0.0128	10.32%	357.52
	100			0.0215	0.0176	15.22%	
	200			0.0308	0.0278	32.78%	
	300			0.0479	0.0455	41.03%	
Krim B* (minggu ke-0)	100	0.0070	0.0024	0.0145	0.0117	39.13%	485.77
	200			0.0211	0.0178	28.26%	
	400			0.0341	0.0315	43.46%	
	600			0.0498	0.0479	58.69%	
Krim A* (minggu ke-7)	50	0.0138	0.0041	0.0378	0.0293	11.87%	1013.6
	100			0.0499	0.0426	14.43%	
	200			0.0788	0.0709	18.53%	
	300			0.1031	0.0955	21.74%	
Krim B* (minggu ke-7)	100	0.0134	0.0044	0.0387	0.0321	26.67%	1007.9
	200			0.0603	0.0522	10%	
	400			0.1077	0.1000	14.44%	
	600			0.1233	0.1183	44.44%	

- Keterangan:
- DK = dopakrom yang terbentuk tanpa adanya inhibitor
 - DK' = dopakrom yang terbentuk dengan adanya inhibitor
 - A = serapan larutan blanko negatif dengan enzim
 - B = serapan larutan blanko negatif tanpa enzim
 - C = serapan larutan sampel dengan enzim
 - D = serapan larutan sampel tanpa enzim

*) dihitung berdasarkan konsentrasi ekstrak

Lampiran 8

Perhitungan % penghambatan BHT

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Kuvet A	Kuvet B	Kuvet C	Kuvet D	% penghambatan
BHT	50	0.0148	0.0039	0,0143	0.0040	1.83%
	100			0.0154	0.0048	2.75%
	200			0.0192	0.0090	6.42%



Perhitungan viskositas Krim A pada minggu ke-0

Spindel	Kecepatan (rpm)	Dial Reading	Faktor Koreksi	Viskositas $\eta = dr \times f$ (cps)	Shearing Stress $F/A = dr \times 7.7.187$ (dyne/cm ²)	Rate of Shear $dv/dr = F/A \times 1/\eta$
6	2	13	5000	65000	93,431	$1,4374 \times 10^{-3}$
	4	15	2500	37500	107,805	$2,8748 \times 10^3$
	10	22,5	1000	22500	161,7075	$7,187 \times 10^{-3}$
	20	30	500	15000	215,61	$14,374 \times 10^{-3}$
	20	27	500	13500	194,049	$14,374 \times 10^{-3}$
	10	19	1000	19000	136,553	$7,187 \times 10^{-3}$
	4	12	2500	30000	86,244	$2,8748 \times 10^3$
	2	8	5000	40000	57,496	$1,4374 \times 10^{-3}$

Perhitungan viskositas krim B pada minggu ke-0

Spindel	Kecepatan (rpm)	Dial Reading	Faktor Koreksi	Viskositas $\eta = \frac{dr}{f}$ f (cps)	Shearing Stress $F/A = \frac{dr}{f} \times 7.7.187$ (dyne/cm ²)	Rate of Shear $\frac{dv}{dr} = \frac{F/A}{\eta}$
6	2	7,5	5000	37500	53,9025	$1,4374 \times 10^{-3}$
	4	9	2500	22500	64,683	$2,8748 \times 10^3$
	10	13	1000	13000	93,431	$7,187 \times 10^{-3}$
	20	16	500	8000	114,992	$14,374 \times 10^{-3}$
	20	15	500	7500	107,805	$14,374 \times 10^{-3}$
	10	11,5	1000	11500	82,6506	$7,187 \times 10^{-3}$
	4	8	2500	20000	57,496	$2,8748 \times 10^3$
	2	6	5000	30000	43,122	$1,4374 \times 10^{-3}$

Perhitungan viskositas Krim A pada minggu ke-8

Spindel	Kecepatan (rpm)	Dial Reading	Faktor Koreksi	Viskositas $\eta = dr \times f$ (cps)	Shearing Stress $F/A = dr \times 7.7.187$ (dyne/cm ²)	Rate of Shear $dv/dr = F/A \times 1/\eta$
6	2	10	5000	50000	71,87	$1,4374 \times 10^{-3}$
	4	18	2500	45000	129,366	$2,8748 \times 10^3$
	10	30	1000	30000	215,61	$7,187 \times 10^{-3}$
	20	35	500	17500	251,545	$14,374 \times 10^{-3}$
	20	34	500	17000	244,358	$14,374 \times 10^{-3}$
	10	22,5	1000	22500	161,7075	$7,187 \times 10^{-3}$
	4	13	2500	32500	93,431	$2,8748 \times 10^3$
	2	8	5000	40000	57,496	$1,4374 \times 10^{-3}$

Perhitungan viskositas Krim B pada minggu ke-8

Spindel	Kecepatan (rpm)	Dial Reading	Faktor Koreksi	Viskositas $\eta = \text{dr} \times$ f (cps)	Shearing Stress $F/A = \text{dr} \times$ 7.7.187 (dyne/cm ²)	Rate of Shear $dv/dr = F/A \times$ 1/ η
6	2	11	5000	55000	79,057	$1,4374 \times 10^{-3}$
	4	16	2500	40000	114,992	$2,8748 \times 10^3$
	10	22	1000	22000	158,114	$7,187 \times 10^{-3}$
	20	25	500	12500	179,675	$14,374 \times 10^{-3}$
	20	23,5	500	11750	168,8945	$14,374 \times 10^{-3}$
	10	17,5	1000	17500	125,7725	$7,187 \times 10^{-3}$
	4	12	2500	30000	86,224	$2,8748 \times 10^3$
	2	8	5000	40000	57,496	$1,4374 \times 10^{-3}$