



UNIVERSITAS INDONESIA

**ANALISIS UJI *IN VITRO* DAN *IN VIVO*
EKSTRAK KOMBINASI KULIT MANGGIS (*Garcinia
mangostana* L.) DAN PEGAGAN (*Centella asiatica* L.)
SEBAGAI KRIM ANTIOKSIDAN**

TESIS

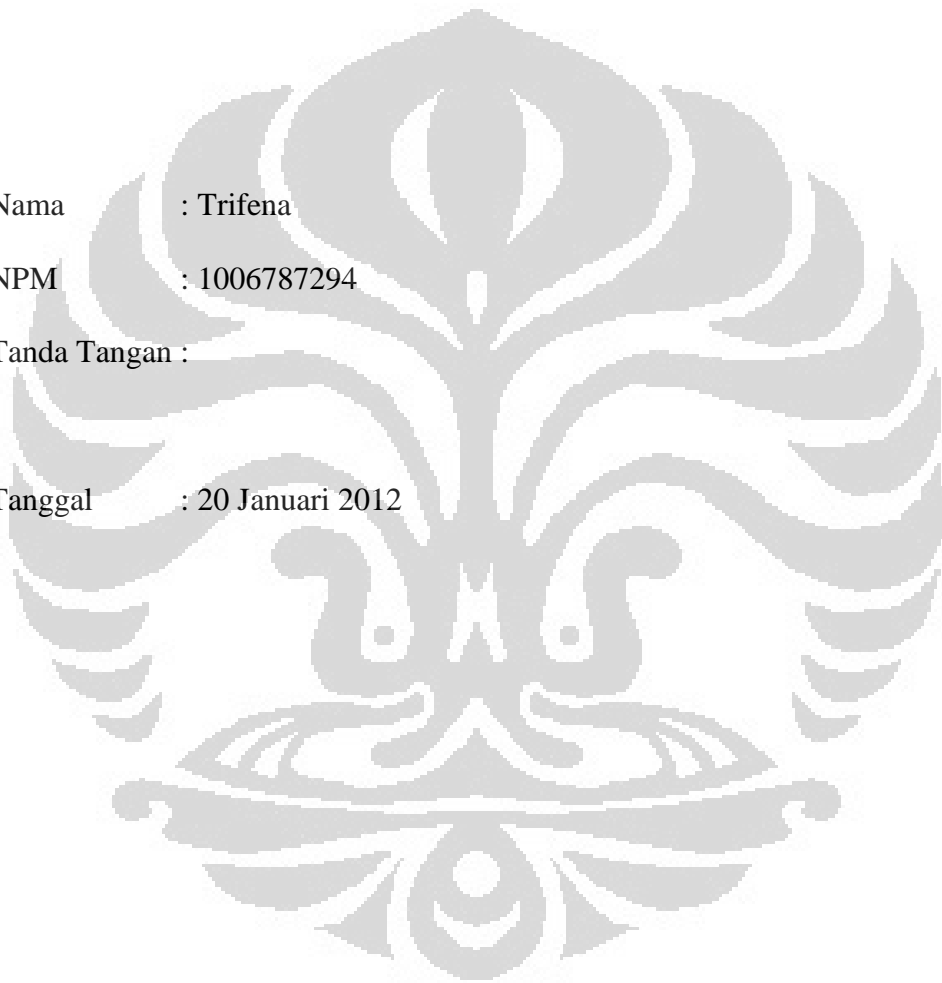
**TRIFENA
1006787294**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN
ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI MAGISTER HERBAL
DEPOK
JANUARI 2012**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Trifena
NPM : 1006787294
Tanda Tangan :
Tanggal : 20 Januari 2012


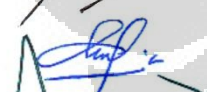


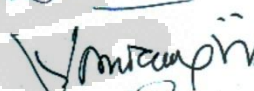



HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :
Nama : Trifena
NPM : 1006787294
Program Studi : Magister Herbal
Judul Tesis : Analisis Uji *in vitro* dan *in vivo* Ekstrak Kombinasi Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Pegagan (*Centella asiatica* L.) sebagai krim antioksidan

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Wong Lip Wih, MSc, PhD ()
Pembimbing II : Dr. Berna Elya, MSi ()
Ketua Sidang : Dr. Anton Bahtiar, M.Biomed ()
Sekretaris : Dr. Amarila Malik, MSi ()
Penguji I : Dr.dr. Erni H.Purwaningsih, MS ()
Penguji I : Dr.Mahdi Jufri, MSi ()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 20 Januari 2012

HALAMAN PERSEMBAHAN



*When the world comes crashing in
And chaos rules my mind,
I turn my heart to you, Lord,
And pure, sweet peace I find.
You lift me out of trouble
You comfort me in pain;
You nourish, heal and cleanse me,
Like cool, refreshing rain.
In times of joy and bliss,
When things are going right,
You lift me even higher,
And fill me with delight.
You listen to my prayers;
You hear my every plea;
I'm safe because I know
You're always there for me.*

Thank you God

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis dengan judul “Analisis Uji *in vitro* dan *in vivo* Ekstrak Kombinasi Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Herbal Pegagan (*Centella asiatica* L.) sebagai Krim Antioksidan” yang merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan Program Studi Magister Herbal Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Wong Lip Wih, BPharm, MSc, PhD selaku pembimbing yang banyak mendukung, memberi pengarahan dan bimbingan sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis ini.
2. Dr. Berna Elya, MSi selaku pembimbing yang banyak membantu dan membimbing sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis ini.
3. Dr.dr. Erni H.Purwaningsih, MS selaku penguji namun banyak sekali membantu dan membimbing serta memberikan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan Tesis ini.
4. Dr. Mahdi Jufri, MSi selaku penguji namun banyak membantu dan membimbing penulis.
5. Dr. Anton Bahtiar, M. Biomed selaku Ketua Sidang.
6. Dr. Amarila Malik, MSi selaku Sekretaris Sidang.
7. Dr. Abdul Mun'im, MS selaku ketua Program Studi Magister Herbal Universitas Indonesia.
8. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS selaku ketua Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
9. Seluruh tim *Martha Tilaar Innovation Center* atas dukungan penelitian *in vitro*.
10. Seluruh teman-teman S2 Herbal Universitas Indonesia yang selalu mendorong dan memberi dukungan kepada penulis.

11. Keluarga besar *Rafa Health and Beauty Lifestyle* Bandung untuk seluruh dukungannya.
12. Keluarga yang sudah memberikan doa, dukungan dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis ini.
13. Dan kepada semua pihak yang tidak dapat disebut satupersatu yang telah banyak mendukung dan dorongan kepada penulis, sehingga Tesis ini dapat diselesaikan dengan baik.

Semoga Tuhan Yang Maha Esa senantiasa membalas segala bantuan dan kebaikan yang telah diberikan dengan tulus.

Sebagai manusia biasa, penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam penulisan Tesis ini masih jauh dari kesempumaan. Oleh karena itu penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun dari semua pihak.

Akhir kata, penulis mengharapkan semoga Tesis ini dapat bermanfaat bagi kita semua dan dapat digunakan dalam pengembangan ilmu pengetahuan khususnya bagi mahasiswa Magister Herbal Universitas Indonesia. Amin.

Jakarta, Januari 2012

Penulis



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

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

Nama : Trifena
NPM : 1006787294
Program Studi : Magister Herbal
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Tesis

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

Analisis Uji *in vitro* dan *in vivo* Ekstrak Kombinasi Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Pegagan (*Centella asiatica* L.) sebagai Krim Antioksidan

berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Non-eksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada Tanggal : 20 Januari 2012
Yang menyatakan



(Trifena)

ABSTRAK

Oleh : Trifena
Program Studi : Magister Herbal
Judul : Analisis Uji *in vitro* dan *in vivo* Ekstrak Kombinasi Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Pegagan (*Centella asiatica* L.) Sebagai Krim Antioksidan

Obat herbal diklaim sangat bermanfaat untuk mengatasi berbagai masalah kesehatan dan estetik walaupun belum didukung dengan bukti ilmiah, salah satunya adalah manfaat sebagai antioksidan. Antioksidan secara oral dan topikal disebut sebagai salah satu terapi penuaan kulit, salah satu yang memiliki aktivitasnya adalah kulit manggis dan pegagan. Tujuan penelitian ini adalah melakukan analisis uji *in vitro* dan uji *in vivo* ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) sebagai krim antioksidan. Aktivitas antioksidan ekstrak diuji secara *in vitro* dengan metode *DPPH*. Sebelum uji *in vivo* dilakukan pembuatan krim dan uji stabilitasnya, yaitu sediaan krim uji berisi 5% ekstrak kombinasi kulit manggis dan herba pegagan dan sediaan krim kontrol berisi 5% ekstrak tunggal kulit manggis. Secara *in vivo* terhadap wanita usia 30-40 tahun dilakukan uji keamanan yaitu *Repeated Opened Patch Test (ROPT)* dan *Single Closed Patch Test (SCPT)* serta uji manfaat dengan menggunakan alat *Corneometer*, *Cutometer* dan *Mexameter* untuk melihat parameter kelembaban, elastisitas dan tingkat kecerahan kulit. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak kombinasi kulit manggis dan herba pegagan secara uji *in vitro* memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi, dan secara *in vivo* menunjukkan manfaat namun secara statistik tidak berbeda makna ($P > 0.05$).

Kata kunci: antioksidan, herba pegagan (*Centella asiatica* L.), kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.), parameter penuaan kulit, uji *in vitro*, uji *in vivo*

xviii+143 : 43 gambar, 61 tabel
Jumlah referensi : 119 (1994- 2011)

ABSTRACT

Name : Trifena
Program Study : Magister Herbal
Title : Analisis Uji *in vitro* dan *in vivo* Ekstrak Kombinasi Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan Pegagan (*Centella asiatica* L.) Sebagai Krim Antioksidan

Herbal based products have been widely used for the health as well as the esthetics purposes even though not all the benefits are scientifically supported, one of them is the antioxidant. The oral and topical antioxidants have been recently been used as antiaging therapy, among them are the mangosteen pericarp and the gotukola. The objective of the present study is to investigate the *in vitro* and *in vivo* efficacy of the combined extracts of mangosteen pericarp and the gotukola. The *in vitro* antioxidant efficacy has been done using the DPPH method. The cream containing the combined extracts respectively were applied to the test group while the cream containing the mangosteen extract were applied to the control group . The *in vivo* efficacy tests of ROPT and SCPT were conducted on the women volunteers using the Corneometer, Cutometer and Mexameter to evaluate the skin moisture content, elasticity and the brightness. The *in vitro* results shows that the combined extracts posseses high antioxidant activity while the *in vivo* results do not show significant difference compared to the single extract ($P>0.05$).

Key word : antioxidant, gotukola, *in vitro*, *in vivo*, mangosteen pericarp, skin aging

xviii+143 : 43 picture, 61 table
references : 119 (1994- 2011)

DAFTAR ISI

JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
UCAPAN TERIMA KASIH	v
HALAMAN PERNYATAAN PUBLIKASI	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Hipotesis Penelitian	4
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.4.1 Tujuan Umum	4
1.4.2 Tujuan Khusus	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Antioksidan	6
2.1.1 Antioksidan dan Radikal Bebas	6
2.1.2 Proteksi Antioksidan	8
2.1.3 Antioksidan Herbal	8
2.1.4 Uji <i>in vitro</i>	9
2.1.4.1 Jenis Pengukuran Aktivitas Antioksidan	9
2.1.4.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode <i>DPPH</i>	9
2.2 Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> L.)	9
2.2.1 Taksonomi Manggis	10
2.2.2 Ekologi dan Penyebaran	11
2.2.3 Morfologi	11
2.2.4 Kandungan Kimia dan Manfaat	11
2.2.5 Kajian Farmakologi Kulit Manggis	12
2.3 Pegagan (<i>Centella asiatica</i> L.)	12
2.3.1 Taksonomi Pegagan	12
2.3.2 Deskripsi Tanaman	13
2.3.3 Kandungan Kimia	13
2.3.4 Efek Farmakologis	14
2.4 Proses Penuaan Kulit	14
2.4.1 Mekanisme Penuaan Kulit Ekstrinsik (<i>Photoaging</i>)	17

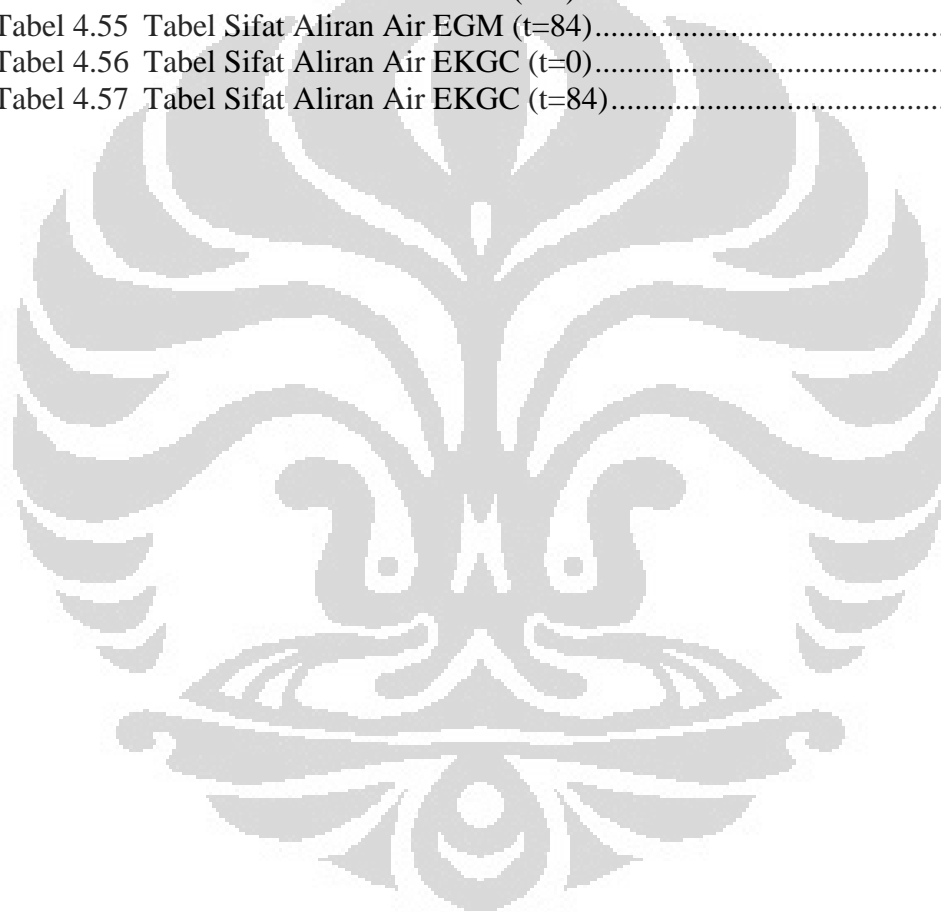
2.4.2	Teori Penuaan Kulit	18
2.4.3	Peranan Antioksidan pada Kulit.....	19
2.5	Kosmetik.....	20
2.5.1	Kosmetik dan kosmeseutikal.....	21
2.5.2	Krim	22
2.5.2.1	Stabilitas kosmetik	24
2.5.2.2	Uji Stabilitas.....	24
2.5.3	Antioksidan Topikal.....	26
2.5.4	Uji <i>in vivo</i>	27
2.5.4.1	Uji Keamanan.....	28
2.5.4.2	Uji Efikasi	28
2.6	Kerangka Berpikir	30
2.7	Kerangka Konsep	30
3.	METODE PENELITIAN	31
3.1	Tempat Penelitian	31
3.2	Bahan Penelitian	31
3.3	Alat Penelitian	31
3.4	Cara Kerja	32
3.4.1	Subyek Penelitian	33
3.4.1.1	Populasi dan Sampel.....	33
3.4.1.2	Kriteria Sampel	33
	a. Kriteria Inklusi	33
	b. Kriteria Eksklusi	33
3.4.1.3	Besar Sampel	33
3.4.1.4	Teknik Penentuan Sampel	34
3.4.1.5	Prosedur dan Analisa Subjek Penelitian.....	35
3.4.2	Definisi Operasional Variabel Penelitian	36
3.4.2.1	Variabel Bebas.....	36
3.4.2.2	Variabel Tergantung.....	36
3.4.2.3	Variabel Kendali.....	36
3.4.3	Rancangan Penelitian.....	36
3.4.4	Alur Penelitian	37
3.5	Prosedur Penelitian dan Pengambilan Data.....	37
3.5.1	Uji <i>in vitro</i>	37
3.5.1.1	Penyiapan Larutan Pereaksi.....	37
3.5.1.2	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan Pereaksi <i>DPPH</i>	38
3.5.1.3	Penyiapan Larutan Uji	38
3.5.1.4	Pengukuran Serapan Perendaman Radikal Bebas <i>DPPH</i>	38
3.5.1.5	Analisa Data Aktivitas Antioksidan	39
3.5.2	Evaluasi Krim dan Uji Stabilitas	39
3.5.2.1	Pembuatan Krim Uji dan Krim Kontrol	39
	a. Perhitungan HLB Krim Uji dan Kontrol	39
	b. Cara Pembuatan.....	40
3.5.2.2	Evaluasi Krim.....	41
3.5.2.3	Uji Stabilitas	43

3.5.3	Uji <i>in vivo</i>	44
3.5.3.1	Uji Keamanan	44
3.5.3.2	Uji Manfaat	45
3.6	Pengolahan dan Analisis Data	47
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	48
4.1	Uji <i>in vitro</i>	48
4.2	Evaluasi Krim dan Uji Stabilitas	50
4.2.1	Evaluasi Krim	50
4.2.1.1	Organoleptik	50
4.2.1.2	Pemeriksaan pH	51
4.2.1.3	Pengamatan Diameter Globul	51
4.2.1.4	Pengukuran Viskositas	55
4.2.1.5	Uji Mikroba	56
4.2.2	Hasil Uji Stabilitas	57
4.3	Uji <i>in vivo</i>	62
4.3.1	Uji Keamanan	62
4.3.2	Uji Manfaat	65
4.3.2.1	Kelembaban Kulit	65
a.	Uji Manfaat Sebelum Perlakuan (t ₀)	66
b.	Uji Manfaat Setelah Perlakuan (t ₃₀)	66
4.3.2.2	Elastisitas Kulit	68
a.	Uji Manfaat Sebelum Perlakuan (t ₀)	68
b.	Uji Manfaat Setelah Perlakuan (t ₃₀)	68
4.3.2.3	Kecerahan Kulit	69
a.	Uji Manfaat Sebelum Perlakuan (t ₀)	69
b.	Uji Manfaat Setelah Perlakuan (t ₃₀)	70
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	74
5.1	Kesimpulan	74
5.2	Saran	75
	DAFTAR ACUAN	76
	GAMBAR.	85
	TABEL	95
	LAMPIRAN.....	117

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Gejala Penuaan Instrinsik dan Ekstrinsik (<i>Photoaging</i>)	16
Tabel 3.1	Bahan Sediaan Krim	41
Tabel 3.2	Kategori Nilai Keadaan Kulit.....	44
Tabel 3.3	Kategori Respon Iritasi	45
Tabel 4.1	Rerata Kadar Aktivitas Antioksidan (%)	49
Tabel 4.2	Hasil Pengamatan Organoleptik Krim	50
Tabel 4.3	Hasil Uji Mikrobiologi.....	56
Tabel 4.4	Hasil Pengamatan <i>Freeze and Thaw</i>	60
Tabel 4.5	Hasil Uji Keamanan pada Kulit (n=30)	63
Tabel 4.6	Hasil Respon Relawan (n=30)	63
Tabel 4.7	Rerata Nilai Parameter Kulit Sebelum Perlakuan	65
Tabel 4.8	Rerata Kelembaban Kulit Antar Kelompok Sebelum Perlakuan	66
Tabel 4.9	Rerata Kelembaban Kulit Antar Kelompok Setelah Perlakuan ..	67
Tabel 4.10	Rerata Elastisitas Kulit Antar Kelompok Sebelum Perlakuan	68
Tabel 4.11	Rerata Elastisitas Kulit Antar Kelompok Setelah Perlakuan	69
Tabel 4.12	Rerata Kecerahan Kulit Antar Kelompok Sebelum Perlakuan ...	70
Tabel 4.13	Rerata Kecerahan Kulit Antar Kelompok Setelah Perlakuan	70
Tabel 4.14	Tabel Prosentase Peredaman.....	96
Tabel 4.15	Aktivitas Antioksidan.....	96
Tabel 4.16	Diameter Globul EKGc, minggu 0, T=25±2°C, n=300.....	97
Tabel 4.17	Diameter Globul EGM minggu 0, T= 25±2°C, n=300.....	97
Tabel 4.18	Diameter Globul EKGc, t = minggu ke-2, T=25±2°C, n=300 ...	98
Tabel 4.19	Diameter Globul EKGc, t = minggu ke-2, T=4°C, n=300	98
Tabel 4.20	Diameter Globul EKGc, t = minggu ke-2, T= 40°C, n=300	99
Tabel 4.21	Diameter Globul EGM, t = minggu ke-2, T= 40°C, n=300	99
Tabel 4.22	Diameter Globul EGM, t = minggu ke-2, T=4°C, n=300	100
Tabel 4.23	Diameter Globul EGM, t = minggu ke-2, T=40°C, n=300	100
Tabel 4.24	Diameter Globul EKGc, t = minggu ke-4, T= 25±2°C, n=300 ..	101
Tabel 4.25	Diameter Globul EKGc, t = minggu ke-4, T= 4°C, n=300	101
Tabel 4.26	Diameter Globul EKGc, t = minggu ke-4, T= 40°C, n=300	102
Tabel 4.27	Diameter Globul EGM, t = minggu ke-4, T= 25±2°C, n=300	102
Tabel 4.28	Diameter Globul EGM, t = minggu ke-4, T= 4°C, n=300	103
Tabel 4.29	Diameter Globul EGM, t = minggu ke-4, T= 40°C, n=300	103
Tabel 4.30	Diameter Globul EKGc, t = minggu ke-6, T= 25±2°C, n=300 ..	104
Tabel 4.31	Diameter Globul EKGc, t = minggu ke-6, T= 4°C, n=300	104
Tabel 4.32	Diameter Globul EKGc, t = minggu ke-6, T= 40°C, n=300	105
Tabel 4.33	Diameter Globul EGM, t= minggu ke-6, T= 25±2°C, n= 300	105
Tabel 4.34	Diameter Globul EGM, t = minggu ke-6, T= 4°C, n=300	106
Tabel 4.35	Diameter Globul EGM, t = minggu ke-6, T= 40°C, n=300	106
Tabel 4.36	Diameter Globul EKGc, t = minggu ke-8, T= 25±2°C, n=300 ..	107
Tabel 4.37	Diameter Globul EKGc, t = minggu ke-8, T= 4°C, n=300	107
Tabel 4.38	Diameter Globul EKGc, t = minggu ke-8, T= 40°C, n=300	108
Tabel 4.39	Diameter Globul EGM, t = minggu ke-8, T= 25±2°C, n=300	108
Tabel 4.40	Diameter Globul EGM ,t = minggu ke-8, T= 4°C, n=300	109
Tabel 4.41	Diameter Globul EGM ,t = minggu ke-8, T= 40°C, n=300	109

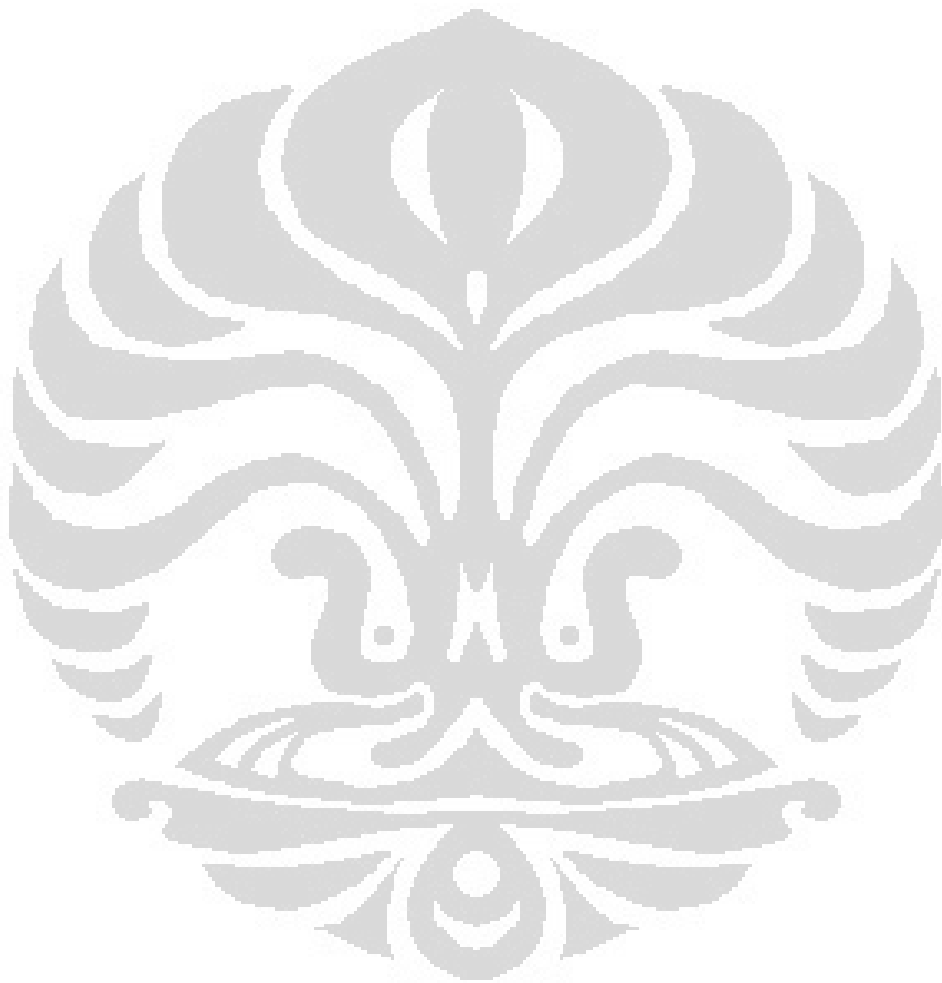
Tabel 4.42	Diameter Globul EKGC, t = minggu ke-10, T= 25±2°C, n=300	110
Tabel 4.43	Diameter Globul EKGC, t = minggu ke-10, T= 4°C, n=300	110
Tabel 4.44	Diameter Globul EKGC, t = minggu ke-10, T= 40°C, n=300	111
Tabel 4.45	Diameter Globul EGM, t = minggu ke-10, T= 25±2°C, n=300 ..	111
Tabel 4.46	Diameter Globul EGM, t = minggu ke-10, T= 4°C, n=300	112
Tabel 4.47	Diameter Globul EGM, t = minggu ke-10, T= 40°C, n=300	112
Tabel 4.48	Diameter Globul EKGC, t = minggu ke-12, T= 25±2°C, n=300	113
Tabel 4.49	Diameter Globul EKGC, t = minggu ke-12, T= 4°C, n=300	113
Tabel 4.50	Diameter Globul EKGC, t = minggu ke-12, T= 40°C, n=300	114
Tabel 4.51	Diameter Globul EGM, t = minggu ke-12, T= 25±2°C, n=300 ..	114
Tabel 4.52	Diameter Globul EGM, t = minggu ke-12, T= 4°C, n=300	115
Tabel 4.53	Diameter Globul EGM, t = minggu ke-12, T= 40°C, n=300	115
Tabel 4.54	Tabel Sifat Aliran Air EGM (t=0).....	116
Tabel 4.55	Tabel Sifat Aliran Air EGM (t=84).....	116
Tabel 4.56	Tabel Sifat Aliran Air EKGC (t=0).....	116
Tabel 4.57	Tabel Sifat Aliran Air EKGC (t=84).....	116



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Penyebab dan Pengaruh Radikal Bebas	6
Gambar 2.2	Peranan Antioksidan pada Radikal Bebas	7
Gambar 2.3	Pengaruh Sinar Ultraviolet pada Homeostasis Kolagen.....	18
Gambar 2.4	Peranan Antioksidan terhadap Kolagen	26
Gambar 2.5	Regimen Perawatan Penuaan Kulit.....	27
Gambar 3.1	Skema Hubungan Antara Variabel Penelitian	35
Gambar 3.2	Skema Rancangan Penelitian	36
Gambar 4.1	Aktivitas Antioksidan	48
Gambar 4.2	Hasil Pengukuran pH pada Suhu Kamar ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$)	51
Gambar 4.3	Diameter globul	52
Gambar 4.4	Diameter globul Minggu ke- 4	52
Gambar 4.5	Diameter globul Minggu ke- 6	53
Gambar 4.6	Diameter globul Minggu ke- 8	53
Gambar 4.7	Diameter globul Minggu ke- 10	54
Gambar 4.8	Diameter globul Minggu ke- 12	54
Gambar 4.9	Kurva Sifat Alir EGM	55
Gambar 4.10	Kurva Sifat Alir EKGK	56
Gambar 4.11	Gambar Uji Stabilitas Krim.....	57
Gambar 4.12	Uji Stabilitas Krim Minggu ke-4.....	58
Gambar 4.13	Uji Stabilitas Krim Minggu ke-6.....	58
Gambar 4.14	Uji Stabilitas Krim Minggu ke-8.....	59
Gambar 4.15	Uji Stabilitas Krim Minggu ke-10.....	59
Gambar 4.16	Uji Stabilitas Krim Minggu ke-12.....	60
Gambar 4.17	Sebelum Uji Mekanik.....	61
Gambar 4.18	Setelah Uji Mekanik.....	61
Gambar 4.19	<i>Gamma Chamber</i>	63
Gambar 4.20	Uji <i>SCPT</i> dan <i>RPOT</i>	64
Gambar 4.21	Perbandingan Kelembaban Kulit Sebelum Perlakuan (t_0) dan Setelah Perlakuan (t_{30}).....	67
Gambar 4.22	Perbandingan Elastisitas Kulit Sebelum Perlakuan (t_0) dan Setelah Perlakuan (t_{30}).....	69
Gambar 4.23	Perbandingan Kecerahan Kulit Sebelum Perlakuan (t_0) dan Setelah Perlakuan (t_{30}).....	71
Gambar 4.24	Buah Manggis (<i>Garcinia mangostana</i> L.).....	86
Gambar 4.25	Pegagan (<i>Centella asiatica</i> L.).....	86
Gambar 4.26	Ekstrak Manggis dan Pegagan.....	87
Gambar 4.27	Struktur Kimia Kandungan Kulit Manggis (A).....	88
Gambar 4.28	Struktur Kimia Kandungan Kulit Manggis (B).....	89
Gambar 4.29	Struktur Kimia Kandungan Pegagan	90
Gambar 4.30	Pengenceran DPPH dan Penentuan Serapan DPPH.....	91
Gambar 4.31	Kurva Serapan Larutan Pereaksi DPPH	91
Gambar 4.32	Penyiapan dan Pengukuran Serapan Peredaman DPPH Larutan Kontrol Asam Askorbat	92
Gambar 4.33	Gambar Alat	93
Gambar 4.34	Proses Pengukuran pH.....	93

Gambar 4.35	Alat Uji <i>freeze and thaw</i>	94
Gambar 4.36	Gambar Alat Uji <i>SCPT</i> dan <i>RPOT</i>	94



DAFTAR SINGKATAN

a/m	=	air dalam minyak
BPPT	=	Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi
CAE	=	<i>Centella asiatica extract</i>
cm	=	<i>centimeter</i>
cps	=	<i>centripoice</i>
DNA	=	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
DPPH	=	<i>2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
EC ₅₀	=	Konsentrasi efektif yang diperlukan untuk menurunkan 50% intensitas serapan setelah dibandingkan dengan blanko
EKGC	=	Ekstrak Kombinasi <i>Garcinia mangostana</i> L. dan <i>Centella asiatica</i> L.
EGM	=	Ekstrak <i>Garcinia mangostana</i> L.
g	=	gram
KHM	=	Koefisien Hambat Minimum
mL	=	mili liter
mm	=	milimeter
NADPH	=	<i>Nicotinamide Adenine Dinucleotida Phosphate</i>
nm	=	nanometer
P	=	Populasi
pH	=	derajat keasaman
R	=	Random
ROS	=	<i>Reactive Oxygen Species</i>
rpm	=	<i>revolution per minute</i>
S	=	Sampel
SCPT	=	<i>Single Closed Patch Test</i>
SK MENKES	=	Surat Keputusan Menteri Kesehatan
t ₀	=	sebelum perlakuan (hari ke-0)
t ₃₀	=	setelah perlakuan (hari ke-30)
UV	=	ultraviolet
UV A	=	ultraviolet tipe A
UV B	=	ultraviolet tipe B
UV Vis	=	ultraviolet visibel
w/o	=	<i>water in oil</i>
µm	=	mikro meter

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	<i>Certificate of Analysis Dry Extract Garcinia mangostana L</i>	118
Lampiran 2	<i>Material Safety Data Sheet of Garcinia mangostana L</i>	119
Lampiran 3	<i>Certificate of Analysis Dry Extract Centella asiatica L</i>	120
Lampiran 4	<i>Material Safety Data Sheet of Centella asiatica L</i>	121
Lampiran 5	Kerangka Konsep.....	122
Lampiran 6	Alur Penelitian.....	123
Lampiran 7	Hasil Uji Ekstrak Manggis dan Pegagan.....	124
Lampiran 8	Hasil Uji Fitokimia Manggis dan Pegagan	125
Lampiran 9	Uji <i>in vitro</i> Antioksidan.....	126
Lampiran 10	Naskah Penjelasan Relawan.....	127
Lampiran 11	<i>Informed Consent</i>	129
Lampiran 12	<i>Case Report Form</i>	130
Lampiran 13	Laporan Harian Relawan.....	131
Lampiran 14	<i>COA Parafin Oil</i>	132
Lampiran 15	<i>Material Safety Data Sheet of Parafin Oil</i>	133
Lampiran 16	<i>COA Cetyl Alcohol</i>	137
Lampiran 17	<i>COA PEG-Stearate</i>	138
Lampiran 18	<i>COA Xanthan Gum</i>	140
Lampiran 19	<i>Certificate of Analysis Methyl Paraben</i>	141
Lampiran 20	<i>Certificate of Analysis Triethanolamine</i>	142
Lampiran 21	Persetujuan Etik.....	144

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kecenderungan gaya hidup “*back to nature*” menyebabkan penggunaan obat tradisional, obat herbal, maupun suplemen makanan cenderung meningkat, hal ini terjadi di banyak negara maju maupun negara yang sedang berkembang termasuk Indonesia (Gusmali dan Gitawati, 2001). Menyikapi kondisi ini, banyak industri obat tradisional yang memproduksi obat tradisional (OT), obat herbal ataupun suplemen, yang seringkali diklaim “tanpa efek samping” karena bersifat “alami”, dan hanya melaporkan keberhasilannya saja (efektif) sedangkan ketidakberhasilan obat serta efek samping tidak dilaporkan (Turana, 2003).

Lebih dari 90% produk tersebut masih didasarkan manfaat empirik, tanpa pembuktian preklinik. Di lain pihak, sebagian pengobat tradisional juga menggunakan obat tradisional berupa ramuan dalam praktek pengobatannya dan jenis tanaman obat yang digunakan kemungkinan besar juga termasuk bahan yang belum memiliki data uji preklinik dan digunakan berdasarkan data empirik (BPOM, 2003a, 2003b, 2004c, 2005d, 2006e, 2007f).

Beberapa manfaat obat herbal di bidang medik dan estetik antara lain sebagai analgesik, immunomodulator, anti kanker, antibakterial, antihistamin, antioksidan, proteksi terhadap UV, pelembab, dan anti selulit (Greenwald et al., 2000; VanWyk and Wink, 2004; Jellin et al., 2006; Skidmore-Roth, 2006; Barnes, 2002; Sukandar, 2004). Antioksidan lebih banyak dibahas dan diklaim bermanfaat untuk mencegah dan mengobati berbagai macam penyakit (Skidmore-Roth, 2006; Dweck, 2009; Matsui et al., 2008; Wong et al., 2001).

Antioksidan saat ini banyak ditemui dalam bentuk suplemen oral dan juga dalam sediaan kosmetik (Baumann, 2007; Pinnell, 2003; Linton et al., 2008). Klaim antioksidan yang beredar di media masa seringkali menjadi tidak rasional, *misuse* dan menimbulkan *misconception* (Ardyanto, 2006; Matsui et al., 2008) sehingga pada akhirnya konsumen yang dirugikan. Klaim manfaat antioksidan alami dalam sediaan kosmetik antara lain untuk mengatasi proses penuaan kulit (*anti aging*) (Baumann, 2006; Pinnell, 2003; Burke, 2006).

Penggunaan kosmetik yang mengandung antioksidan untuk mengatasi tanda-tanda penuaan kulit didasarkan pada teori radikal bebas. Pengaruh lingkungan seperti sinar ultraviolet, asap rokok, polutan, temperatur, nutrisi dan gaya hidup, semua memberikan kontribusi dalam pembentukan radikal bebas dan *Reactive Oxygen Species (ROS)*. Hal ini merangsang peradangan kulit yang akan memicu serangkaian reaksi biokimia di kulit dan menyebabkan kerusakan jaringan kolagen dermis sehingga terjadi penuaan dini (*photo aging/premature skin aging*) (Pinnell, 2003; Burke, 2006; Gilchrist, 1996).

Dewasa ini banyak dikembangkan produk perawatan kulit mengandung antioksidan dari bahan herbal yang diklaim dapat melawan tanda-tanda penuaan kulit (Stallings and Lupo, 2009; Thiele, 2000; Khaiat, 2000; Graft, 2005). Salah satu tanaman Indonesia yang bisa dimanfaatkan untuk tujuan tersebut adalah buah manggis (*Garcinia mangostana L.*) dan pegagan (*Centella asiatica L.*).

Manggis merupakan salah satu buah favorit yang digemari oleh masyarakat Indonesia. Kulit buah manggis yang dibuang, ternyata dapat dikembangkan sebagai kandidat obat. Kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) selama ini diketahui memiliki kandungan antioksidan yang tinggi. Sifat antioksidannya itu dikatakan melebihi vitamin E dan vitamin C (Iswari, 2011). Penggunaan kulit manggis secara oral telah dipakai secara luas baik berupa kapsul maupun sirup, dan khasiat secara oral telah diteliti bermanfaat sebagai antioksidan dan memperbaiki kondisi kulit (Iswari, 2011).

Pegagan (*Centella asiatica L.*) dikenal di Indonesia sebagai lalap dan resep tradisional secara turun temurun digunakan sebagai masker dan kosmetik untuk kecantikan kulit (Wasitaatmadja, 2011; Tilaar et al., 2009). Pegagan (*Centella asiatica L.*) juga diketahui memiliki efek antioksidan dan meningkatkan sintesis kolagen (Hashim et al., 2011; Baumann, 2006; Brinkhaus et al., 2000). Pegagan telah banyak digunakan dalam industri kosmetik untuk menjadi salah satu bahan aktif kosmetik di dalam berbagai sediaan, misalnya sabun, krim pelembab, krim *anti aging*, krim antioksidan dan krim anti selulit (Lee et al., 2006; Khaiat, 2000; Thornfeldt and Bourne, 2010).

Penelitian mengenai manfaat kulit manggis dan herba pegagan telah banyak dipublikasikan, namun masih terbatas pada uji *in vitro* (Iswari, 2011;

Nganlansom et al., 2008; Jamil et al., 2006). Secara *in vivo* manfaat ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dalam sediaan kosmetik telah diteliti manfaatnya dalam meningkatkan kelembaban kulit, menyembuhkan luka, bersifat anti mikroba dan anti inflamasi (Tilaar et al., 2009; Wasitaatmadja, 2011; Thornfeldt and Bourne, 2010). Sedangkan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) dalam sediaan kosmetik telah banyak diteliti manfaatnya pada sintesis kolagen (Nganlansom et al., 2008; Jamil et al., 2006; EMEA, 1998; MacKay and Miller, 2003; Thornfeldt and Bourne, 2010; Khaiat, 2000).

Kulit manggis dan pegagan disebut-sebut memiliki aktivitas antioksidan yang bermanfaat untuk mengatasi proses penuaan kulit (Khaiat, 2000; Thornfeldt and Bourne, 2010), namun data penelitian *in vivo* masih sangat minim. Selain itu belum ada data penelitian tentang analisis uji *in vitro* dan uji *in vivo* pada kombinasi ekstrak tersebut, karena itu dilakukan penelitian tentang ekstrak kombinasi kedua tanaman ini dalam sediaan kosmetik dan analisisnya secara *in vitro* dan *in vivo*. Penelitian *in vivo* menggunakan metode *Randomized Control Trial* dengan sediaan krim berisi ekstrak tunggal kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) sebagai sediaan kontrol. Penelitian ini juga untuk menganalisis korelasi hasil uji *in vitro* dan *in vivo* ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) sebagai krim antioksidan. Pemilihan pegagan sebagai kombinasi dalam penelitian ini karena efektifitas pegagan dalam kombinasi dengan tumbuhan obat lainnya telah terbukti dapat meningkatkan kelembutan dan elastisitas pada kulit wajah pada uji klinik acak tersamar ganda dengan kontrol plasebo pada 28 wanita usia 34-67 tahun (Sommerfeld, 2007).

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka diajukan permasalahan dalam penelitian ini yaitu:

- a. Apakah ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) memiliki aktivitas antioksidan secara *in vitro*?
- b. Apakah sediaan krim yang digunakan dalam penelitian ini memiliki stabilitas yang baik ?
- c. Apakah ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba

- pegagan (*Centella asiatica* L.) dalam sediaan krim bersifat aman terhadap kulit?
- d. Apakah ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) dalam sediaan krim memiliki manfaat terhadap beberapa parameter penuaan kulit?
 - e. Apakah uji *in vitro* dan *in vivo* ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) memiliki relevansi?

1.3 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan identifikasi masalah, maka yang menjadi hipotesis dalam penelitian adalah sebagai berikut :

- a. Ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) memiliki aktivitas antioksidan secara *in vitro*.
- b. Sediaan krim yang digunakan dalam penelitian ini memiliki stabilitas yang baik.
- c. Ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) dalam sediaan krim bersifat aman terhadap kulit.
- d. Ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) dalam sediaan krim memiliki manfaat terhadap beberapa parameter penuaan kulit.
- e. Uji *in vitro* dan *in vivo* ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) memiliki relevansi.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Menganalisis uji *in vitro* dan *in vivo* ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) sebagai krim antioksidan.

1.4.2 Tujuan khusus

- a. Membuktikan adanya aktivitas antioksidan ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) secara *in vitro*.

- b. Memperoleh sediaan krim yang digunakan dalam penelitian dengan stabilitas yang baik.
- c. Menguji keamanan ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) dalam sediaan krim terhadap kulit berupa reaksi alergi maupun reaksi iritasi.
- d. Menguji manfaat ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) dalam sediaan krim terhadap beberapa parameter penuaan kulit.
- e. Menganalisis relevansi uji *in vitro* ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) dengan uji *in vivo* sediaan krim yang mengandung ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.)

1.5 Manfaat Penelitian

Dalam bidang pelayanan masyarakat, penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi pada masyarakat agar menggunakan produk antioksidan secara rasional. Penelitian ini juga dapat menjadi referensi ilmiah bagi penulis lainnya dalam membahas penggunaan krim antioksidan.

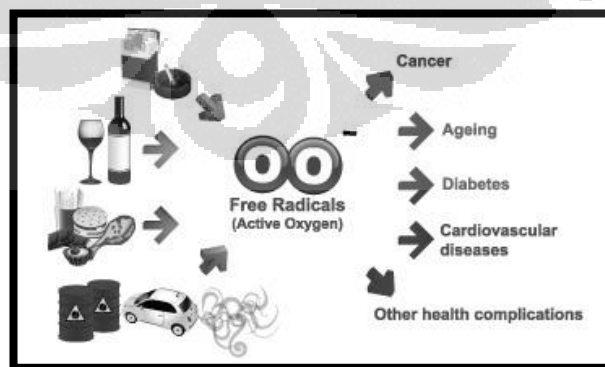
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Antioksidan

2.1.1 Antioksidan dan Radikal Bebas

Radikal bebas adalah senyawa kimia yang reaktif dan tidak stabil karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada molekul tubuh (Pangkahila, 2007). Radikal bebas sebenarnya diproduksi secara alamiah sebagai produk samping dari proses pembentukan energi (Sibuea, 2003). Selain dari proses metabolisme, radikal bebas juga muncul sebagai respon terhadap beberapa situasi misalnya paparan sinar matahari, *X-ray*, rokok dan polusi lingkungan.

Radikal bebas merusak bermacam-macam struktur seluler seperti protein, membran seluler, materi genetik (DNA) dan dapat memicu reaksi biokimia dalam tubuh. Radikal bebas yang berlebihan di dalam tubuh dapat memicu stres oksidatif yang berkontribusi terhadap penuaan, peradangan dan kanker (Sayre et al., 2001). Akumulasi radikal bebas akan mempercepat proses penuaan dalam berbagai sistem tubuh termasuk kulit (Sibuea, 2003). Resiko penyakit kronis seperti kanker dan penyakit jantung dapat meningkat seiring dengan banyaknya radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh manusia dan yang masuk ke dalam tubuh manusia (Baillie et al., 2009; Bjelakovic et al., 2007; Benzie, 2003).

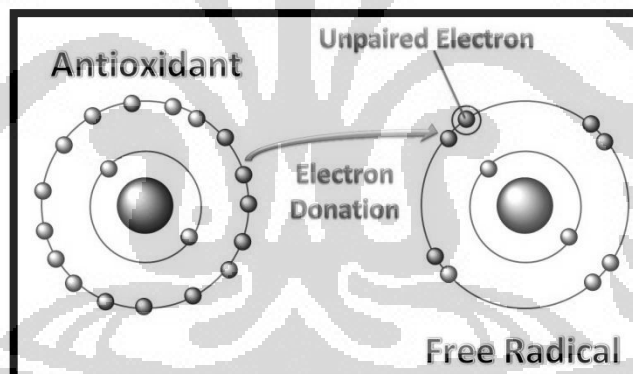


[Sumber: Russell, 2011, telah diolah kembali]

Gambar 2.1 Penyebab dan Pengaruh Radikal Bebas

Radikal bebas dan reaksi oksidasi dapat dihambat oleh suatu zat yang disebut antioksidan. Antioksidan adalah zat yang dapat menunda, memperlambat dan secara alamiah menjadi molekul-molekul yang mampu menetralkan efek oksidasi yang merusak dalam tubuh. Antioksidan terdiri dari macam-macam senyawa termasuk nutrisi (vitamin dan mineral) dan enzim serta asam amino yang diyakini berperan penting dalam mencegah perkembangan beberapa penyakit (Pangkahila, 2007).

Manfaat antioksidan dalam dunia kesehatan adalah untuk mencegah penyakit kanker, aterosklerosis, penuaan dini dan penyakit-penyakit lain yang disebabkan oleh radikal bebas (Baillie et al., 2009; Bjelakovic et al., 2007; Benzie, 2003). Antioksidan menetralkan radikal bebas yang merusak dengan mengurangi molekul yang reaktif dan dengan demikian melindungi sel-sel dari pemicu-pemicu stres endogen dan eksogen (Bosset, 2003).



[sumber: Gubuan, 2011, telah diolah kembali]

Gambar 2.2 Peranan Antioksidan pada Radikal Bebas

Secara umum, ada dua kategori antioksidan yaitu alami dan sintetik. Saat ini perhatian sangat meningkat dalam penemuan bahan-bahan alami khususnya antioksidan untuk pemakaian dalam makanan atau bahan obat untuk menggantikan antioksidan sintetik (Zheng and Wang, 2009).

Antioksidan berperan untuk mengurangi efek radikal bebas setidaknya melalui 3 cara, yaitu:

- a. mengikat/*scavenging* ($R + PH \rightarrow RH + P$)
- b. menghambat/inhibisi ($RO_2 + PH \rightarrow ROOH + P$)
- c. proteksi ($ROOH + PH \rightarrow ROH + POH$)

Dimana R sama dengan komponen bervariasi dan PH antioksidan protektif yang mampu memberikan ion hidrogen (Wanashundara and Shahidi, 2005).

2.1.2 Proteksi Antioksidan (Percival, 1998)

Reactive Oxygen Species (ROS) adalah istilah yang digunakan secara luas mencakup semua molekul yang sangat reaktif yaitu molekul yang mengandung O_2 termasuk radikal bebas. Macam-macam *ROS* diantaranya radikal hidroksil, radikal anion superoksida, hidrogen peroksida, singlet oksigen, radikal nitrik oksida dan beberapa variasi peroksida lipid. Untuk melindungi sel dan sistem organ tubuh melawan efek *ROS*, terdapat antioksidan endogen dan eksogen yang berfungsi secara interaktif dan sinergis untuk menetralkan radikal bebas. Antioksidan tersebut meliputi :

a. *Nutrient-derived antioxidants*

Misalnya asam askorbat, tokoferol, tokotrienol, karotenoid, glutathion dan *lipoic acid*.

b. *Antioxidant enzymes*

Antara lain superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase dan glutathion reduktase.

c. *Metal binding protein*

Seperti ferritin, laktoferrin, albumin dan seruloplasmin.

d. *Antioxidant phytonutrient*

Banyak terdapat pada tanaman yang dijadikan bahan makanan.

2.1.3 Antioksidan Herbal

Indonesia berpotensi sebagai penghasil tanaman obat karena keanekaragaman hayati yang dimilikinya. Indonesia menempati urutan kedua terbesar dunia setelah Brazil dalam hal keanekaragaman hayati (Djauhariya dan Hernani, 2004). Tanaman-tanaman ini ada yang telah diuji secara klinis dan memiliki potensi cukup besar untuk dikembangkan sebagai obat herbal.

Senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan seperti alkaloid, terpenoid, golongan fenol dan sebagainya sangat potensial untuk diteliti dan dikembangkan manfaatnya oleh para peneliti Indonesia (Sinly, 2008). (Saha, 2008; Aliyu et al., 2009). Senyawa flavonoid yang terkandung dalam herbal memiliki aktivitas antioksidan sebagai penangkap radikal bebas karena mengandung gugus hidroksil yang bersifat sebagai reduktor dan dapat bertindak sebagai donor hidrogen terhadap radikal bebas. Senyawa ini banyak terdapat di dalam berbagai jenis tumbuhan terutama sayur-sayuran dan buah-buahan sehingga dapat menurunkan risiko terserang penyakit kanker dan jantung koroner (Silalahi, 2006; Saha, 2008; Aliyu et al., 2009).

Aktivitas antioksidan dari senyawa fenolik terutama karena adanya reaksi reduksi oksidasi yang berperan penting dalam menyerap dan menetralkan radikal bebas, mengurangi oksigen singlet dan triplet serta dekomposisi peroksida (Zheng and Wang, 2009).

Telah banyak penelitian tentang aktivitas antioksidan dari beberapa tanaman herbal dan telah diaplikasikan di dalam dunia medis dan estetik (Iswari, 2011, Hashim, 2011; Tiwari, 2011) diantaranya adalah kulit manggis dan pegagan. Karena itu di dalam penelitian ini kulit manggis dan pegagan diambil sebagai bahan penelitian.

2.1.4 Uji *in vitro*

2.1.4.1 Jenis Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat ditetapkan melalui metode Transfer Atom Hidrogen (HAT) atau Transfer Elektron (ET). Prinsip metode HAT adalah dengan memanfaatkan kontrol kinetik, termasuk kompetisi yang terjadi antara antioksidan dan substrat memperebutkan peroksil radikal yang akhirnya akan mendekomposisi senyawa azo.

Metode ET dilakukan berdasarkan reaksi reduksi yang dialami oleh oksidan sehingga akan mengubah warnanya (ketika tereduksi). Contoh metode HAT antara lain *ABTS/TEAC*, *CUPRAC*, *DPPH*, *Folin-Ciocalteu*, dan *FRAP*. Masing-masing metode tersebut menggunakan reagen dan standar potensial yang berbeda (Apak et al., 2007).

2.1.4.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode *DPPH* diperkenalkan pertama kali oleh Blois pada tahun 1958. *DPPH* (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) merupakan radikal bebas atau zat pengoksidan yang stabil yang mempunyai satu kelebihan elektron pada strukturnya. Metode ini dapat digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan pada ekstrak tanaman dan makanan.

Prinsip kerja metode *DPPH* adalah berdasarkan adanya senyawa (AH) akan mendonorkan hidrogen (H) pada *DPPH* sehingga mengubah radikal bebas *DPPH* yang berwarna ungu menjadi berwarna kuning pucat. Kemudian dengan Spektrofotometer UV-Vis diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm.

Metode *DPPH* tepat digunakan untuk menganalisis senyawa antioksidan yang larut dalam pelarut organik, khususnya alkohol. Metode ini banyak digunakan untuk mengukur dan membandingkan aktivitas antioksidan senyawa-senyawa fenolik (Liu et al., 2007; Manian et al., 2008).

2.2 Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) selama ini diketahui memiliki kandungan antioksidan yang tinggi (Gambar 2.3.). Berbagai penelitian di luar negeri menjelaskan, kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang sudah matang mengandung polihidroksi-xanton yang merupakan derivat mangostin dan β -mangostin. Xanthon mempunyai kemampuan sebagai antioksidan, antibakteri, antitumor dan antikanker. Sifat antioksidannya itu dikatakan melebihi vitamin E dan vitamin C (Iswari, 2011).

2.2.1 Taksonomi Manggis:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Parietales
Suku	: Guttiferae

Marga : *Garcinia*
Jenis : *Garcinia mangostana* L.

Di Indonesia manggis disebut dengan berbagai macam nama lokal, seperti angoita (Aceh), manggista (Sumatera Utara), manggih (Sumatera Barat), manggu (Jawa Barat), mangghis (Madura), kirasa (Makassar) dan mangustang (Halmahera) (Hutapea, 1994).

2.2.2 Ekologi dan Penyebaran

Garcinia Mangostana L. merupakan tanaman buah yang banyak tumbuh di daerah iklim tropis. Tanaman manggis ini dapat ditemukan di negara-negara Asia Tenggara seperti Thailand, Malaysia, Filipina, Vietnam dan termasuk Indonesia, kemudian tanaman ini tersebar ke negara-negara tropis lainnya termasuk Sri Lanka, India Selatan, Amerika Tengah, Brazil dan Queensland (Australia) (Osman dan Milan, 2001).

2.2.3 Morfologi

Garcinia Mangostana L. merupakan pohon buah dengan tinggi mencapai 25 meter. Berbatang kayu dengan warna hijau kotor yang bulat tebal dan tegak dengan diameter batang 45 cm memiliki daun tunggal yang berwarna hijau dan berbentuk lonjong dengan ujung runcing, pangkal yang tumpul dan tepi yang rata, pertulangan menyirip, berukuran panjang 20-25 cm dan lebar 6-9 cm. Berbunga tunggal berwarna kuning, berkelamin dua dan berada di ketiak daun dengan panjang 1 - 2 cm. Buah berbentuk bola yang tertekan, garis tengah 3,5-7 cm, berwarna ungu tua, dinding buah tebal dan berdaging. Berbiji bulat, berwarna kuning dengan diameter ± 2 cm, dalam satu buah terdapat 5-7 biji, diselimuti oleh selaput biji yang tebal dan berair. Berakar tunggang berwarna putih kecoklatan (Hutapea, 1994).

2.2.4 Kandungan Kimia dan Manfaat

Kandungan kimia kulit buah manggis antara lain derivat xanton yaitu mangostin, gartanin, α -mangostin, γ -mangostin, garsimangoson B, garsinon D, garsinon E, mangostinon, kudraxanton G, garsimangoson A, garsimangoson C.

2.2.5 Kajian Farmakologi Kulit Manggis

Pemanfaatan kulit buah manggis sebenarnya sudah dilakukan sejak dahulu. Kulit buah manggis secara tradisional digunakan pada berbagai pengobatan di negara India, Myanmar Sri langka dan Thailand. Efek farmakologi dari kulit buah manggis antara lain aktivitas antihistamin, antiinflamasi (Nakatni et al., 2002), antioksidan (Moongkarndi et al., 2004), antikanker (Ho et al., 2002) dan antimikroorganisme (Suksamrarn et al., 2003).

2.3 Pegagan (*Centella asiatica* L.)

Selama ini pegagan (*Centella asiatica* L.) dikenal di Indonesia sebagai lalap dan resep tradisional secara turun temurun digunakan sebagai masker dan kosmetik untuk kecantikan kulit (Tilaar, 2009; Wasitaatmadja, 2011). Ternyata telah banyak penelitian tentang manfaat pegagan (*Centella asiatica* L.) bagi kesehatan dan kecantikan kulit (Gambar 2.4.). Puziah Hashim (2011) menyatakan bahwa pegagan (*Centella asiatica* L.) memiliki efek antioksidan, meningkatkan sintesis kolagen, anti selulit serta memiliki kemampuan proteksi terhadap sinar UV.

2.3.1 Taksonomi Pegagan (*Centella asiatica* L.) :

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dikotyledonae
Bangsa	: Umbellales
Suku	: Umbelliferae
Marga	: Centella
Jenis	: <i>Centella asiatica</i> L.

Nama lain pegagan (*Centella asiatica* L.) antara lain daun kaki kuda dan antanan, pegaga (Ujung Pandang), antanan gede, antanan rambat (Sunda), dau tungke (Bugis), gagan-gagan, rending, kerok batok (Jawa), kos tekosan (Madura) dan kori-kori (Halmahera) (Lasmadiwati, 2004; Yuniarti, 2008).

Pegagan juga dikenal dengan beberapa istilah asing diantaranya *Ji xue cao*, *Indian pennywort*, *indische waternavel* dan *paardevoet* (Wijayakusuma dan

Dalimartha, 2006).

2.3.2 Deskripsi Tanaman

Pegagan berasal dari Asia Tropik tersebar di Asia Tenggara, India, Cina, Jepang, Australia dan negara-negara lain. Sejak ribuan tahun lalu, tanaman ini telah digunakan sebagai obat untuk mengobati berbagai penyakit pada hampir seluruh belahan dunia. Selain digunakan sebagai obat, pegagan juga dikonsumsi sebagai lalap terutama oleh masyarakat di Jawa Barat.

Menurut Lasmadiwati et al. (2003) varietas pegagan ada dua macam yaitu pegagan merah dan pegagan hijau. Tanaman ini merupakan terna tahunan yang tumbuh merambat. Pegagan tidak mempunyai batang, rimpang pendek dan stolon yang merayap. Panjangnya antara 10 - 80 cm. Akar keluar dari setiap bonggol, banyak bercabang yang dapat membentuk tumbuhan baru.

Pegagan berdaun tunggal, berbentuk ginjal, panjang tangkai daun antara 5 - 15 cm. Tepi daun bergerigi atau beringgit, penampang 1 - 7 cm tersusun dalam roset yang terdiri atas 2 - 10 helai daun, kadang-kadang agak berambut. Bunga berwarna putih atau merah muda yang tersusun dalam karangan berbentuk payung, tunggal atau 3 - 5 buah bersama-sama keluar dari ketiak daun, panjang tangkai bunga 5 mm - 50 cm.

Buah pegagan berbentuk lonjong atau pipih, berbau harum dan rasanya pahit. Panjang buah antara 2 - 2,5 mm.

2.3.3 Kandungan Kimia

Menurut Kumar dan Gupta (2006), secara umum kandungan bahan aktif yang ditemukan dalam pegagan (*Centella asiatica* L.) meliputi triterpenoid saponin, triterpenoid genin, minyak esensial, flavonoid dan fitosterol.

Kandungan triterpenoid saponin dalam pegagan berkisar 1-8%. Unsur yang utama dalam triterpenoid saponin adalah asiatikosida dan madekassosida (Kumar dan Gupta, 2006). Asiatikosida mampu bekerja sebagai detoksifikasi pada hati dan merupakan marker dalam penentuan standar bahan baku pada *Centella asiatica* L. (Selfitri, 2008). Madekassosida juga memiliki peran penting karena mampu memperbaiki kerusakan sel dengan merangsang sintesis kolagen (WHO,

1999; Jamil et al., 2007). Kolagen sangat penting sebagai bahan dasar pembentuk serat fibroblast. Sebagaimana diketahui bahwa korteks ovarium (tempat perkembangan folikel) tersusun atas serat-serat fibroblast. Dalam triterpenoid saponin ini juga terkandung beberapa unsur lain seperti centellosida, brahmosida, brahminosida serta B, C dan D centellasaonin yang saling bekerjasama dalam proses sintesa kolagen, akan tetapi unsur-unsur tersebut dalam jumlah yang sangat sedikit.

Triterpenoid genin terdiri atas beberapa unsur asam, unsur yang paling dominan adalah asam asiatik. Asam asiatik memegang peran farmakologi penting karena berperan dalam proses apoptosis sel kanker (Hsu et al., 2004). Di samping golongan triterpenoid, pegagan mengandung minyak esensial sebesar 0,1% dari seluruh kandungan bahan aktif didalamnya. Minyak esensial ini terbagi menjadi 2 jenis yang meliputi monoterpen dan sesquiterpen (Kumar dan Gupta, 2006). Monoterpen dan sesquiterpen banyak terdapat pada jaringan parenkim daun pegagan. Minyak esensial ini memberikan wangi yang khas pada tumbuhan pegagan (Wongfhun et al., 2009).

2.3.4 Efek Farmakologis

Pegagan memiliki efek farmakologi untuk kulit seperti antiinfeksi, hemostatis (penghenti perdarahan), mempercepat penyembuhan luka, merangsang sintesis kolagen dan melebarkan pembuluh darah tepi (vasodilator perifer) (Jamil et al., 2007).

2.4 Proses Penuaan Kulit

Proses penuaan merupakan proses fisiologis yang akan terjadi pada semua makhluk hidup yang meliputi seluruh organ tubuh termasuk kulit (Wasitaadmaja, 2011). Proses ini bersifat dinamis dan merupakan akumulasi secara progresif berbagai perubahan patologis di dalam sel dan jaringan yang terjadi seiring dengan berjalannya waktu (Gilcrest et al., 2003). Setiap orang tentu ingin terlihat muda tetapi proses penuaan secara perlahan-lahan berjalan terus dan kulit sebagai organ terluar merupakan salah satu jaringan tubuh yang secara langsung memperlihatkan terjadinya proses tersebut (Cunningham, 1998; Soepardiman, 2003).

Saat mulai terjadinya proses penuaan pada kulit tidak sama pada setiap orang. Pada orang tertentu proses penuaan kulit terjadi sesuai usianya sedangkan pada orang lain datangnya lebih cepat, keadaan ini disebut penuaan dini (*premature aging/ photoaging*). Hal ini menunjukkan bahwa proses penuaan pada setiap individu tergantung dari berbagai faktor-faktor yang mempengaruhi dan mempercepat proses penuaan kulit (Rowe and Guyuron, 2010; Soepardiman, 2003).

Terdapat dua macam penuaan kulit yaitu penuaan intrinsik dan ekstrinsik. Proses penuaan intrinsik (*intrinsic aging, true aging, chronologic aging*) merupakan proses penuaan kulit fisiologik yang berlangsung secara alamiah, disebabkan berbagai faktor dari dalam tubuh sendiri seperti genetik, hormonal dan rasial. Fenomena ini tidak dapat dicegah atau dihindari dan mengakibatkan perubahan kulit yang menyeluruh sesuai dengan penambahan usia (Soepardiman, 2003). Sedangkan proses penuaan dini (*extrinsic aging/ photo aging*) terjadi akibat berbagai faktor dari luar tubuh. Faktor lingkungan seperti sinar matahari, kelembaban udara, suhu, asap rokok, polutan, temperatur, nutrisi, gaya hidup dan berbagai faktor eksternal lainnya dapat mempercepat proses penuaan kulit sehingga terjadi penuaan dini. Semua hal tersebut memberikan kontribusi dalam pembentukan radikal bebas dan *Reactive Oxygen Species (ROS)* sehingga merangsang peradangan kulit yang akan memicu serangkaian reaksi biokimia di kulit dan menyebabkan kerusakan jaringan kolagen dermis sehingga terjadi penuaan dini (*photo aging/ premature skin aging*) (Rowe and Guyuron, 2010; Pinnell, 2003; Burke, 2006; Gilchrest, 1995).

Perubahan pada kulit terutama terjadi pada daerah yang terpapar sinar matahari seperti kulit wajah sehingga wajah terlihat lebih tua, tidak sesuai dengan usia yang sebenarnya. Berbagai masalah dan kelainan yang terjadi pada penuaan kulit yaitu:

a. Kulit kering dan kasar

Kulit menjadi kering disebabkan berkurangnya kadar air dalam lapisan kulit dan menurunnya fungsi kelenjar minyak dan kelenjar keringat. Permukaan kulit yang kasar dan kusam terjadi karena berkurangnya kemampuan regenerasi kulit dan adanya kecenderungan sel-sel kulit mati untuk saling melekat di permukaan kulit

(Pindha, 2000).

b. Kulit kendur, timbul kerutan dan lipatan kulit yang nyata

Keadaan ini disebabkan oleh perubahan faktor-faktor penunjang kulit, antara lain serabut kolagen dan elastin yang menjaga kelenturan kulit berubah menjadi kaku, tidak lentur sehingga kehilangan elastisitasnya; tulang dan otot mengalami atrofi, jaringan lemak subkutan berkurang disertai lapisan kulit yang tipis, menyokong timbulnya kerutan-kerutan dan lipatan-lipatan atau alur kulit yang nyata; pengaruh kontraksi otot-otot mimik yang tidak diikuti oleh kontraksi kulit yang sesuai mengakibatkan alur-alur keriput terutama di sekitar mulut, mata dan dahi (Pindha, 2000).

c. Bercak pigmentasi

Bercak pigmentasi yang tidak merata di permukaan kulit terjadi akibat perubahan pada distribusi pigmen melanin disertai fungsi melanosit yang menurun. Bercak tersebut dapat berupa efelid (*freckles*), lentigo, hipomelanosis gutata dan lain-lain (Pindha, 2000).

d. Berbagai tumor kulit jinak juga dapat terjadi pada penuaan kulit seperti akrokordon (*skin tag*), keratosis seboroik, dan angioma senilis. Pada *photo aging* dapat pula terjadi lesi prakanker kulit dan kelainan tumor ganas kulit seperti basalioma, karsinoma sel skuamosa dan melanoma maligna (Pindha, 2000).

Tabel 2.1 Gejala Penuaan Instrinsik dan Ekstrinsik (*Photoaging*)

[Sumber: Soepardiman, 2003; Wasitaatmadja, 1997]

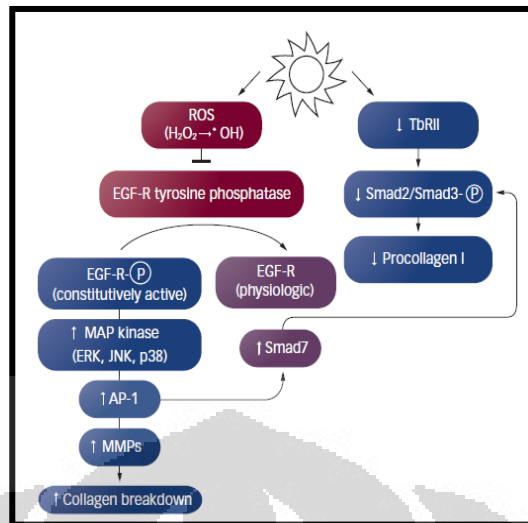
Penuaan instrinsik	Penuaan ekstrinsik
<ul style="list-style-type: none">- Kulit tipis dan halus- Kulit kering- Kerut halus, garis ekspresi lebih dalam- Kulit kendur- Dapat timbul tumor jinak	<ul style="list-style-type: none">- Kulit menebal dan kasar- Kulit kering- Kerut lebih dalam dan nyata- Bercak pigmentasi tidak teratur- Pelebaran pembuluh darah (telangiectasi)- Dapat timbul tumor jinak, prakanker maupun kanker kulit

2.4.1 Mekanisme Penuaan Kulit Ekstrinsik (*Photoaging*)

Radiasi UV pada kulit manusia mengaktifasi kompleks respon molekuler yang merusak jaringan ikat kulit. UV A secara tidak langsung berperan pada pembentukan *ROS*, yang selanjutnya menimbulkan efek peroksidasi lipid, aktivasi faktor transkripsi dan memutus ikatan *DNA*. UV B juga dapat mengakibatkan terbentuknya *ROS*, mekanisme utamanya adalah dengan berinteraksi langsung dengan *DNA* melalui induksi kerusakan *DNA*, berupa *cross linking* basa pirimidin yang berdekatan. Pada kulit yang mengalami *photoaging* aktivitas enzim yang mengikat oksigen seperti katalase, superoksid dismutase mengalami kerusakan (Gilchrest,1995). Paparan langsung sinar matahari khususnya radiasi UV akan menginduksi stres oksidatif melalui aktivasi enzim oksidase NADPH atau melalui peroksidasi lemak. Karena itu kulit berpotensi mengalami stres oksidatif ketika menerima radiasi UV dari matahari.

Pembentukan *ROS* terjadi dalam waktu kurang dari 30 menit setelah paparan UV, level hidrogen peroksida meningkat lebih dari dua kali lipat pada kulit manusia. Terbentuknya hidrogen peroksida setelah paparan UV jelas merupakan akibat dari fotokimia terbentuknya *ROS* (Fisher et al., 2002).

Radiasi UV menyebabkan terjadinya degradasi kolagen matur dan menghambat sintesis kolagen, terutama dengan menurunkan regulasi ekspresi gen prokolagen tipe I dan III yang mengakibatkan kehilangan kolagen kulit akut seperti yang ditunjukkan Gambar 2.3 (Fisher et al., 2002; Quan et al., 2004; Helfrich, et al., 2008).



Keterangan : *EGF* = epidermal growth factor; *ERK* = extracellular signal-regulated kinase; *JNK* = c-Jun amino-terminal kinases; *MAP* = mitogen-activated protein; *ROS* = reactive oxygen species

[Sumber: Helfrich et al., 2005]

Gambar 2.3 Pengaruh Sinar Ultraviolet pada Homeostasis Kolagen

2.4.2 Teori Penuaan Kulit

Berbagai teori proses penuaan telah dikemukakan para ahli namun sampai saat ini mekanisme yang pasti belum diketahui (Pangkahila, 2007; Soepardiman, 2003; Wasitaatmadja, 1997).

Teori radikal bebas dewasa ini lebih banyak dianut dan dipercaya sebagai mekanisme proses penuaan (Pangkahila, 2007). Radikal bebas akan terus menerus menghantam sel-sel tubuh guna mendapatkan pasangannya termasuk menyerang sel-sel tubuh yang normal, akibatnya sel-sel akan rusak, menua dan juga dapat mempercepat timbulnya kanker (Suryohudoyo, 2000).

Radikal bebas ini akan menyebabkan berbagai kerusakan pada kulit, yaitu:

- Radikal bebas dapat merusak bermacam-macam struktur seluler seperti *DNA*, protein dan membran seluler. Kerusakan protein dan asam-asam amino merupakan struktur utama kolagen dan elastin sehingga serat-seratnya menjadi kaku, tidak lentur dan kehilangan elastisitasnya.
- Kerusakan enzim-enzim yang bekerja mempertahankan fungsi sel menyebabkan kerusakan pada sel.
- Kerusakan pembuluh darah kulit sehingga menjadi melebar dan menipis.

d. Terjadi gangguan distribusi pigmen melanin dan melanosit sehingga terjadi pigmentasi yang tidak merata (Suryohudoyo, 2000).

2.4.3 Peranan Antioksidan pada Kulit

Kulit manusia merupakan suatu *barrier* yang melindungi tubuh dari lingkungannya. Dalam kehidupannya, manusia tidak dapat terlepas dari paparan sinar matahari serta substansi–substansi lain dalam lingkungannya yang seringkali merangsang produksi radikal bebas dalam kulit. Radikal bebas tersebut memiliki daya oksidatif sangat kuat yang berpotensi mengakibatkan rusaknya membran sel sehingga menyebabkan kematian sel atau disorganisasi dalam tubuh manusia.

Sebagian besar organisme termasuk manusia dan mikroba yang hidup di permukaan kulit manusia senantiasa memproduksi oksigen radikal sebagai hasil dari proses metabolisme. Sekitar 2–3% oksigen dalam level mitokondria dikonversi menjadi oksigen radikal. Sebagian radikal tersebut memang berguna bagi manusia untuk melawan virus dan bakteri patogen namun sebagian yang lainnya sangat berbahaya dan harus segera dinetralkan sebelum mengalami reaksi lebih lanjut dengan substansi lainnya (Gutteridge, 2000).

Mekanisme kerusakan kulit akibat paparan UV melibatkan peranan radikal bebas yang terbentuk segera setelah paparan UV terutama radikal oksigen. Pengetahuan tentang peranan *ROS* dalam proses penuaan kulit membangkitkan antusiasme tentang penggunaan antioksidan untuk mencegah proses tersebut. Penemuan antioksidan dalam bentuk topikal menjadi proteksi kulit tambahan terhadap paparan UV.

Berbagai antioksidan enzimatik dan non enzimatik melindungi kulit dari kerusakan oksidatif pada bagian yang terpapar radiasi sinar ultraviolet, dan secara drastis berkurang setelah paparan radiasi sinar ultraviolet. Enzim yang memperbaiki trauma oksidasi pada kulit diantaranya superoksid dismutase, katalase, dan tioredoksin reduktase, dan antioksidan alamiah lainnya seperti vitamin A, C, dan E, serta glutathion, juga berperan langsung untuk mencegah kerusakan akibat radikal oksigen. Antioksidan eksogen juga tampak menghambat respon *sunburn*, immunosupresi, dan fotokarsinogenesis pada tikus. Pada kulit, pemberian antioksidan topikal juga mampu mencegah kerusakan kulit yang disebabkan oleh stress

oksidatif. Dikatakan bahwa pemberian antioksidan topikal dapat mengurangi akumulasi peroksida pada kulit (Yaar dan Gilchrest, 2007).

Interaksi antara radiasi matahari pada kulit mengakibatkan terbentuknya radikal bebas. ROS mengakibatkan hidrosilasi, peroksidasi, *cross-link*, pemutusan rantai, penambahan radikal pada cincin aromatik, pembentukan aldehid dan deplesi tiol. Autooksidasi dari asam lemak tak jenuh ganda pada membran lipid juga terjadi, kemungkinan berhubungan dengan singlet oksigen, radikal perhidroksi atau radikal hidroksil.

Dalam keadaan ideal, kulit menggunakan antioksidan enzimatik dan non enzimatik endogen untuk melindunginya dari kerusakan oleh radikal bebas (Rhie et al., 2001). Antioksidan enzimatik meliputi glutathione peroksidase, superoksida dismutase dan katalase; Antioksidan non enzimatik meliputi vitamin C, vitamin E, koenzim Q 10 (ubiquinon 10) dan *alpha lipoic acid (ALA)*.

Paparan sinar UV secara alami mengurangi antioksidan dalam tubuh seperti yang terjadi dengan proses penuaan secara kronologis (Ichihashi et al., 2003; Belenky et al., 2006; Park et al., 2010; Peralta-Leal et al., 2009; Nichols and Katiyar, 2010; Grant et al., 2010). Tanpa proteksi antioksidan yang adekuat, terbentuk radikal-radikal bebas sehingga dapat menyebabkan penuaan kulit.

2.5 Kosmetik

Kosmetika berasal dari kata *kosmein* (Yunani) yang berarti berhias. Bahan yang digunakan dalam kosmetik dapat menggunakan bahan alam seperti herbal maupun bahan sintetik selama digunakan secara aman. Pengertian kosmetik adalah sediaan atau paduan bahan yang siap digunakan pada bagian luar badan (epidermis, rambut, kuku, bibir dan organ kelamin luar), gigi dan rongga mulut untuk membersihkan, menambah daya tarik, mengubah penampilan, melindungi supaya dalam keadaan baik, memperbaiki bau badan tetapi tidak dimaksudkan untuk mengobati atau menyembuhkan penyakit (SK MENKES no 140/1991).

Menurut *the US Federal Food, Drug and Cosmetic Act* penggunaan kosmetik lebih ditujukan untuk membersihkan, meningkatkan kecantikan atau meningkatkan daya tarik dan mengubah penampilan bukan untuk menangani penyakit kulit. Berdasarkan batasan di atas yang termasuk kosmetik adalah

pelembab kulit, parfum, *lipstick*, cat kuku, *make up* mata dan muka, *shampoo*, cat rambut, sediaan cairan pengkriting, pasta gigi dan deodoran (FDA, 2002).

2.5.1 Kosmetik dan kosmeseutikal

Dewasa ini pengertian kosmetika telah mengalami pergeseran dengan berkembangnya produk kosmetika yang mengandung bahan obat. Sekarang kosmetika semakin berkembang penggunaannya antar lain digunakan untuk meningkatkan daya tarik (*make up*), meningkatkan kepercayaan diri dan ketenangan, melindungi kulit dan rambut dari sinar UV yang merusak, polutan dan faktor lingkungan lain serta menghambat penuaan dini (Wasitaatmadja, 2011; Roberts and Walters, 2008; Miteva and Fluhr, 2008).

The US Federal Food, Drug and Cosmetic Act mengelompokkan obat, kosmetik atau kombinasi kosmetik dan obat (kosmeseutikal). Di industri kosmetik dikenal kosmeseutikal yaitu istilah untuk produk kosmetik yang mengandung zat aktif yang bertindak sebagai obat (*pharmaceutical*) contohnya krim anti kerut, terapi kebotakan, antiperspiran dan tabir surya (Roberts and Walters, 2008).

Pemakaian kosmetik dan kosmeseutikal diperkirakan akan meningkat tajam akibat pergeseran budaya rural menuju urban dan peningkatan taraf hidup masyarakat, hal ini merupakan tantangan bagi dunia farmasi untuk meningkatkan perannya dalam menghasilkan produk dengan formula yang lebih baik, lebih aman dan mudah digunakan (Sukandar, 2004). Dan yang sangat menarik, saat ini bermunculan klinik-klinik yang mengatasnamakan *skin care*, *botanical clinic*, *herbal skin care* dan lainnya yang ternyata disukai konsumen.

Salah satu alasan konsumen datang ke *skin care* yang ditangani oleh dokter karena mereka mengharapkan para ahli medis dapat merekomendasikan pengobatan atau regimen yang tepat untuk mencapai tujuan mereka secara aman dan efektif. Namun di satu sisi dokter ditekan oleh tekanan komersial karena menjadi sulit sekali menghadapi banyaknya iklan dan pesan marketing di berbagai media (Miteva and Fluhr, 2008). Banyak sekali bermunculan kosmetik yang berisi super antioksidan namun tidak didukung dengan data ilmiah (Thornfeldt and Bourne, 2010). Karena itu diperlukan adanya uji keamanan dan efikasi yang dapat divalidasi secara ilmiah

sehingga masyarakat mendapatkan produk yang aman dan dapat dipertanggungjawabkan (Miteva and Fluhr, 2008).

2.5.2 Krim

Definisi krim dalam sediaan kosmetik adalah bentuk sediaan setengah padat yang mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Sediaan ini merupakan sediaan setengah padat (semisolid) dari emulsi yang terdiri dari campuran antara fase minyak dan fase air (Depkes, 1995).

Krim merupakan suatu sistem emulsi yang tidak stabil secara termodinamika dimana mengandung paling sedikit dua fase yang tidak saling bercampur. Salah satu fase bersifat polar (air) dan fase yang lainnya bersifat nonpolar (minyak). Krim dapat dibuat dengan beberapa jenis misalnya emulsi air dalam minyak (w/o atau a/m), emulsi minyak dalam air (o/w atau m/a).

Krim biasanya digunakan sebagai emolien atau pemakaian obat pada kulit. Secara garis besar krim terdiri dari 3 komponen yaitu bahan aktif, bahan dasar dan bahan pembantu. Untuk membuat formulasi suatu sediaan krim yang baik perlu diperhatikan 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.

Sebagai bahan pembawa (basis) yang digunakan adalah kombinasi basis nonionik dan anionik. Pemilihan campuran basis nonionik dan anionik, agar diperoleh suatu basis yang stabil serta diperoleh basis yang bersifat netral dan tidak menyebabkan iritasi. Selain itu digunakan bahan tambahan meliputi emolien, humektan, dan pengawet. Profil dari bahan-bahan yang digunakan dalam formula krim pada penelitian ini adalah sebagai berikut (Lachman, 1994):

a. Minyak parafin

Merupakan likuid campuran hidrokarbon yang berasal dari minyak bumi. Secara umum digunakan sebagai emolien dan vehikulum dalam kosmetik. Minyak

parafin menghasilkan produk yang mempunyai kemampuan untuk meningkatkan kekenyalan dan meningkatkan penampilan kulit.

b. Setil alkohol

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 2-10% dan sebagai bahan pengemulsi digunakan konsentrasi 2-5%. Kelarutannya sangat mudah larut dalam etanol 95% dan eter. Kelarutannya akan meningkat jika suhu dinaikkan. Titik lelehnya 45-52°C.

c. Gliseril Stearat & PEG-100 Stearat

Merupakan *Self-emulsifying* dan sebagai campuran *thickener* dalam emulsifier menghasilkan penampilan dan rasa yang sangat baik. Terbuat dari campuran minyak alami (biasanya minyak kelapa atau palem). Secara umum digunakan di kosmetik sebagai *emolien, emulsifier dan moisturizer*.

d. Akuades

Akuades 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 kotoran maupun mikroba. Air murni digunakan dalam sediaan-sediaan yang membutuhkan air terkecuali untuk parenteral, akuades tidak dapat digunakan.

e. *Xanthan Gum*

Merupakan polisakarida yang berasal dari selubung bakteri *Xanthomonas campestris*, digunakan sebagai *food additive* dan *rheology modifier*, secara umum digunakan sebagai *food thickening agent* (misalnya dalam *salad dressings*) dan sebagai *stabilizer* dalam produk kosmetik. Dihasilkan dari fermentasi glukosa, sukrosa atau laktosa oleh bakteri *Xanthomonas campestris*.

f. Trietanolamin (TEA)

Dalam sediaan topikal dalam farmasetik digunakan secara luas dalam pembentukan emulsi. Digunakan sebagai bahan pengemulsi anionik untuk menghasilkan produk emulsi minyak-air yang homogen dan stabil. Trietanolamin sangat higroskopis. Titik leleh 20-21°C.

g. Metil Paraben (Nipagin)

Dalam formulasi farmasetik, produk makanan dan terutama dalam kosmetik biasanya digunakan sebagai bahan pengawet. Dapat digunakan sendiri maupun dikombinasikan dengan jenis paraben lain. Efektifitas pengawet ini memiliki rentang pH 4-8. Dalam sediaan topikal konsentrasi yang umum digunakan 0,02-0,3%. Kelarutannya yaitu larut dalam etanol 95% (1:3), eter (1:10), dan metanol.

2.5.2.1 Stabilitas Kosmetik

Stabilitas didefinisikan sebagai kemampuan suatu produk obat atau kosmetik untuk bertahan dalam batas 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, di mana sifat dan karakteristiknya sama dengan yang dimilikinya pada saat dibuat (Djajadisastra, 2007).

Ketidakstabilan fisika dari sediaan ditandai dengan beberapa perubahan yaitu perubahan 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. 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.

2.5.2.2 Uji Stabilitas

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)

Secara umum kenaikan viskositas akan meningkatkan kestabilan sediaan.

Hampir seluruh sistem dispersi termasuk sediaan farmasi yang berbentuk emulsi, suspensi dan sediaan setengah padat tidak mengikuti hukum Newton. Viskositas cairan semacam ini bervariasi pada setiap kecepatan geser, sehingga untuk mengetahui sifat alirannya dilakukan pengukuran pada beberapa kecepatan geser.

Jika bahan-bahan non-Newton dianalisis dalam suatu viskometer putar dan hasilnya diplot, diperoleh berbagai kurva konsistensi yang menggambarkan adanya 3 kelas aliran, yaitu plastis, pseudoplastis dan dilatan. Aliran plastis (Bingham Bodies) berhubungan dengan adanya partikel-partikel yang terflokulasi dalam suatu suspensi pekat. Akibatnya terbentuk struktur kontinue di seluruh sistem (Lachman, 1994).

Aliran pseudoplastis sering disebut sebagai *shear-thinning system* dimana viskositas zat pseudoplastis berkurang dengan meningkatnya pengadukan. Sejumlah besar produk farmasi termasuk gom alam dan sintesis misalnya dispersi cair dari tragakan, Na alginat, metil selulosa dan CMC Na menunjukkan aliran pseudoplastis.

Aliran dilatan menunjukkan peningkatan dalam daya hambat untuk mengalir dengan meningkatnya *rate of shear*. Contohnya adalah suspensi-suspensi tertentu dengan persentase zat padat terdispersi tinggi misalnya cat, tinta atau pasta (Martin, 1983).

c. Ukuran Partikel

Perubahan dalam ukuran partikel rata-rata atau distribusi ukuran globul merupakan tolak ukur penting untuk mengevaluasi emulsi. Di mana pada emulsi keruh diameter globul berkisar antara 0.5-50 μm . Ukuran partikel merupakan indikator utama kecenderungan terjadinya *creaming* atau *breaking*.

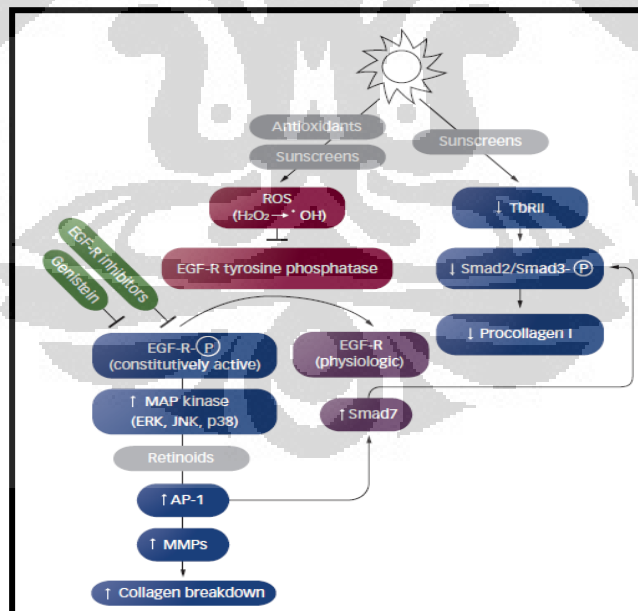
d. Pemeriksaan pH

Sebaiknya setiap produk kosmetik memiliki pH yang sesuai dengan pH kulit yaitu 4,5-6,5 karena jika produk tersebut memiliki pH yang terlalu basa maka dapat menyebabkan kulit menjadi bersisik, sedangkan jika pH terlalu asam maka dapat menimbulkan iritasi kulit.

2.5.3 Antioksidan Topikal

Dewasa ini, penggunaan senyawa antioksidan baik secara sistemik maupun lokal semakin digemari karena dipercaya dapat mencegah berbagai macam penyakit serta melindungi kulit dari kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Penggunaan antioksidan topikal banyak ditemui pada sediaan kosmetik, terutama yang ditujukan untuk perawatan *anti aging*. Fungsi utama antioksidan adalah untuk menekan aktivitas radikal bebas dengan menghambat pembentukannya dan/atau membentuk radikal baru yang lebih stabil (*scavenging*). Aktivitas antioksidan bekerja dengan cara membentuk radikal baru yang stabil tergantung pada reaktivitas dan konsentrasi antioksidan.

Penemuan antioksidan dalam bentuk topikal menjadi proteksi kulit tambahan terhadap paparan UV. Suplementasi kulit dengan antioksidan tambahan telah terbukti memberikan proteksi tambahan dari kerusakan akibat paparan sinar matahari, memperlambat penuaan kulit, mengurangi peradangan dan pada akhirnya memperbaiki tampilan kulit (Baron, 2008; Lin, 2005; Chiu and Kimball, 2003; Pinnell, 2003) (Gambar 2.4).

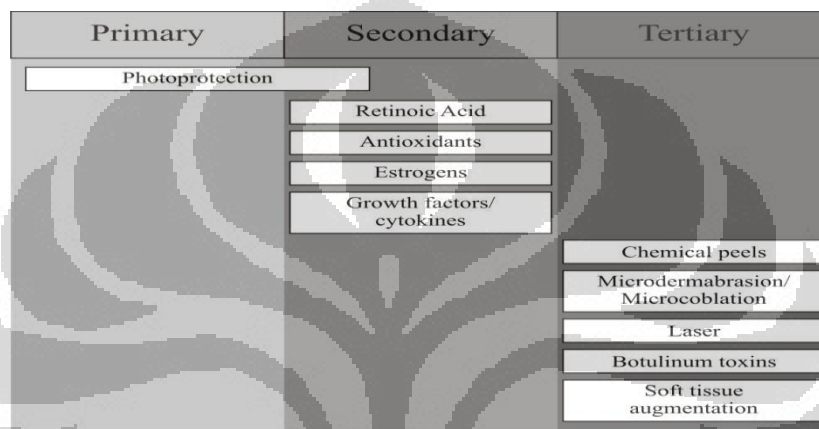


Keterangan : AP = activator protein 1; ERK = extracellular signal-regulated kinase; JNK = c-Jun amino-terminal kinases; MAP = mitogen-activated protein; MMPs = matrix metalloproteinases.

[Sumber: Helfrich et al., 2005]

Gambar 2.4 Peranan Antioksidan terhadap Kolagen

Dalam regimen perawatan penuaan kulit, terapi dikategorikan menurut jenis strategi terapi dan derajat keparahan. Terdapat tiga strategi perawatan penuaan kulit yaitu strategi primer yang menghambat proses kerusakan kulit; strategi sekunder dengan menggunakan sediaan farmasi untuk mengurangi gejala proses kerusakan kulit; strategi tersier untuk merawat tanda penuaan kulit yang telah ada dalam derajat keparahan sedang sampai berat (Rabe et al., 2006) (Gambar 2.5).



[sumber : Rabe et al., 2006]

Gambar 2.5 Regimen Perawatan Penuaan Kulit

Antioksidan diketahui bersifat tidak stabil, hal ini menyebabkan kesulitan menjaga stabilitasnya dalam sediaan. Hal yang juga penting adalah memastikan zat aktif tersebut dapat menembus epidermis dan tinggal dalam kulit sampai memperoleh efek yang diharapkan. Untuk memperoleh efek proteksi antioksidan yang lengkap dibutuhkan antioksidan larut air (efektif dalam cairan ekstraseluler dan intraseluler) dan larut lemak (melindungi membran biologis) (Chiu and Kimball, 2003; Pinnell, 2003).

2.5.4 Uji *in vivo*

Kosmetik adalah bahan atau campuran bahan yang diaplikasikan pada kulit manusia sesuai tujuannya. Karena terjadi kontak antara kosmetik dan kulit maka kosmetik tersebut diserap kulit dan dapat masuk ke bagian yang lebih dalam dari tubuh. Kontak kosmetik dengan kulit menimbulkan akibat positif berupa

manfaat kosmetik, namun selain itu dapat menimbulkan akibat negatif yaitu efek samping kosmetik (Wasitaatmadja, 2011).

Sebelum suatu produk farmasi atau kosmetik dapat dijual ke masyarakat umum, produsen harus menyerahkan kepada pemerintah cara pemakaian produk itu disertai laporan tentang hasil-hasil pengujian keamanannya pada hewan, manusia dan praktik klinis. Berdasarkan keterangan tersebut, obat atau kosmetik yang oleh pemerintah dianggap berbahaya bagi umum dapat dilarang untuk diedarkan (Djajadisastra, 2007; Wasitaatmadja, 2011).

Beberapa uji yang harus dilakukan untuk kosmetik yaitu uji keamanan kosmetik (*patch test*), uji keamanan produk akhir sebelum dipasarkan (*usage test*) dan uji keamanan produk akhir pada konsumen setelah beberapa lama dipasarkan (*efficacy test*) melalui pemeriksaan, wawancara dan kuesioner dengan para pemakai.

2.5.4.1 Uji Keamanan

Patch test dan *usage test* dilakukan mencakup pengujian berbagai segi keamanan dari bahan baku atau produk akhir, misalnya potensi iritasinya terhadap kulit dan mata, fototoksisitasnya terhadap kulit dan komedogenitasnya (dayanya untuk merangsang terjadinya jerawat). Banyak metode yang dapat dilakukan untuk membuktikan keamanan suatu produk, semuanya itu dilakukan untuk mengantisipasi seluruh kemungkinan efek samping dan efek toksis yang mungkin terjadi (SCCNFP, 1997; Djajadisastra, 2007; Wasitaatmadja, 2011).

Petunjuk SCCNFP mengatakan bahwa konfirmasi uji keamanan pada manusia tetap diperlukan karena banyak uji pada hewan masih terbatas dan belum dapat menggambarkan efeknya yang sesungguhnya pada manusia. Dengan syarat informasi data toksikologi dari zat aktif atau campurannya tersedia dan memiliki derajat keamanan yang dapat diperkirakan. Protokol uji keamanan tetap harus mengacu pada persetujuan etik untuk meminimalisir risiko pada relawan dan memastikan keamanannya sesuai dengan *World Medical Association Declaration of Helsinki* (SCCNFP, 1997).

2.5.4.2 Uji Efikasi

Ditinjau dari kenyataan bahwa kosmetik digunakan hampir setiap saat dalam kehidupan manusia maka kosmetik dituntut harus aman dan bermanfaat (efektif) (Wasitaatmadja, 2011). Evaluasi meliputi fungsi dan struktur kulit setelah pemakaian kosmetik adalah dasar untuk membuat klaim tentang manfaat/efikasi suatu produk kosmetik. Fungsi dan struktur kulit yang diukur dalam industri kosmetik meliputi:

- a. Kesehatan kulit : kandungan air (hidrasi kulit), pH kulit dan *rate of water loss* (intergritas barrier kulit).
- b. Sifat permukaan kulit: tekstur, deskuamasi, friksi, sebum, dan elastisitas kulit.
- c. Warna kulit : untuk perubahan warna (*lightening and darkening*) kulit dan proses inflamasi.

Secara umum metode evaluasi kulit dalam menentukan efikasi kosmetik meliputi:

- a. Penilaian klinis (kualitatif)

Penilaian ini biasanya dilakukan oleh dokter ahli yang terlatih dengan mengamati penampilan kulit secara makroskopis. Misalnya *Glogau scale* untuk menentukan tingkat *photoaging* dan *Fitzpatrick scale* untuk menentukan warna kulit. Pengamatan secara visual ini bersifat subyektif karena dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kondisi pencahayaan ruang, dan pengalaman dokter ahli yang bersangkutan (Darlenski et al., 2011; Galzote et al., 2008).

- b. Metode non invasif

Penilaian ini dilakukan dengan bantuan alat-alat non invasif, diantaranya alat pengukur tingkat kelembaban, kadar sebum, pH, elastisitas dan warna kulit. Penetapan nilainya sesuai dengan standar yang ditetapkan oleh alat tersebut (Darlenski et al., 2011; Galzote et al., 2008).

- c. Metode invasif

Beberapa metode invasif dapat dilakukan untuk membuktikan efikasi suatu produk diantaranya biopsi kulit. Biopsi kulit dilakukan untuk pemeriksaan histologis dan immunohistokimia untuk melihat perubahan serat kolagen dan elastin. Metode ini walaupun sangat akurat namun sangat memakan waktu dan

biaya, selain itu menyebabkan rasa tidak nyaman pada relawan dan menimbulkan masalah etik (Darlenski et al., 2011).

2.6 Kerangka Berpikir

Berdasarkan tinjauan pustaka maka pokok-pokok pikiran yang dijadikan landasan penelitian adalah sebagai berikut :

- a. Teori Radikal Bebas dewasa ini lebih banyak dianut dan dipercaya sebagai mekanisme proses penuaan kulit. Untuk melawan efek buruk radikal bebas diperlukan antioksidan. Ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) (EKGK) diketahui memiliki aktivitas antioksidan.
- b. Pemberian EKGK dalam sediaan krim terbukti aman digunakan.
- c. Pemberian EKGK dalam sediaan krim antioksidan dikatakan mampu memperbaiki beberapa parameter penuaan kulit yaitu kelembaban, elastistas dan kecerahan kulit.
- d. Hasil uji *in vitro* efek EKGK memiliki relevansi dengan hasil uji *in vivo*-nya.

2.7 Kerangka Konsep

Berdasarkan faktor-faktor tersebut di atas maka disusun kerangka konsep dapat dilihat pada Lampiran 5.

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Tempat Penelitian

Pembuatan ekstrak dan penapisan fitokimia telah dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Aromatik (Balitro) Bogor pada bulan Juli 2011. Sertifikasi terlampir (Lampiran 7-8).

Penelitian secara *in vitro* untuk melihat aktivitas antioksidan telah dilakukan di Laboratorium *Martha Tilaar Innovation Center* pada bulan Juli 2011. Sebelum dilakukan penelitian secara *in vivo* dilakukan penelitian awal tentang pembuatan dan evaluasi krim meliputi uji mikrobiologi dan uji stabilitasnya di Laboratorium FMIPA UI Depok dan Laboratorium Farmasetik FMIPA Universitas Unjani Bandung.

Penelitian secara *in vivo* dilakukan di klinik *Rafa Health & Beauty Lifestyle* Bandung.

3.2 Bahan Penelitian

Ekstrak kering kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) yang didapat dari Semarang dengan sertifikasi terlampir (Lampiran 1-4) dan telah dilakukan proses ekstraksi cair dan penapisan fitokimia di Balitro Bogor dengan sertifikasi terlampir (Lampiran 7-8). Etanol 70% (*Merck*), Metanol (*Merck*), *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)* (*Sigma*), asam askorbat (*Merck*), minyak parafin (*Dow Chemical*), setil alkohol (*Merck*), Gliseril Stearat & PEG-100 Stearat, akuades (*Kaizen Aesthetic Medicore, PT.*), *xanthan gum* (*Dow Chemical*), trietanolamin (*Dow Chemical*), metilparaben (*Dow Chemical*), media *MSA (Mannitol Salt Agar)*, air demineralisasi, NaCl fisiologis 0,9%, media *MCA (Mac Conkey Agar)*, media *NA (Nutrien Agar)*, media *SDA (Saboraud Dextrose Agar)*, tween 80, *MLB (Modified Lethen Broth)* (Lampiran 14-20).

3.3 Alat Penelitian

Neraca analitik (*Mettler Toledo*), spektrofotometer UV-16001 (*Shimadzu*), pH-meter, tabung reaksi, sentrifugator, kulkas, oven (Gambar 4.17-4.19), mikroskop optik, gelas, autoklaf, cawan petri, *gamma chamber test*, *Cutometer*

MPA 580 (*Courage+Khazaka*), Mexameter MX 18 (*Courage+Khazaka*) dan Corneometer CM 825 (*Courage+Khazaka*) (Gambar 4.33-4.35). Plester adhesive, wadah krim, kamera digital, buku dan data pencatatan, lembar *informed consent* (Lampiran 10-13).

3.4 Cara Kerja

Penelitian ini melakukan dua jenis uji yaitu uji *in vitro* dan *in vivo*. Uji *in vitro* menggunakan penelitian analitik dan uji *in vivo* menggunakan penelitian eksperimental dengan metode *Randomized Control Trial* (Sastroasmoro, 1995).

Pada uji *in vitro* dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak tunggal kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.), ekstrak tunggal herba pegagan (*Centella asiatica* L.) dan ekstrak kombinasi keduanya menggunakan metode 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) dibandingkan dengan asam askorbat sebagai kontrol. Sebelum dilakukan penelitian secara *in vivo* dilakukan pembuatan krim kontrol yang berisi 5% ekstrak tunggal kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) (EGM) dan krim uji yang berisi 5% ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) (EKGC). Kemudian dilakukan evaluasi krim, uji mikrobiologi dan uji stabilitas krim kontrol dan krim uji.

Pada uji *in vivo* dilakukan keamanan dan uji manfaat krim kontrol dan krim uji. Untuk uji keamanan dilakukan *Repeated Opened Patch Test (ROPT)* dan *Single Closed Patch Test (SCPT)* (Djajadisastra, 2007) pada relawan. Hasil uji dilihat pada 1, 24, 48 dan 72 jam. Uji manfaat dengan metode non invasif dilakukan pada 30 orang wanita 30-40 tahun yang memenuhi kriteria inklusi. Setiap relawan diberi perlakuan berupa pengolesan krim uji pada area volar lengan bawah kanan sebagai kelompok uji dan pengolesan krim kontrol pada area volar lengan bawah kiri sebagai kelompok kontrol setiap sore hari selama 28 hari. Sebelum dan setelah perlakuan dilakukan pengukuran semua parameter.

3.4.1 Subyek Penelitian

3.4.1.1 Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah wanita usia 30-40 tahun (Jusuf, 2005) yang menjadi karyawan klinik *Rafa Health & Beauty Lifestyle* Bandung.

3.4.1.2 Kriteria Sampel

Pemilihan sampel dilakukan secara random, yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

a. Kriteria Inklusi

Wanita yang menjadi karyawan klinik *Rafa Health & Beauty Lifestyle* Bandung, umur 30-40 tahun, sehat, dengan jenis kulit normal atau kering dan memiliki tanda-tanda penuaan kulit. Menghentikan penggunaan produk lain pada kulit punggung dan lengan bawah seminggu sebelum dan selama penelitian, dan bersedia mengikuti penelitian dengan menandatangani pernyataan setelah mendapat penjelasan (*informed consent*).

b. Kriteria Eksklusi

Wanita dengan kelainan kulit seperti luka, jerawat dan penyakit kulit lainnya, sedang hamil, menyusui, menderita sakit dan menggunakan obat oral atau topikal yang mempengaruhi kondisi kulit, wanita menopause, wanita perokok dan tidak bersedia mengikuti penelitian.

c. Kriteria Drop Out

Apabila wanita yang menjadi sampel tidak datang lagi ke tempat penelitian.

3.4.1.3 Besar Sampel

Sampel adalah sebagian atau wakil populasi yang diteliti (Arikunto, 2002). Pada penelitian, perhitungan jumlah sampel dihitung dengan rumus (Setyorini, 2007)

$$n = \frac{N}{Nd^2 + 1} \quad (3.1)$$

Keterangan:

- n = jumlah sampel
 N = besarnya populasi
 d = hasil efikasi/manfaat minimal yang diinginkan (*efficacy judgement*) = 10%

Dengan rumus tersebut dapat dihitung ukuran sampel dari populasi 35 orang dengan mengambil hasil efikasi/manfaat minimal yang diinginkan (*efficacy judgement*) (d) = 10%, sebagai berikut:

$$\begin{aligned} n &= \frac{N}{Nd^2 + 1} \\ n &= \frac{35}{(35)(0.10)^2 + 1} \\ &= 25.92 \rightarrow 26 \end{aligned} \quad (3.2)$$

Berdasarkan rumus di atas didapatkan sampel tiap kelompok sebesar 26 orang. Untuk menghindari *drop out* maka ditambah 15% sehingga jumlah sampel menjadi 30 orang.

3.4.1.4 Teknik Penentuan Sampel

Dari populasi wanita 30-40 tahun diadakan pemilihan sampel berdasarkan kriteria inklusi yaitu wanita 30-40 tahun yang menjadi karyawan klinik *Rafa Health & Beauty Lifestyle* Bandung, sehat, dengan jenis kulit normal atau kering dan memiliki tanda-tanda penuaan kulit. Dari jumlah sampel yang telah memenuhi syarat diambil secara random untuk mendapatkan jumlah sampel.

Lokasi pengolesan krim dipilih area volar lengan bawah kanan dan kiri sebagai pengganti kulit wajah karena alasan etik. Area volar lengan bawah kiri

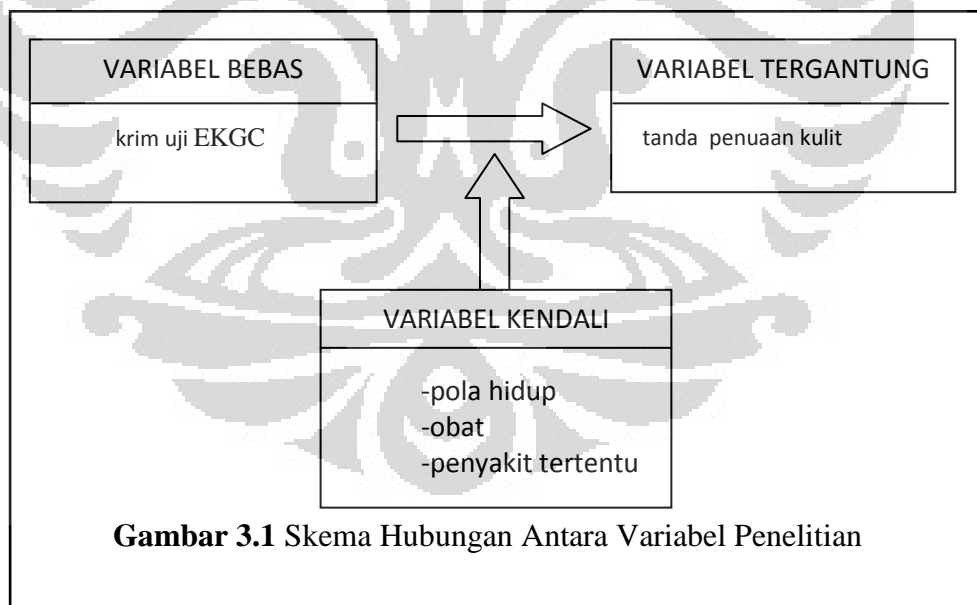
digunakan sebagai kelompok kontrol dan area volar lengan bawah kanan sebagai kelompok perlakuan. Para relawan tidak mengetahui perbedaan krim.

3.4.1.5 Prosedur dan Analisa Subyek Penelitian

Wanita 30-40 tahun, setelah memenuhi kriteria sampel diberikan naskah penjelasan (*informed consent*) yang menjelaskan secara rinci mengenai latar belakang dan tujuan penelitian, pemeriksaan-pemeriksaan yang akan dilakukan, manfaat pemeriksaan dan penelitian ini dan efek samping pemeriksaan.

Setelah diberikan penjelasan, jika wanita tersebut tidak bersedia dijadikan sampel, maka dieksklusi dari penelitian. Bila setuju, maka formulir persetujuan setelah penjelasan sebagai sampel penelitian ditandatangani, kemudian dilakukan anamnese, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan parameter penuaan kulit di *Rafa Health & Beauty Lifestyle* Bandung.

3.4.2 Definisi Operasional Variabel Penelitian



3.4.2.1 Variabel Bebas

Krim uji berisi 5% ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) (EKG) yang dioleskan pada area volar lengan bawah kanan setiap sore selama 28 hari.

3.4.2.2 Variabel Tergantung

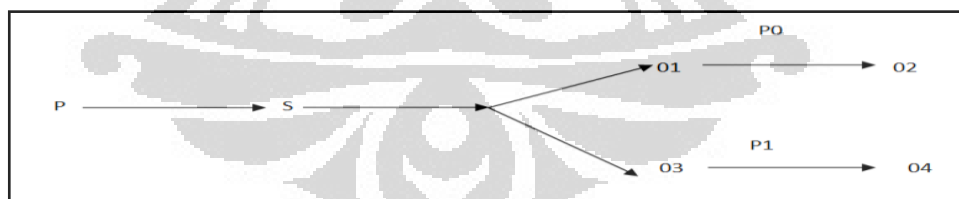
Tanda penuaan kulit yaitu kelembaban, elastitas dan tingkat kecerahan kulit.

3.4.2.3 Variabel Kendali

- Pola hidup adalah kebiasaan yang dilakukan secara rutin sebagai aktivitas sehari-hari, yaitu makan teratur 3x sehari, berolah raga 3x seminggu dan nutrisi yang sesuai dengan angka kecukupan gizi (AKG).
- Obat adalah berbagai obat atau suplemen yang dikonsumsi secara oral, ataupun bentuk lain.
- Penyakit tertentu adalah penyakit yang telah dan atau sedang diderita obyek penelitian.

3.4.3 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian uji *in vivo* dapat digambarkan sebagai berikut :



Keterangan :

- P = Populasi
- S = Sampel
- R = Random
- O1 = parameter penuaan kulit sebelum perlakuan pada kelompok kontrol
- O2 = parameter penuaan kulit setelah perlakuan pada kelompok kontrol
- O3 = parameter penuaan kulit sebelum perlakuan pada kelompok perlakuan
- O4 = parameter penuaan kulit setelah perlakuan pada kelompok perlakuan
- P1 = Diberi perlakuan pemberian sediaan uji (EKG) selama 28 hari
- P0 = Diberi perlakuan pemberian sediaan kontrol (EGM) selama 28 hari.

Gambar 3.2 Skema Rancangan Penelitian

3.4.4 Alur Penelitian

Lihat Lampiran 6.

3.5 Prosedur Penelitian dan Pengambilan Data

Pelaksanaan penelitian dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu pelaksanaan uji *in vitro* ekstrak, pembuatan sediaan krim dan evaluasinya, persiapan subyek penelitian serta pelaksanaan uji *in vivo* sediaan krim berupa uji keamanan dan uji manfaat. Sebelum memulai penelitian, proposal akan diajukan ke Komisi Etik Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Balitbangkes) Jakarta.

Ekstrak kering yang diperoleh dari Semarang merupakan ekstrak yang secara umum digunakan untuk pemakaian oral (Borobudur, 2011). Di dalam ekstrak kering tersebut ditambahkan zat pengisi yaitu amilum, untuk tujuan penelitian ini diperlukan ekstrak kental karena itu dilakukan proses ekstraksi di Balitro (Borobudur, 2011).

Proses ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan etanol 70% dengan perbandingan jumlah ekstrak dan pelarut 1:3 dan dilanjutkan dengan penapisan fitokimia (Lampiran 7-8).

3.5.1 Uji *in vitro*

Pengujian aktivitas peredaman radikal bebas *DPPH* dilakukan terhadap ekstrak tunggal herba pegagan 1, 3 dan 5%, ekstrak tunggal kulit manggis 1, 3 dan 5%, dan ekstrak kombinasi kulit manggis dan pegagan 1, 3 dan 5%, serta asam askorbat 1 mg/mL sebagai perbandingan (Liu et al., 2007).

3.5.1.1 Penyiapan Larutan Pereaksi

Larutan *DPPH* dibuat dengan melarutkan *DPPH* dengan konsentrasi 40 µg/mL dalam metanol pro analisis (PA) yang dibuat segar dan dijaga pada suhu rendah serta terlindung dari cahaya. Serbuk *DPPH* sebanyak 10 mg ditimbang dan dilarutkan dalam metanol PA di dalam labu takar 10 mL kemudian dikocok sampai homogen. Dari larutan tersebut dipipet 4 mL dan dimasukkan ke labu ukur

100 mL kemudian ditambahkan metanol PA sampai tanda batas dan didapatkan larutan pereaksi dengan konsentrasi 40 $\mu\text{g/mL}$ (Gambar 4.14).

3.5.1.2 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Larutan Pereaksi DPPH

Sebanyak 3 mL DPPH 40 $\mu\text{g/mL}$ ditambah dengan 1,5 mL metanol, dikocok homogen, disimpan tepat selama 30 menit dan diamati serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm. Kurva serapan larutan pereaksi dapat dilihat pada Gambar 4.15.

3.5.1.3 Penyiapan Larutan Uji

Ekstrak yang diukur aktivitas antioksidannya adalah ekstrak tunggal herba pegagan (CAE) 1, 3, dan 5% , ekstrak tunggal kulit manggis (GME) 1, 3, dan 5%, dan ekstrak kombinasi kulit manggis dan pegagan (GME+CAE) 1%, 3%, dan 5%. Masing-masing ekstrak ditimbang sebanyak 50 mg dan dimasukkan ke dalam labu ukur volume 5 ml dan dilarutkan dengan air sampai batas volume untuk membuat konsentrasi induk sebesar 10.000 $\mu\text{g/mL}$.

Larutan disonifikasi selama 15 menit. Selanjutnya masing-masing 1 mL larutan sampel dipipet dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan metanol sampai dengan tanda batas untuk membuat konsentrasi sebesar 1000 $\mu\text{g/mL}$. Larutan sampel dipipet ke dalam vial berwarna gelap dan ditambahkan metanol sejumlah tertentu sehingga volume akhir pada masing-masing vial adalah 4,5 mL dan beberapa konsentrasi (Gambar 4.16).

3.5.1.4 Pengukuran Serapan Peredaman Radikal Bebas DPPH

Pada tabung reaksi masing-masing dimasukkan larutan uji dan larutan kontrol (asam askorbat) (Lampiran 9) sebanyak 1,5 mL ditambah 3 mL larutan pereaksi DPPH, dikocok sampai homogen, disimpan tepat selama 30 menit dan diamati serapannya pada panjang gelombang maksimum dengan blanko larutan metanol PA.

3.5.1.5 Analisa Data Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode peredaman *DPPH* dinyatakan dengan nilai peredaman *DPPH* (EC_{50}). Semakin besar nilai peredamannya maka akan semakin besar juga nilai aktivitas antioksidannya.

Masing-masing larutan uji sebanyak 1,5 mL ditambah 3,0 mL larutan pereaksi *DPPH* dan asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dengan larutan blanko kemudian absorbansi diukur dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 517 nm. Prosentase aktivitas penghambatan *DPPH* pada masing-masing ekstrak dan asam askorbat dinyatakan dengan :

$$\frac{\text{Absorbansi kontrol}-\text{absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

3.5.2 Evaluasi Krim dan Uji Stabilitas

3.5.2.1 Pembuatan Krim Uji dan Krim Kontrol

Pembuatan krim dilakukan di Laboratorium FMIPA UI Depok dan Laboratorium Farmasetik Fakultas Farmasi Universitas Unjani Bandung. Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam sediaan krim berdasarkan penelitian sebelumnya (Suratman, 1996; Tilaar, 2007) dan aktivitas antioksidan tertinggi hasil uji *in vitro*.

Krim yang dibuat pada penelitian ini yaitu krim sebagai kontrol berisi 5% ekstrak tunggal kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) (EGM) dan krim uji yang berisi 5% ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) (EKGC). Formulasi krim dibuat sesuai formulasi krim pada penelitian Wong et al. (2007) dan perhitungan HLB sebagai berikut:

a. Perhitungan HLB Krim Uji dan Kontrol

Fase minyak yang digunakan:

Minyak parafin	HLB= 12	3%
Setil alkohol	HLB = 15	<u>2%</u>
Total		8%

Konsentrasi % fase minyak yang digunakan:

Minyak parafin	=	$\frac{3}{8} \times 100\%$	= 37,5%
Setil alkohol	=	$\frac{2}{8} \times 100\%$	= 25%
Gliseril stearat	=	$\frac{1,5}{8} \times 100\%$	= 18,75%
PEG 100 stearat	=	$\frac{1,5}{8} \times 100\%$	= 18,75%

HLB butuh fase minyak:

Minyak parafin	=	$37,5\% \times 12$	= 4,50
Setil alkohol	=	$25\% \times 15$	= 3,75+
Total			= 8,25

Jumlah emulgator yang dibutuhkan:

Gliseril stearat	HLB = 15	8,25	6,75
PEG 100 stearat	HLB = 15		$\frac{6,75}{13,50}$

Jumlah Gliseril stearat yang digunakan = $6,75 / 13,50 \times 3\% = 1,5\%$

Jumlah PEG 100 stearat yang digunakan = $6,75 / 13,50 \times 3\% = 1,5\%$

b. Cara Pembuatan

Bahan yang merupakan fase minyak yaitu minyak parafin, setil alkohol, Gliseril Stearat & PEG-100 Stearat dimasukkan ke dalam cawan penguap lalu dipanaskan pada suhu 70°C (Tabel 3.1). Kemudian bahan yang merupakan fase air yaitu metil paraben dilarutkan dalam akuades hingga homogen. Kemudian *xanthan gum* dan triethanolamin dilarutkan dalam fase air tersebut. Fase air dimasukkan ke dalam fase minyak, dicampur sampai homogen dan didinginkan sampai suhu 45°C.

Tabel 3.1 Bahan Sediaan Krim

No	Bahan Kimia	Prosentase	Krim Uji	Krim Kontrol
1	Minyak parafin	3%	+	+
2	Setil Alkohol	2%	+	+
3	Gliseril Stearat & PEG-100 Stearat	3%	+	+
4	Akuades	ad 100%	+	+
5	<i>Xanthan Gum</i>	0,2%	+	+
6	Triethanolamin	0,1%	+	+
7	Metilparaben	0,1%	+	+
8	Ekstrak Kulit manggis	5%	+	+
9	Ekstrak herba pegagan	5%	+	+

Untuk krim uji (EKGK) tambahkan 5% cairan ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) (perbandingan 1:1) ke dalam krim basis, sedangkan sebagai krim kontrol (EGM) ditambahkan 5% cairan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) ke dalam krim basis.

3.5.2.2 Evaluasi Krim

a. Pengamatan Organoleptik

Pengamatan perubahan warna, bau (ketengikan) dan terjadinya pemisahan fase. Pengamatan homogenitas dilakukan dengan mengamati sediaan yang diletakkan pada kaca objek untuk mengetahui terbentuknya partikel-partikel kasar. Pemeriksaan dilakukan setiap 2 minggu, mulai dari minggu ke-0 hingga minggu ke-12 (Wong et al., 2007).

b. Pemeriksaan pH

Pemeriksaan pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi dengan menggunakan larutan dapar standar pH 4 dan 7. Krim uji dan krim kontrol sebanyak 1 g diencerkan dengan akuades (1:10). Bagian Elektroda pH meter dimasukkan ke dalam sampel dan angka yang terlihat pada layar adalah nilai pH-nya. Pengukuran sediaan krim dilakukan setiap minggu mulai dari minggu ke-0 hingga minggu ke-12 pada suhu kamar.

c. Pengamatan diameter globul

Pengamatan diameter globul rata-rata dilakukan dengan menggunakan mikroskop optik, krim diletakkan di atas kaca objek dan ditutup dengan gelas penutup. Kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop pada pembesaran 40 kali dan diukur diameter globul rata-rata setiap 2 minggu mulai minggu ke-0 hingga minggu ke-12. Dokumentasi dilakukan dengan pengambilan foto menggunakan kamera digital.

d. Pengukuran viskositas

Pengukuran viskositas dengan menggunakan Viskometer *Brookfield* menggunakan spindel nomor 6 yang dipasang pada alat kemudian dicelupkan ke dalam *beaker glass* yang berisi krim. Kecepatan alat diatur pada kecepatan yang beragam yaitu 2, 4, 10, 20 rpm, dan kemudian dibalik 20, 10, 4 dan 2 rpm, kemudian skala dibaca dengan mengamati jarum merah saat posisinya telah stabil.

e. Uji mikroba

Uji mikroba dilakukan terhadap 5 jenis mikroba yaitu *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* dan *Trychophyton* dengan menggunakan media yang sesuai. Penentuan cemaran mikroba dilakukan dengan cara sampel dari krim uji dan krim kontrol sebanyak 10 g dilarutkan terlebih dahulu dengan tween 80 sebanyak 10 mL sambil diaduk. Selanjutnya ditambahkan *MLB (Modified Lethen Broth)* hingga diperoleh suspensi dengan pengenceran 10^{-1} dan diaduk sampai homogen.

Masing-masing pengenceran sampel sebanyak 1 mL dipipet ke dalam cawan petri steril secara duplo lalu dituangkan 20 mL media agar cair yang sesuai. Cawan petri digoyangkan secara perlahan hingga sampel tercampur rata. Campuran tersebut dibiarkan memadat, kemudian dimasukkan ke inkubator ($35\pm 1^{\circ}\text{C}$) dengan posisi terbalik selama 48 jam.

Setelah agar memadat, dibuat 4 lubang dalam cawan petri dengan menggunakan perforator. Setiap lubang diisi dengan 50 μL sampel uji dengan beberapa konsentrasi. Kemudian diinkubasi dengan suhu yang sesuai (untuk bakteri pada suhu $35\text{-}37^{\circ}\text{C}$ selama 1 hari) (Khamir $20\text{-}25^{\circ}\text{C}$ 3 hari dan kapang $25\text{-}27^{\circ}\text{C}$ 5 hari).

Penentuan koefisien hambat minimum (KHM) dari krim ini menggunakan metoda difusi agar perforasi. Setelah masa inkubasi diamati pertumbuhan mikroba dan diukur diameter hambatan yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong. Pengukuran yang menghasilkan daerah hambatan yang memenuhi persyaratan yaitu ukuran diameter lebih kurang 14 mm sampai 16 mm.

3.5.2.3 Uji Stabilitas

a. Pengamatan suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$)

Sampel krim disimpan pada suhu kamar ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 12 minggu kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau dan homogenitas).

b. Pengamatan suhu kamar ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$)

Sampel krim disimpan pada suhu kamar ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 12 minggu kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau dan homogenitas).

c. Pengamatan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$)

Sampel krim disimpan pada suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 12 minggu kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau dan homogenitas).

d. Uji *freeze and thaw*

Sediaan krim uji dan krim kontrol masing-masing ditimbang sebanyak 2 g dan dimasukkan ke dalam 14 vial dan ditutup rapat. Vial sebanyak 2 buah akan digunakan sebagai kontrol yang disimpan pada suhu $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, 12 vial akan digunakan untuk siklus *Freeze and Thaw* dengan penyimpanan suhu $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ pada 48 jam pertama dan suhu $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ pada 48 jam berikutnya. Uji dilakukan sebanyak 6 siklus kemudian diamati terjadinya pemisahan fase.

e. Uji Mekanik (Sentrifugasi)

Sampel krim dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dimasukkan ke dalam alat sentrifugator pada kecepatan 5000-10.000 rpm selama 30 menit (Budiman, 2011). Perlakuan tersebut sama dengan perlakuan adanya gaya gravitasi selama setahun. Kemudian diamati apakah terjadi pemisahan atau tidak.

3.5.3 Uji *in vivo*

3.5.3.1 Uji Keamanan (Djajadisastra, 2007; SCCNFP, 2000; Curry, 1991)

Kosmetik dibuat dengan tujuan agar bermanfaat bagi kulit untuk peningkatan penampilannya, namun tetap harus bermanfaat bagi kesehatan kulitnya (Wasitaatmadja, 2011). Kontak kosmetik dengan kulit potensial menimbulkan efek samping karena itu pengujian terhadap kosmetik selain uji manfaat harus meliputi uji keamanan (*safety test*) juga.

Pada penelitian ini dilakukan uji keamanan dengan cara *Repeated Opened Patch Test (ROPT)* dan *Single Closed Patch Test (SCPT)* (Djajadisastra, 2007) pada relawan. Hasil uji dilihat pada 1, 24, 48 dan 72 jam. Pada *ROPT*, sediaan uji (EKGC) konsentrasi 5% dioleskan pada kulit punggung bagian atas yang telah diberi tanda dengan diameter 3 cm sebanyak 0,1 g, demikian juga halnya dengan sediaan kontrol. Selama aplikasi area tersebut tidak boleh dicuci. Reaksi kulit akan dievaluasi setelah 24, 48 dan 72 jam, kemudian reaksi diobservasi secara subyektif dan obyektif (Tabel 3.2-3.3)

Tabel 3.2 Kategori Nilai Keadaan Kulit

Eritema		Edema	
Jenis	Nilai	Jenis	Nilai
Tidak ada eritema	0	Tidak ada edema	0
Sedikit eritema (hampir tidak nampak)	1	Edema sangat ringan	1
Eritema tampak jelas	2	Edema ringan (tepi dan pembesaran jelas)	2
Eritema sedang sampai kuat	3	Edema sedang (ketebalan kira-kira 1 mm)	3
Eritema parah (ada luka)	4	Edema parah (ketebalan melebihi 1 mm)	4

Pada *SCPT*, digunakan *gamma chamber* dengan 3 *filter paper disc* untuk setiap relawan, yang diisi dengan urutan sebagai berikut: *filter paper disc* pertama

tidak diisi apapun, *filter paper disc* ke-2 diisi dengan 0,1 g sediaan kontrol (EGM) dan *filter paper disc* ke-3 diisi dengan 0,1 g sediaan uji (EKG), lalu diaplikasikan ke kulit punggung bagian atas para relawan dengan plester *adhesive*. Selama aplikasi area punggung tidak boleh dicuci. *Patch tester* ini diangkat setelah 24 jam dan tempat tes diberi tanda. Reaksi kulit dievaluasi setelah 1, 24, 48 dan 72 jam.

Tabel 3.3 Kategori Respon Iritasi

Kategori	Indeks Iritasi Primer
Tidak berarti	0 - 0,4
Iritasi ringan	0,5 - 1,9
Iritasi sedang	2,0 - 4,9
Iritasi berat	5,0 - 8,0

3.5.3.2 Uji Manfaat (Tilaar et al., 2009)

Uji manfaat dilakukan pada 30 orang wanita 30-40 tahun yang memenuhi kriteria inklusi selama 28 hari. Area yang diuji adalah bagian volar lengan bawah kiri sebagai kelompok kontrol dan bagian volar lengan bawah bagian kanan sebagai kelompok uji. Relawan tidak mengetahui perbedaan krim karena setiap sediaan hanya diberi kode.

Parameter penuaan kulit yang diperiksa adalah kelembaban kulit yang diukur dengan *Corneometer CM 825*, elastisitas kulit yang diukur dengan *Cutometer MPA 580* dan warna kulit yang diukur dengan *Mexameter MX 18*. Sebelum perlakuan (t_0) dilakukan pemeriksaan semua parameter.

Pemeriksaan *in vivo* non invasif dilakukan di ruang isolasi dengan kelembaban (*Relative Humidity* = 50 persen) dan suhu yang tetap (20°C). Para relawan diberi waktu minimal 15 menit berada di ruangan tersebut sebelum diperiksa (Pozo and Viscasillas, 2007).

Pada waktu mengukur parameter penuaan kulit *probe* masing-masing alat dipegang secara vertikal dan tegak lurus pada daerah yang akan diukur. Alat ini akan mulai mengukur apabila sudah kontak dengan kulit, selama pengukuran alat

tidak boleh digerakkan. Lama pengukuran 60 detik sampai terdengar bunyi 'beep'. Pada layar akan tampak nilai tingkat kelembaban, elastisitas dan kecerahan kulit. Pengukuran dilakukan secara acak di area penelitian yang telah diberi tanda (6 x 20 cm). Setiap pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali dan diambil rata-ratanya.

Setelah pengukuran selesai, setiap subyek penelitian diberi dua macam krim yang telah diberi kode A dan B (subyek tidak mengetahui isinya) dalam jarum suntik ukuran 10 mL dengan jumlah masing-masing 3 buah jarum suntik ukuran 10 mL untuk tiap sediaan (30 mL krim uji dan 30 mL krim kontrol) yang digunakan selama 28 hari. Krim kode A berisi krim kontrol dan krim kode B berisi krim uji. Semua krim yang diberikan tidak dibawa pulang, namun disimpan di *locker* masing-masing.

Selama penelitian relawan mengoleskan krim pada kedua lengan sesuai petunjuk dengan ketentuan sebagai berikut (Colipa, 1997):

- a. Pengolesan dilakukan di *Rafa Health and Beauty Lifestyle* Bandung.
- b. Waktu pengolesan adalah jam 17.00 sekali sehari segera setelah mandi dan lengan dikeringkan dengan handuk kering.
- c. Para relawan harus mencuci tangan sebelum dan setelah pengolesan krim untuk mencegah tercampurnya krim uji dan krim kontrol.
- d. Area pengolesan pada bagian volar kedua lengan bawah, krim kode A untuk lengan kiri dan krim kode B untuk lengan kanan. Luas area pengolesan adalah 6 x 20 cm (setiap relawan diberi plastik mika yang sudah dilubangi dengan ukuran 6 x 20 cm).
- e. Cara aplikasi menggunakan jari tangan dengan gerakan sejajar sumbu lengan bawah, pengolesan dengan gerakan usapan ringan (*gentle swabbing*) sampai semua krim meresap dengan baik (50 kali usapan).
- f. Apabila relawan mau mencuci tangan (misalnya sholat) harus ada jarak minimal 1 jam dari pengolesan.

Semua hal di atas dipantau oleh dokter dan seorang *assesor* yang ditunjuk untuk mengingatkan dan memperhatikan cara pengerjaan. Setelah hari ke-28, semua relawan dilakukan *wash out* 24 jam dan pada hari ke-30 (t30) dilakukan pengukuran semua parameter. Semua angka hasil pengukuran alat *Corneometer CM 825*,

Cutometer MPA 580 dan *Mexameter MX 18* dicatat dan data dievaluasi secara statistik.

3.6 Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabel induk kemudian data diolah secara manual dan dengan menggunakan bantuan program komputer. Hasil pengolahan data disajikan dalam bentuk teks, tabel dan atau gambar.

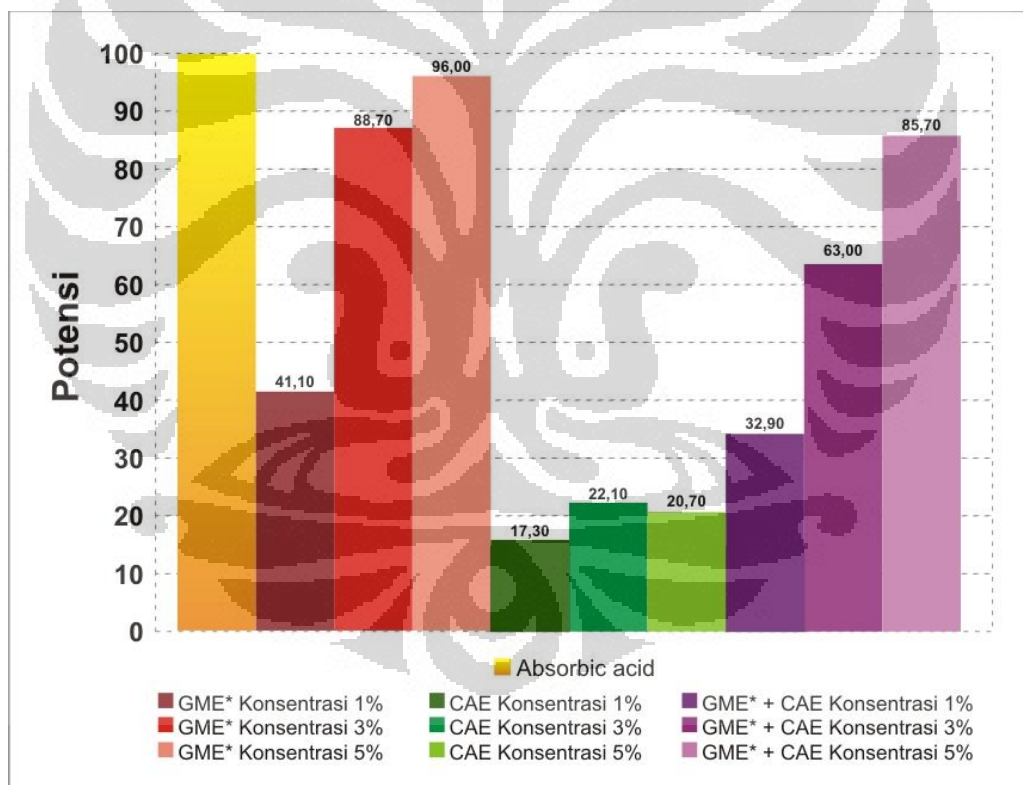
Data akan dianalisis sebagai berikut (Sugiyono, 2009):

- a. Data aktivitas antioksidan secara *in vitro* dengan Analisis Deskriptif.
- b. Data uji *in vivo* dengan Analisis Normalitas dan Homogenitas yaitu uji Normalitas data dengan uji *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui rerata data sampel terdistribusi normal atau tidak dan uji Homogenitas = *F test (Levene's test)*
- c. Analisis Komparatif
Jika data berdistribusi normal dan homogen, maka analisis komparatif dipakai *dependent – t test*.
- d. Uji Efek Perlakuan
Untuk mengetahui perubahan parameter penuaan kulit masing-masing kelompok antara pre dengan post digunakan uji *paired-test* jika data berdistribusi normal.

BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji *in vitro*

Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak secara *in vitro* dengan menggunakan metode peredaman DPPH menunjukkan bahwa ekstrak tunggal kulit manggis (GME) pada konsentrasi 5% memiliki aktivitas menangkal radikal bebas tertinggi (96%). Ekstrak kombinasi (EKGC) pada konsentrasi 5% menunjukkan nilai aktivitas penangkal radikal bebas yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak tunggal herba pegagan (CAE) namun aktivitasnya tidak melebihi ekstrak tunggal GME (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Aktivitas Antioksidan

Hasil ini sesuai dengan penelitian Tilaar et al. (2007) yang menyatakan bahwa ekstrak tunggal kulit manggis (GME) pada konsentrasi 5% memiliki aktivitas antioksidan 75,1% dibandingkan dengan asam askorbat sebagai kontrol

(80,6%). Hasil analisis aktivitas antioksidan ekstrak tunggal herba pegagan (CAE) berbeda dengan penelitian Pittela et al. (2009) yang menyatakan CAE memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan asam askorbat sebagai kontrol. Perbedaan ini mungkin disebabkan perbedaan simplisia (sumber, lokasi penanaman, kondisi tanah, cara kultivasi, proses pasca panen dan proses ekstraksi) (Draelos and Pugliese, 2011; Khaiat, 2000).

Hasil aktivitas antioksidan GME dan GME+CAE ini kemudian dianalisis secara statistik. Uji perbedaan bertujuan untuk membandingkan rerata aktivitas antioksidan antar kelompok. Hasil analisis kemaknaan dengan uji *t-independent* disajikan pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa rerata kadar aktivitas antioksidan kelompok manggis adalah $92,96 \pm 0,15$, rerata kelompok manggis+pegagan adalah $83,98 \pm 1,67$. Analisis kemaknaan dengan uji *t-independent* menunjukkan bahwa nilai $t=11,98$ nilai $p=0,001$. Hal ini berarti bahwa rerata kadar aktivitas antioksidan pada kedua kelompok berbeda secara bermakna ($p=0,001$).

Tabel 4.1 Rerata Kadar Aktivitas Antioksidan (%)

Kelompok Subjek	Rerata Aktivitas Antioksidan (%)	SB	<i>t</i>	<i>p</i>
Manggis (GME)	92,96	0,15	11,98	0,001
Manggis + Pegagan (GME+CAE)	83,98	1,67		

Hal ini menunjukkan ternyata kombinasi kedua ekstrak tidak menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih baik. Hal yang sama terjadi pada penelitian yang dilakukan oleh Wong et al. (2009) yang melakukan penelitian terhadap kombinasi meniran dan buah langsung. Penelitian yang dilakukan Musdja (2011) juga menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak tidak menunjukkan hasil yang lebih baik karena terjadi interaksi antara senyawa aktif masing-masing ekstrak. Penelitian ini tidak didukung oleh Baran (2011) yang menyatakan kombinasi antioksidan menghasilkan efek sinergistik.

4.2 Evaluasi Krim dan Uji Stabilitas

4.2.1 Evaluasi Krim

Hasil evaluasi krim diperoleh sifat krim yang lembut, mudah menyebar, membentuk konsistensi setengah padat dan tidak menyebabkan rasa tidak nyaman saat dioleskan pada kulit.

4.2.1.1 Organoleptik

a. Krim kontrol (EGM)

Berwarna coklat tua, berbau khas herbal kulit manggis, homogen, pH 5,58, viskositas 82.500 cps pada 4 rpm, ukuran diameter globul rata-rata 1,6502 μm .

b. Krim uji (EKGC)

Berwarna coklat lebih tua, berbau khas herbal kulit manggis dan pegagan, homogen, pH 5,57, viskositas 91.250 cps pada 4 rpm, ukuran diameter globul rata-rata 1,666 μm .

Tabel 4.2 Hasil Pengamatan Organoleptik Krim

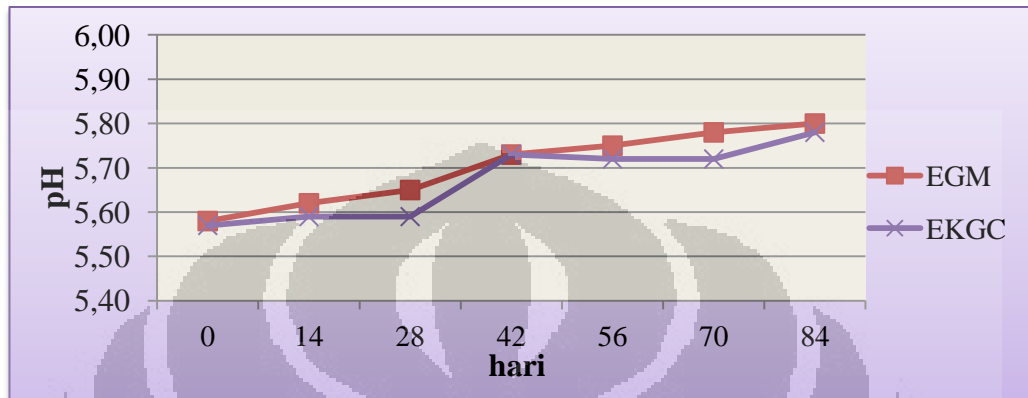
Pengamatan	Formula	Hasil Pengamatan Selama Waktu Penyimpanan (Hari)						
		0	14	28	42	56	70	84
Warna	EKGC	C	C	C	C	C	C	C
	EGM	CT	CT	CT	CT	CT	CT	CT
Bau	EKGC	AMP	AMP	AMP	AMP	AMP	AMP	AMP
	EGM	AM	AM	AM	AM	AM	AM	AM
Bentuk	EKGC	K	K	K	K	K	K	K
	EGM	K	K	K	K	K	K	K
Homogenitas	EKGC	H	H	H	H	H	H	H
	EGM	H	H	H	H	H	H	H

Keterangan : C : Coklat tua, CT : Coklat Lebih Tua, TB : AMP : Aroma khas manggis dan pegagan, AM : Aroma khas manggis, H : Homogen, K : Kental,

4.2.1.2 Pemeriksaan pH

Hasil pengukuran pH masing-masing krim pada penyimpanan suhu kamar mengalami sedikit perubahan namun masih dalam batas pH yang sesuai pH kulit yaitu 4,5-6,5 (Gambar 4.2). Dengan demikian dapat disimpulkan pH kedua

sediaan krim aman untuk kulit, karena jika krim memiliki pH yang terlalu basa maka dapat menyebabkan kulit menjadi bersisik, sedangkan jika pH terlalu asam akan menimbulkan iritasi kulit (Djajadisastra, 2007).

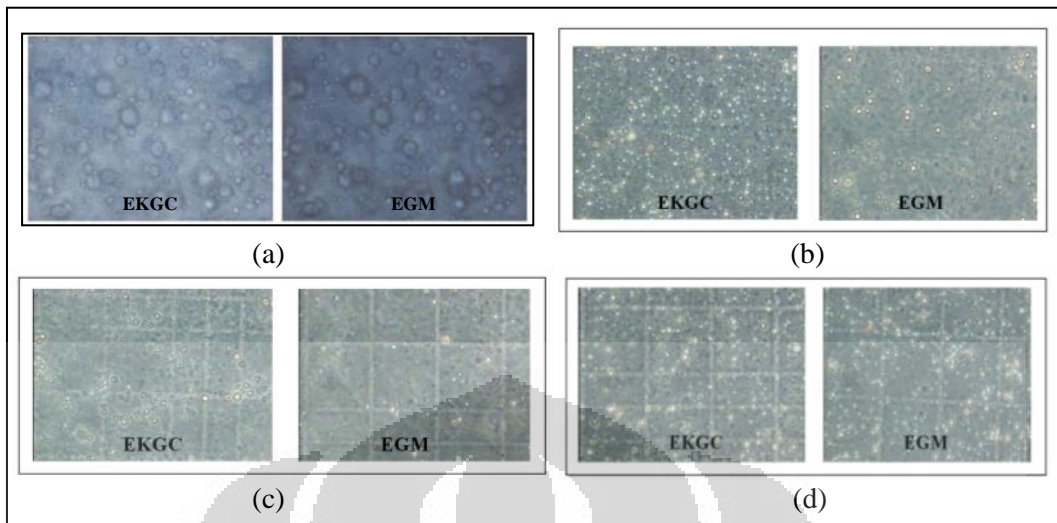


Keterangan : n = 3 kali

Gambar 4.2 Hasil Pengukuran pH pada Suhu Kamar ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$)

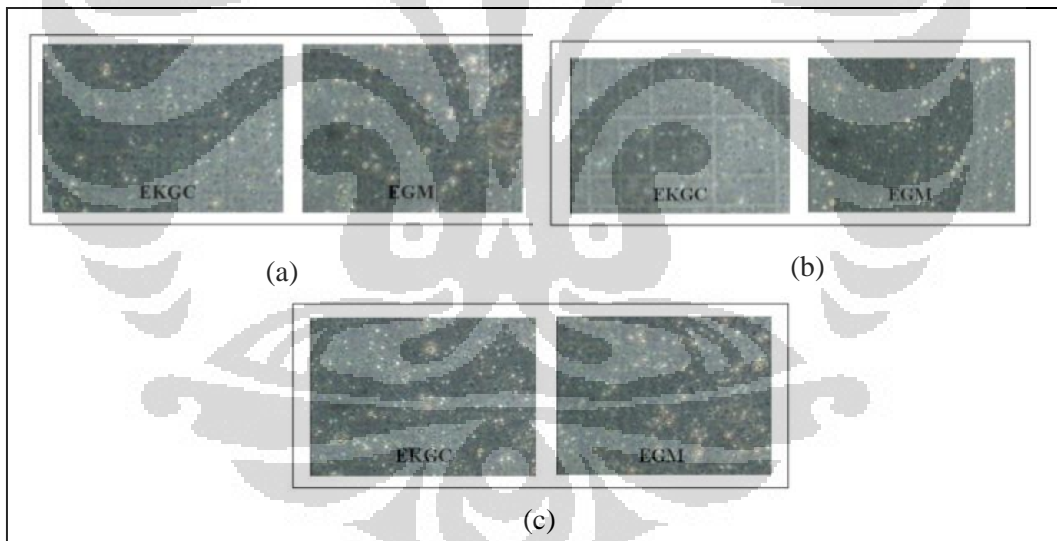
4.2.1.3 Pengamatan Diameter Globul

Pada pengamatan kedua krim selama 84 hari (12 minggu) tidak menunjukkan adanya pemisahan fase atau perubahan diameter globul yang berarti selama proses penyimpanan. Gambar diameter globul krim selama 84 hari (12 minggu) ditunjukkan pada Gambar 4.3 – 4.8 dan perhitungan diameter globul dapat dilihat pada Tabel 4.16 – 4.53. Diameter ukuran globul rata-rata adalah $1,33409 - 1,9663 \mu$, diameter ini termasuk dalam diameter dispersi kasar $1-100 \mu$ dengan demikian dapat disimpulkan bahwa tidak adanya perubahan diameter globul pada kedua krim dan tidak adanya pemisahan fase.



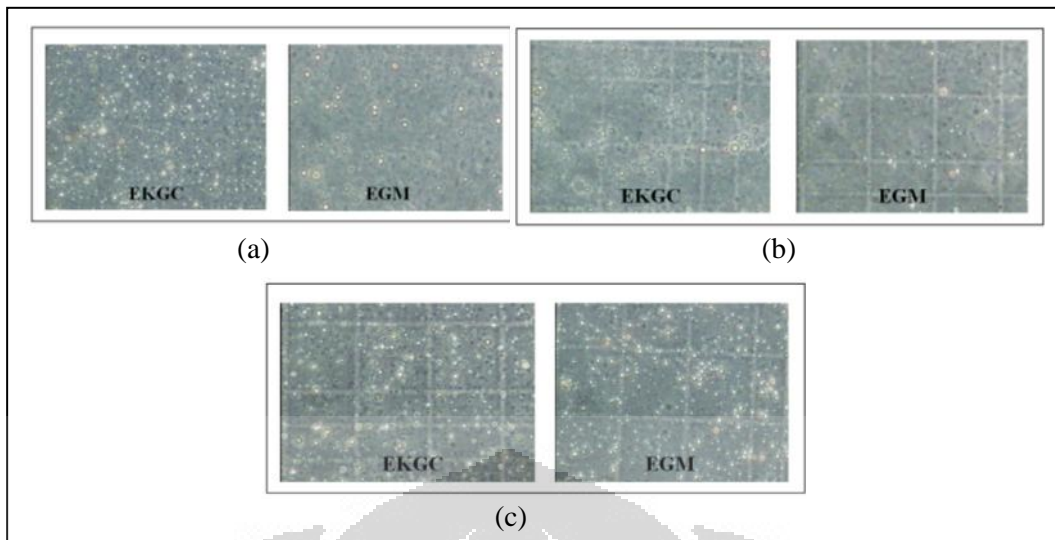
Keterangan: Diameter globul awal (a), Diameter Globul Minggu ke-2 Suhu Kamar (b), Diameter globul minggu ke-2 suhu 4°C (c), Diameter Globul Minggu ke-2 Suhu 40°C (d)

Gambar 4.3 Diameter globul



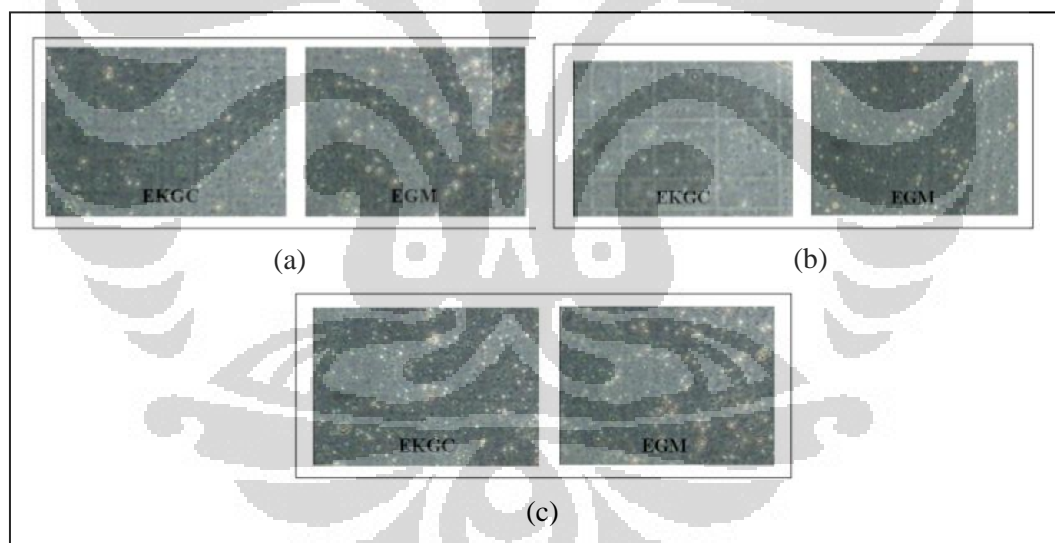
Keterangan: pada Suhu Kamar (a), pada Suhu 4°C (b), pada Suhu 40°C (c)

Gambar 4.4 Diameter globul Minggu ke- 4



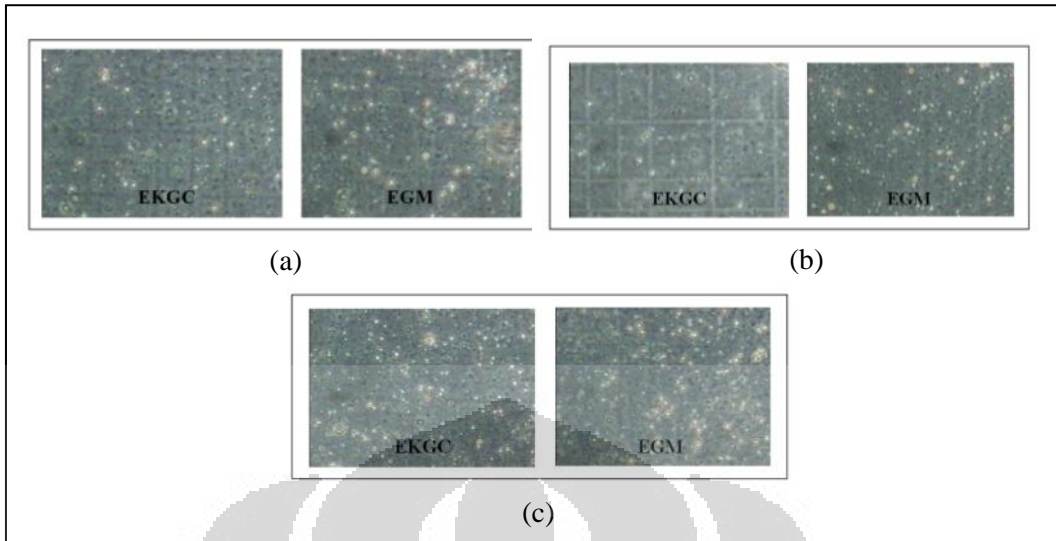
Keterangan: pada Suhu Kamar (a), pada Suhu 4°C (b), pada Suhu 40°C (c)

Gambar 4.5 Diameter globul Minggu ke- 6



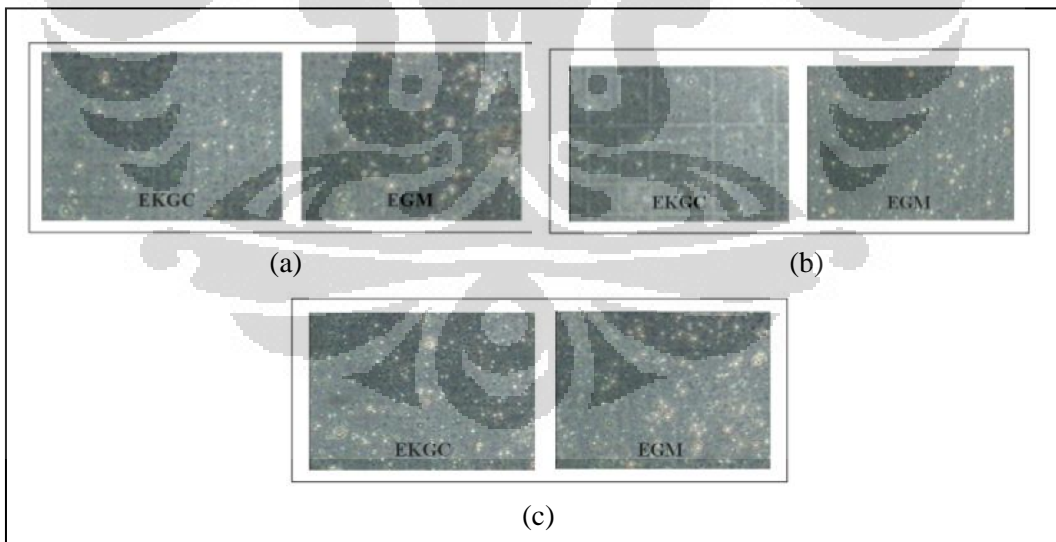
Keterangan: pada Suhu Kamar (a), pada Suhu 4°C (b), pada Suhu 40°C (c)

Gambar 4.6 Diameter globul Minggu ke- 8



Keterangan: pada Suhu Kamar (a), pada Suhu 4°C (b), pada Suhu 40°C (c)

Gambar 4.7 Diameter globul Minggu ke- 10

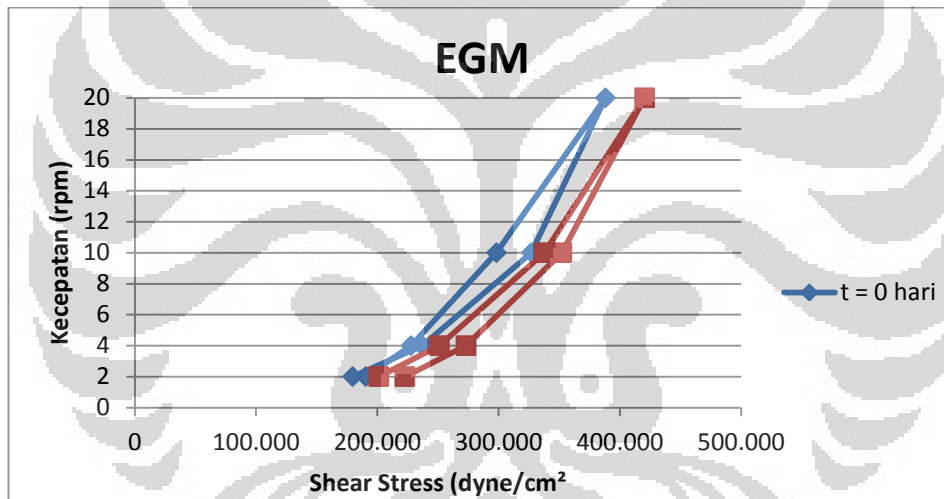


Keterangan: pada Suhu Kamar (a), pada Suhu 4°C (b), pada Suhu 40°C (c)

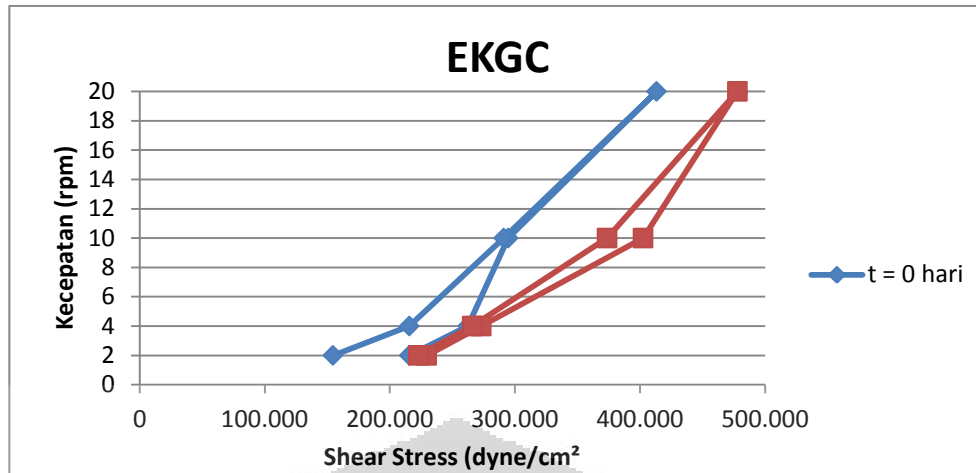
Gambar 4.8 Diameter globul Minggu ke- 12

4.2.1.4 Pengukuran Viskositas

Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi viskositas suatu sediaan krim, yaitu faktor pencampuran atau pengadukan saat pembuatan emulsi, faktor pemilihan surfaktan, zat pengental, ukuran partikel dan proporsi fase. Hasil evaluasi sifat alir dapat dilihat pada Gambar 4.9 dan 4.10, menunjukkan bahwa kedua sediaan memiliki sifat alir tiksotropik plastis dari hari ke-0 sampai hari ke-84. Sifat alir ini memiliki sifat yaitu viskositasnya berkurang dengan meningkatnya kecepatan geser. Sifat alir tiksotropik merupakan sifat alir yang diinginkan dalam suatu sediaan krim dimana sediaan memiliki konsistensi tinggi dalam wadah, tetapi dengan sedikit gaya dapat dikeluarkan dari wadah dengan mudah dan mudah menyebar jika digunakan.



Gambar 4.9 Kurva Sifat Alir EGM



Gambar 4.10 Kurva Sifat Alir EKGC

4.2.1.5 Uji Mikroba

Uji mikroba dilakukan terhadap 5 jenis mikroba yaitu *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* dan *Trichophyton* karena jenis mikroba ini merupakan mikroba yang sering ditemukan pada kosmetik yang terkontaminasi (Geis, 2006). Pertumbuhan mikroba dinyatakan dengan penentuan Koefisien Hambat Minimum (KHM) dari krim ini menggunakan metoda difusi agar perforasi. Hasil uji mikroba kedua sediaan dalam penelitian ini menunjukkan tidak adanya pertumbuhan kuman, dengan demikian kedua sediaan dinyatakan bebas dari cemaran mikroba (Tabel 4.3).

Tabel 4.3 Hasil Uji Mikrobiologi

Jenis Mikroba	KHM
<i>S. aureus</i>	-
<i>P. aeruginosa</i>	-
<i>E. coli</i>	-
<i>Candida albicans</i>	-
<i>Trichophyton</i>	-

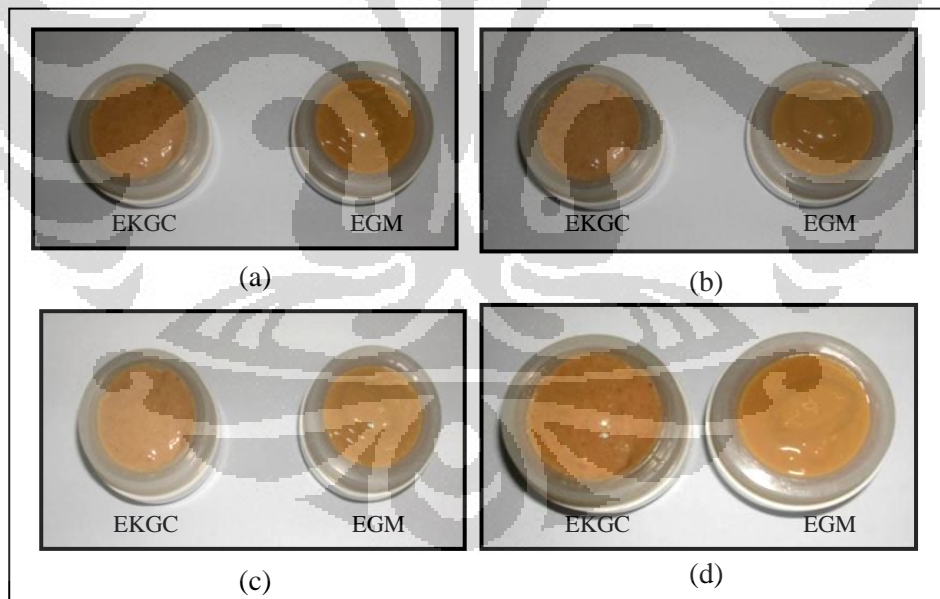
Keterangan: tidak terjadi pertumbuhan mikroba

4.2.2 Hasil Uji Stabilitas

a. Pengamatan Suhu

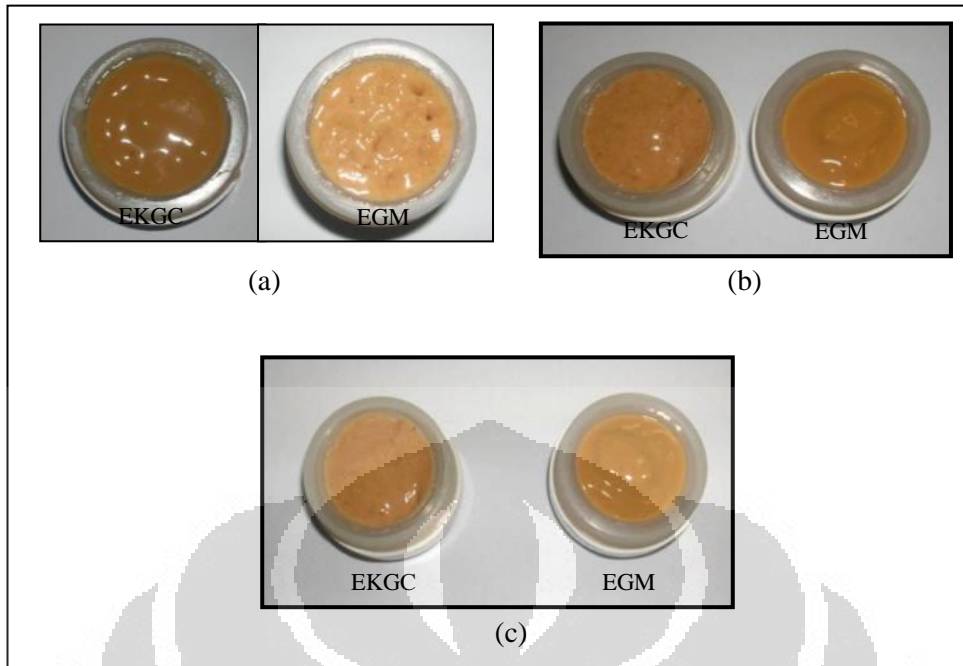
Hasil pengamatan organoleptis pada krim uji dan krim kontrol yang dilakukan pada penyimpanan dalam suhu dingin (4°C), suhu kamar ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) dapat dilihat pada Gambar 4.2.1.1-4.2.1.19. Kedua krim pada penyimpanan tiga suhu yang berbeda tersebut dari minggu awal (minggu ke-0) sampai minggu terakhir (minggu ke-12) tidak terlihat adanya pemisahan fase minyak dan fase air.

Masing-masing krim pada penyimpanan suhu 4°C , suhu kamar, dan suhu 40°C mengalami perubahan warna menjadi lebih muda (pudar). Pada suhu 4°C dan suhu 40°C mengalami perubahan warna terutama pada penyimpanan suhu 40°C , sedangkan pada penyimpanan suhu kamar perubahan warna tidak mengalami perubahan yang signifikan (stabil), dapat dilihat pada Gambar 4.11 – 4.16.



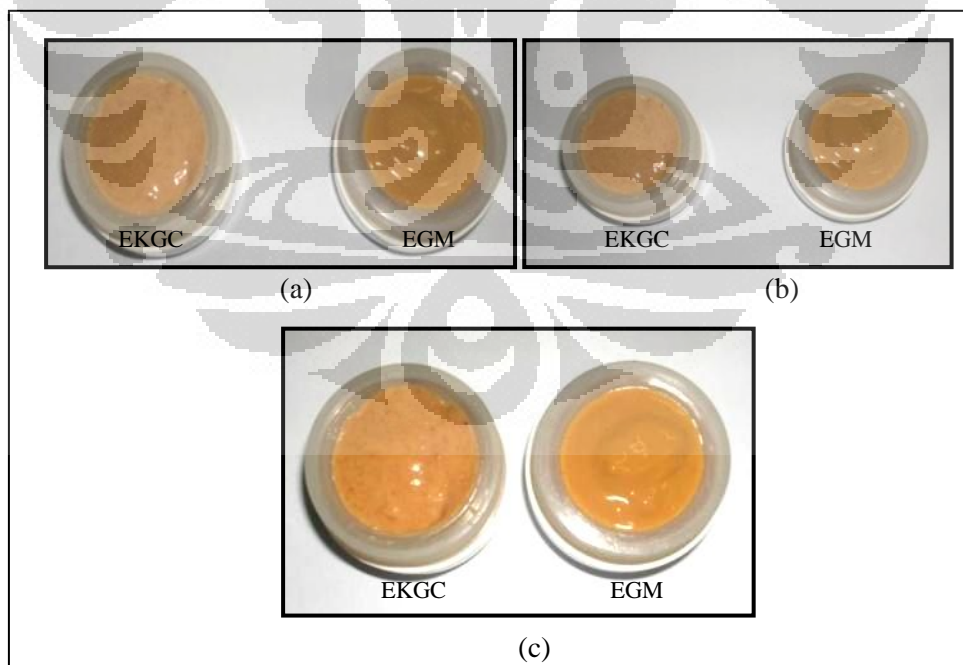
Keterangan: Foto Awal EK (a), Uji Stabilitas Minggu ke-2 pada Suhu Kamar ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) (b), Uji Stabilitas Minggu ke-2 pada Suhu 4°C (c), Uji Stabilitas Minggu ke-2 pada Suhu 40°C (d)

Gambar 4.11 Gambar Uji Stabilitas Krim



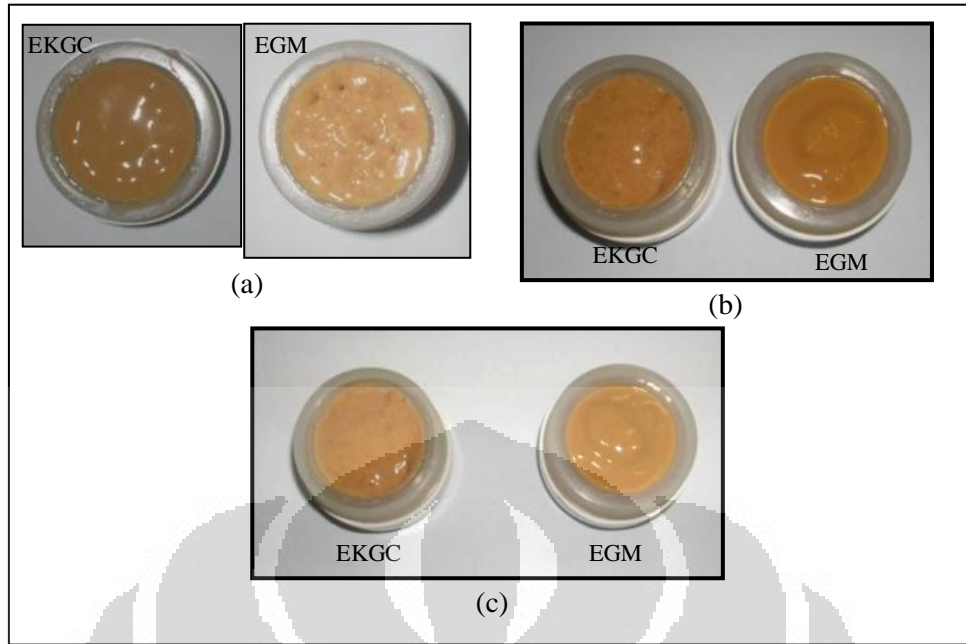
Keterangan: pada Suhu Kamar ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) (a), pada Suhu 4°C (b), pada Suhu 40°C (c)

Gambar 4.12 Uji Stabilitas Krim Minggu ke-4



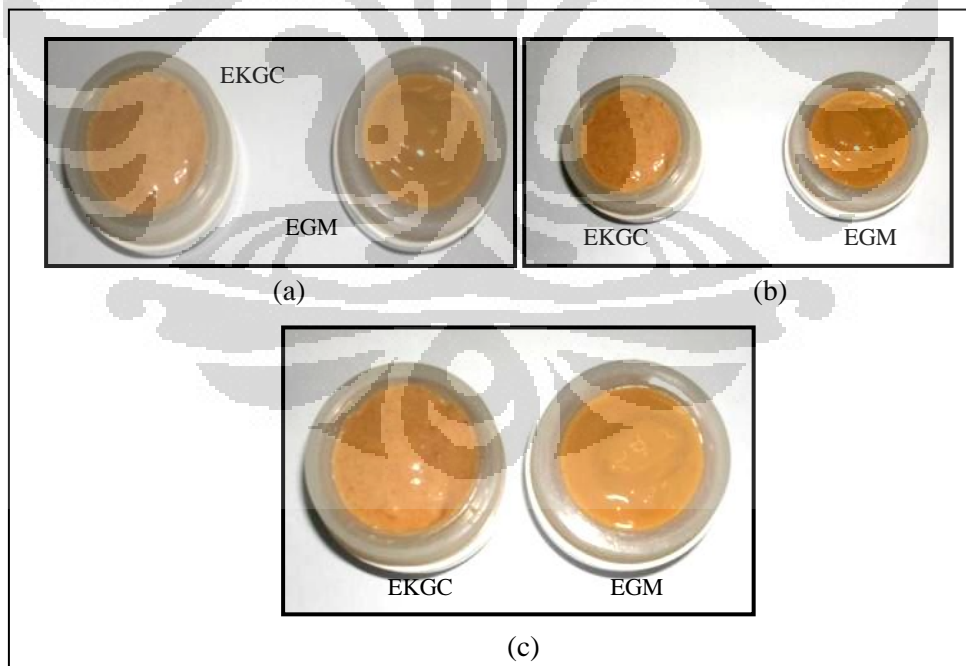
Keterangan: pada Suhu Kamar ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) (a), pada Suhu 4°C (b), pada Suhu 40°C (c)

Gambar 4.13 Uji Stabilitas Krim Minggu ke-6



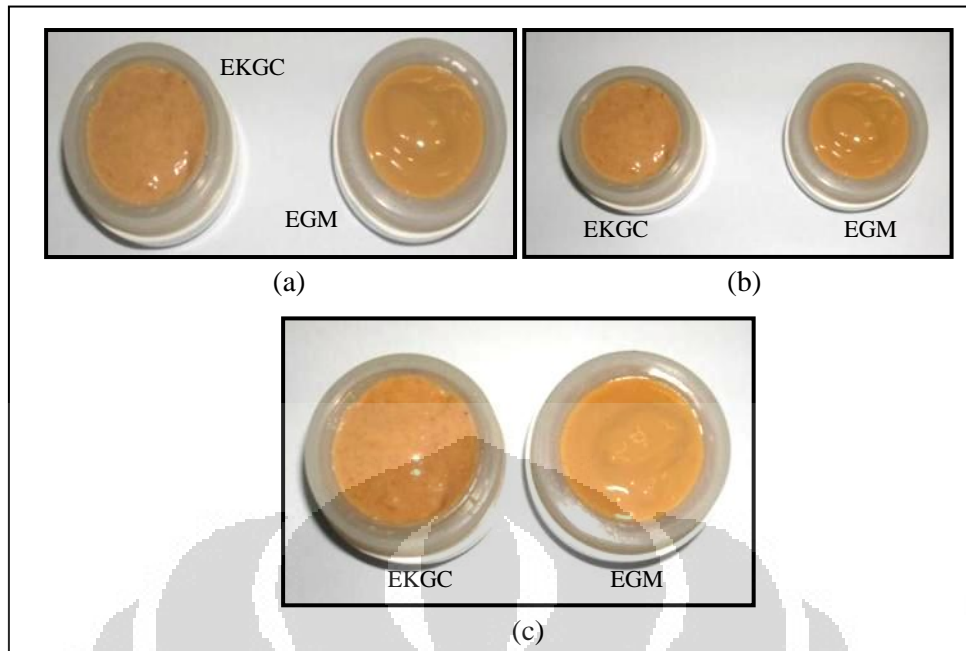
Keterangan: pada Suhu Kamar ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) (a), pada Suhu 4°C (b), pada Suhu 40°C (c)

Gambar 4.14 Uji Stabilitas Krim Minggu ke-8



Keterangan: pada Suhu Kamar ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) (a), pada Suhu 4°C (b), pada Suhu 40°C (c)

Gambar 4.15 Uji Stabilitas Krim Minggu ke-10



Keterangan: pada Suhu Kamar ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) (a), pada Suhu 4°C (b), pada Suhu 40°C (c)

Gambar 4.16 Uji Stabilitas Krim Minggu ke-12

b. Uji *Freeze and Thaw*

Kedua sediaan yang diuji dengan siklus *freeze and thaw* dengan suhu $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ dan suhu $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ sebanyak 6 siklus menunjukkan tidak terjadi pemisahan fase. Dengan demikian dapat disimpulkan kedua sediaan memiliki stabilitas yang baik.

Tabel 4.4 Hasil Pengamatan *Freeze and Thaw*

Siklus ke-	Pengamatan	
	EKGK	EGM
1	-	-
2	-	-
3	-	-
4	-	-
5	-	-
6	-	-

Keterangan:

- = tidak terjadi pemisahan fase

e. Uji Mekanik (Sentrifugasi) (Budiman, 2008)

Hasil uji mekanik yang dilakukan pada kecepatan 5000-10.000 rpm selama 30 menit menunjukkan tidak terjadi pemisahan fase. Dengan demikian dapat disimpulkan kedua sediaan memiliki stabilitas yang baik (Gambar 4.4).



Gambar 4.17 Sebelum Uji Mekanik



Gambar 4.18 Setelah Uji Mekanik

4.3 Uji *in vivo*

Untuk mengetahui analisis uji *in vivo* ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) sebagai antioksidan topikal, maka dilakukan penelitian pada wanita berusia antara 30- 40 tahun yang diberikan sediaan kontrol (EGM) dan sediaan perlakuan (ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) (EKGC) selama 28 hari.

Pemilihan subyek penelitian langsung pada manusia sesuai dengan ketentuan yang dikeluarkan oleh *European Cosmetic Directive* bahwa kosmetik tidak perlu diujikan pada hewan (ECD, 1997). Subyek wanita usia 30-40 tahun ditentukan berdasarkan kriteria Glogau dimana usia 30-40 tahun merupakan manifestasi *photoaging* tipe 2 (sudah menampilkan tanda-tanda penuaan kulit) (Jusuf, 2005). Para relawan dan masing-masing mendapat 2 perlakuan yaitu sebagai kelompok kontrol (EGM) dan kelompok uji (EKGC) yang dilakukan selama 28 hari didasarkan bahwa regenerasi kulit berlangsung kurang lebih 28 hari (Baumann, 2006). Pada hari pertama penelitian ada 1 orang relawan yang diketahui positif hamil, dan hari kedua ada 1 orang relawan yang mengundurkan diri dari pekerjaan. Kedua orang relawan tersebut diganti oleh 2 orang yang memenuhi kriteria inklusi sehingga jumlah relawan tetap 30 orang. Hasil uji *in vivo* meliputi uji keamanan yaitu *SCPT* dan *ROPT* serta uji efikasi terhadap kelembaban, elastisitas dan tingkat kecerahan kulit diuraikan di bawah ini.

4.3.1 Uji Keamanan

Hasil uji *Repeated Open Patch Test (ROPT)* memperlihatkan bahwa kedua sediaan tidak menyebabkan reaksi iritasi maupun alergi pada masing-masing kelompok. Hasil uji *Single Closed Patch Test (SCPT)* pun memperlihatkan bahwa kedua sediaan tidak menyebabkan reaksi iritasi dan alergi pada masing-masing kelompok. Para relawan tidak merasakan sensasi yang tidak nyaman. Hasil uji keamanan diperlihatkan pada Tabel 4.5 dan Tabel 4.6.

Tabel 4.5 Hasil Uji Keamanan pada Kulit (n=30)

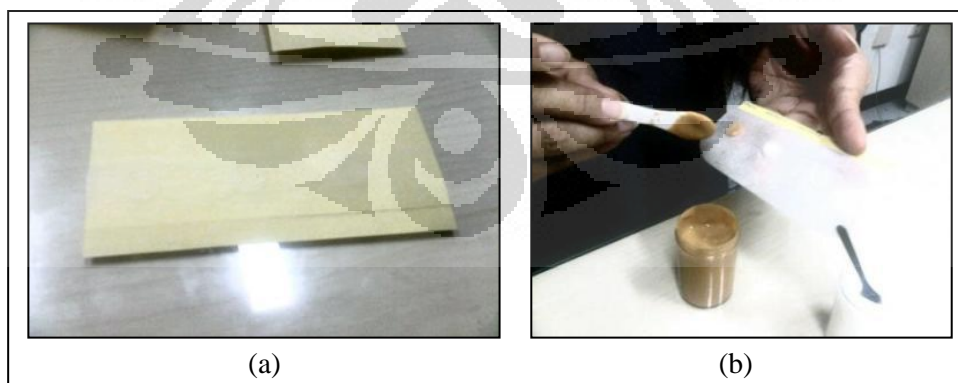
Metode	Kelompok	Iritasi		Alergi	
		N [^]	%	N [^]	%
<i>ROPT</i>	Kontrol (EGM)	0	0,0	0	0,0
	Uji (EKGC)	0	0,0	0	0,0
<i>SCPT</i>	Kontrol (EGM)	0	0,0	0	0,0
	Kontrol (EKGC)	0	0,0	0	0,0

N[^] = jumlah relawan dengan respon positif

Tabel 4.6 Hasil Respon Relawan (n=30)

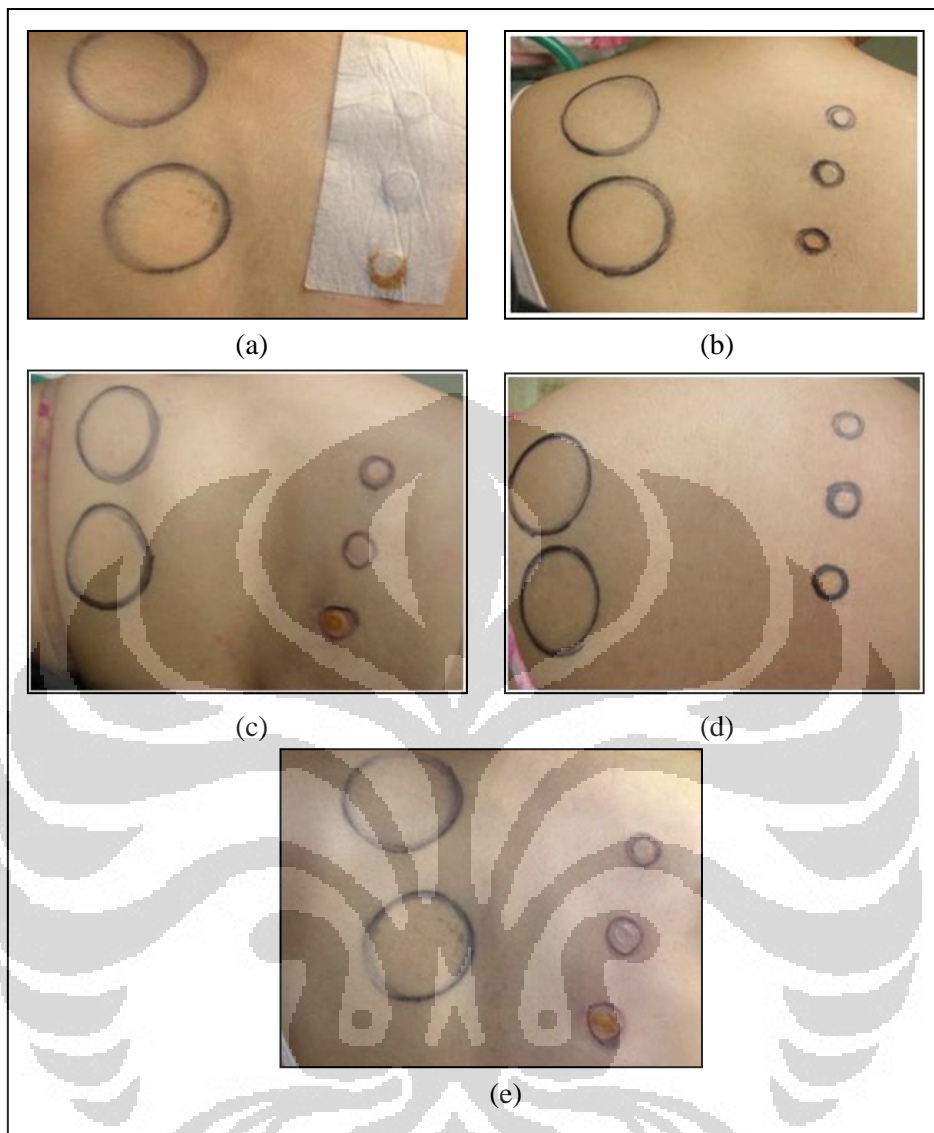
Metode	Kelompok	Respon Relawan (%)	
		Nyaman	Tidak Nyaman
<i>ROPT</i>	Kontrol (EGM)	100	0
	Uji (EKGC)	100	0
<i>SCPT</i>	Kontrol (EGM)	100	0

Gambar hasil uji keamanan bisa dilihat pada Gambar 4.20



Keterangan: Foto Gamma Chamber (a), Pengisian Gamma Chamber (b)

Gambar 4.19 *Gamma Chamber*



Keterangan: awal (a), setelah 24 jam pada jam 1 (b), setelah 24 jam pada jam 2 (c), setelah 24 jam pada jam 48 (d), setelah 24 jam pada jam 72 (e)

Gambar 4.20 Uji *SCPT* dan *RPOT*

Hal berbeda ditunjukkan dari hasil penelitian oleh Tilaar et al. (2009) yaitu penelitian manfaat kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) tunggal sebagai bahan antioksidan dan pelembab dalam kosmetik, yaitu terdapat reaksi iritasi dan alergi pada uji *SCPT* sebanyak 4% (Tilaar et al., 2009) pada 50 orang relawan. Reaksi iritasi dan alergi tersebut mungkin disebabkan oleh propilen glikol yang digunakan sebagai pelarut dalam sediaan penelitian Tilaar et al. (2009).

4.3.2 Uji Manfaat

Hasil penelitian dan analisis data masing-masing parameter penuaan kulit (kelembaban, elastisitas dan tingkat kecerahan kulit) pada kelompok kontrol dan perlakuan menunjukkan bahwa uji normalitas (Uji Shapiro Wilk) dan homogenitas (*Levene's Test*) untuk kelompok sebelum dan setelah perlakuan masing-masing kelompok terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$) (Tabel 4.7).

Uji perbandingan sebelum perlakuan berupa ekstrak kombinasi antara kedua kelompok menggunakan uji *t-independent* menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna nilai masing-masing parameter penuaan kulit (kelembaban, elastisitas dan tingkat kecerahan kulit) antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan ($p = 0,557$). Hal ini berarti nilai masing-masing parameter penuaan kulit (kelembaban, elastisitas dan tingkat kecerahan kulit) antar kelompok sebelum diberikan perlakuan adalah sama.

Tabel 4.7 Rerata Nilai Parameter Kulit Sebelum Perlakuan

Kelompok Subjek	N	Rerata Kelembaban Kulit	SB	<i>t</i>	P
Kontrol (EGM)	30	73.27	10.17	-0,619	0, 557
Uji (EKGC)	30	74.91	9.11		

4.3.2.1 Kelembaban Kulit

Uji perbandingan sesudah diberikan perlakuan berupa pemberian topikal ekstrak tunggal kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) (EGM) dan pemberian topikal ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) dan herba pegagan (*Centella asiatica L.*) (EKGC) antara kedua kelompok selama 28 hari menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna nilai kelembaban kulit antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (0,712). Hal ini berarti kedua kelompok setelah diberikan perlakuan nilai parameter kelembaban kulit adalah sama.

a. Uji Manfaat Sebelum Perlakuan (t_0)

Uji ini bertujuan untuk membandingkan rerata kelembaban kulit antar kelompok sebelum diberikan perlakuan. Hasil analisis kemaknaan dengan uji *t-independent* disajikan pada Tabel 4.8 yang menunjukkan bahwa rerata kelembaban kulit kelompok kontrol adalah $76,10 \pm 8,96$, rerata kelompok EKGC adalah $78,32 \pm 7,03$. Analisis kemaknaan dengan uji *t-independent* menunjukkan bahwa nilai $t = -0,99$ nilai $p = 0,327$. Hal ini berarti bahwa rerata kelembaban kulit pada kedua kelompok adalah tidak berbeda ($p = 0,327$).

Tabel 4.8 Rerata Kelembaban Kulit Antar Kelompok Sebelum Perlakuan

Kelompok Subjek	N	Rerata Kelembaban Kulit	SB	t	P
Kontrol (EGM)	30	76,10	8,96	-0,99	0,327
Uji (EKGC)	30	78,32	7,03		

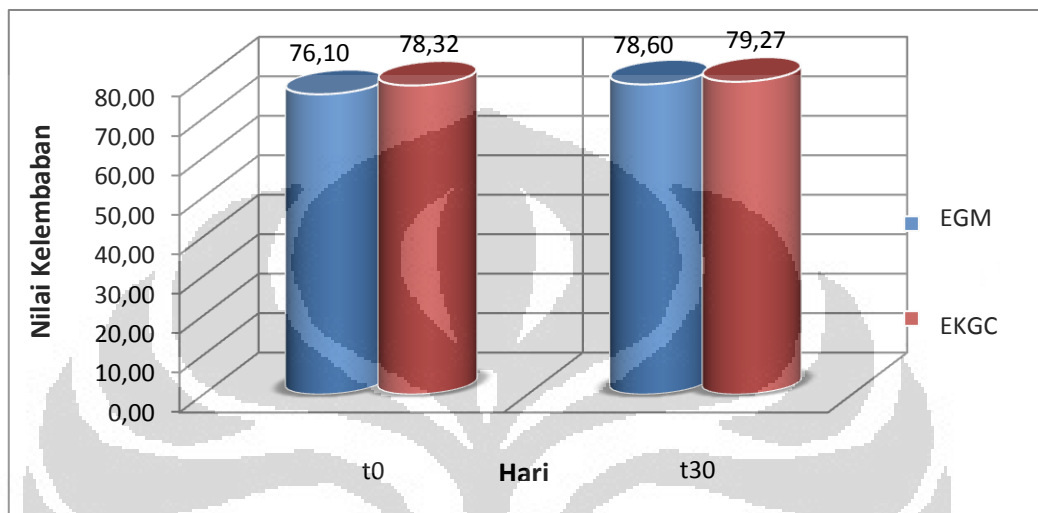
b. Uji Manfaat Setelah Perlakuan (t_{30})

Uji ini bertujuan untuk membandingkan rerata kelembaban kulit antar kelompok sesudah diberikan perlakuan selama 4 minggu. Hasil analisis kemaknaan dengan uji *t-independent* disajikan pada Tabel 4.9 yang menunjukkan bahwa rerata kelembaban kulit kelompok kontrol adalah $78,60 \pm 6,93$, rerata kelompok EKGC adalah $79,27 \pm 6,00$. Analisis kemaknaan dengan uji *t-independent* menunjukkan bahwa nilai $t = -0,37$ nilai $p = 0,712$. Hal ini berarti bahwa rerata kelembaban kulit pada kedua kelompok adalah tidak berbeda ($p = 0,712$).

Tabel 4.9 Rerata Kelembaban Kulit Antar Kelompok Sesudah Perlakuan

Kelompok Subjek	N	Rerata Kelembaban Kulit	SB	t	P
Kontrol (EGM)	30	78,60	6,93	-0,37	0,712
Uji (EKGC)	30	79,27	6,00		

Uji manfaat terhadap parameter kelembaban kulit menunjukkan adanya perubahan yang tidak bermakna jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Perbandingannya dapat dilihat pada Gambar 4.21.



Gambar 4.21 Perbandingan Kelembaban Kulit Sebelum Perlakuan (t_0) dan Setelah Perlakuan (t_{30})

Hasil penelitian berbeda dengan Tilaar et al. (2009) yang meneliti manfaat sediaan topikal berisi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) tunggal yang mendapatkan efek kelembaban namun penelitian itu hanya melihat efikasi krim setelah aplikasi krim pada jam ke-1 sampai ke-4.

4.3.2.2 Elastisitas Kulit

a. Uji Manfaat Sebelum Perlakuan (t_0)

Uji ini bertujuan untuk membandingkan rerata elastisitas kulit antar kelompok sebelum diberikan. Hasil analisis kemaknaan dengan uji *t-independent* disajikan pada Tabel 4.10 yang menunjukkan bahwa rerata elastisitas kulit kelompok kontrol adalah $0,57 \pm 0,11$, rerata kelompok EKGK adalah $0,61 \pm 0,14$.

Analisis kemaknaan menunjukkan bahwa nilai $t = -1,16$ nilai $p = 0,251$. Hal ini berarti bahwa rerata elastisitas kulit pada kedua kelompok adalah tidak berbeda ($p = 0,251$).

Tabel 4.10 Rerata Elastisitas Kulit Antar Kelompok Sebelum Perlakuan

Kelompok Subjek	N	Rerata Elastisitas Kulit	SB	T	P
Kontrol (EGM)	30	0,57	0,11	-1,16	0,251
Uji (EKGC)	30	0,61	0,14		

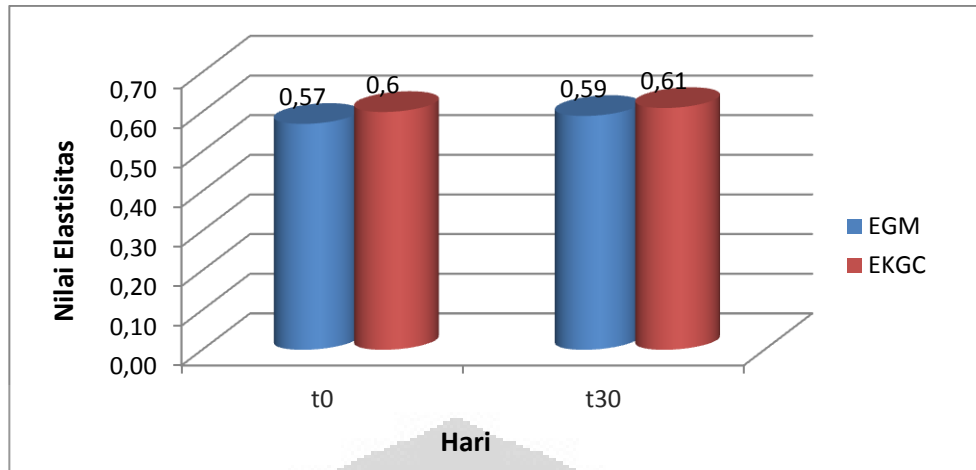
b. Uji Manfaat Setelah Perlakuan (t30)

Uji ini bertujuan untuk membandingkan rerata elastisitas kulit antar kelompok sesudah diberikan perlakuan selama 4 minggu. Hasil analisis kemaknaan dengan uji *t-independent* disajikan pada Tabel 4.11 yang menunjukkan bahwa rerata elastisitas kulit kelompok kontrol adalah $0,59 \pm 0,13$, rerata kelompok EKGC adalah $0,60 \pm 0,12$. Analisis kemaknaan menunjukkan bahwa nilai $t = -0,39$ nilai $p = 0,699$. Hal ini berarti bahwa rerata elastisitas kulit pada kedua kelompok adalah tidak berbeda ($p = 0,699$).

Tabel 4.11 Rerata Elastisitas Kulit Antar Kelompok Setelah Perlakuan

Kelompok Subjek	N	Rerata Elastisitas Kulit	SB	t	P
Kontrol (EGM)	30	0,59	0,13	-0,39	0,699
Uji (EKGC)	30	0,60	0,12		

Uji Manfaat terhadap parameter elastisitas kulit menunjukkan adanya perubahan yang tidak bermakna jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Perbandingannya dapat dilihat pada Gambar 4.22.



Gambar 4.22 Perbandingan Elastisitas Kulit Sebelum Perlakuan (t0) dan Setelah Perlakuan (t30)

Hasil penelitian Hsu et al. (2004) yang meneliti manfaat sediaan krim yang berisi kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.), teh hijau (*Camelia sinensis* L.) dan delima (*Punica granatum* L.) menyatakan bahwa terdapat perbaikan elastisitas kulit pada 30 relawan yang mengalami penuaan dini.

4.3.2.3 Kecerahan Kulit

a. Uji Manfaat Sebelum Perlakuan (t0)

Uji ini bertujuan untuk membandingkan rerata kecerahan kulit antar kelompok sebelum diberikan perlakuan. Hasil analisis kemaknaan dengan uji *t-independent* disajikan pada Tabel 4.12 yang menunjukkan bahwa rerata kecerahan kulit kelompok kontrol adalah $516,37 \pm 13,63$, rerata kelompok EKG adalah $515,21 \pm 14,07$. Analisis kemaknaan menunjukkan bahwa nilai $t = 0,30$ nilai $p = 0,763$. Hal ini berarti bahwa rerata kecerahan kulit pada kedua kelompok adalah tidak berbeda ($p = 0,763$).

Tabel 4.12 Rerata Kecerahan Kulit Antar Kelompok Sebelum Perlakuan

Kelompok Subjek	n	Rerata Elastisitas Kulit	SB	T	P
Kontrol (EGM)	30	516,37	13,63	-0,30	0,763
Uji (EKG)	30	515,21	14,07		

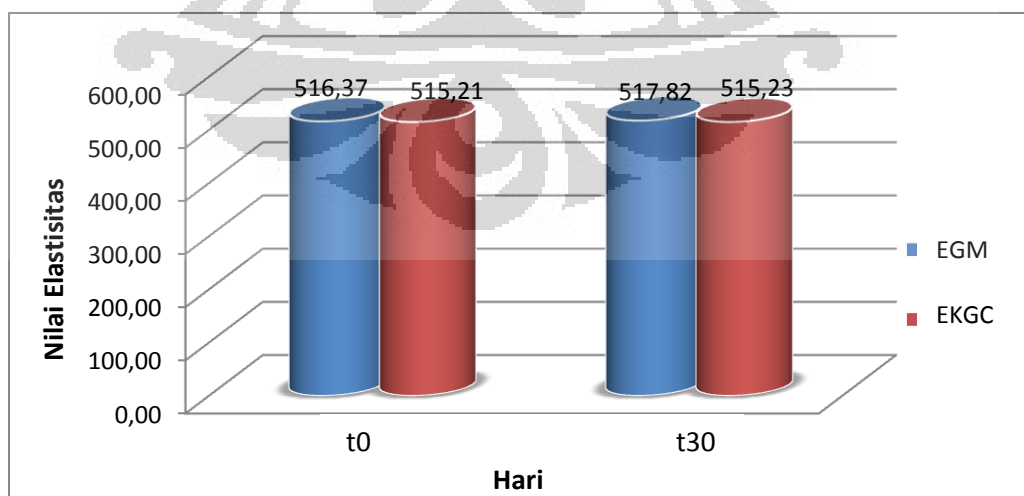
b. Uji Manfaat Setelah Perlakuan (t30)

Uji ini bertujuan untuk membandingkan rerata kecerahan kulit antar kelompok sesudah diberikan perlakuan selama 4 minggu. Hasil analisis kemaknaan dengan uji *t-independent* disajikan pada Tabel 4.13 yang menunjukkan bahwa rerata kecerahan kulit kelompok kontrol adalah $517,82 \pm 14,10$, rerata kelompok EKGC adalah $515,23 \pm 13,49$. Analisis kemaknaan menunjukkan bahwa nilai $t = 0,68$ nilai $p = 0,502$. Hal ini berarti bahwa rerata kecerahan kulit pada kedua kelompok adalah tidak berbeda ($p = 0,502$).

Tabel 4.13 Rerata Kecerahan Kulit Antar Kelompok Setelah Perlakuan

Kelompok Subjek	n	Rerata Elastisitas Kulit	SB	t	P
Kontrol (EGM)	30	517,82	14,10	0,68	0,502
Uji (EKGC)	30	515,23	13,49		

Uji Manfaat terhadap parameter kecerahan kulit menunjukkan adanya perubahan yang tidak bermakna jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Perbandingannya dapat dilihat pada Gambar 4.23.



Gambar 4.23 Perbandingan Kecerahan Kulit Sebelum Perlakuan (t0) dan Setelah Perlakuan (t30)

Hasil uji manfaat menyatakan bahwa pemberian krim antioksidan berisi ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) (EKGK) dapat meningkatkan kelembaban, elastisitas dan kecerahan kulit setelah pemakaian selama 28 hari, namun secara statistik hasil tidak berbeda secara bermakna dibandingkan dengan pemberian topikal ekstrak tunggal kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) (EGM). Artinya kedua sediaan memiliki efikasi yang sama walaupun kandungan zat aktif berbeda (secara *in vivo*). Hal ini berbeda jika dibandingkan dengan hasil uji *in vitro* yang menyatakan bahwa aktivitas antioksidan dari kedua sediaan berbeda secara bermakna. Dalam review tahun 2006 diberitakan hanya 9 kandungan zat aktif yang melewati uji klinik lengkap, sementara 15 kandungan zat aktif hanya melalui uji hewan atau uji *in vitro* saja. Dari 8000 zat yang diketahui antioksidan, hanya 28 yang melewati *Double blind controlled clinical trial* dan hanya separuhnya yang menunjukkan adanya manfaat (Thornfeldt and Bourne, 2010)

Jadi analisis menunjukkan bahwa hasil uji *in vitro* yang baik belum tentu akan terbukti pada uji *in vivo*. Ada beberapa hal yang dapat mempengaruhi hal ini antara lain lamanya penelitian, formulasi sediaan, lokasi pengolesan krim dan terapi kombinasi.

Lamanya penelitian untuk hasil yang lebih signifikan minimal 3 bulan (Thornfeldt and Bourne, 2010), namun karena kendala ketersediaan subyek dan sarana maka penelitian ini dilakukan dalam 1 bulan. Karena itu hasil penelitian ini merupakan kesimpulan sementara.

Formulasi sediaan pun memiliki kontribusi yang besar terhadap hasil efikasi, diantaranya bahan-bahan yang menjadi basis krim (ukuran partikel, berat molekul, dan *penetration enhancer*) (Draelos and Pugliese, 2011; Fuller and Smith, 2006). Namun penelitian ini tidak menggunakan bahan-bahan tersebut untuk menghindari *complicating factor* yang akan mengganggu hasil penelitian.

Krim yang dibuat dalam penelitian ini sebenarnya ditujukan untuk pemakaian pada wajah, namun karena alasan etik, lokasi pengolesan dilakukan di lengan bawah bagian dalam (COLIPA, 1997). Ada beberapa perbedaan antara kulit wajah dan lengan, antara lain ketebalan kulit yang berbeda yang menyebabkan variasi permeabilitas (kulit wajah lebih tipis), jumlah pembuluh

darah yang berbeda (kulit wajah memiliki pembuluh darah yang lebih banyak yang menyebabkan penyerapan obat lebih baik), dan distribusi kelenjar minyak yang berbeda (kulit wajah memiliki kelenjar minyak lebih banyak, hal ini menyebabkan fungsi barrier kulit wajah lebih terjaga) (Draelos and Pugliese, 2011; Fuller and Smith, 2006). Cara pengolesan pun memegang peranan terhadap absorpsi krim, dalam penelitian ini dilakukan cara usapan ringan (*gentle swabbing*) sebanyak 50 kali sesuai Wong et al. (2007) untuk memastikan penetrasi sempurna namun tidak melakukan modifikasi pada permukaan kulit yang akan mempengaruhi hasil penelitian ini (Draelos and Pugliese, 2011; Fuller and Smith, 2006). Jumlah pengolesan ini tidak berlaku untuk area lainnya seperti kulit wajah karena perbedaan ketebalan kulit.

Untuk mengoptimalkan manfaat antioksidan topikal, dapat dilakukan terapi kombinasi, antara lain kombinasi topikal dan kombinasi terapi oral. Secara topikal antioksidan akan memperkuat manfaat tabir surya (Weber, 2007), gabungan dengan antioksidan lain misalnya vitamin C akan bermanfaat sinergis (Baran, 2011). Penelitian yang menggabungkan terapi topikal dan terapi oral yaitu vitamin C dan vitamin E juga menunjukkan manfaat yang lebih baik (Palombo, 2007). Antioksidan pun diketahui bersifat preventif, bukan merupakan *gold standard* untuk terapi penuaan kulit (Thornfeldt and Bourne, 2010).

Selain faktor-faktor tersebut di atas, penting untuk diingat bahwa radikal bebas merupakan salah satu dari sekian banyak penyebab penuaan kulit, karena itu tetap diperlukan pendekatan secara holistik untuk mengatasi masalah penuaan kulit (Maibach, 2010).

BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian analisis uji *in vitro* dan uji *in vivo* ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) sebagai antioksidan topikal didapatkan hasil sebagai berikut:

- a. Pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak secara *in vitro* dengan menggunakan metode peredaman DPPH menunjukkan bahwa ekstrak kombinasi kulit manggis ((*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) menunjukkan nilai aktivitas penangkal radikal bebas yang tinggi meskipun aktivitasnya tidak melebihi ekstrak tunggal kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) (GME). Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak terbukti memiliki aktivitas secara *in vitro*.
- b. Hasil evaluasi dan uji stabilitas menunjukkan bahwa sediaan krim yang digunakan dalam penelitian ini memiliki stabilitas yang baik.
- c. Pemberian sediaan krim yang berisi ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) (EKGC) menunjukkan hasil yang aman, tidak ada efek samping berupa reaksi alergi maupun reaksi iritasi.
- d. Pemberian sediaan krim yang berisi ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan herba pegagan (*Centella asiatica* L.) (EKGC) selama 28 hari terhadap beberapa parameter kulit menunjukkan hasil namun secara statistik tidak berbeda bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol.
- e. Dari hasil uji *in vitro* dan uji *in vivo* didapatkan bahwa hasil uji *in vitro* tidak selalu relevan dengan hasil uji *in vivo*, disebabkan oleh beberapa faktor-faktor yang menentukan keberhasilan uji *in vivo* tersebut.

5.2 Saran

Untuk mendapatkan hasil yang lebih bermakna maka diperlukan penelitian lebih lanjut yaitu:

- a. Sebaiknya dilakukan uji manfaat dengan krim plasebo sebagai kontrol negatif.
- b. Perlu dilakukan penelitian lanjutan yaitu fraksinasi masing-masing ekstrak untuk memperbaiki tampilan sediaan krim meliputi warna dan aroma.
- c. Sebaiknya dilakukan uji manfaat dengan waktu yang lebih panjang minimal 3 bulan untuk melihat korelasi dengan hasil uji *in vitro*.
- d. Sebaiknya dilakukan jenis uji manfaat yang lain berupa *clinical assesment* (*Glogau scale*), metode biofisikal non invasif yang lain yaitu *Skin Surface Topography*, evaluasi *Epidermal Barrier Function by Transepidermal Water Loss Assesment*, *SC Hydration* dengan metode elektrik (*Skin Chip®*, *Raman microspectroscopy*), keasaman (pH) permukaan kulit, mikrosirkulasi kulit (*Doppler velocimetry*); dan metode invasif seperti biopsi kulit untuk pemeriksaan histologis.
- e. Untuk mendapat skor dari uji manfaat dengan metode non invasif diperlukan waktu penelitian yang lebih panjang.
- f. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang uji kombinasi ekstrak dengan kromatografi *Nuclear Magnetic Resonance (NMR)* untuk membuktikan efek sinergis atau antagonis dari senyawa yang terdapat dalam masing-masing ekstrak.

DAFTAR ACUAN

- Aliyu, S., dan Ali, S. (2009). Indian Medicinal Herbs as Sources of Antioxidants. *Food Res. Int.*, 41, 1–15.
- Ardyanto. (2006). *Prosedur Penelitian: Suatu Pendekatan Praktek*. Jakarta: PT. Rineka Cipta.
- Arikunto, S. (2002). *Prosedur Penelitian*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Ansel, H.C. (1989). *Pengantar bentuk Sediaan Farmasi IV*. Terj. Dari introduction to Pharmaceutical Dosage Form oleh Farida Ibrahim. Jakarta: UI Press, 489-515.
- Apak, R., Guclu, K.G., Ozyyurek, M., Karademir, S.E. (2007). Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamin C and E, Using Their Cupric Iron Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. *J. Agric.Food Chem.*, 52, 7970-7981.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2003a). *Daftar Nomor Pendaftaran Obat Tradisional dan Suplemen Makanan yang disetujui*. Jakarta: BPOM.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2003b). *Public Warning tentang Obat Tradisional mengandung Bahan Kimia Obat*; No. KB. 01.04.II.22.2003. 22 Mei 2003. Jakarta: BPOM.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2004c). *Survei Aktif Keamanan Obat Tradisional Pelangsing di Jabotabek. Laporan*. Jakarta: BPOM.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2005d). *Public Warning tentang Produk illegal yang dicampur Bahan Kimia Obat Keras Sildenafil sitrat*; No.KH.00.01.1.042. 29 Agustus 2005. Jakarta: BPOM.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2006e). *Public Warning tentang Obat Tradisional mengandung Bahan Kimia Obat*; No. KH.00.01.1.5116. 4 Desember 2006. Jakarta: BPOM.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2007f). *Survei Aktif terhadap Produk Obat Tradisional Kategori Pegal Linu di Makassar, Yogyakarta dan Jabotabek. Laporan*. Jakarta: BPOM.
- Baillie, et al. (2009). *Cosmetic Formulation of Skin Care Products*. Z.D. Draelos, and L.A. Thaman (Eds.). London: Taylor and Francis Group, 377.
- Barnes, B. (2002). *Cosmetic Formulation of Skin Care Products*. Z.D. Draelos, and L.A. Thaman (Eds.). London: Taylor and Francis Group, 380.

- Baran, J. (Ed.) (2011). *Textbook of Cosmetic Dermatology*. London: Informa Healthcare, 383.
- Baumann, L.S. (2006). Advancing the Science of Naturals. *Cosmet. Derm. Supp.*, 18, 51-58.
- Benzie, I.F., Strain, J.J. (2003). The Ferric Reducing Antioxidant Power Assay; Direct Measure of Total Antioxidant Activity of Biological Fluids and Modified Version for Simultaneous Measurement of Total Antioxidant Power and Ascorbic Acid Concentration. *Method in Enzimology*, 299, 15-27.
- Belenky, Draelos, Z.D., and Thaman, L.A. (2006). *Cosmetic Formulation of Skin Care Products*. London: Taylor and Francis Group, 477.
- Bjelakovic, et al. (2007). Safety Issues with Herbal Medicine. *Pharmacotherapy*, 20(3), 257-269.
- Borobudur. (2011). *Pengenceran Ekstrak*. Semarang: Borobudur Herbal Medicine Industry.
- Bosset, S. (2003). Photoaging Shows Histological Features of Chronic Skin Inflammation without Clinical and Molecular Abnormalities. *Brit. J. Derm.*, 149, 826-835.
- Brinkhaus, B., Lindner, M., Cchuppan, D., Hahn, E. G. (2000). Chemical, Pharmacological and Clinical Profile of the East Asian Medical Plant *Centella asiatica*. *Phytomedicine*, 7(5), 427-448.
- Budiman, M.H. (2008). Uji Stabilitas Fisik dan Aktivitas Antioksidan Sediaan Krim yang Mengandung Serbuk Ekstrak Tomat (*Solanum lycopersicum* L.). Skripsi. Depok: UI.
- Burke, K.E., Draelos, Z.D., and Thaman, L.A. (2006). *Topical Nutritional Antioxidant in Cosmetic Formulation of Skin Care Products*. London: Taylor and Francis Group, 377.
- Chiu, L., and Kimball, K. (2003). *Herbal Remedies*. *N. Engl. J. Med.*, 347 (25), 2046-2056.
- CKEG. (2005). *Manual Instruction for Corneometer CM 825*. Courage+Khazaka Electronic GmbH. Germany: CKEG.
- CKEG. (2005). *Manual Instruction for Cutometer SEM 580*. Courage+Khazaka Electronic GmbH. Germany: CKEG.
- CKEG. (2005). *Manual Instruction for Mexameter MX 18*. Courage+Khazaka Electronic GmbH. Germany: CKEG.

- COLIPA. (1997). *Guideline for Efficacy Test*. European: COLIPA.
- Curry, A.S. (1991). *CTFA's Safety Testing Guidelines*. Washington: The Cosmetic Toiletry and Fragrance Association, 1-5.
- Cunningham, W. (1998). Aging and Photo-aging. Dalam R. Baran and H.I. Maibach (Eds.). *Textbook of Cosmetic Dermatology*. (2nd Ed.). London: Martin Dunitz, 455-467.
- Darlenski, et al. (2011). *Physiology of the Skin*. (3rd Ed.). USA: Allured Bussiness Media, 19-34.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Djajadisastra, J. (Ed). (2007). *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama, 165-175.
- Djauhariya, E., dan Hernani. (2004). *Gulma Berkhasiat Obat*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Draelos, Z.D. (2009). *Cosmeceutical Botanical. Part I*. (2nd Ed.). Philadelphia: Elsevier Saunders. 70-71.
- Draelos, Z.D., and Pugliese, P.T. (2011). *Physiology of the Skin*. (3rd Ed.) USA: Allured Bussiness Media, 19-34.
- Dweck, A. (2009). The Internal and External Use of Medicinal Plants. *Clin. Derm.*, 27, 148-158.
- ECD. (1997). *The SCCP's Notes of Guidance for Testing of Cosmetic Ingredients and Their Safety Evaluation*. Europe: SCCNP.
- EMEA. (1998). Separation of Andrographolide and Neoandrographolide from the Leaves of *Andrographis paniculata* Using High-Speed Counter-Current Chromatography. *J. Chrom. A.*, 984, 147-151.
- FDA. (2002). *Food and Drug Administration, Center of Food Safety and Applied Nutrition Office of Cosmetics and Colors*. USA: FDA.
- Fisher, et al. (2002). Pathophysiology of Premature Skin Aging Induced by Ultraviolet Light. *The New England Journal of Medicine*, vol. 337(20), 1419-1429.
- Fuller, B. and Smith, D. (2006). Antiinflammatory Effect of Co-Q10 and Colorless Carotenoid. *J. Cosm. Derm.*, 5 (1), 30-38.

- Galzote, et al. (2008). Method in Photoaging Categories. In L.D.Rhein, J.W. Fluhr (Eds.) *Aging Skin Current and Future Therapeutic Strategies*. USA: Allured Books.
- Geis, P.A. (2006). *Preservation Strategic. Cosmetic Microbiology: A Practical Approach* (2nd ed.). New York: Taylor & Francis Group, 163-175.
- Gilchrest, B.A. (1996). A Review of Skin Aging and Its Medical Therapy. *J. Dermatol.*, 135, 867-875.
- Gilchrest, B.A., et al. (2003). Aging of Skin. In T.B. Fitzpatrick, A.Z. Eisen, I.M. Freedberg, and K.F. Austen. (Eds.). *Dermatology in General Medicine*. Vol 2. (6th Ed.). New York: Mc Graw-Hill, 1386-1391.
- Graft, J. (2005). Anti Aging Skin Care Ingredient Technologies. In C.M. Burgess (Ed.) *Cosmetic Dermatology*. Germany: Springer, 17-23.
- Grant, et al. (2010). *Skin Aging*. Germany: Springer, 10-11, 50-51.
- Greenwald, J., Brendler, T., and Jaenicke, C. (2000). *PDR for Herbal Medicines* (2nd Ed.). Montvale: Thomson Healthcare.
- Gusmali, D., dan Gitawati, R. (2001). *Kajian Keamanan Beberapa Food Supplement yang Beredar di Tiga Kota Besar Berdasarkan Informasi dari Penandaan dan Pengalaman Konsumen*. Jakarta: Puslitbang Farmasi. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Hashim, P., et al. (2011). Triterpene Composition and Bioactivities of *Centella asiatica* L., *Molecules*, 16, 1310-1322.
- Helfrich, Y. R., Sachs, D.L., and Voorhees, J.J. (2010). Aesthetic Dermatology. In *The Biology of Skin Aging*, New York; Mc Graw-Hill, 1549.
- Helfrich, et al. (2005). *The Biology of Skin Aging*, Aesthetic Dermatology. 12-46.
- Ho et al. (2002). Chemical Studies on Antioxidant Mechanism of Garcinol: Analysis of Radical Reaction Products of Garcinol with Peroxyl Radical and Their Antitumor Activities. *Tetrahedron*, 58 (51), 10095-10102.
- Hsu, et al. (2004). Efficacy Antioxidant Herbal. *J. Aest. Derm.*, 10, 67-69.
- Hutapea, J.R. (1994). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia Jilid III*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI dan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Iswari, K. (2011). *Kulit Manggis Berkhasiat Tinggi*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama, 13-14.

- Jamil, S.S., et al. (2007). *Centella asiatica* (Linn.) Urban a Review. *Nat. Prod. Rads.* Vol. 6, 2.
- Jellin, J.M., Gregory, P., and Butz, F. (2006). *Natural Medicines Comprehensive Data base* (8th Ed.). Stockton: Therapeutic Research Faculty Stockton 140-146, 619, 620, 767, 783, 784, 858, 859, 972-974, 977, 978.
- Jusuf, N.K. (2005). Kulit Menua. *Majalah Kedokteran Nusantara*, Vol. 38, No. 2, 184-188.
- Khaiat, A., (2000). Botanical Extracts. In Elsner, P., and Maibach, I.H. (Eds.). *Cosmeceuticals*. New York: Marcel Dekker, 97-101.
- Kumar, V.M.H., and Gupta, Y.K. (2006). Effect of *Centella asiatica* L. on Pentylentetrazole-Induced Kindling, Cognition and Oxidative Stress in Rats. *Pharm. Biochem. and Behavior*, 3, 579-585.
- Lachman, L. (1994). *Teori dan Praktek Farmasi Industri*. (Ed. ke-3). Penerjemah Siti Suyatmi. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia, UI Press, 1092-1144.
- Lasmadiwati. (2004). *Kulit Manggis Berkhasiat Tinggi*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama, 13-14.
- Lee, M.K, et al. (2006). Asiatic Acid Derivatives Protect Cultured Cortical Neurons from Glutamate-Induced Excitotoxicity. *Res. Comm. in Mol. Path. and Pharm.*, 108(1-2), 75-86.
- Liu, et al. (2007). Antioxidant Activity of Methanolic Extract of Emblica Fruit (*Phyllanthus emblica* L.) from Six Regions in China. *J. Food Comp. Anal.* 21, 219-228.
- Linton, et al. (2008). The Scavenging Capacity and Synergistic Effects of Lycopene, Vitamin E, Vitamin C and Carotene Mixtures On The DPPH Free Radical. *Food Sci. Tech.*, 8, 61-65
- MacKay, C., and Miller, M. (2003). Evaluation of Antioxidant Activity of Vegetables from Okinawa Prefecture and Determination of Some Antioxidative Compounds. *Food Sci. and Tech. Res.*, 12 (1), 8-24.
- Maibach, H.I. (2010). Topical Peptides and Proteins for Aging Skin. In. Farage M.A, Miller. K.W, Maibach H.I. (eds.). *Textbook of Aging Skin*. Germany: Springer-Verlag, 1089-1118.
- Manian, et al. (2008). The Antioxidant Activity and Free Radical Scavengers Potential of Two Different Solvent Extract of *Camelia sinensis* L., *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. *Food Chemistry*, 1, 1000-1007.

- Matsui, et al. (2008). Sounding Board Botanical Medicines – The Need for New Regulations. *Food Chemistry*, 347 (25), 2073-2076.
- Miteva, and Fluhr. J.W. (2008). *Practical Aspects of Cosmetic Testing*. Germany: Springer.
- Moongkarndi, et al. (2004). The Antioxidant Activity and Free Radical Scavenging Potential of Two Different Solvent Extracts of *Camellia sinensis* L. O. Kuntz, *Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. *Food Chemistry*, 56, 1000-1007.
- Musdja, M.Y. (2011). *Uji Efek Imunomodulator, Aktivitas Antibakteri dari Bahan Menyirih dan Campuran Bahan Menyirih serta Analisis Perbandingan Senyawa Minyak Atsiri Daun Sirih dengan Campuran Bahan Menyirih*. Jakarta: FKUI.
- Nakatni, et al. (2002). Antioxidant capacities of *Pueraria mirifica*, *Stevia rebaudiana bertonii*, *Curcuma longa* Linn., *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees. and *Cassia alata* Linn. for the development of dietary supplement. *Food Chemistry* 41 (3), 548-554.
- Nganlansom, J., Suttitum, T., Jirakulsomchok, D., Puapairoj, A. (2008). Effects of *Centella asiatica* Linn. Leaves and *Garcinia mangostana* Linn. Hull on the Healing of Dermal Wounds in Diabetic Rats. *Srinagarind Med J.*, 23,4.
- Osman, P. and Milan J. (2001). Antioxidant Constituent from The Fruit Hulls of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Originating in Vietnam. *Yakugaku Zasshi*, 114 (2), 129-133.
- Palombo, P. (2007). Beneficial Long Term Effects of Combined Oral/Topical Antioxidant Treatment with the Carotenoids Lutin and Zeaxanthin on Human Skin: a Double Blind, Placebo, Controlled Study. *Skin Pharmacol. Physiol.*, 20, 199-210.
- Pangkahila, W. (2007). *Anti Aging Medicine: Memperlambat Penuaan, Meningkatkan Kualitas Hidup*. Jakarta: PT. Kompas Media Nusantara, 13-19.
- Percival, M. (1998). Clinical Nutrition Insight Antioxidant. *Clin. Nut. J.*, 31, 1.
- Pindha, I.G.A.S. (2000). Kelainan Kulit pada Penuaan Dini. Dalam *Terobosan Peremajaan Kulit di Era Milenium Baru*. Bali: Era.
- Pinnell. (2003). *Evidence-based Herbal Medicines*. Philadelphia: Hanley & Belfus, 387 – 395.
- Pittella, F., et al. (2009). Antioxidant and Cytotoxic Activities of *Centella asiatica* (L.) Urb. *Int. J. Mol. Sci.* 10, 3713-3721.

- Pozo, A.D., and Viscasillas, A. (2007). Efficacy Evaluation. In A. Salvador and A.Chisvet (Eds.). *Analysis of Cosmetic Products*. Oxford UK: Elsevier, 462-471.
- Rabe, et al. (2006). Photoaging Treatment Categories. In L.D.Rhein, J.W. Fluhr (Eds.) *Aging Skin Current and Future Therapeutic Strategies*. USA: Allured Books.
- Robert, J. and Walter. (2008). Low Molecular Weight Antioxidants and Their Role in Skin Aging. *Clin. Exp. Derm.*, 26 (7), 578–82.
- Rowe, D.J., and Guyuron, B. (2010). Environmental and Genetic Factor in Facial Aging in Twin. In M.A. Farage, F.W. Miller and H.I. Maibach (Eds.). *Textbook of Aging Skin*. German: Springer-Verlag, 441-446.
- Saha, K. (2008). *Development of Plant Based Medicines: Conservation, Efficacy and Safety*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Sastroasmoro, S. (Ed.). (2002). Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis. (Ed. Ke-2). Jakarta: Sagung Seto, 259-269.
- Sayre, L.M., Smith, M.A., and Perry, G. (2001). Chemistry and Biochemistry of Oxidative Stress in Neuro Degenerative Disease. *Curr. Med. Chem.*, 8, 721-738.
- SCCNFP. (2000). *Notes of Guidance for Testing of Cosmetic Ingredients for Their Safety Evaluation*. Brussel: SCCNFP.
- Selfitri. (2008). Chemistry and Biochemistry of Oxidative Stress in Neuro Degenerative Disease. *Curr. Med. Chem.*, 8, 721-738.
- Setyorini, A. (2002). Study Potensi Kebangkrutan Perusahaan Publik di Bursa Efek Jakarta Tahun 1996 – 1998. *Jurnal Kompak*, 5.
- Sibuea, P. (2003). *Antioksidan Senyawa Ajaib Penangkal Penuaan Dini*. Yogyakarta: Sinar Harapan.
- Silalahi. (2006). Herbal Product Contamination and Toxicity. *J. Pharm. Prac.*, 18(3), 188-208.
- Sinly, E.P. (2008). *Bahan Alam, Ujung Tombak Riset Kimia di Indonesia*. 21 November 2010. <http://www.chem-is-try.org>.
- Skidmore-Roth, L. (2006). *Herb and Natural Supplements* (3rd Eds.). Philadelphia: Elsevier Mosby, xiii, xvii.
- Soepardiman, L. (2003). Etiopatogenesis Kulit Menua. Dalam S.M. Wasitaatmadja dan S.L. Menaldi. *Peremajaan Kulit* (Ed. 1). Jakarta: Balai Penerbit FKUI, 1-9.

- Sommerfeld, B. (2007). Randomized, Plasebo- Controlled, Double-Blind, Split-Face Study on the Clinical Efficacy of Tricutans on Skin Firmness. *Phytomed*, 14, 711-715.
- Stallings, A.F., and Lupo, M.P. (2009). Practical Uses of Botanicals in Skin Care. *J. Clin. Aesth. Derm.*, 2(1), 36-40.
- Sugiyono, O.R. (2009). *Statistik untuk Penelitian*. Bandung: Alfabeta.
- Sukandar, D. (2009). *Food Safety and Its Application in Daily Life to Prevent Dangers of Consuming Unsafe Foods and Promote SPES Farmer's Health*. 28 Juli 2011. <http://database.deptan.go.id/sains-indonesia/index.php?Files>.
- Suksamrarn, et al. (2003). *Medicinal Plants of the World*. Portland: Timber Press, 16-26, 371-394.
- Thiele, J.J., Dreher, F., and Packer. L. (2000). Antioxidant Defense Systems in Skin. In P. Elsner (Ed.). *Cosmeceuticals Drugs vs Cosmetics*. New York: Marcel Dekker, 145-175.
- Thornfeldt, B., and Bourne, J. (2010). *Medicinal Plants of the World*. Portland: Timber Press, 16-26, 371-394.
- Tilaar, M., Wong, L.W., Ranti, A.S., Wasitaatmadja, S., Suryaningsih, dan Maily. (2009, Oct). *The Use of Mangosteen Pericarp for Antioxidant and Moisturizing Agents in Cosmetic*. Paper presented at the meeting of the Society of Cosmetic of Chemists (IFCC) Conference, Melbourne. Australia.
- Tiwari, S., Gehlot, S., I.S., dan Gambhir. (2002). Review *Centella asiatica*: A Concise Drug Review with Probable Clinical Uses. *J. Stress Phys. Biochem.*, 7(1), 38-44.
- Turana, Y. (2003). *Menuju Pengobatan Alternatif yang Lebih Rasional*. 20 Oktober 2011. <http://www.medikaholistik.com>
- VanWyk, B.E., and Wink, M. (2004). *Medicinal Plants of the World*. Portland: Timber Press, 16-26, 371-394.
- Wang et al. (2001). Asiatic Acid Derivatives Protect Cultured Cortical Neurons from Glutamate-Induced Excitotoxicity. *Res.Comm. in Mol. Path. Pharm.*, 108(1-2), 75-86.
- Wanashundara, P.D., and Shahidi, F. (2005). Phenolic Antioxidant. *Food Sci. Nut.*, 32(1), 185-191.
- Wasitaatmadja, S.M. (2011). Dasar-Dasar Peremajaan Kulit. Dalam S.M. Wasitaatmadja, dan S.L. Menaldi (Eds.). *Peremajaan Kulit*, Jakarta: Balai Penerbit FKUI, 10-22.

- Weber, J.D., et al. (2007). Functional and Physical Interactions of the ARF Tumor Suppressor with p 53 and Mdm2. *Proc.Natl.Acad.Sci*, 95, 8292-8297.
- WHO .(1999). *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants*. Vol.1. Geneva: WHO.
- Wijayakusuma, H., dan Dalimartha, D.S. (2006). *Ramuan Tradisional untuk Darah Tinggi*. Jakarta: Puspa Swara.
- Wong, S.P., et al. (2005). Antioxidant Activities of Aqueous Extracts of Selected Plants. *Food Sci.Tech.*, 49, 775-783.
- Wong, L.W., et al. (2009). In Search of Naturally Derived Whitening Agent – Pragmatic Approach. Jakarta: *Martha Tilaar Innovation Center*.
- Wongfhun, et al. (2010). Flavour Characterization of Fresh and Processed Pennywort (*Centella asiatica* L.). *Food Chem.*, 119, 69.
- Yuniarti, T. (2008). *Ensiklopedia Tanaman Obat Tradisional*. Yogyakarta: MedPress.
- Zheng, and Wang. (2009). Total Antioxidant Capacity of Fruits. *J. Agric. Food. Chem.*, 701-705.





[sumber: dokumentasi pribadi, telah diolah kembali]

Gambar 4.24 Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

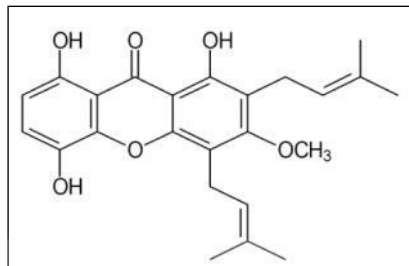


[Sumber: dokumentasi pribadi, telah diolah kembali]

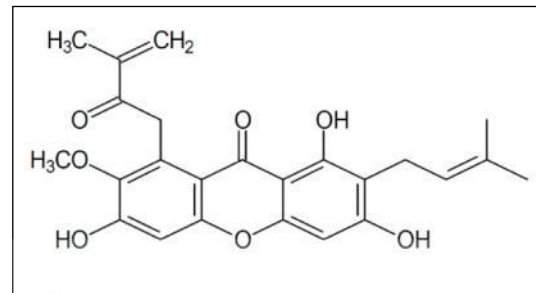
Gambar 4.25 Pegagan (*Centella asiatica* L.)



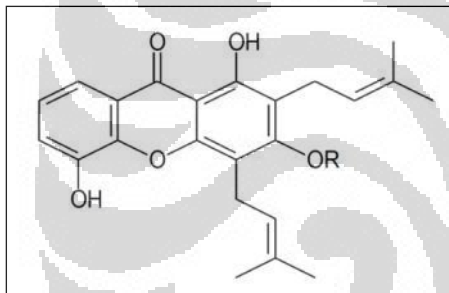
Gambar 4.26 Ekstrak Manggis dan Pegagan



(a)

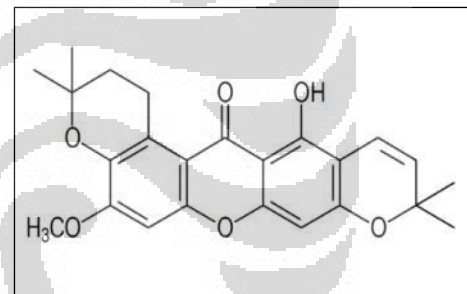


(b)



(c) $R = CH_3$

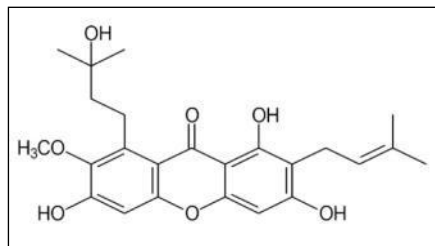
(d) $R = H$



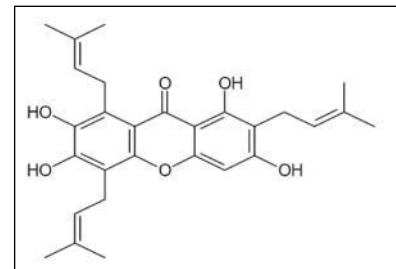
(e)

Keterangan: Struktur kimia dari 8-hidroksikudraksanton G (a), mangostingingon (b), kudraksanton G (c), 8 deoksiganin (d), garsimangoson B (e)

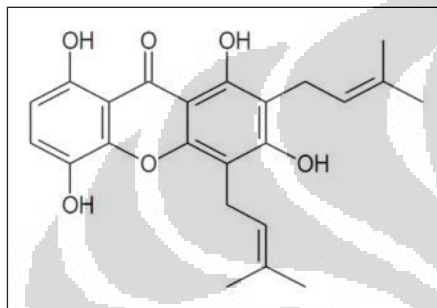
Gambar 4.27 Struktur Kimia Kandungan Kulit Manggis (A)



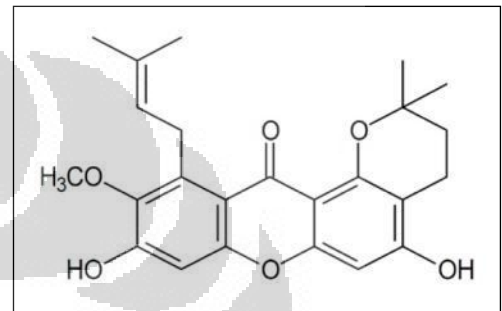
(f)



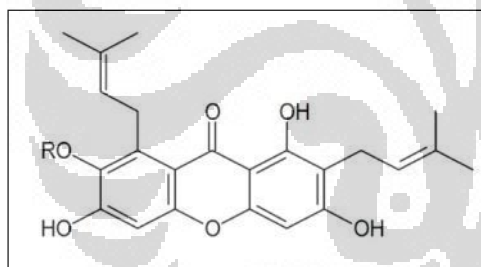
(g)



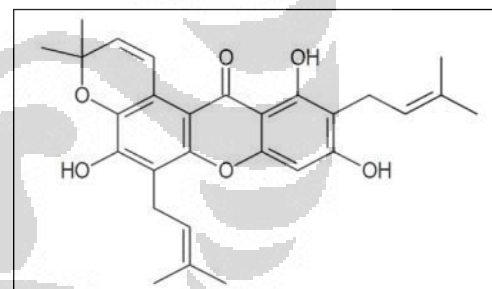
(h)



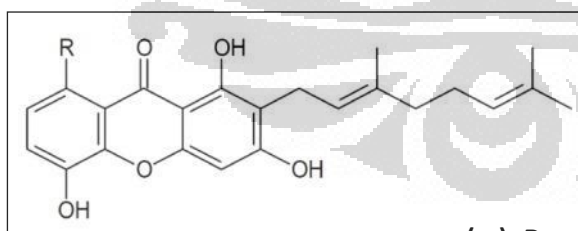
(i)



(k) R = H



(l)

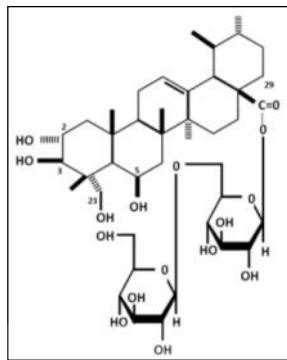


(m) R =

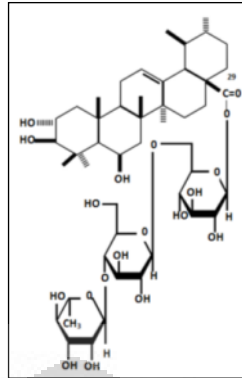
H (n) R = OH

Keterangan: Struktur kimia dari garsinon D (f), dan garsinon E (g), gartanin (h), 1-isomangostin (i), alfa-mangostin (j), gamma-mangostin (k), tovofillin A (l), mangostinin (m), dan smeathxanthon A (n).

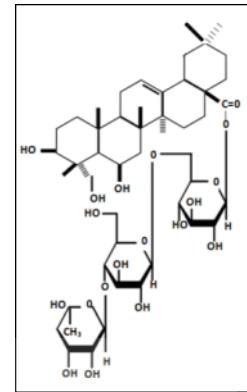
Gambar 4.28 Struktur Kimia Kandungan Kulit Manggis (B)



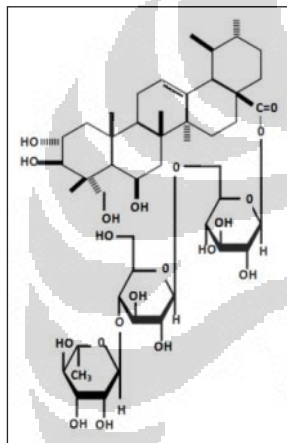
Centellasaponin B (1)



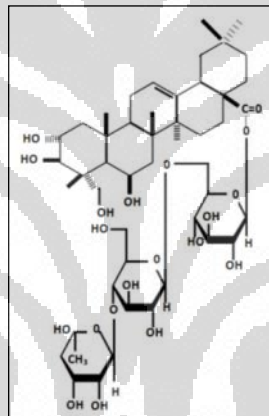
Centellasaponin C (2)



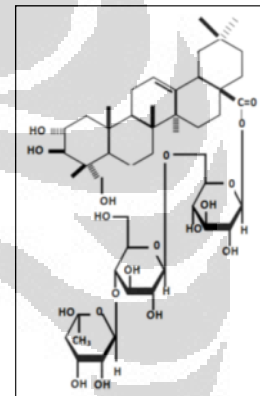
Centellasaponin D (3)



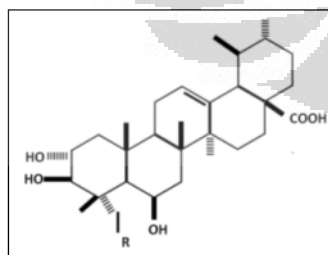
Madekassosida (4) : R=OH
Asiatikosida (5) : R=H



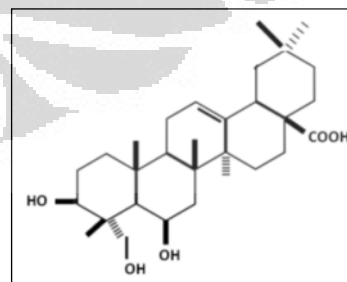
Asiatikosida B(6) : R=OH
Scheffleosida A (7) : R=H



Centellasaponin A (8)

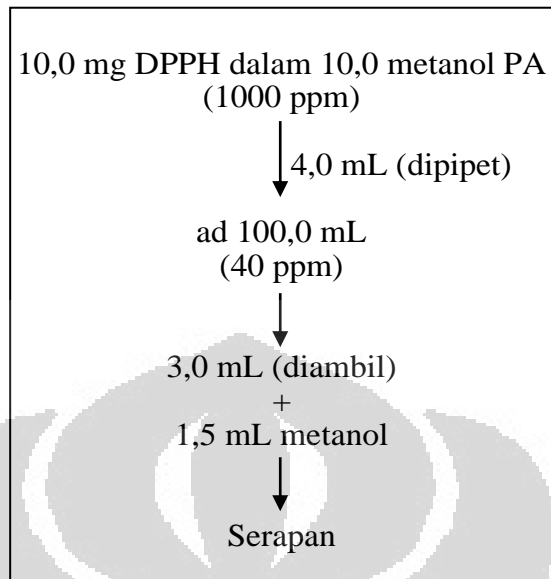


Asam Madekassik (9) : R=OH
Asam Madekatik (10) : R=H

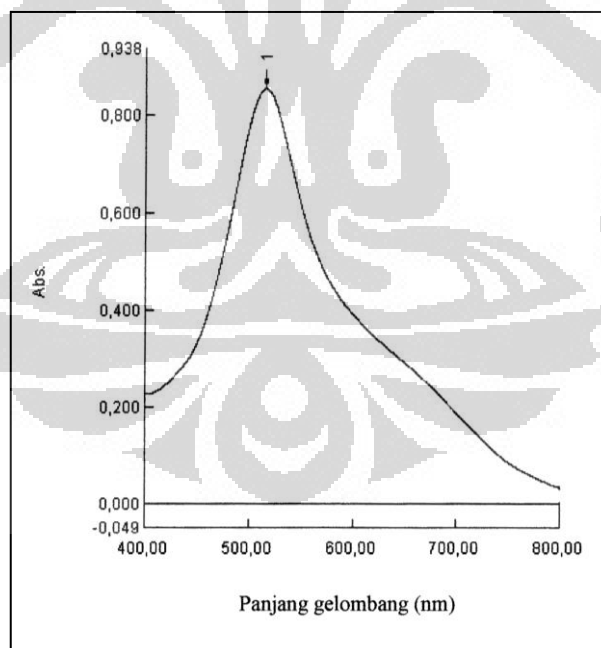


Asam 3β-6β-23-trihidroksiolean-12-en-28-oat (11)

Gambar 4.29 Struktur Kimia Kandungan Pegagan

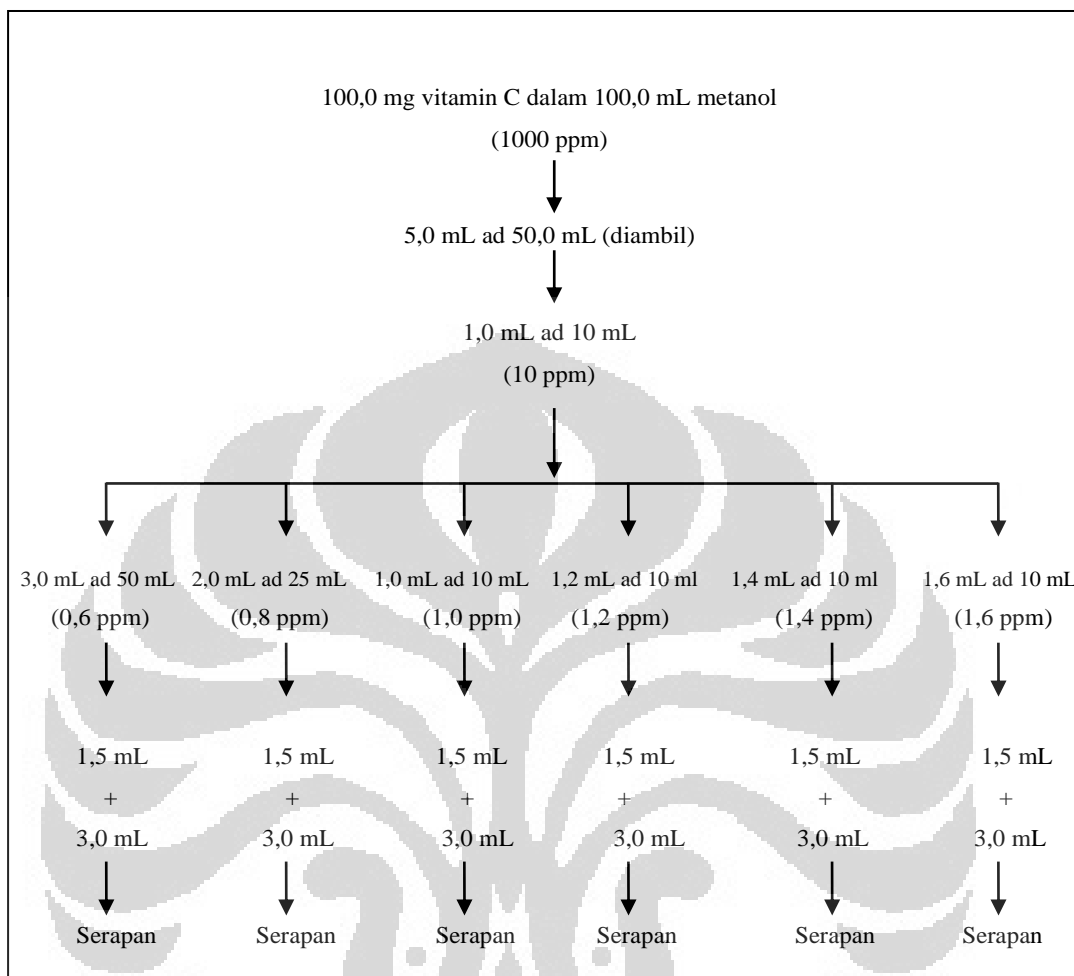


Gambar 4.30 Pengenceran DPPH dan Penentuan Serapan DPPH

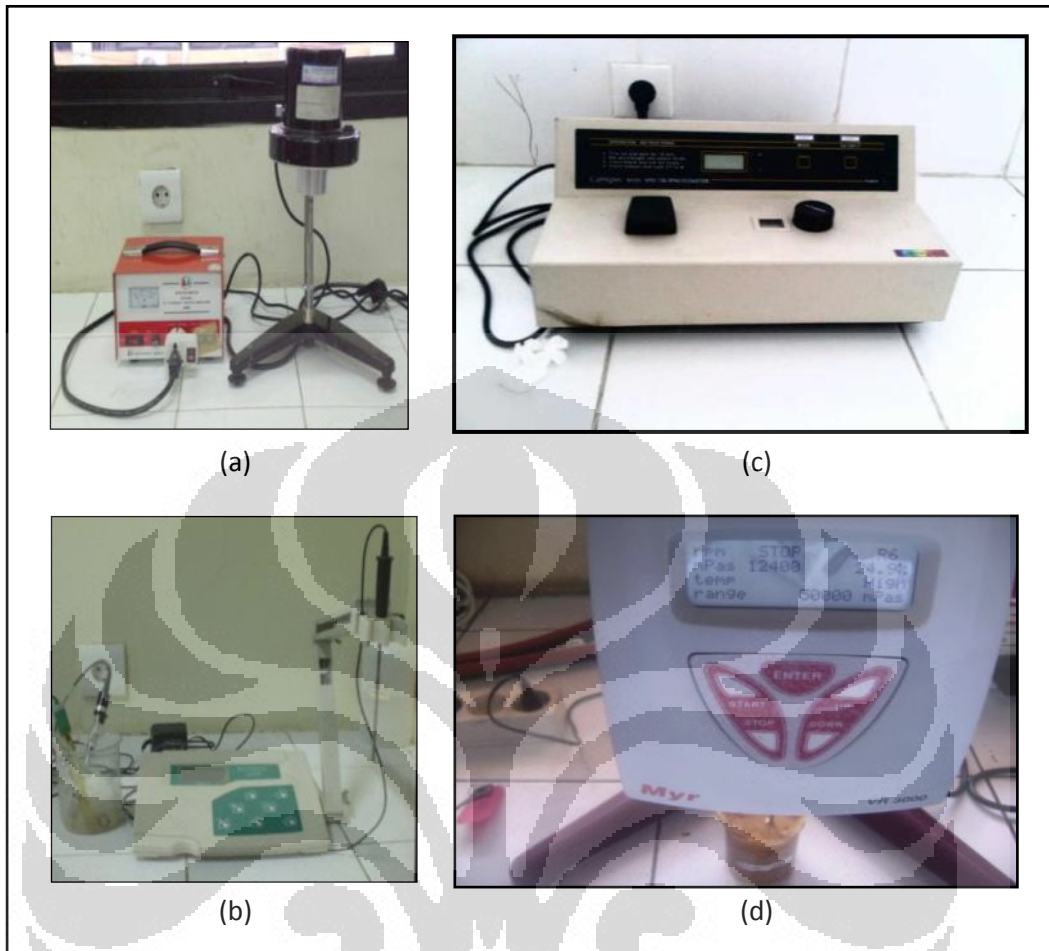


Keterangan: Larutan pereaksi = larutan DPPH 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dalam metanol panjang gelombang serapan maksimum 517,0 nm dengan serapan maksimum 0,855.

Gambar 4.31 Kurva Serapan Larutan Pereaksi DPPH



Gambar 4.32 Penyiapan dan Pengukuran Serapan Peredaman DPPH Larutan Kontrol Asam Askorbat

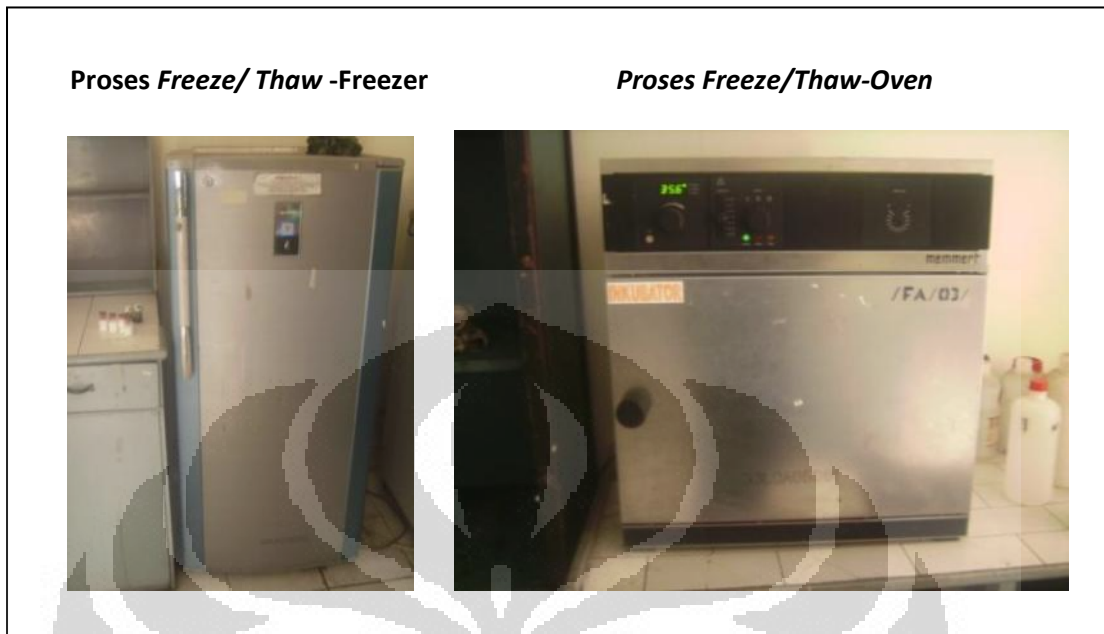


Keterangan: Homogenizer (a), pH meter (b), Spektrofotometer (c), Viskometer (d)

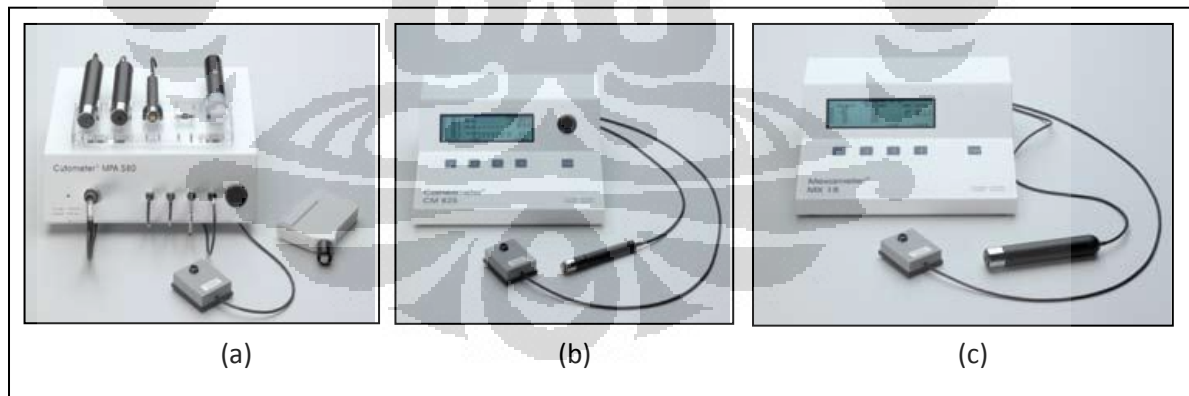
Gambar 4.33 Gambar Alat



Gambar 4.34 Proses Pengukuran pH



Gambar 4.35 Alat Uji *freeze and thaw*



Keterangan: Cutometer (a), Corneometer (b), Mexameter (c)

Gambar 4.36 Gambar Alat Uji *SCPT* dan *RPOT*



Tabel 4.14 Tabel Prosentase Peredaman

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Vitamin C	
		Absorban	%Peredaman
1	0,6	0,6136 \pm 0,0006	28,65 \pm 0,07
2	0,8	0,5762 \pm 0,0011	32,99 \pm 0,13
3	1,0	0,5341 \pm 0,0006	37,89 \pm 0,07
4	1,2	0,4912 \pm 0,0009	42,87 \pm 0,11
5	1,4	0,4473 \pm 0,0011	47,99 \pm 0,13
6	1,6	0,3915 \pm 0,0007	54,48 \pm 0,09

Keterangan : n = 3 kali

Tabel 4.15 Aktivitas Antioksidan

No.	Bahan	Bagian yang digunakan	Konsentrasi	% DPPH Pengambilan aktivitas	Potensi dibandingkan dengan Ascorbic acid (%)
1	Ascorbic acid (sebagai referensi)	-	1 mg/ml	96,86 \pm 0,00	100,00
2	Pegagan	Daun	1%	16,80 \pm 4,19	17,30
			3%	21,39 \pm 2,46	22,10
			5%	20,09 \pm 1,11	20,70
3	Manggis	Kulit Buah	1%	39,77 \pm 1,78	41,10
			3%	85,91 \pm 0,93	88,70
			5%	92,96 \pm 0,15	96,00
4	Manggis+ Pegagan	Kulit Buah dan Daun	1%	32,25 \pm 0,48	32,90
			3%	61,73 \pm 2,24	63,00
			5%	83,98 \pm 1,67	85,70

Tabel 4.16 Diameter Globul EKGC, minggu 0, T= 25±2°C, n = 300

No.	Rentang (µm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	96	107,7552
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	115	186,86925
4.	1,7500-1,9999	1,87495	-	-
5.	2,0000-2,2449	2,12245	59	125,22455
6.	2,2500-2,4449	2,34745	17	39,90665
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	13	40,59185
Jumlah (Σ)			300	500,3475

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{500,3475}{300} = 1,67825 \mu$$

Tabel 4.17 Diameter Globul EGM minggu 0, T= 25±2°C, n = 300

No.	Rentang (µm)	Nilai Tengah (m)	n	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	180	202,841
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	116	188,4942
4.	1,7500-1,9999	1,87495	1	1,87495
5.	2,0000-2,2449	2,12245	-	-
6.	2,2500-2,4449	2,34745	2	4,6949
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	1	3,12245
Jumlah (Σ)			300	400,2275

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{400,2275}{300} = 1.33409 \mu$$

Tabel 4.18 Diameter Globul EKGC, t= minggu ke-2, T= 25±2°C, n= 300

No.	Rentang (µm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	45	43,2067
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	-	-
4.	1,7500-1,9999	1,87495	67	98,1011
5.	2,0000-2,2449	2,12245	-	-
6.	2,2500-2,4449	2,34745	67	120,295
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	120	273,03
Jumlah (Σ)			300	534,1633

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{534,633}{300} = 1,782 \mu$$

Tabel 4.19 Diameter Globul EKGC, t= minggu ke-2, T= 4°C, n= 300

No.	Rentang (µm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	108	167,3748
2.	1,2500-1,4449	1,34745	54	92,8638
3.	1,5000-1,7499	1,62495	60	113,376
4.	1,7500-1,9999	1,87495	-	-
5.	2,0000-2,2449	2,12245	54	120,387
6.	2,2500-2,4449	2,34745	-	-
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	24	69,816
Jumlah (Σ)			300	563,821

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{563,821}{300} = 1,8794 \mu$$

Tabel 4.20 Diameter Globul EKGC, t= minggu ke-2, T= 40°C, n= 300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	30	34,608
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	30	43,104
4.	1,7500-1,9999	1,87495	42	66,2928
5.	2,0000-2,2449	2,12245	42	72,24
6.	2,2500-2,4449	2,34745	54	100,526
7.	2,5000-2,7449	2,62245	48	96,1536
8.	2,7500-2,9999	2,87495	6	12,8688
9.	3,0000-3,2449	3,12245	48	109,7472
Jumlah (Σ)			300	535,5408

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{535,54}{30} = 1,7851 \mu$$

Tabel 4.21 Diameter Globul EGM, t= minggu ke-2, T= 25±2°C, n= 300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	45	43,2067
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	-	-
4.	1,7500-1,9999	1,87495	67	98,1011
5.	2,0000-2,2449	2,12245	-	-
6.	2,2500-2,4449	2,34745	67	120,295
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	120	273,03
Jumlah (Σ)			300	534,1633

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{534,633}{300} = 1,782 \mu$$

Tabel 4.22 Diameter Globul EGM, t= minggu ke-2, T= 4°C, n= 300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	108	167,3748
2.	1,2500-1,4449	1,34745	54	92,8638
3.	1,5000-1,7499	1,62495	60	113,376
4.	1,7500-1,9999	1,87495	-	-
5.	2,0000-2,2449	2,12245	54	120,387
6.	2,2500-2,4449	2,34745	-	-
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	24	69,816
Jumlah (Σ)			300	563,821

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{563,821}{300} = 1,8794 \mu$$

Tabel 4.23 Diameter Globul EGM, t= minggu ke-2, T= 40°C, n= 300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	30	34,608
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	30	43,104
4.	1,7500-1,9999	1,87495	42	66,2928
5.	2,0000-2,2449	2,12245	42	72,24
6.	2,2500-2,4449	2,34745	54	100,526
7.	2,5000-2,7449	2,62245	48	96,1536
8.	2,7500-2,9999	2,87495	6	12,8688
9.	3,0000-3,2449	3,12245	48	109,7472
Jumlah (Σ)			300	535,5408

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{535,54}{300} = 1,7851 \mu$$

Tabel 4.24 Diameter Globul EKGC, t= minggu ke-4, T= 25±2°C, n= 300

No.	Rentang (µm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	30	34,6080
2.	1,2500-1,4449	1,34745	90	110,835
3.	1,5000-1,7499	1,62495	72	114,156
4.	1,7500-1,9999	1,87495	42	81,459
5.	2,0000-2,2449	2,12245	12	27,522
6.	2,2500-2,4449	2,34745	30	79,425
7.	2,5000-2,7449	2,62245	12	36,0168
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	6	22,857
Jumlah (Σ)			300	503,2644

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{503,264}{300} = 1,6775 \mu$$

Tabel 4.25 Diameter Globul EKGC, t= minggu ke-4, T= 4°C, n= 300

No.	Rentang (µm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	72	88,1568
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	54	96,703
4.	1,7500-1,9999	1,87495	42	87,108
5.	2,0000-2,2449	2,12245	126	297,0072
6.	2,2500-2,4449	2,34745	-	-
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	6	20,940
Jumlah (Σ)			300	589,9152

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{589,915}{300} = 1,9663 \mu$$

Tabel 4.26 Diameter Globul EKGC, t= minggu ke-4, T= 40°C, n= 300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	n	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	60	68,3640
2.	1,2500-1,4449	1,34745	48	60,1296
3.	1,5000-1,7499	1,62495	-	-
4.	1,7500-1,9999	1,87495	48	71,0064
5.	2,0000-2,2449	2,12245	-	-
6.	2,2500-2,4449	2,34745	48	81,8832
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	36	69,57
9.	3,0000-3,2449	3,12245	60	122,748
Jumlah (Σ)			300	573,7052

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{573,70}{300} = 1,91233 \mu$$

Tabel 4.27 Diameter Globul EGM, t = minggu ke-4, T= 25±2°C, n=300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	30	34,6080
2.	1,2500-1,4449	1,34745	90	110,835
3.	1,5000-1,7499	1,62495	72	114,156
4.	1,7500-1,9999	1,87495	42	81,459
5.	2,0000-2,2449	2,12245	12	27,522
6.	2,2500-2,4449	2,34745	30	79,425
7.	2,5000-2,7449	2,62245	12	36,0168
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	6	22,857
Jumlah (Σ)			300	503,2644

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{503,264}{300} = 1,6775 \mu$$

Tabel 4.28 Diameter Globul EGM, t= minggu ke-4, T= 4°C, n= 300

No.	Rentang (µm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	72	88,1568
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	54	96,703
4.	1,7500-1,9999	1,87495	42	87,108
5.	2,0000-2,2449	2,12245	126	297,0072
6.	2,2500-2,4449	2,34745	-	-
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	6	20,940
Jumlah (Σ)			300	589,9152

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{589,915}{300} = 1,9663 \mu$$

Tabel 4.29 Diameter Globul EGM, t = minggu ke-4, T= 40°C, n= 300

No.	Rentang (µm)	Nilai Tengah (m)	n	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	60	68,3640
2.	1,2500-1,4449	1,34745	48	60,1296
3.	1,5000-1,7499	1,62495	-	-
4.	1,7500-1,9999	1,87495	48	71,0064
5.	2,0000-2,2449	2,12245	-	-
6.	2,2500-2,4449	2,34745	48	81,8832
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	36	69,57
9.	3,0000-3,2449	3,12245	60	122,748
Jumlah (Σ)			300	573,7052

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{573,70}{300} = 1,91233 \mu$$

Tabel 4.30 Diameter Globul EKGC, t = minggu ke-6, T= 25±2°C, n= 300

No.	Rentang (µm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	96	107,7552
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	115	186,86925
4.	1,7500-1,9999	1,87495	-	-
5.	2,0000-2,2449	2,12245	59	125,22455
6.	2,2500-2,4449	2,34745	17	39,90665
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	13	40,59185
Jumlah (Σ)			300	500,3475

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{500,3475}{300} = 1,67825 \mu$$

Tabel 4.31 Diameter Globul EKGC, t= minggu ke-6, T= 4°C, n= 300

No.	Rentang (µm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	72	88,1568
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	54	96,703
4.	1,7500-1,9999	1,87495	42	87,108
5.	2,0000-2,2449	2,12245	126	297,0072
6.	2,2500-2,4449	2,34745	-	-
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	6	20,940
Jumlah (Σ)			300	589,9152

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{589,915}{300} = 1,9663 \mu$$

Tabel 4.32 Diameter Globul EKG, t= minggu ke-6, T= 40°C, n= 300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	n	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	60	68,3640
2.	1,2500-1,4449	1,34745	48	60,1296
3.	1,5000-1,7499	1,62495	-	-
4.	1,7500-1,9999	1,87495	48	71,0064
5.	2,0000-2,2449	2,12245	-	-
6.	2,2500-2,4449	2,34745	48	81,8832
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	36	69,57
9.	3,0000-3,2449	3,12245	60	122,748
Jumlah (Σ)			300	573,7052

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{573,70}{300} = 1,91233 \mu$$

Tabel 4.33 Diameter Globul EGM, t= minggu ke-6, T= 25 \pm 2°C, n= 300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	n	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	180	202,841
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	116	188,4942
4.	1,7500-1,9999	1,87495	1	1,87495
5.	2,0000-2,2449	2,12245	-	-
6.	2,2500-2,4449	2,34745	2	4,6949
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	1	3,12245
Jumlah (Σ)			300	400,2275

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{400,2275}{300} = 1,33409 \mu$$

Tabel 4.34 Diameter Globul EGM, t= minggu ke-6, T= 4°C, n= 300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	72	88,1568
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	54	96,703
4.	1,7500-1,9999	1,87495	42	87,108
5.	2,0000-2,2449	2,12245	126	297,0072
6.	2,2500-2,4449	2,34745	-	-
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	6	20,940
Jumlah (Σ)			300	589,9152

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{589,915}{300} = 1,9663 \mu$$

Tabel 4.35 Diameter Globul EGM, t = minggu ke-6, T= 40°C, n=300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	n	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	60	68,3640
2.	1,2500-1,4449	1,34745	48	60,1296
3.	1,5000-1,7499	1,62495	-	-
4.	1,7500-1,9999	1,87495	48	71,0064
5.	2,0000-2,2449	2,12245	-	-
6.	2,2500-2,4449	2,34745	48	81,8832
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	36	69,57
9.	3,0000-3,2449	3,12245	60	122,748
Jumlah (Σ)			300	573,7052

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{573,70}{300} = 1,91233 \mu$$

Tabel 4.36 Diameter Globul EKGC, t= minggu ke-8, T= 25±2°C, n=300

No.	Rentang (µm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	96	107,7552
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	115	186,86925
4.	1,7500-1,9999	1,87495	-	-
5.	2,0000-2,2449	2,12245	59	125,22455
6.	2,2500-2,4449	2,34745	17	39,90665
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	13	40,59185
Jumlah (Σ)			300	500,3475

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{500,3475}{300} = 1,67825 \mu$$

Tabel 4.37 Diameter Globul EKGC, t= minggu ke-8, T= 4°C, n= 300

No.	Rentang (µm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	72	88,1568
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	54	96,703
4.	1,7500-1,9999	1,87495	42	87,108
5.	2,0000-2,2449	2,12245	126	297,0072
6.	2,2500-2,4449	2,34745	-	-
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	6	20,940
Jumlah (Σ)			300	589,9152

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{589,915}{300} = 1,9663 \mu$$

Tabel 4.38 Diameter Globul EKGC, t= minggu ke-8, T= 40°C, n= 300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	n	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	60	68,3640
2.	1,2500-1,4449	1,34745	48	60,1296
3.	1,5000-1,7499	1,62495	-	-
4.	1,7500-1,9999	1,87495	48	71,0064
5.	2,0000-2,2449	2,12245	-	-
6.	2,2500-2,4449	2,34745	48	81,8832
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	36	69,57
9.	3,0000-3,2449	3,12245	60	122,748
Jumlah (Σ)			300	573,7052

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{573,70}{300} = 1,91233 \mu$$

Tabel 4.39 Diameter Globul EGM, t= minggu ke-8, T= 25±2°C, n= 300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	96	107,7552
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	115	186,86925
4.	1,7500-1,9999	1,87495	-	-
5.	2,0000-2,2449	2,12245	59	125,22455
6.	2,2500-2,4449	2,34745	17	39,90665
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	13	40,59185
Jumlah (Σ)			300	500,3475

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{500,3475}{300} = 1,67825 \mu$$

Tabel 4.40 Diameter Globul EGM ,t = minggu ke-8, T= 4°C, n=300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	72	88,1568
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	54	96,703
4.	1,7500-1,9999	1,87495	42	87,108
5.	2,0000-2,2449	2,12245	126	297,0072
6.	2,2500-2,4449	2,34745	-	-
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	6	20,940
Jumlah (Σ)			300	589,9152

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{589,915}{300} = 1,9663 \mu$$

Tabel 4.41 Diameter Globul EGM, t = minggu ke-8, T= 40°C, n=300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	n	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	60	68,3640
2.	1,2500-1,4449	1,34745	48	60,1296
3.	1,5000-1,7499	1,62495	-	-
4.	1,7500-1,9999	1,87495	48	71,0064
5.	2,0000-2,2449	2,12245	-	-
6.	2,2500-2,4449	2,34745	48	81,8832
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	36	69,57
9.	3,0000-3,2449	3,12245	60	122,748
Jumlah (Σ)			300	573,7052

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{573,70}{300} = 1,91233 \mu$$

Tabel 4.42 Diameter Globul EKGK, t= minggu ke-10, T= 25±2°C, n= 300

No.	Rentang (µm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	96	107,7552
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	115	186,86925
4.	1,7500-1,9999	1,87495	-	-
5.	2,0000-2,2449	2,12245	59	125,22455
6.	2,2500-2,4449	2,34745	17	39,90665
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	13	40,59185
Jumlah (Σ)			300	500,3475

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{500,3475}{300} = 1,67825 \mu$$

Tabel 4.43 Diameter Globul EKGK, t= minggu ke-10, T= 4°C, n= 300

No.	Rentang (µm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	72	88,1568
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	54	96,703
4.	1,7500-1,9999	1,87495	42	87,108
5.	2,0000-2,2449	2,12245	126	297,0072
6.	2,2500-2,4449	2,34745	-	-
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	6	20,940
Jumlah (Σ)			300	589,9152

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{589,915}{300} = 1,9663 \mu$$

Tabel 4.44 Diameter Globul EKG, t= minggu ke-10, T= 40°C, n= 300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	n	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	60	68,3640
2.	1,2500-1,4449	1,34745	48	60,1296
3.	1,5000-1,7499	1,62495	-	-
4.	1,7500-1,9999	1,87495	48	71,0064
5.	2,0000-2,2449	2,12245	-	-
6.	2,2500-2,4449	2,34745	48	81,8832
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	36	69,57
9.	3,0000-3,2449	3,12245	60	122,748
Jumlah (Σ)			300	573,7052

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{573,70}{300} = 1,91233 \mu$$

Tabel 4.45 Diameter Globul EGM, t = minggu ke-10, T= 25±2°C, n=300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	96	107,7552
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	115	186,86925
4.	1,7500-1,9999	1,87495	-	-
5.	2,0000-2,2449	2,12245	59	125,22455
6.	2,2500-2,4449	2,34745	17	39,90665
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	13	40,59185
Jumlah (Σ)			300	500,3475

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{500,3475}{300} = 1,67825 \mu$$

Tabel 4.46 Diameter Globul EGM, t= minggu ke-10, T= 4°C, n= 300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	72	88,1568
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	54	96,703
4.	1,7500-1,9999	1,87495	42	87,108
5.	2,0000-2,2449	2,12245	126	297,0072
6.	2,2500-2,4449	2,34745	-	-
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	6	20,940
Jumlah (Σ)			300	589,9152

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{589,915}{300} = 1,9663 \mu$$

Tabel 4.47 Diameter Globul EGM, t= minggu ke-10, T= 40°C, n= 300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	n	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	60	68,3640
2.	1,2500-1,4449	1,34745	48	60,1296
3.	1,5000-1,7499	1,62495	-	-
4.	1,7500-1,9999	1,87495	48	71,0064
5.	2,0000-2,2449	2,12245	-	-
6.	2,2500-2,4449	2,34745	48	81,8832
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	36	69,57
9.	3,0000-3,2449	3,12245	60	122,748
Jumlah (Σ)			300	573,7052

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{573,70}{300} = 1,91233 \mu$$

Tabel 4.48 Diameter Globul EKGC, t = minggu ke-12, T= 25±2°C, n=300

No.	Rentang (µm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	96	107,7552
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	115	186,86925
4.	1,7500-1,9999	1,87495	-	-
5.	2,0000-2,2449	2,12245	59	125,22455
6.	2,2500-2,4449	2,34745	17	39,90665
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	13	40,59185
Jumlah (Σ)			300	500,3475

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{500,3475}{300} = 1,67825 \mu$$

Tabel 4.49 Diameter Globul EKGC, t= minggu ke-12, T= 4°C, n= 300

No.	Rentang (µm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	72	88,1568
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	54	96,703
4.	1,7500-1,9999	1,87495	42	87,108
5.	2,0000-2,2449	2,12245	126	297,0072
6.	2,2500-2,4449	2,34745	-	-
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	6	20,940
Jumlah (Σ)			300	589,9152

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{589,915}{300} = 1,9663 \mu$$

Tabel 4.50 Diameter Globul EKGC, t= minggu ke-12, T= 40°C, n= 300

No.	Rentang (µm)	Nilai Tengah (m)	n	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	60	68,3640
2.	1,2500-1,4449	1,34745	48	60,1296
3.	1,5000-1,7499	1,62495	-	-
4.	1,7500-1,9999	1,87495	48	71,0064
5.	2,0000-2,2449	2,12245	-	-
6.	2,2500-2,4449	2,34745	48	81,8832
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	36	69,57
9.	3,0000-3,2449	3,12245	60	122,748
Jumlah (Σ)			300	573,7052

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{573,70}{300} = 1,91233 \mu$$

Tabel 4.51 Diameter Globul EGM, t = minggu ke-12, T= 25±2°C, n=300

No.	Rentang (µm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	96	107,7552
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	115	186,86925
4.	1,7500-1,9999	1,87495	-	-
5.	2,0000-2,2449	2,12245	59	125,22455
6.	2,2500-2,4449	2,34745	17	39,90665
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	13	40,59185
Jumlah (Σ)			300	500,3475

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{500,3475}{300} = 1,67825 \mu$$

Tabel 4.52 Diameter Globul EGM, t= minggu ke-12, T= 4°C, n= 300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	N	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	72	88,1568
2.	1,2500-1,4449	1,34745	-	-
3.	1,5000-1,7499	1,62495	54	96,703
4.	1,7500-1,9999	1,87495	42	87,108
5.	2,0000-2,2449	2,12245	126	297,0072
6.	2,2500-2,4449	2,34745	-	-
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	-	-
9.	3,0000-3,2449	3,12245	6	20,940
Jumlah (Σ)			300	589,9152

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{589,915}{300} = 1,9663 \mu$$

Tabel 4.53 Diameter Globul EGM, t= minggu ke-12, T= 40°C, n= 300

No.	Rentang (μm)	Nilai Tengah (m)	n	Nd
1.	1,0000-1,2449	1,12245	60	68,3640
2.	1,2500-1,4449	1,34745	48	60,1296
3.	1,5000-1,7499	1,62495	-	-
4.	1,7500-1,9999	1,87495	48	71,0064
5.	2,0000-2,2449	2,12245	-	-
6.	2,2500-2,4449	2,34745	48	81,8832
7.	2,5000-2,7449	2,62245	-	-
8.	2,7500-2,9999	2,87495	36	69,57
9.	3,0000-3,2449	3,12245	60	122,748
Jumlah (Σ)			300	573,7052

$$d_{\text{rata-rata}} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{573,70}{300} = 1,91233 \mu$$

Tabel 4.54 Tabel Sifat Aliran Air EGM (t=0)

Kecepatan	Dial Reading	Faktor Koreksi	Viskositas	Shear Stress
2	30	5000	15000	215610
4	36.5	2500	91250	262375
10	41	1000	41000	294667
20	57.5	500	28750	413252
10	40.5	1000	40500	291073
4	30	2500	74520	215610
2	21.5	5000	107500	154520

Tabel 4.55 Tabel Sifat Aliran Air EGM (t=84)

Kecepatan	Dial Reading	Faktor Koreksi	Viskositas	Shear Stress
2	31	5000	14000	222797
4	38	2500	87500	273106
10	49	1000	47000	352163
20	58.5	500	29250	420439
10	47	1000	49000	337789
4	35	2500	95000	251236
2	28	5000	155000	201245

Tabel 4.56 Tabel Sifat Aliran Air EKG (t=0)


Kecepatan	Dial Reading	Faktor Koreksi	Viskositas	Shear Stress
2	28	5000	14000	179675
4	33	2500	82500	237171
10	45.5	1000	45500	327008
20	54	500	27000	388098
10	41.5	1000	41500	298260
4	31	2500	77500	227797
2	26.5	5000	132500	190455

Tabel 4.57 Tabel Sifat Aliran Air EKG (t=84)

Kecepatan	Dial Reading	Faktor Koreksi	Viskositas	Shear Stress
2	32	5000	155000	229984
4	38	2500	92500	273106
10	56	1000	52000	402472
20	66.5	500	33250	477935
10	52	1000	56000	373724
4	37	2500	95000	265919
2	31	5000	160000	222797



Lampiran 1. Certificate of Analysis Dry Extract *Garcinia mangostana* L.



BOROBUDUR
HERBAL MEDICINE INDUSTRY
SEMARANG - INDONESIA

INDUSTRI JAMU BOROBUDUR, PT.
 Head Office :
 Jl. Madukoro Blok A No. 19 - 20
 Semarang 50141, Indonesia
 T : +62-24-7608888 ; F : +62-24-3541332
 E-mail: office@borobudurherbal.com
 Factory :
 Jl. Hasanudin No. 1
 Semarang 50176, Indonesia
 T : +62-24-3510785 ; F : +62-24-3541332
 E-mail: factory@borobudurherbal.com
 Plant :
 Jl. Tugu Beji KM. 10
 Semarang, Indonesia
 T : +62-24-8664261 ; F : +62-24-8664303
 E-mail: rndfac@borobudurherbal.com

**Certificate of Analysis
Dry Extract**


MANUFACTURING DATA		GENERAL DATA	
Product Name	Mangosteen P.E	Plant Species	<i>Garcinia mangostana</i>
Local Name	Manggis	Botanical part used	Fructus Cortex
Batch Number	111PK02.1	Ratio Botanical Extract	10 : 1
Manufacture Date	April 20, 2011	Excipients	-
Testing Date	April 21, 2011	Preservatives	N/A
Expire Date	April 20, 2014	Extraction Solvent	Ethanol 70%
Shelf Life	3 years	Storage	store in cool and dry place, keep away from strong light and heat

ITEM	SPECIFICATION	TEST RESULT	TEST METHOD
IDENTIFICATION TEST			
Appearance	Fine powder	Complies	Visual
Color	Light Brown	Complies	Visual
Odor	Aromatic	Complies	Organoleptic
Taste	Bitter	Complies	Organoleptic
Mesh Size	25 mesh	Complies	25 mesh screen
Loss On Drying	5.0 % max	2.87%	2g/105°C/15 minutes
α - Mangosteen	25.0% min	28.10%	TLC
HEAVY METALS			
Arsenic (As)	3 ppm max	Complies	AAS
Lead (Pb)	10 ppm max	Complies	AAS
MICROBIOLOGICAL TEST			
Total Plate Count	Not more than 1000 cfu/gram	< 100 cfu/gram	Dilution Plating
Fungi/Yeast and molds	Not more than 100 cfu/gram	< 100 cfu/gram	Dilution Plating

REMARKS : COMPLIES WITH THE SPECIFICATION


Semarang, June 9, 2011

Factory Manager




Irman Setiawan, S.T

Head Of Laboratory



Lusiana Sugiarto, S.Si, Apt



Branch Offices

Jakarta : Jl. Tomang Tinggi Raya 11, Jakarta 11440 - Indonesia ; T. +62-21-56968655 ; F. +62-21-5671767

Surabaya : Jl. Kalianak Barat 49 Kav. 25, Surabaya 60193 - Indonesia ; T. +62-31-7490909 ; F. +62-31-7490562



Bandung : Jl. Cicukang Holis Komp. Prapanca Kav. G-14, Bandung 40214 - Indonesia ; T. +62-22-8041413 ; F. +62-22-8004601

Denpasar : Jl. Nangka Utara 309 Denpasar 80231 - Bali - Indonesia ; T / F. +62-361-422252


Bogor : Jl. Paledang No. 47 Bogor - 16122 ; T. +62-251-8333707 ; F. +62-251-8339568

www.borobudurherbal.com

Lampiran 2. Material Safety Data Sheet of *Garcinia mangostana* L.

		INDUSTRI JAMU BOROBUDUR, PT. Head Office : Jl. Madukoro Blok A No. 19 - 20 Semarang 50141, Indonesia T : +62-24-7606888 ; F : +62-24-7605553 E-mail: office@borobudurherbal.com Factory : Jl. Hasanudin No. 1 Semarang 50176, Indonesia T : +62-24-3510785 ; F : +62-24-3541332 E-mail: factory@borobudurherbal.com Plant : Jl. Tugu Beji KM. 10 Semarang, Indonesia T : +62-24-8664261 ; F : +62-24-8664303 E-mail: rndfac@borobudurherbal.com	
Material Safety Data Sheet			
1. Product and Company Identification			
<i>Identification of Product</i>			
Product Name	: Mangosteen P.E		
Local Name	: Manggis		
Plant species	: <i>Garcinia mangostana</i>		
Indication	: Antioxidant		
<i>Identification of Company</i>			
Company Name	: Borobudur Herbal Medicine Industry Semarang – Indonesia		
Emergency Telephone	: +62 24 3510 785		
2. Information of Ingredients			
Garciniae Fructus Cortex Extract			
3. Hazards Identification			
This Product is not considered to be hazardous			
4. First Aid			
Inhalation	: Remove individual to fresh air		
Skin Contact	: Flush skin with water. Call a physician if irritation develops		
Eye Contact	: Flush eye with water. Call a physician if irritation develops		
5. Accidental Release Measures			
Personal precautions	: Use personal protective equipment		
Environmental precautions	: No special environmental precautions required		
Methods for cleaning up	: Sweep up and flush with water		
6. Handling and storage			
Store in sealed containers under normal cool, dry warehouse conditions.			
7. Physical and Chemical Properties			
<i>Physical Properties</i>			
Appearance	Fine powder		
Color	Light Brown		
Odor	Aromatic		
Taste	Bitter		
Mesh Size	25 mesh		
Lost on Drying	5 % max.		
<i>Chemical Properties</i>			
Active Ingredient	α-mangosteen 25.0 % min		
Heavy Metal:			
Arsenic (As)	3 ppm max		
Lead (Pb)	10 ppm max		
8. Stability and Reactivity			
Stability and Reactivity Summary	: Stable under normal conditions		
9. Toxicological Data			
Human experience	: no toxic effect in normal use		
Certificate No. 191059 		Branch Offices Jakarta : Jl. Tomang Tinggi Raya 11, Jakarta 11440 - Indonesia ; T. +62-21-56968655 ; F. +62-21-5671767 Surabaya : Jl. Kalianak Barat 49 Kav. 25, Surabaya 60193 - Indonesia ; T. +62-31-7490909 ; F. +62-31-7490562 Bandung : Jl. Cikulang Hulis Komp. Prapanca Kav. G-14, Bandung 40214 - Indonesia ; T. +62-22-6041413 ; F. +62-22-6004601 Denpasar : Jl. Nangka Utara 309 Denpasar 80231 - Bali - Indonesia ; T/F. +62-361-422252 Bogor : Jl. Paledang No. 47 Bogor - 16122 ; T. +62-251-8333707 ; F. +62-251-8339658	
www.borobudurherbal.com			

Lampiran 3. Certificate of Analysis Dry Extract *Centella asiatica* L.



INDUSTRI JAMU BOROBUDUR, PT.
 Head Office :
 Jl. Madukoro Blok A No. 19 - 20
 Semarang 50141, Indonesia
 T : +62-24-7606888 ; F : +62-24-7605553
 E-mail: office@borobudurherbal.com

Factory :
 Jl. Hasanudin No. 1
 Semarang 50176, Indonesia
 T : +62-24-3510785 ; F : +62-24-3541332
 E-mail: factory@borobudurherbal.com

Plant :
 Jl. Tugu Beji KM. 10
 Semarang, Indonesia
 T : +62-24-8664261 ; F : +62-24-8664303
 E-mail: rndfac@borobudurherbal.com

**Certificate of Analysis
Dry Extract**


MANUFACTURING DATA		GENERAL DATA	
Product Name	Gotu Kola P.E	Plant Species	<i>Centella asiatica</i>
Local Name	Pegagan	Botanical part used	Whole Herbs
Batch Number	056PK03.1	Ratio Botanical Extract	10 : 1
Manufacture Date	May 10, 2011	Excipients	-
Testing Date	May 11, 2011	Preservatives	N/A
Expire Date	May 10, 2014	Extraction Solvent	Ethanol 70%
Shelf Life	3 years	Storage	store in cool and dry place, keep away from strong light and heat

ITEM	SPECIFICATION	TEST RESULT	TEST METHOD
IDENTIFICATION TEST			
Appearance	Fine powder	Complies	Visual
Color	Brown	Complies	Visual
Odor	Aromatic	Complies	Organoleptic
Taste	Bitter	Complies	Organoleptic
Mesh Size	25 mesh	Complies	25 mesh screen
Loss On Drying	5.0 % max	2.83%	2g/105°C/15 minutes
Flavonoid	1.0 % min	1.13%	TLC
HEAVY METALS			
Arsenic (As)	3 ppm max	Complies	AAS
Lead (Pb)	10 ppm max	Complies	AAS
MICROBIOLOGICAL TEST			
Total Plate Count	Not more than 1000 cfu/gram	< 100 cfu/gram	Dilution Plating
Fungi/Yeast and molds	Not more than 100 cfu/gram	< 100 cfu/gram	Dilution Plating


REMARKS : COMPLIES WITH THE SPECIFICATION

Semarang, June 9, 2011


Factory Manager



Irman Setiawan, S.T



Head Of Laboratory



Lusiana Sugiarto, S.Si, Apt



Branch Offices

Jakarta : Jl. Tomang Tinggi Raya 11, Jakarta 11440 - Indonesia ; T. +62-21-56968655 ; F. +62-21-5671767

Surabaya : Jl. Kalianak Barat 49 Kav. 25, Surabaya 60193 - Indonesia ; T. +62-31-7490909 ; F. +62-31-7490562



Bandung : Jl. Cicukang Hollis Komp. Prapanca Kav. G-14, Bandung 40214 - Indonesia ; T. +62-22-6041413 ; F. +62-22-6004601

Denpasar : Jl. Nangka Utara 309 Denpasar 80231 - Bali - Indonesia ; T./F. +62-361-422252

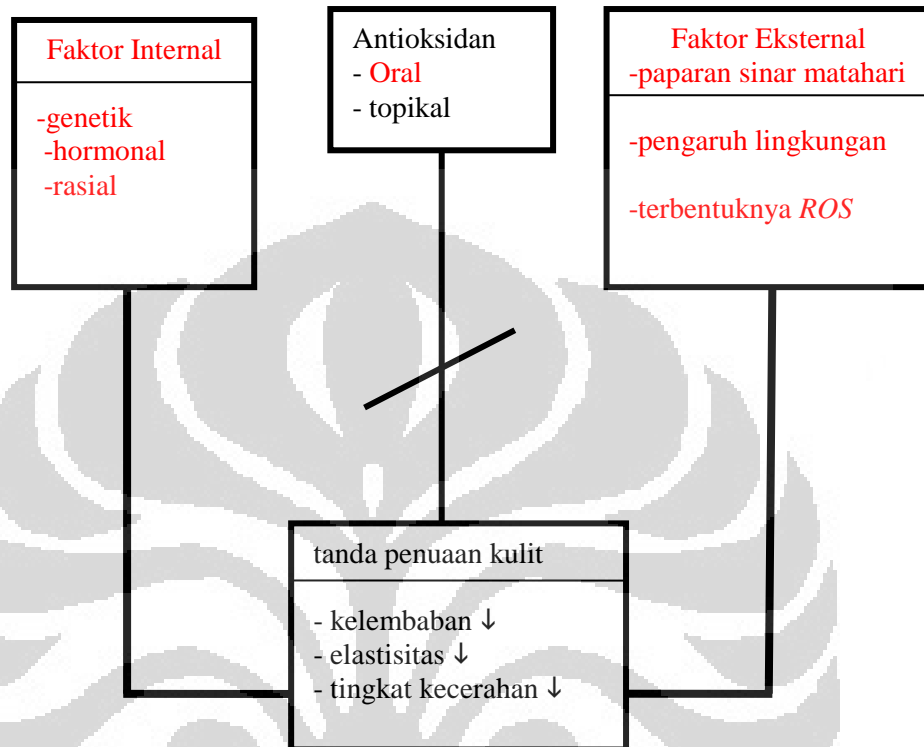
Bogor : Jl. Paledang No. 47 Bogor - 16122 ; T. +62-251-8333707 ; F. +62-251-8339558

www.borobudurherbal.com

Lampiran 4. Material Safety Data Sheet of *Centella asiatica* L.

		INDUSTRI JAMU BOROBUDUR, PT. Head Office : Jl. Madukoro Blok A No. 19 - 20 Semarang 50141, Indonesia T : +62-24-7606888 ; F : +62-24-7605553 E-mail: office@borobudurherbal.com Factory : Jl. Hasanudin No. 1 Semarang 50176, Indonesia T : +62-24-3510785 ; F : +62-24-3541332 E-mail: factory@borobudurherbal.com Plant : Jl. Tugu Beji KM. 10 Semarang, Indonesia T : +62-24-8664261 ; F : +62-24-8664303 E-mail: rndfac@borobudurherbal.com
Material Safety Data Sheet		
1. Product and Company Identification		
<i>Identification of Product</i>		
Product Name	: Gotu Kola P.E	
Local Name	: Pegagan	
Plant species	: <i>Centella asiatica</i>	
Indication	: Increasing memory, improving periphery, central blood circulation	
<i>Identification of Company</i>		
Company Name	: Borobudur Herbal Medicine Industry	
	: Semarang – Indonesia	
Emergency Telephone	: +62 24 3510 785	
2. Information of Ingredients		
Centellae Herba Extract		
3. Hazards Identification		
This Product is not considered to be hazardous		
4. First Aid		
Inhalation	: Remove individual to fresh air	
Skin Contact	: Flush skin with water. Call a physician if irritation develops	
Eye Contact	: Flush eye with water. Call a physician if irritation develops	
5. Accidental Release Measures		
Personal precautions	: Use personal protective equipment	
Environmental precautions	: No special environmental precautions required	
Methods for cleaning up	: Sweep up and flush with water	
6. Handling and storage		
Store in sealed containers under normal cool, dry warehouse conditions.		
7. Physical and Chemical Properties		
<i>Physical Properties</i>		
Appearance	Fine powder	
Color	Brown	
Odor	Aromatic	
Taste	Bitter	
Mesh Size	25 mesh	
Loss on Drying	5.0 % max.	
<i>Chemical Properties</i>		
Active Ingredient		
Flavonoid	1.0 % min	
Heavy Metal:		
Arsenic (As)	3 ppm max	
Lead (Pb)	10 ppm max	
8. Stability and Reactivity		
Stability and Reactivity Summary	: Stable under normal conditions	
9. Toxicological Data		
Human experience	: no toxic effect in normal use	
		
Branch Offices Jakarta : Jl. Tomang Tinggi Raya 11, Jakarta 11440 - Indonesia ; T. +62-21-56968655 ; F. +62-21-5671767 Surabaya : Jl. Kalianak Barat 49 Kav. 25, Surabaya 60193 - Indonesia ; T. +62-31-7490909 ; F. +62-31-7490562 Bandung : Jl. Cicukang Holis Komp. Prapanca Kav. G-14, Bandung 40214 - Indonesia ; T. +62-22-6041413 ; F. +62-22-6004801 Denpasar : Jl. Nangka Utara 309 Denpasar 80231 - Bali - Indonesia ; T/F. +62-361-422252 Bogor : Jl. Paledang No. 47 Bogor - 16122 ; T. +62-251-8333707 ; F. +62-251-8339658		
www.borobudurherbal.com		

Lampiran 5. Kerangka Konsep



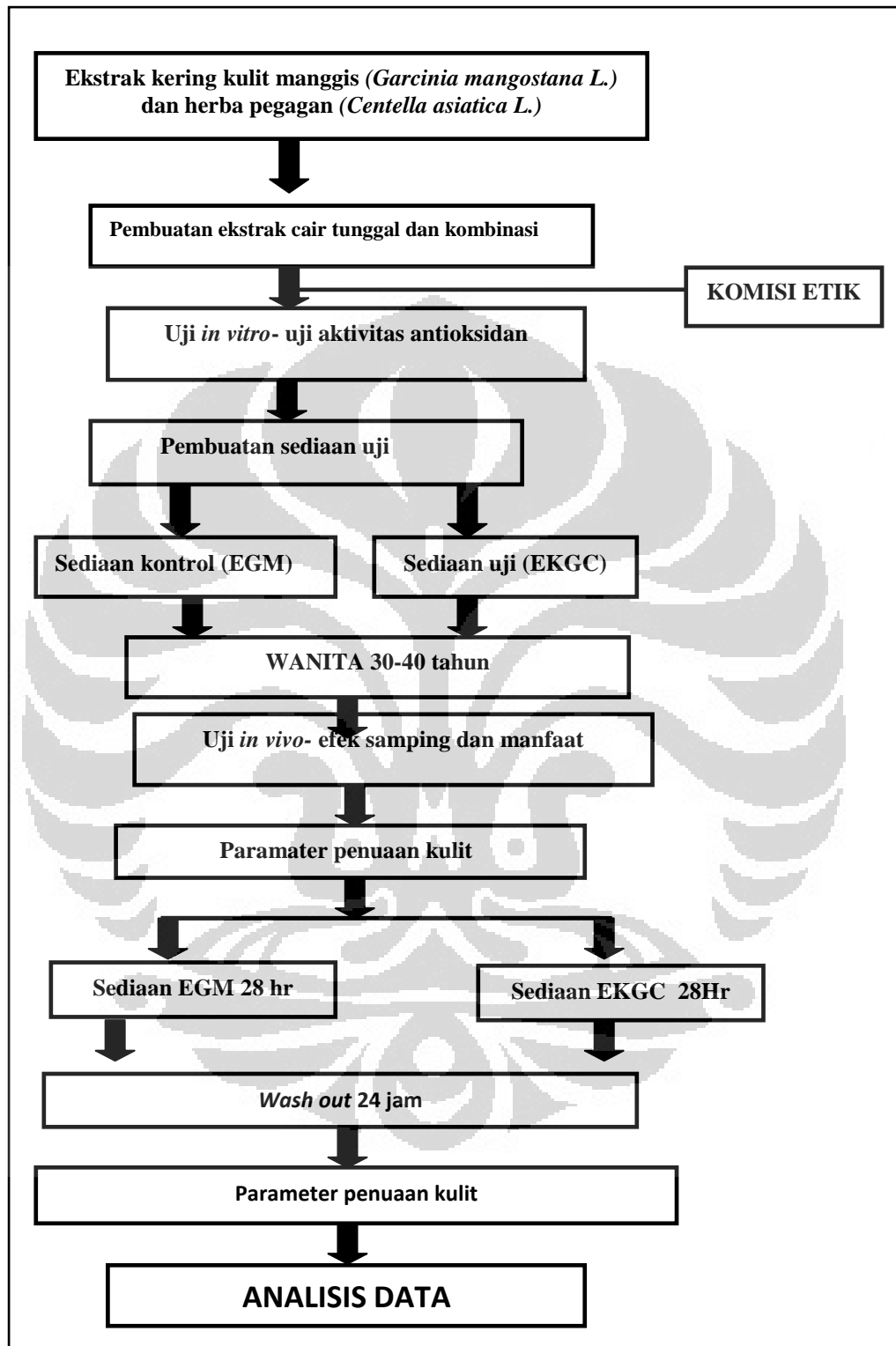
Bagan 3.1 Bagan Kerangka Konsep

Keterangan:

■ = tidak diteliti

■ = diteliti

Lampiran 6. Alur Penelitian



Bagan 3.3 Alur Penelitian

Lampiran 7. Hasil Ekstraksi Manggis dan Pegagan

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 . : 399/T/LAB/VII/11


Kepada Yth.
Dr. Trifena
Bandung

Kondisi/Identifikasi Contoh : Serbuk
Tanggal Penerimaan : 21 Juli 2011
Tanggal Pengujian : 26 Juli 2011

No	Jenis Contoh	Jenis Pengujian/Pemeriksaan	Hasil Pengujian/Pemeriksaan (No. contoh/kode)	Metode Pengujian
1.	Pegagan <i>Centella Asiatica</i>	Ekstrak dgn etanol 70%		Maserasi
		- Rendemen (%)	73,78	
		- Berat ekstrak	368,9 g	
2.	Manggis <i>Garcinia Mangostana</i>	Ekstrak dgn etnaol 70%		Maserasi
		- Rendemen (%)	90,52	
		- Berat ekstrak	452,6 g	

Ket : - Berat sampel 500 gram - Konsentrasi 1 : 5

Bogor, 3 Agustus 2011
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 8 Penapisan Fitokimia

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 : 545/T/LAB/IX/11

Kepada Yth.
 Dr. Trifena
 Bandung

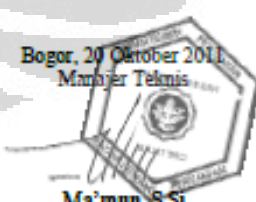
Kondisi/Identifikasi Contoh : Kental
 Tanggal Penerimaan : 29 September 2011
 Tanggal Pengujian : 20 Oktober 2011

No	Jenis Contoh	Jenis Pengujian/Pemeriksaan	Hasil Pengujian/Pemeriksaan (No. Contoh/kode)		Metode Pengujian
			Manggis	Pegagan	
1	Ekstrak	Uji Fitokimia :			Kualitatif
		- Alkaloid	++	++	
		- Saponin	+++	+++	
		- Tanin	+++	++	
		- Fenolik	++++	++	
		- Flavonoid	++++	+	
		- Triterpenoid	++++	++	
		- Steroid	-	+	
- Glikosida	++++	+++			

Keterangan :

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

Bogor, 20 Oktober 2011
 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 9 Uji *in vitro* Antioksidan

Penyiapan Larutan Kontrol Asam Askorbat

1. Pembakuan Larutan I2 0,1 N

Ditimbang 60,0 mg AS₂O₃ dilarutkan dalam NaOH 4 N, bila perlu dengan pemanasan. Didinginkan dan ditambahkan 25 mL air bebas CO₂ dinetralkan dengan HCl 4 N, ditambahkan 2 g NaHCO₃. Dititrasi dengan larutan iodium 0,1 N dengan 5 tetes indikator kanji hingga terbentuk warna biru. 1 ml iodium setara dengan 4,946 mg AS₂O₃.

$N \text{ Iodium} = \text{Berat As}_2\text{O}_3 \text{ (mg)} \times 0,1$

$V \text{ Iodium} \times 4,946$

Hasil pembakuan diperoleh normalitas iodium sebesar 1,038 N

2. Penetapan Kadar Vitamin C

Ditimbang 100,0 mg vitamin C dilarutkan dalam 25 mL air bebas CO₂ dan 7 mL asam sulfat 2 N. Dititrasi dengan iodium 0,1 N menggunakan 5 tetes indikator kanji hingga terjadi perubahan warna dari tidak berwarna menjadi biru.

1 ml iodium 0,1 N setara dengan 8,806 mg C(H₂O).

$\text{Kadar Asam Askorbat} = (NXV) \text{ iodium} \times 8,806 \times 100 \%$

$0,1 \times \text{Berat vitamin C yang ditimbang (mg)}$

Kadar vitamin C rata-rata adalah sebesar 99,33 %.

Larutan pembanding berupa vitamin C dalam metanol dengan konsentrasi 2-12 µg/mL. Dilakukan dengan prosedur sebagai berikut: Vitamin C dilarutkan dalam pelarut metanol dengan konsentrasi 100-200 µg/mL.

Lampiran 10. Naskah Penjelasan Relawan

Penjelasan Mengenai Penelitian Krim Kulit Berisi Campuran

Kulit Manggis dan Herba Pegagan terhadap Penuaan Kulit

Anda telah diminta menjadi bagian dari penelitian ini. Sebelum Anda memutuskan, sangat penting untuk Anda memahami penelitian ini. Silakan mengambil waktu untuk membaca hal-hal di bawah ini secara seksama. Anda dapat mendiskusikan hal ini dengan dokter pribadi Anda jika perlu. Jika Anda sedang di dalam penelitian yang lain, Anda tidak dapat ambil bagian dalam penelitian ini.

Tim peneliti dari Program Magister Herbal Universitas Indonesia, Depok, sedang melakukan penelitian: apakah krim kulit berisi campuran kulit manggis dan herba pegagan bersifat aman dan efektif untuk memperbaiki kelembaban, kekencangan dan tingkat kecerahan kulit. Pada kulit menua terdapat tanda-tanda berupa kulit kering, kasar, berkerut, kendur, dan kelainan warna kulit. Karena itu masih sangat diperlukan krim kulit yang aman, efektif dan murah untuk mengatasi masalah tersebut.

Tiga puluh orang wanita umur 30-40 tahun, sehat, dengan kriteria khusus dan yang bersedia mengikuti penelitian dengan menandatangani pernyataan setelah mendapat penjelasan akan diikutsertakan dalam penelitian ini.

Bila Anda bersedia mengambil bagian dalam penelitian ini, dokter akan melakukan uji efek samping pada Anda. Uji efek samping dilakukan dengan mengoleskan sedikit krim kulit pada bagian kiri sebelah atas punggung yang diberi tanda lingkaran. Selain itu, dokter akan menaruh tiga alat uji tempel pada bagian kanan sebelah atas punggung Anda selama dua hari penuh. Tiga alat uji tempel tsb akan diisi dengan krim kulit yang digunakan dalam penelitian ini. Selama itu Anda tidak diperkenankan membasuh atau mengoleskan apapun pada bagian punggung yang diuji. Setelah alat uji diangkat, lokasi tersebut akan diberi tanda, kemudian dokter akan menilai hasilnya setelah 1 jam, 24 jam, dan 48 jam setelah pengangkatan. Setelah itu uji akan diulang selama satu hari berikutnya. Pada orang yang mengalami alergi terhadap bahan yang diujikan, reaksi yang mungkin timbul pada pengujian ini meliputi rasa gatal, rasa terbakar, rasa tidak nyaman, hingga timbul peradangan, iritasi atau lepuh pada

Lampiran 10. (lanjutan)

daerah yang diujikan. Bila timbul perasaan demikian maka pelaksanaan uji selanjutnya pada Anda akan dihentikan. Anda segera membasuh bagian punggung Anda tersebut dengan air bersih dan mengeringkannya, selanjutnya dokter akan mengoleskan krim anti alergi pada bagian punggung Anda tersebut, dan jika perlu diberikan obat anti alergi yang diminum.

Bila Anda dianggap memenuhi syarat, maka dokter akan memberikan Anda 2 jenis krim (dalam kemasan jarum suntik 10 mL) yang diberi kode A dan B, untuk pemakaian sebulan. Setiap hari Anda harus menggunakan krim itu setiap malam sehabis mandi dan setelah lengan bawah dilap kering. Kedua krim akan dioleskan pada lengan bawah bagian dalam sesuai petunjuk peneliti. Anda diminta mencuci tangan sebelum mengaplikasikan krim yang berbeda. Setiap pengolesan kedua krim Anda mengeluarkan 1ml krim dalam jarum suntik 10 mL. Anda hendaknya mengoleskan krim tersebut sebanyak 50 kali usapan sampai krim tersebut terserap. Pada awal pemeriksaan dan setelah hari ke-30 dokter akan memeriksa kulit Anda dengan alat yang ditempel pada kulit. Alat ini sama sekali tidak berbahaya. Dokter juga akan menanyakan keluhan yang Anda alami selama menggunakan kedua krim tersebut.

Krim yang Anda gunakan mungkin bermanfaat untuk kulit, tapi mungkin saja tidak. Anda akan mendapatkan pemeriksaan kondisi kulit secara cuma-cuma. Anda berhak menentukan apakah akan mengikuti penelitian ini atau tidak. Semua data penelitian ini akan dirahasiakan sehingga orang lain tidak mengetahui tentang Anda. Anda mengikuti penelitian ini secara sukarela dan dapat berhenti sewaktu-waktu jika Anda menginginkannya.

Selama Anda ikut dalam penelitian, setiap informasi baru yang dapat mempengaruhi pertimbangan Anda untuk terus ikut atau berhenti dari penelitian ini akan segera disampaikan kepada Anda. Setelah penelitian selesai, Anda akan mendapatkan honor sebesar Rp. 300.000,- (tiga ratus ribu rupiah). Bila sewaktu-waktu terjadi efek samping atau membutuhkan penjelasan, Anda dapat menghubungi dr.Trifena, Klinik Rafa, Jl. Kopo Square, Kopo Bihbul 45 Bandung, no telp 085722109993.

Lampiran 12. Case Report Form

FORMULIR PENELITIAN

1. Nama : _____ usia: _____
2. Alamat : _____
3. Status perkawinan : 1. Kawin 2. Tidak Kawin 3. Janda
4. Pendidikan : 1. Tidak sekolah 2. SD 3. SMP 4. SMA 5. Sarjana
5. Pendapatan per kapita per hari : _____ rata-rata per bulan : _____
6. Umur ibu saat pertama kali haid : (tahun)
7. Riwayat menstruasi : 1. Teratur 2. Tidak
8. Jenis kulit:* 1. Kering 2. Normal 3. Kombinasi 4. Berminyak
9. Apakah memiliki tanda-tanda penuaan kulit: *
 1. Kelembaban:
 2. Elastisitas :
 3. Tingkat kecerahan:....
10. Apakah pernah penyakit kulit : 1. Ya.....2. tidak.
11. Apakah memiliki riwayat alergi: 1. Ya 2. Tidak
12. Hamil berapakali jumlah anak abortus
13. Apakah ibu rutin berolahraga : 1. Ya, beberapa kali seminggu 2. Tidak
14. Apakah ibu makan teratur (3x sehari): 1. Ya 2. Tidak
15. Kondisi saat ini:
 1. hamil/tidak 2. menyusui/tidak 3. memakai kontrasepsi/tidak
16. Apakah makanan ibu memenuhi AKG : 1. Ya 2. Tidak
17. Apakah ibu merokok: 1. Ya 2. Tidak
18. Dengan riwayat atau sedang menggunakan terapi hormon, obat anti kejang, heparin, tiroksin, kortikosteroid, ooforektomi, kemoterapi dan terapi radiasi
 1. Ya 2. Tidak

*diperiksa oleh peneliti dengan alat *cutometer*, *corneometer* dan *mexameter*, dan dinyatakan dengan angka

Lampiran 13. Laporan Harian Relawan

Pertanyaan	HARI KE																											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
Apakah kulit Anda terasa Gatal?	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
Apakah kulit Anda terasa Panas?	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
Apakah ada bintik-bintik merah atau bruntusan pada kulit anda?	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
Apakah terjadi pengelupasan pada kulit anda?	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
Apakah warna kulit anda menjadi lebih gelap	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
Apakah warna kulit anda terlihat lebih cerah?	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y

Keterangan: Beri tanda silang (x) atau bulat (O) pada pilihan Anda

Y = untuk jawaban YA

T = untuk jawaban TIDAK

Lampiran 14. Certificate of Analysis Parafin Oil

35/19

Crompton

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Crompton B.V.
 Wezelstraat 12
 1541 LZ KOOG A/D ZAAAN
 Tel: 31 75 8283854

22X

Product Name: BLANCOOL USP
 Batch Number: 423316
 Ship Date: 06 Jun 03
 Customer Order Number: 070/CMT/JAMK/JV/03
 Order/Item Number: 478008/10
 Delivery/Item Number: 8805002110
 Customer code:
 Quantity: 80 DRUM
 Container Id:

Test	Method	Unit	Specification	Test Result
skybolt color	ASTM D 155		30 Min.	30
Density at 20°C	ASTM D4062	kg/m ³		843
Kin. Viscosity at 40°C	ASTM D 445	mm ² /s		15
Odor	Olfactory			none
Taste	Visual			none
Purity acc. Eur. Pharm.	Pharm.			pass
Purity acc. USP	Pharm.			pass
Purity acc. NF	Pharm.			pass
Date of Manufacture				20030605
Carbonizable Substances - All Pharm.				pass
Solid Paraffin - BP/USP				pass
Acidity / Alkalinity - BP/USP				pass
Polyyclic Aromatic Hydrocarbons - All Pharm.				pass
U.V. Absorbance - All Pharm.				pass


EXPIRY DATE: 6 years after manufacture date, when stored under appropriate conditions.

THIS DOCUMENT IS AUTOMATICALLY PRINTED AND THEREFORE NOT SIGNED.

Released by Quality Control

06 Jun 03
Page 1

Lampiran 15. Material Safety Data Sheet of Paraffin Oil

	PT. MULYA ADHI PARAMITA Office : Jl. Kapuk Kamal No.19, Jakarta 14470 . Indonesia Telp : 021-5551314, 5551386 Fax : 021-5551632, 6679780, 6626668
White Oil Versi : 1 6 Oktober 2008	
Material Safety Data Sheet	
I. IDENTIFIKASI BAHAN / PENYEDIAAN DAN PERUSAHAAN	
Nama Produk	: White Oil
Jenis Produk	: Pelarut kimia
Pemasok	: PT. MULYA ADHI PARAMITA
Alamat pemasok	: Jl. Kapuk Kamal No. 19 Jakarta 14470 Indonesia
Nomor kontak	: + 6221-5551314, 5551386 atau Fax : + 6221-5551632, 6679780
II. IDENTIFIKASI BAHAYA	
Bahaya bila terhirup	: Produk ini mempunyai tekanan uap yang rendah sehingga bahaya karena penghirupan hanya kemungkinan kecil dapat terjadi. Bila terjadi penghirupan, dapat menyebabkan iritasi saluran pernafasan dengan gejala batuk dan nafas pendek. Harus dilakukan tindakan untuk mencegah terbentuknya aerosol dan kabut. Jika terjadi aspirasi dapat menyebabkan pneumonia kimia yang ditandai dengan <i>pulmonary edema</i> dan dapat fatal.
Bahaya bila tertelan	: Bahan ini relatif tidak berbahaya bila tertelan kecuali bila terjadi aspirasi. Bahan ini bersifat <i>laxative</i> dan dapat menyebabkan rasa sakit pada saluran pencernaan, kram perut, muntah dan diare.
Bahaya bila kontak dengan mata	: Kabut atau asap dapat menyebabkan iritasi mata
Bahaya bila kontak dengan kulit	: Bahan ini tidak menyebabkan iritasi kulit pada kontak tunggal, jangka panjang maupun kontak berulang.
III. KOMPOSISI / KETERANGAN TENTANG ISI KANDUNGAN	
Nama biasa	: White Oil
Sinonim	: White Mineral Oil Paraffin Oil Liquid paraffin Liquid petrolatum
No. CAS	: 8012-95-1
IV. LANGKAH-LANGKAH PERTOLONGAN PERTAMA	
Pertolongan pertama - bila terhirup	: Pindahkan ke tempat berudara segar. Jika tidak bernafas berikan pernafasan buatan, jika sulit bernafas, berikan oksigen. Berikan perawatan medis.
Pertolongan pertama - bila kontak dengan kulit	: Segera basuh kulit dengan air yang banyak selama setidaknya 15 menit. Lepaskan pakaian dan sepatu yang terkontaminasi. Cuci bersih pakaian sebelum digunakan kembali.

Lampiran 15. (lanjutan)

Pertolongan pertama - bila tertelan	: Jika tertelan, jangan mengusahakan muntah. Berikan air minum dalam jumlah yang banyak. Jangan pernah memberikan apapun lewat mulut kepada korban yang pingsan. Segera berikan pertolongan medis. Waspada bahaya penyerapan ke paru-paru.
Pertolongan pertama - bila kontak dengan mata	: Segera cuci mata dengan air yang banyak selama setidaknya 15 menit dengan membuka kelopak mata. Segera berikan pertolongan medis.

V. LANGKAH-LANGKAH PEMADAMAN KEBAKARAN

Sarana pemadaman yang sesuai	: Semprotan (spray) air, kimia kering, busa alkohol, atau karbon dioksida. Air atau busa dapat menyebabkan buih. Jangan biarkan air sisa pemadaman kebakaran masuk ke dalam sungai atau saluran air.
Sarana pemadaman yang tidak sesuai	: Jangan gunakan air dalam jet
Informasi khusus	: Pada kasus kebakaran, gunakan peralatan perlindungan penuh dan peralatan pernafasan lengkap dengan pelindung muka dengan mode tekanan positif.

VI. LANGKAH-LANGKAH DALAM MENGHADAPI BAHAYA KEBOCORAN

Langkah-langkah perlindungan	: Ventilasikan area kebocoran. Matikan semua sumber pengapian. Gunakan peralatan perlindungan diri. Isolasikan daerah berbahaya. Jauhkan orang-orang yang tidak berkepentingan dan tidak memakai peralatan perlindungan dari area kebocoran. Tetap berhati-hati karena permukaan yang terkena bocoran dapat menjadi licin.
Metode untuk membersihkan	: Wadah dan gunakan kembali cairan yang bocor jika hal tersebut memungkinkan. Gunakan peralatan anti percikan. Kumpulkan cairan di dalam kontainer yang sesuai atau serap dengan bahan yang inert (seperti vemikulit, pasir kering atau tanah) dan wadah di dalam wadah khusus untuk limbah kimia. Jangan gunakan bahan yang dapat terbakar seperti serbuk gergaji. Jangan disiram ke saluran air.

VII. PENANGANAN DAN PENYIMPANAN

Penanganan	: Jangan menghirup gas/asap/uap/semprotan. Hindari pembentukan kabut. Tutup kontainer rapat-rapat. Cuci air setelah menangani atau sebelum makan.
Penyimpanan	: Tutup rapat-rapat wadah / kontainer. Simpan di tempat yang dingin, kering dan berventilasi baik serta jauh dari panas dan sumber pengapian. Lindungi dari kerusakan fisik. Simpan terpisah dari bahan yang reaktif atau bahan dapat terbakar, dan hindarkan dari sinar matahari langsung. Wadah (kontainer) bahan ini dapat berbahaya ketika kosong karena masih terdapat residu (uap ataupun cairan); perhatikan semua petunjuk dan peringatan yang tertulis tentang produk ini.

Lampiran 15. (lanjutan)

VIII. PERLINDUNGAN DIRI

Sistem ventilasi	: Sistem ventilasi dengan exhaust lokal atau general direkomendasikan untuk menjaga paparan terhadap pekerja tetap di bawah batas yang ditentukan.
Perlindungan pernafasan	: Jika konsentrasi di udara melebihi batas paparan dan pengendalian teknik tidak mencukupi, dapat digunakan peralatan pernafasan partikulat setengah muka (NIOSH tipe P95 atau R 95), sampai dengan sepuluh kali lipat batas paparan atau konsentrasi maksimum sesuai dengan yang ditetapkan oleh badan pembuat peraturan atau oleh supplier. Peralatan pernafasan partikulat seluruh muka (NIOSH tipe P100 atau R 100), sampai dengan lima puluh kali lipat batas paparan atau konsentrasi maksimum sesuai dengan yang ditetapkan oleh badan pembuat peraturan atau oleh supplier. Perlu diperhatikan bahwa filter tipe N tidak direkomendasikan untuk bahan ini. Untuk keadaan darurat atau pada keadaan dimana level paparan tidak diketahui, gunakan peralatan pernafasan dengan suplai oksigen, seluruh muka dengan tekanan positif. Peralatan pernafasan dengan pemurni udara tidak dapat melindungi pekerja dalam keadaan atmosfer kekurangan oksigen.
Perlindungan kulit	: Pakai pakaian perlindungan yang tidak tembus bahan kimia, termasuk sepatu, sarung tangan, jas lab, pakaian kerja (apron), untuk mencegah kontak dengan kulit.
Perlindungan mata	: Gunakan chemical safety goggles dan/atau pelindung muka penuh bila dimungkinkan terjadi cipratan. Sediakan eye wash di dekat area kerja.

IX. SIFAT FISIK DAN KIMIA

Kedaaan fisik	: Cairan agak kental
Warna	: Jernih
Bau	: Tidak berbau
Titik didih	: 260 - 330 °C
Titik nyala	: 195 °C (closed cup)
Temperatur pengapian otomatis	: 260 - 370 °C
Tekanan uap	: < 0.5 mmHg
Density uap (udara=1)	: ± 9
Specific Gravity	: 0.8100 - 0.8800
Viskositas	: 15.2 cst @ 40°C
Dapat bercampur dengan air	: Tidak larut dalam air

X. STABILITAS / REAKTIVITAS

Stabilitas	: Stabil pada kondisi penggunaan dan penyimpanan normal.
Kondisi yang harus dihindari	: Panas, api, sumber pengapian dan bahan yang tidak sesuai.
Bahan yang harus dihindari	: Bahan pengoksidasi kuat.
Produk dekomposisi yang berbahaya	: Karbon dioksida dan karbon monoksida dapat dihasilkan bila bahan ini dipanaskan hingga terdekomposisi.

Lampiran 15. (lanjutan)

XI. KETERANGAN TOKSIKOLOGI

Racun oral akut : LD50/tikus 22 g/kg
Data iritasi (Std Draize) (kelinci) : kulit : 100 mg / 24 jam
mata : 500 mg

Potensi efek kesehatan pada manusia

Paparan tunggal dalam dosis besar atau paparan berulang dalam dosis kecil melalui penghirupan, aspirasi atau penelanan dapat mengakibatkan *lipid pneumonia* dan *lipid granuloma*. Dampak tersebut dalam tingkatan rendah, reaksi jaringan lokal kronik yang tidak fatal.

XII. INFORMASI EKOLOGI

Produk degradasi jangka pendek yang berbahaya dimungkinkan tidak terbentuk. Namun, produk degradasi jangka panjang dimungkinkan dapat terbentuk.

XIII. INFORMASI TRANSPORTASI

Mengikuti peraturan negara masing-masing

XIV. INFORMASI YANG BERKAITAN DENGAN REGULASI

Mengikuti peraturan negara masing-masing

XV. INFORMASI LAIN

Informasi yang terdapat didalam lembar keselamatan ini membantu cara penggunaan dan penanggulangan produk tersebut tanpa resiko untuk keselamatan dan kesehatan dan berdasarkan pengetahuan dan pengalaman. Informasi ini hanya untuk digunakan untuk produk tersebut dan tidak berlaku apabila produk tersebut dicampur dengan bahan lain dengan berbagai proses.

Lampiran 16. Certificate of Analysis Cetyl Alcohol

Certificate of Analysis

CETYL ALCOHOL CERTIFIED REFERENCE MATERIAL

ISO Guide 34
Cert# AR-1470

ISO/IEC 17025
Cert# AT-1467



LOT #: P500133

CATALOG #: PHR-1133 **NOMINAL WT:** 1g

CERTIFICATE VALIDITY DATE: 21 February 2011 **VERSION:** 500133.1
Note: Certificates may be updated due to Compendial Lot changes or the availability of new data. Check our website at: www.RTPharma.com for the most current version.

EXPIRATION: 12 Months from Receipt (Proper Storage and Handling Required).

STORAGE: Store at Room Temperature, keep container tightly closed. Attachment of a 20 mm aluminum crimp seal recommended for unused portions.

CHEMICAL FORMULA: C₁₆H₃₄O **MW:** 242.44

PHYSICAL DESCRIPTION: White powder in amber vial **CAS #:** 36653-82-4

HAZARDS: Read MSDS before using. Always handle as if potentially hazardous using prudent laboratory techniques.

INSTRUCTIONS FOR USE: Do not dry, use as is. The internal pressure of the container may be slightly different from the atmospheric pressure at the user's location. Open slowly and carefully to avoid dispersion of the material. This material is intended for **LABORATORY USE ONLY** and **NOT** for use in humans or animals.



AClass
ACCREDITED
REFERENCE MATERIAL PRODUCER



AClass
ACCREDITED
TESTING



RTC

2931 Soldier Springs Road
Laramie, WY 82070
Phone: 800.576.5690 or 307.742.5452
Fax: 307.745.7936
Web: www.RT-Corp.com

Lampiran 17. Certificate of Analysis PEG Stearate

CRODA

Croda Singapore Pte Ltd
30 Seraya Avenue
Singapore 627884
Tel (65) 6551 9600
Fax (65) 6551 9550

Safety data sheet
(Conforms to EC directive 91/155/EEC)

Date of first issue: 09/12/02	Revision Number: 0	Date: 09/12/02
1. Identification		Code: EM83354
Commercial Name:	Polowax GP200	
INCI Name:	Cetearyl Alcohol and PEG-20 Stearate	
Emergency Telephone Number: 65-65519600		
2. Composition:		Fatty Alcohol and PEG 1000 Monostearate
CAS Registry Number:	67762-27-0 + 9004-99-3	
EINECS Number:	267-008-6 + Polymer	
Risk Phrases:	None	
Safety Phrases:	None	
3. Hazards: Will react with strong oxidants		
4. First aid measures		
Eye contact:	Flush eye with water or standard eye wash solution. Seek medical advice should irritation occur and persist.	
5. Fire-fighting measures:	Combustible but presents no special hazard	
Extinguishing Media:	Water spray, carbon dioxide, dry chemical	
Protective equipment for firefighters:	Standard	
6. Accidental release measures: Sweep up or scrape up solidified melt. Dispose of by normal regulated industrial methods.		
7. Handling and storage:	Store away from open flames, sparks, heat or strong oxidants. Seal containers when not in use.	
8. Exposure control and personal protection:		
In accordance with good industrial practice handle using standard eye protection.		
9. Physical and Chemicals Properties		
		Test method
Physical form:	Solid	
Colour:	White	
Odour:	Bland	
pH of aqueous solution:		
Boiling point:	>300 degC	
Melting point:	52 degC	
Viscosity:	-	
Flash point:	>150 deg C	
Flammability solid/gas:	N/A	
Autoflammability:	N/A	
Explosive properties:	N/A	
Oxidizing properties:	N/A	
Vapour pressure:	Negligible at ambient temperatures	

Lampiran 17. (lanjutan)

Polawax GP200

EM83354

Density:	-		
Water solubility:	Dispersible		
Bulk density:	-		
Partition coefficient octanol/water:	-		
Other data:	-		
Explosion limits:	N/A		
10. Stability and reactivity			
Thermal decomposition:	Stable under normal conditions of use.		
Hazardous Reactions:	None under normal conditions of use.		
11a. Toxicological data			
Oral:	Essentially non-toxic		
Dermal:	Expected to be non-toxic by dermal route.		
Inhalation:	-		
11b. Toxic effects			
Skin:	Non-irritating		
Eye:	Non-irritating		
12. Ecological Information			
Biodegradation:	Biodegradable		
Fish toxicity:	No data		
Bacterial toxicity:	No data		
WGK Class:	No data		
13. Disposal conditions:	Dispose of according to a recognized method of chemical waste disposal.		
14. Transport Information			
UN Name: Not Assigned	UN Number: N/A		
IMDG Code/Class:	Non Hazardous	IMDG Code Page No:	N/A
ICAO/IATA (Air) Class:	Non Hazardous	Packing Group:	N/A
RID/ADR Class:	Non Hazardous		
ADNR Class:	Non Hazardous		
15. Regulatory Information			
Occupational Exposure Limits:	-		
16. Other Information:			

Lampiran 18. Certificate of Analysis Xanthan Gum



山东阜丰发酵有限公司

SHANDONG FUFENG FERMENTATION CO., LTD.

NORTH LONGSHAN ROAD, JUNAN COUNTY, SHANDONG, CHINA

CERTIFICATE OF ANALYSIS

FOR FOOD GRADE XANTHAN GUM


Invoice no.: SFF11049

Production date: 01 FEB 2011

Expiry date: 01 FEB 2013

TEST ITEM	Specs	Results
BATCH NO.		201102B-G01
QUANTITY		1000KGS/40CARTONS
Appearance	White like powder	Conform
Particle Size (mesh)	80/200	200
Loss on Drying	≤15%	11.8
PH	6.0-8.0	6.60
Viscosity (1% KCL, cps)	≥1200	1611
Shearing Ratio	≥6.5	7.78
Ashes (%)	≤16%	7.7
Pyruvic Acid (%)	≥1.5	Conform
V ₁ :V ₂	1.02-1.45	Conform
Assay	91%-108%	Conform
Total Nitrogen	≤1.5%	Conform
Total Heavy Metals	≤20ppm	Conform
As	≤2ppm	Conform
Pb	≤2ppm	Conform
Total Plate Count	≤2000cfu/g	Conform
Moulds/Yeasts	≤100cfu/g	Negative
Staphylococcus	Negative	Negative
Salmonella	Negative	Negative
Coliform	Negative	Negative

Lampiran 19. Certificate of Analysis Methyl Paraben



Laboratories Limited Llantwit Fardre
Pontypridd CF38 2SN
United Kingdom
Tel: +44 (0) 1443 205311
Fax: +44 (0) 1443 207746
www.nipa.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

CUSTOMER: PT PINTU MAS MULIA KIMIA INDONESIA OUR REF: 48334
ORDER NUMBER: 014/PM/01

PRODUCT: **NIPAGIN M**
(Methyl Hydroxybenzoate BP, Ph Eur, USP/NF)
Methyl paraben NF

LOT NUMBER: M36553 QUANTITY: 50 X 25KG
DATE OF MANUFACTURE & ANALYSIS: FEBRUARY 2001 EXPIRY DATE: 3 YEARS



TEST	REFERENCE/LIMIT	RESULT
1. Appearance	White Powder	White Powder
2. Odour	NMT Almost Odourless	Odourless
3. Identification	BP/EP/USP/NF Tests	Conforms
4. Melting Point	125-128 °C	127.0°C
5. Acidity (1)	BP/EP; NMT 0.1ml	0.03ml
(2)	USP/NF	Conforms
6. Clarity of Solution	BP/EP USP/NF Test	Passes
7. Colour of Solution	BP/EP USP/NF Test	Passes
8. Loss on Drying	0.5% Max	0.04%
9. Related Substances	BP/EP Test	Passes
(Chromatographic Purity)	USP Test	
10. Sulphated Ash	0.05% Max USP	<0.05%
11. Heavy Metals (As Pb)	NMT 10 ppm	<10 ppm
12. Assay	99.0%-100.5% C ₈ H ₈ O ₂	100.0%
13. Organic Volatile Impurities	USP24/NF19	Will Comply

NIPAGIN M is Methyl 4-Hydroxybenzoate and conforms to the standards of identity and purity required by the BP 1999, 3rd Edition (1997) of the Ph. Eur and the USP24/NF19.

For and on behalf of
NIPA Laboratories Ltd


WAYNE JONES - Q/C MANAGER

Registered No: 353315 England
Registered Office: Hayes Road,
Cadishead, Manchester M44 5BX

Lampiran 20. Certificate of Analysis Triethanolamine

Technical Data Sheet



DOW Triethanolamine
TEA 99%, TEA 99% Low Freezing Grade (LFG), TEA Commercial Grade, & TEA Commercial LFG

Product Description

DOW Triethanolamine (TEA) offers a broad spectrum of application opportunities, primarily in detergents, personal care products and textile finishing. Other applications include use as intermediates in concrete additives and adhesive, rubber, agricultural and photographic chemicals; use as a component of cement grinding aids; use as "down hole" in oil well chemicals and in metalworking to prevent corrosion; and use as catalysts that promote stability during the reaction process in the manufacture of flexible and rigid urethane foams.

Because TEA combines the properties of amines and alcohols, TEA exhibits the unique capability of undergoing reactions common to both groups. As an amine, TEA is mildly alkaline and reacts with acids to form salts or soaps. As an alcohol, TEA is hygroscopic and can be esterified.

DOW Triethanolamine is available as TEA 99%, TEA 99% Low Freezing Grade (LFG), TEA Commercial Grade, and TEA Commercial Grade LFG.

- TEA 99% is a tertiary amine used to react with acidic compounds to form salts.
- TEA 99% LFG is a low freeze grade variation of TEA Commercial Grade for easier handling in colder ambient temperatures (freezing point: -5°C/23°F). It is a blend of an 85% solution of TEA with 15% water.
- TEA Commercial Grade is a solution of TEA containing $\geq 85\%$ TEA and $\leq 15\%$ Diethanolamine (DEA).
- TEA Commercial LFG is a low freeze grade variation of TEA Commercial Grade for easier handling in colder ambient temperatures (freezing point: -42°C/-44°F). It is a blended solution of ~74% TEA, ~15% water and ~11% Diethanolamine (DEA).

Features and Benefits

Detergents

- TEA imparts a reserve alkalinity to the laundry bath, which is essential to efficient cleaning.
- TEA is an effective oil and anti-redeposition agent.

Personal Care

- TEA may be reacted with lauryl sulfate to form the foaming base surfactant used in hair shampoos.
- Fatty acids neutralized with TEA are excellent emulsifiers for oil-in water emulsions such as gel-type industrial hand cleaners, aerosol shave creams, and hand and body lotions.
- TEA is also used as the base component in the production of certain mild bar soaps.

Textile Finishing

- TEA is used as reaction intermediates for the preparation of durable press fabric finishes and softeners.
- When reacted to form amine soaps, useful as scouring agents for wool and silk because of its low alkalinity.
- Because it is hygroscopic, TEA is used in the preparation of vat printing pastes.
- TEA is also useful in making acetate rayon dyes.

Page 1 of 2

Form No. 111-01412-1204 AMS
Dow Ethanolamines

Lampiran 20. (lanjutan)

Typical Physical Properties⁽¹⁾

Properties	Triethanolamine
Formula	(HOCH ₂ CH ₂) ₃ N
Molecular Weight	149.19
Apparent Sp. Gr. at 20/20°C (supercooled liquid)	1.126
ΔSp. Gr./Δt at 10 to 80°C	0.00059
Boiling Point at 760 mm Hg, °C (°F)	335
At 59mm Hg, °C, Extrapolated (decomposes)	245
At 10mm Hg, °C	205
Vapor Pressure at 20°C, mm Hg	<0.001
Freezing Point, °C (°F) (supercools easily)	21 (69.8)
Absolute Viscosity at 20°C, cP (supercooled liquid)	921
At 30°C, cP	404
Solubility at 20°C, % by wt	
In Water (supercooled liquid)	Complete
Water In (supercooled liquid)	Complete
Solubility in Organic Liquids at 25°C, % by wt	
Acetone	Complete
Benzene	2
Carbon Tetrachloride	Complete
Ethyl Ether	2
Heptane	<0.03
Methanol	Complete
Surface Tension at 25°C, dynes/cm	48.9
Refractive Index, n _D 20 (supercooled liquid)	1.4852
Δn _D /Δt at 20 to 40°C per °C	0.00020
Flash Point, Pensky-Martens Closed Cup (ASTM D 93), °C (°F)	208 (407)

(1) Data represent typical physical properties only and should not be construed as product specifications.

Product Stewardship

Dow encourages its customers and potential users to review their applications from the standpoint of human health and environmental aspects. To help ensure that Dow products are not used in ways for which they are not intended or tested, Dow personnel will assist customers in dealing with environmental and product safety considerations. Dow literature, including Material Safety Data Sheets, should be consulted by customers and potential users prior to use.

For More Information

North America: toll-free 1-800-447-4369
fax 1-989-832-1465
Europe: toll-free +800 3 694 6367
call +32 3 450 2240
fax +32 3 450 2815
Pacific: call +800 7776 7776
fax +800 7779 7779
Other Areas: call 1-989-832-1560
fax 1-989-832-1465
www.dowamines.com

NOTICE: No freedom from any patent owned by Dow or others is to be inferred. Because use conditions and applicable laws may differ from one location to another and may change with time, Customer is responsible for determining whether products and the information in this document are appropriate for Customer's use and for ensuring that Customer's workplace and disposal practices are in compliance with applicable laws and other governmental enactments. Dow assumes no obligation or liability for the information in this document. NO WARRANTIES ARE GIVEN; ALL IMPLIED WARRANTIES OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE ARE EXPRESSLY EXCLUDED.



Lampiran 21. Persetujuan Etik



KEMENTERIAN KESEHATAN
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN KESEHATAN
Jalan Percetakan Negara No. 29 Jakarta 10560 Kotak Pos 1226
Telepon: (021) 4261088 Faksimile: (021) 4243933
E-mail: sesban@litbang.depkes.go.id, Website: <http://www.litbang.depkes.go.id>

PERSETUJUAN ETIK (ETHICAL APPROVAL)

Nomor: KE.01.02/EC/1049/2012

Yang bertanda tangan di bawah ini, Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Litbang Kesehatan, setelah dilaksanakan pembahasan dan penilaian, dengan ini memutuskan protokol penelitian yang berjudul :

"Manfaat Pemberian Topikal Ekstrak Kombinasi Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) dan Pegagan (*Centella asiatica L.*) Terhadap Beberapa Parameter Penuaan Kulit"

yang mengikutsertakan manusia sebagai subyek penelitian, dengan Ketua Pelaksana / Peneliti Utama :

dr. Trifena

dapat disetujui pelaksanaannya. Persetujuan ini berlaku sejak tanggal ditetapkan sampai dengan batas waktu pelaksanaan penelitian seperti tertera dalam protokol.

Pada akhir penelitian, laporan pelaksanaan penelitian harus diserahkan kepada KEPK-BPPK. Jika ada perubahan protokol dan / atau perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan kajian etik penelitian (amandemen protokol).

Jakarta, 22 Februari 2012

Ketua
Komisi Etik Penelitian Kesehatan
Badan Litbang Kesehatan,

Prof. Dr. M. Sudomo