



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI MANFAAT EKSTRAK KOLAGEN KASAR DARI
TERIPANG *STICHOPUS HERMANNI* SEBAGAI BAHAN
PELEMBAB KULIT**

TESIS

**WANDA ANGGI ANDIRISNANTI
1006733184**

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



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI MANFAAT EKSTRAK KOLAGEN KASAR DARI
TERIPANG *STICHOPUS HERMANI* SEBAGAI BAHAN
PELEMBAB KULIT**

TESIS

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains**

**WANDA ANGGI ANDIRISNANTI
1006733184**

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

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenar-benarnya menyatakan bahwa tesis ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan tindakan plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, 16 Juli 2012



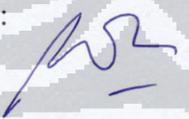
Wanda Anggi Andirisnanti

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Wanda Anggi Andirisananti

NPM : 1006733184

Tanda Tangan : 

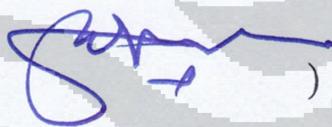
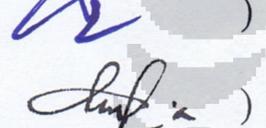
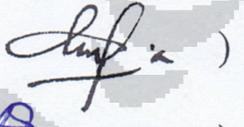
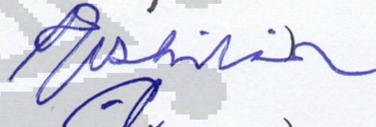
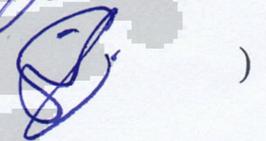
Tanggal : 16 Juli 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :
Nama : Wanda Anggi Andirisnanti
NPM : 1006733184
Program Studi : Magister Herbal
Judul Tesis : Uji Manfaat Ekstrak Kolagen Kasar
Dari Teripang *Stichopus hermanni* Sebagai Bahan
Pelembab Kulit

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Rer. nat. Yasman, S.Si., M.Sc. ()
Pembimbing II : Sutriyo S.Si., M.Si., Apt. ()
Penguji I : Dr. Iskandarsyah, M.Si. ()
Penguji II : Dr. Berna Elya, M.Si., Apt. ()
Ketua : Pharm. Dr. Joshita Djajadisastra, MS., PhD. ()
Sekretaris : Dr. Silvia Surini, M.Pharm.Sc. ()

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 16 Juli 2012

KATA PENGANTAR/UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, karena atas berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Penulisan tesis ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Sains pada Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan tesis ini, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan tesis ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. rer. nat. Yasman, M.Sc. selaku pembimbing I dan Sutriyo, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing II, yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing, memberi semangat dan mengarahkan penulis dalam penyusunan tesis ini;
2. Abdul Mun'im, MS., Ph.D., selaku Ketua Program Studi Magister Herbal UI yang telah memberikan masukan, bimbingan, dukungan dan pengarahan selama masa perkuliahan dan penelitian;
3. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.
4. Dr. Berna Elya, M.Si., Apt., dan Dr. Iskandarsyah, M.Si., selaku penguji atas pengetahuan, saran, dan ilmu yang telah diberikan.
5. Dr. Joshita Djajadisastra, MS. dan Dr. Silvia Surini, M.Pharm.Sc. selaku ketua dan sekretaris sidang atas saran dan pengetahuan yang telah diberikan.
6. Dr. M. Sahlan, Drs. Wisnu Wardhana, M.Si., dan Dian Hendrayanti, M.Sc. yang telah memberikan ilmu dan informasi mengenai penelitian yang dilakukan.
7. Dr. rer. nat. Anna S. Ranti, Apt. atas masukan, saran, dan ilmu yang telah diberikan selama perkuliahan dan penelitian dilakukan.

8. Bapak Bambang Isna, Ibu Engkom Komariah, Ery Hardiyanti, Ramadhani Isna Putri, dan Giri Sindu Nala, atas kasih sayang, perhatian, dan doa yang selalu mengiringi langkah penulis.
9. Djuanita Bowman, Sasmita Kusumastuti dan Lulu Moulfia Tursina, atas bantuan, saran, dan motivasi yang telah diberikan kepada penulis.
10. Karyawan dan teman-teman Laboratorium Farmasetika (Tika, Nalla, Delly, Patricia, Mbak Deva dan yang lainnya) atas masukan, ilmu pengetahuan dan bantuan selama melakukan penelitian.
11. Teman-teman Laboratorium Taksonomi Hewan (Oim, Jupe dan Fuji), atas bantuan dan masukan selama melakukan penelitian.
12. Seluruh dosen/staf pengajar Departemen Farmasi FMIPA UI atas bimbingan, ilmu, dan motivasi selama masa perkuliahan dan penelitian.
13. Sahabat-sahabat Magister Herbal Angkatan 1 (Syka, Kak Astrid, Dara, Kak Menda, Kak Riska dan teman-teman lainnya) atas persahabatan dan kekeluargaan yang indah.
14. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan, bimbingan, maupun pengarahan selama penelitian dan penyusunan tesis.

Akhir kata, penulis berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga tesis ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu khususnya ilmu herbal.

Penulis

2012

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

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

Nama : Wanda Anggi Andirisnanti
NPM : 1006733184
Program Studi : Magister Herbal peminatan Estetika 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 Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

**UJI MANFAAT EKSTRAK KOLAGEN KASAR DARI TERIPANG
STICHOPUS HERMANNI SEBAGAI BAHAN PELEMBAB KULIT**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 16 Juli 2012

Yang menyatakan


(Wanda Anggi Andirisnanti)

ABSTRAK

Nama : Wanda Anggi Andirisnanti
Program Studi : Magister Herbal
Judul : Uji Manfaat Ekstrak Kasar Kolagen dari Teripang *Stichopus hermanni* sebagai Bahan Pelembab Kulit.

Kolagen digunakan dalam industri kosmetik sebagai bahan pelembab. Dinding tubuh teripang mengandung kolagen sehingga berpotensi sebagai pelembab kulit. Penelitian bertujuan membandingkan ekstrak kolagen kasar dari teripang *Stichopus hermanni* budidaya dan alam yang diperoleh dengan metode ekstraksi yang tepat serta memperoleh sediaan krim pelembab yang mengandung ekstrak kolagen kasar teripang yang bermanfaat melembabkan kulit. Ekstraksi menggunakan perpaduan cara kerja Trotter *et al.* (1995) dan Saito *et al.* (2002). Identifikasi kolagen menggunakan metode Dot Blot. Ekstrak kolagen kasar dibuat sediaan krim dengan konsentrasi 5%. Uji stabilitas fisik sediaan krim dilakukan selama 12 minggu dan uji keamanan kepada sukarelawan menggunakan metode uji tempel. Uji manfaat dilakukan selama 4 jam pada daerah lengan bawah dengan parameter peningkatan kadar air kulit. Hasil ekstraksi menunjukkan ekstrak kolagen kasar dari teripang budidaya (77,47% dw) lebih besar daripada teripang alam (55,93% dw). Ekstrak kolagen kasar mengandung kolagen tipe I sebesar 16%. Sediaan krim ekstrak kolagen kasar menunjukkan kestabilan selama 12 minggu dan hasil uji keamanan tidak menimbulkan iritasi sehingga aman digunakan secara topikal. Hasil uji manfaat menunjukkan sediaan krim ekstrak kolagen kasar mampu mempertahankan kelembaban kulit selama 4 jam. Krim ekstrak kolagen kasar 5% memberikan pengaruh kelembaban yang berbeda nyata dibandingkan krim plasebo, yaitu pada pengaplikasian krim selama 1 jam.

Kata Kunci : ekstrak kolagen kasar, teripang *Stichopus hermanni*, sediaan krim ekstrak kolagen kasar, kadar air kulit.
xviii+151 halaman : 20 tabel; 42 gambar; 44 lampiran
Daftar Pustaka : 84 (1969 - 2010)

ABSTRACT

Name : Wanda Anggi Andirisnanti
Program Study : Herbal Magister
Title : Efficacy Study of Crude Collagen Extract from Sea Cucumber
Stichopus hermanni for Skin Moisturizer

Sea cucumber is well-known to contain collagen that potent to apply as a skin moisturizer. Collagen have been used in many cosmetics industries as a moisturizer. The objectives of the study are to compare crude collagen extract of sea cucumber *Stichopus hermanni* from nature and cultivation by proper extraction method and to assess the efficacy of a formulated cream containing crude collagen extract of sea cucumber as a human skin moisturizer. The crude collagen extract was obtained by a combination method of Trotter et al. (1995) and Saito et al. (2002). Collagen was identified by Dot Blot method and then was incorporated into formulated cream to make a concentration of 5% (w/v). Physical stability test was done for 12 weeks and human safety test was done by using a patch test. Efficacy study was done for 4 hours of which the increasing skin moisture content was the main parameter to be measured. The result of the study showed that crude collagen extract of sea cucumber from cultivation (77.47% dw) was greater than from nature (55.93% dw). The crude collagen extracts contained 16% of type I collagen. The crude collagen extract cream showed stability for 12 weeks and was safe to be used topically as evidenced by no skin irritation occurred in the patch test. The result of efficacy test showed that crude collagen extract cream was able to maintain skin moisture for 4 hours experiment and provided a moisture effect significantly different from placebo cream during 1 hour application.

Key Words : crude collagen extract, sea cucumber *Stichopus hermanni*, crude collagen extract cream, moisturizer efficacy test.

xviii+151 pages: 20 tables; 42 pictures; 44 appendixes

Bibliography : 84 (1969 - 2010)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR/UCAPAN TERIMA KASIH	vi
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
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	4
2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Teripang	5
2.1.1. Deskripsi Biota	5
2.1.2. Habitat Dan Penyebaran Teripang	8
2.1.3. Kandungan Kimia dan Manfaat Teripang	8
2.2. Kolagen	10
2.2.1. Biosintesis Kolagen	13
2.2.2. Kolagen Dan Kecantikan	15
2.2.3. Ekstraksi Kolagen Kasar	17
2.3. Sediaan Krim Pelembab	18
2.4. Formulasi Sediaan Krim	20
2.4.1. Asam Stearat	21
2.4.2. Setil Alkohol	21
2.4.3. Gliseril Monostearat	22
2.4.4. Trietanolamin (TEA)	23
2.4.5. Isopropil Miristat	23
2.4.6. Metilparaben (nipagin)	24
2.4.7. Propilparaben (nipasol)	25
2.4.8. Propilen Glikol	25
2.4.9. Butilhidroksitoluen (BHT)	26

2.5.	Evaluasi Fisik Sediaan Krim	27
2.5.1.	Organoleptis	27
2.5.2.	Viskositas	27
2.5.3.	Konsistensi	27
2.5.4.	Derajat Keasaman (pH)	28
2.6.	Uji Stabilitas Sediaan Krim	28
2.6.1.	Suhu yang dinaikkan	29
2.6.2.	Kelembaban yang dinaikkan	29
2.6.3.	<i>Cycling Test</i>	30
2.6.4.	Uji Mekanik	30
2.7.	Uji Keamanan Sediaan Krim	30
2.8.	Uji Manfaat Sediaan Krim Sebagai Pelembab	31
3.	METODE PENELITIAN	34
3.1.	Lokasi dan Waktu Penelitian	34
3.2.	Bahan dan Alat	34
3.2.1.	Bahan	34
3.2.2.	Alat	34
3.3.	Cara Kerja	35
3.3.1.	Penyiapan Bahan	35
3.3.2.	Pembuatan Larutan Stok	35
3.3.3.	Ekstraksi Kolagen Kasar dari Sampel Dinding Tubuh Teripang	36
3.3.4.	Persentase Rendemen Ekstrak Kolagen Kasar Teripang	36
3.3.5.	Identifikasi Kolagen Kasar dari Teripang <i>Stichopus hermanni</i>	37
3.3.6.	Pembuatan Sediaan Krim	37
3.3.7.	Evaluasi Fisik Sediaan	39
3.3.7.1.	Pengamatan Organoleptis	39
3.3.7.2.	Pemeriksaan Homogenitas	39
3.3.7.3.	Pengukuran pH	39
3.3.7.4.	Penentuan Viskositas dan Sifat Alir	39
3.3.7.5.	Penentuan Konsistensi	40
3.3.8.	Uji Stabilitas	40
3.3.8.1.	Penyimpanan pada Suhu 4 ± 2 °C, 28 ± 2 °C dan suhu 40 ± 2 °C	40
3.3.8.2.	<i>Cycling Test</i>	40
3.3.8.3.	Uji Mekanik (<i>Sentrifugal Test</i>)	41
3.3.9.	Uji Keamanan Terhadap Sukarelawan	41
3.3.10.	Uji Manfaat Krim Kolagen Kasar Sebagai Bahan Pelembab	42
3.3.10.1.	Rancangan Penelitian	42
3.3.10.2.	Populasi Sampel	42
a.	Kriteria Inklusi	43
b.	Kriteria Eksklusi	43
c.	Kriteria <i>Drop Out</i>	43

3.3.10.3.	Penentuan Besar Sampel	43
3.3.10.4.	Variabel Penelitian	45
	a. Identifikasi Variabel	45
	b. Klasifikasi Variabel	45
3.3.10.5.	Hubungan Antar Variabel	45
3.3.10.6.	Definisi Operasional	45
3.3.10.7.	Prosedur Pengujian Kelembaban	46
3.4.	Analisis Data	47
4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	48
4.1.	Ekstraksi Kolagen Kasar dari Teripang <i>Stichopus hermanni</i>	48
4.2.	Persentase Rendemen dan Identifikasi Keberadaan Kolagen Kasar	50
4.3.	Formulasi Sediaan Krim	56
4.4.	Evaluasi Fisik Sediaan Krim	58
	4.4.1. Pengamatan Organoleptis	58
	4.4.2. Pemeriksaan Homogenitas	66
	4.4.3. Pengukuran pH	67
	4.4.4. Pengukuran Viskositas dan Sifat Alir	68
	4.4.5. Pengukuran Konsistensi	70
4.5.	Uji Stabilitas Sediaan Krim	71
	4.5.1. Uji Stabilitas pada Suhu 4 ± 2 °C, 28 ± 2 °C dan 40 ± 2 °C	71
	4.5.2. <i>Cycling Test</i>	76
	4.5.3. Uji Mekanik (<i>Sentrifugal Test</i>).....	78
4.6.	Uji Keamanan Sediaan Krim Terhadap Sukarelawan	79
4.7.	Uji Manfaat Sediaan Krim Kolagen Kasar.....	82
5.	KESIMPULAN DAN SARAN	92
	DAFTAR ACUAN	93

DAFTAR GAMBAR

	ppHalaman
Gambar 2.1. Struktur Tubuh Teripang	5
Gambar 2.2. Beberapa Jenis Teripang yang Memiliki Nilai Ekonomis Penting	7
Gambar 2.3. Kolagen Pada Kulit	11
Gambar 2.4. Struktur <i>Triple Helix</i> Kolagen	12
Gambar 2.5. Skema Biosintesis Kolagen	14
Gambar 2.6. Perbandingan Kulit Remaja dengan Kulit Menua	15
Gambar 2.7. Struktur Kimia Asam Stearat	21
Gambar 2.8. Struktur Kimia Setil Alkohol	22
Gambar 2.9. Struktur Kimia Gliseril Monostearat	22
Gambar 2.10. Struktur Kimia Trietanolamin	23
Gambar 2.11. Struktur Kimia Isopropil Miristat	24
Gambar 2.12. Struktur Kimia Metilparaben	24
Gambar 2.13. Struktur Kimia Propilparaben	25
Gambar 2.14. Struktur Kimia Propilen Glikol	26
Gambar 2.15. Struktur Kimia Butilhidroksitoluen	27
Gambar 4.1. Ekstrak Kolagen Kasar Hasil Liofilisasi (<i>freeze dried</i>)	50
Gambar 4.2. Hasil Deteksi Keberadaan Kolagen Dengan Metode Dot Blot	56
Gambar 4.3. Hasil Pengamatan Organoleptis Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo Pada Minggu ke-0	59
Gambar 4.4. Penilaian Bau Terhadap Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo yang Melibatkan 20 Orang Responden	59
Gambar 4.5. Penilaian Warna Terhadap Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo yang Melibatkan 20 Orang Responden	60
Gambar 4.6. Penilaian Homogenitas Terhadap Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo yang Melibatkan 20 Orang Responden	61
Gambar 4.7. Penilaian Konsistensi Sediaan Terhadap Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo yang Melibatkan 20 Orang Responden	62
Gambar 4.8. Penilaian Kepadatan (<i>cushion</i>) Sediaan Terhadap Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo yang Melibatkan 20 Orang Responden	62
Gambar 4.9. Penilaian Distribusi Sediaan Terhadap Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo yang Melibatkan 20 Orang Responden	63
Gambar 4.10. Penilaian Daya Serap (<i>absorption</i>) Sediaan Terhadap Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo yang Melibatkan 20 Orang Responden	64

Gambar 4.11. Penilaian Kesan Lengket (<i>stickiness</i>) Sediaan Terhadap Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo yang Melibatkan 20 Orang Responden	64
Gambar 4.12. Penilaian Rasa Lembut (<i>smoothness</i>) Sediaan Terhadap Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo yang Melibatkan 20 Orang Responden	65
Gambar 4.13. Perbandingan Homogenitas Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar Teripang dengan Krim Plasebo	67
Gambar 4.14. Rheogram Viskositas Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo Pada Minggu ke-0.....	68
Gambar 4.15. Rheogram Viskositas Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo Pada Minggu ke-12.....	69
Gambar 4.16. Kurva Perubahan pH Pada Penyimpanan 4 ± 2 °C	75
Gambar 4.17. Kurva Perubahan pH Pada Penyimpanan 28 ± 2 °C	75
Gambar 4.18. Kurva Perubahan pH Pada Penyimpanan 40 ± 2 °C	75
Gambar 4.19. Hasil Uji <i>Cycling Test</i> Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo	77
Gambar 4.20. Kurva Perubahan pH Pada <i>Cycling Test</i>	78
Gambar 4.21. Hasil Uji Mekanik Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo	79
Gambar 4.22. Hasil Pengamatan Uji Iritasi Terhadap Subjek Penelitian	81
Gambar 4.23. Hasil Pengamatan Uji Manfaat Kelembaban Terhadap Subjek Penelitian	84
Gambar 4.24. Hasil Pengukuran Kadar Air Kulit Setelah Penggunaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar Selama 4 Jam	85
Gambar 4.25. Hasil Pengukuran Kadar Air Kulit Setelah Penggunaan Krim Plasebo Selama 4 Jam.....	85
Gambar 4.26. Selisih Kadar Air Kulit Setelah Penggunaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo Selama 4 Jam.....	86
Gambar 4.27. Hasil Uji Statistik Pengaruh Jenis Krim dan Waktu Terhadap Kadar Air Kulit	90

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Pendekatan Umum Pengujian Klinis Untuk Penggunaan Pelembab Kulit	31
Tabel 3.1. Komposisi Bahan-bahan dalam Sediaan Krim	38
Tabel 3.2. Pembacaan <i>Patch Test</i> Berdasarkan <i>International Contact Dermatitis Research Group</i>	41
Tabel 4.1. Data Rendemen Ekstrak Kolagen Kasar Dari Teripang di Alam dan Tempat Budidaya Berdasarkan Berat Basah	50
Tabel 4.2. Data Susut Pengeringan Teripang Dari Alam dan Budidaya...	51
Tabel 4.3. Data Rendemen Ekstrak Kolagen Kasar Dari Teripang di Alam dan Tempat Budidaya Berdasarkan Berat Kering.....	52
Tabel 4.4. Data Identifikasi Organoleptik Ekstrak Kolagen Kasar Teripang	53
Tabel 4.5. Hasil Evaluasi Fisik Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo Pada Minggu Ke-0.....	58
Tabel 4.6. Hasil Pengamatan Uji Performansi Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar serta Krim Plasebo	66
Tabel 4.7. Hasil Uji Konsistensi Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo Pada Minggu ke-0 dan Minggu ke-12	70
Tabel 4.8. Hasil Pengamatan Organoleptis Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar Pada Suhu Rendah, Suhu Kamar dan Suhu Tinggi Selama 12 Minggu	72
Tabel 4.9. Hasil Pengamatan Organoleptis Sediaan Krim Plasebo Pada Suhu Rendah, Suhu Kamar dan Suhu Tinggi Selama 12 Minggu	73
Tabel 4.10. Hasil Pengukuran pH Minggu ke-0 dan Minggu ke-12 Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo	74
Tabel 4.12. Hasil Pengamatan Uji Mekanik	78
Tabel 4.13. Hasil Uji Normalitas Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo	87
Tabel 4.14. Hasil Uji T-Test Untuk Kelompok Krim Ekstrak Kolagen Kasar.....	88
Tabel 4.15. Hasil Uji T-Test Untuk Kelompok Krim Plasebo	88
Tabel 4.16. Hasil Uji <i>Independent Sample Test</i> Antara Krim Ekstrak Kolagen Dengan Krim Plasebo	89
Tabel 4.17. Hasil Uji <i>Two Way Anova</i>	90

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Gambar Teripang <i>Stichopus hermanni</i> yang Diperoleh Dari Alam dan Tempat Budidaya	101
Lampiran 2. Peralatan yang digunakan Pada Penelitian	102
Lampiran 3. Proses Ekstraksi Kolagen Kasar Dari Dinding Tubuh Teripang Budidaya dan Alam	103
Lampiran 4. Proses Pembuatan Sediaan Krim	105
Lampiran 5. <i>Certificate Of Analysis</i> Setil Alkohol	106
Lampiran 6. <i>Certificate Of Analysis</i> Propilen Glikol	107
Lampiran 7. <i>Certificate Of Analysis</i> Metilparaben	108
Lampiran 8. <i>Certificate Of Analysis</i> Propilparaben	109
Lampiran 9. <i>Certificate Of Analysis</i> Butilhidroksitoluen (BHT)	110
Lampiran 10. Formulir Seleksi Subjek penelitian	111
Lampiran 11. Surat Penjelasan Uji Manfaat Kepada Subjek Penelitian	113
Lampiran 12. Formulir Data Diri dan Riwayat Kesehatan Subjek Penelitian	115
Lampiran 13. Formulir Persetujuan Subjek Penelitian Untuk Mengikuti Prosedur Uji Manfaat	117
Lampiran 14. Prosedur Uji Manfaat Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar Teripang	118
Lampiran 15. Hasil Identifikasi Teripang <i>Stichopus hermanni</i> Dari Laboratorium Taksonomi Hewan, Departemen Biologi, FMIPA-UI	119
Lampiran 16. Pelet Hasil Ekstraksi dengan Campuran Larutan Tris HCl dan EDTA	122
Lampiran 17. Pengamatan Organoleptis Ekstrak Kolagen Kasar dari Teripang Budidaya dan Alam	122
Lampiran 18. Ekstrak Kolagen Kasar yang Menjadi Lengket karena Bersifat Higroskopis	123
Lampiran 19. Hasil Positif uji Biuret terhadap Ekstrak Kolagen Kasar Teripang yang Menghasilkan Endapan Biru	123
Lampiran 20. Hasil Positif uji Bradford Terhadap Ekstrak Kolagen Kasar Teripang	124
Lampiran 21. Komposisi Bahan Baku Sediaan Krim Dengan Konsentrasi yang Memenuhi Persyaratan Annexes of The Asean Cosmetics Directive dan Pharmaceutical Excipients	124
Lampiran 22. Formulir Pengamatan Organoleptis Sediaan Krim	125
Lampiran 23. Standar Warna Ace paint yang Digunakan Untuk Penilaian Warna Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo	128
Lampiran 24. Tabel Hasil Perhitungan Uji Viskositas Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar Pada minggu ke-0	129

Lampiran 25. Tabel Hasil Perhitungan Uji Viskositas Krim Plasebo Pada Minggu ke-0	130
Lampiran 26. Tabel Hasil Perhitungan Uji Viskositas Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar Pada minggu ke-12	131
Lampiran 27. Tabel Hasil Perhitungan Uji Viskositas Krim Plasebo Pada Minggu ke-12	132
Lampiran 28. Uji Stabilitas Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo Pada Suhu 4 ± 2 °C.....	133
Lampiran 29. Uji Stabilitas Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo Pada Suhu 28 ± 2 °C.....	134
Lampiran 30. Uji Stabilitas Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo Pada Suhu 40 ± 2 °C.....	135
Lampiran 31. Tabel Pemeriksaan pH Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo Pada Suhu 4 ± 2 °C Selama 12 Minggu	136
Lampiran 32. Tabel Pemeriksaan pH Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo Pada Suhu 28 ± 2 °C Selama 12 Minggu	136
Lampiran 33. Tabel Pemeriksaan pH Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo Pada Suhu 40 ± 2 °C Selama 12 Minggu	137
Lampiran 34. Tabel Pemeriksaan pH Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo Pada Suhu 4 ± 2 °C Selama 12 Minggu	137
Lampiran 35. Surat Keterangan Lolos Kaji Etik	138
Lampiran 36. Tabel Hasil Pengamatan Uji Iritasi Pada Pemberian Krim Ekstrak Kolagen Kasar dan Krim Plasebo	139
Lampiran 37. Tabel Hasil Pengujian Kelembaban Berdasarkan Parameter Kadar Air Kulit Untuk Sediaan Krim Ekstrak Kolagen Kasar Teripang	140
Lampiran 38. Tabel Hasil Pengujian Kelembaban Berdasarkan Parameter Kadar Air Kulit Untuk Sediaan Krim Plasebo	141
Lampiran 39. Hasil Analisis Statistika Uji Normalitas	142
Lampiran 40. Hasil Analisis Statistika Uji Homogenitas	143
Lampiran 41. Hasil Analisis Statistika Uji <i>Paired Sample T-Test</i> Untuk Kelompok Krim Ekstrak Kolagen Kasar	144
Lampiran 42. Hasil Analisis Statistika Uji <i>Paired Sample T-Test</i> Untuk Kelompok Krim Plasebo	146
Lampiran 43. Hasil Analisis Statistika Uji <i>Independent Sample Test</i> Untuk Perbandingan Kelompok Krim Ekstrak Kolagen Kasar Dengan Krim Plasebo	148
Lampiran 44. Hasil Analisis Statistika Uji <i>Two Way Anova</i>	151

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia dengan luas perairan laut mencapai 75% dari total wilayahnya. Hal tersebut menjadikan Indonesia menjadi salah satu negara maritim terbesar di dunia. Indonesia mempunyai potensi sumber daya laut dengan keanekaragaman hayati yang sangat besar, namun belum terdayagunakan (Reina, 2004). Keanekaragaman hayati di Indonesia adalah sebesar 15,3% dari total keanekaragaman hayati di dunia dan 37% spesies laut dunia berada di Indonesia (Astirin, 2000). Sumber daya laut yang sangat tinggi memberikan manfaat yang besar untuk kehidupan manusia. Pemanfaatan biota laut saat ini, bukan hanya sekedar untuk konsumsi, tetapi mengarah kepada penelitian yang lebih maju seperti penemuan obat-obatan berbahan dasar biota laut.

Salah satu biota laut yang mempunyai nilai ekonomis penting adalah teripang atau timun laut. Teripang merupakan komoditas lokal hasil laut yang banyak tersebar di Indonesia. Jenis teripang yang dapat dimakan dan mempunyai nilai ekonomis penting sampai saat ini terbatas pada famili Holothuriidae dan Stichopodidae, yang meliputi marga *Holothuria*, *Actinopyga*, *Bohadschia*, *Thelenota*, dan *Stichopus* (Martoyo dkk., 2006).

Teripang mempunyai nilai ekonomis penting karena selain sebagai pangan fungsional, teripang juga merupakan sumber biofarmaka dari hasil laut (Kerr, 2000). Kandungan nutrisi teripang kering, terdiri dari 86% protein, 3 – 5% karbohidrat dan 1 – 2% lemak (Arlyza, 2009). Teripang memiliki kandungan asam lemak seperti EPA (asam *eikosapentaenoat*) dan DHA (asam *dekosaheksaenoat*) yang berperan dalam perkembangan syaraf otak, agen penyembuh luka dan antitrombotik. Selain itu, teripang juga mengandung bahan bioaktif yang bermanfaat sebagai antihipertensi (Haug *et al.*, 2002), antibakteri

dan antifungi (Kumar *et al.*, 2007), antikanker (Mayer & Gustafson, 2006), serta antikoagulan (Mojica & Merca, 2005).

Teripang tidak hanya dimanfaatkan untuk pengobatan tetapi juga dalam industri kosmetik. Kandungan kolagen dalam tubuh teripang mencapai 80% dari total protein yang dimilikinya. Penelitian mengenai kolagen yang berasal dari teripang masih sangat jarang dilakukan. Hingga tahun 2007, hanya ditemukan dua penelitian yaitu Saito *et al.* (2002) yang melaporkan bahwa kolagen merupakan komponen utama dari teripang *Stichopus japonicus* dan Cui *et al.* (2007) melakukan karakterisasi dan komposisi subunit kolagen yang berasal dari teripang *Stichopus japonicus*.

Kolagen pada invertebrata terdiri dari kolagen tipe I dan V. Menurut Cui *et al.* (2007), kolagen dari teripang *Stichopus japonicus* tersusun dari 3 rantai α polipeptida tipe 1 ($\alpha 1[I]_3$), dimana rantai $\alpha 1$ menyerupai rantai $\alpha 1$ pada kolagen tipe I vertebrata. Hasil karakterisasi asam amino yang dilakukan oleh Trotter *et al.* (1995) dan Cui *et al.* (2007) menunjukkan bahwa tubuh teripang mengandung glisin, prolin, hidrosilisin dan hidrosiprolin yang tinggi sehingga kolagen merupakan komponen utama dari tubuh teripang. Pada saat ini, kolagen yang banyak digunakan adalah yang berasal dari unggas dan hewan ternak dengan tujuan pemanfaatan limbah. Akan tetapi, hewan-hewan tersebut rawan akan penyakit flu burung dan sapi gila. Bahan baku kolagen dari hewan laut lebih aman karena terbebas dari penyakit tersebut (Fernandez *et al.*, 2001).

Kolagen banyak terdapat pada tubuh manusia dan merupakan protein unik dengan kadar mencapai 30% dari total protein yang terdapat dalam tubuh. Kolagen memiliki kemampuan untuk memberikan sifat elastis pada kulit serta dapat mengurangi keriput yang terjadi sebagai efek dari penuaan. Kulit yang menua terjadi karena semakin banyak ikatan silang kovalen yang terbentuk di dalam dan di antara unit tropokolagen. Hal tersebut mengakibatkan fibril kolagen rapuh dan kaku sehingga kulit akan tampak kering (Fisher *et al.*, 1997). Salah satu cara mengatasi kulit kering adalah dengan pemberian pelembab pada permukaan kulit. Pelembab dengan bahan dasar kolagen menjadi salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mengatasi kekeringan kulit. Kolagen bekerja sebagai bahan yang

bersifat oklusif, yaitu menghambat penguapan air yang berlebihan sehingga tetap menjaga kelembaban kulit (Zhai & Maibach, 2002; Elsner *et al.*, 2005).

Pengujian efek kolagen dari biota laut terhadap kulit pernah dilakukan oleh Swatschek *et al.* (2002) dan menunjukkan bahwa ekstrak kolagen dari biota laut dapat meningkatkan kelembaban kulit. Kolagen yang merupakan komponen utama dari teripang berpotensi memiliki manfaat yang sama apabila diaplikasikan ke kulit. Akan tetapi, belum ada penelitian yang melakukan ekstraksi kolagen dari teripang yang dijadikan bahan pelembab kulit. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian pendahuluan mengenai cara ekstraksi kolagen dari teripang serta pemanfaatannya sebagai pelembab.

1.2 Perumusan Masalah

Teripang *Stichopus* merupakan biota laut yang sebagian besar dinding tubuhnya mengandung kolagen (Saito *et al.*, 2002). Kolagen kasar dari teripang diperoleh dengan metode yang spesifik dan masing-masing jenis teripang memiliki cara ekstraksi kolagen yang berbeda. Metode ekstraksi untuk teripang *Stichopus hermanni* belum pernah dilakukan dan perlu diketahui apakah metode yang sudah ada cocok digunakan. Selain itu, perlu diketahui pula apakah teripang budidaya dan alam memiliki kadar kolagen kasar yang sama.

Kolagen banyak dijadikan sebagai bahan baku pembuatan pelembab karena dapat mencegah penguapan air dari kulit (Elsner *et al.*, 2005). Penelitian mengenai pemanfaatan ekstrak kolagen kasar dari biota laut sebagai bahan baku kosmetik masih jarang dilakukan. Saat ini penelitian biota laut yang dijadikan bahan baku kolagen untuk sediaan krim berasal dari spons (Swatschek *et al.*, 2002). Penelitian mengenai pemanfaatan ekstrak kolagen kasar dari teripang *Stichopus hermanni* sebagai bahan baku sediaan krim belum pernah dilakukan dan perlu diketahui manfaatnya sebagai pelembab kulit.

1.3 Hipotesis Penelitian

- a. Teripang budidaya menghasilkan kolagen kasar yang lebih banyak dari teripang yang berada di alam.
- b. Sediaan krim ekstrak kolagen kasar memberikan pengaruh kelembaban yang lebih baik dibandingkan dengan krim plasebo.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan umum

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh sediaan krim yang mengandung ekstrak kolagen kasar dari teripang *Stichopus hermanni* yang bersifat stabil dan aman serta bermanfaat melembabkan kulit.

1.4.2 Tujuan khusus

- a. Memperoleh ekstrak kolagen kasar dari teripang *Stichopus hermanni* yang hidup di tempat budidaya dan alam dengan metode ekstraksi yang tepat serta membandingkan kadar ekstrak kolagen kasar yang diperoleh dari kedua jenis teripang tersebut.
- b. Memperoleh formula sediaan krim ekstrak kolagen kasar dari teripang *Stichopus hermanni* yang stabil, memiliki performansi yang baik, aman, serta bermanfaat sebagai pelembab kulit.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian yang diperoleh diharapkan dapat menambah data mengenai manfaat kolagen dari teripang sebagai pelembab kulit dan dapat digunakan sebagai pengembangan alternatif kosmetik pelembab dengan menggunakan produk dari teripang laut.

BAB 2

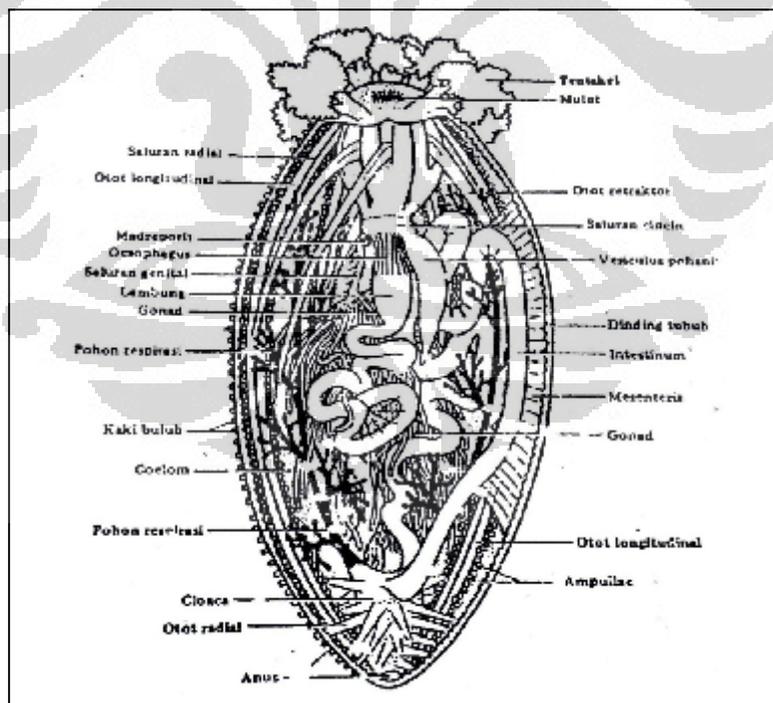
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Teripang

2.1.1 Deskripsi biota

Teripang merupakan hewan berkulit duri sehingga tergolong Filum Echinodermata. Filum Echinodermata terbagi menjadi lima kelas yaitu Holothuroidea (timun laut atau teripang), Asteroidea (bintang laut), Echinoidea (bulu babi), Ophiuroidea (bintang laut ular), dan Crinoidea (Jasin, 1992). Duri-duri pada teripang merupakan butir-butir kapur mikroskopis yang letaknya tersebar dalam lapisan epidermis. Namun, tidak semua jenis teripang mempunyai duri pada kulitnya (Martoyo dkk., 2006).

Tubuh teripang umumnya berbentuk silindris memanjang seperti buah timun (Gambar 2.1) sehingga sering disebut timun laut (*sea cucumber*).



[Sumber: Jasin, 1992.]

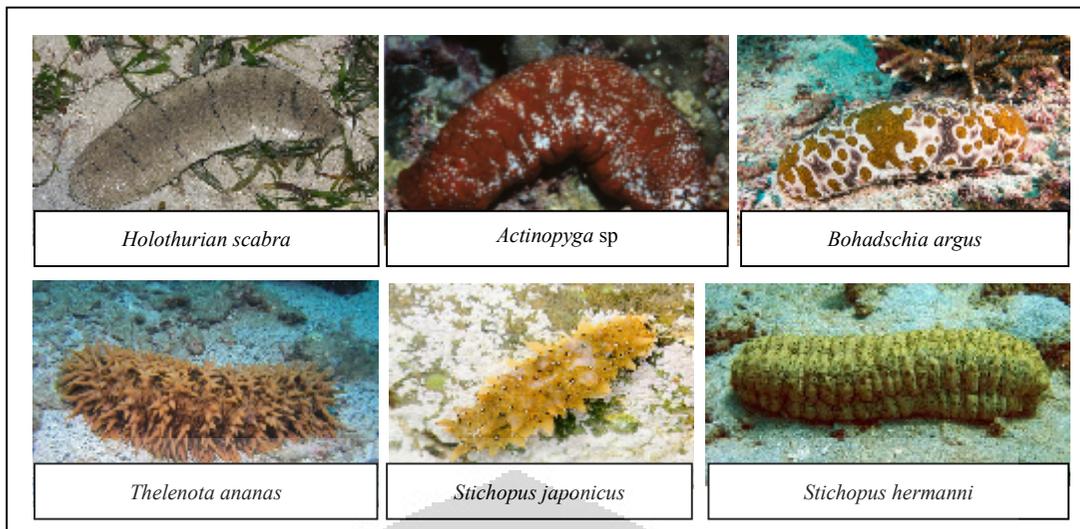
Gambar 2.1. Struktur tubuh teripang

Dinding tubuh teripang bersifat elastis, dengan mulut di bagian anterior dan anus di bagian posterior. Teripang memiliki kaki tabung yang berfungsi untuk pergerakan dan di bagian dorsal terdapat papila sebagai alat sensor (Jasin, 1992; Darsono, 1998). Menurut Barnes tahun 1963 (*lihat* Suhanda, 2001), sebagian besar teripang berwarna hitam, coklat, coklat keabuan atau kehijauan, tetapi ada pula yang berwarna jingga atau ungu, bahkan memiliki pola bergaris.

Secara morfologi, perbedaan antara teripang jantan dan betina tidak jelas. Umumnya teripang berkelamin terpisah (*dioceus*), bereproduksi secara aseksual dan seksual. Reproduksi aseksual pada teripang dilakukan dengan cara membelah tubuh menjadi dua bagian (*fission*). Masing-masing bagian kemudian akan tumbuh menjadi individu yang normal. Reproduksi seksual dilakukan secara eksternal di kolom air laut yaitu dengan melepaskan sel kelamin jantan dan betina ke dalam kolom air laut sehingga terjadi pembuahan (Darsono, 1998; Castro & Huber, 2010).

Identifikasi teripang dapat dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi secara makroskopis dilakukan dengan cara mengamati morfologi teripang yaitu variasi warna, bentuk tubuh, ada tidaknya gigi anal, serta ada tidaknya kaki tabung (Lal, 1986; Arnold & Birtles, 1989). Identifikasi mikroskopis dilakukan dengan pengamatan spikula yang terdapat pada bagian dalam dinding tubuh teripang. Hal tersebut karena spikula pada teripang memiliki bentuk yang khas dan berbeda antara satu marga bahkan antara satu jenis dengan jenis lainnya. Dengan demikian, pengamatan spikula dapat berfungsi sebagai petunjuk identifikasi pada tingkat marga bahkan tingkat jenis (Darsono, 1998).

Tidak semua jenis teripang yang ditemukan di perairan Indonesia mempunyai nilai ekonomis penting, hanya sekitar 10 jenis teripang yang memiliki nilai komersil (Gambar 2.2). Jenis teripang yang dapat dimakan dan mempunyai nilai ekonomis penting terbatas pada suku *Holothuriidae* dan *Stichopodidae*, yang meliputi marga *Holothuria*, *Actinopyga*, *Bohadschia*, *Thelenotia*, dan *Stichopus* (Arlyza, 2009).



[Sumber: Zubi, 1999.]

Gambar 2.2. Beberapa jenis teripang yang memiliki nilai ekonomis.

Kelas Holothuroidea dibedakan dalam enam bangsa yaitu, Dendrochirotida, Aspidochirotida, Dactylochirotida, Apodida, Molpadida, dan Elaspoda (Arnold & Birtles, 1989). Beberapa suku dari kelas tersebut, antara lain Holothuriidae, Synallactidae, dan Stichopodidae (Bangsa Aspidochirotida); Cucumariidae, Placothuriidae, dan Psolidae (Bangsa Dendrochirotidae); Synaptidae dan Chiridotidae (Bangsa Apodida); Molpadiidae dan Caudinidae (Bangsa Molpadida) (Aziz, 1995).

Secara garis besar klasifikasi dari teripang yang memiliki nilai ekonomis penting adalah sebagai berikut: (Arnold & Birtles, 1989; Kamarudin dkk. 2010)

Kerajaan : Animalia
 Filum : Echinodermata
 Kelas : Holothuroidea
 Bangsa : Aspidochirotida
 Suku : 1. Holothuriidae
 Marga : *Holothuria*
 Bohadshia
 Actinopyga
 2. Stichopodidae
 Marga : *Stichopus*
 Thelenota

2.1.2 Habitat dan penyebaran teripang

Habitat teripang adalah ekosistem terumbu karang dan padang lamun. Teripang umumnya ditemukan pada perairan laut dangkal, tetapi dapat juga ditemukan hingga kedalaman 10.000 meter (Purwati, 2002). Kondisi perairan yang ideal bagi pertumbuhan dan kehidupan teripang adalah perairan yang bersih dan jernih serta airnya relatif tenang dengan suhu 28 – 31 °C dan salinitas 30 – 34‰ (Aziz, 1997; Darsono, 2003). Umumnya masing-masing jenis memiliki habitat yang spesifik.

Sumber utama makanan teripang di alam yaitu kandungan zat organik dalam lumpur, detritus (sisa pembusukan bahan organik), dan plankton. Jenis makanan lain adalah organisme-organisme kecil, protozoa, alga filamen, rumput laut, dan potongan-potongan kecil hewan maupun tumbuhan laut serta partikel – partikel pasir (Darsono, 2007).

Penyebaran teripang di Indonesia sangat luas. Daerah penyebaran tersebut meliputi, perairan pantai Madura, Jawa Timur, Bali, Sumba, Lombok, Aceh, Bengkulu, Bangka, Riau dan sekitarnya, Belitung, Kalimantan, Sulawesi, Maluku, Timor, dan Kepulauan Seribu (Jakarta) (Martoyo dkk., 2006). Di beberapa tempat, antara lain di La Ende, Barangka, Sulawesi, bahkan telah dilakukan budidaya pembesaran teripang.

2.1.3 Kandungan kimia dan manfaat teripang

Teripang merupakan komoditi perikanan yang memiliki nilai komersil yang tinggi sehingga diperdagangkan secara internasional. Teripang disukai karena merupakan salah satu pangan fungsional yang dipercaya dalam penyembuhan suatu penyakit (*curative*) (Purwati, 2002). Kandungan nutrisi teripang basah, terdiri dari 44 – 55% protein, 3 – 5% karbohidrat, dan 1,5% lemak. Teripang kering mempunyai kandungan nutrisi yang terdiri atas protein (82%), lemak (1,7%), abu (8,6%), karbohidrat (4,8%), vitamin A (455 µg), dan vitamin B (thiamine 0,04%, riboflavin 0,07%, dan niacin 0,4%). Total kalori dari 100 g teripang kering adalah sebesar 385 cal. Kadar protein yang cukup besar memberikan nilai gizi yang baik. Kandungan lemaknya mengandung asam lemak

tidak jenuh yang juga sangat diperlukan bagi kesehatan jantung dan otak (Fredalina *et al.*, 1999).

Teripang diketahui bermanfaat sebagai bahan baku obat karena banyak mengandung senyawa bioaktif. Beberapa senyawa yang telah berhasil diekstrak adalah saponin, triterpen glikosida, *chondroitin sulphate*, *neuritogenic gangliosides*, *12-methyltetradecanoic acid* (12-MTA), dan lektin (Matranga, 2005; Mayer & Gustafson, 2008). Senyawa triterpen glikosida merupakan senyawa metabolit yang dominan dihasilkan oleh teripang. Salah satu triterpen glikosida pada teripang yang dikenal adalah holothurin. Menurut Zhang *et al.* (2006), senyawa triterpen glikosida memiliki pengaruh biologi seperti anti jamur, sitotoksik melawan sel tumor, hemolitik, dan aktivitas sistem kekebalan tubuh. Studi di Cina mengungkapkan bahwa senyawa saponin pada teripang mempunyai suatu struktur yang serupa dengan komponen ginseng yang aktif yang menunjukkan adanya aktivitas anti kanker.

Selain berpotensi sebagai anti kanker dan tumor, senyawa bioaktif pada teripang juga digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur (Kumar *et al.*, 2007). Fredalina *et al.* (1999) menyatakan bahwa selain mengandung anti bakteri, teripang juga mengandung berbagai asam lemak tak jenuh seperti linoleat, oleat, eikosa pentaenoat (EPA) dan docosaheksaenoat (DHA). Beberapa hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Kustiariyah (2006) menunjukkan bahwa ekstraksi teripang mengandung senyawa steroid. Senyawa steroid tersebut mempunyai aktivitas biologis sebagai proadisiak.

Ekstrak teripang juga dapat berperan dalam melawan gangguan akibat radikal bebas, baik dari hasil metabolisme maupun faktor luar seperti polusi dan radiasi (Hawa *et al.*, 1999). Aktivitas antioksidan ekstrak teripang disebabkan oleh senyawa flavonoid yang terkandung di dalamnya (Mamelona *et al.*, 2007). Aktivitas antioksidan tersebut dapat membantu mengurangi kerusakan sel dan jaringan tubuh (Aminin, 2001).

Komponen-komponen lain yang dikandung teripang adalah asam amino esensial, kolagen dan vitamin E, serta zat-zat mineral. Kandungan asam lemak seperti EPA dan DHA berperan penting sebagai agen penyembuh luka dan antitrombotik yaitu untuk mengurangi pembekuan darah di dalam pembuluh

darah. Hal tersebut dapat membantu mengurangi resiko penyakit stroke dan jantung. Komponen asam amino, kolagen dan vitamin E dapat membantu memperlambat degenerasi sel serta memperlambat proses penuaan (Rodrigues, 2000).

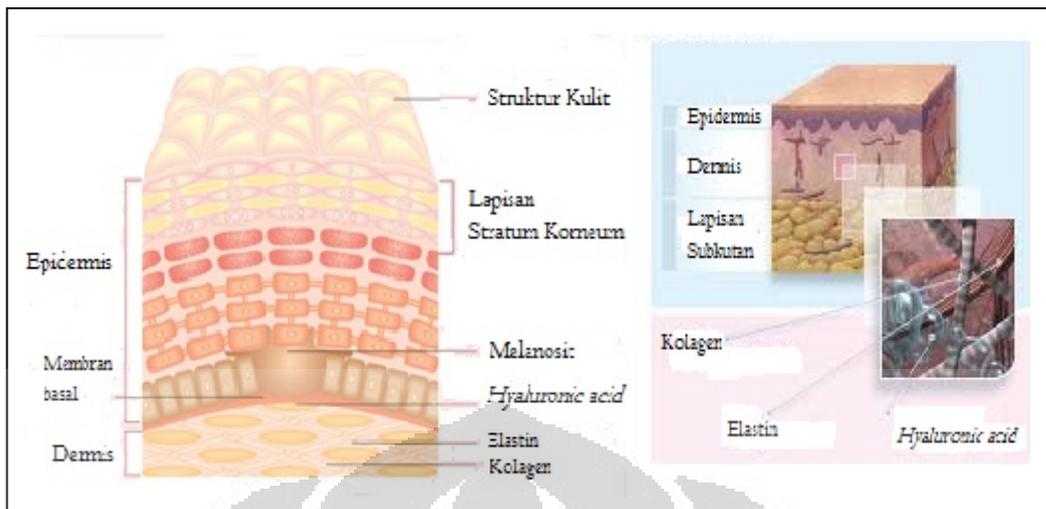
Salah satu jenis teripang yang banyak diteliti mengenai manfaat dari kandungan nutrisi dan kandungan kimia lainnya adalah teripang dari marga *Stichopus*. Teripang tersebut umumnya memiliki dinding tubuh yang tebal. Teripang *Stichopus* tidak mengeluarkan benang-benang lengket sebagai mekanisme pertahanan dirinya, tetapi teripang tersebut akan menjadi lemas, kemudian mencair dan akhirnya akan hancur apabila dibawa keluar dari air laut (Hoover, 1998).

Tubuh teripang *Stichopus japonicus* banyak mengandung asam mukopolisakarida yang bermanfaat untuk penyembuhan penyakit ginjal, anemia, diabetes, tuberkulosis, antitumor, antiinflamasi, pencegahan penuaan jaringan tubuh, dan mencegah arteriosklerosis. Ekstrak murninya cenderung menghasilkan holotoksin yang efeknya sama dengan antimisin dosis 6,25 – 25 µg/ml (Kasai, 2003). Beberapa senyawa bioaktif yang dikandung teripang *Stichopus japonicus* antara lain enzim arginin kinase dan fucan sulfat yang berfungsi sebagai penghambat osteoklastogenesis (Kariya *et al.*, 2004).

Sebagian besar dinding tubuh teripang *Stichopus japonicus* tersusun dari kolagen (Saito *et al.*, 2002) dan telah diidentifikasi sebagai kolagen tipe I (Cui *et al.*, 2007). Kolagen tipe I banyak terdapat di kulit manusia sehingga kolagen dari teripang tersebut dapat dijadikan sebagai produk kosmetik untuk menjaga kelembaban dan elastisitas kulit.

2.2 Kolagen

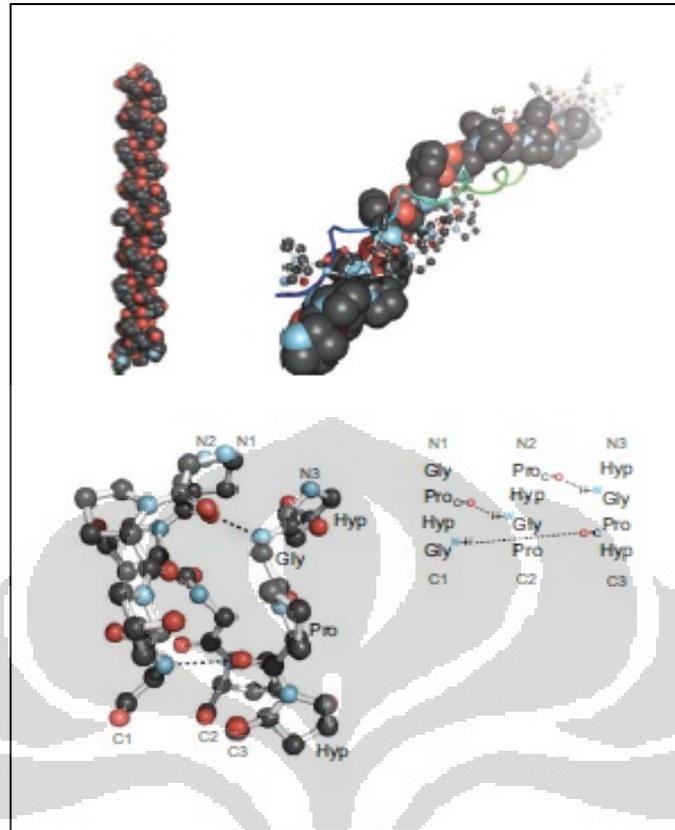
Kolagen adalah protein serabut yang memberikan kekuatan dan fleksibilitas pada jaringan dan tulang serta memegang peranan penting bagi jaringan lainnya, termasuk kulit dan tendon (Gambar 2.3). Sekitar 30% dari tulang disusun oleh komponen-komponen organik dan 90 – 95% diantaranya adalah kolagen, sisanya adalah protein bukan kolagen (Shoulders & Raines, 2009).



[sumber: Anonim, 2011, telah diolah kembali]

Gambar 2.3. Kolagen pada kulit

Kolagen merupakan protein utama yang menyusun komponen matrik ekstraseluler dan merupakan protein yang paling banyak ditemukan di dalam tubuh manusia. Kolagen tersusun atas *triple helix* dari tiga rantai α polipeptida (Gambar 2.4). Setiap rantai protein dari *triple helix* kolagen dengan urutan XaaYaaGly. Glisin (Gly) selalu menempati posisi ketiga dan Xaa serta Yaa dapat berupa semua jenis asam amino. Umumnya, posisi Xaa dan Yaa masing-masing ditempati oleh asam amino prolin (Pro, 28 %) dan hidroksiprolin (Hyp, 38 %). ProHypGly merupakan rantai protein yang paling sering muncul pada kolagen (10,5 %) (Shoulders & Raines, 2009). Kolagen mengandung dua jenis turunan asam amino yang tidak langsung dimasukkan selama proses translasi. Turunan asam amino tersebut dapat berupa hidroksiprolin (turunan dari proline) atau hidrosilisin (turunan dari lisin). Kedua jenis turunan asam amino tersebut ditemukan pada tempat yang spesifik yang terhubung dengan glisin dan dimodifikasi selama proses *post* translasi oleh enzim yang berbeda serta membutuhkan vitamin C sebagai kofaktor (Shoulders & Raines, 2009).



[Sumber: Shoulders & Raines, 2009.]

Gambar 2.4. Struktur *triple helix* kolagen

Terdapat 19 jenis kolagen dimana jenis I, III, dan V khusus untuk kulit. Kolagen tipe I, II, dan III merupakan kolagen interstisiil atau kolagen *fibriler* yang merupakan jumlah yang paling banyak. Kolagen tipe IV, V, VI merupakan bentuk non *fibriler* dan terdapat di jaringan interstisiil dan membran basalis. Kolagen tipe VII adalah sebuah homopolimer yang menyatu menjadi *bundle* dengan diameter dan lengkungan yang bervariasi. Kolagen tipe tersebut memiliki rantai lebih panjang 467 nm atau lebih, terletak pada lamina basalis dari *dermal-epidermal junction*. Kolagen disintesa terutama oleh fibroblas dan diatur oleh koordinasi dari aksi sejumlah β -1mRNA dengan kolagen α -1mRNA dan konsentrasi IL I sehingga akan merangsang produksi kolagen I oleh fibroblas (Shoulders & Raines, 2009).

Kolagen yang paling banyak dikenal adalah kolagen tipe I yang terdiri dari tiga rantai α polipeptida. Dua rantai α polipeptida disebut tipe 1 dan rantai α polipeptida yang ketiga adalah tipe 2 ($\alpha 1[I]_2\alpha 2[I]$). Kolagen tipe I paling banyak

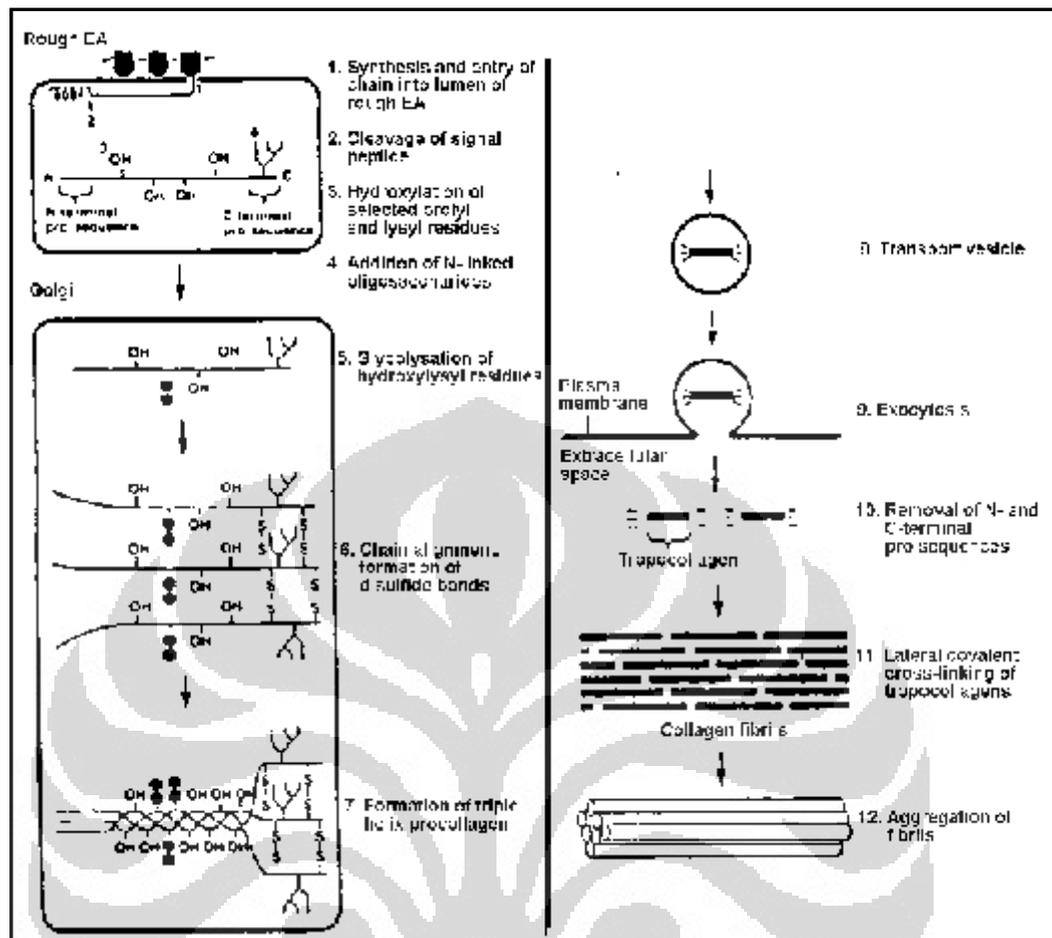
Universitas Indonesia

terdapat pada bagian tubuh yang lunak seperti kulit dan tendon maupun bagian tubuh yang keras seperti tulang dan gigi serta jaringan penghubung. Kolagen tipe II yang terdiri dari tiga rantai α polipeptida 1 ($\alpha 1[\text{II}]_3$) adalah kolagen yang banyak terdapat pada tulang kartilago. Kolagen tipe III yang juga terdiri dari tiga rantai α polipeptida 1 ($\alpha 1[\text{III}]_3$) banyak terdapat pada pembuluh darah (Shoulders & Raines, 2009). Keberadaan kolagen dalam tubuh biasanya menempel pada otot di bawah kulit dan bagian persendian tulang.

2.2.1 Biosintesis kolagen

Biosintesis kolagen (Gambar 2.5) secara berurutan meliputi kombinasi dari asam amino ke bentuk rantai yang bergabung membentuk molekul, dan kemudian bergabung untuk membentuk serat-serat yang menyatu ke dalam *bundle*. Fibroblas merupakan tipe sel utama untuk sintesis kolagen. Tahap pertama sintesis berada pada intraseluler, untuk menghasilkan molekul prokolagen dimana dalam keadaan aktif berada di ruang ekstraseluler. Sintesis di intraseluler dimulai pada nukleus dimana gen-gen diaktifkan dan terjadi pembentukan mRNA. Selanjutnya, mRNA masuk ke dalam sitoplasma dan diterjemahkan pada ribosom di retikulum endoplasma dan secara simultan terjadi sintesis rantai polipeptida *triple* (Banks, 1991; Shoulders & Raines, 2009).

Prokolagen selanjutnya meninggalkan sel, kemudian beberapa asam amino membelah secara enzimatik membentuk tropokolagen. Tropokolagen inilah yang secara definitif disebut molekul kolagen. Molekul-molekul ini secara spontan bersatu ke dalam serat-serat yang selanjutnya mengalami *cross-linking* ke bentuk yang lebih tebal atau *bundle* (Kadler *et al.*, 1996; Shoulders & Raines, 2009). Kolagen disintesis oleh fibroblas dan juga oleh *chondroblast*, *osteoblast*, otot polos, sel endotel, dan sel epitel. Prolyl hydroxylase merupakan salah satu enzim yang membatasi sintesa kolagen. Substrat dan kofaktor seperti besi, α -ketoglutarat, asam askorbat, dan oksigen juga merupakan faktor yang penting yang menyertai proses ini (Kadler *et al.*, 1996).



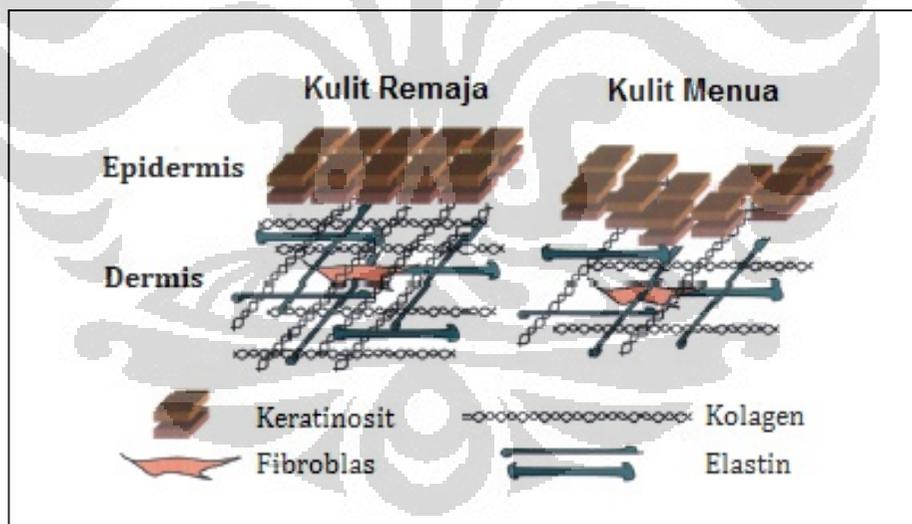
[Sumber: Banks, 1991.]

Gambar 2.5. Skema biosintesis kolagen.

Biosintesis kolagen terjadi terus-menerus untuk memperbaiki dan mengganti jaringan kolagen yang rusak atau membangun struktur selular baru. Daur ulang sel yang sudah tua atau rusak adalah suatu proses alami yang sehat. Seiring dengan pertambahan usia, kadar produksi kolagen semakin menurun (degradasi). Kapan mulai dan berhentinya sintesis kolagen menjadi sesuatu hal yang masih secara aktif diteliti. Beberapa sinyal yang mempengaruhi sintesis kolagen diantaranya; faktor pertumbuhan, nutrisi, tekanan parsial oksigen dan konsentrasi laktat (Shoulders & Raines, 2009).

2.2.2 Kolagen dan kecantikan

Dalam bidang farmasi, kolagen banyak digunakan sebagai bahan baku untuk sediaan kosmetik karena memiliki beberapa manfaat untuk kulit. Kolagen dapat menstimulasi pertumbuhan sel-sel kulit baru dan memberikan perlindungan ke kulit. Kolagen sangat efektif untuk memperbaiki struktur kulit apabila terjadi gangguan seperti luka parut. Kolagen juga dapat merapatkan sel-sel dan mempercepat pembentukan sel-sel baru. Berdasarkan fungsi tersebut, kolagen secara efektif dapat mencegah pengumpulan pigmen dan racun, membantu mencerahkan kulit dan mengurangi pigmentasi. Kolagen berperan penting dalam memelihara kecantikan dan keremajaan kulit. Gejala-gejala penuaan semakin terlihat seiring dengan penambahan usia. Tingkat kolagen berkurang sekitar 1,5% setiap tahun setelah usia 25 tahun dan pada usia 40 tahun tubuh akan berhenti memproduksi kolagen sehingga kulit menjadi kering dan kusam (Gambar 2.6) (Daniel *et al.*, 2002).



[Sumber: Daniel dkk., 2002, telah diolah kembali.]

Gambar 2.6. Perbandingan kulit remaja dengan kulit menua

Beberapa cara dapat dilakukan untuk mempertahankan dan melindungi kolagen pada kulit. Paparan ultraviolet (UVA dan UVB) radiasi yang berasal dari matahari adalah penyumbang paling produktif terhadap penuaan kulit dini, terhitung sekitar 90% terkait dengan tanda-tanda penuaan kulit. Oleh karena itu,

untuk menjaga dan melindungi kolagen perlu menghindari radiasi sinar matahari serta mencegah kerusakan kolagen akibat radikal bebas. Penggunaan tabir surya dapat menjadi solusi untuk melindungi kolagen agar tetap sehat. Langkah preventif dalam melindungi kolagen adalah dengan suplemen antioksidan. Antioksidan akan melawan radikal bebas dari sinar UV, ozon, polusi, asap rokok, dan proses metabolisme internal, mereka mencegah degradasi serat kolagen yang ada dan melindungi fungsi dari sel-sel fibroblast (Fisher *et al.*, 1997).

Proses penuaan dini dapat dicegah dengan cara meningkatkan produksi kolagen pada tubuh. Beberapa cara dapat dilakukan agar tubuh mampu meningkatkan produksi kolagen. Vitamin C merupakan kofaktor yang diperlukan dalam sintesis kolagen. Oleh karena itu, asupan vitamin C yang cukup akan meningkatkan produksi kolagen. Cara lain untuk membangun atau merangsang pembentukan sintesis kolagen adalah dengan menggunakan exfoliants (proses memisahkan dengan kulit mati), seperti asam α -hidroksi dan asam polihidroksi. Penggunaan peptida juga dapat digunakan untuk meningkatkan produksi kolagen. Dari hasil riset ditemukan bahwa peptida mampu berfungsi sebagai pendorong atau perangsang fibroblas yang secara alami melakukan sintesis kolagen, sehingga produksi kolagen meningkat. Beberapa perusahaan perawatan kulit telah memasukkan fragmen peptida ke dalam produk-produk pengobatan mereka (Fisher *et al.*, 1997; Daniel *et al.*, 2002).

Pemakaian kolagen akan menjadikan kulit tampak lebih halus, garis-garis halus dan kerutan berkurang. Rambut dan kuku menjadi lebih kuat hingga 36%. Jika dikonsumsi secara teratur, kolagen dapat melindungi, membangun, menambah massa otot dan mendorong tubuh mengeluarkan lemak (Fisher *et al.*, 1997).

Kolagen pada saat ini banyak digunakan sebagai bahan pelembab kulit pada produk kecantikan. Produk yang mengandung kolagen bekerja untuk melembabkan kulit yang kering. Pelembab bekerja dengan cara memperbaiki *barrier* kulit, mempertahankan dan meningkatkan kadar air, mengurangi *transepidermal water loss* (TEWL), memulihkan kemampuan *lipid barrier* untuk menarik, menahan serta mendistribusikan air, dan menjaga integritas kulit.

Pelembab melakukan fungsi-fungsi tersebut dengan bertindak sebagai emolien, humektan dan oklusif (Maddin, 2005).

Kolagen pada produk pelembab bersifat oklusif. Kolagen merupakan molekul protein dengan ukuran yang besar sehingga terlalu besar untuk menembus bagian dermis. Penambahan kolagen dapat memberikan bantuan sementara pada kulit kering dengan mengisi penyimpangan dalam stratum korneum. Kolagen dapat mengurangi TEWL di stratum korneum dengan cara menciptakan penghalang hidrofobik di bagian atas kulit dan berkontribusi terhadap matriks antara korneosit (Maddin, 2005).

2.2.3 Ekstraksi kolagen kasar

Kolagen telah banyak diproduksi dari hewan darat seperti sapi, ayam dan babi, tetapi industri pada saat ini telah mencari alternatif lain seperti dari kulit, tulang, dan sisik ikan. Hal ini karena semakin tingginya proteksi konsumen terhadap kesehatan yang takut akan terjangkitnya penyakit sapi gila (*Mad Cow Disease*) dan penyakit kaki dan mulut (*Foot-and-Mouth Disease*) bila menggunakan bahan sapi serta penyakit flu burung bila menggunakan unggas. Bahan baku dari hewan laut lebih aman karena bebas dari penyakit di atas (Masahiro *et al.* 2004). Salah satu alternatif bahan baku yang dapat digunakan adalah kolagen yang berasal dari teripang.

Kolagen pada invertebrata, termasuk teripang terdiri dari kolagen tipe I dan V. Cui *et al.* (2007) menyatakan bahwa kolagen dari teripang *Stichopus japonicus* tersusun dari 3 rantai α polipeptida tipe 1 ($\alpha 1[I]_3$), dimana rantai $\alpha 1$ menyerupai rantai $\alpha 1$ pada kolagen tipe I vertebrata. Hasil karakterisasi asam amino yang dilakukan oleh Trotter *et al.* (1995) dan Cui *et al.* (2007) menunjukkan bahwa tubuh teripang mengandung glisin, prolin, hidrosilisin dan hidroksiprolin yang tinggi sehingga kolagen merupakan komponen utama dari tubuh teripang.

Kolagen teripang dapat diekstraksi dengan beberapa metode. Metode klasik yang umum digunakan untuk memperoleh kolagen dari Echinodermata adalah dengan menggunakan β -mercapethanol (Matsumura, 1973;

Omura *et al.*, 1996; Robinson, 1997). Metode tersebut juga digunakan oleh Saito *et al.* (2002) dengan kombinasi larutan NaOH 0,1 M dan pepsin untuk mengekstraksi kolagen dari teripang *Stichopus japonicus*. Metode yang berbeda dilakukan oleh Cui *et al.* (2007) dimana pada penelitian yang dilakukan tidak menggunakan β -mercapethanol. Penelitian tersebut dilakukan dengan merendam teripang *Stichopus japonicus* menggunakan pelarut air, EDTA, dan air secara berurutan. Hal tersebut dilakukan agar integritas jaringan tetap terjaga.

Proses ekstraksi kolagen berdasarkan metode di atas dilakukan untuk memperoleh ekstrak kolagen kasar. Beberapa peneliti melakukan hingga proses purifikasi untuk memperoleh kolagen murni. Proses purifikasi dilakukan dengan beberapa metode. Saito *et al.* (2002) melakukan purifikasi kolagen dari teripang dengan cara menambahkan 1.000 mL larutan NaOH (0,1 M) pada 1 gram ekstrak kolagen kasar yang kemudian disentrifugasi dengan kecepatan tinggi untuk memperoleh kolagen murni. Cui *et al.* (2007) melakukan purifikasi kolagen dari teripang dengan cara menambahkan larutan NaOH (0,1 M) pada ekstrak kolagen kasar dengan perbandingan 1:20 dan dilanjutkan dengan penambahan asam asetat (0,5 M) untuk memperoleh *pepsin-solubilized collagen* (PSC).

2.3 Sediaan Krim Pelembab

Menurut Farmakope Indonesia IV, krim merupakan sediaan setengah padat yang mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Istilah ini secara tradisional telah digunakan untuk sediaan setengah padat yang mempunyai konsistensi relatif cair yang diformulasi sebagai emulsi air dalam minyak (A/M) atau minyak dalam air (M/A) (Depkes, 1995). Pada saat ini, batasan tersebut lebih diarahkan untuk produk yang terdiri dari emulsi minyak dalam air atau dispersi mikrokristal asam-asam lemak atau alkohol berantai panjang dalam air, yang dapat dicuci dengan air atau lebih ditujukan untuk penggunaan kosmetika dan estetika (Depkes, 1995).

Sediaan krim memiliki fungsi sebagai bahan pembawa substansi obat untuk pengobatan kulit, sebagai bahan pelumas untuk kulit, dan sebagai pelindung untuk kulit yaitu mencegah kontak permukaan kulit dengan larutan berair dan

rangsangan kulit (Anief, 2000). Menurut Sapnianti dkk. (2002), krim kulit (*skin cream*) adalah perantara bagi komponen yang berfungsi untuk mempertahankan kelembaban kulit, melembutkan kulit, mencegah kehilangan air, membersihkan kulit dan mempertahankan bahan aktif pada kulit.

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. Basis krim dengan jenis *vanishing cream* lebih banyak disukai pada penggunaan sehari-hari karena memiliki keuntungan yaitu memberikan efek dingin pada kulit, tidak berminyak serta memiliki kemampuan penyebaran yang baik. *Vanishing cream* mengandung air, asam stearat dan juga humektan (Voight, 1995). Bahan dasar sediaan krim memiliki berbagai fungsi antara lain sebagai *solvent* (pelarut), *emulsier* (pencampur), pengawet, *adhesive* (pelekat), pengencang, *absorbent* (penyerap) dan desinfektan.

Krim pelembab merupakan jenis krim yang digunakan untuk mencegah terjadinya penguapan air yang berlebihan dari kulit. Mekanisme dimana kulit mengalami kekeringan belum jelas dipahami. Beberapa orang dapat mengalami kulit kering pada waktu dan berbagai kondisi lingkungan tertentu, tetapi pada beberapa orang lainnya jarang mengalami gejala yang sama pada berbagai kondisi lingkungan. Kekeringan pada umumnya terlihat pada keadaan udara dingin dan ketika kelembaban relatif rendah (Navarre, 1975).

Secara alamiah kulit memiliki lapisan lemak tipis di permukaannya, yang antara lain terdiri atas produksi kelenjar minyak kulit. Pembentukan lapisan lemak tersebut terutama untuk melindungi kulit dari kelebihan penguapan air yang akan menyebabkan dehidrasi kulit. Selain itu, kulit juga dilindungi oleh bahan-bahan yang bisa menyerap air seperti asam amino, purin, pentosa, choline, dan turunan asam fosfat yang jumlah totalnya 20% dari berat lapisan stratum korneum (Tranggono & Latifah, 2007). Kandungan air dalam sel-sel kulit normal adalah 10 – 20 %, bila terjadi penguapan air berlebihan maka nilai kandungan air tersebut berkurang. Kriteria kulit normal atau lembab berdasarkan pembacaan alat Corneometer, yaitu kulit dengan kadar air kulit lebih dari 50 unit. Beberapa cara dapat dilakukan untuk mencegah penguapan air dari sel kulit, antara lain menutup

permukaan kulit dengan minyak (oklusif), memberikan humektan (zat yang mengikat air dari udara dan dari dalam alam kulit), membentuk sawar terhadap kehilangan air dengan memberikan zat hidrofilik yang menyerap air, serta memberikan tabir surya agar terhindar dari pengaruhnya yang mengeringkan kulit (Wasitaatmadja, 1997).

Krim pelembab umumnya terdiri dari berbagai minyak nabati, hewan maupun sintetis yang dapat membentuk lemak permukaan kulit buatan untuk melenturkan lapisan kulit yang kering dan kasar, dan mengurangi penguapan air dari sel kulit namun tidak dapat mengganti seluruh fungsi dan kegunaan dari minyak kulit semula (Wasitaatmadja, 1997). Krim pelembab dibedakan menjadi dua macam, yaitu krim pelembab yang berdasarkan minyak dan berdasarkan gliserol atau humektan sejenis. Krim pelembab berdasarkan lemak sering disebut *moisturizer* atau *moisturizing cream*. Krim tersebut membentuk lapisan lemak tipis di permukaan kulit, sedikit banyak mencegah penguapan air kulit, serta menyebabkan kulit menjadi lembab dan lembut. Krim pelembab berdasarkan gliserol atau humektan sejenis akan mengering di permukaan kulit, membentuk lapisan yang bersifat higroskopis, yang menyerap uap air dari udara dan mempertahankannya di permukaan kulit. Krim tersebut membuat kulit nampak lebih halus dan mencegah dehidrasi lapisan stratum corneum kulit (Tranggono & Latifah, 2007).

2.4 Formulasi Sediaan Krim

Dalam formulasi suatu sediaan krim yang baik perlu diperhatikan kesesuaian sifat bahan-bahan yang dipilih, yaitu kesesuaian sifat antara bahan aktif dengan bahan pembawanya (basis). Basis krim terdiri dari fase minyak dan fase air yang dicampur dengan penambahan bahan pengemulsi (*emulgator*). Selain itu sering ditambahkan bahan-bahan lain seperti pengawet, pengkelat, pengental, pewarna, pelembab, dan pewangi untuk menunjang dan menghasilkan suatu karakteristik formula krim yang diinginkan. Bahan-bahan yang digunakan dalam formula krim pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

2.4.1. Asam stearat

Asam stearat ($C_{18}H_{36}O_2$) (Gambar 2.7) merupakan asam lemak jenuh yang secara luas digunakan untuk formulasi oral dan topikal pada sediaan farmasi. Pada sediaan topikal, asam stearat digunakan sebagai bahan pengemulsi dan agen pelarut. Asam stearat memiliki titik lebur $69 - 70\text{ }^\circ\text{C}$. Bahan ini mudah larut dalam benzena, kloroform, eter dan etanol 95%, serta tidak larut dalam air. Asam stearat tidak dapat bercampur dengan hidroksida logam dan agen pengoksidasi. Konsentrasi yang umum digunakan dalam sediaan krim adalah $1 - 20\%$ (Kibbe, 2000; Rowe *et al*, 2009).

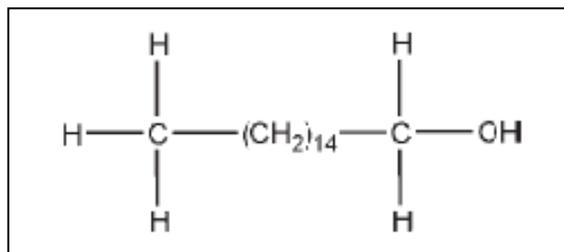


[Sumber: Rowe *et al*, 2009.]

Gambar 2.7. Struktur kimia asam stearat

2.4.2. Setil alkohol

Setil alkohol ($C_{16}H_{34}O$) (Gambar 2.8) adalah alkohol lemak yang berbentuk serpihan putih licin, granul, atau kubus yang mengandung gugusan kelompok hidroksil (Depkes, 1995). Setil alkohol banyak digunakan sebagai bahan pengemulsi dan bahan pengeras dalam sediaan krim. Setil alkohol memiliki titik leleh $45 - 52\text{ }^\circ\text{C}$. Bahan ini sangat mudah larut dalam etanol 95% dan eter. Kelarutannya akan meningkat bila suhunya dinaikan. Setil alkohol tidak larut dalam air. Konsentrasi umum yang digunakan sebagai bahan pengeras adalah $2 - 10\%$ dan sebagai bahan pengemulsi maupun emolien adalah $2 - 5\%$. Semakin besar konsentrasi setil alkohol yang digunakan dalam formulasi, emulsi yang terbentuk akan semakin padat (Kibbe, 2000; Rowe *et al*, 2009).

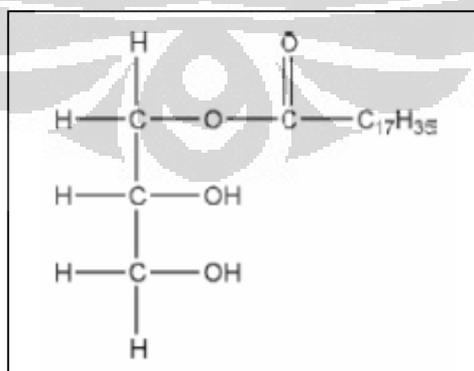


[Sumber: Rowe *et al*, 2009.]

Gambar 2.8. Struktur kimia setil alkohol.

2.4.3. Gliseril monostearat

Gliseril monostearat ($C_{21}H_{42}O_4$) (Gambar 2.9) adalah ester gliserol dengan asam lemak (asam stearat) yang banyak digunakan dalam industri kosmetik. Gliseril monostearat merupakan surfaktan nonionik yang dapat digunakan sebagai bahan pengemulsi. Selain itu, bahan ini juga dapat digunakan sebagai bahan emolien, penstabil, pelarut, dan sebagai *plasticizer* dalam produk makanan, farmasetika dan kosmetik. Gliseril monostearat memiliki titik leleh $55 - 60\text{ }^\circ\text{C}$. Bahan ini larut dalam etanol panas, eter, kloroform, dan aseton panas serta tidak larut dalam air. Gliserol monostearat umumnya tidak menyebabkan toksik dan iritasi. Bahan ini tidak dapat bercampur dengan zat-zat yang bersifat asam. Konsentrasi umum yang digunakan sebagai bahan pengemulsi tunggal sebesar $5 - 20\%$ dari basis krim (Kibbe, 2000; Rowe *et al*, 2009).

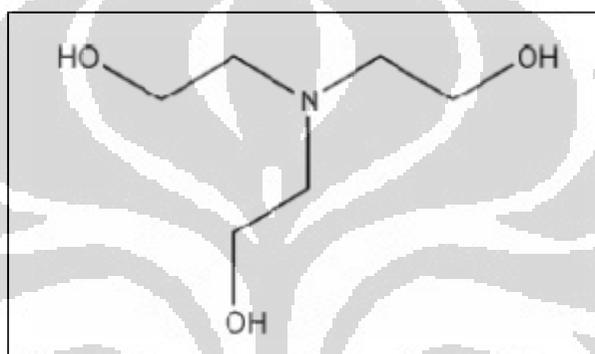


[Sumber: Rowe *et al*, 2009.]

Gambar 2.9. Struktur kimia gliseril monostearat.

2.4.4. Trietanolamin (TEA)

Trietanolamin ($C_6H_{15}NO_3$) (Gambar 2.10) merupakan senyawa organik yang terdiri dari sebuah amina tersier dan triol. Trietanolamin digunakan secara luas dalam sediaan topikal sebagai bahan pengemulsi anionik. Trietanolamin merupakan cairan kental bening, bersifat higroskopis dan memiliki titik lebur 20 – 21 °C (Depkes, 1995). Bahan ini mudah larut dalam air, metanol, dan aseton. Konsentrasi umum yang digunakan sebagai bahan pengemulsi adalah sebesar 2 – 4% (Kibbe, 2000; Rowe *et al*, 2009).

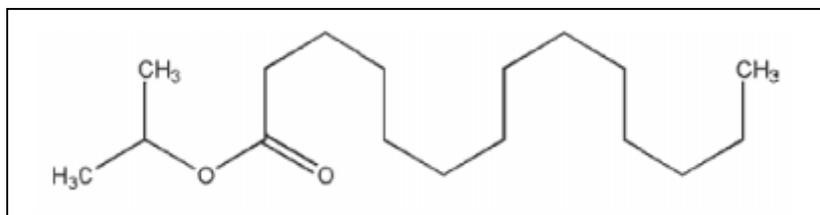


[Sumber: Rowe *et al*, 2009.]

Gambar 2.10. Struktur kimia trietanolamin.

2.4.5. Isopropil miristat

Isopropil miristat ($C_{17}H_{34}O_2$) (Gambar 2.11) merupakan senyawa yang terdiri dari ester isopropil alkohol dan asam lemak jenuh berbobot molekul tinggi, terutama asam miristat (Depkes, 1995). Isopropil miristat merupakan bahan emolien, yaitu bahan yang dapat memberikan rasa halus dan nyaman ketika dipakai pada kulit. Bahan ini juga dapat mengurangi penguapan air dari kulit dan meningkatkan penetrasi kulit. Bahan ini mudah bercampur dengan aseton, kloroform, etanol, etil asetat, lemak, toluen, dan malam. Isopropil miristat tidak larut dalam gliserin, propilen glikol, dan air. Titik bekunya adalah 3 °C dan titik didihnya adalah 140,2 °C pada tekanan 2 mmHg. Konsentrasi yang biasa digunakan dalam sediaan krim adalah 1 – 10% (Kibbe, 2000; Rowe *et al*, 2009).

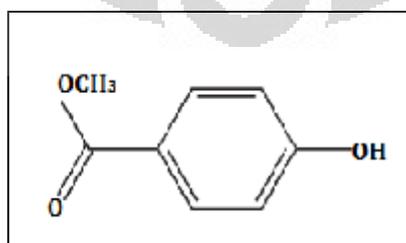


[Sumber: Rowe *et al*, 2009.]

Gambar 2.11. Struktur kimia isopropil miristat.

2.4.6. Metilparaben (Nipagin)

Metilparaben (C₈H₈O₃) (Gambar 2.12) secara luas digunakan sebagai pengawet antimikroba dalam sediaan kosmetik, produk makanan dan formulasi obat-obatan. Bahan ini dapat digunakan secara tunggal, kombinasi dengan senyawa paraben lain, ataupun dengan antimikroba lain (Kibbe, 2000). Metilparaben berbentuk serbuk hablur putih, tidak berbau atau berbau khas lemah, memberikan sedikit rasa terbakar (Depkes, 1995). Bahan ini mudah larut dalam etanol (1:2), eter (1:10), propilen glikol (1:5), dan air panas dengan suhu 80 °C (1:40) (Rowe *et al*, 2009). Metilparaben sukar larut dalam air, benzen dan karbon tetraklorida (Depkes, 1995). Metilparaben menunjukkan aktivitas antimikroba antara pH 4 – 8. Aktivitas antimikroba metilparaben dan senyawa paraben lain diperkirakan menurun dengan adanya surfaktan nonionik, akan tetapi penambahan propilen glikol (±10%) akan mencegah interaksi antara metilparaben dengan surfaktan nonionik (Wade & Weller, 1994). Konsentrasi metilparaben yang biasa digunakan pada sediaan topikal adalah 0,02 – 0,3% (Kibbe, 2000).

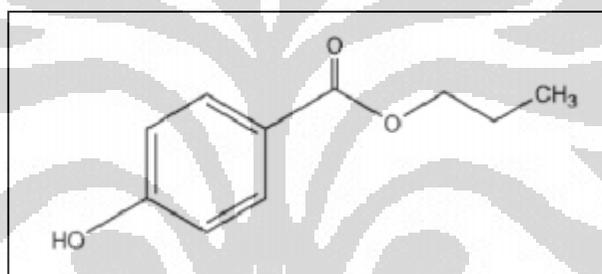


[Sumber: Rowe *et al*, 2009, telah diolah kembali.]

Gambar 2.12. Struktur kimia metilparaben.

2.4.7. Propilparaben (Nipasol)

Propilparaben ($C_{10}H_{12}O_3$) (Gambar 2.13) secara luas digunakan sebagai pengawet antimikroba dalam sediaan kosmetik, produk makanan dan formulasi obat-obatan. Bahan ini dapat digunakan secara tunggal, kombinasi dengan senyawa paraben lain, ataupun dengan antimikroba lain (Kibbe, 2000). Propilparaben berbentuk serbuk putih atau hablur kecil, tidak berwarna (Depkes, 1995). Bahan ini sangat mudah larut dalam aseton dan eter, mudah larut dalam etanol (1:1.1), dan propilen glikol (1:3.9). Propilparaben sangat sukar larut dalam air bersuhu $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ (1:4.350) dan $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ (1:225) (Rowe *et al*, 2009). Propilparaben menunjukkan aktivitas antimikroba antara pH 4 – 8. Konsentrasi propilparaben yang biasa digunakan pada sediaan topikal adalah 0,01 – 0,6% (Kibbe, 2000).



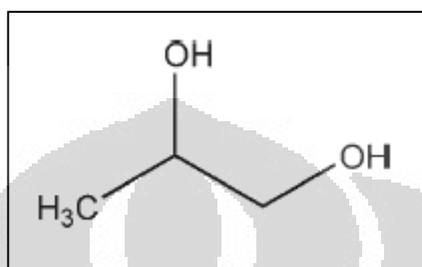
[Sumber: Rowe *et al*, 2009.]

Gambar 2.13. Struktur kimia propilparaben.

2.4.8. Propilen glikol

Propilen glikol ($C_3H_8O_2$) (Gambar 2.14) digunakan secara umum sebagai bahan pengawet, disinfektan, bahan humektan, pelarut, dan penstabil. Pada sediaan kosmetik dan industri makanan, propilen glikol digunakan sebagai pembawa untuk bahan emulsi (Kibbe, 2000). Propilen glikol berbentuk cairan kental, jernih, tidak berwarna, memiliki rasa khas, tidak berbau, dan menyerap air pada udara lembab (Depkes, 1995). Bahan ini dapat bercampur dengan aseton, kloroform, etanol (95%), gliserin dan air serta dapat larut dalam eter (1:6) dan beberapa minyak esensial. Propilen glikol tidak dapat bercampur dengan minyak lemak (Rowe *et al*, 2009). Propilen glikol digunakan sebagai humektan pada

sediaan topikal dengan konsentrasi hampir 15% dan sebagai solven atau kosolven dengan konsentrasi 5 – 80%. Selain itu, propilen glikol juga dapat digunakan sebagai bahan pengawet dengan konsentrasi 15 – 30% (Kibbe, 2000). Bahan ini merupakan bahan yang tidak toksik tetapi apabila penggunaannya melebihi batas maksimal akan menyebabkan iritasi (Rowe *et al*, 2009)

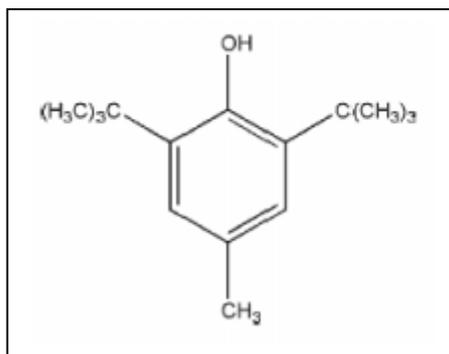


[Sumber: Rowe *et al*, 2009.]

Gambar 2.14. Struktur kimia propilen glikol.

2.4.9. Butilhidroksitoluen (BHT)

Butilhidroksitoluen ($C_{15}H_{24}O$) (Gambar 2.15) merupakan senyawa fenol yang digunakan sebagai antioksidan dalam kosmetik, makanan, dan farmasi. Bahan ini digunakan untuk memperlambat atau mencegah ketengikan karena oksidasi pada lemak dan minyak serta mencegah hilangnya aktivitas vitamin larut lemak (Wade & Weller, 1994). Butilhidroksitoluen berbentuk hablur padat berwarna putih, dan tidak berbau (Depkes, 1995). Bahan ini sangat mudah larut pada aseton, benzena, etanol (95%), eter, metanol, toluen, dan minyak lemak. Butilhidroksitoluen tidak larut dalam air, gliserin, propilen glikol, dan larutan alkali hidroksida (Kibbe, 2000). Konsentrasi BHT yang umum digunakan pada sediaan topikal adalah 0,0075 – 0,1% (Rowe *et al*, 2009).



[Sumber: Rowe *et al*, 2009.]

Gambar 2.15. Struktur kimia butilhidroksitoluen.

2.5 Evaluasi Fisik Sediaan Krim

Analisis yang dilakukan terhadap produk hasil penelitian bertujuan untuk mengetahui karakteristik produk yang dihasilkan. Analisis yang dilakukan meliputi pemeriksaan organoleptis, viskositas, konsistensi, dan pH.

2.5.1 Organoleptis

Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengamati apakah terjadi perubahan atau pemisahan emulsi, timbul bau atau tidak, dan perubahan warna (Djajadisastra, 2004).

2.5.2 Viskositas

Berdasarkan Hukum Stokes, kenaikan viskositas akan meningkatkan kestabilan sediaan. Namun, viskositas yang terlampau tinggi menyebabkan krim sulit diaplikasikan (Martin *et al.*, 1969).

2.5.3 Konsistensi

Konsistensi atau kepadatan adalah karakteristik fisik yang penting pada suatu sediaan semisolid. Pengukuran konsistensi untuk sediaan kosmetik seperti

krim menggunakan penetrometer bentuk corong. Semakin tinggi nilai konsistensi krim menunjukkan bahwa krim tersebut memiliki karakteristik penyebaran yang baik dimana jumlah partikel yang tersebar menjadi hampir sama rata. Nilai konsistensi krim yang baik adalah 360 1/10 mm (Djajadisastra, 2004).

2.5.4 Derajat keasaman (pH)

Kadar keasaman untuk produk kosmetik atau produk yang digunakan untuk pemakaian luar yang berhubungan langsung dengan kulit haruslah sesuai dengan pH *ballance* kulit. Hal ini dikarenakan jika produk kosmetika tersebut memiliki nilai pH yang sangat tinggi atau sangat rendah akan menyebabkan kulit teriritasi. Derajat keasaman (pH) normal kulit adalah 4,5 – 6,5. Wasitaatmadja (1997) menjelaskan bahwa produk kosmetika sebaiknya memiliki pH sekitar 5,5, sedangkan menurut SNI Nomor 16 – 4399 – 1996 pH produk krim yang disarankan berkisar antara 4,5 – 8,0.

2.6 Uji Stabilitas Sediaan Krim

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

Ketidakstabilan fisika dari suatu emulsi ditandai dengan adanya pemucatan warna atau munculnya perubahan warna, timbul bau, perubahan atau pemisahan fase, pecahnya emulsi, pengendapan suspensi atau *caking*, perubahan konsistensi, pembentukan kristal, terbentuknya gas dan perubhan fisik lainnya. Ketidakstabilan fisik suatu emulsi dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor yang mempengaruhi kestabilan kimia dari bahan pengemulsi (emulgator), *suspending agent*, antioksidan, pengawet, dan bahan aktif (Mitsui, 1997).

Indikator kerusakan krim dapat dilihat melalui beberapa parameter, antara lain *creaming*, flokulasi, koalesen (penggumpalan), dan inversi. *Creaming* merupakan proses pada emulsi dengan partikel yang kurang rapat cenderung ke atas permukaan sehingga terjadi pemisahan menjadi dua emulsi. Flokulasi merupakan penggabungan globul yang bergantung pada gaya tolak-menolak elektrostatis (*zeta potential*). Koalesen merupakan proses dimana tetesan dua fase internal mendekat dan berkombinasi membentuk partikel yang lebih besar. Inversi merupakan peristiwa dimana fase eksternal menjadi fase internal atau sebaliknya (Djajadisastra, 2004).

Nilai kestabilan suatu sediaan kosmetik dalam waktu yang singkat dapat diperoleh melalui uji stabilitas dipercepat. Pengujian ini dimaksudkan untuk mendapatkan informasi yang diinginkan dalam waktu sesingkat mungkin dengan cara menyimpan sampel pada kondisi yang dirancang untuk mempercepat terjadinya perubahan yang biasanya terjadi pada kondisi normal. Jika hasil pengujian suatu sediaan pada uji dipercepat selama 3 bulan diperoleh hasil yang stabil, hal tersebut menunjukkan bahwa sediaan stabil pada penyimpanan suhu kamar selama setahun (Djajadisastra, 2004).

2.6.1. Suhu yang dinaikkan (*Elevated Temperature*)

Menurut persamaan Arrhenius, setiap kenaikan suhu 10°C akan mempercepat reaksi 2 sampai 3 kalinya, tetapi cara ini agak terbatas karena pada kenyataannya suhu yang jauh di atas normal akan menyebabkan perubahan yang tidak pernah terjadi pada suhu normal (Djajadisastra, 2004).

2.6.2. Kelembaban yang dinaikkan (*Elevated Humidities*)

Uji ini biasanya digunakan untuk menguji kemasan produk. Jika terjadi perubahan pada produk dalam kemasan karena pengaruh kelembaban, maka hal ini menandakan bahwa kemasannya tidak memberikan perlindungan yang cukup terhadap atmosfer. Uji ini dilakukan dengan cara menyimpan sediaan pada kondisi yang ekstrim di dalam suatu lemari uji yang disebut *climatic chamber*,

obat dalam kemasan aslinya dipaparkan pada suhu 40 ± 2 °C dan kelembaban $75 \pm 5\%$ selama 3 bulan atau 6 bulan jika bahan aktif kurang stabil atau untuk produk yang masih terbatas datanya (Djajadisastra, 2004).

2.6.3. *Cycling test*

Uji ini digunakan sebagai simulasi adanya perubahan suhu setiap tahun bahkan setiap hari. Maka, uji ini dilakukan pada suhu dan kelembaban pada interval waktu tertentu sehingga produk dalam kemasan akan mengalami stres yang bervariasi daripada stres statis. *Cycling test* dilakukan dengan cara menyimpan sampel pada suhu 4°C selama 24 jam, lalu dipindahkan ke dalam oven yang bersuhu 40 ± 2 °C selama 24 jam (satu siklus). Uji dilakukan sebanyak 6 siklus kemudian diamati adanya pemisahan fase (Djajadisastra, 2004).

2.6.4. Uji mekanik

Uji ini dilakukan untuk mengetahui terjadinya pemisahan fase dari emulsi. Sampel disentrifugasi pada kecepatan 3.750 rpm selama 5 jam atau 5.000 – 10.000 rpm selama 30 menit. Hal ini dilakukan karena perlakuan tersebut sama besarnya dengan pengaruh gaya gravitasi terhadap penyimpanan krim selama setahun (Djajadisastra, 2004).

2.7. Uji Keamanan Sediaan Krim

Produk kosmetik harus mengandung bahan baku yang aman dan berkualitas tinggi. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian keamanan untuk sediaan krim meliputi pengujian iritasi kulit dan pengujian sensititasi. Produk kosmetik yang sudah jadi tidak boleh menyebabkan dermatitis kontak ketika diaplikasikan pada tubuh. Iritasi dan alergi dapat terjadi akibat salah satu kandungan bahan yang terdapat dalam suatu produk (Tranggono & Latifah, 2007).

Pengujian keamanan untuk produk kosmetik meliputi uji keamanan bahan baku sebelum dimasukkan dalam produk (*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 kuisioner dengan para pemakai. *Patch test* dan *usage test* dilakukan baik pada manusia maupun hewan, dan mencakup pengujian berbagai segi keamanan dari bahan baku atau produk akhir, seperti: potensi iritasinya terhadap kulit dan mata, fototoksitasnya terhadap kulit, dan komedogenisitasnya (daya untuk merangsang terjadinya jerawat dan lain-lain) (Tranggono & Latifah, 2007).

2.8. Uji Manfaat Sediaan Krim sebagai Pelembab

Penggunaan pelembab dapat dievaluasi melalui pendekatan uji klinis yang dapat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu uji aplikasi tunggal (*single application*) dan uji beberapa aplikasi (*multiple application*). Masing-masing kelompok dapat dibedakan lagi berdasarkan durasi penggunaan pelembab, yaitu uji untuk jangka pendek dan uji jangka panjang (Tabel 2.1). Masing-masing pengujian memiliki tujuan tersendiri dan berbeda satu sama lain (Leyden & Rawlings, 2002).

Tabel 2.1 Pendekatan umum pengujian klinis untuk penggunaan pelembab kulit

Aplikasi Produk	Durasi pengujian	Regresi atau pengulangan perlakuan	Penggunaan	Nama Metode
Aplikasi Tunggal	Durasi Pendek (< 4 jam)	-	Efek hidrasi cepat	<i>Moisture meter</i> <i>Hydration Ttest</i>
	Durasi Panjang (8 – 24 jam)	-	Pelembab tahan lama	-
Aplikasi ganda	Jangka Pendek (1 – 2 minggu)	Tidak menggunakan regresi	Tingkat manfaat	-
		Menggunakan regresi	Memprediksi kinerja pelembab secara keseluruhan	<i>Miniregression test</i>
	Jangka panjang (3 – 6 minggu) dengan regresi	Tidak ada pengulangan perlakuan Menggunakan pengulangan perlakuan	Menunjukkan kinerja pelembab secara keseluruhan Pengukuran mendasar dari kondisi yg sehat	<i>Kligman regression Test</i> <i>Nutrition study</i>

[Sumber: Leyden & Rawlings, 2002, telah diolah kembali].

Uji aplikasi tunggal menilai perubahan fisik pada kulit akibat dari pemberian produk dan memprediksi perubahan fisiologi pada kulit. Pada tes hidrasi jangka pendek, pengukuran dapat dilakukan dalam hitungan detik setelah penggunaan produk. Pengujian tersebut cocok untuk mengetahui efek langsung penggunaan produk pada kulit, tetapi sangat lemah untuk memprediksi manfaat penggunaan untuk jangka panjang. Pengujian untuk metode tersebut umumnya dilakukan pada kondisi ruangan terkontrol untuk menghilangkan efek lingkungan. Metode tersebut dapat digunakan untuk membandingkan dua produk.

Uji hidrasi jangka panjang dilakukan untuk mengukur perubahan fisik pada kulit. Pengujian tersebut digunakan untuk menunjukkan efek selama 24 jam. Penerapan pelembab dalam waktu yang lama harus disesuaikan dengan kenyamanan sukarelawan, namun kegiatan sukarelawan dapat menambah variabilitas untuk pengukuran. Metode pengujian tersebut dapat digunakan untuk membandingkan kemampuan beberapa produk pelembab dalam bertahan di kulit

Uji beberapa aplikasi menilai perubahan fisiologi secara nyata pada kulit dari waktu ke waktu. Keuntungan dari uji tersebut dengan perlakuan selama 3 minggu atau lebih yaitu adanya waktu bagi stratum korneum untuk regenerasi.

Pengujian selama 1 – 2 minggu tanpa menggunakan regresi menunjukkan tingkat manfaat, yaitu tingkat penyembuhan kulit kering. Setelah ditelusuri dari waktu ke waktu, metode tersebut sangat kuat memprediksi manfaat secara keseluruhan, walaupun kulit tidak mencapai tingkat pemulihan secara lengkap. Pengujian dengan metode tersebut dapat digunakan untuk membandingkan kecepatan manfaat antara produk bersaing (Leyden & Rawlings, 2002).

Uji *miniregresion* menunjukkan tingkat penyembuhan dan dapat memprediksi dengan lebih baik manfaat secara keseluruhan dengan menunjukkan ketepatan dalam regresi. Pengujian dengan metode tersebut dapat digunakan untuk membandingkan kecepatan manfaat dan memprediksi kualitas dari manfaat tersebut antara produk bersaing (Leyden & Rawlings, 2002).

Uji regresi Kligman menunjukkan kecepatan manfaat serta keseluruhan manfaat dari merawat kulit berdasarkan siklus regenerasi stratum korneum. Selanjutnya, metode tersebut memisahkan manfaat kosmetik secara superficial dengan manfaat secara substantif dengan mengukur seberapa baik hasil perlakuan

terhadap kulit melalui regresi. Pengujian dengan metode tersebut dapat digunakan untuk membandingkan secara langsung keefektifan dari produk bersaing dalam merawat kulit kering dan memperbaiki kualitas kulit (Leyden & Rawlings, 2002).

Uji dengan metode protokol nutrisi mengabaikan kecepatan manfaat untuk fokus pada kualitas kulit akibat penggunaan produk. Metode tersebut tidak hanya sekedar mengukur ketepatan manfaat dalam regresi, tetapi mengukur ketahanan kulit terhadap faktor eksternal sebagai indikator yang mendasari kondisi kesehatan kulit. Pengujian dengan metode tersebut dapat digunakan untuk membandingkan keefektifan produk bersaing untuk mengembalikan kesehatan kulit kering (Leyden & Rawlings, 2002).

Beberapa alat dapat digunakan untuk pengujian kelembaban. *Electrical hygrometry* digunakan untuk mengukur hidrasi kulit. *Profilometry* digunakan untuk menilai tekstur kulit dan *dynamometry* digunakan untuk mengukur elastisitas kulit. Alat untuk mengetahui sifat optik kulit adalah spektroskopi dan untuk mengetahui keadaan fisik lainnya digunakan *squamometry* (Leyden & Rawlings, 2002). *Corneometer* digunakan untuk mengukur kadar air kulit dan *Tewameter* digunakan untuk mengukur penguapan air kulit (Tranggono & Latifah, 2007).

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Taksonomi Departemen Biologi FMIPA dan Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia. Pengujian kelembaban dilakukan di Laboratorium Assetra Inno Medikos, Bekasi. Penelitian berlangsung selama 6 bulan, yaitu bulan Januari sampai Juni 2012.

3.2 Bahan dan Alat

3.2.1 Bahan

Penelitian ini menggunakan Teripang *Stichopus hermanni* (Lampiran 1) yang diperoleh dari alam (Kepulauan Seribu, Jakarta) dan hasil budidaya (Desa Hanura, Lampung).

Bahan-bahan kimia yang digunakan, antara lain bahan kimia untuk larutan ekstraksi dan untuk pembuatan krim. Bahan kimia untuk larutan ekstraksi adalah Tris-HCl (Merck) dan EDTA (Merck). Bahan kimia untuk pembuatan krim adalah asam stearat diperoleh dari PT. Brataco, setil alkohol diperoleh dari PT. Brataco, isopropil miristat (IPM) diperoleh dari PT. Brataco, trietanolamin (TEA) diperoleh dari PT. Brataco, metilparaben diperoleh dari PT. Brataco, propilparaben diperoleh dari PT. Brataco, gliseril monostearat (GMS) diperoleh dari PT. Brataco, propilen glikol diperoleh dari PT. Brataco, dan butilhidroksitoluen (BHT) diperoleh dari PT. Brataco.

Bahan-bahan lain yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuades, aluminium foil, benang kasur, dan kertas saring.

3.2.2 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini antara lain timbangan (Gausse), *Magnetic stirrer*, Erlenmeyer 500 mL (Iwaki), Erlenmeyer 100 mL

(Iwaki), *beaker glass* (Iwaki), labu takar (Iwaki), gelas ukur (Iwaki), *homogenizer* (Multimix), alat sentrifugasi (Kubota), tabung sentrifugasi (Nesco), pipet tetes, *freeze-dryer* (Modulyo), penangas air, kaca arloji, kaca objek, pH meter (Eutech), viskometer (Brookfield tipe RV), penetrometer, Corneometer CM825® (Courage Khazaka), kain flanel, pisau, dan pot krim (Lampiran 2).

3.3 Cara Kerja

3.3.1 Penyiapan bahan

Teripang *Stichopus hermanni* dibersihkan bagian dalam tubuhnya. Dinding tubuh teripang kemudian dipotong-potong dengan ukuran 2 x 2 cm. Sampel dinding tubuh teripang tersebut kemudian disimpan di lemari es (4 °C) sampai sampel tersebut akan digunakan.

3.3.2 Pembuatan larutan stok

Larutan stok yang dibutuhkan terdiri dari larutan stok Tris HCl 1 M dan EDTA 1 M. Kedua larutan stok tersebut digunakan sebagai larutan ekstraksi kolagen.

Larutan stok Tris HCl 1 M dibuat dengan cara menimbang sejumlah 15,76 g Tris HCl lalu dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL, kemudian ditambahkan akuades hingga volume mencapai 100 mL.

Larutan stok EDTA 1 M dibuat dengan cara menimbang sejumlah 29,25 g EDTA lalu dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL, kemudian ditambahkan akuades hingga volume mencapai 100 mL.

Larutan ekstraksi yang dibutuhkan pada penelitian yaitu 1.000 mL yang dibuat dengan mencampurkan 100 mL larutan Tris HCl (1M), 4 mL larutan EDTA (1M) dan 896 mL Akuades.

3.3.3 Ekstraksi kolagen kasar dari sampel dinding tubuh teripang

Proses ekstraksi kolagen kasar dilakukan berdasarkan perpaduan cara kerja Trotter *et al.* (1995) dan Saito *et al.* (2002) dengan langkah-langkah sebagai berikut (Lampiran 3):

- a. Sebanyak 100 g sampel dinding tubuh teripang ditambahkan dengan 1.000 mL akuades dan diaduk selama 30 menit pada suhu 4°C.
- b. Campuran disaring dan akuades dibuang. Sampel dinding tubuh teripang ditambahkan dengan akuades baru sebanyak 1.000 mL, kemudian diaduk selama 1 jam pada suhu 4°C.
- c. Campuran disaring dan akuades dibuang. Sampel dinding tubuh teripang ditambahkan dengan larutan ekstraksi sebanyak 1.000 mL, kemudian diaduk selama 24 jam.
- d. Setelah 24 jam, akan terbentuk suspensi kental dan dinding tubuh teripang sudah tidak utuh. Suspensi kental tersebut disaring dan disentrifugasi dengan kecepatan 4.500 rpm selama 30 menit.
- e. Semua pelet hasil sentrifugasi dikumpulkan dan diliofilisasi untuk mendapatkan *crude collagen*.
- f. Cara kerja tersebut dilakukan untuk teripang yang berasal dari alam dan budidaya.

3.3.4 Persentase rendemen ekstrak kolagen kasar teripang

Ekstrak kolagen kasar dihitung rendemennya untuk mengetahui kadar kolagen kasar berdasarkan berat kolagen kasar yang dihasilkan, dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{W_i}{W_o} \times 100\% \quad (4.1)$$

W_i = berat *crude collagen* hasil liofilisasi (gram)

W_o = berat kering tubuh teripang (gram)

3.3.5 Identifikasi kolagen kasar dari teripang *Stichopus hermanni*

Crude collagen yang telah diperoleh dideteksi keberadaannya menggunakan uji Biuret dan uji Bradford. Selanjutnya, dilakukan deteksi keberadaan kolagen menggunakan metode Dot Blot dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- a. 0,1 g ekstrak kolagen kasar dicampur dengan 10 mL akuades dan diaduk hingga homogen.
- b. Sebanyak 2 μ L sampel diteteskan di atas membran nitroselulosa dan dibiarkan mengering.
- c. Semua non spesifik *binding sites* pada permukaan membran diblokir menggunakan larutan *blocking (skim milk)*.
- d. Membran tersebut kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu ruang.
- e. Membran dicuci dengan menggunakan PBST (*Phosphate Buffer Saline Tween*). Pencucian diulangi sebanyak tiga kali.
- f. Antibodi primer (*antibody collagen I*) ditambahkan ke atas membran dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37 °C.
- g. Membran dicuci dengan menggunakan PBST. Pencucian diulangi sebanyak tiga kali.
- h. Antibodi sekunder (*Horseradish Peroxidase*) ditambahkan ke atas membran dan diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37 °C.
- i. Membran dicuci sehingga konjugat antibodi-enzim yang tidak terikat dapat dibuang.
- j. Ditambahkan reagen kloronaftol dan diinkubasi selama 5 menit.
- k. Dicuci dengan H₂O₂ dan selanjutnya dilihat warna yang dihasilkan dan dibandingkan dengan standar.

3.3.6 Pembuatan sediaan krim

Sediaan krim dibuat menggunakan *vanishing cream* sebagai basis krim (Lampiran 4). Sebagian besar bahan – bahan yang digunakan untuk pembuatan

krim telah memiliki *Certificate of Analysis* (COA) (Lampiran 5 – 9). Komposisi sediaan krim berdasarkan modifikasi dari Mitsui (1997) (Tabel 3.1).

Tabel 3.1. Komposisi bahan-bahan dalam sediaan krim

Bahan	Sediaan Kontrol (%)	Sediaan Perlakuan (%)
Asam Stearat	5	5
Setil Alkohol	3	3
IPM	3	3
TEA	0,4	0,4
Metil Paraben	0,2	0,2
Propil Paraben	0,1	0,1
GMS	2	2
Propilen Glikol	15	15
BHT	0,1	0,1
Ekstrak kolagen kasar	-	5
Akuades	hingga 100	hingga 100

Pada pembuatan sediaan krim, pertama-tama bahan yang akan digunakan ditimbang terlebih dahulu. Fase minyak yang terdiri dari asam stearat, setil alkohol, propilparaben, dan GMS dimasukkan ke dalam cawan porselen lalu dilebur dengan penangas uap hingga meleleh dan tercampur rata kemudian didiamkan hingga suhu 50 °C. Selanjutnya, BHT ditambahkan ke dalam fase minyak dan diaduk hingga rata. Sementara itu, TEA dilarutkan ke dalam 10 mL air. Campuran fase minyak dengan BHT dimasukan secara bersamaan dengan TEA ke dalam *beaker glass* kemudian diaduk menggunakan homogenizer dengan kecepatan 3.500 rpm hingga terbentuk korpus emulsi. Selanjutnya, IPM dimasukkan ke dalam korpus emulsi dan diaduk hingga homogen. Metilparaben dilarutkan terlebih dahulu ke dalam propilen glikol kemudian campuran tersebut dimasukkan ke dalam emulsi. Ekstrak kolagen kasar yang berasal dari teripang budidaya didispersikan ke dalam 50 mL air dan kemudian dimasukkan ke dalam emulsi dan diaduk hingga homogen. Sisa air ditambahkan ke dalam emulsi dan diaduk hingga homogen. Sediaan krim yang sudah jadi didinginkan hingga mencapai suhu ruang untuk kemudian dimasukkan ke dalam wadah. Sediaan tersebut merupakan sediaan perlakuan atau disebut sediaan krim ekstrak kolagen

kasar. Pembuatan krim kontrol atau disebut sediaan krim plasebo dilakukan dengan cara yang sama hanya saja tidak ditambahkan ekstrak kolagen kasar teripang tetapi ditambahkan sisa air.

3.3.7 Evaluasi fisik sediaan

Evaluasi fisik sediaan krim dilakukan melalui pengamatan organoleptis, homogenitas, pengukuran pH, viskositas, dan konsistensi.

3.3.7.1 Pengamatan organoleptis

Sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo diamati berdasarkan warna, bau, dan adanya pemisahan fase atau pecahnya emulsi.

3.3.7.2 Pemeriksaan homogenitas

Sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo diletakkan di antara dua kaca objek kemudian diperhatikan adanya partikel-partikel kasar atau ketidakhomogenan di bawah cahaya.

3.3.7.3 Pengukuran pH

Pengukuran pH menggunakan pH meter. Elektroda terlebih dahulu dikalibrasi dengan dapar standar pH 4 dan 7. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam sediaan, dicatat nilai pH yang muncul di layar. Pengukuran dilakukan pada suhu ruang.

3.3.7.4 Penentuan viskositas dan sifat alir

Pengukuran viskositas dengan menggunakan viskometer Brookfield tipe RV menggunakan *spindle* nomor yang sesuai, dipasang pada alat kemudian dicelupkan ke dalam sediaan yang telah diletakkan dalam *beaker glass*. Kecepatan alat dipasang pada kecepatan beragam pada 0,5; 2; 4; 10; 20 rpm, dan kemudian

dibalik 20; 10; 4; 2; 0,5 rpm kemudian dibaca skalanya dengan mengamati jarum merah saat posisinya stabil. Sifat aliran dapat diperoleh dengan membuat kurva *shearing stress vs rate of shear*.

3.3.7.5 Penentuan konsistensi

Sediaan yang akan diperiksa, baik sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo, dimasukkan ke dalam wadah khusus dan diletakkan pada meja penetrometer. Peralatan diatur hingga ujung kerucut menyentuh bayang permukaan sediaan yang dapat diperjelas dengan menghidupkan lampu. Batang pendorong dilepas dengan menekan tombol start. Angka penetrasi dibaca lima detik setelah kerucut menembus sediaan. Pemeriksaan konsistensi dilakukan pada minggu awal dan minggu akhir dengan penyimpanan pada suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

3.3.8 Uji Stabilitas

3.3.8.1 Uji stabilitas pada suhu $4 \pm 2^\circ\text{C}$, $28 \pm 2^\circ\text{C}$, dan $40 \pm 2^\circ\text{C}$.

Sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo disimpan pada suhu $4 \pm 2^\circ\text{C}$, $28 \pm 2^\circ\text{C}$ dan pada suhu $40 \pm 2^\circ\text{C}$. Kemudian diukur parameter kestabilannya seperti bau, warna, dan pH serta dievaluasi selama 12 minggu dengan pengamatan setiap 1 minggu.

3.3.8.2 *Cycling test*

Sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo disimpan pada suhu $4 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 24 jam lalu dipindahkan ke dalam lemari uji stabilitas bersuhu $40 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 24 jam, waktu selama penyimpanan dua suhu tersebut dianggap satu siklus. *Cycling test* dilakukan sebanyak 6 siklus kemudian dilihat organoleptis berupa perubahan warna dan apakah terjadi pemecahan emulsi atau tidak.

3.3.8.3 Uji mekanik (*sentrifugal test*)

Masing-masing sediaan krim disentrifugasi pada kecepatan 3.800 rpm selama 5 jam kemudian diamati apakah terjadi pemisahan fase dari emulsi.

3.3.9 Uji keamanan terhadap sukarelawan

Sukarelawan dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Uji keamanan dilakukan dengan melihat derajat iritasi yang mungkin timbul dalam pelaksanaan.

Sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo masing - masing dioleskan sebanyak 20 μ L di daerah punggung selama 30 menit dengan menggunakan Finn Chamber. Selanjutnya, reaksi yang terjadi diamati dan apabila tidak terjadi reaksi iritasi maka area uji ditutup dengan pita tempel Finn dan pengamatan diulangi untuk 4 jam berikutnya. Setelah 4 jam, pita tempel dibuka dan diamati selama 15 – 30 menit dan bila tidak terjadi reaksi maka pengamatan dilanjutkan pada 48 jam berikutnya. Setelah 48 jam, efek samping yang mungkin terjadi diamati seperti tanda kemerahan, bengkak, timbul edema, rasa gatal, rasa panas dan rasa perih. Pembacaan *patch test* disesuaikan dengan kriteria pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2. Pembacaan *patch test* berdasarkan *International Contact Dermatitis Research Group*.

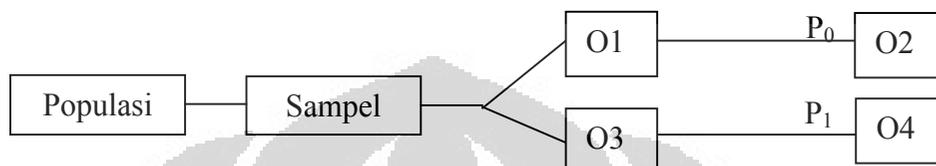
Lambang	Gejala	Pembacaan
+?	kemerahan ringan tanpa infiltrasi yang terjadi perlahan-lahan	Meragukan, efek iritasi lemah
+	Eritema dengan infiltrasi	Iritasi ringan
++	Eritema, infiltrasi, papula	Iritasi sedang
+++	Disertai dengan pembentukan vesikula	Iritasi berat
++++	Terdapat edema dan vesikula/ bula yang <i>confluent</i>	Reaksi positif kuat
-	Tidak terjadi reaksi apapun	Negatif
IR	Langsung timbul reaksi seketika	Reaksi Iritasi
NT	-	Tidak dites

[Sumber: Tranggono & Latifah, 2007, telah diolah kembali.]

3.3.10 Uji manfaat krim kolagen kasar sebagai bahan pelembab

3.3.10.1 Rancangan penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode *True Experimental* dengan menggunakan rancangan *Pretest-Posttest Control Group* dengan desain pengujian *Double Blind Study*.



Subjek penelitian diberi dua jenis tindakan pada lengan yaitu sebagai kontrol dan sebagai perlakuan.

O1 : Pengamatan kontrol setelah dibebaskan dari pemberian produk topikal apapun selama 1 minggu.

O2 : Pengamatan kontrol setelah menggunakan krim plasebo selama 4 jam.

O3 : Pengamatan perlakuan setelah dibebaskan dari pemberian produk topikal apapun selama 1 minggu.

O4 : Pengamatan perlakuan setelah menggunakan krim ekstrak kolagen kasar teripang selama 4 jam.

P0 : Bagian kontrol (basis krim atau krim plasebo).

P1 : Bagian perlakuan (sediaan krim yang mengandung ekstrak kolagen kasar teripang).

Pengukuran kadar air kulit dilakukan sebelum penggunaan sediaan krim dan selama pemakaian sediaan krim. Pengukuran dilakukan 4 kali dalam waktu 4 jam (t_0 , t_1 , t_2 , dan t_4).

3.3.10.2 Populasi dan sampel

Wanita yang berusia 25 – 40 tahun, yang memenuhi kriteria inklusi.

a. Kriteria inklusi

Wanita yang berusia 25 – 40 tahun dan belum menopause dan tidak merokok. Subjek penelitian memiliki kulit yang sehat, tidak sedang menderita dermatitis, serta tidak menderita penyakit kronis. Subjek penelitian bersedia mengikuti penelitian sampai selesai dan bersedia dilakukan pengukuran hidrasi kulit selama penelitian berlangsung. Subjek penelitian bersedia menandatangani *informed consent* yang berisi tentang informasi penelitian termasuk keuntungan dan risiko yang akan dialami selama penelitian berlangsung (Lampiran 10 – 13).

b. Kriteria eksklusi

Wanita dengan kelainan kulit pada daerah uji seperti luka, jerawat, dan penyakit kulit lainnya tidak dapat dimasukkan dalam penelitian. Selain itu, wanita dalam masa kehamilan, menyusui, serta menopause juga tidak dapat dimasukkan dalam penelitian.

c. Kriteria *drop-out*

Wanita yang menjadi subjek penelitian tidak dapat melanjutkan prosedur penelitian karena sakit atau berbagai alasan yang lain dan apabila terjadi efek-efek yang tidak diinginkan seperti alergi atau iritasi terhadap bahan yang dioleskan.

3.3.10.3 Penentuan besar sampel

Besar sampel (subjek penelitian) minimal dihitung dengan rumus “uji hipotesis terhadap rata-rata dua kelompok berpasangan” (Mardiyono dkk., 2002). Kelompok berpasangan disini memiliki arti bahwa subjek penelitian memperoleh dua jenis perlakuan, yaitu krim plasebo dan krim ekstrak kolagen kasar. Perhitungan besar subjek penelitian tersebut adalah sebagai berikut:

(4.2)

$$N = \left\lceil \frac{(Z\alpha + Z\beta) \times Sd}{d} \right\rceil^2$$

Keterangan :

N : Besar sampel (subjek penelitian)

Sd : Simpangan Baku

d : Perbedaan Klinis yang dianggap bermakna

α : Tingkat kemaknaan yang diinginkan ($\alpha = 0,05$; satu arah)

β : Hasil negatif palsu atau besarnya peluang untuk tidak menolak H_0 , yaitu sebesar 0,1

Pada penelitian ini, nilai simpangan baku dan perbedaan klinis diambil dari penelitian sebelumnya terkait dengan pengukuran hidrasi kulit (Plianbangchang *et al.*, 2007), yaitu simpangan baku sebesar 7,0 dengan perbedaan klinis yang dianggap bermakna sebesar 7,0 sehingga perkiraan besar sampel minimal yang diperlukan adalah 8,567. Nilai β yang digunakan pada penelitian ini adalah sebesar 0,1. Guna mengantisipasi adanya sampel yang keluar (*drop out*) maka jumlah sampel uji ditambahkan sebesar 20%, sehingga jumlah sampel menjadi 10,280. Dengan demikian, sampel minimal dikenakan menjadi sebanyak 10 subjek uji. Perhitungan yang dilakukan, yaitu:

- a. Oleh karena nilai α (satu arah) = 0,05 dan $\beta = 10\%$, maka berdasarkan tabel distribusi Z dalam Madiyono dkk., (2002), nilai $Z\alpha$ dan $Z\beta$ berturut-turut adalah 1,645 dan 1,282, sehingga besar sampel adalah:

$$N = \left\lceil \frac{(Z\alpha + Z\beta) \times Sd}{d} \right\rceil^2 = N = \left\lceil \frac{(1,645 + 1,282) \times 7,0}{7,0} \right\rceil^2 = (2,927)^2 = 8,567$$

- b. Antisipasi adanya *drop out*, dilakukan penambahan 20% dari besar sampel hasil perhitungan.

$$N = 8,567 + (20\% \times 8,567) = 10,280 \cong 10.$$

3.3.10.4 Variabel penelitian

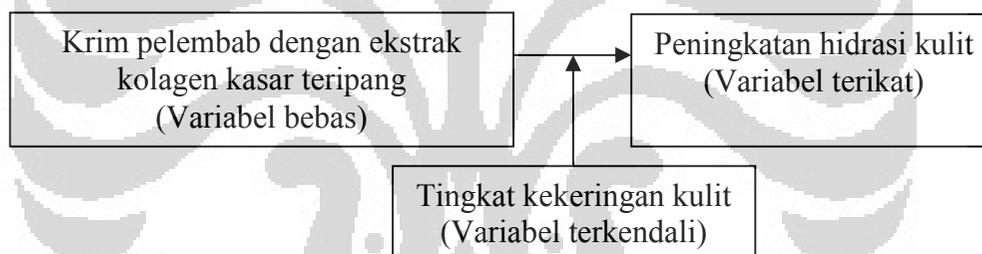
a. Identifikasi variabel

Variabel penelitian yang akan diukur adalah peningkatan hidrasi kulit pada wanita usia 25 – 40 tahun.

b. Klasifikasi variabel

- i. Variabel bebas : Pemberian krim pelembab dengan ekstrak kolagen kasar
- ii. Variabel terikat : Peningkatan hidrasi kulit
- iii. Variabel terkendali : Tingkat kekeringan kulit

3.3.10.5 Hubungan antar variabel



3.3.10.6 Definisi operasional

Adapun definisi operasional penelitian adalah sebagai berikut:

- a. Krim ekstrak kolagen kasar adalah krim pelembab yang mengandung ekstrak kolagen kasar hasil ekstraksi dari teripang *Stichopus hermanni*.
- b. Krim plasebo adalah basis krim tanpa penambahan ekstrak kolagen kasar.
- c. Kulit kering ditandai dengan kandungan air kurang dari 10% pada stratum korneum. Bila diukur dengan alat Corneometer, maka kriteria kulit kering adalah kadar air kulit kurang dari 50 unit.
- d. Hidrasi atau kelembaban kulit merupakan kandungan air dalam stratum korneum yang diukur dengan alat Corneometer, satuannya adalah unit.

3.3.10.7 Prosedur pengujian kelembaban

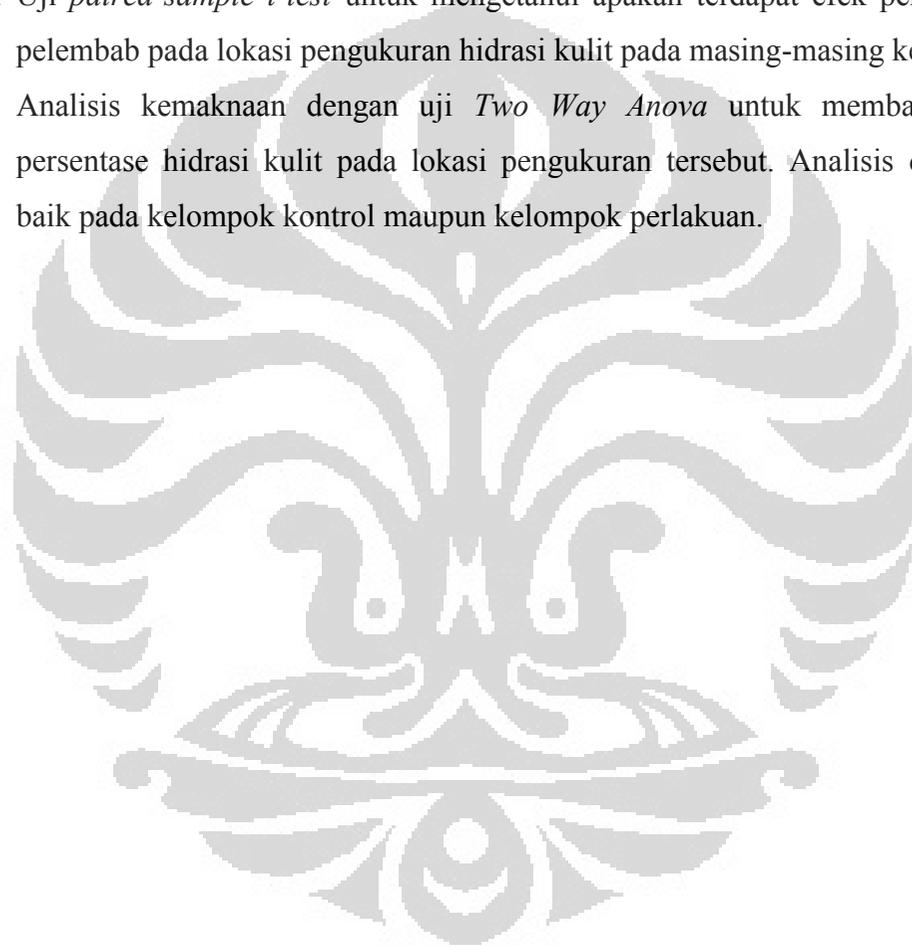
Pengujian manfaat krim kolagen dilakukan melalui langkah-langkah sebagai berikut (Lampiran 14):

- a. Mengumpulkan subjek penelitian, yaitu wanita yang berusia 25 – 40 tahun dan belum menopause. Subjek penelitian dipilih dari populasi sampel penelitian yang memenuhi kriteria inklusi. Subjek penelitian diberi penjelasan mengenai prosedur penelitian.
- b. Subjek penelitian yang bersedia mengikuti penelitian diminta menandatangani *informed consent*. Persetujuan tindak medis (*informed consent*) merupakan pernyataan persetujuan subjek untuk ikut serta dalam penelitian setelah diterangkan maksud, tujuan, cara, keuntungan, dan kemungkinan kerugian bila subjek mengikuti penelitian. Tindak medis yang dilakukan meliputi pemeriksaan fisik, pemakaian krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo sampai penelitian berakhir dan pengukuran hidrasi kulit dengan alat Corneometer.
- c. Pengambilan foto dokumentasi.
- d. Pengukuran hidrasi kulit sebelum pengujian setelah seminggu sebelumnya tidak mengoleskan produk topikal apapun pada kulit.
- e. Pemberian krim kepada subjek penelitian dilakukan dengan cara krim yang mengandung ekstrak kolagen kasar teripang dan krim plasebo diaplikasikan pada lengan bawah bagian kiri dan kanan secara acak. Luas area pengujian yaitu 25 cm² dan jumlah krim yang diaplikasikan untuk masing-masing area adalah 50 µL. Kedua jenis perlakuan dilakukan selama 4 jam dan pengukuran hidrasi kulit dilakukan pada saat t0, t1, t2 dan t4. Selama proses pengujian, area yang diaplikasikan sediaan krim dibiarkan terbuka dan tidak boleh terkena air. Pemeriksaan hidrasi kulit dilakukan di Laboratorium Assetra Inno Medikos, Bekasi menggunakan alat Corneometer. Bila pada saat percobaan terjadi reaksi iritasi atau eritema, maka percobaan pada sukarelawan tersebut dihentikan.

3.3.10.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan langkah-langkah sebagai berikut:

- a. Analisis deskriptif untuk data karakteristik dasar subyek penelitian yang meliputi tingkat kekeringan kulit.
- b. Uji normalitas Shapiro-Wilk terhadap data hasil pengukuran hidrasi kulit
- c. Uji homogenitas dengan menggunakan uji Levene's test terhadap hasil pengukuran hidrasi kulit pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan
- d. Uji *paired-sample t-test* untuk mengetahui apakah terdapat efek penggunaan pelembab pada lokasi pengukuran hidrasi kulit pada masing-masing kelompok.
- e. Analisis kemaknaan dengan uji *Two Way Anova* untuk membandingkan persentase hidrasi kulit pada lokasi pengukuran tersebut. Analisis dilakukan baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan.



BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Kolagen Kasar dari Teripang *Stichopus hermanni*

Teripang yang digunakan pada penelitian diperoleh dari Kepulauan Seribu, Jakarta dan hasil budidaya di Desa Hanura, Lampung. Teripang dari kedua tempat tersebut telah diidentifikasi sebagai teripang *Stichopus hermanni* oleh Laboratorium Taksonomi Hewan, Departemen Biologi FMIPA UI (Lampiran 15). Teripang yang sudah diambil dari laut kemudian dibersihkan bagian dalam tubuhnya dan dibilas untuk menghilangkan pengotor. Bagian tubuh teripang yang telah bersih kemudian dipotong-potong untuk mempermudah proses ekstraksi. Teripang kemudian dimasukkan ke dalam *freezer* sampai saatnya akan digunakan.

Beberapa macam metode ekstraksi kolagen kasar telah dicoba dan dilakukan pada penelitian ini. Metode ekstraksi yang pernah dilakukan yaitu menggunakan metode yang digunakan oleh Trotter *et al.* (1995), Saito *et al.* (2002), Cui *et al.* (2007) serta gabungan dari metode-metode tersebut. Hasil ekstraksi kolagen kasar berdasarkan metode Trotter *et al.* dan Cui *et al.* tidak efektif menghasilkan ekstrak kolagen kasar karena melalui tahap perendaman dengan akuades yang terlalu lama sehingga pelet yang diperoleh sedikit. Hasil ekstraksi kolagen kasar berdasarkan metode Saito *et al.* dihasilkan ekstrak kolagen kasar yang kotor karena sampel dinding tubuh teripang tidak dilakukan pencucian terlebih dahulu. Berdasarkan hasil percobaan yang telah dilakukan maka metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian adalah perpaduan cara kerja yang telah dilakukan oleh Trotter *et al.* dan Saito *et al.*

Proses ekstraksi teripang dilakukan dengan cara masing-masing 100 g sampel dinding tubuh teripang yang telah dipotong-potong dimasukkan ke dalam wadah dan ditambahkan 1.000 mL akuades dan diaduk selama 30 menit pada suhu ± 4 °C. Proses tersebut diulangi untuk waktu 1 jam. Proses ekstraksi dilakukan pada suhu dingin dengan tujuan agar tidak terjadi kontaminasi dari mikroba karena bahan yang digunakan rentan terkontaminasi. Proses perendaman

dengan akuades bertujuan untuk membersihkan sisa pengotor yang masih melekat pada tubuh teripang.

Campuran antara sampel dinding tubuh teripang dengan akuades selanjutnya disaring dan sampel dinding tubuh teripang dimasukkan ke dalam wadah yang berisi larutan ekstraksi yang mengandung Tris HCl dan EDTA. Sampel dinding tubuh teripang masih tetap utuh pada saat disaring sehingga tidak ada kolagen yang ikut terbawa pada akuades yang dibuang. Campuran sampel dinding tubuh teripang dengan larutan ekstraksi diaduk selama 24 jam. Setelah 24 jam, akan terbentuk suspensi kental yang menandakan bahwa serat kolagen di sampel dinding tubuh mulai terpisah. Larutan Tris HCl berfungsi untuk memberikan kondisi pH yang optimum dalam penelitian ini. Pada saat pencampuran larutan ekstraksi dengan sampel dinding tubuh teripang, pH larutan adalah 8. Larutan EDTA berfungsi sebagai agen pengkelat yang akan membentuk senyawa kompleks dengan logam. Menurut Cui *et al.* (2007), dinding tubuh teripang yang diekstraksi menggunakan air dan agen pengkelat menunjukkan interaksi elektrostatis yang berperan penting dalam menjaga integritas jaringan.

Menurut Winarno (1997), kolagen adalah protein serabut (fibril) yang mempunyai bentuk yang *amorf*, dapat memanjang dan berkontraksi. Ekstraksi dapat menyebabkan pemutusan ikatan hidrogen di antara ketiga rantai tropokolagen menjadi tiga rantai bebas, dua rantai saling berikatan dan satu rantai bebas, serta tiga rantai yang masih berikatan (Poppe, 1992). Menurut Bennion (1980), kondisi alkali menyebabkan kolagen mengembang dan menyebar, yang sering dikonversi menjadi gelatin.

Perlakuan penambahan zat basa dapat menyebabkan larutan tropokolagen terdenaturasi. Tropokolagen yang terdenaturasi akan terdisosiasi menjadi tiga komponen yaitu α , β , dan γ . Komponen α merupakan rantai tunggal polipeptida dengan bobot molekul kurang lebih sepertiga dari berat molekul tropokolagen, komponen β dan γ merupakan dimer dan trimer yang dibentuk dari ikatan silang (Parker, 1982).

Suspensi kental yang terbentuk melalui proses ekstraksi selanjutnya disaring dan filtrat yang diperoleh kemudian disentrifugasi dengan kecepatan

4.500 rpm. Pelet yang diperoleh (Lampiran 16) kemudian liofilisasi untuk mendapatkan ekstrak kolagen kasar (*crude collagen*) (Gambar 4.1).



Gambar 4.1. Ekstrak kolagen kasar hasil liofilisasi (*freeze dried*)

Pelet digunakan untuk mendapatkan ekstrak kolagen kasar karena pada pelet mengandung serat kolagen fibril yang tidak larut. Menurut Saito *et al.* (2002), dinding tubuh teripang *Stichopus japonicus* mengandung serat kolagen tidak larut dengan kadar 70% dari kadar protein di dinding tubuhnya.

4.2 Persentase Rendemen dan Identifikasi Keberadaan Kolagen Kasar

Berat ekstrak kolagen kasar hasil liofilisasi untuk teripang budidaya adalah 5,5 g dan untuk teripang dari alam sebesar 6,4 g, sehingga rendemen ekstrak kolagen kasar hasil liofilisasi masing-masing sebesar 5,5% dan 6,4% dihitung dari berat basah sampel dinding tubuh teripang (100 g) (Tabel 4.1).

Tabel 4.1. Data rendemen ekstrak kolagen kasar dari teripang di alam dan tempat budidaya berdasarkan berat basah.

Sumber teripang	Berat basah (g)	Berat hasil <i>freeze dried</i> (g)	Rendemen (%)
Alam	100	6,4	6,4
Budidaya	100	5,5	5,5

Penelitian yang dilakukan oleh Saito *et al.* (2002) menunjukkan bahwa persentase ekstrak kolagen kasar yang diperoleh dari teripang *Stichopus japonicus* adalah sebesar 3,3% dihitung dari berat basah. Berdasarkan perbandingan tersebut, maka dapat diduga bahwa teripang *Stichopus hermanni* yang digunakan pada penelitian ini memiliki kandungan ekstrak kolagen kasar yang lebih besar dibandingkan dengan *Stichopus japonicus* yang digunakan oleh Saito *et al.* Selain itu, metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini lebih efektif untuk memperoleh ekstrak kolagen kasar jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Saito *et al.* Proses sentrifugasi suspensi kental untuk memperoleh pelet yang dilakukan pada penelitian ini kurang optimal. Hal tersebut ditandai dengan supernatan masih kental sehingga diduga serat kolagen tidak larut masih terbawa di supernatan. Saito *et al.* (1995) menggunakan kecepatan sentrifugasi sebesar 13.000 rpm untuk memperoleh pelet. Pada penelitian ini kecepatan sentrifugasi yang digunakan hanya 4.500 rpm sehingga jumlah pelet yang dihasilkan tidak optimal.

Berat ekstrak kolagen kasar yang dihasilkan relatif kecil. Banyaknya kandungan air pada tubuh teripang menyebabkan penyusutan berat terjadi cukup besar. Berdasarkan data susut kering, menunjukkan bahwa dari 100 g sampel basah dinding tubuh teripang budidaya dan alam dihasilkan masing-masing 7,1005 g dan 11,4425 g berat kering (Tabel 4.2).

Tabel 4.2. Data susut pengeringan teripang dari alam dan budidaya

Sumber teripang	Berat basah (g)	Berat sisa pengeringan (g)	Susut kering (%)
Alam	100 g	11,4425	88,56
Budidaya	100 g	7,1005	92,89

Proses pengeringan dilakukan menggunakan oven pada suhu 37 °C sampai berat sampel dinding tubuh teripang konstan. Penyusutan berat yang besar menyebabkan sedikitnya ekstrak kolagen kasar yang dihasilkan. Berdasarkan data

susut kering, diketahui bahwa penyusutan berat pada teripang di budidaya lebih besar daripada teripang alam.

Rendemen ekstrak kolagen kasar yang dihitung dari berat kering sampel dinding tubuh yaitu 77,47% untuk teripang budidaya dan 55,93% untuk teripang di alam (Tabel 4.3).

Tabel 4.3. Data rendemen ekstrak kolagen kasar dari teripang di alam dan tempat budidaya berdasarkan berat kering.

Sumber teripang	Berat kering (g)	Berat hasil <i>freeze dried</i> (g)	Rendemen (%)
Alam	11,4425	6,4	55,93
Budidaya	7,1005	5,5	77,47

Penilaian kadar rendemen dilakukan berdasarkan berat kering. Hal tersebut disebabkan berat basah tidak dapat dijadikan acuan yang valid karena bukan merupakan berat yang tetap. Pada sampel berat basah, sisa air hasil pencucian dapat ikut terbawa sehingga pengukuran berat menjadi tidak valid sedangkan dengan berat kering hasil pengukuran berat menjadi lebih valid.

Hasil persentase rendemen ekstrak kolagen kasar berdasarkan berat kering menunjukkan bahwa teripang budidaya menghasilkan ekstrak kolagen kasar yang lebih besar daripada teripang di alam. Perbedaan tersebut salah satunya dapat disebabkan oleh faktor nutrisi. Teripang di tempat budidaya memperoleh nutrisi tambahan berupa pupuk kompos yang diberikan secara rutin. Hal tersebut diduga memengaruhi produksi kolagen pada tubuh teripang. Nutrisi merupakan salah satu faktor penting yang memengaruhi sintesis kolagen (Cotran *et al.*, 1999). Beberapa senyawa nutrisi yang dapat berperan dalam sintesis kolagen yaitu protein, vitamin C, dan tembaga (Yamamoto *et al.*, 1992; Barbul, 2008). Pemberian pupuk kompos pada teripang di tempat budidaya menjadi sumber nutrisi yang dapat meningkatkan produksi kolagen. Pupuk kompos merupakan hasil fermentasi atau dekomposisi dari bahan-bahan organik seperti tanaman, hewan, atau limbah organik lainnya (Djaja, 2008). Bahan-bahan organik yang

digunakan sebagai pembuatan kompos kaya akan nutrisi. Tanaman banyak mengandung vitamin dan mineral dan hewan banyak mengandung protein sehingga pemberian kompos secara rutin dapat memengaruhi produksi kolagen pada teripang budidaya. Selain itu, pupuk kompos dapat mempercepat pertumbuhan plankton yang merupakan sumber makanan utama teripang di habitat alaminya (Darsono, 2009).

Berdasarkan data rendemen, dapat disimpulkan bahwa pembudidayaan teripang perlu dilakukan untuk pengembangan di masa akan datang. Pembudidayaan teripang perlu dilakukan agar ketersediaan teripang sebagai bahan baku kolagen tetap terjaga sehingga tidak perlu lagi mengambil teripang dari alam. Selain itu, pembudidayaan teripang perlu dilakukan untuk memperoleh teripang dengan usia dan ukuran yang seragam sehingga ekstrak kolagen yang diperoleh memiliki standar yang sama. Pengambilan teripang dari alam dapat mengganggu ekosistem tempat teripang tersebut hidup dan apabila terus menerus dieksploitasi maka ketersediaannya semakin langka. Kelangkaan teripang tersebut dapat memengaruhi keterbatasan sumber bahan baku untuk kolagen. Berdasarkan uraian diatas maka dapat disimpulkan bahwa dari segi ekonomis dan segi industri, untuk pengembangan di masa datang teripang yang digunakan adalah teripang budidaya.

Ekstrak kolagen kasar yang dihasilkan oleh teripang budidaya berwarna *sunny lemon* (B25-3) sedangkan dari teripang alam berwarna *beehive* (B24-6). Penilaian warna dilakukan menggunakan standar warna ACE *paint*. Hasil pengamatan organoleptis untuk ekstrak kolagen kasar yang diperoleh dari teripang di alam dan budidaya dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan Lampiran 17.

Tabel 4.4. Data identifikasi organoleptik ekstrak kolagen kasar teripang.

Ekstrak kolagen kasar teripang	Pemerian
Dari alam	Serbuk, warna putih kekuningan, bau amis
Dari budidaya	Serbuk, warna putih kekuningan, bau amis

Warna ekstrak kolagen kasar yang diperoleh dari teripang budidaya dan di alam menunjukkan warna putih kekuningan. Menurut Paranginangin dkk. (2008), kolagen yang dihasilkan setelah proses liofilisasi berwarna putih yang menandakan bahwa tidak banyak membawa pengotor-pengotor yang berasal dari tubuh hewan yang menjadi sampel. Hal tersebut menunjukkan bahwa proses ekstraksi kolagen yang dilakukan cukup berhasil. Warna kekuningan yang terlihat pada ekstrak kolagen kasar hasil liofilisasi dapat disebabkan karena teripang yang digunakan tubuhnya berwarna kuning. Pigmen warna pada tubuh teripang diduga ikut terbawa pada saat proses ekstraksi sehingga warna ekstrak kolagen kasar menjadi kekuningan. Ekstrak kolagen kasar hasil liofilisasi memiliki bau amis. Hal tersebut disebabkan karena ekstrak kolagen kasar merupakan hasil ekstraksi yang berasal dari hewan laut.

Ekstrak kolagen kasar yang dihasilkan terdispersi dengan baik di dalam air dan apabila dicampurkan dengan air dan dibiarkan lama dalam suhu dingin atau rendah maka akan membentuk suatu gel yang lengket. Ekstrak kolagen kasar yang sudah diliofilisasi mempunyai sifat yang higroskopis, sehingga harus disimpan dalam wadah yang sejuk dan kering karena jika dibiarkan dalam kondisi terbuka akan menjadi basah dan lengket (Lampiran 18).

Identifikasi keberadaan protein perlu dilakukan sebelum memasuki tahap identifikasi keberadaan kolagen. Pengujian terhadap keberadaan protein dilakukan dengan menggunakan metode Biuret dan Bradford. Pada uji Biuret dihasilkan perubahan warna dan adanya endapan berwarna ungu (Lampiran 19). Hal tersebut menandakan keberadaan senyawa peptida dan ikatan peptida menandakan keberadaan protein. Uji Biuret bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya gugus amida pada ekstrak kolagen kasar yang diperoleh. Pada suasana basa ion Cu^{2+} bereaksi dengan gugus $-\text{CO}$ dan $-\text{NH}$ pada asam amino dalam protein dan menghasilkan warna violet (Lehninger, 1982).

Hasil uji Bradford menunjukkan terjadinya perubahan warna yang sama dengan kontrol positif (Lampiran 20). Prinsip dasar dari uji Bradford adalah adanya interaksi antara protein dengan zat warna Coomassie Brilliant Blue (CBB). Reagen CBB merupakan zat warna spesifik yang dapat bereaksi dengan protein. Reagen ini membentuk kationik dan tidak mengabsorpsi cahaya pada 595 nm,

Universitas Indonesia

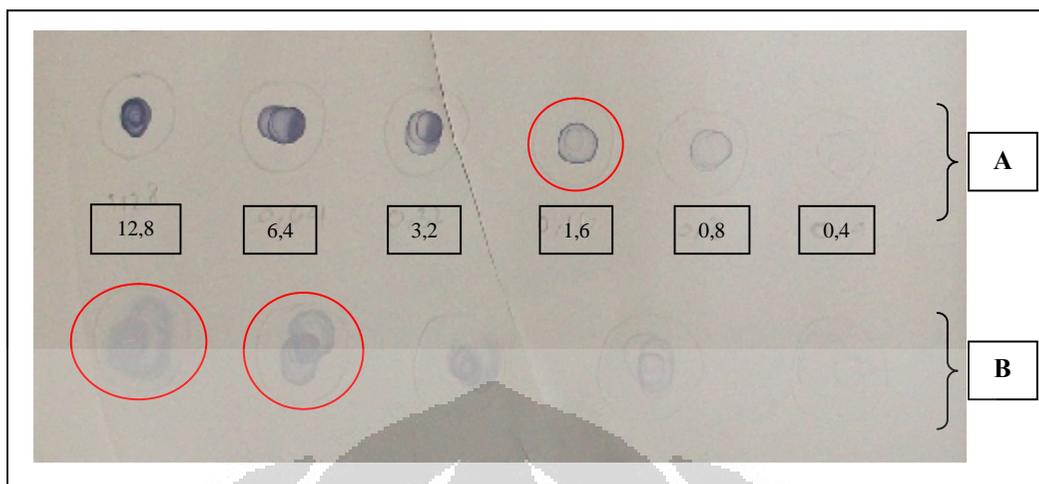
namun ketika reagen berikatan dengan protein terdapat stabilitas bentuk proton anionik rangkap dari reagen sehingga dapat mengabsorpsi cahaya pada 595 nm membentuk kompleks antara CBB dengan protein yang berwarna biru (Lehninger, 1982).

Hasil positif dari kedua jenis pengujian menunjukkan bahwa ekstrak kolagen kasar hasil liofilisasi adalah protein sehingga dapat dilanjutkan dengan metode untuk mendeteksi keberadaan kolagen. Menurut Arlyza (2009), kandungan kolagen dalam tubuh teripang mencapai 80% dari total protein yang dimilikinya.

Pengujian lanjutan yang dilakukan untuk mendeteksi kolagen menggunakan metode Dot Blot, yaitu suatu teknik untuk mendeteksi, menganalisis, dan mengidentifikasi protein. Teknik ini menyerupai Western Blot namun perbedaannya adalah protein sampel tidak dipisahkan melalui elektroforesis, akan tetapi ditandai dengan *template* sirkuler secara langsung pada membran (Harlow & Lane, 1999). Prinsip metode Dot Blot adalah mendeteksi kespesifikan reaksi antara antigen dan antibodi. Hasil positif apabila terbentuk noktah pada membran nitroselulosa. Kualitas hasil dilihat berdasarkan gradasi warna (Mearns *et al.*, 1988). Metode yang digunakan pada penelitian merupakan metode untuk mendeteksi keberadaan kolagen dalam sampel khususnya kolagen Tipe I.

Antibodi primer anti kolagen tipe I dengan antibodi sekunder HRP *conjugated* IgG dengan kloronaftol memberikan visualisasi biru keunguan terhadap keberadaan kolagen tipe I. Hasil pengujian metode Dot Blot dapat dilihat pada Gambar 4.2. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa dalam 1 µg sampel hasil ekstraksi mengandung 0,16 µg kolagen tipe I. Hal tersebut menunjukkan bahwa sampel hasil ekstraksi mengandung kolagen. Persentase kolagen yang di dapat relatif kecil. Hal tersebut dapat disebabkan metode Dot Blot yang digunakan hanya mendeteksi kolagen tipe I, sehingga pada sampel hasil ekstraksi mungkin juga mengandung kolagen tipe lain. Menurut Cui *et al.* (2007), kolagen pada invertebrata termasuk teripang terdiri dari kolagen tipe I dan V. Selain itu, pada ekstrak kolagen kasar masih banyak mengandung protein lain yang mungkin terbawa karena metode yang dilakukan tidak sampai tahap purifikasi.

Universitas Indonesia



Keterangan : A. Warna yang dihasilkan oleh standar; B. Warna yang dihasilkan oleh ekstrak kolagen kasar; O. Kesesuaian warna antara standar dengan ekstrak kolagen kasar.

Gambar 4.2. Hasil deteksi keberadaan kolagen dengan metode Dot Blot

Penelitian mengenai karakterisasi kolagen dari teripang umumnya menggunakan metode SDS PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate – Polyacrylamide Gel Electrophoresis*). Metode tersebut merupakan teknik elektroforesis yang menggunakan gel poliakrilamida untuk memisahkan protein bermuatan berdasarkan perbedaan tingkat migrasi dan berat molekulnya (BM) dalam sebuah medan listrik. Saito *et al.* (2002) dan Cui *et al.* (2007) menggunakan metode SDS PAGE untuk mengidentifikasi komposisi asam amino yang terdapat pada sampel ekstrak kolagen sehingga dapat diketahui jenis kolagen yang terkandung dalam sampel tersebut. Metode SDS PAGE tidak dapat mengukur kadar kolagen dalam sampel. Persentase kandungan kolagen yang terdapat pada ekstrak kolagen kasar belum pernah dilakukan sehingga tidak ada pembandingan untuk menentukan besar kecilnya kadar kolagen yang diperoleh pada penelitian ini.

4.3 Formulasi Sediaan Krim

Ekstrak kolagen kasar yang telah diliofilisasi kemudian dijadikan bahan baku untuk pembuatan krim pelembab. Sediaan yang digunakan adalah bentuk krim karena memiliki beberapa keuntungan antara lain, mudah dicuci dan

dihilangkan dari kulit dan pakaian, tidak berminyak, mempercepat pelepasan zat aktif karena mengandung air dalam jumlah banyak, menurunkan tegangan permukaan kulit sehingga absorpsi lebih optimal, mudah dioleskan, tidak lengket dan sediaan yang paling sesuai untuk bahan pelembab (Lachman *et al.*, 1994). Basis krim yang digunakan adalah jenis *vanishing cream* yaitu krim yang tergolong emulsi minyak dalam air (o/w). *Vanishing cream* lebih banyak disukai pada penggunaan sehari-hari karena memiliki keuntungan yaitu memberikan efek dingin pada kulit, tidak berminyak, serta memiliki kemampuan penyebaran yang baik. Pada penelitian tidak dilakukan optimasi pada formulasi sediaan krim yang digunakan karena penelitian ini hanya menggunakan satu macam konsentrasi dengan tujuan untuk pengujian efikasi dari bahan aktif.

Basis krim yang digunakan terdiri dari bahan-bahan dasar pembuatan krim pelembab seperti zat emolien, zat humektan, zat pengemulsi, zat pengawet dan antioksidan dan seluruh bahan yang digunakan memenuhi standar batas konsentrasi untuk penggunaan pada produk topikal (Lampiran 21). Komposisi bahan-bahan krim berdasarkan modifikasi pada formula yang terdapat pada Mitsui (1996).

Proses pembuatan sediaan krim dilakukan dengan modifikasi metode korpul emulsi kering. Pada metode korpul emulsi kering, fase minyak dicampur secara bersamaan dengan emulgator sehingga dihasilkan korpul emulsi dan kemudian ditambahkan air (Chaerunissa dkk., 2009). Pada penelitian ini, fase minyak yang terdiri dari asam stearat, setil alkohol, propilparaben dan gliseril monostearat setelah dilebur kemudian dicampur secara bersamaan dengan trietanolamin. Percampuran tersebut akan membentuk emulsi inti dan selanjutnya ditambahkan isopropil miristat.

Jumlah ekstrak kolagen kasar yang digunakan pada penelitian adalah sebesar 5%. Penentuan jumlah ekstrak kolagen kasar berdasarkan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Swatschek *et al.* (2002). Penelitian tersebut menggunakan kolagen dari biota laut spons dengan konsentrasi 5% pada sediaan krim yang juga digunakan sebagai bahan krim pelembab.

4.4 Evaluasi Fisik Sediaan Krim

Evaluasi sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo dilakukan melalui pengamatan berdasarkan parameter-parameter kestabilan fisik seperti organoleptis, homogenitas, pH, viskositas dan konsistensi. Hasil evaluasi fisik sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo pada minggu ke-0 dapat dilihat pada Tabel 4.5.

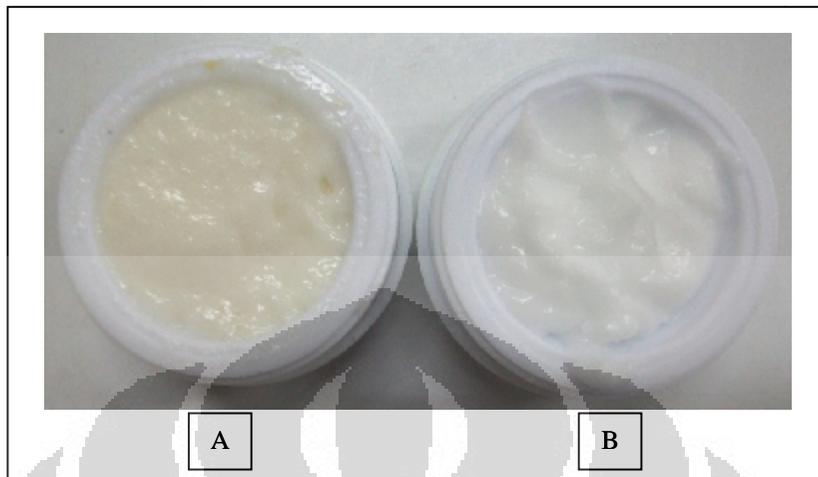
Tabel 4.5. Hasil evaluasi fisik sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo pada minggu ke-0

Pengamatan	Sediaan krim	
	Krim ekstrak kolagen kasar	Krim plasebo
Organoleptis	warna Ginseng, bau netral	warna High hiding white, bau netral
Homogenitas	Homogen	Homogen
pH	7,4	6,7
Viskositas (cps)	9.500	12.300
Konsistensi (10⁻¹ mm)	340	340

4.4.1 Pengamatan organoleptis

Ekstrak kolagen kasar yang sudah dicampurkan dengan bahan-bahan pembuatan krim maka akan membentuk krim kolagen kasar teripang. Krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo dilakukan pengamatan organoleptis dan juga performansi dari sediaan krim yang melibatkan 20 orang responden dengan menggunakan angket sebagai alat bantu (Lampiran 22). Pengamatan organoleptis terdiri dari penilaian terhadap bau, warna dan homogenitas. Penilaian terhadap warna menggunakan standar warna ACE *paint* (Lampiran 23). Penilaian terhadap bau dan homogenitas berdasarkan skala. Pengujian performansi sediaan krim terdiri dari penilaian terhadap penampilan fisik, kenyamanan pemakaian, dan

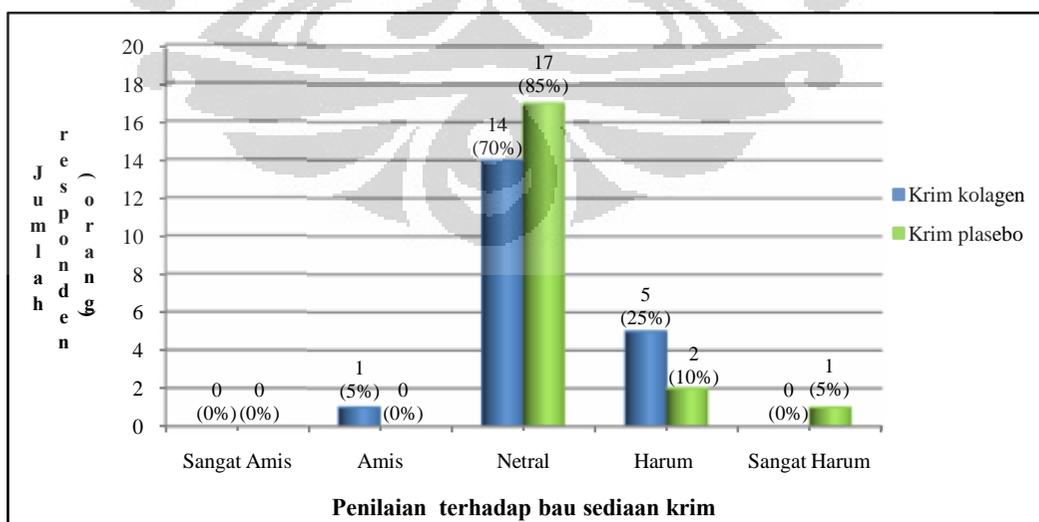
kemampuan melembabkan. Hasil evaluasi organoleptis krim ekstrak kolagen kasar dan juga krim plasebo dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Keterangan : A. Krim ekstrak kolagen kasar teripang, B. Krim plasebo

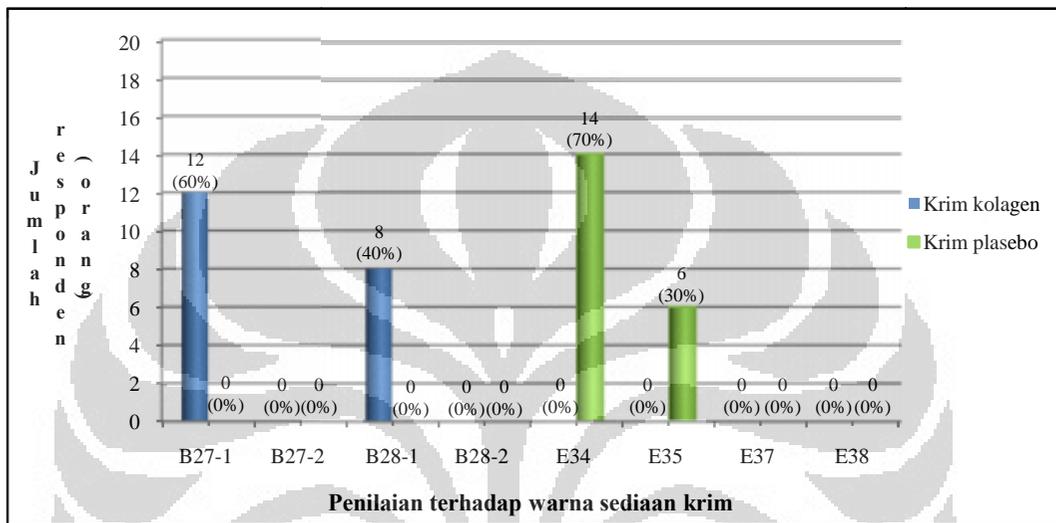
Gambar 4.3. Hasil pengamatan organoleptis sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo pada minggu ke-0.

Hasil penilaian organoleptis terhadap bau diketahui bahwa dari 20 orang responden (Gambar 4.4), 70% responden menilai bahwa sediaan krim ekstrak kolagen kasar berbau netral, 25% menilai berbau harum dan 5% menilai berbau amis. Penilaian terhadap krim plasebo diketahui bahwa 85% responden menilai berbau netral, 10% menilai berbau harum dan 5% menilai berbau sangat harum.



Gambar 4.4. Penilaian bau terhadap krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo yang melibatkan 20 orang responden.

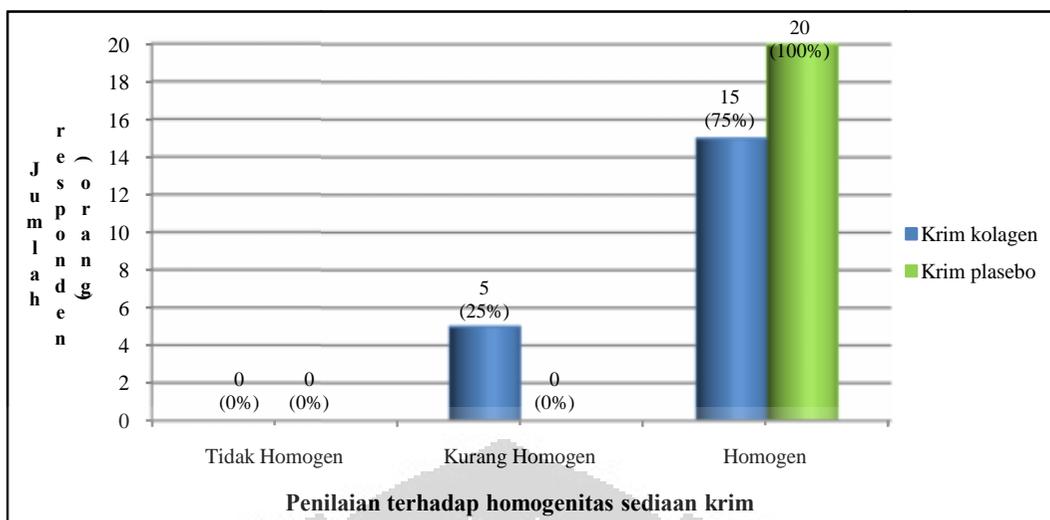
Hasil penilaian organoleptis terhadap warna sediaan krim (Gambar 4.5) diketahui bahwa 60% responden menilai sediaan krim ekstrak kolagen kasar berwarna *ginseng* (B27-1) dan 40% menilai berwarna *yellow tint* (B28-1). Penilaian terhadap krim plasebo diketahui bahwa 70% responden menilai berwarna *high hiding white* (E34) dan 30% menilai berwarna *contemporary white* (E35).



Keterangan: B27-1. Ginseng; B27-2. Yellow iris; B28-1. Yellow tint; B28-2. Afternoon sun; E34. High hiding white; E35. Contemporary white; E37. Bobby socks; E38. Casual white

Gambar 4.5. Penilaian warna terhadap krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo yang melibatkan 20 orang responden.

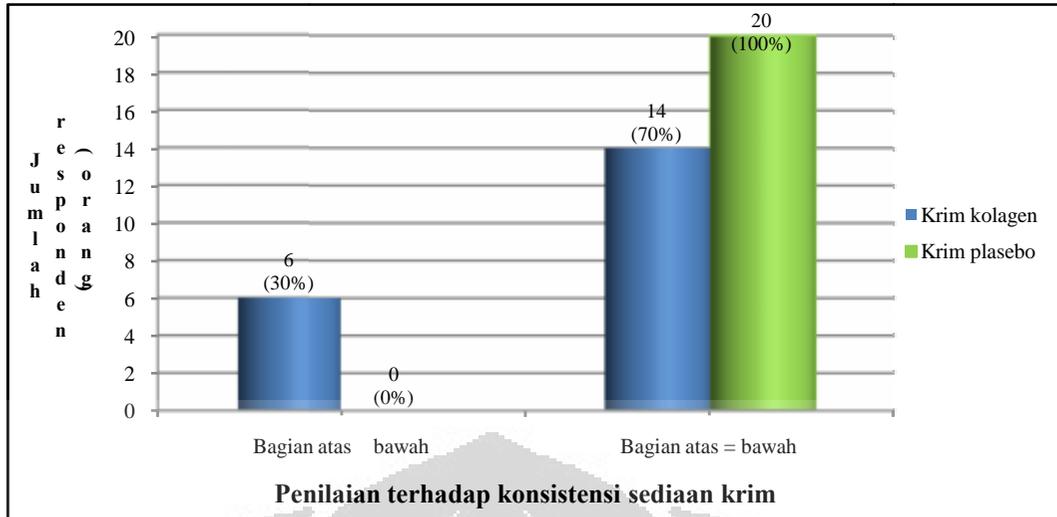
Hasil penilaian organoleptis terhadap homogenitas sediaan krim (Gambar 4.6) diketahui bahwa 75% responden menilai sediaan krim ekstrak kolagen kasar merupakan krim yang homogen secara visual dan 25% menilai sediaan krim kurang homogen. Penilaian terhadap krim plasebo diketahui bahwa 100% responden menilai bahwa basis krim merupakan sediaan yang homogen secara visual.



Gambar 4.6. Penilaian homogenitas terhadap krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo yang melibatkan 20 orang responden.

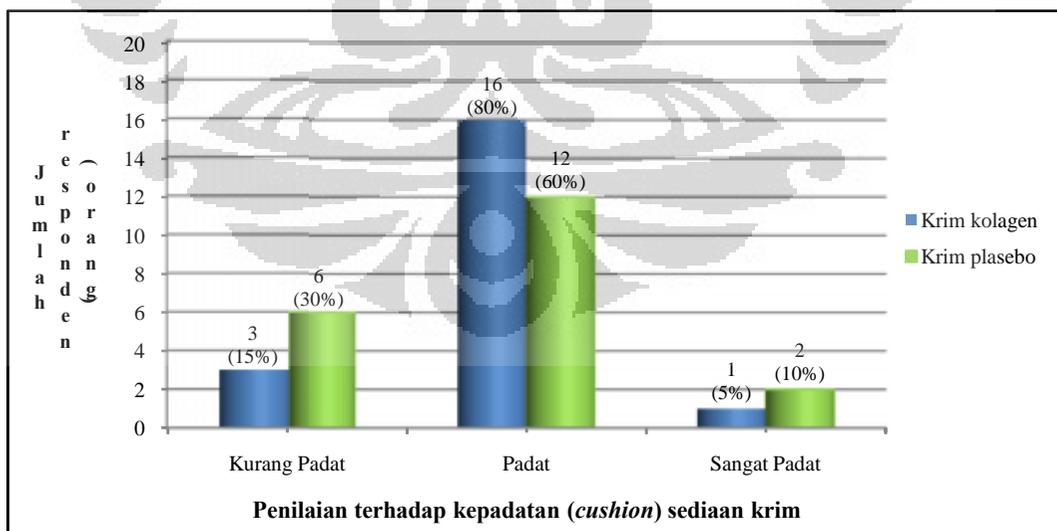
Berdasarkan hasil pengamatan organoleptis, maka disimpulkan bahwa mayoritas responden menilai bahwa krim kolagen kasar yang diproduksi berwarna ginseng, bersifat homogen dan tidak berbau amis (netral). Sediaan krim dengan ekstrak kolagen kasar sebanyak 5% memiliki warna yang berbeda dengan krim plasebo. Warna krim ekstrak kolagen kasar adalah warna *ginseng* sedangkan untuk krim plasebo berwarna *high hiding white*. Perbedaan warna tersebut disebabkan penambahan ekstrak kolagen kasar yang berwarna kekuningan. Bau amis yang muncul pada ekstrak kolagen kasar menjadi hilang ketika ekstrak kolagen kasar sudah dicampurkan dengan basis krim.

Hasil penilaian performansi terhadap konsistensi sediaan krim (Gambar 4.7) diketahui bahwa 70% responden menilai sediaan krim ekstrak kolagen kasar memiliki konsistensi yang stabil dan 30% responden menilai konsistensi tidak stabil. Hal tersebut berupa penilaian bahwa pada bagian atas dan bagian bawah krim memiliki tekstur dan kepadatan yang sama. Penilaian terhadap krim plasebo diketahui bahwa 100% responden menilai bahwa basis krim memiliki konsistensi yang stabil.



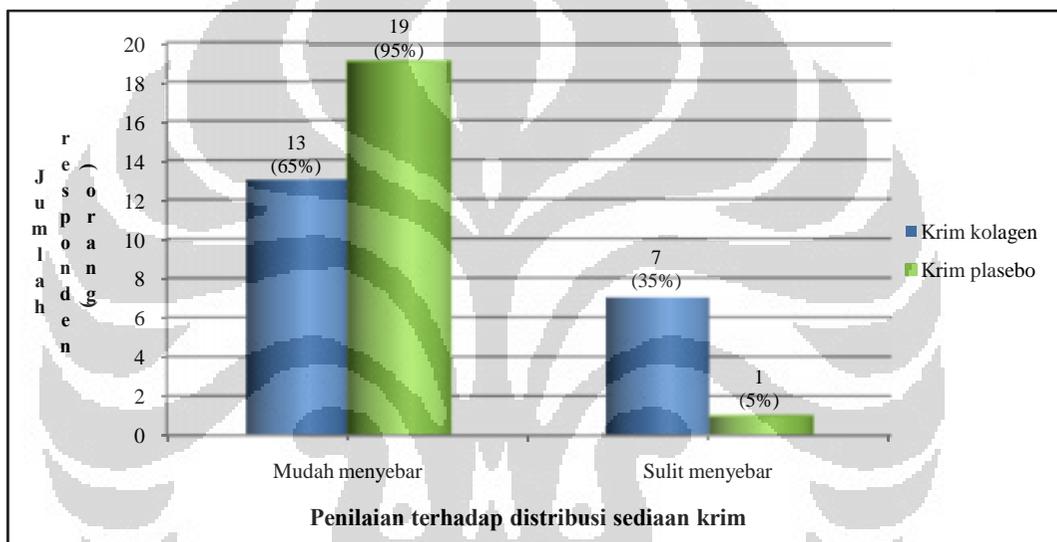
Gambar 4.7. Penilaian konsistensi sediaan terhadap krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo yang melibatkan 20 orang responden.

Hasil penilaian performansi terhadap kepadatan (*cushion*) sediaan krim (Gambar 4.8) diketahui bahwa 80% responden menilai sediaan krim ekstrak kolagen kasar merupakan krim yang padat, 15% menilai kurang padat dan 5% menilai sangat padat. Penilaian terhadap krim plasebo diketahui bahwa 60% responden menilai krim plasebo merupakan krim yang padat, 30% menilai kurang padat, dan 10% menilai sangat padat.



Gambar 4.8. Penilaian kepadatan (*cushion*) sediaan terhadap krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo yang melibatkan 20 orang responden.

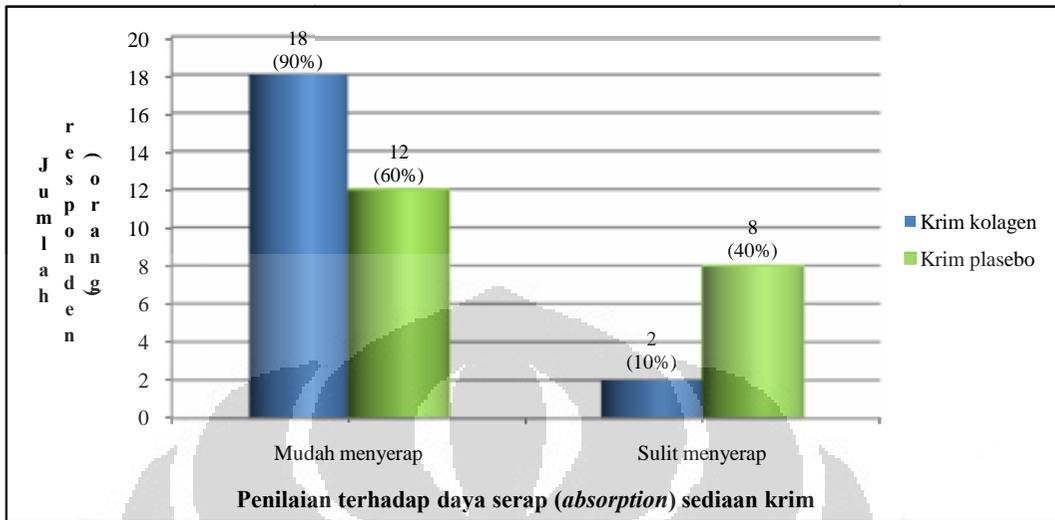
Hasil penilaian performansi terhadap distribusi sediaan krim ketika diaplikasikan ke kulit (Gambar 4.9) diketahui bahwa 65% responden menilai bahwa sediaan krim ekstrak kolagen kasar mudah menyebar ketika diaplikasikan ke kulit dan 35% menilai sulit menyebar. Penilaian terhadap krim plasebo diketahui bahwa 95% responden menilai krim plasebo mudah menyebar dan 5% menilai sulit menyebar. Responden cenderung menilai bahwa krim plasebo lebih mudah menyebar jika dibandingkan dengan krim ekstrak kolagen kasar. Hal tersebut dapat dikarenakan pada krim ekstrak kolagen kasar, ekstraknya masih terasa dan butuh waktu yang lebih lama untuk dapat menyebar ke kulit.



Gambar 4.9. Penilaian distribusi sediaan terhadap krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo yang melibatkan 20 orang responden.

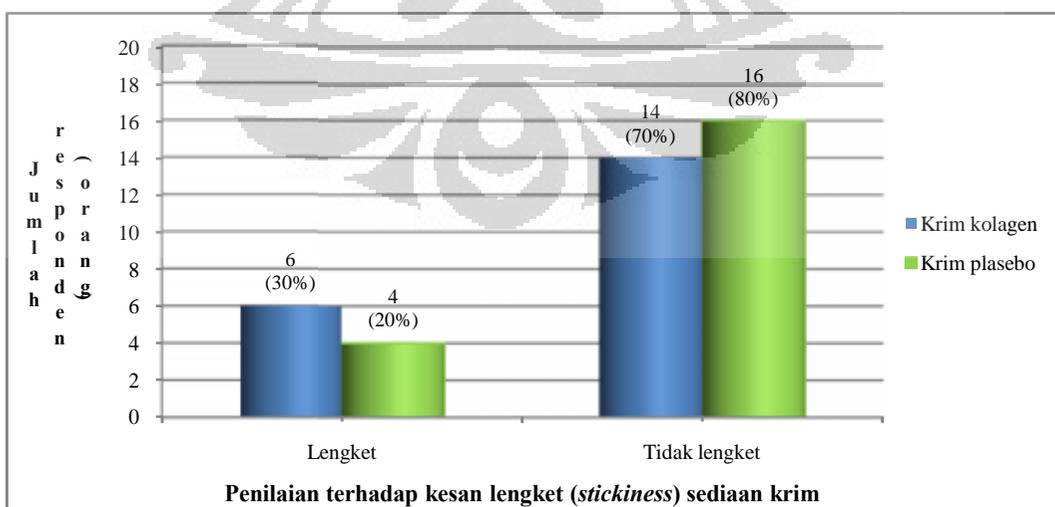
Hasil penilaian performansi terhadap daya serap (*absorption*) dan juga kecepatan penetrasi dari sediaan krim (Gambar 4.10) diketahui bahwa 90% responden menilai bahwa sediaan krim ekstrak kolagen kasar mudah menyerap dan cepat berpenetrasi ketika diaplikasikan ke kulit dan 10% menilai sulit menyerap. Penilaian terhadap krim plasebo diketahui bahwa 60% responden menilai krim plasebo mudah menyerap dan 40% menilai sulit menyerap. Responden cenderung menilai bahwa sediaan krim ekstrak kolagen kasar lebih mudah menyerap dan lebih cepat berpenetrasi ke kulit dibandingkan dengan krim

plasebo. Krim plasebo lebih lama kering dibandingkan dengan sediaan krim ekstrak kolagen kasar.



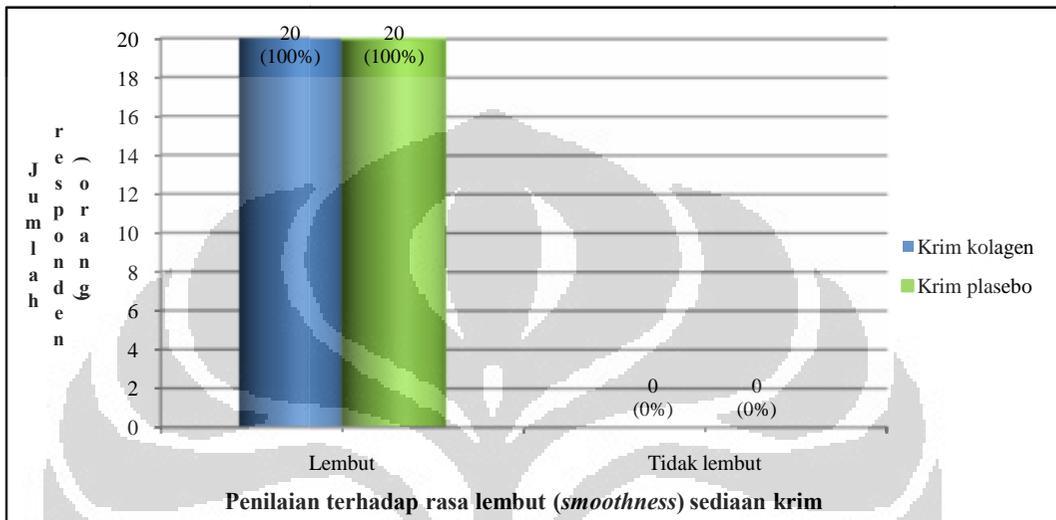
Gambar 4.10. Penilaian daya serap (*absorption*) sediaan terhadap krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo yang melibatkan 20 orang responden.

Hasil penilaian performansi terhadap kesan lengket (*stickiness*) dari sediaan krim (Gambar 4.11) diketahui bahwa 70% responden menilai bahwa sediaan krim ekstrak kolagen kasar tidak memberikan kesan lengket ketika diaplikasikan ke kulit dan 30% menilai memberikan kesan lengket. Penilaian terhadap krim plasebo diketahui bahwa 80% responden menilai krim plasebo tidak memberikan kesan lengket dan 20% menilai memberikan kesan lengket.



Gambar 4.11. Penilaian kesan lengket (*stickiness*) sediaan terhadap krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo yang melibatkan 20 orang responden.

Hasil penilaian performansi terhadap rasa lembut (*smoothness*) dari sediaan krim (Gambar 4.12) diketahui bahwa 100% responden menilai bahwa sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan juga krim plasebo memberikan rasa lembut ketika diaplikasikan ke kulit. Hal tersebut disebabkan oleh komposisi krim yang banyak mengandung zat emolien.



Gambar 4.12. Penilaian rasa lembut (*smoothness*) sediaan terhadap krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo yang melibatkan 20 orang responden.

Berdasarkan hasil uji performansi, maka disimpulkan bahwa mayoritas responden menilai bahwa sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan juga krim plasebo merupakan krim yang padat, lembut, tidak lengket, mudah menyerap dan mudah menyebar (Tabel 4.6).

Tabel 4.6. Hasil pengamatan uji performansi sediaan krim ekstrak kolagen kasar serta krim plasebo.

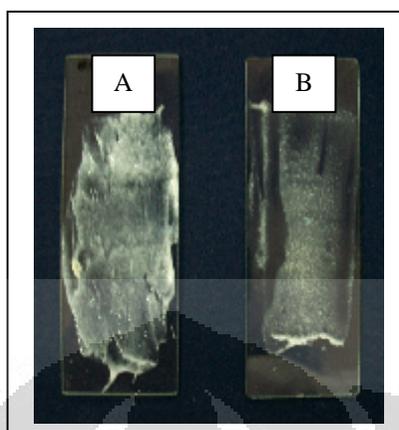
Uji performansi	Sediaan	
	Krim ekstrak kolagen kasar	Krim plasebo
<i>Consistency</i>	Konsisten	Konsisten
<i>Cushion</i>	Padat	Padat
<i>Distribution</i>	Mudah menyebar	Mudah menyebar
<i>Absorption</i>	Mudah menyerap	Mudah menyerap
<i>Stickness</i>	Tidak lengket	Tidak lengket
<i>Smoothness</i>	Lembut	Lembut

Krim ekstrak kolagen kasar yang diproduksi tidak menunjukkan pemisahan fase, perubahan warna maupun perubahan bau selama masa penyimpanan. Salah satu penyebab terjadinya pemisahan fase yaitu apabila fase air dan minyak pada komposisi basis krim tidak tercampur dengan baik. Pada pembuatan krim ekstrak kolagen kasar, fase air dan minyak tercampur dengan baik serta ekstrak kolagen kasar juga terdispersi dengan baik sehingga dihasilkan krim yang homogen. Berdasarkan hasil evaluasi organoleptis, maka krim ekstrak kolagen kasar yang dihasilkan merupakan krim yang baik. Menurut Anief (2000), syarat-syarat krim yang baik adalah stabil selama dalam pemakaian pada suhu kamar dan kelembaban yang ada dalam kamar, lunak yaitu semua zat dalam keadaan halus, seluruh bahan homogen, dan mudah dipakai.

4.4.2 Pemeriksaan homogenitas

Pemeriksaan homogenitas dilakukan untuk melihat homogenitas sediaan krim pada saat dioleskan. Hasil pemeriksaan homogenitas menunjukkan bahwa sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo yang diproduksi memiliki homogenitas yang baik, tidak mengalami perubahan, dan tetap menunjukkan susunan yang homogen. Hal tersebut menunjukkan bahwa bahan-bahan penyusun

sediaan krim dan juga ekstrak kolagen kasar terlarut dan bercampur sempurna secara homogen. Hasil pengamatan homogenitas ditunjukkan pada Gambar 4.13.



Keterangan : A. Sediaan krim ekstrak kolagen kasar; B. Krim plasebo

Gambar 4.13. Perbandingan homogenitas sediaan krim ekstrak kolagen kasar teripang dengan krim plasebo.

4.4.3 Pengukuran pH

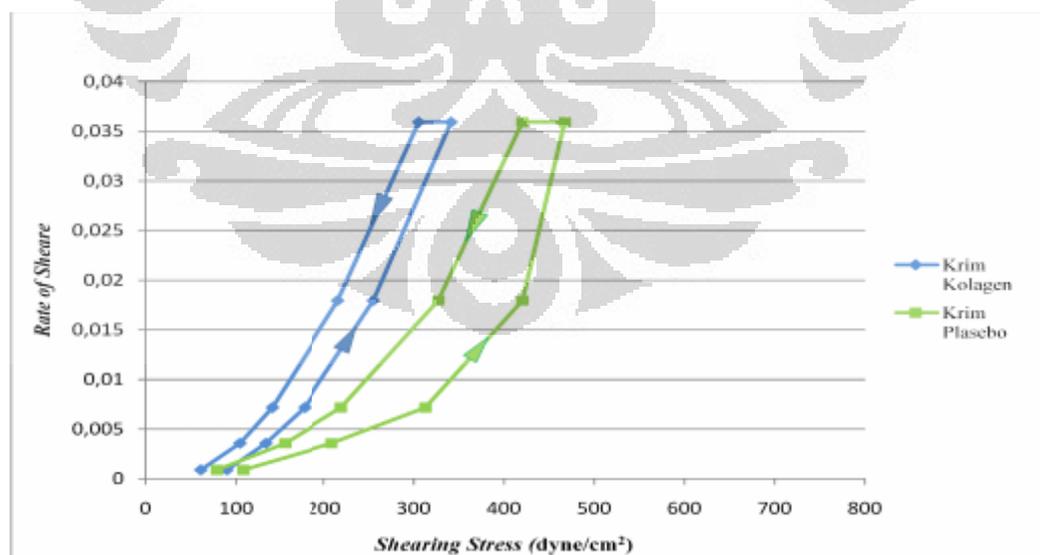
Hasil pengukuran pH sediaan dengan menggunakan alat pH meter menunjukkan nilai pH yang cenderung basa untuk sediaan krim ekstrak kolagen kasar yaitu 7,40 dan nilai pH yang mendekati netral untuk krim plasebo, yaitu 6,70. Hasil pengukuran tersebut menunjukkan bahwa pH sediaan krim ekstrak kolagen kasar berada di luar kriteria pH kulit, yaitu 4,5 – 6,5, akan tetapi masih sesuai dengan kriteria pH produk krim menurut SNI Nomor 16 – 4399 – 1996 sebagai syarat mutu pelembab kulit, yaitu berkisar antara 4,5 – 8 (DSN, 1996). Sifat basa yang terdapat pada sediaan krim dapat disebabkan karena ekstrak kolagen kasar teripang sebagai zat aktif bersifat basa. Nilai pH untuk ekstrak kolagen kasar adalah sebesar 8,31. Dari data hasil pengukuran pH disimpulkan bahwa sediaan krim ekstrak kolagen kasar bersifat basa tetapi masih sesuai dengan kriteria untuk sediaan krim kosmetik.

Pada pembuatan krim, peneliti tidak menambahkan asam sitrat sebagai pengatur pH sehingga pH sediaan krim kolagen kasar cenderung basa. Hal tersebut karena kolagen memiliki titik isoelektrik pada pH 7 – 8 (Eisen *et al.*, 1968) sehingga pada pembuatan krim tidak ditambahkan asam sitrat.

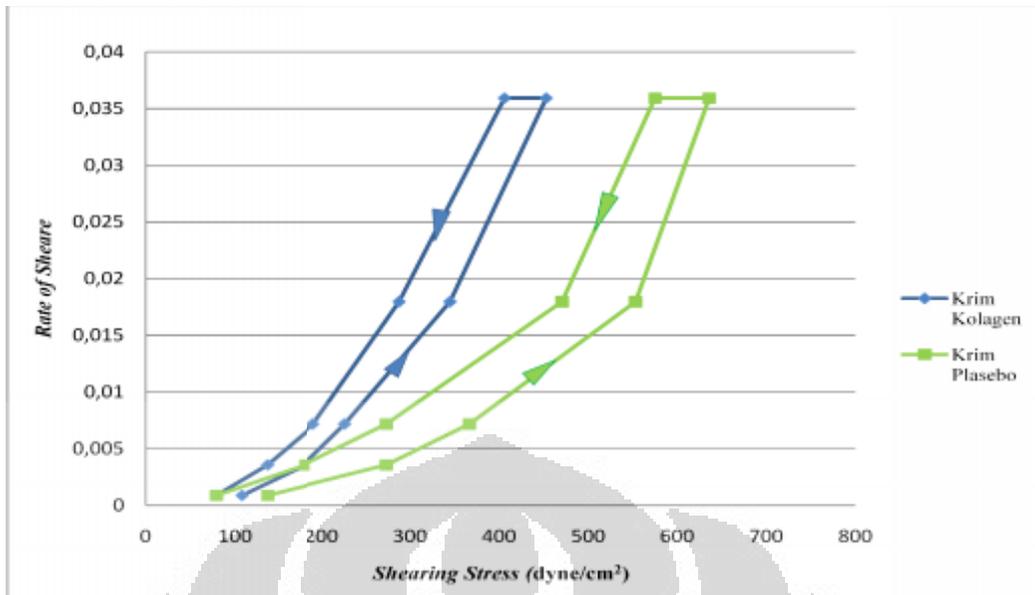
Universitas Indonesia

4.4.4 Penentuan viskositas dan sifat alir

Hasil pengukuran viskositas sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo pada minggu awal (minggu ke-0) dan setelah penyimpanan pada suhu kamar selama 12 minggu dapat dilihat pada Lampiran 24 – 27. Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan alat Viskometer Brookfield tipe RV dengan spindel 5 yang umumnya digunakan untuk mengukur viskositas sediaan setengah padat. Viskositas krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo mengalami peningkatan viskositas antara viskositas awal dengan viskositas setelah penyimpanan selama 12 minggu. Viskositas untuk krim ekstrak kolagen kasar pada minggu ke-0 adalah 9.500 cps dan pada minggu ke-12 adalah 12.600 cps. Viskositas untuk krim plasebo pada minggu ke-0 adalah 12.300 cps dan pada minggu ke-12 adalah 17.700 cps. Viskositas kedua jenis krim pada minggu ke-0 dan ke-12 memenuhi syarat yang ditetapkan oleh SNI 16-4399-1996, yaitu antara 2.000 – 50.000 cps (DSN, 1996). Pada pengukuran minggu awal (minggu ke-0) maupun setelah penyimpanan selama 12 minggu, rheogram yang dihasilkan menunjukkan bahwa sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan juga krim plasebo memiliki sifat aliran pseudoplastis tiksotropik (Gambar 4.14 dan 4.15).



Gambar 4.14. Rheogram viskositas sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo pada minggu ke-0.



Gambar 4.15. Rheogram viskositas sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo pada minggu ke-12.

Penentuan sifat alir tiksotropik yaitu karena kurva menurun berada di sebelah kiri kurva menaik. Hal tersebut menunjukkan sediaan krim kolagen kasar dan juga krim plasebo memiliki konsistensi lebih rendah pada setiap *rate of share*. Sifat alir tiksotropik menandakan bahwa adanya pemecahan atau perubahan struktur yang tidak terbentuk kembali ke keadaan semula dengan segera apabila tekanan dikurangi. Tiksotropik adalah suatu sifat yang diharapkan dalam suatu sediaan farmasetika, yaitu mempunyai konsistensi yang tinggi dalam wadah namun dapat dituang dan tersebar dengan mudah. Sifat aliran yang demikian merupakan sifat aliran yang diharapkan dalam suatu sediaan krim karena pada sediaan krim diharapkan memiliki penetrasi yang baik ke dalam kulit (Martin *et al.*, 1969).

Sifat aliran tiksotropik umumnya dijumpai pada zat yang mempunyai aliran plastik dan pseudoplastik. Sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo memiliki aliran pseudoplastik. Viskositas aliran pseudoplastik berkurang dengan meningkatnya *rate of shear*. Sediaan dengan aliran pseudoplastik tidak memiliki *yield value*. Rheogram lengkung untuk bahan-bahan pseudoplastis ini disebabkan adanya aksi *shearing* terhadap molekul-molekul polimer (atau suatu bahan berantai panjang). Dengan meningkatnya shearing stress, molekul-molekul

yang secara normal tidak beraturan, mulai menyusun sumbu yang panjang dalam arah aliran. Sediaan dengan aliran pseudoplastik tidak memiliki bagian yang linier sehingga tidak mempunyai harga viskositas yang absolut (Martin *et al.*, 1969).

4.4.5 Penentuan konsistensi

Penentuan konsistensi sediaan semisolid dilakukan dengan menggunakan alat penetrometer. Hasil pengukuran pada sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo pada minggu awal (minggu ke-0) menunjukkan angka kedalaman penetrasi yang sama yaitu sebesar 340 1/10 mm. Pada minggu ke-12, terjadi perubahan angka kedalaman penetrasi. Sediaan krim ekstrak kolagen kasar memiliki angka kedalaman penetrasi sebesar 305 1/10 mm dan krim plasebo memiliki angka kedalaman penetrasi sebesar 270 1/10 mm (Tabel 4.7).

Tabel 4.7. Hasil uji konsistensi sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo pada minggu ke-0 dan minggu ke-12.

Sediaan Krim	Minggu ke-0	Minggu ke-12
	1/10 mm	1/10 mm
Krim ekstrak kolagen kasar	340	305
Krim plasebo	340	270

Hasil pengukuran konsistensi menunjukkan bahwa sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo termasuk sediaan krim yang padat. Pada minggu ke-12 hasil konsistensi menunjukkan bahwa sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo konsistensinya menjadi lebih padat. Krim plasebo memiliki konsistensi yang lebih padat dari krim ekstrak kolagen kasar. Hal tersebut diduga dengan penambahan ekstrak kolagen kasar akan mempertahankan konsistensi sediaan krim.

4.5 Uji Stabilitas Sediaan Krim

Uji stabilitas bertujuan untuk mengetahui kestabilan fisik pada sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan juga krim plasebo yang disimpan selama 12 minggu pada suhu yang berbeda. Sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo disimpan selama 12 minggu pada kondisi suhu yang berbeda yaitu suhu rendah (4 ± 2 °C), suhu kamar (28 ± 2 °C) dan suhu tinggi (40 ± 2 °C). Pada periode waktu penyimpanan dilakukan pengamatan organoleptis dan pemeriksaan pH.

Uji *cycling test* dilakukan pada dua kondisi suhu yang berbeda, yaitu suhu dingin (4 ± 2 °C) dan suhu panas (40 ± 2 °C) selama 6 siklus atau 12 hari serta uji mekanik yang dilakukan dengan alat sentrifugasi dengan kecepatan 3.800 rpm selama 5 jam.

4.5.1 Uji stabilitas pada suhu 4 ± 2 °C, 28 ± 2 °C dan 40 ± 2 °C

Hasil pengamatan organoleptis sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo pada penyimpanan dalam suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi dapat dilihat pada Tabel 4.8 dan Tabel 4.9. Pengamatan organoleptis sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo pada suhu 4 ± 2 °C dapat dilihat pada Lampiran 28, penyimpanan pada suhu 28 ± 2 °C dapat dilihat pada Lampiran 29, dan penyimpanan pada suhu 40 ± 2 °C dapat dilihat pada Lampiran 30.

Tabel 4.8. Hasil pengamatan organoleptis sediaan krim ekstrak kolagen kasar pada suhu rendah, suhu kamar dan suhu tinggi selama 12 minggu.

Suhu	Minggu ke-	Pengamatan			
		Warna	Bau	Homogenitas	Pemisahan fase
$4 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$	2	Ginseng	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	4	Ginseng	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	6	Ginseng	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	8	Ginseng	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	12	Ginseng	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
$28 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$	2	Ginseng	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	4	Ginseng	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	6	Ginseng	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	8	Ginseng	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	12	Ginseng	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
$40 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$	2	Ginseng	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	4	Ginseng	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	6	Ginseng	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	8	Ginseng	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	12	Ginseng	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase

Tabel 4.9. Hasil pengamatan organoleptis krim plasebo pada suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi selama 12 minggu.

Suhu	Minggu ke-	Pengamatan			
		Warna	Bau	Homogenitas	Pemisahan fase
$4 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$	2	High hiding white	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	4	High hiding white	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	6	High hiding white	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	8	High hiding white	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	12	High hiding white	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
$28 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$	2	High hiding white	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	4	High hiding white	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	6	High hiding white	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	8	High hiding white	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	12	High hiding white	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
$40 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$	2	High hiding white	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	4	High hiding white	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	6	High hiding white	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	8	High hiding white	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	12	High hiding white	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase

Sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo selama 12 minggu penyimpanan tidak menunjukkan adanya perubahan warna dan tetap homogen selama penyimpanan karena tidak menunjukkan adanya pemisahan fase minyak dan fase air. Hal tersebut terjadi karena zat aktif dan basis krim tercampur secara homogen serta jumlah emulgator yang cukup untuk menstabilkan emulsi. Uji *cycling test* dilakukan sebagai uji stabilitas awal sehingga kemungkinan ketidakstabilan krim dalam penyimpanan pada tiga kondisi yang berbeda dapat diperkirakan.

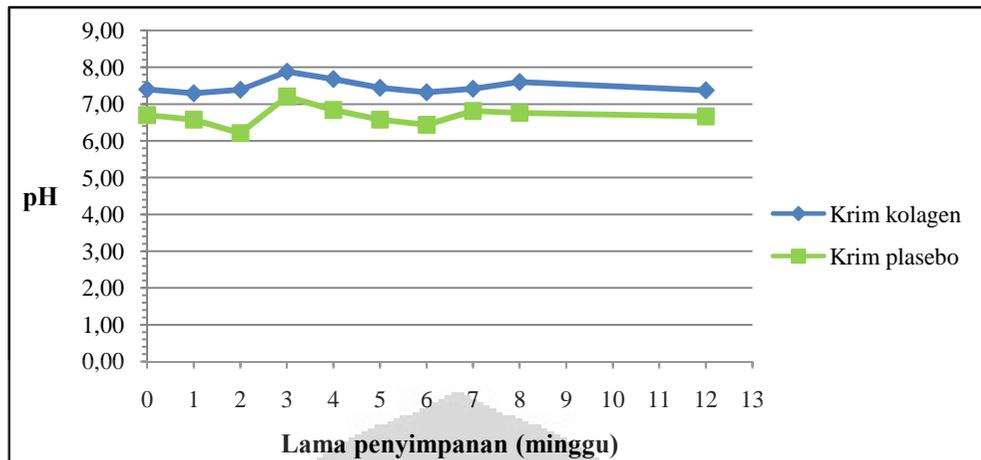
Pada sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo yang disimpan pada suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi selama 12 minggu tidak menunjukkan timbulnya ketengikan maupun perubahan bau. Krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo tidak mengalami perubahan bau dikarenakan mendapat penambahan BHT yang dapat mencegah reaksi oksidasi dari fase minyak (Anggriani, 2011). Perubahan bau atau sering disebut ketengikan dapat terjadi pada sediaan krim selama masa penyimpanan. Hal tersebut disebabkan oleh oksigen dari udara terhadap minyak atau lemak (Martin *et al.*, 1969). Selain itu, pengaruh terpaparnya cahaya yang merupakan katalisator timbulnya ketengikan juga dapat menyebabkan oksidasi lemak dipercepat.

Hasil pengukuran pH pada minggu ke-0 dan minggu ke-12 untuk sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo pada penyimpanan suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi dapat dilihat pada Tabel 4.10.

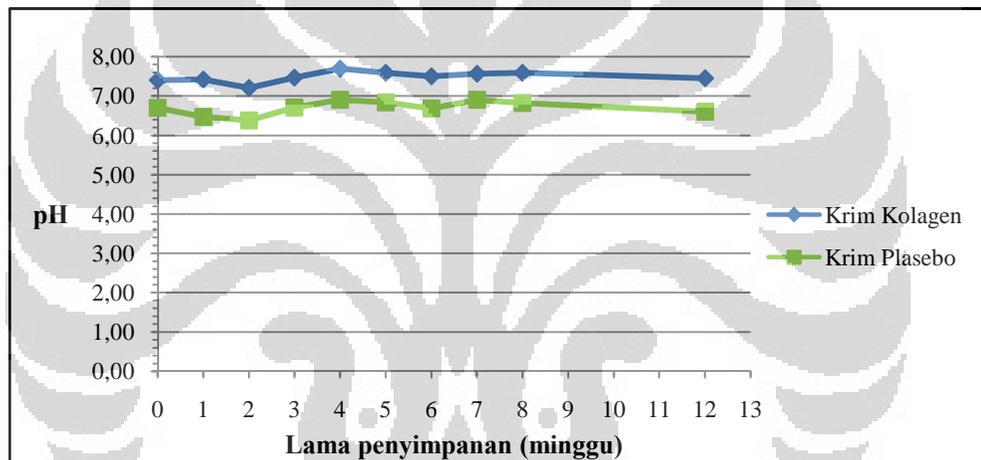
Tabel 4.10. Hasil pengukuran pH minggu ke-0 dan minggu ke-12 sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo.

Suhu penyimpanan	Pengukuran pH			
	Krim ekstrak kolagen kasar		Krim plasebo	
	Minggu ke-0	Minggu ke-12	Minggu ke-0	Minggu ke-12
$4 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$	7,40	7,38	6,70	6,67
$28 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$	7,40	7,46	6,70	6,60
$40 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$	7,40	7,39	6,70	6,65

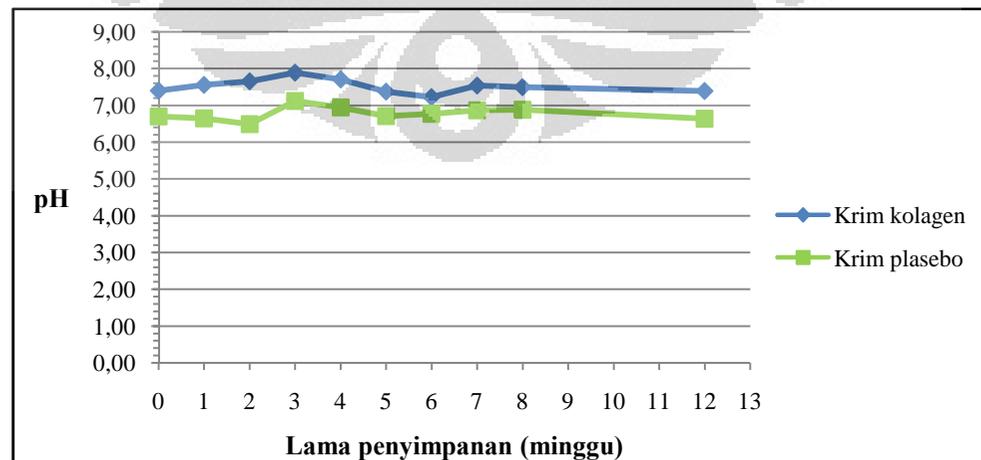
Perubahan pH sediaan krim ekstrak kolagen kasar kasar dan krim plasebo selama 12 minggu pada penyimpanan suhu $4 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ dapat dilihat pada Gambar 4.16 dan Lampiran 31, penyimpanan pada suhu $28 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ dapat dilihat pada Gambar 4.17 dan Lampiran 32, serta penyimpanan pada suhu $40 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ dapat dilihat pada Gambar 4.18 dan Lampiran 33.



Gambar 4.16. Kurva perubahan pH pada penyimpanan 4 ± 2 °C.



Gambar 4.17. Kurva perubahan pH pada penyimpanan 28 ± 2 °C.



Gambar 4.18. Kurva perubahan pH pada penyimpanan 40 ± 2 °C.

Kestabilan pH merupakan salah satu parameter penting yang menentukan stabil atau tidaknya suatu sediaan. Derajat keasaman (pH) merupakan pengukuran aktivitas hidrogen dalam lingkungan air. Nilai pH awal dari sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo berada di luar kisaran pH *balance* kulit karena sedikit basa, akan tetapi masih sesuai dengan SNI Nomor 16 – 4399 – 1996 sehingga masih aman dan memenuhi kriteria. Nilai pH tidak boleh terlalu asam karena dapat menyebabkan iritasi pada kulit sedangkan jika pH terlalu tinggi dapat menyebabkan kulit bersisik.

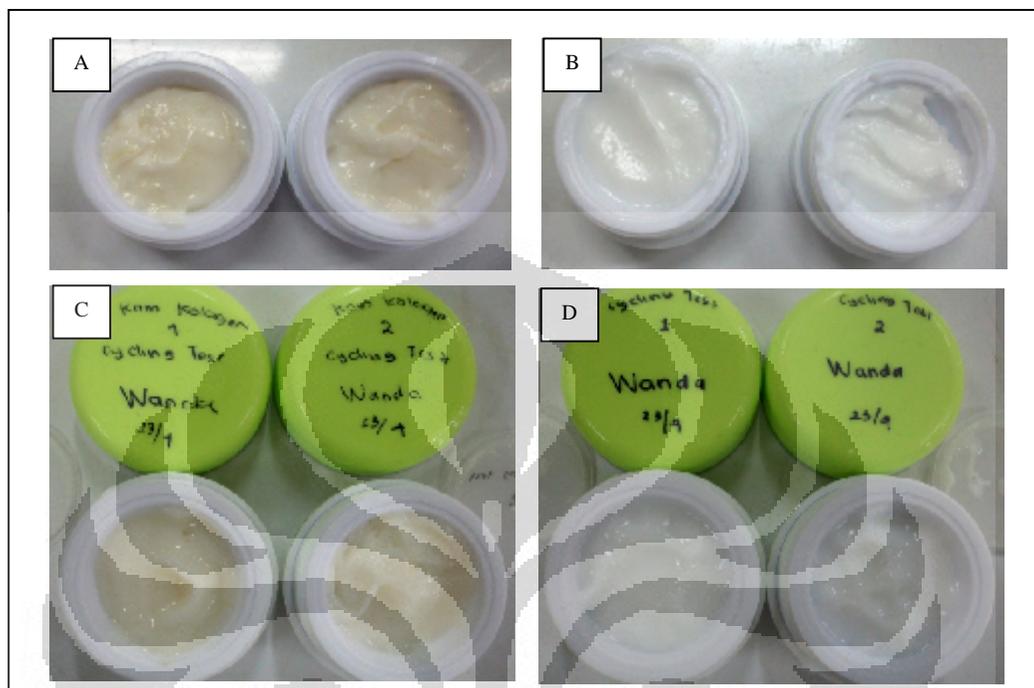
Sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo disimpan pada suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi selama 12 minggu, secara umum tidak mengalami perubahan yang cukup besar. Perubahan pH pada sediaan krim ekstrak kolagen kasar relatif stabil walaupun mengarah ke pH basa. Perubahan pH pada krim plasebo relatif stabil selama 12 minggu penyimpanan walaupun mengarah ke pH netral. Kenaikan pH yang cukup besar terjadi saat penyimpanan minggu ke-3 pada suhu 4 ± 2 °C dan setelah itu pH mengalami penurunan dan relatif stabil selama masa penyimpanan sampai minggu ke-12. Perubahan pH yang cenderung basa mungkin disebabkan karena ekstrak kolagen yang dicampurkan dalam basis krim bersifat basa sehingga memengaruhi pH sediaan krim.

4.5.2 *Cycling test*

Cycling test pada emulsi dilakukan untuk menguji produk terhadap kemungkinan mengalami kristalisasi sebagai indikator kestabilan emulsi. *Cycling test* juga digunakan sebagai simulasi adanya perubahan suhu setiap tahun bahkan setiap hari.

Hasil *cycling test* pada sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo menunjukkan bahwa kedua jenis sediaan memiliki stabilitas yang baik. Pada 6 siklus perlakuan uji *cycling test*, kedua jenis sediaan tidak menunjukkan pemisahan fase dan tidak terjadi kristalisasi (Gambar 4.19; Lampiran 34). Hal tersebut menunjukkan bahwa zat yang bertindak sebagai pengemulsi dalam hal ini adalah asam stearat, gliserol monostearat, setil alkohol dan juga trietanolamin

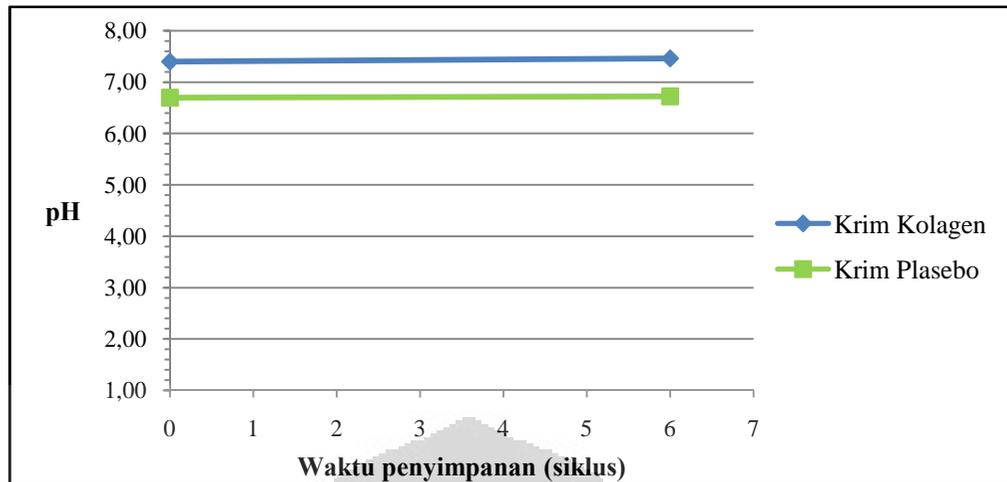
mampu menyatukan fase minyak dan air secara baik sehingga tercampur homogen dan tetap stabil.



Keterangan : A. *Cycling test* sediaan krim ekstrak kolagen kasar pada siklus ke-0; B. *Cycling test* krim plasebo pada siklus ke-0; C. *Cycling test* sediaan krim ekstrak kolagen kasar pada siklus ke-6; D. *Cycling test* krim plasebo pada siklus ke-6

Gambar 4.19. Hasil uji *cycling test* sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo

Pemeriksaan pH juga dilakukan pada uji *cycling test*. Pada siklus ke-0, pH untuk sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo masing-masing sebesar 7,40 dan 6,70. Pada siklus ke-6, pH untuk sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo masing-masing sebesar 7,47 dan 6,73 (Gambar 4.20). Perubahan suhu secara ekstrim dari suhu rendah ke suhu tinggi selama jangka waktu 12 hari tidak berpengaruh terhadap pH sediaan. Hal tersebut menunjukkan bahwa sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo tidak hanya stabil secara fisik tetapi pH sediaan juga stabil, sehingga dapat disimpulkan bahwa sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo termasuk sediaan krim yang tahan terhadap stress akibat suhu ekstrim.



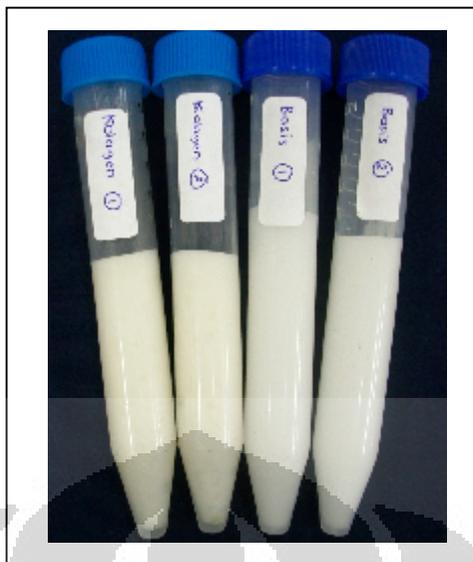
Gambar 4.20. Kurva perubahan pH pada *cycling test*.

4.5.3 Uji mekanik (*sentrifugal test*)

Hasil uji mekanik yang dilakukan pada sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo menunjukkan tidak terjadinya pemisahan fase setelah dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 3.800 rpm selama 5 jam terhadap kedua jenis sediaan. Hasil pengamatan uji mekanik dapat dilihat pada Tabel 4.12 dan Gambar 4.21.

Tabel 4.12. Hasil pengamatan uji mekanik

Sediaan krim	Sebelum sentrifugasi	Setelah Sentrifugasi	Pemisahan fase
	Warna	Warna	
Krim ekstrak kolagen kasar	Ginseng	Ginseng	Tidak terjadi pemisahan fase
Krim plasebo	High hiding white	High hiding white	Tidak terjadi pemisahan fase



Gambar 4.21. Hasil uji mekanik sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo.

Uji mekanik atau uji sentrifugasi merupakan salah satu indikator kestabilan fisik sediaan semisolid. Uji mekanik dilakukan untuk mengetahui *shelf life* krim selama 1 tahun, dimana gaya gravitasi selama setahun dapat tergambarkan dengan kecepatan perputaran 3.750 rpm selama 5 jam (Lachman *et al.*, 1994). Hasil uji mekanik sediaan krim kolagen kasar dan krim plasebo menunjukkan bahwa kedua jenis krim dapat dianggap memiliki *shelf life* selama setahun dikarenakan tidak terjadinya pemisahan fase krim pada uji ini. Hal tersebut disebabkan surfaktan yang digunakan mampu melindungi tetesan-tetesan minyak pada sediaan krim sehingga fase minyak dan fase air tercampur dengan baik.

4.6 Uji Keamanan Sediaan Krim terhadap Sukarelawan

Uji tempel (*patch test*) adalah uji iritasi dan kepekaan kulit yang dilakukan dengan cara mengoleskan sediaan uji pada kulit normal manusia dengan maksud untuk mengetahui apakah sediaan uji itu dapat menimbulkan iritasi atau kepekaan kulit atau tidak.

Iritasi dan alergi kulit adalah reaksi kulit terhadap toksikan kulit. Jika toksikan diletakkan pada kulit akan menyebabkan kerusakan kulit. Iritasi kulit adalah reaksi kulit yang terjadi karena pelekatan toksikan golongan iritan dan dapat terjadi pada setiap orang, tidak melibatkan sistem imun tubuh serta terdapat beberapa faktor tertentu yang memegang peranan seperti keadaan permukaan kulit, lamanya bahan bersentuhan dengan kulit, usia pasien, adanya oklusi dan konsentrasi dari bahan. Alergi merupakan suatu reaksi yang berubah (alergi) terhadap suatu bahan tertentu (alergen) yang melibatkan sistem imun tubuh yang hanya terjadi pada orang-orang tertentu.

Pengujian keamanan dilakukan secara *in vivo* kepada 10 orang sukarelawan sebelum dilakukannya uji manfaat. Prosedur pengujian yang melibatkan manusia harus terlebih dahulu disetujui oleh komisi etik. Penelitian yang dilakukan telah disetujui oleh komisi etik (Lampiran 35) sehingga dapat melakukan uji ke manusia.

Sediaan yang diuji adalah sediaan krim yang mengandung ekstrak kolagen kasar teripang dan krim plasebo yang sudah memenuhi kriteria pengamatan stabilitas. Pemilihan 10 orang sukarelawan dilakukan berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang sesuai untuk uji manfaat. Jumlah tersebut dianggap valid untuk melakukan suatu pembuktian uji keamanan (Gozali dkk., 2009).

Uji keamanan dilakukan dengan mengoleskan sediaan krim yang mengandung ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo untuk melihat reaksinya terhadap kulit. Gejala iritasi yang diamati meliputi rasa panas, eritema, gatal-gatal, perih ataupun edema. Hasil uji keamanan dari sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo selama 48 jam pemakaian dapat dilihat pada Gambar 4.22 dan Lampiran 36.

No.	Relawan	Waktu pengamatan			
		0 menit	30 menit	4 jam	48 jam
1	YSI5				
2	SSI2				
3	VOL4				

Gambar 4.22. Hasil pengamatan uji iritasi (uji keamanan) terhadap subjek penelitian.

Pada 30 menit pertama dilakukan pemeriksaan awal untuk melihat apakah ada reaksi iritasi. Hasil pengamatan 30 menit pertama menunjukkan bahwa 1 orang sukarelawan merasakan panas dan 9 orang tidak mengalami reaksi apapun. Pengamatan dilanjutkan setelah 4 jam kemudian dan 1 orang merasakan keluhan panas sedangkan 9 orang sukarelawan lainnya tidak ada keluhan apapun dan pada pemeriksaan fisik seluruh sukarelawan tidak menunjukkan reaksi eritema maupun edema. Pemeriksaan keamanan dilanjutkan untuk jam ke-48 untuk melihat reaksi iritasi. Hasil pemeriksaan fisik menunjukkan bahwa 10 orang sukarelawan tidak ada keluhan rasa panas serta tidak mengalami eritema dan edema. Pada pengamatan 30 menit dan 4 jam, terdapat 1 orang sukarelawan yang merasakan panas adalah orang yang sama dan rasa panas tersebut hilang sehingga dinyatakan tidak mengalami iritasi.

Hasil pemeriksaan keamanan sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo menunjukkan bahwa tidak terjadi iritasi pada kulit 10 orang sukarelawan saat pemakaian sediaan selama 48 jam. Sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo tidak menyebabkan kulit merah, gatal, perih, panas ataupun timbul edema sehingga sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo aman digunakan secara topikal.

4.7 Uji Manfaat Sediaan Krim Kolagen Kasar

Sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo yang telah melalui uji iritasi maka dinyatakan layak untuk dilanjutkan ke uji manfaat. Uji manfaat dengan membandingkan antara sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo dilakukan untuk melihat manfaat kolagen sebagai bahan pelembab kulit yang bersifat oklusif. Pengujian manfaat kelembaban sediaan krim menggunakan metode *double blind* yaitu pada saat pengujian dilakukan baik sukarelawan dan evaluator tidak mengetahui sediaan krim yang diujikan. Sediaan krim yang diujikan menggunakan kode-kode. Menurut Layden & Rawling (2002), metode *double blind* perlu dilakukan untuk mencegah penilaian subjektif baik dari sukarelawan maupun dari evaluator. Hal tersebut dapat menyebabkan hasil yang diperoleh menjadi bias.

Pengujian manfaat dilakukan kepada sukarelawan yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Sukarelawan yang dipilih yaitu sukarelawan berjenis kelamin wanita, berusia 25 – 40 tahun, belum menopause, tidak merokok, memiliki kulit yang sehat, tidak sedang menderita dermatitis, tidak menderita penyakit kronis dan bersedia mengikuti penelitian hingga selesai. Pada saat ini banyak faktor yang dapat mempengaruhi kekeringan kulit, baik faktor internal maupun faktor eksternal. Kondisi lingkungan seperti suhu dan kelembaban dapat memengaruhi tingkat kekeringan kulit. Faktor internal seperti usia, nutrisi yang dikonsumsi, dan hormon juga mempengaruhi kekeringan kulit. Usia 25 tahun masuk dalam kriteria usia yang digunakan karena pada usia ini mulai muncul tanda-tanda penuaan dini yang dapat menyebabkan kulit kering.

Kriteria sukarelawan pada penelitian ini masih sesuai dengan kriteria untuk pengujian klinis kelembaban kulit. Menurut Layden & Rawling (2002), kriteria sukarelawan yang mengikuti pengujian kelembaban kulit harus memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi untuk pengujian kelembaban adalah sukarelawan berjenis kelamin wanita, berusia 30 – 60 tahun, bersedia mengikuti prosedur uji, dan tidak memakai produk topikal apapun selama pengujian. Kriteria eksklusi meliputi sukarelawan wanita yang sedang hamil dan menyusui, memiliki

penyakit kulit, sedang melakukan perawatan kulit, dan sensitif terhadap produk kosmetik atau bahan aktif yang terkandung di dalamnya.

Jumlah sukarelawan yang digunakan untuk uji manfaat adalah 10 orang. Jumlah tersebut didapat dari hasil perhitungan menggunakan rumus uji hipotesis terhadap rata-rata dua kelompok berpasangan. Jumlah tersebut juga sesuai dengan kriteria jumlah sukarelawan untuk pengujian kelembaban. Menurut Layden & Rawling (2002), jumlah sukarelawan yang digunakan untuk uji klinis kelembaban berkisar antara 10 – 30 orang.

Pengujian manfaat kelembaban dilakukan dengan kondisi yang sama untuk semua sukarelawan. Sukarelawan dibebaskan dari penggunaan produk topikal selama satu minggu sebelum dilakukan pengujian. Semua sukarelawan berada dalam kondisi lingkungan dan melakukan aktivitas yang sama. Semua sukarelawan berada dalam ruangan dengan suhu 29 °C dan kelembaban rata - rata sebesar 37%. Sukarelawan dilarang makan dan minum selama 4 jam pengujian. Perlakuan yang homogen untuk semua sukarelawan dilakukan agar data yang diperoleh tidak bias.

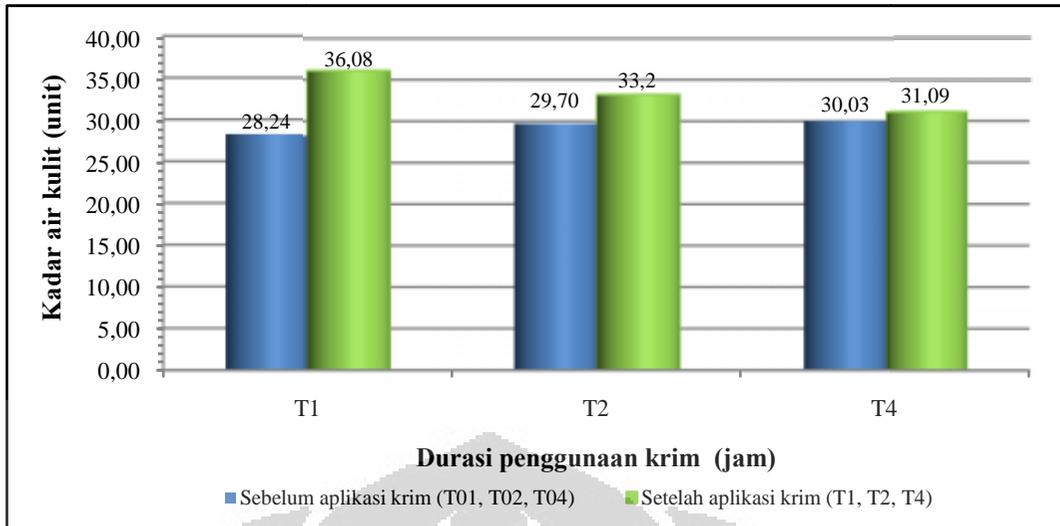
Pengujian manfaat kelembaban dilakukan pada bagian lengan bawah. Pemilihan lengan sebagai bagian tubuh yang digunakan yaitu karena lengan merupakan salah satu bagian tubuh yang umum digunakan untuk pengujian produk kosmetik. Bagian lengan memiliki kelebihan karena bagian tersebut merupakan bagian yang mudah diaplikasikan sediaan krim dan juga merupakan bagian yang cocok digunakan untuk membandingkan 2 jenis produk (Layden & Rawling, 2002).

Hasil pengujian manfaat untuk sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo dapat dilihat pada Gambar 4.23 dan Lampiran 37 – 38. Pengujian dilakukan menggunakan alat Corneometer dengan parameter yang diamati adalah kadar air. Pengujian dilakukan sebanyak 4 kali, yaitu pada saat belum diaplikasikan sediaan krim, 1 jam setelah aplikasi krim, 2 jam setelah aplikasi krim dan 4 jam setelah aplikasi krim.

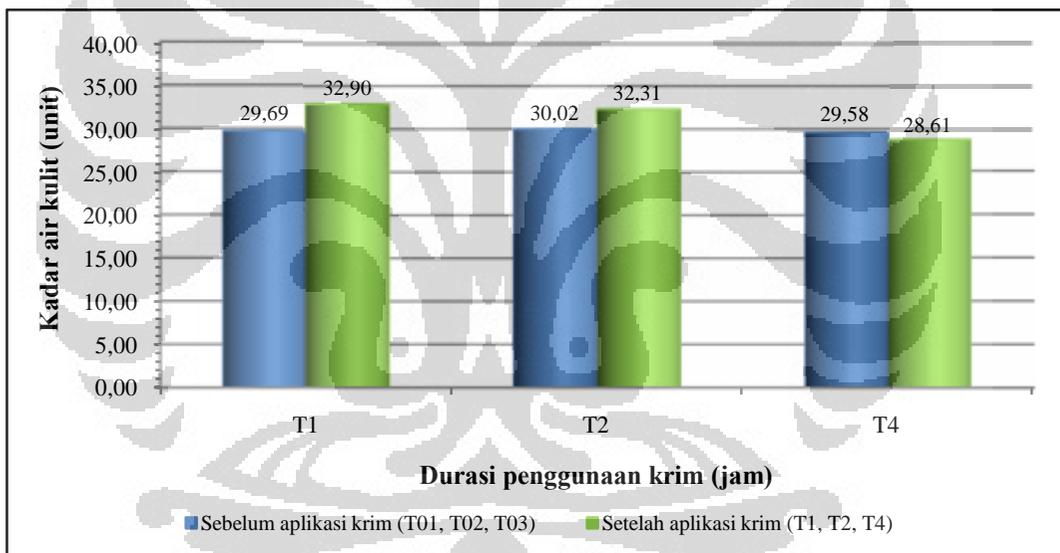
No.	Relawan	Lengan Kiri	Lengan Kanan
1	SSI2		
2	MAN3		
3	YSI5		

Gambar 4.23. Hasil pengamatan uji manfaat kelembaban terhadap subjek penelitian.

Berdasarkan hasil pengujian diketahui bahwa bagian lengan yang diaplikasikan sediaan krim ekstrak kolagen kasar mengalami peningkatan kadar air baik pada jam ke-1, ke-2 dan ke-4 jika dibandingkan dengan pengukuran sebelum pemakaian krim (Gambar 4.24). Pada bagian lengan yang diaplikasikan krim plasebo mengalami peningkatan kadar air pada jam ke-1 dan ke-2 serta mengalami penurunan pada jam ke-4 jika dibandingkan dengan pengukuran sebelum pemakaian krim (Gambar 4.25).



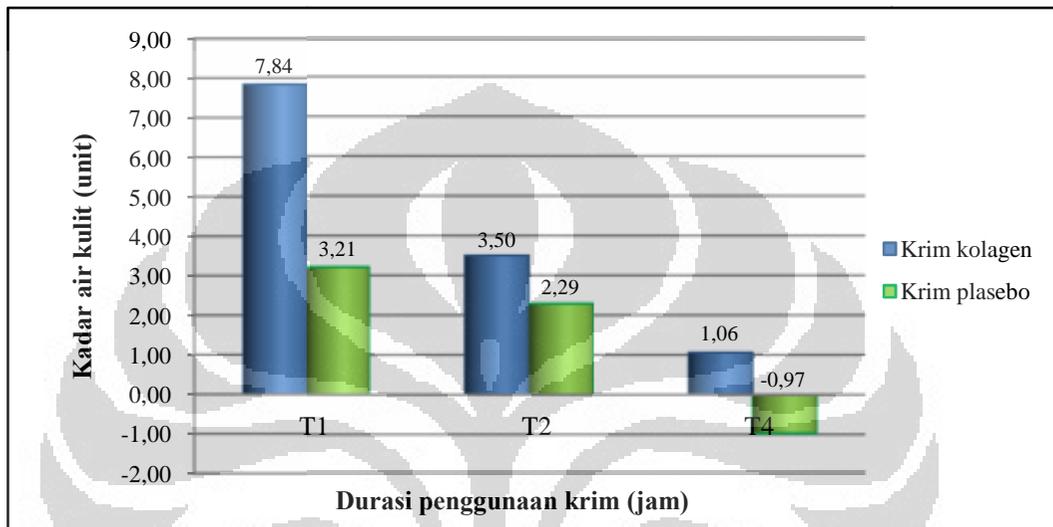
Gambar 4.24. Hasil pengukuran kadar air kulit setelah penggunaan krim ekstrak kolagen kasar selama 4 jam.



Gambar 4.25. Hasil pengukuran kadar air kulit setelah penggunaan krim plasebo selama 4 jam.

Pada lengan yang diaplikasikan krim ekstrak kolagen kasar, selisih kadar air kulit pada jam ke-1 sebesar 7,84 unit, jam ke-2 sebesar 3,5 unit dan jam ke-4 sebesar 1,06 unit (Gambar 4.26). Peningkatan kadar air yang cukup besar terjadi pada jam pertama. Hal tersebut disebabkan pada satu jam pertama kolagen bekerja sangat efektif dan pengaruh lingkungan tidak terlalu besar sehingga pada jam pertama kelembaban kulit cukup tinggi. Pada lengan yang diaplikasikan krim

plasebo, selisih kadar air kulit pada jam ke-1 sebesar 3,21 unit, jam ke-2 sebesar 2,29 unit dan jam ke-4 sebesar -0,97 unit (Gambar 4.26). Penurunan kadar air setelah 4 jam pengaplikasian krim dapat disebabkan efek dari krim plasebo sudah tidak ada dan suhu ruangan mempercepat proses penguapan air sehingga terjadi penurunan kadar air.



Gambar 4.26. Selisih kadar air kulit setelah penggunaan krim ekstrak kolagen dan krim plasebo selama 4 jam.

Apabila dibandingkan antara lengan yang diaplikasikan dengan krim ekstrak kolagen kasar dengan lengan yang diaplikasikan krim plasebo dapat diketahui bahwa lengan yang diaplikasikan krim ekstrak kolagen kasar mengalami peningkatan kadar air yang lebih tinggi. Hal tersebut dapat disebabkan ekstrak kolagen kasar yang menjadi bahan aktif pelembab bekerja dengan baik menahan penguapan air pada kulit. Menurut Maddin (2005), kolagen pada produk pelembab bertindak sebagai bahan yang bersifat oklusif. Kolagen bekerja menghambat penguapan air pada kulit. Ekstrak kolagen kasar mampu mempertahankan kelembaban kulit lebih lama. Hal tersebut diketahui dari pengamatan jam ke-4. Bagian lengan yang menggunakan krim ekstrak kolagen kasar masih mengalami peningkatan kadar air sedangkan bagian lengan yang menggunakan krim plasebo mengalami penurunan kadar air. Berdasarkan

pengukuran selama 4 jam, diketahui bahwa krim ekstrak kolagen kasar memiliki efek melembabkan yang lebih baik dari krim plasebo.

Hasil pengujian dengan menggunakan SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) dilakukan untuk menganalisis data secara statistika. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Berdasarkan pengujian tersebut didapatkan hasil bahwa data berdistribusi normal dengan nilai signifikansi $p > 0,05$ dengan nilai p sebesar 0,998 untuk data krim ekstrak kolagen kasar dan 0,895 untuk data krim plasebo (Tabel 4.13; Lampiran 39).

Tabel 4.13. Hasil uji normalitas krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo

Jenis Krim	Kolmogorov-Sminov		Shapiro-Wilk	
	df	Significancy	Df	Significancy
Kolagen	30	0,200	30	0,998
Plasebo	30	0,200	30	0,895

Uji homogenitas dilakukan dengan menggunakan uji *Levene Test*. Berdasarkan pengujian tersebut didapatkan hasil bahwa data memiliki populasi homogen dengan nilai signifikansi $p > 0,05$ dengan nilai p sebesar 0,638 (Lampiran 40). Data pengujian manfaat memiliki distribusi normal dan populasi yang homogen maka dapat dilanjutkan dengan uji parametrik.

Pengujian parametrik meliputi uji *paired sample t-test* dan juga uji *two way anova*. Pengujian *paired sample t-test* dilakukan untuk mengetahui apakah ada pengaruh peningkatan kadar air pada lokasi pengujian untuk masing-masing kelompok. Berdasarkan data uji *paired sample t-test* diketahui bahwa pada kelompok perlakuan dengan krim ekstrak kolagen kasar peningkatan kadar air kulit memiliki perbedaan yang bermakna yaitu pada pengukuran jam ke-1 dengan ke-2 dan jam ke-1 dengan ke-4 karena memiliki nilai $p < 0,05$ (Tabel 4.14; Lampiran 41). Pada uji *paired sample t-test* untuk kelompok kontrol dengan krim plasebo diketahui bahwa peningkatan kadar air kulit memiliki perbedaan yang bermakna yaitu pada pengukuran jam ke-1 dengan ke-4 karena memiliki nilai $p < 0,05$ (Tabel 4.15; Lampiran 42). Berdasarkan pengujian *paired sample*

t-test dari masing-masing kelompok maka diketahui bahwa kedua kelompok perlakuan memberikan pengaruh kelembaban yang nyata pada jam ke-1 setelah aplikasi krim.

Tabel 4.14. Hasil uji *t-test* untuk kelompok krim ekstrak kolagen kasar

Variabel	Mean	SD	SE	Significancy
T1 – T2	4,33900	3,46724	1,09644	0,003
T1 – T4	6,77600	5,68953	1,79919	0,004
T2 – T4	2,43700	1,14673	1,14673	0,063

Keterangan : T1. Perubahan kadar air kulit setelah 1 jam memakai krim; T2. Perubahan kadar air kulit setelah 2 jam memakai krim; T4. Perubahan kadar air kulit setelah 4 jam memakai krim.

Tabel 4.15. Hasil uji *t-test* untuk kelompok krim plasebo

Variabel	Mean	SD	SE	Significancy
T1 – T2	0,91600	4,58613	1,45026	0,543
T1 – T4	4,17700	5,27756	1,66891	0,034
T2 – T4	3,26100	4,80276	1,51877	0,060

Keterangan : T1. Perubahan kadar air kulit setelah 1 jam memakai krim; T2. Perubahan kadar air kulit setelah 2 jam memakai krim; T4. Perubahan kadar air kulit setelah 4 jam memakai krim.

Kemampuan melembabkan dari kedua jenis krim menurun setelah 1 jam pengaplikasian krim. Hal tersebut disebabkan kulit memberikan reaksi netralisasi akibat dari pemberian krim. Menurut Tranggono & Latifah (2007), hampir semua kosmetik akan dinetralisasikan oleh mantel kulit menuju pH yang mendekati pH fisiologis kulit sekitar 1 jam setelah aplikasi kosmetik. Krim kolagen kasar yang digunakan cenderung memiliki pH netral menuju basa dan kolagen akan terdenaturasi pada pH asam sedangkan pH kulit sebesar 4,5 – 6,5. Proses tersebut yang mengakibatkan kemampuan krim dalam melembabkan berkurang.

Perbedaan pengaruh kelembaban antar kelompok perlakuan dapat diketahui melalui uji *independent sample test*. Berdasarkan uji tersebut, diketahui

bahwa krim ekstrak kolagen kasar memiliki perbedaan yang nyata dengan krim plasebo pada pengaplikasian krim jam ke-1 karena nilai $p < 0,05$ yaitu dengan nilai p sebesar 0,005 (Tabel 4.16; Lampiran 43). Pada jam ke-2 dan ke-4 pengaruh penggunaan krim ekstrak kolagen kasar terhadap kadar air kulit tidak terlalu berbeda dengan penggunaan krim plasebo. Berdasarkan hasil pengujian *independent sample test* dapat disimpulkan bahwa krim ekstrak kolagen kasar memiliki pengaruh yang berbeda dari krim plasebo yaitu hanya pada jam ke-1.

Tabel 4.16. Hasil uji *independent sample test* antara krim ekstrak kolagen dengan krim plasebo.

Variabel	Df	Significancy
T1 kolagen – T1 plasebo	18	0,005
T2 kolagen – T2 plasebo	18	0,421
T4 kolagen – T4 plasebo	18	0,237

Keterangan : T1. Perubahan kadar air kulit setelah 1 jam memakai krim; T2. Perubahan kadar air kulit setelah 2 jam memakai krim; T4. Perubahan kadar air kulit setelah 4 jam memakai krim.

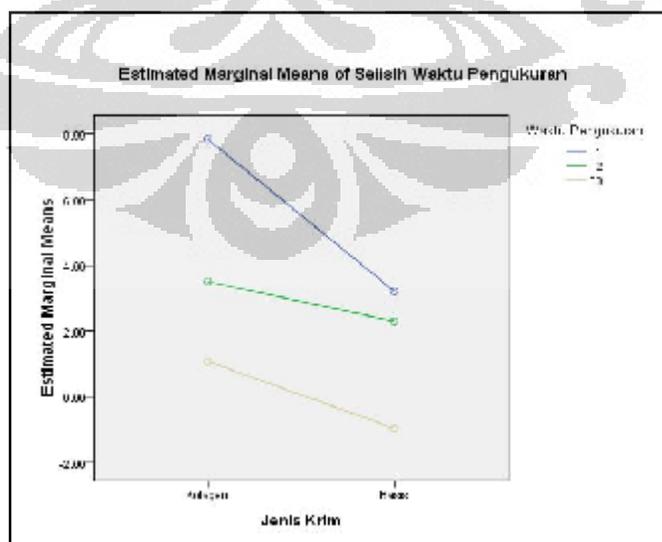
Pengujian *two way anova* dilakukan untuk mengetahui apakah jenis perlakuan dan waktu pemakaian krim memiliki pengaruh terhadap kadar air kulit. Berdasarkan data uji *two way anova* (Tabel 4.17; lampiran 44) diketahui bahwa jenis krim yang digunakan, yaitu krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo memberikan pengaruh terhadap kadar air kulit. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai $p < 0,05$ ($p = 0,004$). Penggunaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo memberikan efek pada kadar air kulit. Pada jam ke-1, penggunaan kedua jenis krim memberikan efek melembabkan karena terjadi peningkatan kadar air kulit tetapi pada jam ke-2 dan ke-4 terjadi penurunan kadar air kulit baik pada penggunaan krim ekstrak kolagen kasar maupun pada krim plasebo.

Tabel 4.17. Hasil uji *two way anova*

Variabel	Df	Significancy
Jenis Krim	1	0,004
Waktu Pengukuran	2	0,000
Jenis krim * Waktu pengukuran	2	0,264

Lamanya pengaplikasian krim juga memberikan pengaruh terhadap kadar air kulit (Tabel 4.17). Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai $p < 0,05$ ($p = 0,000$). Durasi penggunaan krim baik untuk krim ekstrak kolagen maupun krim plasebo juga mempengaruhi kadar kulit. Berdasarkan tabel pengamatan diketahui bahwa kedua jenis krim efektif pada jam ke-1 karena pada jam ke-2 dan ke-4 terjadi penurunan kadar air kulit dan antara krim ekstrak kolagen kasar dengan krim plasebo kadar air kulit pada jam ke-2 dan ke-4 relatif sama.

Pengujian dengan *two way anova* diketahui bahwa tidak ada interaksi antara jenis krim dengan waktu pengaplikasian terhadap kadar air kulit (Tabel 4.17). Hal tersebut dapat ditunjukkan dengan nilai $p > 0,05$ ($p = 0,264$) dan pada Gambar 4.27 terlihat bahwa tidak terdapat perpotongan garis yang menunjukkan tidak adanya interaksi antara jenis krim dengan waktu pengaplikasian.

**Gambar 4.27.** Hasil uji statistik pengaruh jenis krim dan waktu terhadap kadar air kulit.

Hasil analisis dengan *two way anova* dapat disimpulkan bahwa penggunaan krim ekstrak kolagen memiliki efek yang lebih baik terhadap peningkatan kadar air kulit dibandingkan dengan penggunaan krim plasebo hanya pada jam ke-1.

Berdasarkan hasil uji manfaat kelembaban dapat disimpulkan bahwa sediaan krim ekstrak kolagen kasar memberikan pengaruh kelembaban yang lebih baik dari krim plasebo selama 4 jam. Berdasarkan analisis statistika, diketahui bahwa krim ekstrak kolagen kasar memberikan pengaruh kelembaban yang berbeda nyata dengan krim plasebo yaitu pada pengaplikasian selama 1 jam.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

- a. Metode ekstraksi kolagen kasar yang dilakukan berdasarkan perpaduan cara kerja Trotter *et al.* (1995) dan Saito *et al.* (2002) mampu memperoleh ekstrak kolagen kasar yang mengandung kolagen tipe I sebesar 16%
- b. Ekstrak kolagen kasar yang diperoleh dari teripang budidaya memiliki persentase rendemen (77,47% dw) yang lebih besar dibandingkan dengan teripang alam (55,93% dw).
- c. Sediaan krim kolagen kasar teripang memiliki kestabilan fisik yang baik yang terlihat melalui uji mekanik, uji *cycling test* dan pada kondisi penyimpanan dengan suhu berbeda selama 12 minggu.
- d. Sediaan krim kolagen kasar teripang merupakan sediaan krim yang memiliki performansi yang baik, aman digunakan secara topikal serta memberikan pengaruh kelembaban yang lebih baik dibandingkan krim plasebo pada aplikasi selama 1 jam

5.2 Saran

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk karakterisasi ekstrak kolagen yang diperoleh dari teripang *Stichopus hermanni*.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk sediaan krim dengan jumlah ekstrak kolagen yang lebih banyak.
- c. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk membandingkan krim kolagen yang sudah dijual dipasaran dengan krim ekstrak kolagen kasar pada penelitian ini.

DAFTAR ACUAN

- Aminin, D.L., Agafonova, I.G., Berdyshev, E.V., Isachenko, E.G., Avilov, S.A., and Stonik, V.A. (2001). Immunomodulatory properties of *Cucumariosides* from the edible far-eastern Holothurian *Cucumaria japonica*. *Journal of Medicinal Food* 4 (3): 127 – 135.
- Anggriani, M. (2011). *Uji Stabilitas Fisik dan Aktivitas Antioksidan Sediaan krim yang Mengandung Ekstrak Etanol Daun Sirih (Piper betle L.) dengan Penambahan BHT pada Berbagai Konsentrasi*. Skripsi. Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, Depok.
- Anief, M. (2000). *Farmasetika*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Arlyza, I.S. (2009). Teripang dan Bahan Aktifnya. *Oseana* 34 (1): 9 – 17.
- Arnold, P.W. & R.A. Birtles. (1989). *Soft sediments marine invertebrates of Southeast Asia and Australia: a guide to identification*. Australia: Australian Institutes of Marine Science.
- Aziz, A. (1995). Beberapa Catatan Tentang Teripang Bangsa Aspidochirotida. *Oseana* 20 (4): 11 – 23.
- Aziz, A. (1996). Fauna Echinodermata Dari Terumbu Karang Pulau Pari, Pulau – Pulau Seribu. *Oseana* 21 (2): 33 – 43.
- Aziz, A. (1997). Status Penelitian Teripang Komersial di Indonesia. *Oseana* 22 (1): 9 – 19.
- Astirin, O.P. (2000). *Permasalahan Pengelolaan Keanekaragaman Hayati di Indonesia*. Surakarta: FMIPA UNS.
- Balsam, M. S. (1972). *Cosmetic Science and Technology*. 2nd Ed. New York: John Willy and Son, Inc.
- Banks, A. (1991). A Rationale For Prolotherapy. *Journal of Orthopaedic Medicine* 13 (3): 1 – 12.
- Barbul, A. (2008). Proline precursors to sustain mammalian collagen synthesis. *The Journal of Nutrition*. 21 – 24.
- Bennion, M. (1980). *The Science of Food*. New York: John Wiley and Sons.

- Castro, P. and Huber, M.E. (2010). *Marine Biology*. 8th ed. New Yor: McGraw-Hill Companies, Inc.
- Chaerunissa, A.Y., Surahman, E., dan Imron, S.S.H. (2009). *Farmasetika Dasar: Konsep Teoritis dan Aplikasi Pembuatan Obat*. Bandung: Widya Padjajaran.
- Cotran RS, Kumar V, and Collins T. (1999). *Pathology basic of disease*. 6thed. Philadelphia: W B Saunders.
- Cui, F., Xue, C., Li, Z., Zhang, Y., Dong, P., Fu, X., and Gao, X. (2007). Characterization and subunit composition of collagen from the body wall of sea cucumber *Stichopus japonicus*. *Food Chemistry* 100: 1120 – 1125.
- Daniel, S., Reto, M., and Fred, Z. (2002). Collagen glycation and skin aging. *Cosmetic and Toiletries Manufacture Worldwide*. 1 – 6.
- Darsono, P. (1998). Pengenalan secara umum tentang teripang (Holothurians). *Oseana* 23(1): 1--18.
- Darsono, P. (2003). Sumberdaya Teripang dan Pengelolaannya. *Oseana* 28 (2): 1-9 .
- Darsono, P. (2007). Teripang (holothuroidea): Kekayaan Alam Dalam Keragaman Biota Laut. *Oseana* 32 (2): 1 – 10.
- Darsono, P. (2009). Pemeliharaan induk teripang pasir, *Holothuria scabra*, dalam bak pemeliharaan. *Oseana* 35 (2): 257 – 271.
- Departemen Kesehatan. (1995). *Farmakope Indonesia* Edisi keempat. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Dewan Standardisasi Nasional (DSN). (1996). *Sediaan Tabir Surya*. SNI 16-4399-1996. Jakarta.
- Ditjen POM, (1985). *Formularium Kosmetika Indonesia*. Edisi ke I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Djaja, W. (2008). *Langkah jitu membuat kompos dari kotoran ternak dan sampah*. PT. Agromedia Pustaka.
- Djajadisastra, J. (2004). *Cosmetic Stability*. Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Depok: Seminar Setengah Hari HIKI.
- Elsner, P., Berardesca, E., and Maibach, H. (2005). *Bioengineering of The Skin: Water and Startum Corneum*. 2nd Ed. Boca Raton: CRC Press LLC.

- Fisher, G.J., Wang, Z., Datta, S.C., Varani, J., Kang, S., and Voorhees, J.J. (1997). Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. *The New England Journal Of Medicine* 337 (20): 1419 – 1428.
- Fredalina, B.D., Ridzwan, B.H., Abidin, A.A.Z., Kaswandi, M.A., Zaiton, H., Zali, I., Kittakoo, P., and Mat Jais, A.M. (1999). Fatty Acid Composition in Local Sea Cucumber, *Stichopus chloronotus*, for wound healing. *General Pharmacology* 33(4): 337 – 340.
- Gozali, D., et al. (2009). Formulasi Krim Pelembab Wajah yang Mengandung Tabir Surya Nanopartikel Zink Oksida Salut Silikon. *Farmaka*, 7(1), 37-47.
- Haug, T., Kjuul, A.K., Styrvold, O.B., Sandsdalen, E., Olsen, O.M., and Stensvag, K. (2002). Antibacterial activity in *Strongylocentrotus droebachiensis* (Echinoidea), *Cucumaria frondosa* (Holothuroidea), and *Asterias rubens* (Asteroidea). *Journal of Invertebrate Pathology*. 81 (2): 94 – 102.
- Harlow, Ed, and Lane, D. (1999). *Using Antibodies*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Hawa, I., Zulaikah, M., Jamaludin, M, Abidin, Z.A.A., Kaswandi, M.A., and Ridzwan, B.H. (1999). The Potential of the coelonic fluid in sea cucumber as an antioxidant. *Mal. J. Nutr* 5: 55 – 59.
- Hoover, J.P. (1998) *Hawaii's Sea Creatures: A Guide To Hawaii's Marine Invertebrate*. Honolulu: Mutual Publishing.
- Jasin, M. (1992). *Zoologi Invertebrata*. Surabaya: Sinar Wijaya.
- Kadler, K.E., Holmes, D.F., Trotter, J.A., and Chapman, J.A. (1996). Collagen Fibril Formation. *Biochem J* 316: 1 – 11.
- Kamarudin, K.R., Hashim, R., and Usup, G. (2010). Phylogeny of Sea Cucumber (Echinodermata: Holothuroidea) as Inferred from 16S Mitochondrial rRNA Gene Sequences. *Sains Malaysiana* 39 (2): 209 – 218.
- Kasai, T. (2003). Lemak Contents and Fatty acid composition of total lemak of sea cucumber *Stichopus japonicus* and Konowata (salted sea cucumber entrails). *Food. Sci. Technol. Res* 9 (1): 45 – 48.
- Kariya, Y., Watabe, S., Hashimoto, K., and Yoshida, K. (2004). Occurrence of Chondroitin sulfate E in Glycosaminoglycan isolated from the body wall of sea cucumber *Stichopus japonicus*. *The Journal of Biological Chemistry* 265 (9): 5081 – 5085.
- Kerr, A.M. (2000). *Holothuroidea: Sea Cucumber*. Februari 24, 2004. <http://www.holothuroidea.htm>.

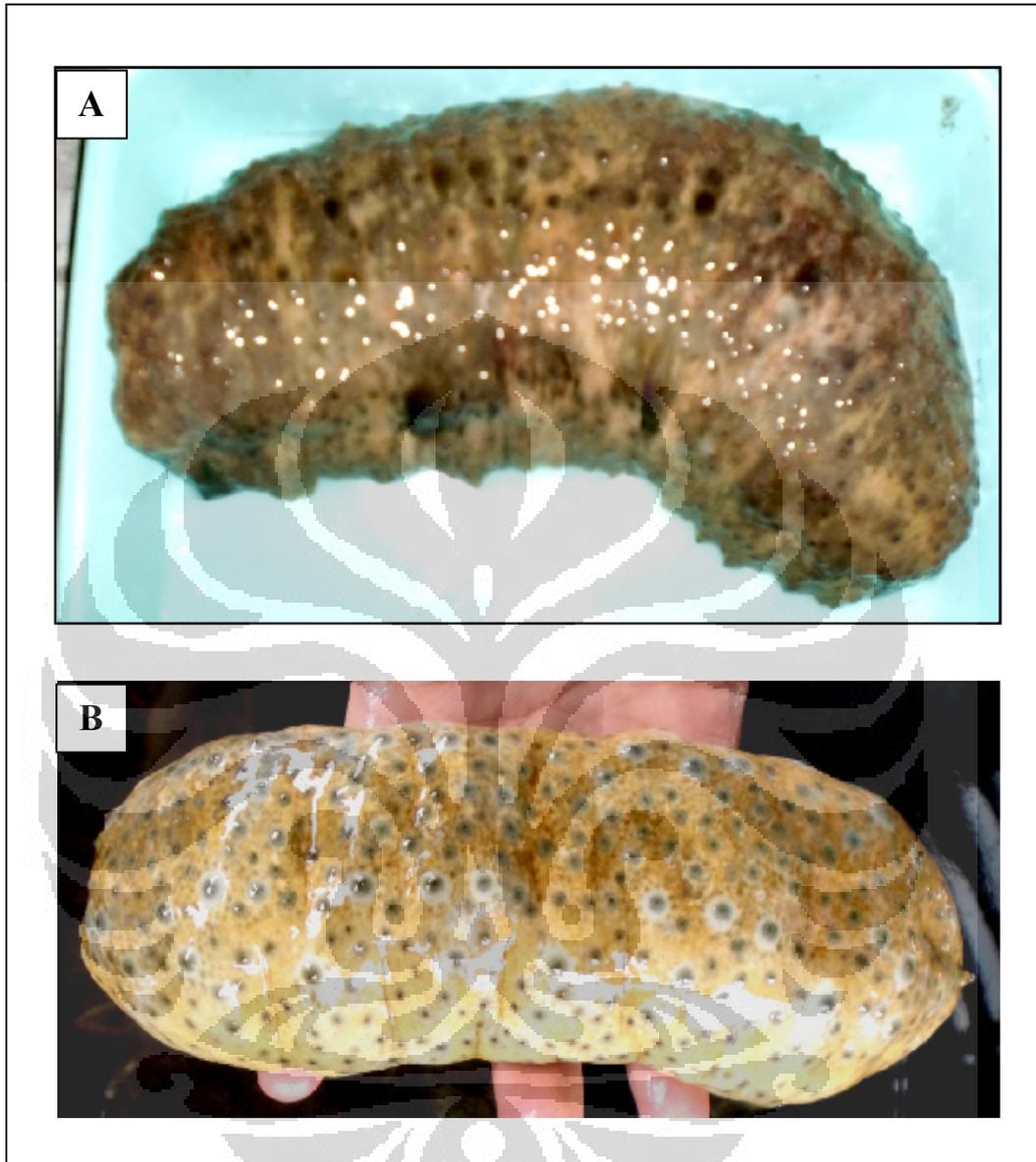
- Kibbe, A.H. (2000). *Handbook of pharmaceutical excipients*. 3rd ed. London: American Pharmaceutical Association and Pharmaceutical Press.
- Kligman, L.H., and Kligman, A.M. (1986). The nature of photoaging: Its prevention and repair. *Photodermatology*, 3: 215-227.
- Kumar, R., Chaturvedi, A.K., Shukla, P.K., and Lakshmi, V. (2007). Antifungal activity in triterpen glycosides from the sea cucumber *Actinopyga lecanora*. *Bioorganic & Medical Chemistry Letters* 17: 4387 – 4391.
- Kustiariyah. (2006). Isolasi, karakterisasi dan uji aktivitas biologis senyawa steroid dari teripang sebagai apodisiaka alami. Bogor: Tesis Sarjana S2 Program Studi Teknologi Industri Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Lachman, L. (1994). *Teori an Praktek Farmasi Industri II*. Penerjemah: Siti Suyatmi, Edisi ketiga. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Lal, S.S. (1986). *A Text Book Of Practical Zoology Invertebrate*. 6th ed. India: Rastogi Publication.
- Layden, J.L. and Rawling, A.V. (2002). *Skin Moisturization*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Lehninger A.L. (1982). *Dasar-dasar Biokimia*. Terjemahan M. Thenawidjaya. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Maddin, S. (2005). Moisturizer: What they are and a practical approach to product selection. *Skin Therapy Letter* 10 (5): 1 – 12.
- Madiyono, B., Moestichan, M.S., Sastroasmoro, S., Budiman, I., dan Purwanto, H.S. (2002). Perkiraan Besar Sampel. Dalam: Sastroasmoro, S. dan Ismael, S (ed.). *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Klinis*. Ed ke-2. Jakarta: Sagung Seto.
- Mamelona, J., Pelletier, E.M., Girard-Lalancette, K., Legault, J., Karboune, S., and Kermasha, S. (2007). Quantification of phenolic contents and antioxidant capacity of Atlantic sea cucumber, *Cucumaria frondosa*. *Food Chem* 104: 1040 – 1047.
- Martin, A.N., Swarbick, J., and Cammarata, A. (1969). *Physical pharmacy*. 2nd ed. London: Lea & Febiger Publisher.
- Masahiro, O., Portier, R.J., Moody, M.W., Bell, J., Schexnayder, M.A., and Losso, J.N. (2004). Biochemichal properties of bone and scale collagens isolated from subtropical fish blak drum (*Pagonia cromis*) and sheepshead seabream (*Archosargus probatocephalus*). *Food Chemistry* 88: 495 – 501.

- Matranga, V. (2005). *Echinodermata: Progress in Molecular and Subcellular Biology*. Jerman: Springer.
- Martoyo, J., Aji, N., dan Winanto, T.J. (2006). *Budidaya Teripang*. Edisi Revisi. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Matsumura, T. (1973). Disaggregation of connective tissue: preparation of fibrous components from sea cucumber body wall and calf skin. *Journal of Biochemical*, 73: 155–162.
- Mayer, A.M.S., and Gustafson, K.R. (2006). Marine pharmacology in 2005 – 2006: Antitumor and cytotoxic compounds. *European Journal of Cancer* 44: 2357 – 2387.
- Mearns, G., Rachmond J.S, and Story, C.C. (1988). Sensitive Immune Dot Blot Test for diagnosis of Chlamydia trachomatis Infections. *Journal of Clinical Microbiology* 26: 1810-1813.
- Mitsui, T. (Ed.). (1997). *New Cosmetic Science*. Amsterdam: Elsevier.
- Mojica, E.R., and Merca, F.E. (2005). Isolation and partial characterization of lectin from the internal organs of the sea cucumber (*Holothuria scabra* JAEGER). *International Journal of Zoological Research* 1(1): 59- 65.
- Navarre, M.G. (1975). *The Chemistry and Manufacture of Cosmetics*. 2nd Edition. Florida: Continental Press.
- Omura, Y., Urano, N., and Kimura, S. (1996). Occurrence of fibrillar collagen with structure of $(\alpha 1)_2\alpha 2$ in the test of sea urchin *Asthenosoma ijimai*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 115B, 63–68.
- Paranginangin, R., Kusumawati, R., dan Apriantoro, E.W. (2008). Isolasi dan karakterisasi kolagen yang diekstraksi dari kulit ikan kerapu (*Epinephelus tauvina*). *Semnaskam*. 23: 1 – 11.
- Parker AL. (1982). *Principle of Biochemistry*. Maryland: Worth Pub Inc. Sparkas.
- Plianbangchang, P., Tungpradit, W., and Tiyaboochai, W. (2007). Efficacy and safety of Curcuminoids loaded solid lipid nanoparticles facial creams as an anti-aging agents. *International Journal of Pharmaceutics* 1 – 8.
- Pocock, S.J. (2008). *Clinical Trials, A Practical Approach*. Cichestes: John Wiley & Sons.
- Poppe J. (1992). Gelatin. Di dalam Imeson A (ed). *Thickening and Gelling Agents for Food*. London: Blackie Academic and Professional.

- Purwati, P. (2002). Ekspresi Fision dan Konsekuensinya Bagi Populasi Fisiparus Holothuroidea (Echinodermata). *Oseana* 26 (4): 33 – 41.
- Reina, A. (2004). *Sea Cucumber a Promosing Mainstay Comodity*. Februari 26, 2005. Program OGB Indonesia. <http://www.oxfamgb.org/eastasia>.
- Robinson, J. J. (1997). Comparative biochemical analysis of sea urchin peristome and rat tail tendon collagen. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 117B, 307–313.
- Rodrigues, E., Gonzales, M., Caride, B., Lamas, M.A., and Taboada, M.C. (2000). Nutritional value of *Holothuria forskali* protein and effects on serum lipid profile in rats. *J.Physiol. Biochem* 58 (1): 39 – 44.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., and Quinn, M.E. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. London: Pharmaceutical Press.
- Saito, M., Kunisaki, N., Urano, N., and Kimura, S. (2002). Collagen as the major edible component of sea cucumber (*Stichopus japonicus*). *Journal Of Food Science* 67 (4): 1319 – 1322.
- Sapnianti, A., Erungan, C., Suptijah, P., dan Hambali, E. (2002). *Pemanfaatan khitosan pada pembuatan skin cream*. Laporan Penelitian. Fakultas Teknologi Pertanian. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Shoulders, M.D., and Raines, R.T. (2009). Collagen Structure and Stability. *Annual Review of Biochemistry* 78: 929 – 958.
- Suhanda, A. (2001). Pemanfaatan potensi limbah jeroan teripang sebagai bahan untuk pakan ternak. Bogor: Skripsi S1 Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.
- Swatschek, D., Schatton, W., Kellermann, J., Muller, W.E.G., and Kreuter, J. (2002). Marine sponge collagen: Isolation, characterization and effect on the skin parameryters surface-pH, moisture and sebum. *European Journal Of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 53: 107 – 113.
- Tranggono,R.I. dan Latifah, F. (2007). *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Jakarta: Gramedia.
- Trotter, J.A., Lyons-Levy, G, Thurmond, F.A., and Koob, T.J. (1995). Covalent composition of collagen fibrils from the dermis of the sea cucumber, *Cucumaria frondosa*, a tissue with mutable mechanical properties. *Comp. Biochem. Physiol* 112A (3/4): 463 - 478.
- Voigt, R. (1995). *Buku Pelajaran Teknologi --Farmasi*. Penerjemah: Soendani, Noerono.S.Edisi kelima. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.

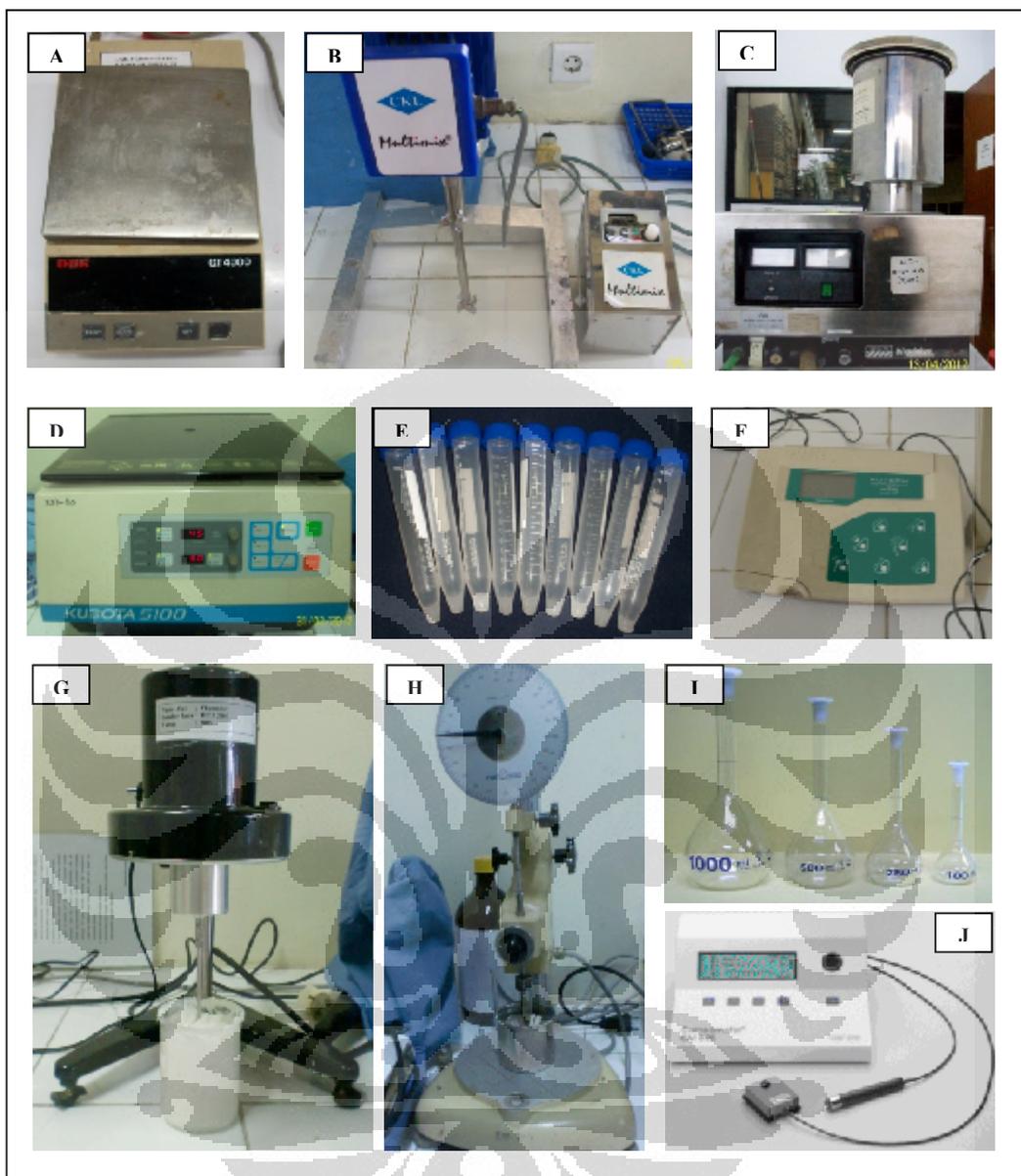
- Wade, A. and Weller, P.J. (1994). *Handbook of pharmaceutical excipients*. 2nd ed. London: The Pharmaceutical Press.
- Wasitaatmadja, S, (1997). *Penuntun Ilmu Kosmetik Medik*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Winarno, F G. (1997). *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Yamamoto I, Muto N, Murakami K, and Akiyama J. (1992). Collagen synthesis in human skin fibroblasts is stimulated by a stable form of ascorbate, 2-O-alpha-D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid. *The Journal of Nutrition* 122(4): 871-877.
- Zhai, H., and Maibach, H.I. (2002). Occlusion vs skin barrier function. *Skin Research and Technology* 8: 1 – 6.
- Zhang, S., Yang-Hua, Y., and Hai-Feng, T. (2006). Bioactive triterpene glycosides from the sea cucumber *Holothuria fuscocinerea*. *Jur.Nat.Prod*,69: 1492 – 1495.
- Zubi, T. (1999). The Starfish collection. Mei 28. <http://www.starfish.ch/c-invertebrates/seewalzen.html>

Lampiran 1. Gambar teripang *Stichopus hermanni* yang diperoleh dari alam dan tempat budidaya.



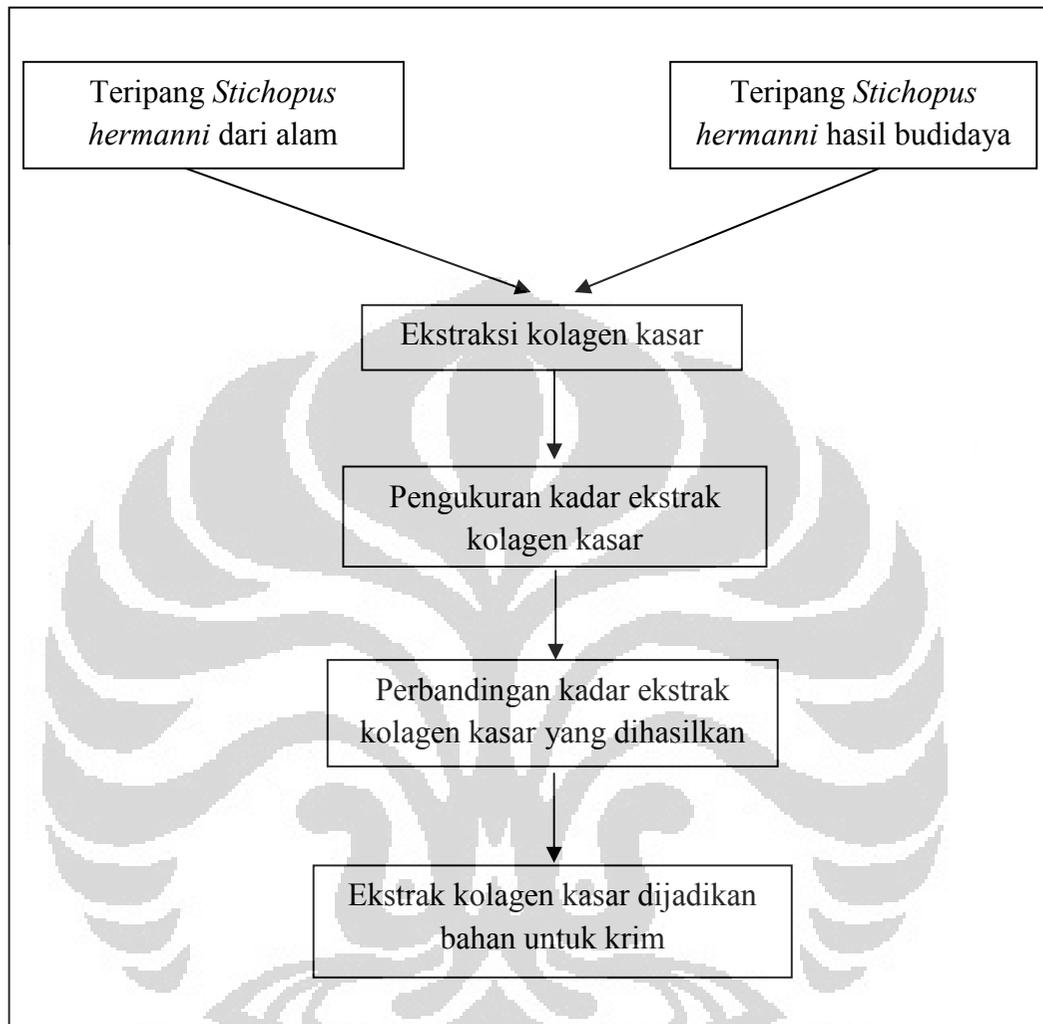
Keterangan : A. Teripang *Stichopus hermanni* yang diperoleh dari alam (Kepulauan Seribu, Jakarta); B. Teripang *Stichopus hermanni* yang diperoleh dari tempat budidaya (Desa Hanura, Lampung)

Lampiran 2. Peralatan yang digunakan pada penelitian

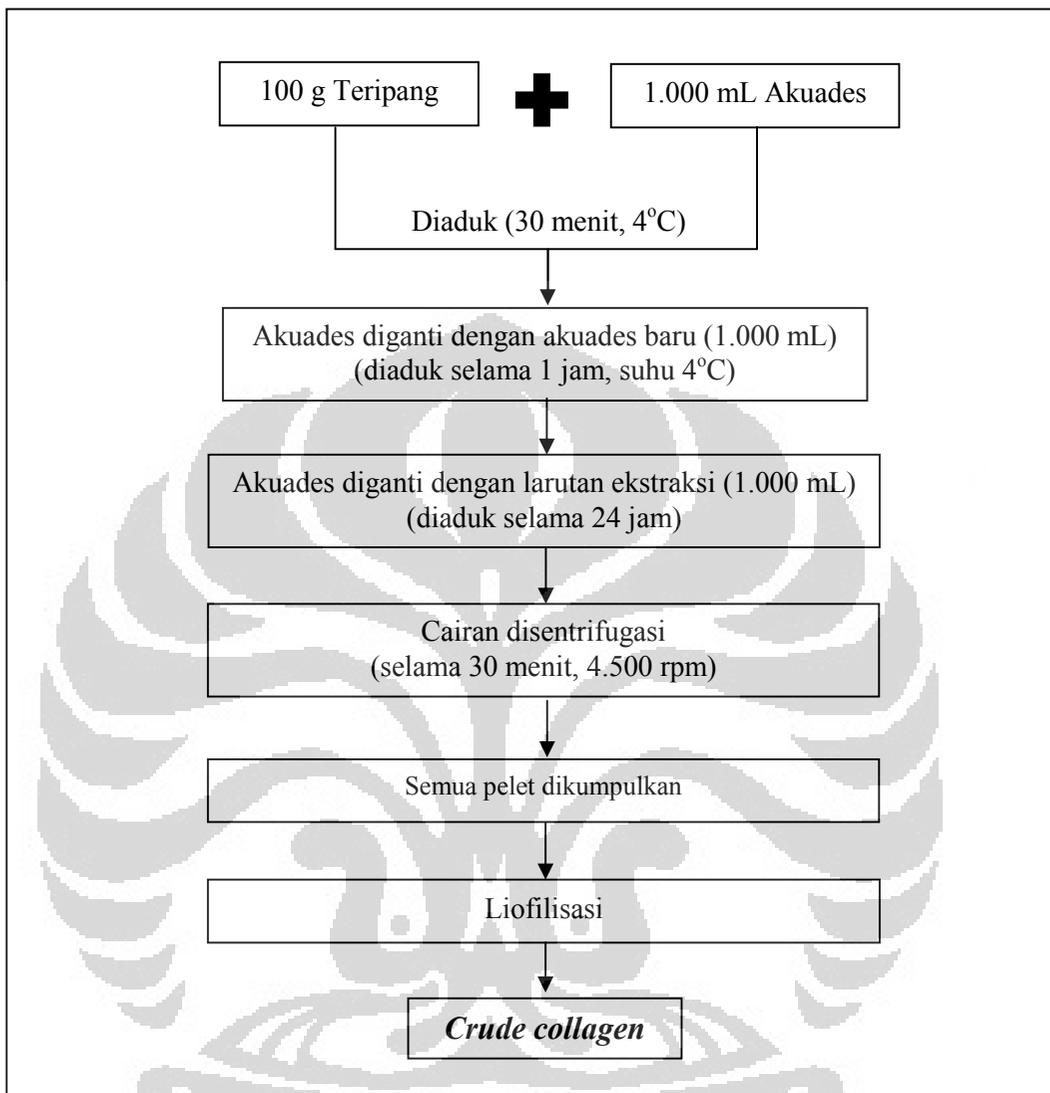


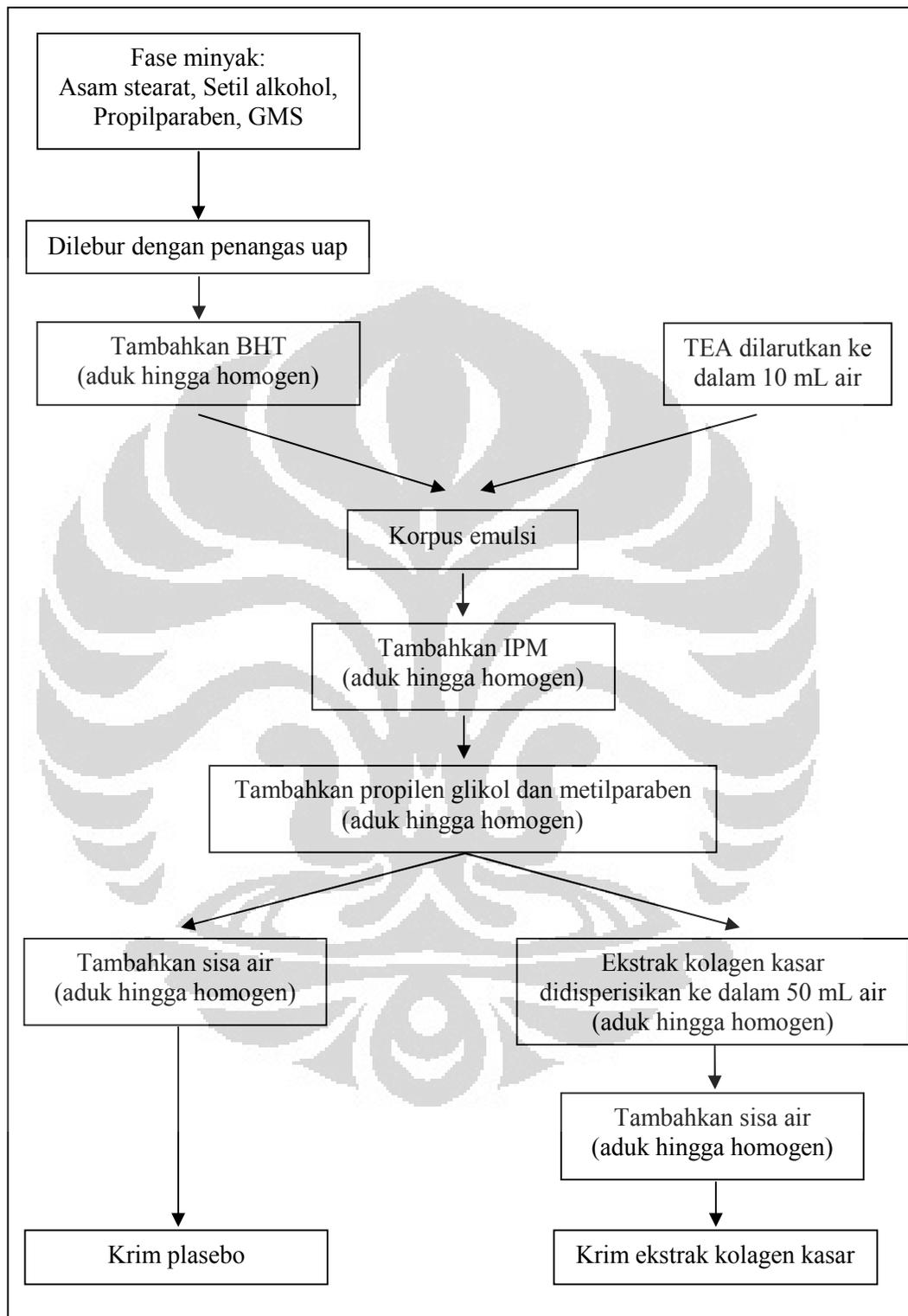
Keterangan : A. Timbangan; B. Homogenizer; C. *Freeze dryer*; D. Sentrifugator; E. Tabung sentrifugasi; F. pH meter; G. Viskometer; H. Penetrometer; I. Labu takar; J. Corneometer.

Lampiran 3. Proses ekstraksi kolagen kasar dari dinding tubuh teripang budidaya dan alam.



(lanjutan)



Lampiran 4. Proses pembuatan sediaan krim

Lampiran 8. Certificate Of Analysis propilparaben

PT. BRATACO

HASIL PEMERIKSAAN

Nama Bahan : Nipasol/ Propyl Paraben
 Batch : J 0126/10 (PP-26/08-09)
 Ex : GUJARAT
 E.D : 09-2013
 Grade : Farma

Jenis pemeriksaan	Persyaratan	Hasil
Pemerian	Serbuk putih atau hablur kecil, tidak berwarna	sesuai
Kelarutan	Sangat sukar larut dalam air dan air mendidih, mudah larut dalam etanol dan dalam eter	sesuai gumpal
Identifikasi	Didihkan 10 mg zat dengan 10 ml air, dinginkan tambahkan 3 tetes larutan $FeCl_3$ LP; terjadi warna ungu kemerahan	sesuai
Keasaman	Panaskan 750 mg dalam 15 ml air pada suhu $80^\circ C$ selama 1 menit, dinginkan dan saring, pada 10 ml filtrat, tambahkan 0,2 ml $NaOH$ 0,1 N dan 2 tetes merah metil LP; Larutan berwarna kuning	sesuai
pH 10% b/v	4,5-7,5	6,0
Suhu lebur	Antara $95^\circ - 99^\circ C$	$98,0^\circ$
Susut pengeringan	Tidak lebih dari 0,5%	0,5%
Kadar	99,0% - 101,0%	99,685%

Kesimpulan : Memenuhi syarat FI IV

Pemeriksa : 
Rian Pratama Akpa
 Analis

Cikarang, 26 - 11 - 2009
 Pananggung Jawab : 
Dra. Tri Hartati
 Apoteker
 S.I.K. 3836/B

HEAD OFFICE : PT. BRATACO Tbk. (PAB) (M2718) Pers. Tbk. (201)581175, C. 041 : 38360000
 BRANCH OFFICE :
 * ANGGREK : 4. Marga Bumi - Jln. S. Setiabudi 110 Tpk. RT/ RW 12/03/04/05/06/07/08/09/10/11/12/13/14/15/16/17/18/19/20/21/22/23/24/25/26/27/28/29/30/31/32/33/34/35/36/37/38/39/40/41/42/43/44/45/46/47/48/49/50/51/52/53/54/55/56/57/58/59/60/61/62/63/64/65/66/67/68/69/70/71/72/73/74/75/76/77/78/79/80/81/82/83/84/85/86/87/88/89/90/91/92/93/94/95/96/97/98/99/100/101/102/103/104/105/106/107/108/109/110/111/112/113/114/115/116/117/118/119/120/121/122/123/124/125/126/127/128/129/130/131/132/133/134/135/136/137/138/139/140/141/142/143/144/145/146/147/148/149/150/151/152/153/154/155/156/157/158/159/160/161/162/163/164/165/166/167/168/169/170/171/172/173/174/175/176/177/178/179/180/181/182/183/184/185/186/187/188/189/190/191/192/193/194/195/196/197/198/199/200/201/202/203/204/205/206/207/208/209/210/211/212/213/214/215/216/217/218/219/220/221/222/223/224/225/226/227/228/229/230/231/232/233/234/235/236/237/238/239/240/241/242/243/244/245/246/247/248/249/250/251/252/253/254/255/256/257/258/259/260/261/262/263/264/265/266/267/268/269/270/271/272/273/274/275/276/277/278/279/280/281/282/283/284/285/286/287/288/289/290/291/292/293/294/295/296/297/298/299/300/301/302/303/304/305/306/307/308/309/310/311/312/313/314/315/316/317/318/319/320/321/322/323/324/325/326/327/328/329/330/331/332/333/334/335/336/337/338/339/340/341/342/343/344/345/346/347/348/349/350/351/352/353/354/355/356/357/358/359/360/361/362/363/364/365/366/367/368/369/370/371/372/373/374/375/376/377/378/379/380/381/382/383/384/385/386/387/388/389/390/391/392/393/394/395/396/397/398/399/400/401/402/403/404/405/406/407/408/409/410/411/412/413/414/415/416/417/418/419/420/421/422/423/424/425/426/427/428/429/430/431/432/433/434/435/436/437/438/439/440/441/442/443/444/445/446/447/448/449/450/451/452/453/454/455/456/457/458/459/460/461/462/463/464/465/466/467/468/469/470/471/472/473/474/475/476/477/478/479/480/481/482/483/484/485/486/487/488/489/490/491/492/493/494/495/496/497/498/499/500/501/502/503/504/505/506/507/508/509/510/511/512/513/514/515/516/517/518/519/520/521/522/523/524/525/526/527/528/529/530/531/532/533/534/535/536/537/538/539/540/541/542/543/544/545/546/547/548/549/550/551/552/553/554/555/556/557/558/559/560/561/562/563/564/565/566/567/568/569/570/571/572/573/574/575/576/577/578/579/580/581/582/583/584/585/586/587/588/589/590/591/592/593/594/595/596/597/598/599/600/601/602/603/604/605/606/607/608/609/610/611/612/613/614/615/616/617/618/619/620/621/622/623/624/625/626/627/628/629/630/631/632/633/634/635/636/637/638/639/640/641/642/643/644/645/646/647/648/649/650/651/652/653/654/655/656/657/658/659/660/661/662/663/664/665/666/667/668/669/670/671/672/673/674/675/676/677/678/679/680/681/682/683/684/685/686/687/688/689/690/691/692/693/694/695/696/697/698/699/700/701/702/703/704/705/706/707/708/709/710/711/712/713/714/715/716/717/718/719/720/721/722/723/724/725/726/727/728/729/730/731/732/733/734/735/736/737/738/739/740/741/742/743/744/745/746/747/748/749/750/751/752/753/754/755/756/757/758/759/760/761/762/763/764/765/766/767/768/769/770/771/772/773/774/775/776/777/778/779/780/781/782/783/784/785/786/787/788/789/790/791/792/793/794/795/796/797/798/799/800/801/802/803/804/805/806/807/808/809/810/811/812/813/814/815/816/817/818/819/820/821/822/823/824/825/826/827/828/829/830/831/832/833/834/835/836/837/838/839/840/841/842/843/844/845/846/847/848/849/850/851/852/853/854/855/856/857/858/859/860/861/862/863/864/865/866/867/868/869/870/871/872/873/874/875/876/877/878/879/880/881/882/883/884/885/886/887/888/889/890/891/892/893/894/895/896/897/898/899/900/901/902/903/904/905/906/907/908/909/910/911/912/913/914/915/916/917/918/919/920/921/922/923/924/925/926/927/928/929/930/931/932/933/934/935/936/937/938/939/940/941/942/943/944/945/946/947/948/949/950/951/952/953/954/955/956/957/958/959/960/961/962/963/964/965/966/967/968/969/970/971/972/973/974/975/976/977/978/979/980/981/982/983/984/985/986/987/988/989/990/991/992/993/994/995/996/997/998/999/1000/1001/1002/1003/1004/1005/1006/1007/1008/1009/1010/1011/1012/1013/1014/1015/1016/1017/1018/1019/1020/1021/1022/1023/1024/1025/1026/1027/1028/1029/1030/1031/1032/1033/1034/1035/1036/1037/1038/1039/1040/1041/1042/1043/1044/1045/1046/1047/1048/1049/1050/1051/1052/1053/1054/1055/1056/1057/1058/1059/1060/1061/1062/1063/1064/1065/1066/1067/1068/1069/1070/1071/1072/1073/1074/1075/1076/1077/1078/1079/1080/1081/1082/1083/1084/1085/1086/1087/1088/1089/1090/1091/1092/1093/1094/1095/1096/1097/1098/1099/1100/1101/1102/1103/1104/1105/1106/1107/1108/1109/1110/1111/1112/1113/1114/1115/1116/1117/1118/1119/1120/1121/1122/1123/1124/1125/1126/1127/1128/1129/1130/1131/1132/1133/1134/1135/1136/1137/1138/1139/1140/1141/1142/1143/1144/1145/1146/1147/1148/1149/1150/1151/1152/1153/1154/1155/1156/1157/1158/1159/1160/1161/1162/1163/1164/1165/1166/1167/1168/1169/1170/1171/1172/1173/1174/1175/1176/1177/1178/1179/1180/1181/1182/1183/1184/1185/1186/1187/1188/1189/1190/1191/1192/1193/1194/1195/1196/1197/1198/1199/1200/1201/1202/1203/1204/1205/1206/1207/1208/1209/1210/1211/1212/1213/1214/1215/1216/1217/1218/1219/1220/1221/1222/1223/1224/1225/1226/1227/1228/1229/1230/1231/1232/1233/1234/1235/1236/1237/1238/1239/1240/1241/1242/1243/1244/1245/1246/1247/1248/1249/1250/1251/1252/1253/1254/1255/1256/1257/1258/1259/1260/1261/1262/1263/1264/1265/1266/1267/1268/1269/1270/1271/1272/1273/1274/1275/1276/1277/1278/1279/1280/1281/1282/1283/1284/1285/1286/1287/1288/1289/1290/1291/1292/1293/1294/1295/1296/1297/1298/1299/1300/1301/1302/1303/1304/1305/1306/1307/1308/1309/1310/1311/1312/1313/1314/1315/1316/1317/1318/1319/1320/1321/1322/1323/1324/1325/1326/1327/1328/1329/1330/1331/1332/1333/1334/1335/1336/1337/1338/1339/1340/1341/1342/1343/1344/1345/1346/1347/1348/1349/1350/1351/1352/1353/1354/1355/1356/1357/1358/1359/1360/1361/1362/1363/1364/1365/1366/1367/1368/1369/1370/1371/1372/1373/1374/1375/1376/1377/1378/1379/1380/1381/1382/1383/1384/1385/1386/1387/1388/1389/1390/1391/1392/1393/1394/1395/1396/1397/1398/1399/1400/1401/1402/1403/1404/1405/1406/1407/1408/1409/1410/1411/1412/1413/1414/1415/1416/1417/1418/1419/1420/1421/1422/1423/1424/1425/1426/1427/1428/1429/1430/1431/1432/1433/1434/1435/1436/1437/1438/1439/1440/1441/1442/1443/1444/1445/1446/1447/1448/1449/1450/1451/1452/1453/1454/1455/1456/1457/1458/1459/1460/1461/1462/1463/1464/1465/1466/1467/1468/1469/1470/1471/1472/1473/1474/1475/1476/1477/1478/1479/1480/1481/1482/1483/1484/1485/1486/1487/1488/1489/1490/1491/1492/1493/1494/1495/1496/1497/1498/1499/1500/1501/1502/1503/1504/1505/1506/1507/1508/1509/1510/1511/1512/1513/1514/1515/1516/1517/1518/1519/1520/1521/1522/1523/1524/1525/1526/1527/1528/1529/1530/1531/1532/1533/1534/1535/1536/1537/1538/1539/1540/1541/1542/1543/1544/1545/1546/1547/1548/1549/1550/1551/1552/1553/1554/1555/1556/1557/1558/1559/1560/1561/1562/1563/1564/1565/1566/1567/1568/1569/1570/1571/1572/1573/1574/1575/1576/1577/1578/1579/1580/1581/1582/1583/1584/1585/1586/1587/1588/1589/1590/1591/1592/1593/1594/1595/1596/1597/1598/1599/1600/1601/1602/1603/1604/1605/1606/1607/1608/1609/1610/1611/1612/1613/1614/1615/1616/1617/1618/1619/1620/1621/1622/1623/1624/1625/1626/1627/1628/1629/1630/1631/1632/1633/1634/1635/1636/1637/1638/1639/1640/1641/1642/1643/1644/1645/1646/1647/1648/1649/1650/1651/1652/1653/1654/1655/1656/1657/1658/1659/1660/1661/1662/1663/1664/1665/1666/1667/1668/1669/1670/1671/1672/1673/1674/1675/1676/1677/1678/1679/1680/1681/1682/1683/1684/1685/1686/1687/1688/1689/1690/1691/1692/1693/1694/1695/1696/1697/1698/1699/1700/1701/1702/1703/1704/1705/1706/1707/1708/1709/1710/1711/1712/1713/1714/1715/1716/1717/1718/1719/1720/1721/1722/1723/1724/1725/1726/1727/1728/1729/1730/1731/1732/1733/1734/1735/1736/1737/1738/1739/1740/1741/1742/1743/1744/1745/1746/1747/1748/1749/1750/1751/1752/1753/1754/1755/1756/1757/1758/1759/1760/1761/1762/1763/1764/1765/1766/1767/1768/1769/1770/1771/1772/1773/1774/1775/1776/1777/1778/1779/1780/1781/1782/1783/1784/1785/1786/1787/1788/1789/1790/1791/1792/1793/1794/1795/1796/1797/1798/1799/1800/1801/1802/1803/1804/1805/1806/1807/1808/1809/1810/1811/1812/1813/1814/1815/1816/1817/1818/1819/1820/1821/1822/1823/1824/1825/1826/1827/1828/1829/1830/1831/1832/1833/1834/1835/1836/1837/1838/1839/1840/1841/1842/1843/1844/1845/1846/1847/1848/1849/1850/1851/1852/1853/1854/1855/1856/1857/1858/1859/1860/1861/1862/1863/1864/1865/1866/1867/1868/1869/1870/1871/1872/1873/1874/1875/1876/1877/1878/1879/1880/1881/1882/1883/1884/1885/1886/1887/1888/1889/1890/1891/1892/1893/1894/1895/1896/1897/1898/1899/1900/1901/1902/1903/1904/1905/1906/1907/1908/1909/1910/1911/1912/1913/1914/1915/1916/1917/1918/1919/1920/1921/1922/1923/1924/1925/1926/1927/1928/1929/1930/1931/1932/1933/1934/1935/1936/1937/1938/1939/1940/1941/1942/1943/1944/1945/1946/1947/1948/1949/1950/1951/1952/1953/1954/1955/1956/1957/1958/1959/1960/1961/1962/1963/1964/1965/1966/1967/1968/1969/1970/1971/1972/1973/1974/1975/1976/1977/1978/1979/1980/1981/1982/1983/1984/1985/1986/1987/1988/1989/1990/1991/1992/1993/1994/1995/1996/1997/1998/1999/2000/2001/2002/2003/2004/2005/2006/2007/2008/2009/2010/2011/2012/2013/2014/2015/2016/2017/2018/2019/2020/2021/2022/2023/2024/2025/2026/2027/2028/2029/2030/2031/2032/2033/2034/2035/2036/2037/2038/2039/2040/2041/2042/2043/2044/2045/2046/2047/2048/2049/2050/2051/2052/2053/2054/2055/2056/2057/2058/2059/2060/2061/2062/2063/2064/2065/2066/2067/2068/2069/2070/2071/2072/2073/2074/2075/2076/2077/2078/2079/2080/2081/2082/2083/2084/2085/2086/2087/2088/2089/2090/2091/2092/2093/2094/2095/2096/2097/2098/2099/2100/2101/2102/2103/2104/2105/2106/2107/2108/2109/2110/2111/2112/2113/2114/2115/2116/2117/2118/2119/2120/2121/2122/2123/2124/2125/2126/2127/2128/2129/2130/2131/2132/2133/2134/2135/2136/2137/2138/2139/2140/2141/2142/2143/2144/2145/2146/2147/2148/2149/2150/2151/2152/2153/2154/2155/2156/2157/2158/2159/2160/2161/2162/2163/2164/2165/2166/2167/2168/2169/2170/2171/2172/2173/2174/2175/2176/2177/2178/2179/2180/2181/2182/2183/2184/2185/2186/2187/2188/2189/2190/2191/2192/2193/2194/2195/2196/2197/2198/2199/2200/2201/2202/2203/2204/2205/2206/2207/2208/2209/2210/2211/2212/2213/2214/2215/2216/2217/2218/2219/2220/2221/2222/2223/2224/2225/2226/2227/2228/2229/2230/2231/2232/2233/2234/2235/2236/2237/2238/2239/2240/2241/2242/2243/2244/2245/2246/2247/2248/2249/2250/2251/2252/2253/2254/2255/2256/2257/2258/2259/2260/2261/2262/2263/2264/2265/2266/2267/2268/2269/2270/2271/2272/2273/2274/2275/2276/2277/2278/2279/2280/2281/2282/2283/2284/2285/2286/2287/2288/2289/2290/2291/2292/2293/2294/2295/2296/2297/2298/2299/2300/2301/2302/2303/2304/2305/2306/2307/2308/2309/2310/2311/2312/2313/2314/2315/2316/2317/2318/2319/2320/2321/2322/2323/2324/2325/2326/2327/2328/2329/2330/2331/2332/2333/2334/2335/2336/2337/2338/2339/2340/2341/2342/2343/2344/2345/2346/2347/2348/2349/2350/2351/2352/2353/2354/2355/2356/2357/2358/2359/2360/2361/2362/2363/2364/2365/2366/2367/2368/2369/2370/2371/2372/2373/2374/2375/2376/2377/2378/2379/2380/2381/2382/2383/2384/2385/2386/2387/2388/2389/2390/2391/2392/2393/2394/2395/2396/2397/2398/2399/2400/2401/2402/2403/2404/2405/2406/2407/2408/2409/2410/2411/2412/2413/2414/2415/2416/2417/2418/2419/2420/2421/2422/2423/2424/2425/2426/2427/2428/2429/2430/2431/2432/2433/2434/2435/2436/2437/2438/2439/2440/2441/2442/2443/2444/2445/2446/2447/2448/2449/2450/2451/2452/2453/2454/2455/2456/2457/2458/2459/2460/2461/2462/2463/2464/2465/2466/2467/2468/2469/2470/2471/2472/2473/2474/2475/2476/2477/2478/2479/2480/2481/2482/2483/2484/2485/2486/2487/2488/2489/2490/2491/2492/2493/2494/2495/2496/2497/2

Lampiran 9. Certificate Of Analysis Butilhidroksitoluen (BHT)

HASIL PEMERIKSAAN		PT. BRATA CO	
Nama Bahan	: BHT/lona		
Batch	: J 0177/10 (110)		
Ex	: SPP Chemical		
Grup	: Panna		
E. D	: 06-2011		
Jenis pemeriksaan		Persediaan .FI IV	Hasil
Penampilan	Hablar atau kristal, putih atau putih kekuningan bau khas amah		sesuai
Kelenturan	Praktis tidak larut dalam air glycerin, propylenglycol, metiloh larut dalam etanol 95%, eter dan kloroform		sesuai
Suhu lebur	48,2° C		70 1° C
Susut Pengeringan ≤0.2%			0,2%
Kesimpulan : Memenuhi syarat			
Pemeriksaan		Cikarang, 03-03-2010	
Rita Fekstria Akiba Analisis		Petanggung Jawab Dra. Tri Herdani Apoteker B.I.K. 3836/B	

Lampiran 10. Formulir seleksi subjek penelitian

FORMULIR SELEKSI RELAWAN
Proyek : MWUI2001

Nama Relawan : _____

Persiapan Relawan :

1. Kriteria Inklusi :

- Wanita 25-40 tahun Ya, _____ thn Tidak
- Belum Menopause Ya Tidak
- Merokok Ya Tidak
- Kulit sehat Ya Tidak
- Menderita dermatitis Ada Tidak
- Menderita penyakit kronis Ada, _____ Tidak

Jika ada, sebutkan _____

2. Kriteria Eksklusi

- Kulit luka Ya Tidak
- Kulit berjerawat Ya Tidak
- Penyakit kulit lain Ada Tidak

Jika ada, sebutkan _____

- Wanita hamil Ya Tidak
- Wanita menyusui Ya Tidak
- Wanita menopause Ya Tidak

3. Drop Out

- Tidak mengikuti prosedur penelitian karena sakit atau alasan lain Ya Tidak
- Terjadi efek samping seperti alergi/iritasi Ya Tidak

(lanjutan)

4. Tata tertib		
- Tidak menggunakan produk selama tujuh hari sebelumnya pada daerah uji	<input type="checkbox"/> Ya	<input type="checkbox"/> Tidak
- Tidak makan dan minum selama 4-5 jam saat pengujian	<input type="checkbox"/> Ya	<input type="checkbox"/> Tidak
- Tidak membasuh daerah pengujian/tidak boleh terkena air saat pengujian	<input type="checkbox"/> Ya	<input type="checkbox"/> Tidak
5. Penjelasan "Informed Consent"		
- Penjelasan	<input type="checkbox"/> Ya	<input type="checkbox"/> Tidak
- Tanda tangan relawan	<input type="checkbox"/> Ya	<input type="checkbox"/> Tidak

Lampiran 11. Surat penjelasan uji manfaat kepada subjek penelitian.**Penjelasan Uji Manfaat Sediaan Krim yang mengandung kolagen yang diisolasi dari Teripang *Stichopus* periode Mei 2012**

Tim peneliti dari Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia dengan Wanda Anggi Andirisnanti, S.Si. sebagai peneliti utama sedang melakukan penelitian uji manfaat sediaan krim pelembab yang mengandung kolagen yang telah diisolasi dari Teripang *Stichopus hermanni*.

Anda sebagai salah satu relawan yang diminta untuk mengambil bagian dalam penelitian ini dimana dalam uji iritasi (pendahuluan) sediaan krim akan dioleskan ke kulit Anda dan akan diamati selama 3 (tiga) hari untuk melihat apakah produk ini menimbulkan iritasi atau tidak. Bila relawan lulus dalam uji iritasi, penelitian dilanjutkan ke uji manfaat dimana relawan akan menggunakan sediaan uji selama masa penelitian, yaitu 4 jam. Kolagen yang menjadi bahan aktif dalam sediaan krim diisolasi langsung dari Teripang *Stichopus hermanni*. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa sebagian besar tubuh Teripang *Stichopus hermanni* mengandung kolagen (80%) yang dapat bermanfaat melembabkan kulit dan menjaga elastisitas kulit sehingga mengurangi penguapan air pada kulit.

Bila bersedia ikut, Anda akan diminta terlebih dahulu untuk mengisi data tentang riwayat kesehatan, riwayat alergi, kelainan atau penyakit kulit, riwayat pengobatan terakhir dan hal-hal yang berhubungan dengan uji yang akan dilakukan. Jika hasil jawaban Anda ternyata tidak sesuai dengan syarat-syarat uji dan faktor inklusi, maka Anda tidak dapat mengambil bagian dalam penelitian ini. Selama waktu uji iritasi dan uji manfaat Anda tidak diperbolehkan menggunakan produk atau obat-obatan lain.

Anda yang diterima dalam penelitian akan melalui uji iritasi dahulu dengan cara dioleskan 20 µl bahan uji di punggung selama 30 menit, amati. Bila tidak terjadi reaksi iritasi area uji dibersihkan, lalu diulangi untuk 24 jam berikutnya, area uji ditutup *hypoallergenic tape*. Setelah 24 jam, plester dibuka dan diamati selama 15 – 30 menit, bila tidak terjadi reaksi, ulangi untuk 48 jam berikutnya. Efek samping yang mungkin terjadi adalah kemerahan, gatal, bengkak, timbul bentol berisi air pada daerah punggung yang diolesi, namun efek tersebut tidak permanen. Bila timbul efek seperti tersebut di atas, Anda akan diberikan pertolongan dan dibebaskan dari biaya yang diperlukan untuk itu.

(lanjutan).

Uji manfaat dilakukan pada Anda yang melewati uji iritasi tanpa masalah. Perlakuan uji dilakukan selama 4 jam dengan cara :

- Subjek penelitian dikondisikan pada kondisi pengamatan dan diukur kelembaban kulitnya dengan menggunakan korneometer sebelum diberi perlakuan apapun.
- Krim pelembab yang mengandung kolagen 5% diaplikasikan pada lengan bawah bagian kiri, sedangkan lengan bawah bagian kanan diaplikasikan dengan krim biasa (kontrol). Luas area pengujian yaitu 25 cm² dan banyaknya krim yang diaplikasikan untuk masing-masing area adalah 50 µL.
- Kedua jenis perlakuan dilakukan selama 4 jam dan pengukuran hidrasi kulit dilakukan pada saat t₀, t₁, t₂ dan t₄
- Selama proses pengujian, area yang diaplikasikan sediaan, baik krim kontrol maupun krim perlakuan, dibiarkan terbuka dan tidak boleh terkena air
- Pemeriksaan hidrasi kulit dilakukan menggunakan alat korneometer

Anda yang telah mengikuti penelitian ini bebas memutuskan untuk berhenti atau mengundurkan diri setiap saat. Semua data penelitian diperlakukan secara rahasia dan hanya tim peneliti yang mengetahui keadaannya, sehingga tidak ada orang lain yang akan menghubungkannya dengan Anda. Bila ada informasi baru yang akan mempengaruhi pertimbangan Anda untuk melanjutkan atau berhenti dari penelitian ini akan segera disampaikan kepada Anda.

Bila Anda diketahui tidak mengikuti instruksi penelitian, maka peneliti berhak mengeluarkan Anda dari penelitian dan tidak diikutsertakan dalam sisa waktu penelitian. Proses pengambilan data penelitian dilakukan 3 (tiga) kali, yaitu pemeriksaan awal (t₀), jam ke-1 (t₁), jam ke-2 (t₂), dan jam ke-4 (t₄).

Anda diberikan keleluasaan untuk menanyakan semua hal sehubungan dengan penelitian ini kepada peneliti. Bila terjadi efek samping atau Anda membutuhkan penjelasan sewaktu-waktu, Anda dapat menghubungi saya, Wanda, di nomor telepon 08567995387

Lampiran 12. Formulir data diri dan riwayat kesehatan subjek penelitian.

DATA DIRI & RIWAYAT KESEHATAN	
Nama	:
Tempat & Tgl. Lahir	:
Alamat domisili	:
Telepon rumah	:
	HP :
Jenis Kelamin	:
Status Perkawinan	:
Suku	:
Jenis Pekerjaan	:
Apakah Anda memiliki keluhan kekeringan kulit ?	ya / tidak
RIWAYAT KESEHATAN	
Apakah Anda memiliki alergi terhadap obat-obatan tertentu?	ya / tidak
Merujuk pertanyaan sebelumnya, jika jawaban Anda 'ya', alergi terhadap.....	
.....	
Apakah Anda memiliki alergi terhadap produk kosmetik tertentu?	ya / tidak
Merujuk pertanyaan sebelumnya, jika jawaban Anda 'ya', alergi terhadap.....	
.....	
Apakah Anda memiliki kebiasaan merawat kulit? (penggunaan pelembab, sabun mandi, lulur dll)	ya / tidak
Apakah Anda sedang mengonsumsi obat-obatan tertentu ?	ya / tidak

(lanjutan)

Apakah Anda pernah mengalami kekringan kulit, gatal-gatal berulang atau penyakit kulit lainnya?

ya / tidak

Apakah Anda mempunyai penyakit turunan (alergi, asma, diabetes, hipertensi dll)?

ya / tidak

Jika jawaban-jawaban Anda di atas tidak sesuai dengan yang diinginkan oleh pihak peneliti, bersediaah Anda mengikuti instruksi yang diinginkan ?

ya / tidak

Merujuk pertanyaan sebelumnya, bila jawaban Anda 'tidak', maka Anda dinyatakan mengundurkan diri sebagai calon relawan penelitian.

Bila jawaban Anda 'ya', maka Anda dapat ikut serta dalam penelitian.

Peneliti utama,

Calon Relawan,

(Wanda Anggi Andirisnanti, S.Si)

()

Mengetahui

Evaluatur

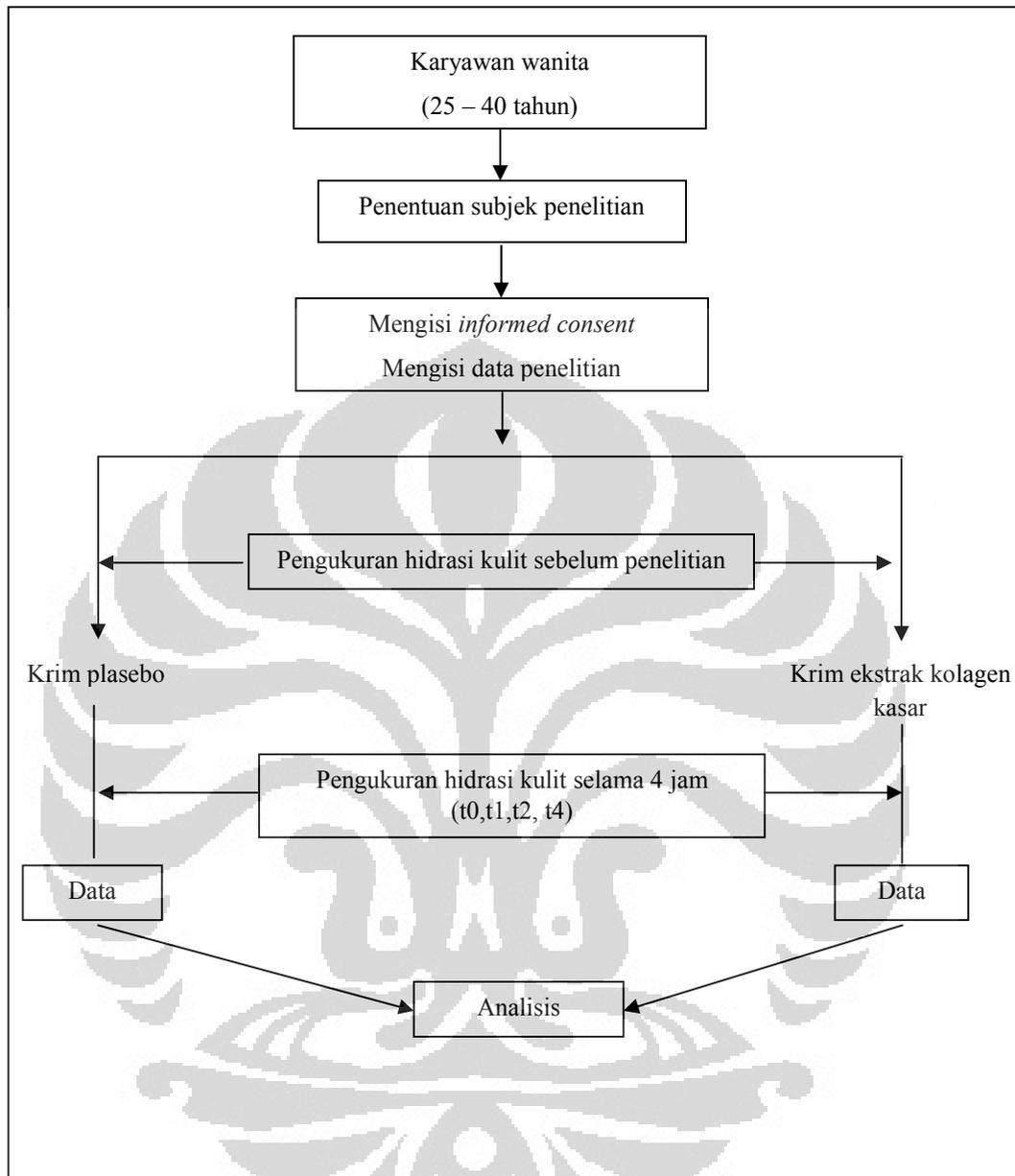
Penanggung jawab

Pebruanty Sipahutar, S.Farm., Apt.

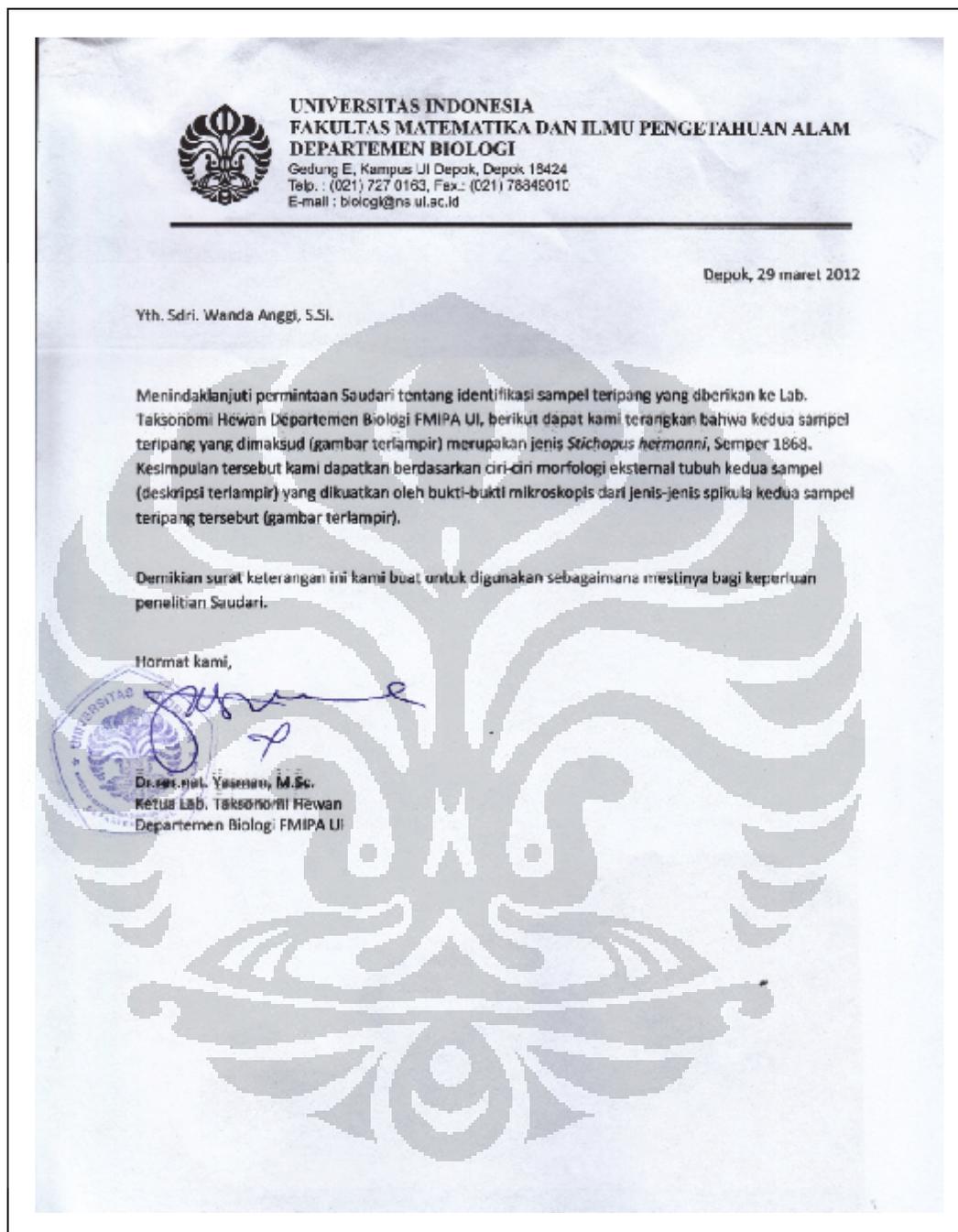
Dr.rer.nat. Anna Ranti, Apt

Lampiran 13. Formulir persetujuan subjek penelitian untuk mengikuti prosedur uji manfaat.

FORMULIR PERSETUJUAN		
<p>Semua penjelasan mengenai penelitian di atas telah disampaikan kepada saya dan telah saya mengerti dengan baik. Semua pertanyaan mengenai penelitian telah saya dapatkan jawabannya.</p> <p>Dengan menandatangani formulir ini, saya menyatakan setuju untuk ikut serta dalam penelitian sebagai relawan, bersedia mengikuti instruksi tim peneliti, mengerti hak dan kewajiban saya, serta bila ada keluhan atau pertanyaan sehubungan dengan penelitian saya akan menanyakan langsung kepada tim peneliti.</p>		
<p>Jakarta,2012</p>		
Calon Relawan	Evaluator	Peneliti utama
()	(Pebruanty S., S.Farm, Apt)	(Wanda Anggi A., S.Si)
Dokter Penanggungjawab/saksi	Penanggungjawab	
dr.Teti Loho, SpKK.	Dr. rer.nat. Anna Ranti, Apt.	
<p>Keterangan Hasil Uji Iritasi : diterima / ditolak</p>		

Lampiran 14. Prosedur uji manfaat sediaan krim ekstrak kolagen kasar teripang

Lampiran 15. Hasil identifikasi teripang *Stichopus hermanni* dari Laboratorium Taksonomi Hewan, Departemen Biologi, FMIPA-UI.



(lanjutan).

Deskripsi Biota:

Spesimen yang diperoleh dari alam (Kepulauan Seribu, Jakarta) memiliki warna cokelat kekuningan dengan bintik-bintik hitam besar dan kecil sebagai tempat keluar papila (Gambar terlampir). Spesimen yang diperoleh dari tempat budidaya (Lampung) memiliki warna kuning emas dengan bintik-bintik hitam yang terlihat jelas sebagai tempat keluar papila (Gambar terlampir).

Pengamatan spikula dilakukan pada kedua spesimen. Spikula dari dinding tubuh pada spesimen dari alam terdiri atas spikula betuk meja, roset, batang berbentuk huruf C, batang berbentuk huruf S, dan batang dengan duri (dalam kondisi patah) (Gambar terlampir). Spikula dari dinding tubuh pada spesimen dari tempat budidaya terdiri atas spikula bentuk meja, roset, batang berbentuk huruf C, dan lempeng berlubang dengan ukuran lubang relatif besar (Gambar terlampir).

Berdasarkan pengamatan morfologi dan mikroskopik spikula serta dibandingkan dengan literatur, spesimen yang diperoleh dari alam maupun dari tempat budidaya memiliki kesamaan spesies yaitu teripang *Stichopus hermanni*. Menurut Massin (1999), *Stichopus hermanni* memiliki warna kuning kehijauan sampai abu-abu kekuningan dengan bintik-bintik berwarna coklat kehitaman dipermukaan tubuh bagian dorsal. Berdasarkan pengamatan mikroskopik, spesimen yang diperoleh dari alam maupun budidaya termasuk ke dalam bangsa Aspidochirotida. Spikula Aspidochirotida umumnya merupakan kombinasi dari spikula bentuk meja, batang, lempeng berlubang, kancing, dan roset (Clark & Rowe, 1971).

Taksonomi *Stichopus hermanni* :

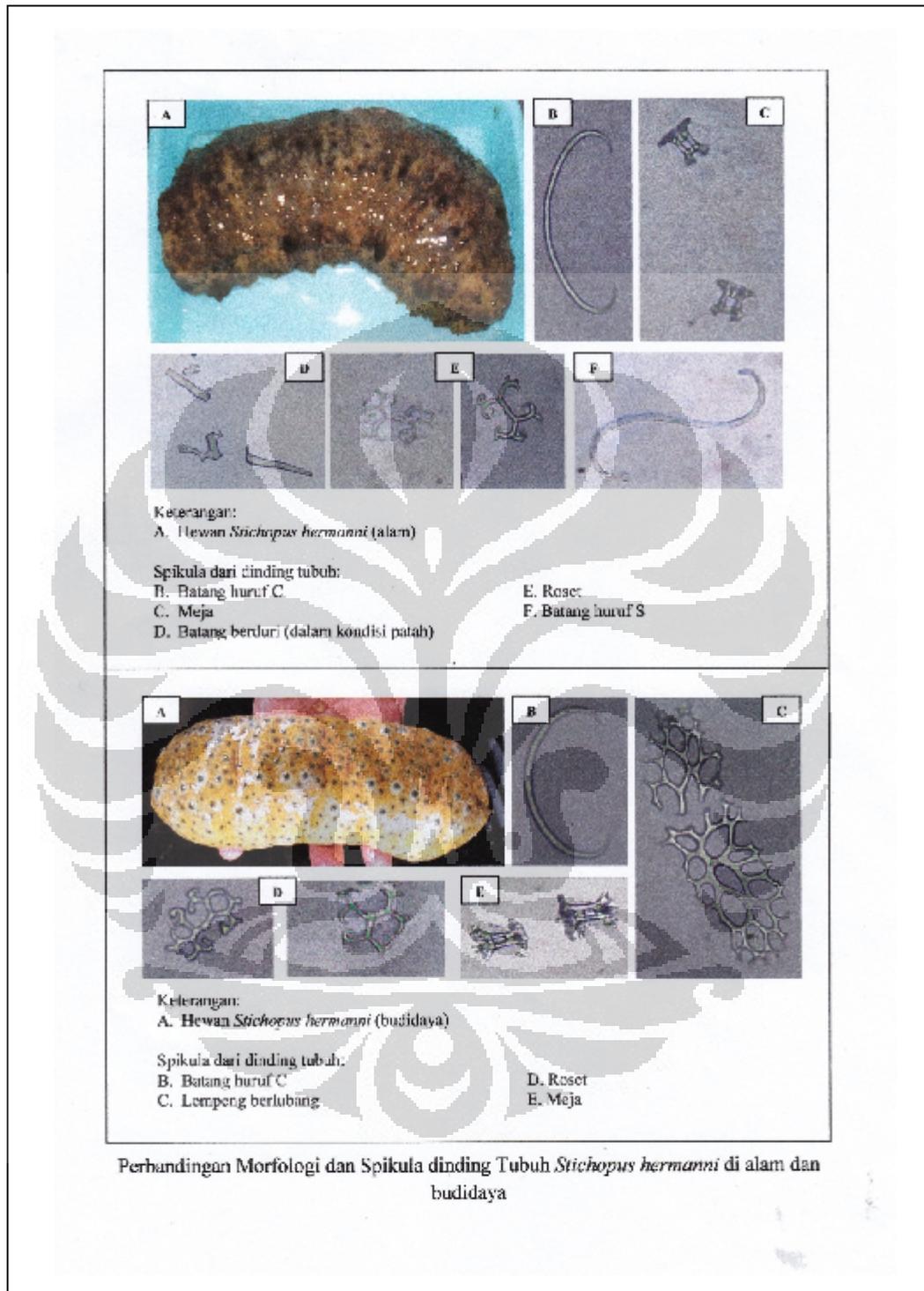
Suku Stichopodidae Haeckel, 1886

Marga *Stichopus* Brandt, 1835

Stichopus hermanni Semper, 1868

Sinonim: *Stichopus variegatus hermanni*: Semper (1868), *Stichopus variegatus* var. *hermanni* : Clark (1992).

(lanjutan).



Lampiran 16. Gambar pelet hasil ekstraksi dengan campuran larutan Tris HCl dan EDTA

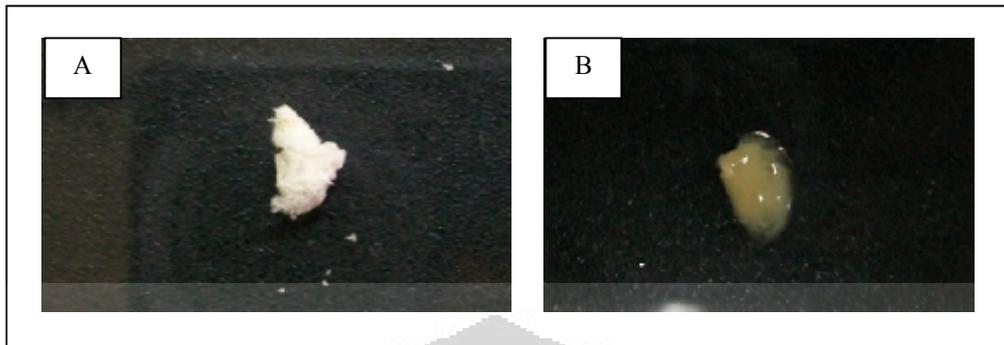


Lampiran 17. Pengamatan organoleptis ekstrak kolagen kasar dari teripang budidaya dan alam.



Keterangan : A. Ekstrak kolagen kasar dari teripang budidaya dan alam; B. Standar warna untuk menilai warna ekstrak kolagen kasar dari teripang alam; C. Standar warna untuk menilai warna ekstrak kolagen kasar dari teripang budidaya.

Lampiran 18. Ekstrak kolagen kasar yang menjadi lengket karena bersifat higroskopis.

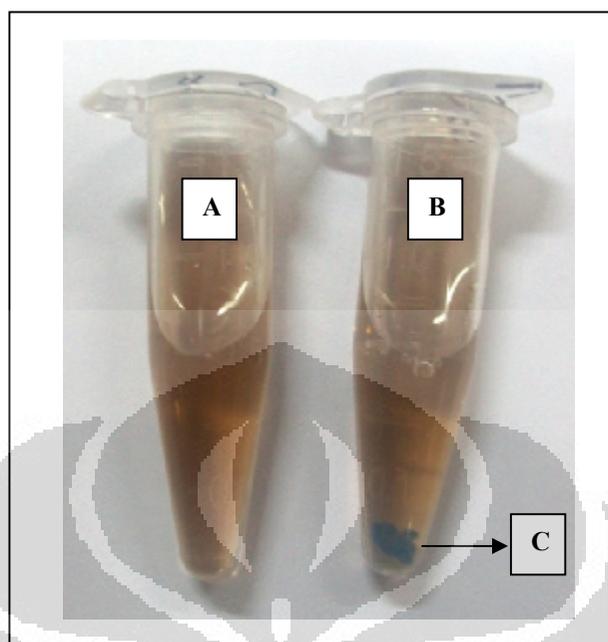


Keterangan : A. Ekstrak kolagen kasar yang kering; B. Ekstrak kolagen kasar dibiarkan di tempat terbuka.

Lampiran 19. Hasil positif uji Biuret terhadap ekstrak kolagen kasar teripang yang menghasilkan endapan biru



Lampiran 20. Hasil positif uji Bradford terhadap ekstrak kolagen kasar teripang



Keterangan: A. Kontrol positif; B. Ekstrak kolagen kasar teripang; C. Endapan biru

Lampiran 21. Komposisi bahan baku sediaan krim dengan konsentrasi yang memenuhi persyaratan Annexes of The Asean Cosmetics Directive dan Pharmaceutical excipients.

Bahan	Krim plasebo (%)	Krim ekstrak kolagen kasar (%)	Konsentrasi yang memenuhi persyaratan (%)
Asam Stearat	5	5	1 – 20
Setil Alkohol	3	3	2 – 5
IPM	3	3	1 – 10
TEA	0,4	0,4	1 -5
Metil Paraben	0,2	0,2	0,02 – 0,3
Propil Paraben	0,1	0,1	0,01 – 0,6
GMS	2	2	5 – 20
Propilen Glikol	15	15	± 15
BHT	0,1	0,1	0,0075 – 0,1

Lampiran 22. Formulir pengamatan organoleptis sediaan krim.

PENGAMATAN ORGANOLEPTIS SEDIAAN KRIM		
Tanggal:		
Anda telah menerima sampel A dan juga telah menerima sampel yang diberi tanda X. Ujilah tiap sampel (bau, warna, homogenitas dan performansi sediaan krim). Kemudian beri tanda tingkat perbedaan yang ada.		
1) Bau (beri tanda silang atau centang)		
	Sampel A	Sampel X
Sangat Amis		
Amis		
Netral		
Harum		
Sangat Harum		
2) Warna (beri tanda silang atau centang)		
	Sampel A	Sampel X
B27-1		
B27-2		
B28-1		
B28-2		
E34		
E35		
E37		
E38		
3) Uji Homogenitas		
	Sampel A	Sampel X
Tidak Homogen		
Kurang Homogen		
Homogen		

(lanjutan).

4) Uji Performansi**a. Consistency (beri tanda silang atau centang)**

Kita menempatkan dua botol berisi produk uji dan produk standar di depan kita. Kemudian kita celupkan jari telunjuk dari kedua tangan ke dalam produk sampai bagian bawah kemasan. Segera setelah prosedur tersebut, jari kita keluarkan dari kemasan. Konsistensi ini berkorelasi dengan tekanan yang kita alami selama jari kita berada di dalam produk dan ketika kita mengeluarkan jari kita. Apakah tekanan yang kita rasakan sama dari bagian atas kemasan sampai bawah. Prosedur ini dapat diulang satu sampai tiga kali.

Hasil :

	Sampel A	Sampel X
Bagian atas \neq Bagian bawah		
Bagian atas = Bagian bawah		

b. Cushion (beri tanda silang atau centang)

Produk ditempatkan pada ujung jari telunjuk kemudian diusapkan dengan ibu jari. Evaluasi produk dilakukan dengan menentukan kepadatan dari produk selama dioleskan.

Hasil :

	Sampel A	Sampel X
Kurang Padat		
Padat		
Sangat Padat		

c. Distribution (beri tanda silang atau centang)

Pengujian ini dilakukan dengan cara mengoleskan produk pada lengan tangan. Evaluasi dilakukan untuk mengetahui persebaran krim apabila diaplikasikan ke tubuh.

Hasil :

	Sampel A	Sampel X
Mudah Menyebar		
Sulit Menyebar		

(lanjutan).

d. *Absorption* (beri tanda silang atau centang)

Evaluasi dari absorpsi dilakukan untuk mengetahui daya serap dari produk dan juga kecepatan penetrasi dari krim.

Hasil :

	Sampel A	Sampel X
Mudah menyerap		
Sulit menyerap		

e. *Stickiness* (beri tanda silang atau centang)

Evaluasi dari *stickiness* dilakukan dengan cara mengoleskan produk krim kepada lengan kemudian ditrepuk-tepuk untuk menilai apakah produk yang dihasilkan lengket apa tidak.

Hasil :

	Sampel A	Sampel X
Lengket		
Tidak lengket		

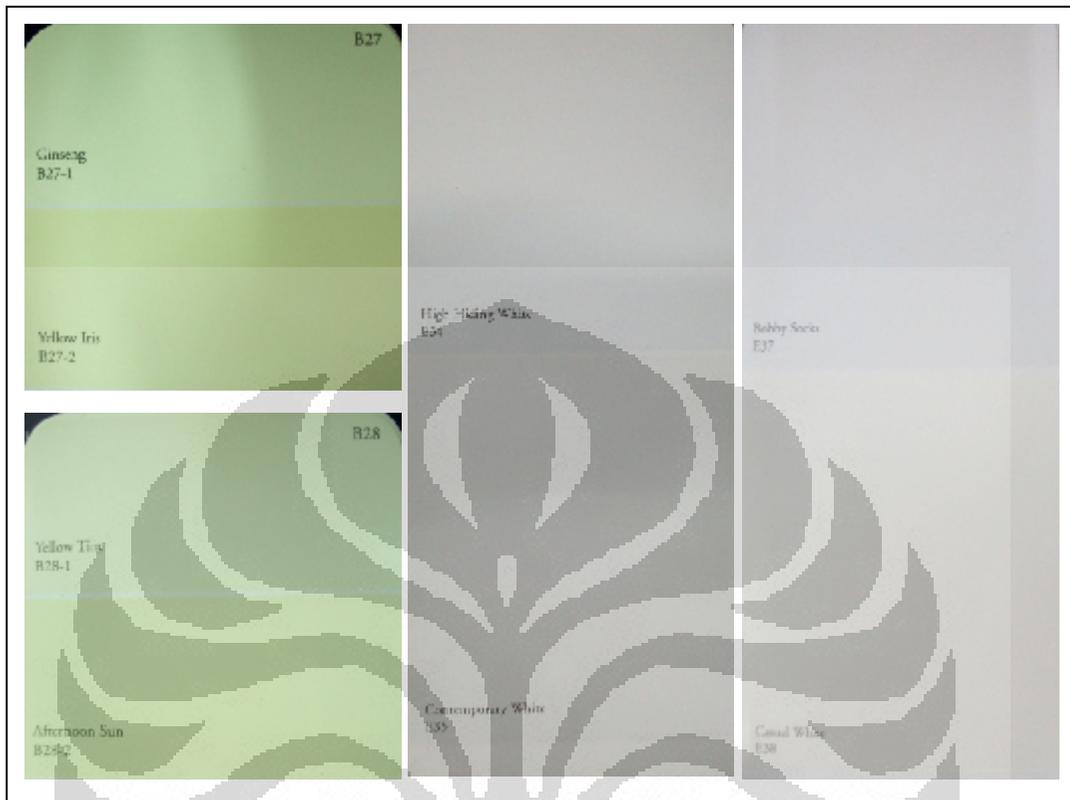
f. *Smoothness* (beri tanda silang atau centang)

Evaluasi *smoothness* dilakukan untuk mengetahui tingkat kelembutan dari produk yang dihasilkan.

Hasil :

	Sampel A	Sampel X
Lembut		
Tidak lembut		

Lampiran 23. Standar warna Ace paint yang digunakan untuk penilaian warna sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo.



Lampiran 24. Tabel hasil perhitungan viskositas sediaan krim ekstrak kolagen kasar pada minggu ke-0.

Ukuran Spindel	Kecepatan Putaran (rpm)	Dial Reading (dr)	Faktor Koreksi (f)	Viskositas ($\eta = dr \times f$) (cps)	Shearing Stress $F/A = dr \times 7,187$ (dyne / cm ²)	Rate of Sheare $dv / dr = F/A \times 1/\eta$
5	0,5	12,5	8000	100000	89,8375	0,000898375
	2	18,5	2000	37000	132,9595	0,0035935
	4	24,5	1000	24500	176,0815	0,007187
	10	35,5	400	14200	255,1385	0,0179675
	20	47,5	200	9500	341,3825	0,035935
	20	42,5	200	8500	305,4475	0,035935
	10	30	400	12000	215,61	0,0179675
	4	19,5	1000	19500	140,1465	0,007187
	2	14,5	2000	29000	104,2115	0,0035935
	0,5	8,5	8000	68000	61,0895	0,000898375

Lampiran 25. Tabel hasil perhitungan viskositas krim plasebo pada minggu ke-0.

Ukuran Spindel	Kecepatan Putaran (rpm)	Dial Reading (dr)	Faktor Koreksi (f)	Viskositas ($\eta = dr \times f$) (cps)	Shearing Stress $F/A = dr \times 7,187$ (dyne / cm ²)	Rate of Sheare $dv / dr = F/A \times 1/\eta$
5	0,5	15	8000	120000	107,805	0,000898375
	2	29	2000	58000	208,423	0,0035935
	4	43,5	1000	43500	312,6345	0,007187
	10	60,5	400	24200	420,4395	0,0179675
	20	61,5	200	12300	467,155	0,035935
	20	58,5	200	11700	420,4395	0,035935
	10	45,5	400	18200	327,0085	0,0179675
	4	30,5	1000	30500	219,2035	0,007187
	2	21,5	2000	43000	154,5205	0,0035935
	0,5	11	8000	88000	79,057	0,000898375

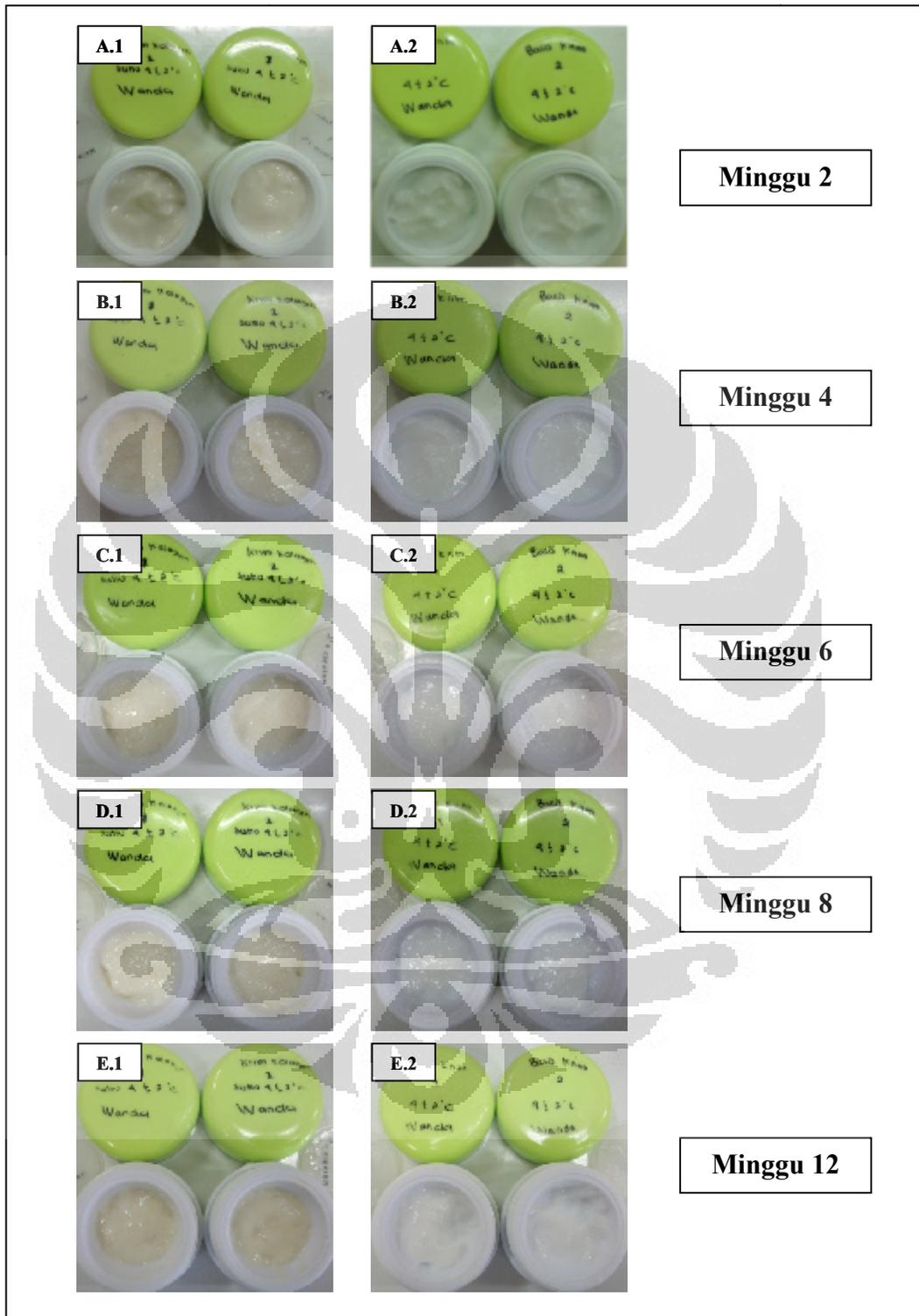
Lampiran 26. Tabel hasil perhitungan viskositas sediaan krim ekstrak kolagen kasar pada minggu ke-12.

Ukuran Spindel	Kecepatan Putaran (rpm)	Dial Reading (dr)	Faktor Koreksi (f)	Viskositas ($\eta = dr \times f$) (cps)	Shearing Stress $F/A = dr \times 7,187$ (dyne / cm ²)	Rate of Sheare $dv / dr = F/A \times 1/\eta$
5	0,5	15	8000	120000	107,805	0,000898375
	2	25	2000	50000	179,675	0,0035935
	4	31,5	1000	31500	226,3905	0,007187
	10	48	400	19200	344,976	0,0179675
	20	63	200	12600	452,781	0,035935
	20	56,5	200	11300	406,0655	0,035935
	10	40	400	16000	287,48	0,0179675
	4	26,5	1000	26500	190,4555	0,007187
	2	19	2000	38000	136,553	0,0035935
	0,5	11	8000	88000	79,057	0,000898375

Lampiran 27. Tabel hasil perhitungan viskositas krim plasebo pada minggu ke-12.

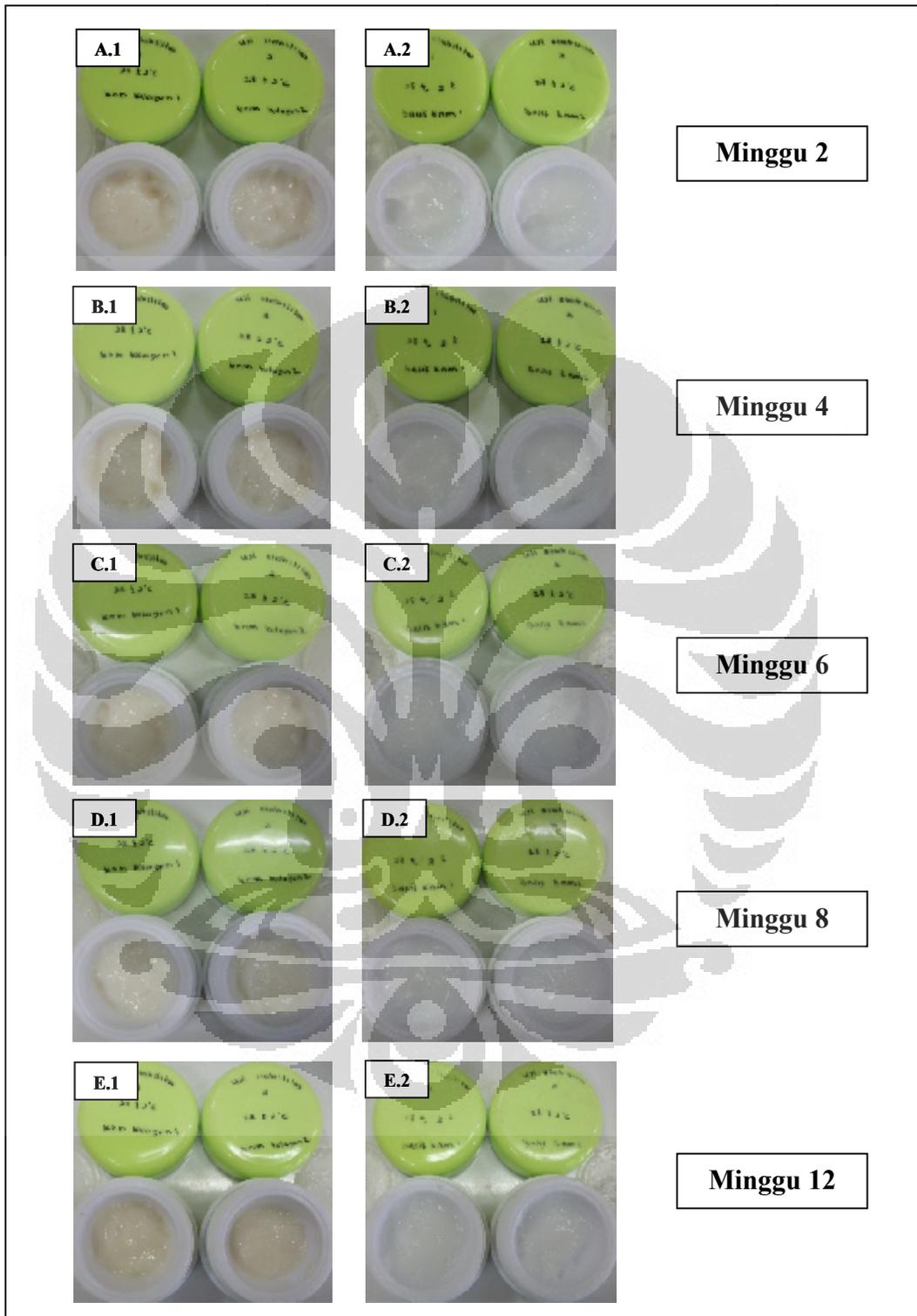
Ukuran Spindel	Kecepatan Putaran (rpm)	Dial Reading (dr)	Faktor Koreksi (f)	Viskositas ($\eta = dr \times f$) (cps)	Shearing Stress $F/A = dr \times 7,187$ (dyne / cm ²)	Rate of Sheare $dv / dr = F/A \times 1/\eta$
5	0,5	19	8000	152000	136,553	0,000898375
	2	38	2000	76000	273,106	0,0035935
	4	51	1000	51000	366,537	0,007187
	10	77	400	30800	553,399	0,0179675
	20	88,5	200	17700	636,0495	0,035935
	20	80	200	16000	574,96	0,035935
	10	65,5	400	26200	470,7485	0,0179675
	4	38	1000	38000	273,106	0,007187
	2	25	2000	50000	179,675	0,0035935
	0,5	11	8000	88000	79,057	0,000898375

Lampiran 28. Uji stabilitas sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo pada suhu 4 ± 2 °C.



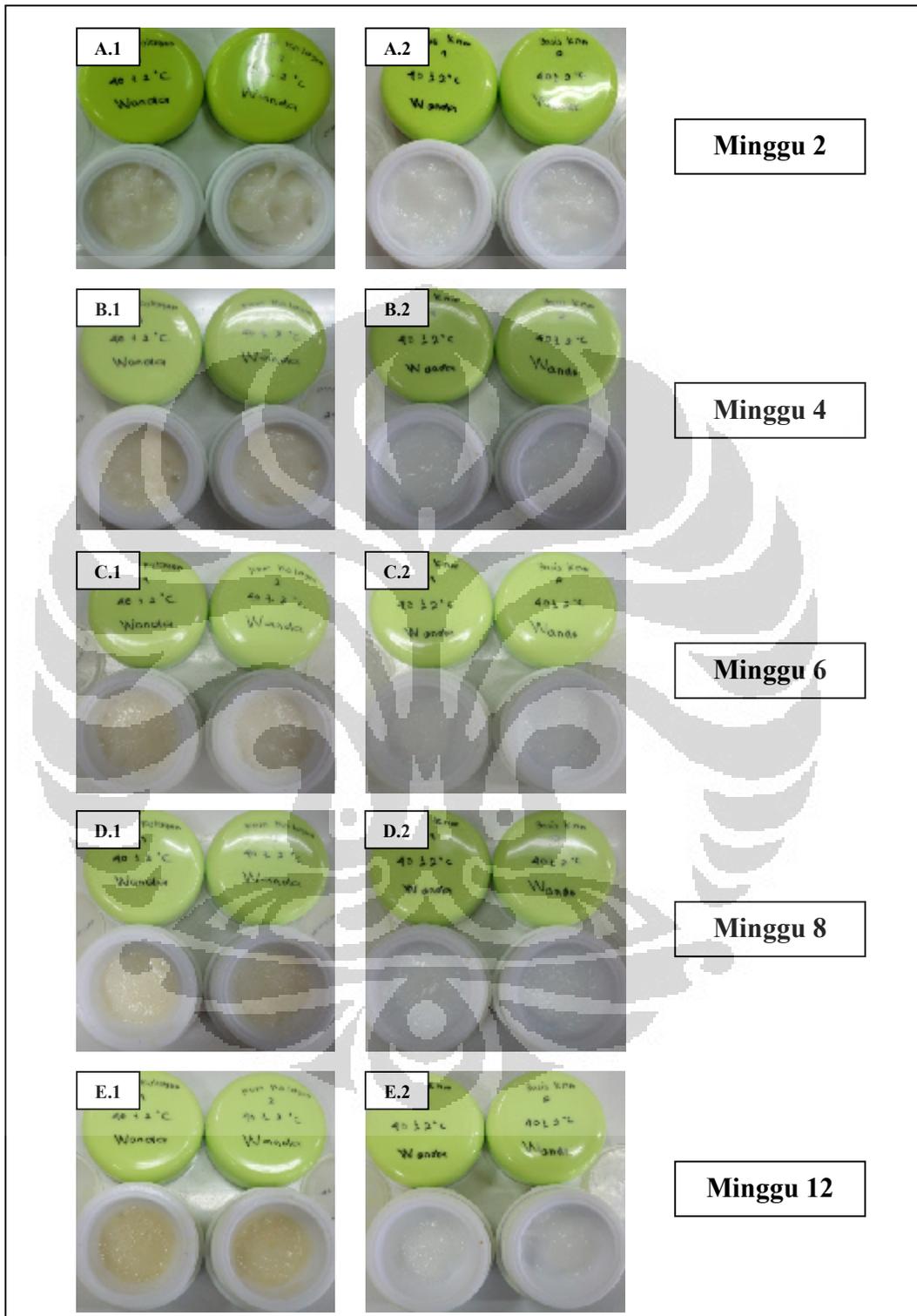
Keterangan : A.1. Krim ekstrak kolagen kasar minggu ke-2; A.2. Krim plasebo minggu ke-2;
 B.1. Krim ekstrak kolagen kasar minggu ke-4; B.2. Krim plasebo minggu ke-4;
 C.1. Krim ekstrak kolagen kasar minggu ke-6; C.2. Krim plasebo minggu ke-6;
 D.1. Krim ekstrak kolagen kasar minggu ke-8; D.2. Krim plasebo minggu ke-8;
 E.1. Krim ekstrak kolagen kasar minggu ke-12; E.2. Krim plasebo minggu ke-12.

Lampiran 29. Uji stabilitas sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo pada suhu 28 ± 2 °C.



Keterangan : A.1. Krim ekstrak kolagen kasar minggu ke-2; A.2. Krim plasebo minggu ke-2;
 B.1. Krim ekstrak kolagen kasar minggu ke-4; B.2. Krim plasebo minggu ke-4;
 C.1. Krim ekstrak kolagen kasar minggu ke-6; C.2. Krim plasebo minggu ke-6;
 D.1. Krim ekstrak kolagen kasar minggu ke-8; D.2. Krim plasebo minggu ke-8;
 E.1. Krim ekstrak kolagen kasar minggu ke-12; E.2. Krim plasebo minggu ke-12.

Lampiran 30. Uji stabilitas sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo pada suhu $40 \pm 2^\circ\text{C}$.



Keterangan : A.1. Krim ekstrak kolagen kasar minggu ke-2; A.2. Krim plasebo minggu ke-2;
 B.1. Krim ekstrak kolagen kasar minggu ke-4; B.2. Krim plasebo minggu ke-4;
 C.1. Krim ekstrak kolagen kasar minggu ke-6; C.2. Krim plasebo minggu ke-6;
 D.1. Krim ekstrak kolagen kasar minggu ke-8; D.2. Krim plasebo minggu ke-8;
 E.1. Krim ekstrak kolagen kasar minggu ke-12; E.2. Krim plasebo minggu ke-12.

Lampiran 31. Tabel pemeriksaan pH sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo pada suhu 4 ± 2 °C selama 12 minggu

Sediaan krim	Waktu penyimpanan (minggu ke-)									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	12
Krim ekstrak kolagen kasar	7,40	7,30	7,39	7,88	7,68	7,45	7,32	7,42	7,60	7,38
Krim plasebo	6,70	6,58	6,21	7,21	6,84	6,58	6,44	6,82	6,76	6,67

Lampiran 32. Tabel pemeriksaan pH sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo pada suhu 28 ± 2 °C selama 12 minggu

Sediaan krim	Waktu penyimpanan (minggu ke-)									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	12
Krim ekstrak kolagen kasar	7,40	7,42	7,21	7,47	7,70	7,59	7,50	7,57	7,59	7,46
Krim plasebo	6,70	6,47	6,38	6,71	6,90	6,84	6,68	6,90	6,82	6,60

Lampiran 33. Tabel pemeriksaan pH sediaan krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo pada suhu 40 ± 2 °C selama 12 minggu

Sediaan krim	Waktu penyimpanan (minggu ke-)									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	12
Krim ekstrak kolagen kasar	7,40	7,56	7,66	7,89	7,71	7,38	7,23	7,54	7,50	7,39
Krim plasebo	6,70	6,65	6,49	7,12	6,95	6,71	6,77	6,87	6,89	6,65

Lampiran 34. Tabel pengamatan uji *cycling test*

Sediaan krim	Siklus ke-0		Siklus ke-6		Kristalisasi	Pemisahan fase
	Warna	pH	Warna	pH		
Krim ekstrak kolagen kasar	Ginseng	7,40	Ginseng	7,47	Tidak terjadi kristalisasi	Tidak terjadi pemisahan fase
Krim plasebo	High hiding white	6,70	High hiding white	6,73	Tidak terjadi kristalisasi	Tidak terjadi pemisahan fase

Lampiran 35. Surat keterangan lolos kaji etik



**Komite Etik Penelitian Kesehatan
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo**

*Health Research Ethics Committee
Faculty of Medicine Universitas Indonesia
Cipto Mangunkusumo Hospital*



Jalan Salemba Raya No. 6, Jakarta Pusat 10430, Telp. 021-3157008, E-mail: ec_fkui@yahoo.com

NOMOR: 31 VPT02.FK/ETIK/2012

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL — APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo Jakarta dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:

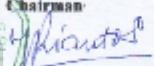
The Committee of The Medical research Ethics of the Faculty of Medicine, University of Indonesia/Cipto Mangunkusumo Hospital Jakarta with regards of the Protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled:

"Isolasi dan Uji Bioprospek Kolagen dari Teripang *Stichopus* sp. Sebagai Bahan Pelembab Kulit"

Peneliti Utama : Wanda Anggi Andirismanti, S.Si
Principal Investigator

Nama Institusi : Fakultas Farmasi Universitas Indonesia
Name of the institution

dan telah menyetujui protokol tersebut di atas.
and approved the above mentioned proposal.

Jakarta, 15 MAY 2012
Ketua
Chairman

Prof. Dr. dr. Rianto Setiabudy, SpFK

◆ *Ethical approval berlaku satu tahun dari tanggal peninjauan.*
◆ **Peneliti bertanggung jawab:**

1. Menjaga keselamatan identitas subyek penelitian.
2. Memberitahukan status penelitian apabila:
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical approval* harus diperpanjang.
 - b. Penelitian berakhir di tengah jalan.
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*).
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan *approved consent*.

Lampiran 36. Tabel hasil pengamatan uji iritasi pada pemberian krim ekstrak kolagen kasar dan krim plasebo.

No	Sukarelawan	Sediaan	Pengamatan																			
			T0 (0 menit)					T1 (30 menit)					T2 (4 jam)					T4 (48 jam)				
			Objektif			Subjektif		Objektif			Subjektif		Objektif			Subjektif		Objektif			Subjektif	
			M	B	Bt	P	G	M	B	Bt	P	G	M	B	Bt	P	G	M	B	Bt	P	G
1	SSI2	KP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		KC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	MAN3	KP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		KC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	VOL4	KP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		KC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	YSI5	KP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		KC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	TWA6	KP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		KC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	DPA7	KP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		KC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	WSI8	KP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		KC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	PSI9	KP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		KC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	ERA10	KP	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
		KC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	LID11	KP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		KC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : KP. Krim ekstrak kolagen kasar; KC. Krim plasebo; M. Merah; G. Gatal; B. Bengkak; P. Panas; Bt. Bentol; +. Panas

Lampiran 37. Tabel hasil pengujian kelembaban berdasarkan parameter kadar air kulit untuk sediaan krim ekstrak kolagen kasar teripang.

Subjek Penelitian	Usia (tahun)	Suhu (°C)	Rh	Pengukuran Kadar Air Kulit (Unit)								
				T01	T1	Selisih T1	T02	T2	Selisih T2	T04	T4	Selisih T4
SSI2	40	29	37	31,63	38,33	6,70	32,80	34,60	1,80	30,03	34,17	4,14
MAN2	34	29	37	27,17	37,67	10,50	30,40	33,80	3,40	33,53	34,00	0,47
VOL4	25	29	37	27,03	36,20	9,17	34,93	37,00	2,07	34,03	28,90	-5,13
YSI5	30	29	37	35,80	41,63	5,83	28,00	31,47	3,47	32,47	39,63	7,16
TWA6	40	29	37	26,07	40,10	14,03	29,70	35,47	5,77	32,43	34,70	2,27
DPA7	37	29	37	23,77	31,30	7,53	21,90	25,20	3,30	23,87	24,23	0,36
WSI8	25	29	39	28,03	32,53	4,50	31,87	34,77	2,90	29,70	28,40	-1,30
PSI9	25	29	39	32,03	33,93	1,90	28,80	33,77	4,97	26,90	31,57	4,67
ERA10	32	29	37	24,93	35,53	10,60	29,10	36,30	7,20	22,53	22,23	-0,30
LID11	26	29	37	25,93	33,57	7,64	29,47	29,60	0,13	34,77	33,07	-1,70
Total				282,39	360,79	78,40	296,97	331,98	35,01	300,26	310,90	10,64
Rerata		29	37,4	28,24	36,08	7,84	29,70	33,20	3,50	30,03	31,09	1,06

Keterangan : T01. T02. T04. Pengukuran pada saat belum diaplikasikan krim; T1. Pengukuran setelah 1 jam pengaplikasian krim; T2. Pengukuran setelah 2 jam pengaplikasian krim; T4. Pengukuran setelah 4 jam pengaplikasian krim.

Lampiran 38. Tabel hasil pengujian kelembaban berdasarkan parameter kadar air kulit untuk sediaan krim plasebo.

Subjek penelitian	Usia (tahun)	Suhu (°C)	Rh	Pengukuran Kadar Air Kulit (Unit)								
				T01	T1	Selisih T1	T02	T2	Selisih T2	T04	T4	Selisih T4
SSI2	40	29	37	36,90	39,50	2,60	33,77	34,67	0,90	29,20	34,83	5,63
MAN2	34	29	37	32,20	31,70	-0,50	34,73	31,37	-3,36	32,70	30,87	-1,83
VOL4	25	29	37	32,60	34,47	1,87	31,30	35,13	3,83	37,57	35,57	-2,00
YSI5	30	29	37	36,80	38,53	1,73	37,23	36,90	-0,33	28,77	27,50	-1,27
TWA6	40	29	37	23,47	32,40	8,93	28,87	34,17	5,30	34,57	34,67	0,10
DPA7	37	29	37	24,60	30,07	5,47	23,63	24,83	1,20	23,67	20,53	-3,14
WSI8	25	29	39	27,90	29,80	1,90	30,20	31,93	1,73	34,53	27,03	-7,50
PSI9	25	29	39	30,77	38,13	7,36	26,67	29,83	3,16	27,60	23,17	-4,43
ERA10	32	29	37	28,23	29,03	0,80	25,27	37,00	11,73	21,63	25,53	3,90
LID11	26	29	37	23,47	25,40	1,93	28,50	27,27	-1,23	25,57	26,43	0,86
Total				296,94	329,03	32,09	300,17	323,10	22,93	295,81	286,13	-9,68
Rerata		29	37,4	29,69	32,90	3,21	30,02	32,31	2,29	29,58	28,61	-0,97

Keterangan : T01. T02. T04. Pengukuran pada saat belum diaplikasikan krim; T1. Pengukuran setelah 1 jam pengaplikasian krim; T2. Pengukuran setelah 2 jam pengaplikasian krim; T4. Pengukuran setelah 4 jam pengaplikasian krim.

Lampiran 39. Hasil analisis statistika uji normalitas**Tests of Normality**

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
Jenis Krim		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Selisih Waktu Pengukuran	Kolagen	.065	30	.200 [*]	.992	30	.998
	Basis	.125	30	.200 [*]	.983	30	.895

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

H₀: Asumsi normalitas dipenuhi

H₁: Asumsi normalitas tidak dipenuhi

Sig. (0,998) > α (0,05) → Keputusan: H₀ diterima pada α (0,05) → Kesimpulan: Data jenis krim kolagen normal pada α (0,05) → Asumsi normalitas dipenuhi.

H₀: Asumsi normalitas dipenuhi

H₁: Asumsi normalitas tidak dipenuhi

Sig. (0,895) > α (0,05) → Keputusan: H₀ diterima pada α (0,05) → Kesimpulan: Data jenis basis krim normal pada α (0,05) → Asumsi normalitas dipenuhi.

Lampiran 40. Hasil analisis statistika uji homogenitas**Levene's Test of Equality of Error Variances^a**

Dependent Variable: Selisih Waktu Pengukuran

F	df1	df2	Sig.
.684	5	54	.638

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + Jenis_Krim + Waktu + Jenis_Krim * Waktu

H_0 : Asumsi homogenitas dipenuhi

H_1 : Asumsi homogenitas tidak dipenuhi

Sig. (0,638) > α (0,05) → Keputusan: H_0 diterima pada α (0,05) → Kesimpulan: Data jenis krim dan waktu pengukuran homogen pada α (0,05) → Asumsi homogenitas dipenuhi.

Lampiran 41. Hasil analisis statistika uji *paired sample t-test* untuk kelompok krim ekstrak kolagen kasar.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	T1_Kolagen	7.8400	10	3.44308	1.08880
	T2_Kolagen	3.5010	10	2.04685	.64727
Pair 2	T1_Kolagen	7.8400	10	3.44308	1.08880
	T4_Kolagen	1.0640	10	3.58056	1.13227
Pair 3	T2_Kolagen	3.5010	10	2.04685	.64727
	T4_Kolagen	1.0640	10	3.58056	1.13227

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	T1_Kolagen & T2_Kolagen	10	.285	.424
Pair 2	T1_Kolagen & T4_Kolagen	10	-.312	.380
Pair 3	T2_Kolagen & T4_Kolagen	10	.263	.462

Paired Samples Test

		Paired Differences							
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
					Lower	Upper			
Pair 1	T1_Kolagen - T2_Kolagen	4.33900	3.46724	1.09644	1.85868	6.81932	3.957	9	.003
Pair 2	T1_Kolagen - T4_Kolagen	6.77600	5.68953	1.79919	2.70596	10.84604	3.766	9	.004
Pair 3	T2_Kolagen - T4_Kolagen	2.43700	3.62628	1.14673	-.15709	5.03109	2.125	9	.063

Ho : $m_1 = m_2$ (tidak ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara jam ke-1 dengan jam ke-2)

H1 : $m_1 \neq m_2$ (ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara jam ke-1 dengan jam ke-2)

Sig. (0,003) < α (0,05) → Keputusan: H_0 ditolak pada α (0,05) → Kesimpulan: ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara jam ke-1 dengan jam ke-2 pada α (0,05).

(lanjutan).

$H_0 : m_1 = m_2$ (tidak ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara jam ke-1 dengan jam ke-4)

$H_1 : m_1 \neq m_2$ (ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara jam ke-1 dengan jam ke-4)

Sig. (0,004) < α (0,05) \rightarrow Keputusan: H_0 ditolak pada α (0,05) \rightarrow Kesimpulan: ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara jam ke-1 dengan jam ke-4 pada α (0,05).

$H_0 : m_1 = m_2$ (tidak ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara jam ke-2 dengan jam ke-4)

$H_1 : m_1 \neq m_2$ (ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara jam ke-2 dengan jam ke-4)

Sig. (0,063) > α (0,05) \rightarrow Keputusan: H_0 diterima pada α (0,05) \rightarrow Kesimpulan: tidak ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara jam ke-2 dengan jam ke-4 pada α (0,05).

Lampiran 42. Hasil analisis statistika uji *paired sample t-test* untuk kelompok krim plasebo.

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	T1_Plasebo	3.2090	10	3.02459	.95646
	T2_Plasebo	2.2930	10	4.16217	1.31619
Pair 2	T1_Plasebo	3.2090	10	3.02459	.95646
	T4_Plasebo	-.9680	10	3.84394	1.21556
Pair 3	T2_Plasebo	2.2930	10	4.16217	1.31619
	T4_Plasebo	-.9680	10	3.84394	1.21556

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	T1_Plasebo & T2_Plasebo	10	.216	.549
Pair 2	T1_Plasebo & T4_Plasebo	10	-.169	.641
Pair 3	T2_Plasebo & T4_Plasebo	10	.282	.429

Paired Samples Test

		Paired Differences		95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower				Upper
Pair 1	T1_Plasebo - T2_Plasebo	.91600	4.58613	1.45026	-2.36472	4.19672	.632	9	.543
Pair 2	T1_Plasebo - T4_Plasebo	4.17700	5.27756	1.66891	.40166	7.95234	2.503	9	.034
Pair 3	T2_Plasebo - T4_Plasebo	3.26100	4.80276	1.51877	-.17469	6.69669	2.147	9	.060

(lanjutan)

$H_0 : m_1 = m_2$ (tidak ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara jam ke-1 dengan jam ke-2)

$H_1 : m_1 \neq m_2$ (ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara jam ke-1 dengan jam ke-2)

Sig. (0,543) $> \alpha$ (0,05) \rightarrow Keputusan: H_0 diterima pada α (0,05) \rightarrow Kesimpulan: tidak ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara jam ke-1 dengan jam ke-2 pada α (0,05)

$H_0 : m_1 = m_2$ (tidak ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara jam ke-1 dengan jam ke-4)

$H_1 : m_1 \neq m_2$ (ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara jam ke-1 dengan jam ke-4)

Sig. (0,034) $< \alpha$ (0,05) \rightarrow Keputusan: H_0 ditolak pada α (0,05) \rightarrow Kesimpulan: ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara jam ke-1 dengan jam ke-4 pada α (0,05)

$H_0 : m_1 = m_2$ (tidak ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara jam ke-2 dengan jam ke-4)

$H_1 : m_1 \neq m_2$ (ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara jam ke-2 dengan jam ke-4)

Sig. (0,060) $> \alpha$ (0,05) \rightarrow Keputusan: H_0 diterima pada α (0,05) \rightarrow Kesimpulan: tidak ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara jam ke-2 dengan jam ke-4 pada α (0,05)

Lampiran 43. Hasil analisis statistika uji *independent sample test* untuk perbandingan kelompok krim ekstrak kolagen kasar dengan krim plasebo.

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Selisih_T1	Equal variances assumed	.037	.849	3.195	18	.005	4.63100	1.44924	1.58626	7.67574
	Equal variances not assumed			3.195	17.706	.005	4.63100	1.44924	1.58263	7.67937

Ho : $m_1 = m_2$ (tidak ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara penggunaan krim ekstrak kolagen kasar dengan krim placebo pada jam jam ke-1)

H1 : $m_1 \neq m_2$ (ada ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara penggunaan krim ekstrak kolagen kasar dengan krim placebo pada jam jam ke-1)

Sig. (0,005) < α (0,05) → Keputusan: H_0 ditolak pada α (0,05) → Kesimpulan: ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara penggunaan krim ekstrak kolagen kasar dengan krim placebo pada jam jam ke-1 pada α (0,05).

(lanjutan).

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Selisih_T2	Equal variances assumed	2.373	.141	.824	18	.421	1.20800	1.46674	-1.87351	4.28951
	Equal variances not assumed			.824	13.113	.425	1.20800	1.46674	-1.95794	4.37394

Ho : $m_1 = m_2$ (tidak ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara penggunaan krim ekstrak kolagen kasar dengan krim placebo pada jam jam ke-2)

H1 : $m_1 \neq m_2$ (ada ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara penggunaan krim ekstrak kolagen kasar dengan krim placebo pada jam jam ke-2)

Sig. (0,421) > α (0,05) \rightarrow Keputusan: H_0 diterima pada α (0,05) \rightarrow Kesimpulan: tidak ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara penggunaan krim ekstrak kolagen kasar dengan krim placebo pada jam jam ke-1 pada α (0,05)

(lanjutan).

		Independent Samples Test								
		Levene's Test for Equality of Variances			t-test for Equality of Means					
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Selisih_T4	Equal variances assumed	.006	.940	1.223	18	.237	2.03200	1.66121	-1.45807	5.52207
	Equal variances not assumed			1.223	17.910	.237	2.03200	1.66121	-1.45933	5.52333

Ho : $m_1 = m_2$ (tidak ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara penggunaan krim ekstrak kolagen kasar dengan krim placebo pada jam jam ke-4)

H1 : $m_1 \neq m_2$ (ada ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara penggunaan krim ekstrak kolagen kasar dengan krim placebo pada jam jam ke-4)

Sig. (0,237) > α (0,05) → Keputusan: H_0 diterima pada α (0,05) → Kesimpulan: tidak ada perbedaan peningkatan kadar air kulit antara penggunaan krim ekstrak kolagen kasar dengan krim placebo pada jam jam ke-4 pada α (0,05)

Lampiran 44. Hasil analisis statistika uji *two way anova***Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Selisih Waktu Pengukuran

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	435.256 ^a	5	87.051	7.450	.000
Intercept	478.216	1	478.216	40.924	.000
Jenis_Krim	103.254	1	103.254	8.836	.004
Waktu	300.084	2	150.042	12.840	.000
Jenis_Krim * Waktu	31.918	2	15.959	1.366	.264
Error	631.012	54	11.685		
Total	1544.485	60			
Corrected Total	1066.268	59			

a. R Squared = .408 (Adjusted R Squared = .353)

H₀: Tidak ada pengaruh interaksi jenis krim dan waktu pengukuran terhadap kadar air kulit (selisih waktu pengukuran)

H₁: Ada pengaruh interaksi jenis krim dan waktu pengukuran terhadap kadar air kulit (selisih waktu pengukuran)

Interaksi Jenis Krim * Waktu → Sig. 0,264

Sig. (0,264) > α (0,05) → Keputusan: H₀ diterima → Kesimpulan: Tidak ada pengaruh interaksi jenis krim dan waktu pengukuran terhadap kadar air kulit (selisih waktu pengukuran) pada α (0,05).