

**FORMULASI KRIM ANTIOKSIDAN
EKSTRAK KULIT BUAH KAKAO
(*Theobroma Cacao* L.)**

**NUR MITA
H 511 02 059**

15/08/2007
Fak. Farmasi
1 satu ek
hadiah
WZ



**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2007**

**FORMULASI KRIM ANTIOKSIDAN
EKSTRAK KULIT BUAH KAKAO
(*Theobroma Cacao* L.)**

SKRIPSI

**untuk melengkapi tugas – tugas dan memenuhi
syarat – syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**NUR MITA
H 511 02 059**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2007**

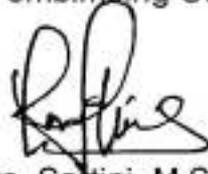
**FORMULASI KRIM ANTIOKSIDAN
EKSTRAK KULIT BUAH KAKAO (*Theobroma Cacao* L.)**

NUR MITA

H 511 02 059

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama



Dra. Sartini, M.Si., Apt
NIP. 131 696 792

Pembimbing Pertama



Mufidah, S.Si., M.Si., Apt
NIP. 132 240 180

Pembimbing Kedua



Dra. Ermina Pakki, M.Si., Apt
NIP. 131 792 011

Pada tanggal : Agustus 2007

ABSTRAK

Penelitian tentang formulasi krim antioksidan dari ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk memformulasi krim ekstrak kulit buah kakao yang stabil secara fisika. Kulit buah kakao segar diekstraksi dengan penyari etanol-air (7:3) dan penyari aseton-air (7:3) kemudian diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Ekstrak aseton-air (7:3) yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi ($IC_{50} = 0,08$ mg/ml terhadap radikal bebas DPPH) diformulasi menjadi sediaan krim dengan bahan pengemulsi yang bervariasi yaitu emulgator anionik (trietanolamin (TEA)-stearat dengan variasi konsentrasi TEA 1%, 2% dan 3%) dan emulgator nonionik (tween 60-span 60 3%, 4% dan 5%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa krim dengan emulgator tween 60-span 60 3 % adalah krim yang paling stabil secara fisika.

Kata kunci : kulit buah kakao, antioksidan, krim, stabilitas fisika, tween 60-span 60

ABSTRACT

A research about the antioxidant cream formulation from cocoa (*Theobroma cacao* L.) pod husk extract have been done. The research was aimed to formulate extract of cocoa pod husk cream which is physically stable. Fresh cocoa pod husk was extracted with both of ethanol-water (7:3) and acetone-water (7:3), then both of extracts was tested their antioxidant activities by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. The acetone-water (7:3) extract which have the higher antioxidant activity ($IC_{50} = 0,08$ mg/ml toward DPPH free radical) was formulated become cream preparation with variated emulsifying agents, i.e. anionic emulsifier (stearic-triethanolamine (TEA) with vary concentrations of TEA i.e. 1%, 2% and 3%) and nonionic emulsifier (span 60-tween 60 3%, 4% and 5%). The result of research indicated that antioxidant cream with span 60-tween 60 3% as emulsifying agent was the most physically stable cream.

Key words : cocoa pod husk, antioxidant, cream, physics stability, span 60- tween 60

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, tiada kata yang lebih patut diucapkan oleh seorang hamba yang beriman selain ucapan puji syukur ke hadirat Allah SWT, Maha Mengetahui, Pemilik segala ilmu, karena atas petunjuk-Nya dan kesehatan yang diberikan-Nya maka skripsi ini dapat diselesaikan. Salam dan salawat semoga selalu tercurah kepada Rasulullah SAW beserta keluarga, para sahabat dan orang-orang yang senantiasa ikhlas dan penuh semangat mengemban risalah yang pernah beliau bawa yaitu Islam hingga akhir zaman.

Sungguh banyak kendala yang penulis hadapi dalam rangka penyusunan skripsi ini. Namun berkat dukungan dan bantuan berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Ibu Dra. Sartini, M.Si., Apt sebagai pembimbing utama, Ibu Mufidah, S.Si., M.Si., Apt sebagai pembimbing pertama, Ibu Dra. Ermina Pakki, M.Si, Apt sebagai pembimbing kedua dan Ibu Dr. Elly Wahyudin, DEA sebagai pembimbing akademik.

Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada Ketua Jurusan Farmasi FMIPA UNHAS beserta seluruh staf atas segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.

Terkhusus pula kepada teman-teman Farmasi Angkatan 2002 dan 2003 yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu, laboran Fitokimia dan laboran Farmaseutika, terima kasih atas bantuan tenaga dan pikiran selama pelaksanaan penelitian ini.

Akhirnya semua ini tiada artinya tanpa dukungan moril dari kedua orang tua tercinta ayahanda Harim dan ibunda Lismawati yang telah mendidik dengan penuh kasih sayang serta adik-adikku tersayang Nur Sita dan Nur Yadi yang selalu memotivasi dan mendoakan agar penulis selalu semangat dan dimudahkan segala urusan oleh Allah SWT.

Akhirnya semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Amin dan wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuhu.

Makassar, Agustus 2007

Nur Mita

DAFTAR ISI

	halaman
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.11 Uraian Bahan Alam	4
II.11.1 Sistematika Tanaman	4
II.11.2 Morfologi	4
II.11.3 Kandungan Kimia	5
II.2 Metode Penyarian	5
II.2.1 Ekstraksi Secara Maserasi	6
II.2.2 Pemilihan Cairan Penyari	6
II.3 Radikal Bebas	7
II.4 Antioksidan	10
II.4.1 Mekanisme kerja antioksidan	10
II.4.2 Jenis-jenis antioksidan	12

II.4.1	Antioksidan primer	12
II.4.2	Antioksidan sekunder	13
II.5	Spektrofotometer UV-VIS	13
II.5.1	Prinsip Dasar	13
II.5.2	Serapan oleh Senyawa	15
II.5.3	Peralatan Spektrofotometer	16
II.5.3.1	Sumber tenaga radiasi	16
II.5.3.2	Monokromator	16
II.5.3.3	Tempat cuplikan	17
II.5.3.4	Detektor dan pencatat	17
II.6	Pengertian Kosmetik	17
II.7	Uraian Kulit	18
II.7.1	Lapisan epidermis atau kutikula	18
II.7.2	Lapisan dermis	19
II.7.3	Lapisan subkutis	20
II.8	Penuaan pada Kulit (Skin Aging)	20
II.9	Pengertian Krim	22
II.10	Emulgator	22
II.10.1	Pengertian Emulgator	22
II.10.2	Pembagian Emulgator	23
II.10.3	Mekanisme Emulgator	24
II.10.3.1	Adsorpsi Monomolekuler.....	24
II.10.3.2	Adsorpsi Multimolekuler.....	25
II.10.3.3	Adsorpsi Partikel Padat	25

II.10.4 Sistem Keseimbangan Hidrofilik-Lipofilik ...	25
II.11 Kondisi Penyimpanan yang Dipercepat	27
II.11 Kestabilan Emulsi	27
II.12.1 Kriming	28
II.12.2 Kekentalan	28
II.12.3 Perubahan Ukuran Tetes Terdispersi	29
II.12 Uraian Bahan Tambahan	29
II.13.1 Asam stearat	29
II.13.2 Setil alkohol	30
II.13.3 Propilenglikol	30
II.13.4 Lanolin anhidrat	30
II.13.5 Trietanolamin	30
II.13.6 Tween 60	31
II.13.7 Span 60	31
II.13.8 Metil paraben	31
II.13.9 Propil paraben	32
II.13.10 Minyak mawar	32
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN	33
III.1 Penyiapan Alat dan Bahan	33
III.2 Penyiapan Bahan Penelitian	33
III.2.1 Pengambilan Sampel	33
III.2.2 Penyiapan Sampel	33

DAFTAR TABEL

TABEL	halaman
1. Harga Probit Sesuai Persentase	56
2. Hasil Pengukuran Serapan DPPH Setelah Perlakuan dengan Ekstrak Etanol-Air (7:3), Ekstrak Aseton-Air (7:3) dan Vitamin C.....	57
3. Hasil Perhitungan IC_{50}	59
4. Rancangan Formula	60
5. Hasil Pemeriksaan Kualitatif terhadap Bahan yang Digunakan	61
6. Hasil Pengamatan Uji Tipe Emulsi	62
7. Hasil Pengukuran Volume Kriming (%)	63
8. Hasil Pengukuran Kekentalan Krim (Poise)	64
9. Hasil Pengukuran Tetesan Terdispersi (Mikron) Krim	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Foto Hasil Analisis Kualitatif Ekstrak Kulit Buah Kakao	44
2. Histogram Persentase Pengikatan Sampel terhadap Radikal Bebas DPPH	66
3. Histogram IC ₅₀ Sampel terhadap Radikal Bebas DPPH	66
4. Histogram Kekentalan Krim (poise) Sebelum dan Setelah Kondisi Penyimpanan Dipercepat	67
5. Histogram Ukuran Tetes Terdispersi Sebelum dan Setelah Kondisi Penyimpanan Dipercepat	67
6. Foto Sediaan Krim Menggunakan Emulgator Anionik dan Nonionik Setelah kondisi Penyimpanan Dipercepat	68
7. Foto Hasil Uji Tipe Emulsi Metode Pengenceran Tetesan	68
8. Foto Hasil Uji Tipe Emulsi Metode Dispersi Zat Warna	69
9. Foto Hasil Pengukuran Volume Kriming	69
10. Foto Ukuran Tetes Terdispersi Krim Antioksidan dari Kulit Buah Kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.) dengan Emulgator Anionik (TEA- Stearat) Menggunakan Mikroskop Elektron dengan Perbesaran 100 Kali	70
11. Foto Ukuran Tetes Terdispersi Krim Antioksidan dari Kulit Buah Kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.) dengan Emulgator Nonionik (Tween 60- Span 60) Menggunakan Mikroskop Elektron dengan Perbesaran 100 Kali	70
12. Kurva Serapan DPPH (2,2-diphenyl-1picril hidrazyl) dengan Spektrofotometer	71

13.	Kurva Serapan DPPH dengan Spektrofotometer Setelah Perlakuan dengan Ekstrak Kulit Buah Kakao (Theobroma cacao L.) 5 mg/ ml	71
14.	Kurva Serapan DPPH dengan Spektrofotometer Setelah Perlakuan dengan Ekstrak Kulit Buah Kakao (Theobroma cacao L.) 1,25 mg/ ml	72
15.	Kurva Serapan DPPH dengan Spektrofotometer Setelah Perlakuan dengan Ekstrak Kulit Buah Kakao (Theobroma cacao L.) 0,5 mg/ ml	72
16.	Kurva Serapan DPPH dengan Spektrofotometer Setelah Perlakuan dengan Ekstrak Kulit Buah Kakao (Theobroma cacao L.) 0,1 mg/ ml	73
17.	Kurva Serapan DPPH dengan Spektrofotometer Setelah Perlakuan dengan Ekstrak Kulit Buah Kakao (Theobroma cacao L.) 0,01 mg/ ml	73
18.	Buah Kakao	74

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
A. Skema Kerja	75
B. Contoh Perhitungan IC_{50}	78
C. Hasil Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Kulit Buah Kakao yang Digunakan dalam Formulasi Krim Antiaging	79
D. Analisa Statistik Data Kekentalan Krim	80
E. Perhitungan Ukuran Rata-Rata Tetes Terdispersi	85
F. Analisis Statistik Ukuran Tetes Terdispersi Krim	88
G. Perhitungan Konsentrasi Emulgator Nonionik yang Digunakan	92

BAB I PENDAHULUAN

Tanaman coklat atau biasa disebut kakao (*Theobroma cacao* L.) berasal dari famili Sterculiaceae. Di Indonesia tanaman kakao merupakan tanaman perkebunan yang mempunyai arti ekonomi penting sebagai komoditi ekspor. Masa depan komoditi ini cukup cerah karena diperkirakan permintaan dunia terhadap komoditi ini akan terus meningkat. Dengan meningkatnya produksi kakao tersebut maka limbah yang dihasilkan semakin meningkat pula. Limbah kakao terdiri dari kulit buah (76,6%), kulit biji (21,74%) dan plasenta (2,59%). Kulit buah kakao merupakan kulit bagian luar yang menyelubungi biji kakao dengan tekstur yang kasar, tebal dan keras. Limbah tersebut menjadi suatu masalah yang serius yaitu menimbulkan penyakit inokulum yang signifikan bila digunakan sebagai pupuk kompos pada tanaman dan bersifat toksis bila digunakan sebagai pakan ternak. Suatu strategi diperlukan untuk mengkomersialkan produk baru dari limbah kulit buah kakao tanpa berpengaruh pada nilai ekonomi dari biji yang dihasilkan (1,2,3).

Tanaman kakao mengandung senyawa antioksidan dan antiradikal yang telah diuji secara invitro. Beberapa dari senyawa fenolik tersebut yaitu katekin, epikatekin, antosianidin, proantosianidin, asam fenolik, dan beberapa flavonoid lainnya. Kulit buah coklat mengandung pigmen kakao (campuran dari flavonoid terpolimerisasi atau terkondensasi

meliputi antosianidin, katekin, leukoantosianidin) yang kadang berikatan dengan glukosa, karbohidrat berbobot molekul besar (polisakarida) dan berbobot molekul rendah (monosakarida, oligosakarida) (3,4).

Antioksidansia dapat bekerja dengan cara mengatasi efek-efek kerusakan pada kulit manusia yang diakibatkan oleh radikal bebas yang merupakan faktor utama pada proses penuaan (aging) dan kerusakan jaringan kulit. Salah satu bentuk sediaan untuk penggunaan secara topikal yaitu sediaan krim. Krim adalah bentuk sediaan setengah padat yang mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Sediaan krim untuk kulit dapat berfungsi sebagai pelindung yang baik bagi kulit (5,6,7). Dengan demikian, ekstrak kulit buah kakao berpotensi untuk diformulasi menjadi krim antioksidan.

Salah satu syarat yang harus dipenuhi suatu sediaan krim yang baik adalah stabil secara fisika karena tanpa hal ini suatu emulsi akan segera kembali menjadi dua fase yang terpisah. Ketidakstabilan emulsi dibuktikan dengan terjadinya kringing, flokulasi, dan penggumpalan dimana dapat juga diamati secara visual adanya pemisahan fase, perubahan kekentalan emulsi, serta terjadinya inversi fase (8,9).

Permasalahan yang timbul dari uraian di atas yaitu bagaimana memperoleh ekstrak kulit buah kakao dengan kandungan senyawa antioksidan yang optimal dan bagaimana memperoleh formulasi krim antioksidan yang memenuhi syarat kestabilan fisika suatu emulsi. Untuk itu, pada penelitian ini dibuat dua jenis ekstrak yang kemudian diuji

aktivitas antioksidannya dengan metode uji aktivitas pengikatan radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Ekstrak dengan aktivitas antioksidan tertinggi kemudian diformulasi dalam bentuk krim tipe m/a menggunakan beberapa perbandingan konsentrasi emulgator nonionik dan anionik yang dilanjutkan dengan membandingkan perubahan organoleptis serta kestabilan fisika krim yang dihasilkan setelah kondisi penyimpanan dipercepat meliputi volume kriming, perubahan kekentalan, dan ukuran tetes terdispersi serta inversi fase. Dengan demikian, dari hasil penelitian ini diharapkan bisa memperoleh suatu bentuk krim antioksidan ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) tipe m/a yang paling stabil secara fisika.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.13 Uraian Bahan Alam

II.1.1 Sistematika Tanaman (10)

Regnum	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Subkelas	: Dialypetalae
Bangsa	: Malvales (Columniferae)
Suku	: Sterculiaceae
Marga	: Theobroma
Jenis	: <i>Theobroma cacao</i> L.

II.1.2 Morfologi

Tanaman kakao merupakan suatu pohon yang tidak begitu tinggi, 3-8 m, seringkali mengadakan percabangan tidak jauh dari tanah. Daun tunggal, bertulang menyirip, memanjang-bulat telur terbalik bertepi rata, dengan ujung meruncing, 4-20 x 10-40 cm. Bunga banci, berbilangan 5, terkumpul dalam suatu berkas dalam ketiak daun atau bagian batang dan dahan yang sudah tua. Daun kelopak berbentuk lanset, putih atau agak lembayung. Daun mahkota sedikit lebih panjang, benang sari berlekatan berbentuk tabung, bakal buah beruang 5 dan bakal biji tak berhingga (10).

Buahnya adalah buah buni, bangun telur-memanjang dengan 5 pasang rusuk, berwarna lembayung kemerah-merahan atau hijau kekuningan. Biji bersalut selaput putih yang rasanya masam-masam manis (10). Kulit buah kakao terdiri atas tiga lapisan yaitu epikarpium (lapisan terluar yang keras, tebal, berserat dan berpigmen), mesokarpium (lapisan tengah yang tipis, keras dan agak berkayu) dan endokarpium (lapisan terdalam dengan ketebalan bervariasi, berserat berwarna putih) (11).

II.1.3 Kandungan Kimia

Kulit buah kakao mengandung teobromin sekitar 0,4%b/b dan kalium 3-4%b/b dalam sampel kering, pigmen kakao (campuran dari flavonoid terpolimerisasi atau terkondensasi meliputi antosianidin, katekin, leukoantosianidin), yang kadang berikatan dengan glukosa, karbohidrat berbobot molekul besar (polisakarida) dan berbobot molekul rendah (monosakarida, oligosakarida). Kulit buah kakao mengandung polisakarida meliputi pektin, gom dan selulosa (3).

II.2 Metode Penyarian

Ekstraksi adalah proses melarutkan komponen-komponen kimia yang terdapat dalam suatu sampel dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan komponen yang diinginkan. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam dan

perpindahan mulai terjadi pada lapisan antarmuka, kemudian terdifusi masuk ke dalam pelarut (12).

Jenis-jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara dingin seperti maserasi, perkolasi, ekstraksi secara panas seperti refluks, sokletasi dan destilasi uap air (12).

II.2.1 Ekstraksi secara Maserasi

Maserasi merupakan cara penyajian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif yang di dalam dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat akan terdesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga tercapai keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (12).

II.2.2 Pemilihan Cairan Penyari

Flavonoid terutama berupa senyawa yang larut dalam air, terutama bentuk glikosidanya, dan oleh karena itu senyawa ini berada dalam ekstrak air tumbuhan. Mereka dapat diekstraksi dengan etanol 70 % (12).

Tannin terkondensasi (proantosianidin) merupakan polimer flavonoid (13). Tannin diekstraksi dengan pelarut organik berair. Pelarut aseton 70% dan air 30% adalah cairan pengestraksi yang lebih efektif daripada pelarut alkohol. Aseton mencegah interaksi protein-tannin. Hal ini

merupakan pendekatan yang digunakan dalam metode pengendapan protein (14).

II.3 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan, sedangkan spesies oksigen reaktif adalah spesies oksigen yang potensial toksik (15,16). Konsekuensi berupa kecenderungan memperoleh elektron dari substansi lain menjadikan radikal bebas bersifat sangat reaktif. Tidak semua spesies oksigen reaktif adalah radikal bebas misalnya H_2O_2 dan *singlet oksigen* bukan radikal bebas, tetapi termasuk spesies oksigen reaktif. Karena adanya kecenderungan mengambil sebuah elektron (e^-) dan senyawa-senyawa lain maka spesies oksigen ini sangat reaktif. (16)

Reduksi terhadap oksigen menjadi molekul air adalah reaksi fundamental dalam pernapasan, yakni makanan diubah menjadi energi yang berguna untuk keperluan sel-sel dalam tubuh kita. Penambahan berturut-turut sebanyak empat elektron pada oksigen akan menghasilkan air dan juga menghasilkan radikal bebas yang mempunyai potensi merusak sel. (17). Molekul tersebut adalah radikal bebas superoksida, hidrogen peroksida, dan radikal bebas hidroksil. Unsur yang terakhir ini bersifat sangat toksik tetapi memiliki masa hidup singkat. Di luar tubuh, asam lemak dalam makanan yang bereaksi dengan radikal bebas menghasilkan peroksidasi yang disebut tengik. (17)

Reaksi radikal bebas sebenarnya adalah suatu mekanisme biokimia yang normal yang terjadi pada tubuh kita. Radikal bebas biasanya hanya bersifat intermediet (perantara), dan kemudian cepat diubah menjadi substansi lain yang tidak membahayakan tubuh kita. Tetapi jika pada kesempatan yang berumur sangat pendek ini, radikal bebas bertemu DNA atau enzim atau asam lemak majemuk tak jenuh (*polyunsaturated fats*), maka suatu permulaan sel dapat terjadi. Karena lemak tak jenuh merupakan target utama radikal bebas, maka lemak pada membran sel khususnya yang tak jenuh merupakan sasaran radikal bebas. Jika reaksi berantai tersebut terjadi di dalam membran sel, maka membran dapat rusak atau hancur, sehingga dapat menyebabkan kematian sel. (17)

Kerusakan yang dapat ditimbulkan oleh serangan radikal bebas antara lain : (18)

1). Membran sel

Terutama komponen penyusun membran berupa asam lemak tak jenuh yang merupakan bagian dari fosfolipid dan mungkin juga protein. Perusakan bagian dalam pembuluh darah akan akan mempermudah pengendapan berbagai zat pada bagian yang rusak tersebut, termasuk kolesterol, sehingga timbul aterosklerosis. Serangan radikal hidroksil pada asam lemak tak jenuh dimulai dengan interaksi oksigen pada rangkaian sehingga terbentuk lipid hidroperoksida, yang selanjutnya merusak bagian sel dimana hidroperoksida ini berada.

2) Kerusakan protein

Terjadinya kerusakan protein termasuk oksidasi protein akan mengakibatkan kerusakan jaringan tempat protein itu berada, sebagai contoh kerusakan protein pada lensa mata mengakibatkan terjadinya katarak.

3) Kerusakan DNA

Radikal bebas hanya salah satu faktor dari banyak faktor yang menyebabkan kerusakan DNA. Penyebab lain misalnya virus, radiasi dan zat kimia karsinogen. Sebagai akibat kerusakan DNA ini dapat timbul penyakit kanker.

4) Peroksida lipid

Lipid dianggap molekul yang paling sensitif terhadap serangan radikal bebas sehingga terbentuk lipid peroksida. Terbentuknya lipid peroksida yang selanjutnya dapat menyebabkan kerusakan lain dianggap salah satu penyebab terjadinya berbagai penyakit degeneratif.

5) Dapat menimbulkan autoimun

Autoimun adalah terbentuknya antibodi terhadap suatu sel tubuh biasa. Pada keadaan normal antibodi hanya terbentuk bila ada antigen yang masuk dalam tubuh. Adanya antibodi untuk sel tubuh biasa dapat merusak jaringan tubuh dan sangat berbahaya.

6) Proses penuaan

Secara teori radikal bebas dapat dimusnahkan oleh berbagai antioksidan, tetapi tidak pernah mencapai 100%. Karena itu secara pelan

dan pasti terjadi kerusakan jaringan oleh radikal bebas yang tidak terpunahkan. Kerusakan jaringan secara pelan ini menyebabkan terjadinya ketuaan.

II.4 Antioksidan

Antioksidan didefinisikan sebagai inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tidak reaktif yang stabil. Antioksidan merupakan semua bahan yang dapat menunda atau mencegah kerusakan akibat oksidasi pada molekul sasaran (19). Dalam pengertian kimia, antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi elektron, tetapi dalam pengertian biologis lebih luas lagi, yaitu semua senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan, termasuk enzim-enzim dan protein-protein pengikat logam. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif/spesies nitrogen reaktif (ROS/RNS) dan juga radikal bebas sehingga antioksidan dapat mencegah penyakit-penyakit yang dihubungkan dengan radikal bebas seperti karsinogenesis, kardiovaskuler, dan penuaan (aging) (20).

II.4.1 Mekanisme kerja antioksidan

Antioksidan bekerja melindungi sel dan jaringan sasaran dengan cara (21):

1. memusnahkan (*scavenge*) radikal bebas secara enzimatik atau dengan reaksi kimia langsung
2. mengurangi pembentukan radikal bebas

3. mengikat ion logam yang terlibat dalam pembentukan spesies yang reaktif (transferin, seruloplasmin, albumin)
4. memperbaiki kerusakan sasaran
5. menghancurkan molekul yang rusak dan menggantinya dengan yang baru.

Antioksidan ada dua macam, yaitu antioksidan endogen (enzim) dan antioksidan eksogen (vitamin) (22,21,23). Antioksidan endogen adalah antioksidan yang ada dalam tubuh organisme misalnya enzim katalase, glutathion peroksidase (GPx), superoksid dismutase (SOD), asam urat, dan ubiquinol (22,24,21). Antioksidan eksogen adalah antioksidan yang diperoleh dari luar tubuh organisme seperti tokoferol, flavonoid, karotenoid dan vitamin C (22,24,23). Antioksidan vitamin lebih populer sebagai antioksidan dibandingkan antioksidan enzim, mencakup α -tokoferol (vitamin E), β -karoten (vitamin A), asam askorbat (vitamin C) (25). Vitamin C bekerja secara sinergis dengan beberapa vitamin dan mineral lain, dan juga antioksidan lain, untuk menurunkan tingkat kanker dan kerusakan kardiovaskuler dan untuk meningkatkan efek proteksi dari sistem pertahanan tubuh (26)

Pemusnahan radikal bebas hanya dapat dilakukan bila tepat waktu, tepat tempat dan tepat dosis. Bila antioksidan diperlukan pada membran dari mikrosom sedangkan keberadaannya adalah di sitosol maka antioksidan tersebut tidak tepat tempat (17).

Antioksidan terdapat secara alamiah dalam lemak nabati. Ada dua macam antioksidan berdasarkan cara kerjanya yaitu antioksidan primer dan antioksidan sekunder.

II.4.2 Jenis-jenis antioksidan

II.4.2.1 Antioksidan primer

Antioksidan primer adalah suatu zat yang dapat menghentikan reaksi berantai pembentukan radikal yang melepaskan hydrogen. Zat-zat yang termasuk dalam golongan ini adalah yang berasal dari alam dan dapat pula buatan, antara lain ; tokoferol, lesitin, fosfatida, sesamol, gosipol, dan asam askorbat. Antioksidan alam yang paling banyak ditemukan dalam minyak nabati adalah tokoferol yang mempunyai keaktifan vitamin E dan terdapat dalam bentuk α , β , γ , dan δ tokoferol tapi α -tokoferol yang menunjukkan keaktifan vitamin E yang paling tinggi. Antioksidan sintetik yang banyak digunakan sekarang adalah senyawa-senyawa fenol yang biasanya agak beracun. Karena itu, penambahan antioksidan ini harus memenuhi beberapa syarat, misalnya tidak berbahaya bagi kesehatan, tidak menimbulkan warna yang tidak diinginkan, efektif pada konsentrasi rendah, larut dalam lemak, mudah didapat, dan ekonomis. Empat macam antioksidan yang sering digunakan pada bahan makanan adalah *Butylated hydroxyanisole* (BHA), *Butylated hydroxytoluene* (BHT), *Propylgallate* (PG), dan *Nordihydroquairitic acid* (NDGA). (19)

II.4.2.2 Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder adalah suatu zat yang dapat mencegah kerja peroksidan sehingga dapat digolongkan sebagai sinergik. Beberapa asam organik tertentu, biasanya asam di- atau trikarboksilat, dapat mengikat logam-logam (sequistran). Misalnya satu molekul asam sitrat akan mengikat prooksidan Fe seperti sering dilakukan pada minyak kacang kedelai. EDTA (Etilendiamin tetraasetat) adalah logam yang sering digunakan dalam minyak salad (19).

II.5 Spektrofotometer UV-VIS

Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmittans dan absorbans suatu contoh sebagai fungsi panjang gelombang; pengukuran terhadap suatu deretan contoh pada suatu panjang gelombang tunggal mungkin dapat juga dilakukan. (27)

II.5.1 Prinsip Dasar

Apabila radiasi elektromagnetik pada daerah ultraviolet dan sinar tampak melalui senyawa yang memiliki ikatan-ikatan rangkap, sebagian dari radiasi biasanya diserap oleh senyawa. Jumlah radiasi yang diserap tergantung pada panjang gelombang radiasi dan struktur senyawa. Penyerapan sinar radiasi disebabkan oleh pengurangan energi dari sinar radiasi pada saat elektron-elektron dalam orbital berenergi rendah tereksitasi ke orbital berenergi lebih tinggi (27).

Hubungan antara kadar dengan intensitas sinar yang diserap oleh contoh yang dianalisis dinyatakan oleh hukum Lambert-Beer :(28)

$$\text{Log } I_0/I = A = a \cdot b \cdot C$$

Dimana : I_0 = intensitas sinar sebelum melewati contoh

I = intensitas sinar setelah melewati contoh

A = absorban

a = absorpsifitas molekul

b = ketebalan kuvet

c = konsentrasi larutan

oleh karena a dan b nilainya tetap (wadah yang dipakai spesifik), maka A berbanding lurus dengan c (konsentrasi larutan). Dalam penurunan hukum ini dianggap bahwa:

(1) radiasi yang masuk adalah monokromatik, (2) spesies penyerap berkelakuan tidak tergantung satu terhadap lainnya dalam proses penyerapan, (3) penyerapan terjadi dalam volume yang mempunyai luas penampang yang sama, (4) dengan radiasi tenaga adalah cepat (tidak terjadi fluoresensi), dan (5) indeks bias tak tergantung pada konsentrasi (tidak berlaku pada konsentrasi yang tinggi) (29).

Untuk penentuan kadar spektrofotometri, yang ditentukan adalah absorpsi maksimum kurva absorpsi. Jika absorpsi ini untuk penentuan kadar sangat rendah atau senyawa mula-mula mengabsorpsi di bawah 220 nm, maka seringkali senyawa diubah dulu menjadi suatu zat warna melalui reaksi kimia dan absorpsi ditentukan dalam daerah sinar tampak. (30).

II.5.2 Serapan oleh Senyawa

Serapan cahaya oleh molekul dalam daerah spektrum ultraviolet dan terlihat tergantung pada struktur elektronik dari molekul. Spektra ultraviolet dan visible dari senyawa-senyawa organik berkaitan erat transisi-transisi diantara tingkatan-tingkatan tenaga elektronik. Oleh karena itu, serapan radiasi ultraviolet/visible sering dikenal sebagai spektroskopi elektronik. Transisi-transisi biasanya antara orbital ikatan atau orbital pasangan bebas dan orbital non ikatan tak jenuh atau orbital anti ikatan. Panjang gelombang serapan merupakan ukuran dari pemisahan tingkatan-tingkatan tenaga dari orbital-orbital yang bersangkutan. Pemisahan tenaga yang paling tinggi diperoleh bila elektron-elektron dalam ikatan σ tereksitasi yang menimbulkan serapan dalam daerah dari 120 hingga 200 nm. Daerah ini dikenal sebagai daerah ultraviolet vakum dan relatif tidak banyak memberikan keterangan. Diatas 200 nm, eksitasi elektron dari orbital-orbital p dan d dan orbital π terutama sistem terkonjugasi π segera dapat diukur dan spektrum yang diperoleh memberikan banyak keterangan. Meskipun demikian, terdapat keuntungan yang selektif dari serapan ultraviolet yaitu gugus-gugus karakteristik dapat dikenal dalam molekul-molekul yang sangat kompleks. Sebagian besar dari molekul yang relatif kompleks mungkin transparan dalam ultraviolet sehingga kita mungkin memperoleh spektrum yang semacam dari molekul yang sederhana (30).

Spektrum ultraviolet adalah gambar antara panjang gelombang atau frekuensi serapan lawan intensitas serapan (transmitasi atau absorbansi). Sering juga data ditunjukkan sebagai gambar grafik atau tabel yang menyatakan panjang gelombang lawan serapan molar atau log dari serapan molar (27).

II.5.3 Peralatan Spektrofotometer

Komponen-komponen pokok dari spektrofotometer meliputi (30) :

II.5.3.1 Sumber tenaga radiasi

Sumber radiasi yang ideal untuk pengukuran serapan harus menghasilkan spektrum kontinu dengan intensitas yang seragam pada keseluruhan kisaran panjang gelombang yang sedang diamati. Sumber-sumber radiasi UV yang kebanyakan digunakan adalah lampu hidrogen dan lampu deuterium. Terdiri dari sepasang elektroda yang terselubung dalam tabung gelas dan diisi dengan gas hidrogen atau deuterium pada tekanan yang rendah dengan panjang gelombang 180-350 nm dan digunakan juga lampu xenon, tetapi lampu xenon tidak se-stabil lampu hidrogen.

II.5.3.2 Monokromator

Dalam spektrofotometer, radiasi polikromatik diubah menjadi monokromatik. Ada dua jenis alat yang digunakan yaitu penyaring dan monokromator. Monokromator merupakan serangkaian alat optik yang menguraikan radiasi polikromatik menjadi jalur-jalur yang efektif atau panjang gelombang tunggal.

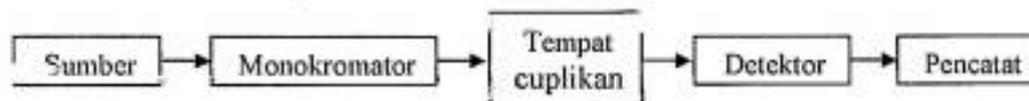
II.5.3.3 Tempat cuplikan

Larutan ditempatkan dalam sel atau kuvet. Untuk daerah visibel digunakan gelas biasa atau quartz. Sel untuk larutan mempunyai panjang 1-10 cm. Sebelum sel dipakai, harus dibersihkan dengan air atau jika dikehendaki dapat dicuci dengan larutan deterjen atau asam nitrat panas.

II.5.3.4 Detektor dan pencatat

Detektor menyerap tenaga foton yang mengenai cuplikan dan merubah tenaga tersebut untuk diukur secara kuantitatif seperti sebagai arus listrik atau perubahan-perubahan panas. Kebanyakan detektor menghasilkan sinyal listrik yang dapat mengaktifkan meter atau pencatat.

Gambar 4. Diagram sederhana spektrofotometer



II.6 Pengertian Kosmetik

Kosmetik adalah bahan atau sediaan yang dimaksudkan untuk digunakan pada bagian luar tubuh manusia (epidermis, rambut, kuku, bibir dan organ genital bagian luar) atau gigi dan mukosa mulut terutama untuk membersihkan, mewangikan, mengubah penampilan dan atau memperbaiki bau badan atau melindungi atau memelihara tubuh pada kondisi yang baik (31).

Definisi produk kosmetik yang dibuat oleh Federal Food, Drug and Cosmetic menetapkan bahwa kosmetik adalah barang yang digunakan dengan cara menggosok, menuang, menabur, menyemprotkan atau

penggunaan lainnya pada tubuh manusia di setiap tempat untuk membersihkan, mempercantik atau merubah penampilan kulit (5).

II.7 Uraian Kulit

Kulit adalah organ tubuh yang terletak paling luar dan membatasi dari lingkungan hidup manusia, juga merupakan organ yang esensial dan vital serta merupakan cermin kesehatan dan kehidupan, di samping sebagai sarana komunikasi nonverbal antarindividu. Kulit mendukung penampilan serta kepribadian seseorang dan menjadi ciri berbagai tanda kehidupan juga sebagai indikator kesehatan, kemakmuran, dan kebiasaan. Fungsi kulit antara lain : proteksi, absorpsi, ekskresi, penginderaan sensoris, pengaturan suhu tubuh, pembentukan pigmen, keratinisasi, produksi vitamin D serta ekspresi emosi (5, 32).

Kulit dapat dibagi menjadi 3 lapisan besar, yaitu (5, 32) :

II.7.1 Lapisan epidermis atau kutikula

Lapisan epidermis dibentuk oleh 5 lapisan sel yaitu stratum korneum (lapisan tanduk), stratum lusidum, stratum granulosum, stratum spinosum, stratum basale.

Stratum korneum merupakan lapisan tanduk yang terdiri dari sel-sel kulit mati. Daerah paling tebal adalah telapak tangan dan kaki (sekitar 0,4 – 0,6 mm) tetapi paling tipis pada daerah muka.

Stratum lusidum berada tepat di bawah stratum korneum dan dianggap sebagai lapisan yang berada di antara lapisan korneum dan

lapisan granuler. Lapisan ini mengontrol keluar masuknya air melalui kulit. Lapisan ini jelas tampak pada telapak tangan dan kaki.

Stratum granulosum atau lapisan granuler mengandung keratohialin. Ketebalan lapisan ini bervariasi, lapisan yang paling tebal pada telapak tangan dan kaki.

Stratum spinosum terdiri atas beberapa lapis sel yang berbentuk poligonal yang besarnya berbeda. Sel-sel stratum spinosum mengandung banyak glikogen.

Stratum basale merupakan dasar epidermis, memproduksi dengan mitosis. Stratum basale terdiri atas sel-sel berbentuk kubus yang tersusun vertikal pada perbatasan dermo-epidermal dan berbasis seperti pagar. Lapisan ini terdiri dari 2 jenis sel yaitu sel berbentuk kolumnar dan sel pembentuk melanin (melanosit); sel ini mengandung butir pigmen (melanosomes).

II.7.2 Lapisan dermis

Adalah lapisan di bawah epidermis yang jauh lebih tebal daripada epidermis, terbentuk oleh jaringan elastik dan fibrosa dengan elemen seluler, kelenjar rambut sebagai adneksa kulit, terdiri atas :

- Pars papilare yaitu bagian yang menonjol ke epidermis berisi ujung serabut saraf dan pembuluh darah
- Pars retikulare yaitu bagian di bawahnya yang menonjol ke arah subkutan, bagian ini terdiri atas serabut-serabut penunjang misalnya serabut kolagen, elastin, dan retikulin.

Ketebalan dermis bervariasi pada bagian-bagian tubuh dan mengganda pada usia antara tiga dan tujuh tahun apalagi pada masa pubertas. Dengan penuaan, ketebalan dan kelembutan menurun pada lapisan dasar. Dermis, dimana terdapat banyak serabut saraf, pembuluh darah, dan kelenjar keringat, sebagian besar terdiri atas kolagen. Fibroblast merupakan jenis sel utama pada dermis. Sel ini menghasilkan kolagen, elastin, protein matriks lainnya, dan enzim-enzim seperti kolagenase dan stromelisin (33).

Kolagen yang merupakan protein alami terkuat, menghasilkan sifat ketahanan dan gaya pegas dari kulit. Kolagen merupakan fokus dari penelitian tentang anti-aging dan target dari beberapa produk yang berkaitan dengan kulit. Pentingnya kolagen ditekankan dalam literatur tentang beberapa bahan topikal yang diklaim dapat meningkatkan sintesis kolagen seperti asam glikolat dan asam askorbat (33).

II.7.3 Lapisan subkutis

Lapisan ini merupakan kelanjutan dan dermis, terdiri atas jaringan ikat longgar berisi sel-sel lemak. Lapisan ini berfungsi sebagai cadangan makanan. Di lapisan ini terdapat ujung-ujung saraf tepi, pembuluh darah dan getah bening.

II.8 Penuaan pada Kulit (Skin Aging)

Jika radikal bebas sekali terbentuk, maka reaksi berantai dapat menghasilkan banyak molekul sejenis. Molekul ini sangat reaktif dan mampu menyebabkan kerusakan sel. Radikal bebas antara lain hidrosil,

anion superoksida, hidrogen peroksida, asam hipoklorat, oksigen singlet, dan peroksil. Radikal bebas dan senyawa oksigen reaktif (reactive oxygen species/ROS) lainnya yang diproduksi dalam jumlah normal sesungguhnya penting untuk menjaga fungsi biologis, seperti halnya sel darah putih menghasilkan hidroperoksida untuk membunuh beberapa jenis bakteri dan fungi. Namun, jika jumlahnya berlebihan, ia akan mencari pasangan elektronnya dengan merampas secara radikal dari molekul lain yang mengakibatkan kerusakan oksidatif jaringan yang sering dikenal sebagai stres oksidatif (34).

Radikal bebas mengakibatkan kerusakan sel yang pada ujungnya menimbulkan berbagai penyakit, seperti penuaan dini, penyakit jantung, artritis, kanker, katarak dan sebagainya. Radikal bebas adalah molekul yang tidak memiliki pasangan elektron, dan karena dalam keadaan normal elektron hadir secara berpasangan, radikal bebas memiliki tendensi untuk mencari pasangan elektronnya. Radikal bebas ini mengambil elektron yang telah berpasangan, sehingga merobek membran sel dan merusak materi genetik, proses ini dikenal dengan nama oksidasi. Sebagian radikal bebas terbentuk sebagai hasil dari proses metabolisme alami tubuh. Tapi sebagian lainnya terbentuk karena pengaruh faktor-faktor luar seperti polutan lingkungan, kurang olahraga, dan gaya makan yang tidak sehat (34).

Saat kulit manusia terpapar sinar ultraviolet (UV B), oksigen aktif (radikal bebas) dihasilkan, yang dimusnahkan dengan kelebihan melanin.

Pigmentasi dari kelebihan melanin dapat menyebabkan munculnya noda dan bintik pada kulit. Selanjutnya saat kulit manusia terpapar sinar ultraviolet (UV A), radiasinya menembus permukaan dan diabsorpsi oleh lapisan lebih dalam dari kulit. Dihasilkannya oksigen aktif dalam lapisan lebih dalam ini dapat menghancurkan komponen antar-sel sehingga menyebabkan kerutan-kerutan dan penutup kulit. Kita memerlukan antioksidan yang efektif untuk memusnahkan spesies oksigen aktif (35).

II.9 Pengertian Krim

Krim adalah bentuk sediaan setengah padat 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 relative cair diformulasi sebagai emulsi air dalam minyak atau minyak dalam air. Sekarang ini batasan tersebut lebih diarahkan untuk produk yang terdiri dari emulsi minyak dalam air atau disperse mikrokristal asam-asam lemak atau alkohol berantai panjang dalam air, yang dapat dicuci dengan air dan lebih ditujukan untuk penggunaan kosmetik dan estetika (6).

II.10 Emulgator

II.10.1 Pengertian Emulgator

Emulgator adalah surfaktan yang mengurangi tegangan antarmuka antara minyak dan air dan mengelilingi tetesan-tetesan terdispersi dengan lapisan yang kuat sehingga mencegah koalesensi dan pemecahan fase terdispersi (36).

II.10.2 Pembagian Emulgator (8)

Berdasarkan struktur kimianya emulgator diklasifikasikan menjadi:

II.10.2.1 Emulgator sintetik atau surfaktan yang membentuk film monomolekuler

Kelompok bahan aktif permukaan ini dapat dibagi menjadi anionik, kationik, dan nonionik tergantung dari muatan yang dimiliki oleh surfaktan.

1) Anionik

Aktivitas permukaan bahan pengemulsi ini terletak pada anion yang bermuatan negatif. Contoh bahannya yaitu kalium, natrium dan garam ammonium dari asam laurat dan asam oleat yang larut dalam air dan merupakan bahan pengemulsi m/a yang baik. Bahan ini mempunyai rasa yang kurang menyenangkan dan mengiritasi saluran cerna sehingga membatasi penggunaannya hanya untuk penggunaan luar. Contoh lainnya yaitu garam yang dibentuk dari asam lemak dengan amin organik seperti trietanolamin yang juga adalah pengemulsi m/a yang dibatasi untuk sediaan luar. Emulgator ini kurang mengiritasi jika dibandingkan dengan sabun alkali.

2) Kationik

Aktivitas permukaan bahan kelompok ini terletak pada kation yang bermuatan positif. Bahan ini juga memiliki sifat bakterisida yang khas, sehingga cocok untuk produk emulsi antibakteri seperti lotio dan krim kulit. pH dari sediaan emulsi dengan pengemulsi kationik yaitu antara 4-8.

Rentang pH ini juga menguntungkan karena termasuk dalam pH normal kulit. Contohnya yaitu senyawa amonium kuarterner.

3) Nonionik

Surfaktan yang luas penggunaannya sebagai bahan pengemulsi karena memiliki keseimbangan lipofilik dan hidrofilik dalam molekulnya. Selain ini tidak seperti tipe anionik dan kationik, emulgator nonionik tidak dipengaruhi perubahan pH dan penambahan elektrolit. Contoh yang paling banyak digunakan yaitu ester gliseril, ester polioksietilenglikol, ester asam lemak sorbitan (Span) dan turunan polioksietilennya (Tween).

II.10.2.2 Emulgator alam

1. Emulgator alam yang membentuk film multimolekuler, misalnya akasia, gelatin
2. Emulgator alam yang membentuk film monomolekuler misalnya lesitin, kolesterol

II.10.2.3 Emulgator yang membentuk film berupa partikel padat misalnya bentonit dan vegum

II.10.3 Mekanisme Emulgator (8)

II.10.3.1 Adsorpsi Monomolekuler

Surfaktan atau ampifil menurunkan tegangan antarmuka karena teradsorpsi pada antarmuka minyak air membentuk film monomolekuler. Film ini membungkus tetes terdispersi dengan suatu lapisan tunggal yang seragam berfungsi mencegah bergabungnya tetesan. Idealnya film ini harus fleksibel sehingga dapat terbentuk kembali jika pecah atau

terganggu. Tipe emulsi yang dibentuk dapat berupa tipe m/a atau a/m, tergantung pada sifat emulgator yang digunakan.

II.10.3.2 Adsorpsi Multimolekuler

Koloid hidrofil terhidrasi dapat dianggap sebagai bahan aktif permukaan karena terdapat pada antarmuka minyak-air tetapi berbeda dengan surfaktan sintetik, koloid hidrofilik tidak menyebabkan penurunan tegangan antarmuka yang nyata tetapi membentuk film multimolekuler pada antarmuka tetesan. Aksi sebagai emulgator terutama disebabkan film yang dibentuknya kuat sehingga mencegah koalesensi. Film multimolekuler ini bersifat hidrofilik sehingga cenderung membentuk emulsi tipe m/a.

II.10.3.3 Adsorpsi Partikel Padat

Partikel padat yang terbagi halus yang terbasahi oleh minyak dan air dapat bertindak sebagai emulgator dengan membentuk suatu film partikel halus di sekeliling tetes terdispersi pada antarmuka sehingga mencegah koalesensi. Serbuk yang lebih mudah terbasahi oleh air membentuk emulsi tipe m/a sedangkan yang lebih terbasahi oleh minyak membentuk emulsi tipe a/m.

II.10.4 Sistem Keseimbangan Hidrofilik-Lipofilik

Sistem keseimbangan hidrofilik-lipofilik atau sistem HLB digunakan untuk menyatakan perbandingan sifat hidrofilik-hidrofobik dari suatu emulgator. Emulgator dengan nilai HLB rendah, dapat larut atau dapat

terdispersi dalam minyak sedang emulgator dengan nilai HLB yang tinggi menunjukkan dapat larut atau terdispersi dalam air (36).

Emulgator sering dikombinasikan untuk menghasilkan emulsi yang lebih baik yaitu emulgator dengan keseimbangan hidrofilik dan lipofilik yang diinginkan, meningkatkan kestabilan dan sifat kohesif dari lapisan antarmuka serta mempengaruhi konsistensi dan penampakan emulsi (8).

Dalam menentukan proporsi dua emulgator yang digunakan untuk memperoleh HLB tertentu dalam suatu emulsi dapat dipakai rumus berikut (37) :

$$\% A = \frac{100(X - HLB_B)}{HLB_A - HLB_B} \times 100$$

$$\% B = 100 - \% A$$

dimana :

A = emulgator dengan nilai HLB tinggi

B = emulgator dengan nilai HLB rendah

X = HLB butuh fase minyak

Emulgator dengan nilai HLB di bawah 7 umumnya menghasilkan emulsi air dalam minyak sedangkan emulgator yang memiliki HLB di atas 7 umumnya menghasilkan emulsi minyak dalam air (8). Tetapi sistem HLB tidak memberikan indikasi tentang konsentrasi yang digunakan. Sebagai aturan, emulgator dengan konsentrasi 2 % adalah jumlah yang cukup dalam suatu formula walaupun konsentrasi lebih kecil adalah lebih baik. Jika konsentrasi lebih dari 5 % maka emulgator akan menjadi bagian

utama dari formula dan hal ini bukanlah tujuan dari penggunaan emulgator (37).

II.11 Kondisi Penyimpanan yang Dipercepat

Salah satu cara mempercepat evaluasi kestabilan adalah dengan pengimanan selama beberapa periode waktu pada temperatur yang lebih tinggi dari normal. Tetapi cara khusus ini berguna untuk mengevaluasi "shelf life" emulsi dengan siklus antara 2 suhu (11). Di dalam laboratorium siklus suhu -5° dan 40° C dalam 24 jam digunakan selama 24 siklus, sedangkan siklus lainnya 5° dan 35° C dalam 12 jam digunakan selama 10 siklus (38).

Efek normal penyimpanan suatu emulsi pada suhu yang lebih tinggi adalah mempercepat koalesensi atau terjadinya kriming dan hal ini biasanya diikuti dengan perubahan kekentalan. Kebanyakan emulsi menjadi lebih encer pada suhu tinggi dan menjadi lebih kental bila dibiarkan mencapai suhu kamar. Pembekuan dapat merusak emulsi daripada pemanasan, karena kelarutan emulgator baik dalam fase air maupun fase minyak, lebih sensitif pada pembekuan daripada pada pemanasan sedang (9).

II.12 Kestabilan Emulsi (9)

Sebelum penyimpanan, kestabilan emulsi dipengaruhi oleh suhu dan waktu. Bentuk ketidakstabilan emulsi selama penyimpanan ditunjukkan dengan terjadinya kriming, perubahan kekentalan, perubahan ukuran tetes terdispersi serta inversi fase.

II.12.1 Kriming

Kriming adalah naik atau turunnya tetes-tetes terdispersi membentuk suatu lapisan pada permukaan atau dasar dari suatu emulsi. Kriming terjadi karena pengaruh gravitasi bumi dan naik atau turunnya tetesan tergantung pada rapat jenis kedua fase. Bila kriming terjadi tanpa penggabungan, maka emulsi dapat diemulsikan kembali dengan pengocokan.

Persamaan Stokes sangat berguna untuk memahami proses kriming. Persamaan ini berdasarkan pada partikel yang terbentuk bola yang berukuran sama dan dipisahkan oleh jarak yang menyebabkan gerakan partikel yang satu tidak tergantung pada partikel lain. Persamaan ini memperlihatkan fungsi dari tetesan kuadrat. Jadi partikel yang lebih besar akan lebih cepat mengalami kriming daripada partikel yang lebih kecil. Persamaan Stokes juga menunjukkan bahwa kecepatan kriming berbanding terbalik dengan kekentalan.

II.12.2 Kekentalan

Kekentalan emulsi merupakan kriteria yang penting untuk mempelajari kestabilan emulsi dan tidak berhubungan dengan kekentalan absolut tetapi dengan perubahan kekentalan pada berbagai periode waktu.

Tetes-tetes pada emulsi yang baru dibuat bergabung dengan segera dan menunjukkan peningkatan kekentalan. Setelah perubahan ini kebanyakan emulsi menunjukkan perubahan kekentalan yang

berhubungan dengan waktu. Jika kekentalan tidak berubah dengan waktu emulsi dianggap ideal meskipun kebanyakan sistem masih dapat diterima kestabilannya bila menunjukkan sedikit kenaikan kekentalan dalam waktu antara 0,04 dan 400 hari. Kebanyakan emulsi menjadi encer pada suhu tinggi dan mengental kembali bila ditempatkan pada suhu kamar.

II.12.3 Perubahan Ukuran Tetes Terdispersi

Perubahan rata-rata ukuran tetes terdispersi atau distribusi ukuran tetes terdispersi merupakan parameter yang penting untuk mengevaluasi suatu emulsi. Analisis ukuran tetes terdispersi dapat dilakukan dengan beberapa metode. Salah satunya adalah pengukuran diameter tetes terdispersi dengan mikroskop yang memberikan nilai rata-rata tergantung pada jumlah tetes untuk setiap ukuran.

II.13 Uraian Bahan Tambahan

II.13.1 Asam stearat

Rumus molekul : $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$

Asam stearat berupa zat padat keras mengkilap menunjukkan susunan hablur; kuning pucat atau putih; mirip lemak lilin. Praktis tidak larut dalam air; larut dalam 20 bagian etanol (95%) P, dalam 2 bagian kloroform P dan dalam 3 bagian eter P. Memiliki titik lebur tidak kurang dari 54°C (17). Asam stearat adalah bahan yang stabil; perlu diberi tambahan antioksidan. Asam stearat digunakan sebagai emolien dalam kosmetika dan sebagai emulgator dalam sediaan krim bila sebagian dinetralkan dengan basa atau trietanolamin (39).

II.13.2 Setil alkohol

Rumus molekul : $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2\text{OH}$

Setil alkohol berupa serpihan putih, berbentuk kubus atau granul dengan bau khas yang lemah. Setil alkohol praktis tidak larut dalam air, mudah atau sedikit larut dalam alkohol, larut dalam eter, bercampur bila dilebur bersama minyak hewani atau nabati, parafin cair dan lemak bulu domba cair. Memiliki titik lebur $45^\circ - 52^\circ \text{C}$. Setil alkohol stabil terhadap asam, basa, cahaya dan udara dan tidak menjadi tengik (40).

II.13.3 Propilenglikol

Rumus molekul : $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_2$

Propilenglikol berupa cairan kental yang jernih, tidak berwarna, praktis tidak berbau dengan sedikit rasa manis menyerupai gliserin. Propilenglikol digunakan sebagai humektan dalam sediaan kosmetik (39).

II.13.4 Lanolin Anhidrat

Lanolin anhidrat mempunyai massa seperti lemak, lengket, dan warna kuning dengan bau khas. Tidak larut dalam air, dapat bercampur dengan air lebih kurang dua kali beratnya, agak sukar larut dalam etanol dingin, lebih larut dalam etanol panas, larut dalam eter, dan dalam kloroform.

II.13.5 Trietanolamin

Rumus molekul : $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-OH})_3$

Trietanolamin berupa cairan higroskopis yang jernih, tidak berwarna atau mendekati kuning, tidak berbau atau sedikit berbau

amoniak. Trietanolamin dapat bercampur dengan air dan alkohol, larut dalam kloroform, sedikit larut dalam eter. Trietanolamin digunakan sebagai pengemulsi bila dikombinasikan dengan asam stearat atau asam oleat (40).

II.13.6 Tween 60

Merupakan hasil kondensasi oleat dari sorbitol dan anhidratnya dengan etilen oksidanya. Tiap molekul sorbitol; dan anhidratnya berkondensasi dengan lebih kurang 20 molekul etilen oksida. Berupa cairan jernih kuning kecoklatan dengan bau khas. Dapat bercampur dengan air, alkohol, etil asetat, metanol, praktis tidak larut dalam parafin cair dan minyak biji kapas. Twen 60 digunakan sebagai bahan tambahan yaitu sebagai emulgator nonionik (40).

II.13.7 Span 60

Span 60 merupakan campuran yang berasal dari mono dan dianhidrat ester sorbitol dengan asam stearat. Span 60 berupa cairan kental berminyak, dengan bau asam lemak, berwarna kuning sawo, hampir tidak berasa. Span 60 tidak larut dalam air tetapi dapat larut dalam parafin cair dan dalam beberapa minyak tumbuhan. Digunakan sebagai bahan tambahan yaitu sebagai emulgator nonionik (40).

II.13.8 Metil paraben

Rumus molekul : $C_8H_8O_3$

Metil paraben berupa serbuk hablur halus, putih, hampir tidak berbau, tidak mempunyai rasa, kemudian agak membakar diikuti rasa

tebal. Dapat larut dalam 500 bagian air, dalam 20 bagian air mendidih, dalam 3,5 bagian etanol (95%) P dan dalam 3 bagian aseton P, mudah larut dalam eter P dan dalam larutan alkali hidroksida, larut dalam 60 bagian gliserol P panas dan dalam 40 bagian minyak lemak nabati panas, jika didinginkan larutan tetap jernih. Mempunyai titik lebur 125 – 128° C. Metil paraben digunakan sebagai pengawet (41).

II.13.9 Propil paraben

Rumus molekul : $C_{10}H_{12}O_3$

Propil paraben berupa serbuk hablur putih, tidak berbau, tidak berasa. Sangat sukar larut dalam air, larut dalam 3,5 bagian etanol (95%) P dan dalam 3 bagian aseton P, dalam 140 bagian gliserol P dan dalam minyak lemak, mudah larut dalam larutan alkali hidroksida. Memiliki titik lebur 95-98°C. Digunakan sebagai pengawet (41).

II.13.10 Minyak mawar

Adalah minyak menguap yang diperoleh dengan destilasi menggunakan panas dari bunga segar *Rosa gallica*, *Rosa alba*, *Rosa centifolia* dan varietas dari spesies ini. Merupakan cairan tidak berwarna atau kekuningan yang memiliki bau khas dan rasa mawar. Pada pencampuran 1 ml minyak mawar dengan 1 ml kloroform tanpanya kekeruhan dengan penambahan 20 ml alkohol 90 % pada larutan ini. Digunakan sebagai pengaroma dalam sediaan kosmetik (8).

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Penyiapan Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan antara lain blender, cawan porselen, gelas piala (*Pyrex*), gelas ukur (*Pyrex*), labu tentukur 5 ml, 10 ml, dan 100 ml, lumpang dan alu, mikroskop, mikrometer, mikropipet (*Memmert*), penangas air, pengaduk elektrik (*Philips*), rotavapor, seperangkat alat maserasi, spektrofotometer UV-Vis (*Hewlett Packard*), termometer, timbangan elektrik, timbangan kasar, dan Viskometer (*Brookfield*).

Bahan-bahan yang dibutuhkan antara lain air suling, aluminium foil, asam stearat (*Merck*), aseton, DPPH (2,2-Diphenyl-1Picril Hidrazyl) (*Sigma*), ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.), etanol 70 %, etanol absolut, metil paraben, metilen biru, minyak mawar, propil paraben, propilen glikol, setil alkohol, span 60, dan trietanolamin, tween 60 (*Merck*).

III.2 Penyiapan Bahan Penelitian

III.2.1 Pengambilan Sampel

Buah kakao yang telah matang (kulit buah berwarna kuning kejinggaan dan biji sudah dapat diolah menjadi coklat) dipetik secara manual (tangan) di salah satu lokasi perkebunan di kabupaten Sengkang.

III.2.2 Penyiapan Sampel

Buah kakao segar yang telah dipetik kemudian dipotong secara melintang dan dikeluarkan bijinya menggunakan tangan. Selanjutnya kulit

buah kakao (meliputi bagian epikarpium, mesokarpium dan endokarpium) dipotong-potong kecil, ditimbang bobotnya sebanyak 800 gram kemudian diekstraksi dengan cara maserasi menjadi 2 ekstrak yaitu menggunakan pelarut etanol 70% dan menggunakan pelarut aseton : air (7:3). Setelah itu masing-masing disaring dengan kain saring (kain flanel) kemudian dirotavapor sampai diperoleh ekstrak kental.

III.3 Uji Aktivitas Antioksidan

III.5.1 Pembuatan Larutan DPPH 0,4 M

Larutan DPPH 0,4 mM dibuat dengan cara menimbang DPPH sebanyak 0,0157 g dilarutkan dengan etanol absolut hingga 100 ml dalam labu tentukur.

III.3.2 Pengukuran aktivitas antioksidan

Bahan antioksidan dievaluasi dengan metode scavenging dari radikal DPPH. Bahan antioksidan ditunjukkan sebagai IP (Inhibition Percentage; %). IP dari radikal DPPH dihitung dengan rumus :

$$IP = \frac{(\text{Absorbance}_{\text{blanko}} - \text{Absorbance}_{\text{sampel}})}{\text{Absorbance}_{\text{blanko}}} \times 100 \%$$

III.4 Analisa Kualitatif bahan Alam

Flavonoid

Ekstrak Kulit Biji Coklat (*Theobroma cacao* L.) ditotolkan pada lempeng KLT dan dielusi dengan eluen butanol : asam asetat glasial : air (4:1:5). Visualisasi komponen kimia digunakan lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm & 366 nm. Visualisasi lebih lanjut dengan FeCl_3 sebagai pereaksi penampak untuk deteksi senyawa golongan polifenol.

Dengan menggunakan eluen butanol : asam asetat glasial : air (4:1:5) menunjukkan warna noda hijau kebiruan.

III.5 Analisa Kualitatif Bahan Tambahan

III.5.1 Asam Stearat

1. Zat dilebur lalu ditambahkan larutan NaOH kemudian dikocok, seperti agak berbusa
2. Zat dilebur lalu ditambahkan HCl encer, jernih; didinginkan akan menjadi padat

III.5.2 Setil Alkohol

Pada \pm 2 mg bahan ditambah 2 ml K_2CrO_4 dan 2 ml asam stearat kemudian dipanaskan; warna ungu

III.5.3 Propilenglikol

1. Zat dipanaskan perlahan-lahan dengan kalium bisulfat; uap berbau enak kemudian dilanjutkan pemanasan hingga kering; tidak timbul bau akrolein
2. 5 ml bahan ditambahkan 2 tetes $FeCl_3$; warna kuning tua

III.5.4 Lanolin Anhidrat

1. Pada penambahan 1% b/v dalam kloroform P. Ditambahkan asam sulfat pekat volume sama. Kocok, lapisan bawah coklat merah berfluoresensi hijau.
2. dilarutkan 0,1 gram dengan 5 ml kloroform dalam tabung uji, tambahkan hati-hati 5 ml asam sulfat pekat. Cincin coklat merah terang terbentuk pada batas antarcincin.

III.5.5 Trietanolamin

1. Pada 1 ml zat ditambahkan $\pm 0,1$ ml CuSO_4 ; terjadi warna biru tua, tambahkan 5 ml NaOH lalu dididihkan hingga 1/3 volume semula; warna tetap biru
2. Pada 1 ml zat ditambahkan $\pm 0,3$ ml kobalt nitrat; terjadi warna merah

III.5.6 Tween 60

Pada 5 ml larutan 5 % b/v ditambahkan HCl didinginkan dan ditambahkan HCl; akan beropalesensi kuat

III.5.7 Span 60

Timbang 500 mg zat, diencerkan dengan 10 ml air suhu 50°C , larutan menghasilkan penyabunan pada pengocokan, ditambahkan NaOH dan dipanaskan hingga mendidih, selama pendinginan tidak memperlihatkan kabut

III.5.8 Metil Paraben

1. ± 10 mg zat dengan 10 ml air dididihkan lalu didinginkan kemudian ditetesi FeCl_3 akan timbul warna ungu kemerahan
2. Dididihkan 100 mg zat dalam 2 ml etanol 96 % lalu ditetesi AgNO_3 ; terbentuk endapan dengan cairan diatasnya merah

III.5.9 Propil Paraben

Larutan ditambahkan FeCl_3 menjadi kuning lalu ditambahkan NaHCO_3 menjadi kuning jingga.

III.5 Pembuatan Sediaan

III.6.1 Krim Menggunakan Emulgator Nonionik

1. Alat dan bahan disiapkan
2. Masing-masing bahan ditimbang sesuai dengan perhitungan (dapat dilihat pada Tabel 4.
3. Fase minyak dibuat dengan melebur berturut-turut asam stearat, setil alkohol, span 60, di atas tangas air, kemudian ditambahkan propil paraben. Suhu dipertahankan pada 70° C
4. Fase air dibuat dengan melarutkan metil paraben dalam air yang telah dipanaskan hingga 70° C, kemudian ditambahkan propilen glikol dan tween 60. Suhu dipertahankan 70° C
5. Emulsi dibuat dengan cara menambahkan fase minyak ke dalam fase air sambil diaduk dengan pengaduk elektrik selama 3 menit. Kemudian didiamkan selama 20 detik lalu diaduk kembali sampai terbentuk emulsi yang homogen
6. Ekstrak digerus dalam lumpang kemudian ditambahkan dasar krim sedikit demi sedikit pada suhu 55 – 45° C dan diaduk sampai homogen lalu dimasukkan pada sisa dasar krim untuk dilanjutkan dengan pengadukan elektrik
7. Ditambahkan minyak mawar pada suhu 55 – 45° C dan diaduk sampai homogen.

III.6.2 Krim Menggunakan Emulgator Anionik

1. Alat dan bahan disiapkan
2. Masing-masing bahan ditimbang sesuai dengan perhitungan (dapat dilihat pada Tabel 4).
3. Fase minyak dibuat dengan melebur berturut-turut asam stearat, setil alkohol kemudian ditambahkan propil paraben. Suhu dipertahankan pada 70° C
4. Fase air dibuat dengan melarutkan metil paraben dalam air yang telah dipanaskan hingga 70° C, lalu ditambahkan propilen glkol dan trietanolamin. Suhu dipertahankan 70° C
5. Emulsi dibuat dengan cara menambahkan fase minyak ke dalam fase air sambil diaduk dengan pengaduk elektrik selama 3 menit. Kemudian didiamkan selama 20 detik lalu diaduk kembali sampai terbentuk emulsi yang homogen
6. Ekstrak digerus dalam lumpang kemudian ditambahkan dasar krim sedikit demi sedikit pada suhu 55 – 45° C dan diaduk sampai homogen lalu dimasukkan pada sisa dasar krim untuk dilanjutkan dengan pengadukan elektrik
7. Ditambahkan minyak mawar pada suhu 55 – 45° C dan diaduk sampai homogen.

III.6 Pengujian Tipe Emulsi

III.7.1 Metode Pengenceran

Emulsi yang telah dibuat dimasukkan dalam vial, kemudian diencerkan dengan air. Jika emulsi dapat diencerkan maka tipe emulsi tipe m/a.

III.7.2 Metode Dispersi Larutan Zat Warna

Emulsi yang telah dibuat dimasukkan dalam gelas piala, kemudian ditetesi beberapa tetes larutan biru metilen di atasnya. Jika warna biru segera terdispersi ke seluruh emulsi maka tipe emulsinya tipe m/a

III.7 Evaluasi Kestabilan

III.8.1 Pengukuran Volume Kriming

Krim sebanyak 25 ml dimasukkan dalam gelas ukur kemudian diberi kondisi penyimpanan dipercepat yaitu penyimpanan pada suhu 5° C dan 35° C masing-masing selama 12 jam sebanyak 10 siklus. Pengamatan volume kriming dilakukan setiap 1 siklus penyimpanan. Hasil pengamatan volume kriming dihitung dalam % rumus :

$$\text{Volume kriming} = \frac{H_u}{H_o} \times 100\%$$

Dimana : H_u = Volume emulsi yang kriming

H_o = Volume total krim

III.8.2 Pengukuran Kekentalan

Pengukuran kekentalan dilakukan terhadap sediaan krim yang telah dibuat sebelum dan setelah diberi kondisi penyimpanan dipercepat yaitu penyimpanan pada suhu 5° C dan 35° C masing-masing selama 12 jam

sebanyak 10 siklus. Pengukuran kekentalan dilakukan dengan menggunakan viskometer Brookfield pada 6 putaran permenit (rpm) dengan menggunakan "spindle" no. 6.

III.8.3 Pengukuran Tetes Terdispersi

Sediaan yang telah jadi dimasukkan dalam vial kemudian dilakukan pengukuran tetes terdispersi sebelum dan setelah diberi kondisi penyimpanan dipercepat yaitu penyimpanan pada 5° C dan 35° C secara bergantian masing-masing selama 12 jam sebanyak 10 siklus. Pengamatan ukuran tetes terdispersi dilakukan dengan menggunakan mikroskop mikrometer. Caranya dengan meneteskan krim pada obyek gelas kemudian ditutup dengan dek gelas dan setelah diperoleh perbesaran dan perbandingan skala mikrometer okuler dan mikrometer obyektif yang sesuai maka diamati rentang ukuran partikel tetes terdispersi.

III.8.4 Inversi Fase

Sediaan yang telah jadi diberi kondisi penyimpanan dipercepat yaitu pada penyimpanan 5° C dan 35° C masing-masing selama 12 jam sebanyak 10 siklus kemudian diuji kembali tipe emulsinya dengan metode pengenceran dan metode dispersi zat warna metilen biru. 5° C dan 35° C

III.9 Pengumpulan dan Analisa Data

Data dari hasil penelitian dikumpulkan dan dilakukan analisis data.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

A Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Hasil uji antioksidan ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan penyari aseton-air (7:3) menggunakan metode DPPH (2,2-difenilpicril-1-hidrazil) menunjukkan bahwa persen penghambatan untuk konsentrasi ekstrak 5 mg/ ml, 1,25 mg/ ml, 0,5 mg/ ml, 0,1 mg/ ml, dan 0,01 mg/ ml masing-masing adalah 86,91 %, 82,02 %, 68,08 %, 52,35 %, dan 25,86 %. Sedangkan hasil uji antioksidan ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan penyari etanol-air (7:3) menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-hidrazil) menunjukkan bahwa persen penghambatan untuk konsentrasi ekstrak 5 mg/ ml, 1,25 mg/ ml, 0,5 mg/ ml, 0,1 mg/ ml, dan 0,01 mg/ ml masing-masing adalah 80,10 %, 65,90 %, 46,88 %, 23,06 %, dan 12,20 %.

Analisis statistik menggunakan analisis probit menunjukkan bahwa IC_{50} dari ekstrak dengan penyari aseton-air (7:3) adalah sebesar 0,08 mg/ ml. Sedangkan IC_{50} dari ekstrak etanol-air (7:3) adalah 0,48 dan vitamin C sebagai kontrol positif adalah 0,15 mg/ ml.

B Hasil Uji kestabilan Fisik Krim

B.1 Pengamatan Organoleptis

Pengamatan organoleptis menunjukkan bahwa krim yang dibuat dengan emulgator nonionik yaitu krim IV, V, dan VI tidak mengalami perubahan warna dan bau setelah kondisi penyimpanan dipercepat. Warnanya tetap coklat muda dan beraroma mawar. Sedangkan krim yang dibuat dengan emulgator anionik menunjukkan perubahan warna dan bau khususnya pada krim II dan III yaitu warnanya berubah dari coklat muda menjadi coklat tua kemerahan dan tidak lagi beraroma mawar sedangkan krim I tidak mengalami perubahan warna maupun bau. Perubahan warna dapat dilihat pada Gambar 6.

B.2 Penentuan Tipe Emulsi

Pengujian tipe emulsi krim menggunakan uji pengenceran dan uji dispersi zat warna menggunakan metilen biru sebelum kondisi dipercepat memperlihatkan tipe emulsi minyak dalam air (m/a) untuk semua krim yang dibuat. Pengujian tipe emulsi setelah kondisi penyimpanan dipercepat dapat dilihat pada Tabel 6.

B.3 Pengukuran Volume Kriming

Pengukuran volume kriming menunjukkan bahwa tidak terjadi kriming setelah kondisi penyimpanan dipercepat. Pengujian volume kriming setelah penyimpanan dipercepat dapat dilihat pada Tabel 7.

B.4 Pengukuran Kekentalan Krim

Hasil pengukuran kekentalan krim menggunakan emulgator anionik dan nonionik menunjukkan terjadinya perubahan kekentalan pada semua formula krim. Hasil ini dapat dilihat pada Tabel 8.

B.5 Inversi Fase

Dari hasil pengujian tipe emulsi dengan menggunakan uji pengenceran dan uji dispersi zat warna menggunakan metilen biru setelah kondisi penyimpanan dipercepat memperlihatkan tipe emulsi minyak dalam air (m/a) untuk semua krim yang dibuat. Hasil ini menunjukkan tidak terjadi inversi fase pada semua formula krim. Pengujian tipe emulsi setelah kondisi penyimpanan dipercepat dapat dilihat pada Tabel 6.

B.6 Pengukuran Tetes Terdispersi

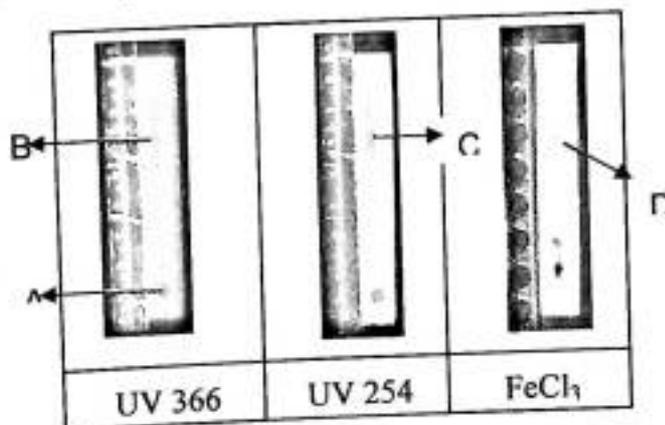
Hasil pengukuran tetes terdispersi pada krim yang menggunakan emulgator anionik dan nonionik menunjukkan terjadinya perubahan ukuran tetes terdispersi pada semua formula krim. Hasil ini dapat dilihat pada Tabel 9. Gambar tetes terdispersi untuk krim dengan emulgator anionik dapat dilihat pada Gambar 10, sedangkan untuk krim nonionik dapat dilihat pada Gambar 11.

IV.2 Pembahasan

Kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) segar diekstraksi dengan menggunakan pelarut aseton-air (7:3) dan pelarut etanol-air (7:3). Hal ini dilakukan karena kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) mengandung senyawa antioksidan berupa flavonoid terkondensasi (3). Ekstraksi yang

paling baik untuk senyawa flavonoid terkondensasi yaitu dengan menggunakan penyari aseton-air (7:3) (14). Pada umumnya flavonoid juga berada dalam bentuk glikosida sehingga baik pula diekstraksi dengan penyari etanol-air (7:3) (12).

Sebelum dilakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao, terlebih dahulu dilakukan analisis kualitatif dengan metode KLT menggunakan eluen butanol-asam asetat glasial-air (4:1:5). Perbandingan eluen ini digunakan karena flavonoid merupakan senyawa polar. Hasil analisis kualitatif ekstrak kulit buah kakao pada Gambar 1 menunjukkan adanya senyawa fenolik yang dapat dilihat dari warna noda coklat kehijauan pada visualisasi dengan FeCl_3 , sedangkan pada sinar UV 254 dan 366 nm menunjukkan warna noda hijau kebiruan.



Gambar 1. Hasil Analisis Kualitatif Ekstrak Kulit Buah Kakao

- Keterangan :
- A : Tempat penotolan
 - B : Noda yang tampak pada lampu UV 366
 - C : Noda yang tampak pada lampu UV 254
 - D : Noda yang tampak setelah ditambahkan FeCl_3

Hasil uji antioksidan ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan penyari aseton-air (7:3) menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-hidrazil) menunjukkan bahwa persen penghambatan untuk konsentrasi ekstrak 5 mg/ ml, 1,25 mg/ ml, 0,5 mg/ ml, 0,1 mg/ ml, dan 0,01 mg/ ml masing-masing adalah 86,91 %, 82,02 %, 68,08 %, 52,35 %, dan 25,86 %. Sedangkan hasil uji antioksidan ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan penyari etanol-air (7:3) menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-hidrazil) menunjukkan bahwa persen penghambatan untuk konsentrasi ekstrak 5 mg/ ml, 1,25 mg/ ml, 0,5 mg/ ml, 0,1 mg/ ml, dan 0,01 mg/ ml masing-masing adalah 80,10 %, 65,90 %, 46,88 %, 23,06 %, dan 12,20 %. Hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah kakao dengan penyari aseton-air (7:3) lebih tinggi dibandingkan dari ekstrak kulit buah kakao dengan penyari etanol-air (7:3). Hal ini kemungkinan disebabkan karena jumlah kandungan senyawa flavonoid terkondensasi jauh lebih banyak dari flavonid lain yang terdapat dalam kulit buah kakao, di mana senyawa flavonoid terkondensasi (tannin terkondensasi) sangat baik diekstraksi dengan penyari aseton-air (7:3) (14).

Hasil pengukuran perhitungan IC_{50} daya antioksidan menggunakan analisis probit menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit buah kakao dengan penyari aseton-air (7:3) ($IC_{50}=0,08$ mg/ ml) lebih tinggi aktivitas antioksidan dari ekstrak dengan penyari etanol-air (7:3) ($IC_{50}=0,48$ mg/ml) dan vitamin C ($IC_{50} = 0,1496$ mg/ ml). Hasil ini dijadikan

acuan penggunaan ekstrak kulit buah kakao di dalam formula dengan membandingkan IC_{50} dari ekstrak dan vitamin C. Konsentrasi vitamin C sebagai bahan aktif krim pemutih pada sediaan topikal adalah 10% (5) sehingga konsentrasi ekstrak dalam formula agar aktivitasnya setara dengan efek vitamin C sebagai antioksidan dalam sediaan topikal adalah 5,5%.

Hasil pengamatan organoleptis terhadap krim yang dibuat dengan emulgator anionik TEA-stearat menunjukkan adanya perubahan yang terjadi yaitu perubahan warna dari coklat muda menjadi coklat tua kemerahan serta perubahan bau pada krim II dan III yaitu krim dengan emulgator TEA-stearat dengan konsentrasi 2% dan 3 %, sedangkan pada krim I dengan konsentrasi 1% menunjukkan sedikit perubahan warna. Hal ini berarti emulgator TEA-stearat pada konsentrasi tertentu dapat bereaksi dengan komponen dalam ekstrak bahan alam yang digunakan. Kemungkinan reaksi yang terjadi yaitu reaksi antara trietanolamin (TEA) yang merupakan suatu amin yang bersifat basa kuat (37) dengan flavonoid pada ekstrak kulit buah kakao, dimana flavonoid merupakan senyawa fenol sehingga warnanya berubah bila bereaksi dengan basa (12). Hasil pengamatan organoleptis terhadap krim IV, V dan VI yaitu krim dengan emulgator nonionik tween 60- span 60 4%, 5%, dan 6% tidak menunjukkan perubahan warna. Hal ini kemungkinan disebabkan karena dasar krim nonionik bersifat netral sehingga tidak terjadi interaksi antara flavonoid dalam ekstrak dengan emulgator.

Hasil pengujian tipe emulsi krim sebelum dan sesudah penyimpanan dipercepat memperlihatkan bahwa semua krim mempunyai tipe emulsi m/a, baik dengan uji pengenceran maupun dengan uji dispersi zat warna menggunakan metilen biru. Hal ini disebabkan karena volume fase terdispersi (fase minyak) yang digunakan dalam krim ini lebih kecil dari fase pendispersi (fase air), sehingga fase minyak akan terdispersi ke dalam fase air dan membentuk emulsi tipe m/a. Selain itu nilai HLB kombinasi emulgator yang dibutuhkan adalah 13,54 yang berarti sesuai dengan pernyataan Davis bahwa emulgator dengan HLB butuh lebih dari 7 akan terdistribusi dalam fase air dan membentuk emulsi tipe m/a (37).

Kriming dapat terjadi jika fase terdispersi mempunyai densitas yang lebih kecil dibandingkan dengan fase pendispersi yaitu biasanya terjadi pada emulsi m/a namun sebaliknya jika fase terdispersi memiliki densitas yang lebih besar dibandingkan fase pendispersi yaitu biasa terjadi pada emulsi tipe a/m maka cenderung terbentuk endapan. Dari hasil pengamatan volume kriming terhadap krim tipe m/a yang dibuat tidak menunjukkan adanya kriming pada semua krim yang dibuat. Hal ini kemungkinan disebabkan karena krim yang dibuat memiliki kekentalan yang cukup tinggi sehingga tidak menghasilkan kriming.

Hasil analisis statistik terhadap perubahan kekentalan krim sebelum dan setelah diberi kondisi penyimpanan dipercepat untuk krim menunjukkan pengaruh yang sangat nyata dari konsentrasi emulgator yang digunakan, hal ini dapat dilihat pada $F_{hitung} > F_{tabel}$, begitu pula

dengan kondisi penyimpanan dipercepat menunjukkan pengaruh yang sangat nyata. Hal ini berarti ada perubahan kekentalan sebelum dan setelah penyimpanan dipercepat. Hal ini kemungkinan disebabkan karena pada penggunaan emulgator anionik (TEA-stearat), TEA bereaksi dengan ekstrak bahan alam sehingga potensi emulgatornya berkurang maka terjadi perubahan kekentalan yang signifikan antara sebelum dan setelah kondisi penyimpanan dipercepat. Sedangkan pada krim yang menggunakan emulgator nonionik (tween 60-span 60) terjadi pula perubahan kekentalan yang signifikan, kecuali pada krim IV yang menggunakan emulgator tween 60-span 60 3% (Gambar. 4). Hal ini kemungkinan disebabkan karena kombinasi tween 60 – span 60 dengan konsentrasi 3 % dapat menghasilkan lapisan antarmuka yang kompleks dan rapat yang tidak dipengaruhi siklus suhu pada kondisi dipercepat. Sedangkan pada konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 4% dan 5% kemungkinan karena jumlahnya yang sangat banyak maka emulgator ini cenderung untuk bergabung dan membentuk gel sehingga terjadi peningkatan kekentalan. Pengujian lanjutan dengan uji Duncan memperlihatkan bahwa masing-masing krim berbeda sangat nyata, kecuali antara krim V dan VI yang tidak berbeda nyata. Hal ini disebabkan perbedaan konsentrasi yang kecil dan kemampuan mengemulsi yang hampir sama antara krim V dan VI.

Analisis statistik terhadap ukuran partikel tetes terdispersi krim menunjukkan ada pengaruh nyata konsentrasi emulgator-emulgator yang

digunakan maupun kondisi penyimpanan dipercepat terhadap perubahan ukuran tetes terdispersi yang ditunjukkan dengan $F_{hitung} >$ dari F_{tabel} pada tingkat kepercayaan 95%. Pada krim menggunakan emulgator anionik (TEA-Stearat) menunjukkan perbedaan ukuran tetes terdispersi yang signifikan. Hal ini dimungkinkan karena adanya reaksi TEA dan ekstrak kulit buah kakao sehingga mengurangi kemampuan emulgator untuk memisahkan partikel tetes terdispersi sehingga fase terdispersi cenderung berkumpul membentuk partikel yang lebih besar. Sedangkan pada krim dengan menggunakan emulgator nonionik (tween 60-span 60) menunjukkan sedikit perubahan pada ukuran tetes terdispersi yaitu pada krim IV dan VI sedangkan pada krim V menunjukkan perubahan yang signifikan (Tabel. 9 dan Gambar. 5). Tetapi diantara krim IV dan VI, krim yang menunjukkan perubahan paling kecil pada ukuran tetes terdispersinya adalah pada krim IV (krim dengan emulgator tween 60-span 60 3%). Hal ini kemungkinan karena emulgator tween 60- span 60 3 % dapat menyelubungi tetesan terdispersi dengan baik sehingga mencegah penggabungan tetesan-tetesan terdispersi tersebut.

Hasil pengujian tipe emulsi setelah penyimpanan dipercepat tidak memperlihatkan adanya perubahan tipe emulsi dari semua formula krim atau tidak terjadi inversi fase. Hal ini kemungkinan karena perbandingan volume kedua fase adalah konstan juga sesuai dengan yang ditunjukkan oleh Sinoda dkk bahwa semakin tinggi nilai HLB surfaktan maka semakin tinggi pula pertahanan untuk terinversi.

Dari pembahasan di atas maka diketahui bahwa ada pengaruh perbedaan konsentrasi emulgator anionik TEA-stearat terhadap kestabilan krim antioksidan dari ekstrak kulit buah kakao ini, yaitu berpengaruh terhadap perubahan organoleptis meliputi warna dan bau, perubahan kekentalan dan ukuran tetes terdispersi namun tidak berpengaruh terhadap volume kriming. Sedangkan untuk krim antioksidan dari ekstrak kulit buah kakao menggunakan emulgator nonionik tween 60 – span 60 terlihat ada pengaruh konsentrasi emulgator terhadap kekentalan tetapi tidak mempengaruhi perubahan organoleptis, ukuran tetes terdispersi dan volume kriming. Pembahasan di atas juga memperlihatkan bahwa krim IV yaitu dengan emulgator nonionik tween 60 –span 60 dengan konsentrasi 3 % merupakan krim yang paling stabil secara fisika.

BAB V

PENUTUP

V.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan diperoleh bahwa :

1. Ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan penyari aseton:air (7:3) memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi daripada ekstrak dengan penyari etanol-air (7:3). IC₅₀ (Inhibitory Concentration) ekstrak kulit buah kakao dengan penyari aseton : air (7:3) sebesar 0,08 mg/ ml.
2. Krim antioksidan yang paling stabil secara fisika adalah krim dengan menggunakan emulgator nonionik tween 60 – span 60 3%.

V.2 Saran

1. Sebaiknya dilakukan uji terhadap efek krim antioksidan dari kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) secara *invivo*
2. Sebaiknya dilakukan pemanfaatan limbah buah kakao yang lain seperti kulit biji dari buah kakao (*Theobroma cacao* L.) untuk kemudian diformulasi menjadi bentuk sediaan lain.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sunanto, H., 1994. *Cokelat Budidaya, Pengolahan Hasil, dan Aspek Ekonominya*. Penerbit Kaninus. Yogyakarta. 13, 100, 101
2. Ditjen Peternakan. *Potensi Limbah Coklat*. <http://www.bagnak.ditjennak.go.id>. Diakses tanggal 13 Maret 2006
3. Figueira, A., Janick, J., & Bemiller, J.N. 1993. *New Products from Theobroma cacao*. www.host.purdue.edu/newcrop/proceeding1993/html, diakses tanggal 30 Juni 2006
4. Arlorio, M., Coisson, J.D., Travaglia, F., Varsaldi, F., Miglio, G., Lombardi, G., & Martelli, A. 2005. *Antioxidant and Biological Activity of Pigments from Theobroma cacao Hulls Extracted with Supercritical CO₂*. <http://www.worldcocoafoundation.org/Library/Document/ArlorioPhenolicAntioxidantsinCacaoHullsPhysiology.pdf>, diakses tanggal 29 Mei 2006
5. Amiruddin, M.D. 2003. *Ilmu Penyakit Kulit*. Bagian Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Makassar. 165
6. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 2005. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 6
7. Keithler, W.R.M. 1956. *The Formulation of Cosmetics and Cosmetic Specialities*, Drug and Cosmetic Industry. New York. 3
8. Gennaro, A.R. 1990. *Remington and Practice of Pharmacy*. 18th Edition,. Philadelphia College of Pharmacy and Science. Philadelphia. 301-302
9. Lachman, L., Lieberman, H.A., Kanig, J.L., 1994. *Theory and Practice of Pharmacy*. John Wiley and Sons. New York. 508, 549
10. Tjitrosoepomo, G. 1994. *Taksonomi Tumbuhan Obat-Obatan*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 213.
11. Mossu, G. 1992. *Cocoa The Tropical Agriculturalist*. The Macmillan Press LTD, London, 17.
12. Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB Bandung. 70

13. Hagerman, A.E. *Tannin Handbook*. Department of Chemistry and Biochemistry, Miami University, Oxford USA
14. Hagerman, A.E., Klucher K.M. 1986. *Tannin-Protein Interaction*. In : *Plant Flavanoids in Biology and Medicine*. Ed. Cody V. New York
15. Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W. 2000. *Biokimia Harper*. Terjemahan oleh Andry Hartono. 2003. Penerbit Buku Kedokteran. EGC. Jakarta. 613, 618-619
16. Lautan, J. 1997. *Radikal Bebas Pada Eritrosit dan Lekosit*. Cermin Dunia Kedokteran **No.116**
17. Husaini, M.A. 1991. Gizo, *Proses Penuaan dan umur Panjang*. Majalah Cermin Dunia Kedokteran **No. 73** : 22,23
18. Muhilal. 1991. *Teori Radikal Bebas dalam Gizi dan Kedokteran*. Majalah Cermin Dunia Kedokteran **No. 73** : 10
19. Winamo, F.G. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 12
20. Rohman, A., Sugeng, R. 2005. *Jurnal Aktivitas pengikatan radikal bebas DPPH Minyak buah merah Daun Kemuning (Murraya paniculata (L) Jack) secara In Vitro*. Majalah Farmasi Indonesia. Lab. Kimia Analisis, Bagian kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 136-140
21. Sadikin, N. *Antioksidan eksogen dan penilaian status antioksidan. Disampaikan pada Kursus Penyegar Radikal Bebas dan Antioksidan dalam Kesehatan: Dasa, Aplikasi dan Pemanfaatan Bahan Alam*. Jakarta. 24 Maret 2001
22. Halliwell, B., John, M.G., 1999. *Free Radical in Biology and Medicine 3rd edition*. London: Oxford University Press
23. Soewoto, H. *Antioksidan eksogen sebagai lini pertahanan kedua dalam menanggulangi peran radikal bebas*. Disampaikan pada Kursus Penyegar Radikal Bebas dan Antioksidan dalam Kesehatan: Dasar, Aplikasi dan Pemanfaatan Bahan Alam. Jakarta. 24 Maret 2001

24. Soeatmadji, D.J. *The role of free radicals in management of type 2 diabetic patients*. Disampaikan pada *Simposium Free Radicals in Diabetes and Their Interaction with Sulfonilurea*. Jakarta. 24 Maret 2001
25. Peppas, M., Uribari, J., & Vlassara, H.I. 2003. *Glucose, Advanced Glycation End Products, and Diabetes Complications: What Is New and What Works*. Clinical Diabetes. 2003
26. Slaga, T.J., Keuneke, R. *The Detox Revolution*. Terjemahan oleh Lea Roosa. 2005. PT Bhuana Ilmu Populer. Jakarta. 16
27. Day, J.R.A., Underwood, A.L. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Terjemahan oleh R. Soendoro. 1989. Edisi kelima. Penerbit Erlangga. Jakarta. 383-417
28. Solomons, T.W.G. 1980. *Organic Chemistry*. 2nd edition. University of South Florida, John Wiley and Sons. New York. 413
29. Sastroamidjojo, H., 1985, *Spektroskopi*. Penerbit Liberty, Yogyakarta. 11-15
30. Roth, J.H., Blaschke. 1994. *Analisis Farmasi*. Terjemahan oleh Kisman S. & Ibrahim S. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 374
31. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 2004. *Keputusan Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.1. 1972.
32. Balsam, M.S., Sagarin, E. *Cosmetics Science and Technology*. Second Edition. Wiley Interscience. New York. London-Toronto. 224, 226
33. Baumann, L. 2002. *Cosmetic Dermatology. Principles and Practise*. The McGraw-Hill Companies. Medical Publishing Division. New York
34. Posman, S. 2004. *THP Unika St Thomas Medan, Senjata Pemusnah Radikal Bebas*. www.kompas.com, diakses 10 Februari 2006
35. Tominaga, H. 2005. *DPPH Radical-Scavenging Effect of Several Phenylpropanoid Compounds and Their Glycoside derivatives*. The Pharmaceutical Society of Japan. 371-375

36. Parrot, E.L. 1971. *Pharmaceutical Technology. Fundamental Pharmaceutics*. Third Revision. Burgess Publishing Company. Minneapolis. 313
37. Martin, E.L. 1971. *Dispensing of Medication*. 7th Edition. Mack Publishing Company. Easton Pennsylvania. 528, 529
38. Banker, G.S., Rhodes, C.T. 1997. *Modern Pharmaceutics Drugs and The Pharmaceutical Science*. 7th Volume. Marcel Dekker Inc. New York and Basel. 355
39. Kibbe, A. 2000. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 3th Edition American Pharmaceutical Association. Washington DC. 534, 442
40. Reynold J.E.F. 1989. *Martindale The Extra Pharmacopeia*. 30th Edition. The Pharmaceutical Press. London. 14,138,1032
41. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 2005. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.

Table 1. Harga Probit Sesuai Persentasenya

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,87	3,92	3,92	3,95	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,17	4,19	4,23	4,29	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,59	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,85	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,10	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,36	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,64	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,99	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,25	6,34	6,41	6,55	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
99	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,66	7,75	7,88	8,09

Tabel 2. Hasil Pengukuran Serapan DPPH Setelah Perlakuan dengan Ekstrak Etanol-Air (7:3), Ekstrak Aseton-Air (7:3) dan Vitamin C

Sampel	Konsentrasi (mg/ml)	Serapan (A)		% Pengikatan DPPH *
		Nilai	Rata-Rata	
Ekstrak Etanol-Air (7:3)	0	0,7438	0,7408	0
		0,7328		
		0,7457		
	0,01	0,6604	0,6504	12,20
		0,6403		
		0,6506		
	0,1	0,5750	0,5700	23,06
		0,5640		
		0,5710		
	0,5	0,3934	0,3935	46,88
		0,3938		
		0,3933		
	1,25	0,2520	0,2526	65,90
		0,2528		
		0,2530		
5	0,1478	0,1474	80,10	
	0,1470			
	0,1474			
Ekstrak Aseton-Air (7:3)	0	0,8722	0,8724	0
		0,8733		
		0,8717		
	0,01	0,6084	0,6085	30,25
		0,6095		
		0,6075		
	0,1	0,3833	0,3794	56,51
		0,3789		
		0,3761		
	0,5	0,3436	0,3328	61,85
		0,3289		
		0,3260		
	1,25	0,2894	0,2903	66,72
		0,2907		
		0,2908		
5	0,0397	0,0400	95,42	
	0,0401			
	0,0403			

Vitamin C	Konsentrasi (mg/ml)	Serapan	% Pengikatan DPPH
	0	0,8358	0
	0,01	0,8274	1,00
	0,1	0,4319	48,32
	0,25	0,1583	81,06
	0,5	0,1533	81,66
	1,25	0,0225	97,31
	2,5	0,0253	96,40
	5	0,0301	96,97

Tabel 3. Hasil Perhitungan IC₅₀

Sampel	[] mg/ml	Log [] (x)	% Pengikatan DPPH	Probit (y)	Persamaan Garis Linear	IC ₅₀ (mg/ml)
Ekstrak Etanol- Air (7:3)	0,01	-2	12,20	3,88	$Y = 5,2416 + 0,7537x$ $R^2 = 0,96$	0,48
	0,1	-1	23,06	4,29		
	0,5	-0,301	46,88	4,90		
	1,25	0,097	65,90	5,41		
	5	0,699	80,10	5,84		
Ekstrak Aseton- Air (7:3)	0,01	-2	30,25	4,48	$y = 5,7606 + 0,6998x$ $R^2 = 0,83$	0,08
	0,1	-1	56,51	5,16		
	0,5	-0,301	61,85	5,30		
	1,25	0,097	66,72	5,43		
	5	0,699	95,42	6,68		
Vitamin C	0,01	-2	1,00	2,670	$y = 6,3395 + 1,6041x$ $R^2 = 0,93$	0,15
	0,1	-1	48,32	4,956		
	0,25	-0,602	81,06	5,884		
	0,5	-0,301	81,66	5,908		
	1,25	0,097	97,31	6,802		
	2,5	0,398	96,40	6,880		
	5	0,699	96,97	6,931		

Tabel 4. Rancangan Formula

No.	Bahan	Formula Krim (% b/b)					
		I	II	III	IV	V	VI
1.	Ekstrak kulit buah kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.)	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5	5,5
2.	Asam stearat	6	6	6	6	6	6
3.	Setil alkohol	3	3	3	3	3	3
4.	Propilen glikol	10	10	10	10	10	10
5.	Lanolin anhidrat	2	2	2	2	2	2
6.	Trietanolamin	1	2	3	-	-	-
7.	Tween 60	-	-	-	} 3	} 4	} 5
8.	Span 60	-	-	-			
9.	Metil paraben	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
10.	Propil paraben	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
11.	Minyak mawar	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
12.	Air suling ad	100	100	100	100	100	100

Keterangan :

- I, II, dan III : Krim dengan emulgator anionik TEA-Stearat dengan konsentrasi TEA 1%, 2 %, dan 3 %
 III, IV, dan V : Krim dengan emulgator nonionik tween 60-span 60 3 %, 4 %, dan 5 %

Tabel 5. Hasil Pemeriksaan Kualitatif terhadap Bahan yang digunakan

No.	Bahan	Pemeriksaan dengan Pereaksi	Hasil		Ket.
			Pustaka	Pengamatan	
1.	Ekstrak Kulit buah kakao (<i>Theobroma cacao</i> L.) (Flavonoid)	1. KLT 2. Uap Amonia	Kuning Kuning terang	Kuning Kuning terang	+ +
2.	Asam stearat	1. + NaOH 2. +HCl encer dinginkan	Agar berbusa Jernih Memadat	Agar berbusa Jernih Memadat	+ + +
3.	Setil alkohol	+ K ₂ CrO ₄ +As. Asetet	Ungu	Ungu	+
4.	Propilen glikol	+K ₂ S ₂ O ₅ panaskan	Uap bau enak	Uap bau enak	+
5.	Lanolin anhidrat	1. + H ₂ SO ₄ pekat 2. + 5 ml H ₂ SO ₄	Lapisan bawah cokelat merah berfluoresensi hijau. Cincin cokelat merah terang terbentuk pada batas antar cincin.	Lapisan bawah cokelat merah berfluoresensi hijau. Cincin cokelat merah terang terbentuk pada batas antar cincin.	+
6.	Trietanolamin	1. +CuSO ₄ +NaOH 2. panaskan 3. +Co(NO ₃) ₂	Larutan biru Tetap biru Merah	Larutan biru Tetap biru Merah	+ + +
7.	Tween 60	+NaOH didihkan, dinginkan+HC I	Opalesensi kuat	Opalesensi kuat	+
8.	Span 60	1. +10 ml air (50°C) kocok 2. +NaOH, didihkan, dinginkan	Busa Tidak berkabut	Busa Tidak berkabut	+ +
9.	Metil paraben	1. +air, didihkan +FeCl ₃ 2. +Etanol, didihkan +AgNO ₃	Ungu kemerahan Endapan dengan cairan merah	Ungu kemerahan Endapan dengan cairan merah	+ +
10.	Propil paraben	1. +FeCl ₃ 2. +NaOH	Kuning Kuning ungu	Kuning Kuning ungu	+ +

Keterangan :+ : Hasil pengamatan sesuai pustaka

Tabel 6. Hasil Pengamatan Uji Tipe Emulsi

Krim	Tipe Emulsi			
	Sebelum Kondisi Penyimpanan Dipercepat		Setelah Kondisi Penyimpanan Dipercepat	
	Uji Pengenceran	Uji Dispersi Wama	Uji Pengenceran	Uji Dispersi Wama
I	m/a	m/a	m/a	m/a
II	m/a	m/a	m/a	m/a
III	m/a	m/a	m/a	m/a
IV	m/a	m/a	m/a	m/a
V	m/a	m/a	m/a	m/a
VI	m/a	m/a	m/a	m/a

Keterangan :

- m/a : Emulsi tipe minyak dalam air
 I, II, dan III : Krim dengan emulgator anionik TEA-Stearat dengan konsentrasi TEA 1%, 2 %, dan 3 %
 III, IV, dan V : Krim dengan emulgator nonionik tween 60-span 60 3 %, 4 %, dan 5 %

Tabel 7. Hasil Pengukuran Volume Kriming (%)

Siklus	Krim					
	I	II	III	IV	V	VI
1	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
Rata-rata	0	0	0	0	0	0

Tabel 8. Hasil Pengukuran Kekentalan Krim (Poise)

Krim	Kondisi	
	Sebelum Kondisi Penyimpanan Dipercepat	Setelah Kondisi Penyimpanan Dipercepat
I	92	152
	100	160
	92	152
Rata-rata	284	464
II	80	140
	88	140
	80	132
Rata-rata	248	412
III	52	44
	48	44
	40	44
Rata-rata	140	132
IV	96	100
	96	96
	100	100
Rata-rata	292	296
V	64	92
	56	80
	52	80
Rata-rata	172	252
VI	44	84
	40	92
	40	92
Rata-rata	124	268

Keterangan :

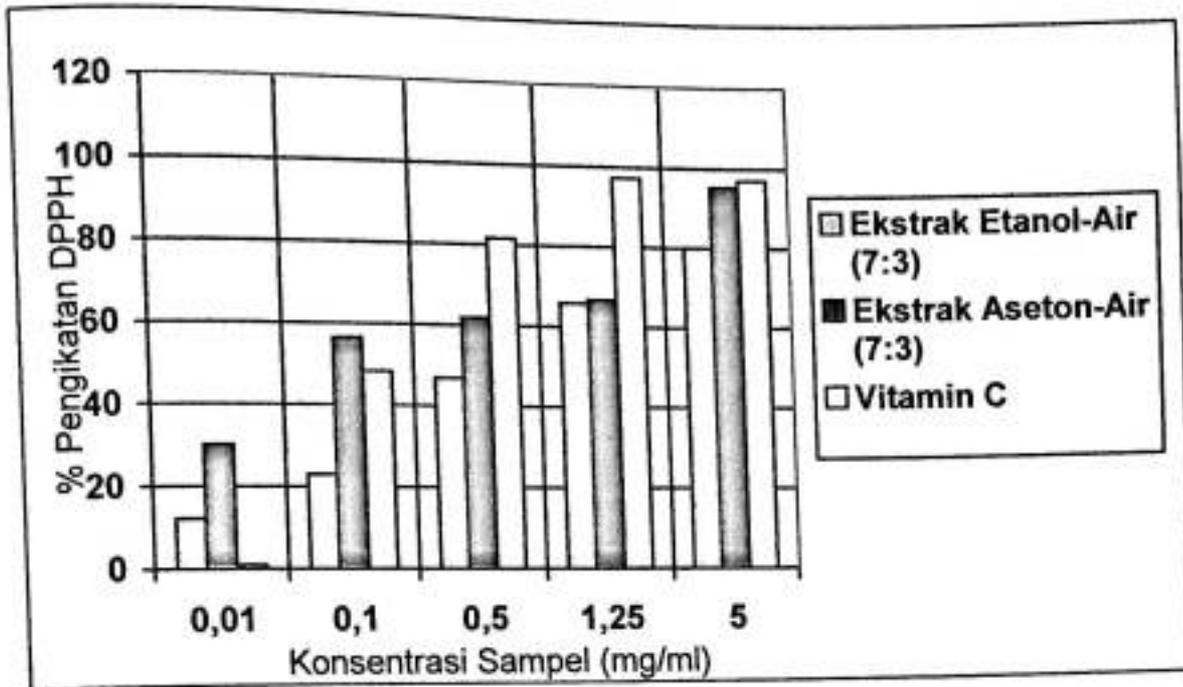
- I, II, dan III : Krim dengan emulgator anionik TEA-Stearat dengan konsentrasi TEA 1%, 2 %, dan 3 %
 III, IV, dan V : Krim dengan emulgator nonionik tween 60-span 60 3 %, 4 %, dan 5 %

Tabel 9. Hasil Pengukuran Tetesan Terdispersi (Mikron) Krim Anionik

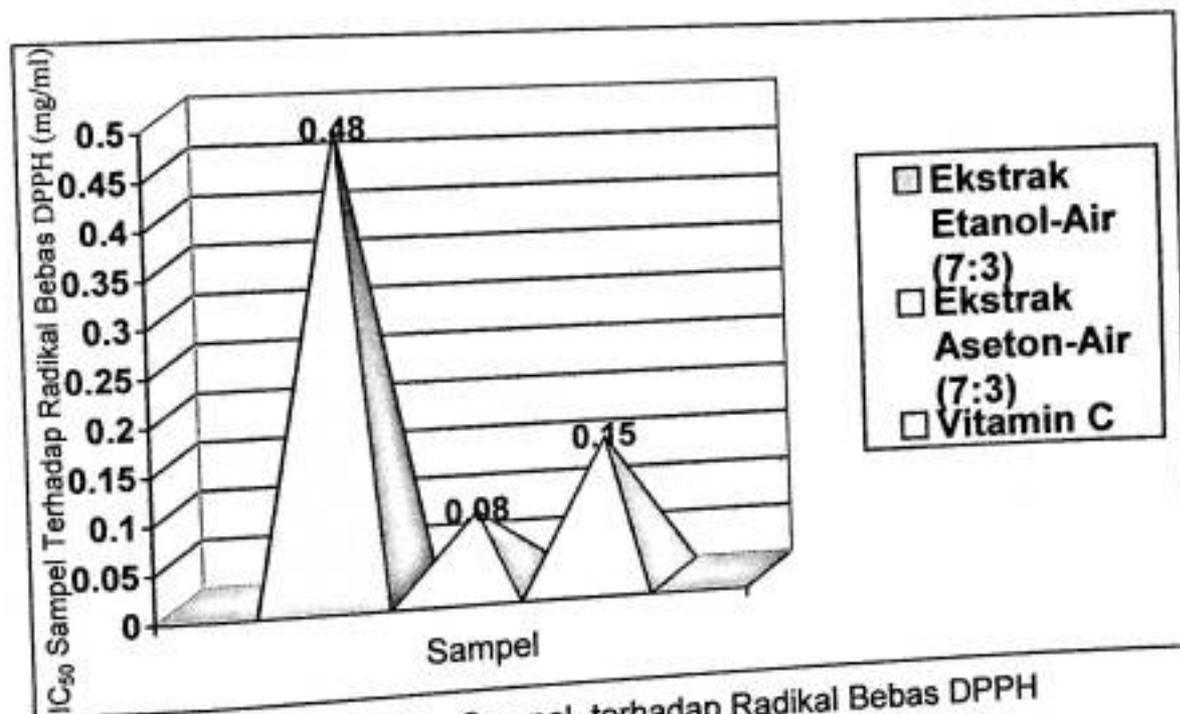
Krim	Kondisi	
	P ₀	P ₁
I	4,63	9,54
II	10,33	14,42
III	9,67	14,90
IV	10,03	11,23
V	13,09	21,81
VI	13,03	14,36

Keterangan :

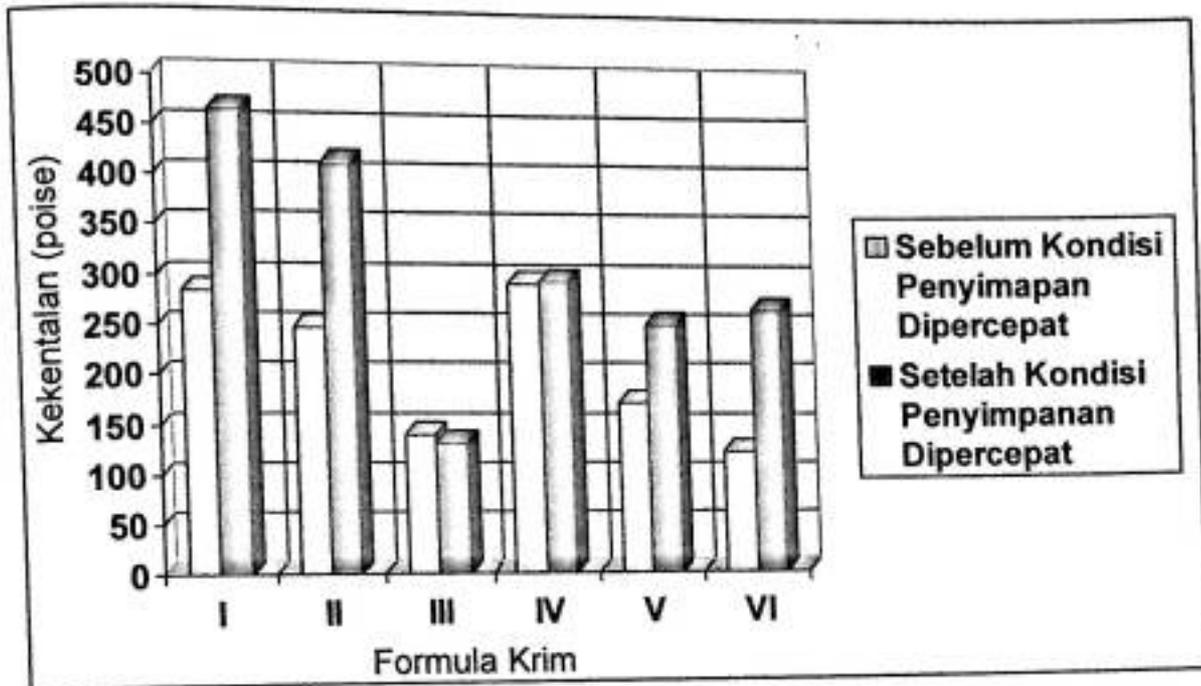
- P₀ : Sebelum kondisi penyimpanan dipercepat
P₁ : Setelah kondisi penyimpanan dipercepat
I, II, dan III : Krim dengan emulgator anionik TEA-Stearat dengan konsentrasi TEA 1%, 2 %, dan 3 %
III, IV, dan V : Krim dengan emulgator nonionik tween 60-span 60 3 %, 4 %, dan 5 %



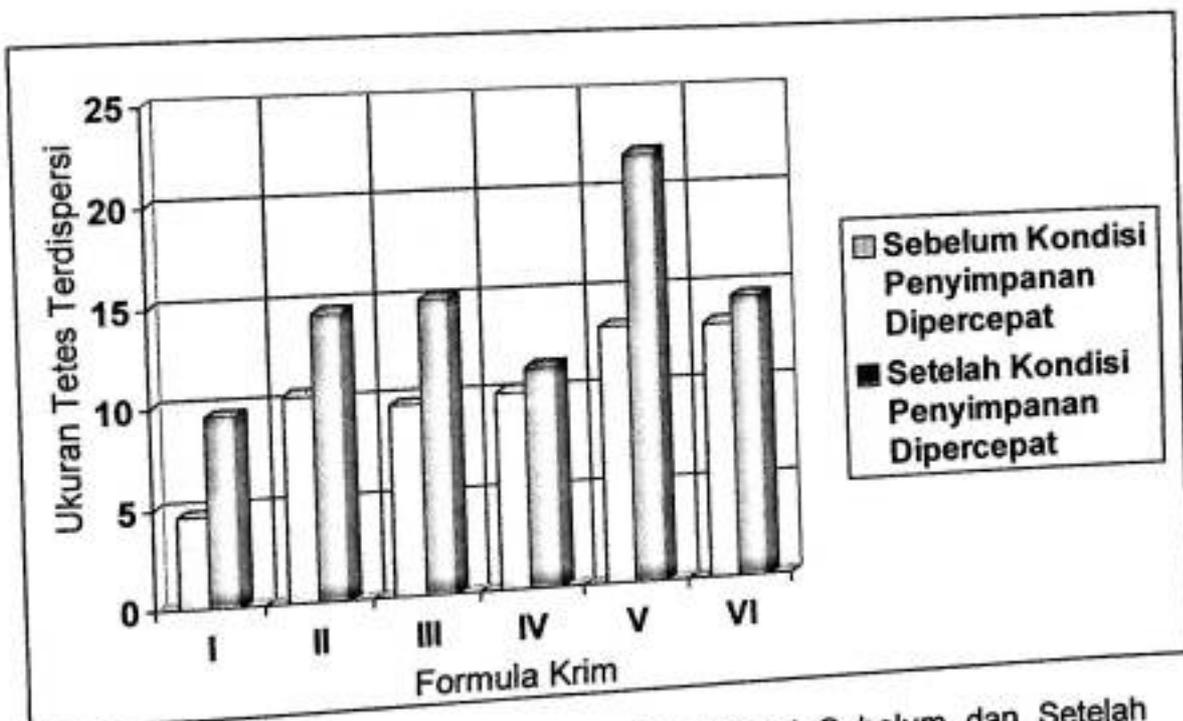
Gambar 2. Histogram Persentase Pengikatan Sampel terhadap Radikal Bebas DPPH



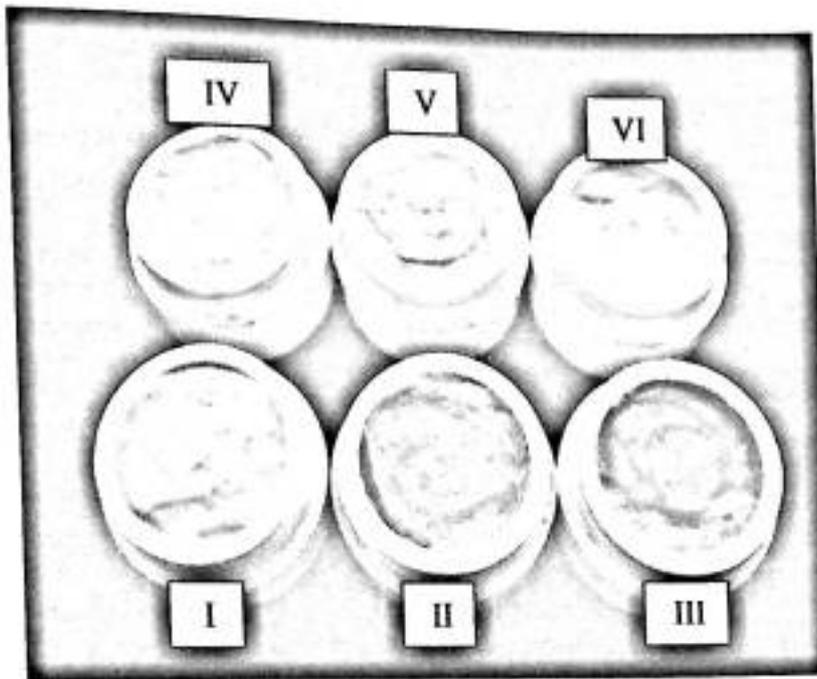
Gambar 3. Histogram IC_{50} Sampel terhadap Radikal Bebas DPPH



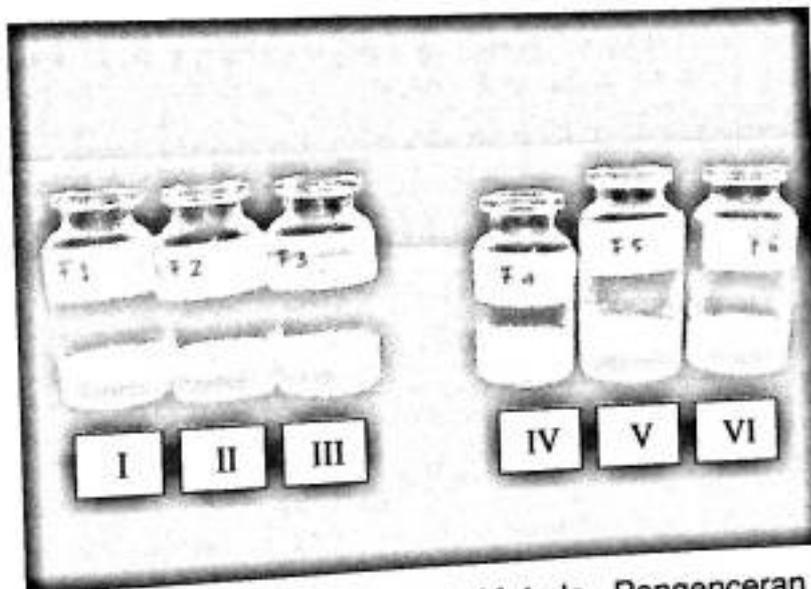
Gambar 4. Histogram Kekentalan Krim (poise) Sebelum dan Setelah Kondisi Penyimpanan Dipercepat



Gambar 5. Histogram Ukuran Tetes Terdispersi Sebelum dan Setelah Kondisi Penyimpanan Dipercepat



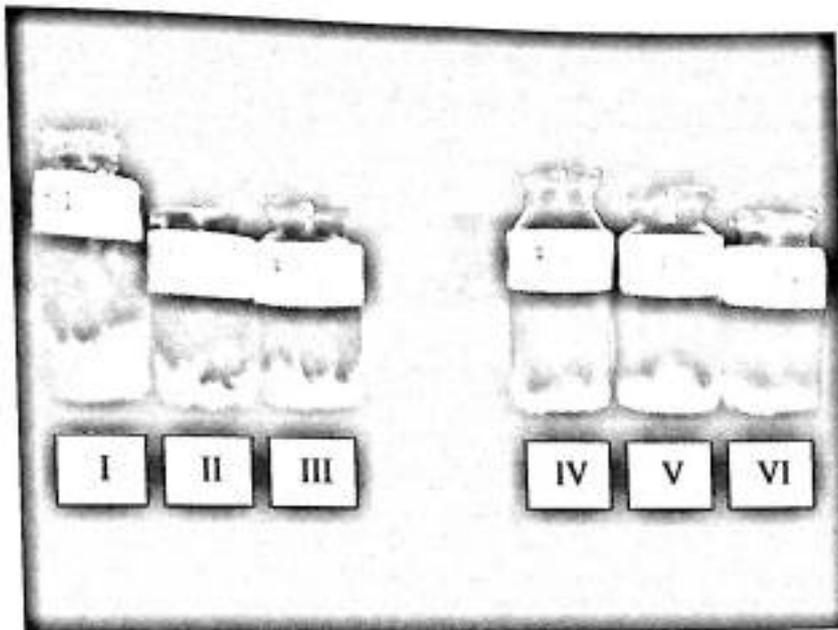
Gambar 6. Hasil Sediaan Krim Menggunakan Emulgator Nonionik Setelah kondisi Penyimpanan Dipercepat



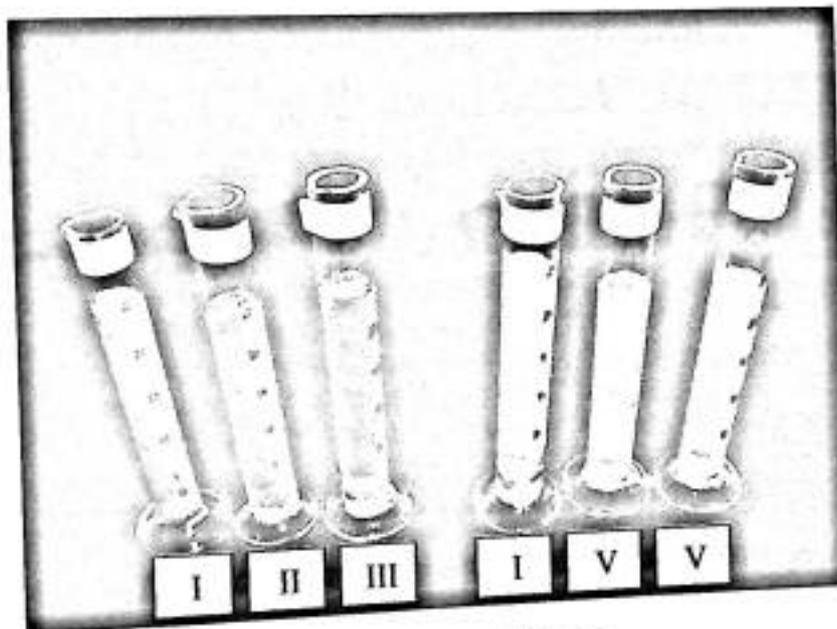
Gambar 7. Hasil Uji Tipe Emulsi Metode Pengenceran Tetesan dengan Air Suling sebagai Pengencer

Keterangan :

- I, II, dan III : Krim dengan emulgator anionik TEA-Stearat dengan konsentrasi TEA 1%, 2 %, dan 3 %
 III, IV, dan V : Krim dengan emulgator nonionik tween 60-span 60 3 %, 4 %, dan 5 %



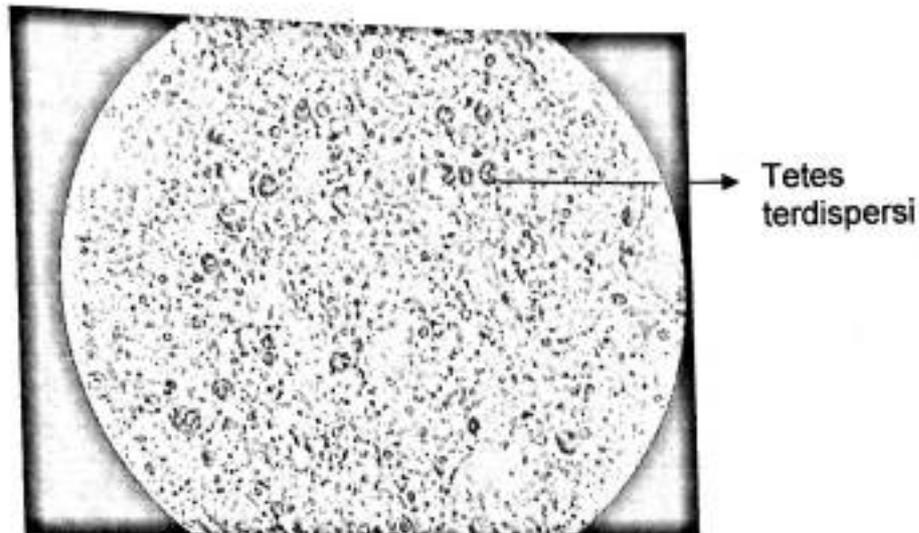
Gambar 8. Hasil Uji Tipe Emulsi Metode Dispersi Zat Warna dengan Menggunakan Metilen Biru



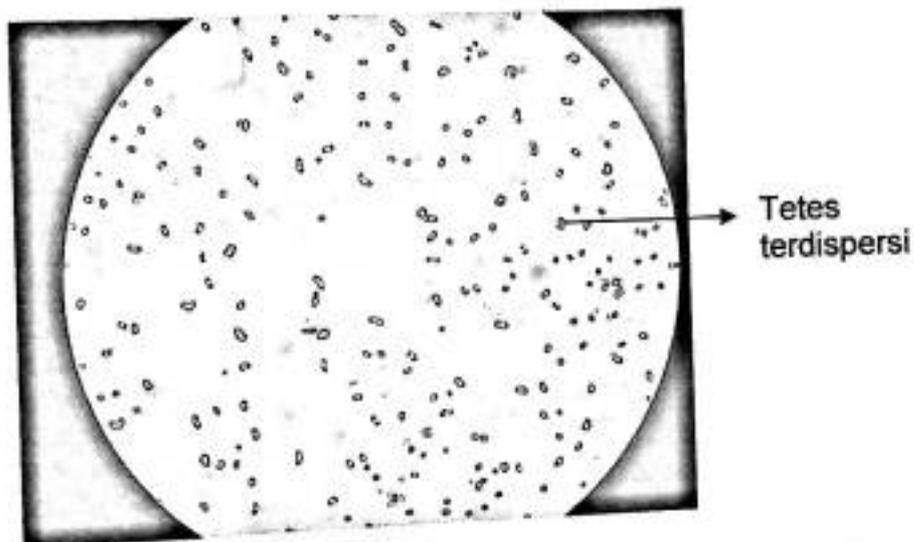
Gambar 9. Hasil Pengukuran Volume Kriming

Keterangan :

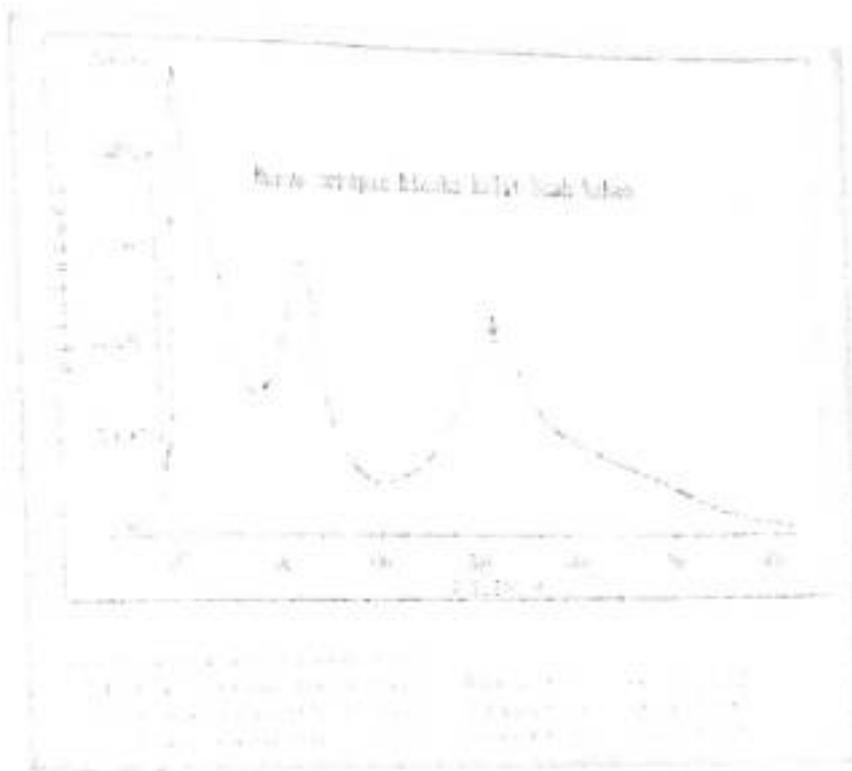
- I, II, dan III : Krim dengan emulgator anionik TEA-Stearat dengan konsentrasi TEA 1%, 2 %, dan 3 %
 III, IV, dan V : Krim dengan emulgator nonionik tween 60-span 60 3 %, 4 %, dan 5 %



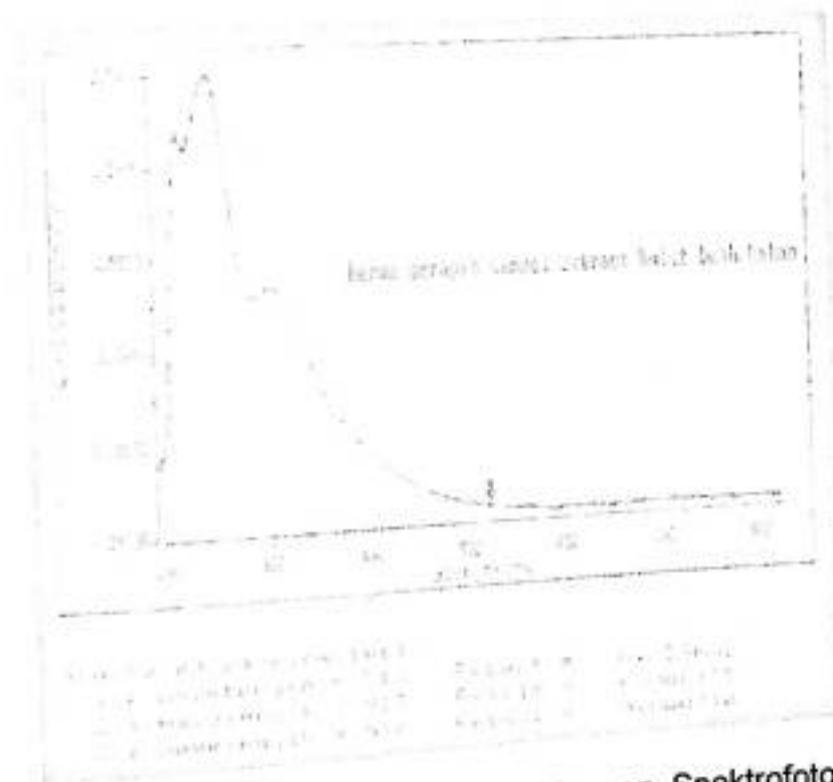
Gambar 10. Hasil Tetes Terdispersi Krim Antioksidan dari Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan Emulgator Anionik (TEA-Stearat) Menggunakan Mikroskop Elektron dengan Perbesaran 100 Kali



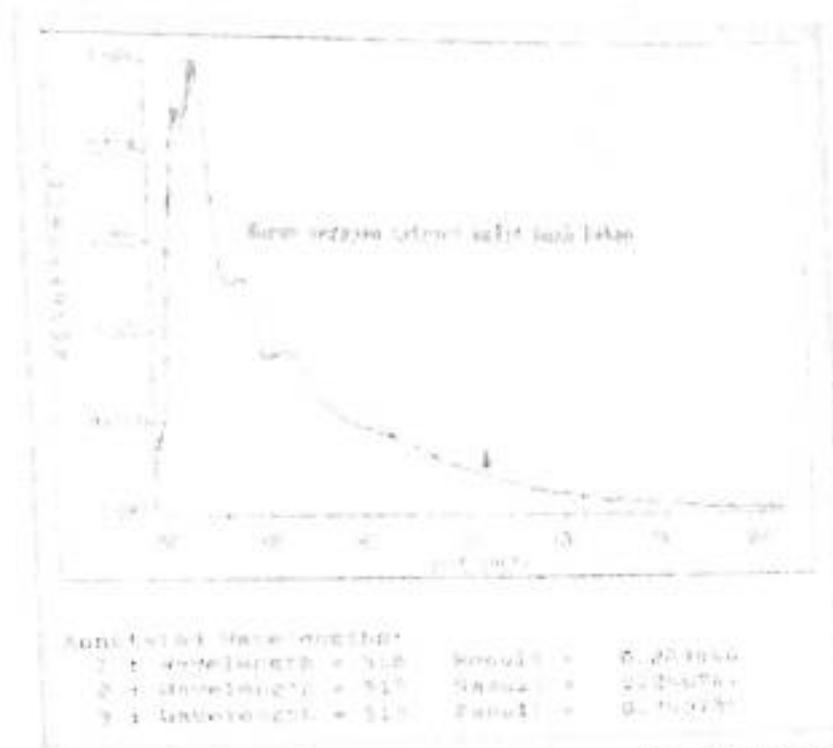
Gambar 11. Foto Ukuran Tetes Terdispersi Krim Antioksidan dari Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan Emulgator Nonionik (Tween 60-Span 60) Menggunakan Mikroskop Elektron dengan Perbesaran 100 Kali



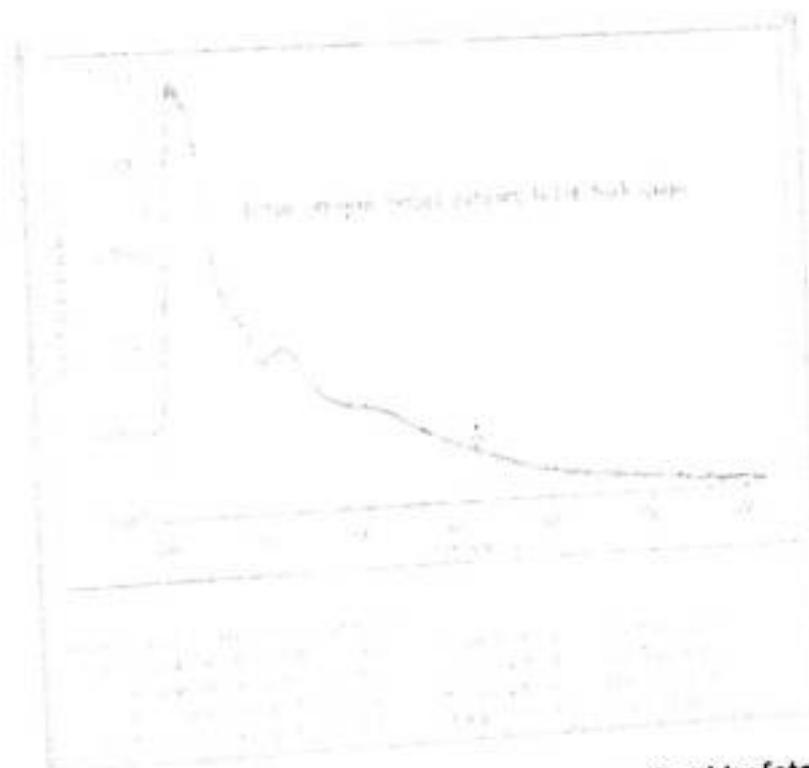
Gambar 12. Kurva Serapan DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl hidrazyl) dengan Spektrofotometer



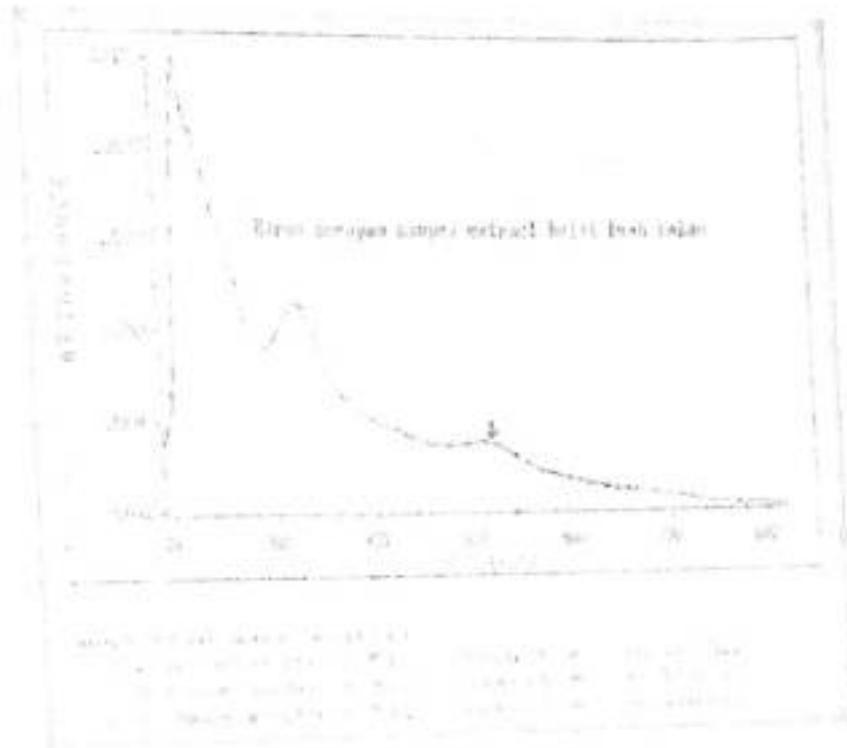
Gambar 13. Kurva Serapan DPPH dengan Spektrofotometer Setelah Perlakuan dengan Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) 5 mg/ml



Gambar 14. Kurva Serapan DPPH dengan Spektrofotometer Setelah Perlakuan dengan Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) 1,25 mg/ ml



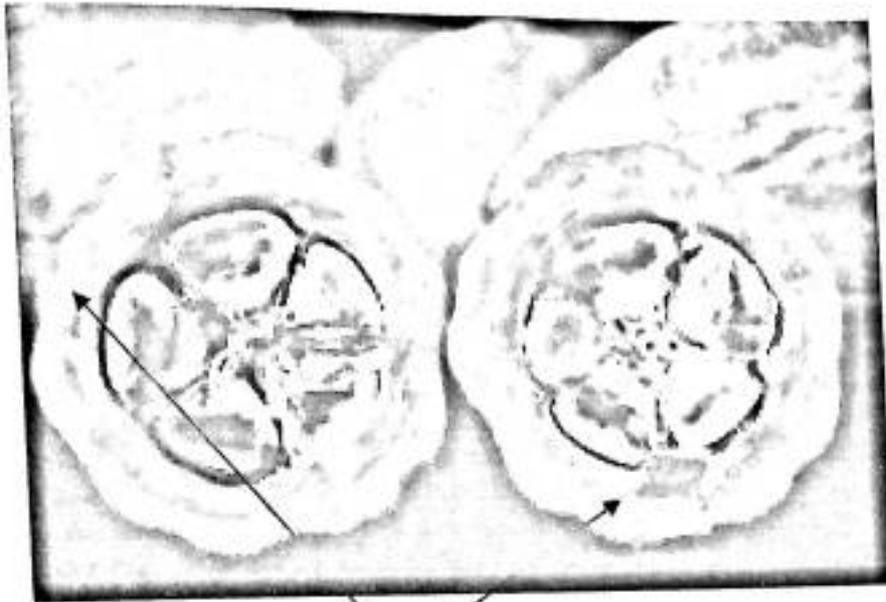
Gambar 15. Kurva Serapan DPPH dengan Spektrofotometer Setelah Perlakuan dengan Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) 0,5 mg/ ml



Gambar 16. Kurva Serapan DPPH dengan Spektrofotometer Setelah Perlakuan dengan Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) 0,1 mg/ ml



Gambar 17. Kurva Serapan DPPH dengan Spektrofotometer Setelah Perlakuan dengan Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) 0,01 mg/ ml

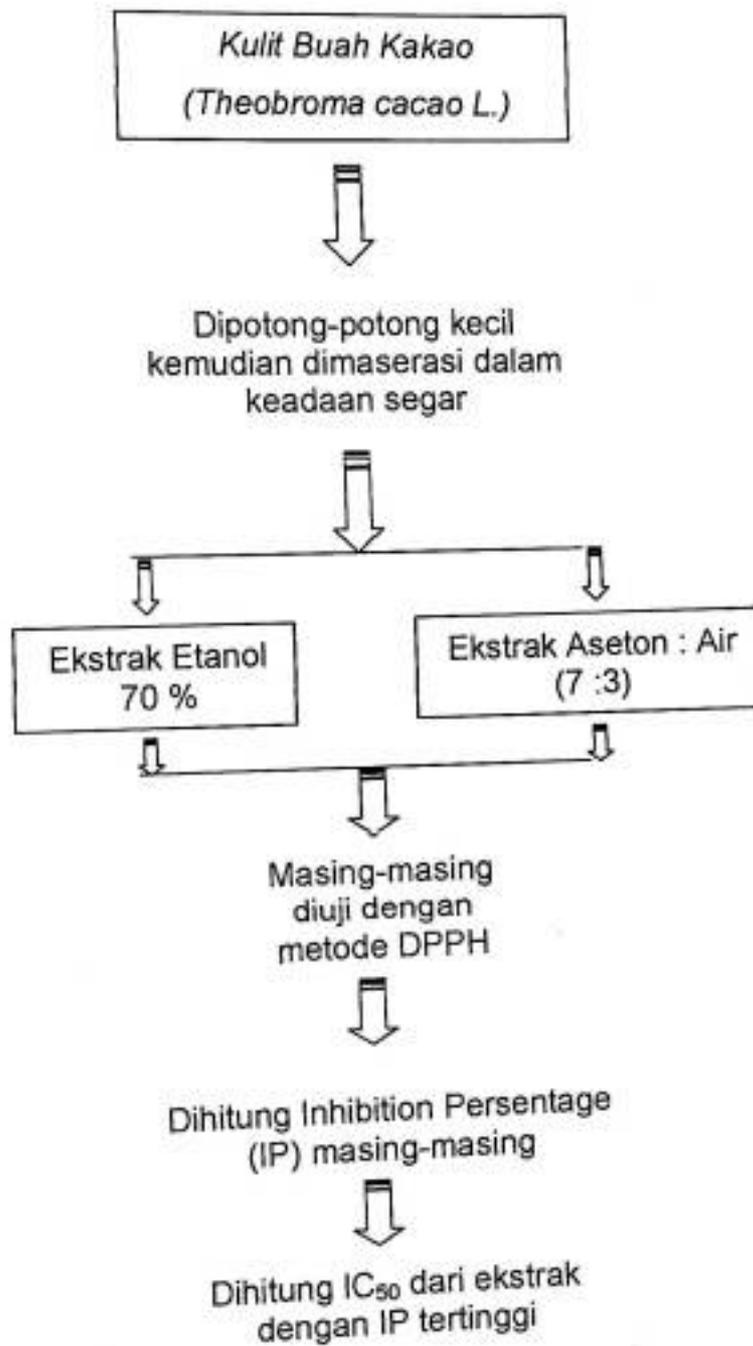


Kulit Buah Kakao

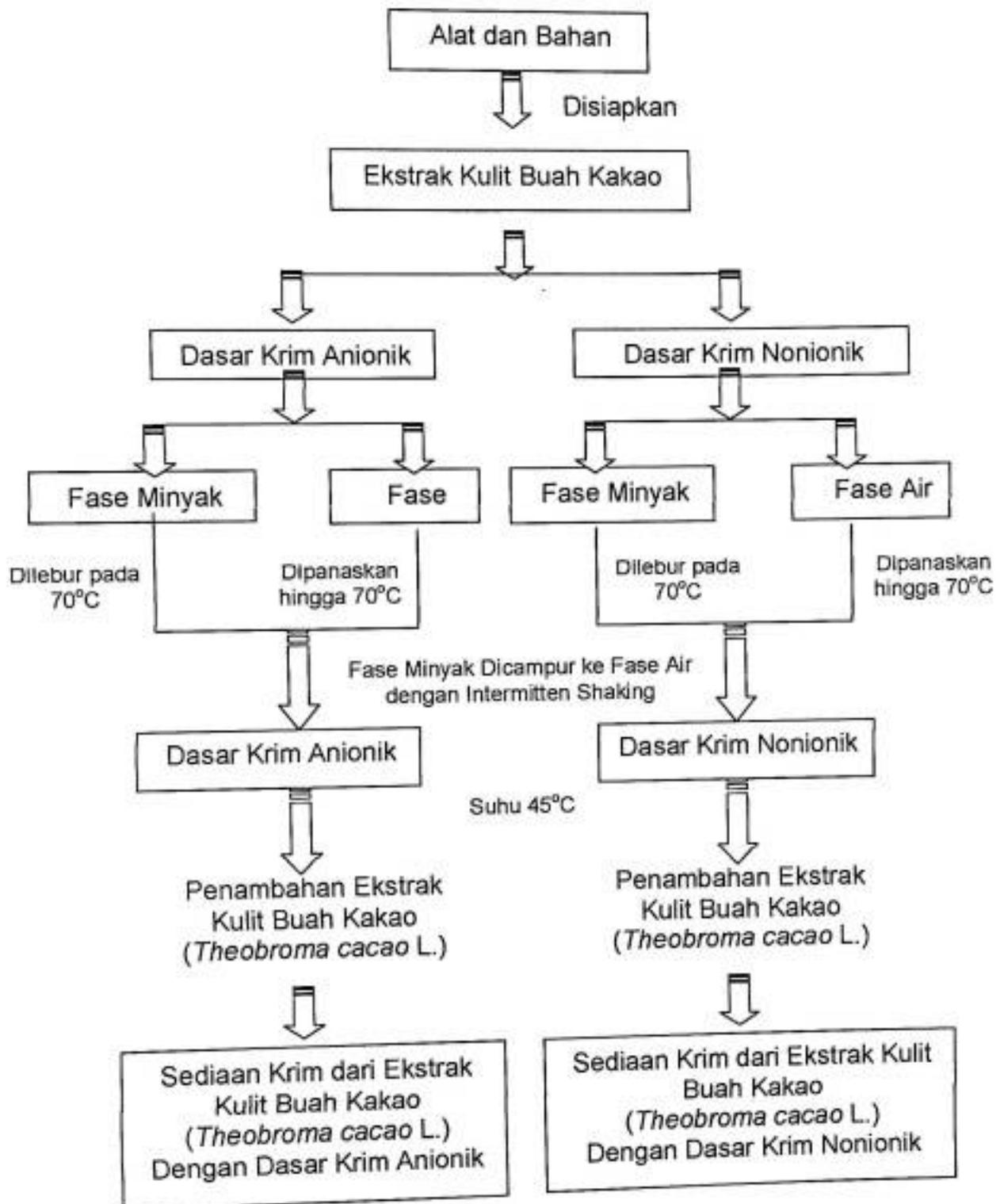
Gambar 18. Buah Kakao

Lampiran A. Skema Kerja

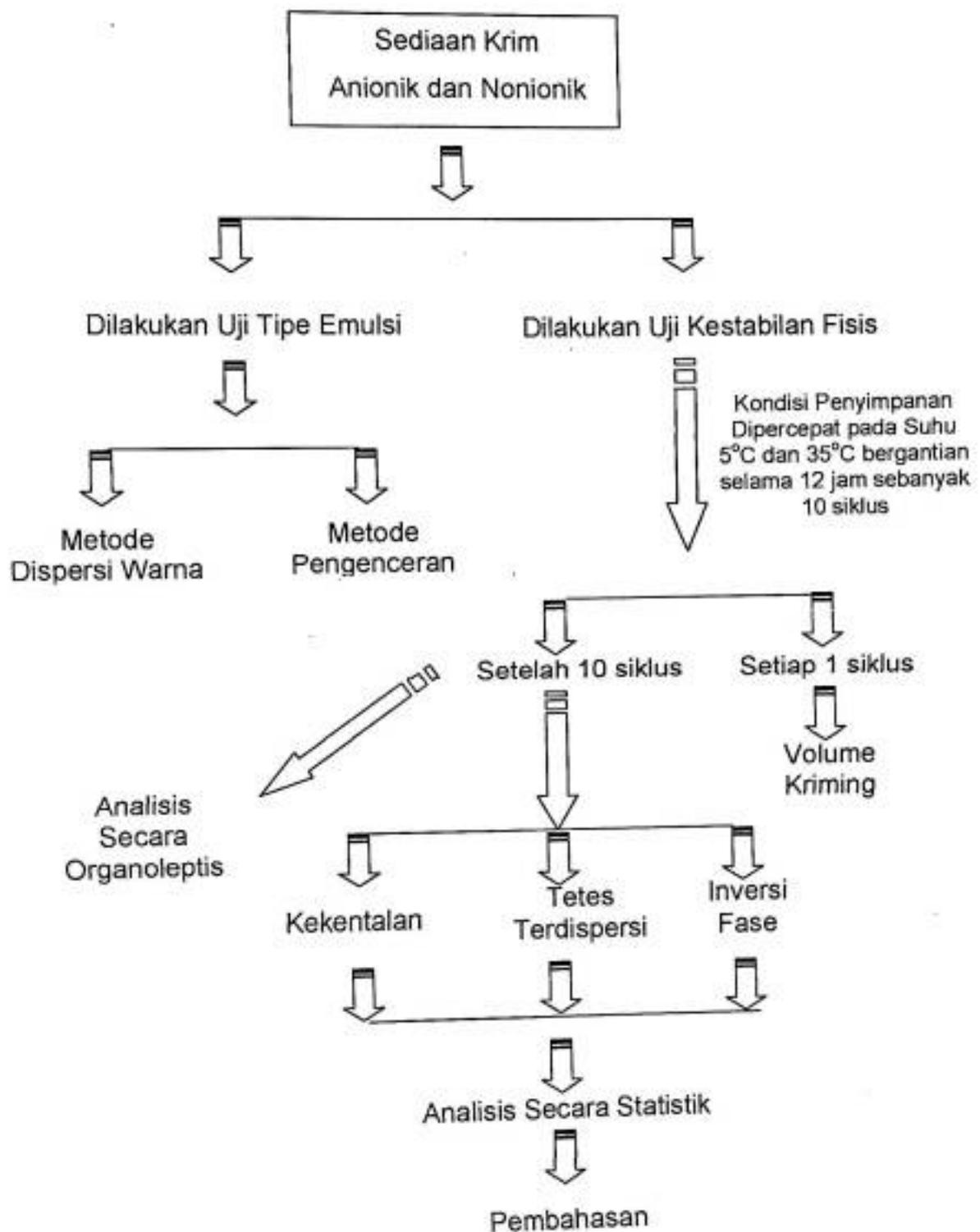
A. Penyiapan Sampel dan Uji Aktivitas Antioksidan



B. Pembuatan Krim



C. Pengujian Tipe Emulsi



Lampiran B. Contoh Perhitungan IC₅₀

Konsentrasi [] (mg/ml)	Log [] (x)	Serapan (A)	Aktivitas Pengikatan Radikal Bebas DPPH (%)	Probit (y)
5	0,699	0,0225	97,31	6,931
2,5	0,398	0,0253	96,97	6,880
1,25	0,097	0,0301	96,40	6,802
0,5	-0,301	0,1533	81,66	5,908
0,25	-0,602	0,1583	81,06	5,884
0,1	-1	0,4319	48,32	4,956
0,01	-2	0,7517	1,00	2,670
Blank			0,8358	

$$y = a + bx$$

$$= 6,3395 + 1,6041x$$

$$R^2 = 0,9348$$

$$x = \frac{5 - 6,3395}{1,6041}$$

$$= -0,8350$$

$$\text{Anti log } x = 0,15 \text{ mg/ml} \sim \text{IC}_{50}$$

Jadi IC₅₀ dari Vitamin C adalah 0,15 mg/ml

Lampiran C. Hasil Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Kulit Buah Kakao yang Digunakan dalam Formulasi Krim Antioksidan

$$[\text{Vit. c dalam Sediaan Topikal}] = 10 \% (5)$$

$$IC_{50} \text{ Vitamin C} = 0,15 \text{ mg/ml}$$

$$IC_{50} \text{ Ekstrak Kulit Buah Kakao} = 0,08 \text{ mg/ml}$$

$$\begin{aligned} \text{Maka, } [\text{ekstrak dalam Sediaan Topikal}] &= \frac{IC_{50} \text{ekstrak}}{IC_{50} \text{Vita min C}} \times [\text{vitamin C}] \\ &= \frac{0,08 \text{mg / ml}}{0,15 \text{mg / ml}} \times 10\% \\ &= 5,33 \% \end{aligned}$$

Lampiran D. Analisis Statistika Kekentalan (Poise) Krim

Kondisi Krim	Sebelum Penyimpanan Dipercepat	Setelah Penyimpanan Dipercepat	Jumlah	Rata-Rata
I	92	152		
	100	160		
Jumlah	92	152		
	284	464	748	124,67
II	80	140		
	88	140		
Jumlah	80	132		
	248	412	660	110
III	52	44		
	48	44		
Jumlah	40	44		
	140	132	272	45,33
IV	96	100		
	96	96		
Jumlah	100	100		
	292	296	588	98
V	64	92		
	56	80		
Jumlah	52	80		
	172	252	424	70,67
VI	44	84		
	40	92		
Jumlah	40	92		
	124	268	392	65,33
Jumlah	1260	1824	3084	
Rata-Rata	70	101,33		

$$\begin{aligned}
 RY &= \frac{J_{\infty}^2}{rkf} \\
 &= \frac{(3084)^2}{3 \times 2 \times 6} = 264.196,00
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Total} &= \sum Y_{ij}^2 - RY \\
 &= (92^2 + 100^2 + \dots + 92^2) - 264.196,00 \\
 &= 306.288 - 264.196 \\
 &= 42.092
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JKF} &= \frac{F_i}{r_k} - RY \\
 &= \frac{(748)^2 + (660)^2 + (272)^2 + (588)^2 + (424)^2 + (392)^2}{3 \times 2} - 264.196 \\
 &= 291.378,67 - 264.196,00 = 27.182,67
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JKK} &= \frac{K_j}{r_f} - RY \\
 &= \frac{(1260)^2 + (1824)^2}{3 \times 6} - 264.196 \\
 &= 273.032 - 264.196 \\
 &= 8.836
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JFK} &= \frac{F_i \cdot K_j}{r} - RY \\
 &= \frac{(284)^2 + (464)^2 + (248)^2 + (412)^2 + (140)^2 + (132)^2}{3} + \\
 &= \frac{(292)^2 + (296)^2 + (172)^2 + (252)^2 + (124)^2 + (268)^2}{3} \\
 &= 305.797,33 - 264.196,00 \\
 &= 41.601,33
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JKFK} &= JJK - JK_{\text{formula}} - JK_{\text{kondisi}} \\
 &= 41.601,33 - 27.182,67 - 8.836,00 = 5.582,66
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 EY &= JK_{tot} - JKF - JKK - JKFK \\
 &= 42.092 - 27.182,67 - 8.836 - 5.582,66 \\
 &= 490,67
 \end{aligned}$$

TABEL ANAVA

Sumber	db	JK	KT	F _{Hitung}	F _{Tabel}	
					5%	1%
Perlakuan :						
✓ Krim	5	27.182,67	5.436,53	265,98**	2,62	3,90
✓ Kondisi	1	8.836	8.836	432,29**	4,26	7,82
Interaksi	5	5.582,66	1.116,53	54,62**	2,62	3,90
Gallat	24	490,67	20,44			
Jumlah	35	42.092				

Ho ditolak pada tingkat kepercayaan 99%.

Uji Jumlah Beda Nyata Duncan

Untuk uji antar-krim dilakukan uji Duncan sebagai berikut :

Db gallat : 24

P	2	3	4	5	6
JN 5%	2,92	3,07	3,15	3,22	3,28
JNT 5%	5,39	5,67	5,81	5,94	6,05
JN 1%	3,96	4,14	4,24	4,33	4,39
JNT 1%	7,31	7,64	7,83	7,99	8,10

JNT diperoleh dengan cara sebagai berikut :

$$\begin{aligned}
 JNT &= JN \times \sqrt{\frac{KTG}{n}} \\
 &= 2,92 \times \sqrt{\frac{20,44}{6}} \\
 &= 5,39
 \end{aligned}$$

Rata-rata krim sebagai berikut :

III	VI	V	IV	II	I
45,33	65,33	70,67	98	110	124,67

Perbandingan antar-krim pada taraf 1 % :

1. I – II, jarak 2, $JNT_2 = 7,31 < 14,67 \longrightarrow$ sangat signifikan
2. I – III, jarak 6, $JNT_6 = 8,10 < 79,34 \longrightarrow$ sangat signifikan
3. I – IV, jarak 3, $JNT_3 = 7,64 < 26,67 \longrightarrow$ sangat signifikan
4. I – V, jarak 4, $JNT_4 = 7,83 < 54 \longrightarrow$ sangat signifikan
5. I – VI, jarak 5, $JNT_5 = 7,99 < 59,34 \longrightarrow$ sangat signifikan
6. II – III, jarak 5, $JNT_5 = 7,99 < 64,67 \longrightarrow$ sangat signifikan
7. II – IV, jarak 2, $JNT_2 = 7,31 < 12 \longrightarrow$ sangat signifikan
8. II – V, jarak 3, $JNT_3 = 7,64 < 39,33 \longrightarrow$ sangat signifikan
9. II – VI, jarak 4, $JNT_4 = 7,83 < 44,67 \longrightarrow$ sangat signifikan
10. III – IV, jarak 4, $JNT_4 = 7,83 < 52,67 \longrightarrow$ sangat signifikan
11. III – V, jarak 3, $JNT_3 = 7,64 < 25,34 \longrightarrow$ sangat signifikan
12. III – VI, jarak 2, $JNT_2 = 7,31 < 20 \longrightarrow$ sangat signifikan
13. IV – V, jarak 2, $JNT_2 = 7,31 < 27,33 \longrightarrow$ sangat signifikan
14. IV – VI, jarak 3, $JNT_3 = 7,64 < 32,67 \longrightarrow$ sangat signifikan
15. V – VI, jarak 2, $JNT_2 = 7,31 > 5,34 \longrightarrow$ non-signifikan

Selengkapnya dapat dilihat pada tabel berikut :

Formula	I	II	III	IV	V	VI
I	-	SS	SS	SS	SS	SS
II	SS	-	SS	SS	SS	SS
III	SS	SS	-	SS	SS	SS
IV	SS	SS	SS	-	SS	NS
V	SS	SS	SS	SS	-	NS
VI	SS	SS	SS	SS	NS	-

Keterangan :

JKF	=	Jumlah kuadrat krim
JKK	=	Jumlah kuadrat kondisi
EY	=	Jumlah kuadrat kekeliruan
Fi	=	Pengaruh aditif taraf ke-i faktor formula krim
Kj	=	Pengaruh aditif taraf ke-j faktor kondisi
JKFK	=	Jumlah kuadrat pengaruh interaksi taraf ke-i faktor formula dan taraf ke-j faktor kondisi
db	=	Derajat Bebas
KT	=	Kuadrat Tengah
JN	=	Jarak Nyata
JNT	=	Jarak Nyata Terkecil
NS	=	Non Signifikan
SS	=	Sangat Signifikan

Lampiran E. Perhitungan Ukuran Rata-Rata Tetes Terdispersi

1. Krim I

Rentangan Ukuran Tetes Terdispersi (pm)	d	Sebelum Kondisi Dipercepat		Setelah Kondisi Dipercepat	
		n	n.d	n	n.d
0 – 15,0	7,50	117	877,5	226	1695
15,1– 30,0	22,55	28	63,14	18	405,9
30,1– 45,0	37,55	3	112,65	3	112,65
45,1– 60,0	52,55	2	105,1	2	105,1
60,1– 75,0	67,55	-	-	1	67,55
Jumlah		250	1.158,39	250	2.386,2

$$RH_1 = \frac{1.158,39}{250} = 4,634$$

$$RH_2 = \frac{2.386,2}{250} = 9,545$$

2. Krim II

Rentangan Ukuran Tetes Terdispersi (pm)	d	Sebelum Kondisi Dipercepat		Setelah Kondisi Dipercepat	
		n	n.d	n	n.d
0 – 15,0	7,50	210	1575	166	1245
15,1– 30,0	22,55	35	789,25	55	1240,25
30,1– 45,0	37,55	3	112,65	27	1013,85
45,1– 60,0	52,55	2	105,1	2	105,1
60,1– 75,0	67,55	-	-	-	-
Jumlah		250	2.582	250	3.604,2

$$RH_1 = \frac{2.582}{250} = 10,328$$

$$RH_2 = \frac{3.604,2}{250} = 14,417$$

3. Krim III

Rentangan Ukuran Tetes Terdispersi (μm)	d	Sebelum Kondisi Dipercepat		Setelah Kondisi Dipercepat	
		n	n.d	n	n.d
0 – 15,0	7,50	218	1635	170	1275
15,1– 30,0	22,55	28	631,4	60	1353
30,1– 45,0	37,55	4	150,2	1	37,55
45,1– 60,0	52,55	-	-	15	788,25
60,1– 75,0	67,55	-	-	4	270,2
Jumlah		250	2.416,6	250	3.724

$$RH_1 = \frac{2.416,6}{250} = 9,666$$

$$RH_2 = \frac{3.724}{250} = 14,896$$

4. Krim IV

Rentangan Ukuran Tetes Terdispersi (μm)	d	Sebelum Kondisi Dipercepat		Setelah Kondisi Dipercepat	
		n	n.d	n	n.d
0 – 15,0	7,50	218	1.635	208	1560
15,1– 30,0	22,55	25	563,75	23	518,65
30,1– 45,0	37,55	4	150,2	18	675,9
45,1– 60,0	52,55	3	157,65	1	52,55
60,1– 75,0	67,55	-	-	-	-
Jumlah		250	2.506,6	250	2.807,1

$$RH_1 = \frac{2.506,6}{250} = 10,026$$

$$RH_2 = \frac{2.807,1}{250} = 11,228$$

5. Krim V

Rentangan Ukuran Tetes Terdispersi (μm)	d	Sebelum Kondisi Dipercepat		Setelah Kondisi Dipercepat	
		n	n.d	n	n.d
0 – 15,0	7,50	188	1410	88	660
15,1– 30,0	22,55	37	834,35	110	2480,5
30,1– 45,0	37,55	20	751	30	1126,5
45,1– 60,0	52,55	4	210,2	20	1051
60,1– 75,0	67,55	1	67,55	2	135,1
Jumlah		250	3.273,1	250	5.453,1

$$RH_1 = \frac{3.273,1}{250} = 13,092$$

$$RH_2 = \frac{5.453,1}{250} = 21,812$$

6. Krim IV

Rentangan Ukuran Tetes Terdispersi (μm)	d	Sebelum Kondisi Dipercepat		Setelah Kondisi Dipercepat	
		n	n.d	n	n.d
0 – 15,0	7,50	192	1440	175	1312,5
15,1– 30,0	22,55	32	721,6	50	1127,5
30,1– 45,0	37,55	18	675,9	15	563,25
45,1– 60,0	52,55	8	420,4	6	315,3
60,1– 75,0	67,55	-	-	4	270,2
Jumlah		250	3.257,9	250	3.588,75

$$RH_1 = \frac{3.257,9}{250} = 13,032$$

$$RH_2 = \frac{3.588,75}{250} = 14,355$$

Keterangan :

- d = simpangan rentang ukuran tetes terdispersi
n = jumlah tetes terdispersi
 RH_1 = rata-rata tetes terdispersi sebelum penyimpanan dipercepat
 RH_2 = rata-rata tetes terdispersi setelah penyimpanan dipercepat

Lampiran F. Analisis Statistik Ukuran Tetes Terdispersi Krim

Kondisi Krim	P ₀	P ₁	Jumlah	Rata-Rata
I	4,63	9,54	14,17	7,08
II	10,33	14,42	24,75	12,38
III	9,67	14,90	24,57	12,28
IV	10,03	11,23	21,26	10,63
V	13,09	21,81	34,90	17,45
VI	13,03	14,36	27,39	13,70
Jumlah	60,78	86,26	147,04	
Rata-Rata	10,13	14,38		

$$\begin{aligned}
 RY &= \frac{J_{00}^2}{rkf} \\
 &= \frac{(147,04)^2}{1 \times 2 \times 6} = 1.801,73
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Total} &= \sum Y_y^2 - RY \\
 &= (4,63^2 + 9,54^2 + \dots + 14,36^2) - 1.801,73 \\
 &= 1.992,34 - 1.801,73 \\
 &= 190,61
 \end{aligned}$$

$$JKF = \frac{F_i}{rk} - RY$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{(14,17)^2 + (24,75)^2 + (24,57)^2 + (21,26)^2 + (34,90)^2 + (27,39)^2}{1 \times 2} - 1.801,73 \\
 &= 1.918,62 - 1.801,73 \\
 &= 116,90
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 JKK &= \frac{Kj}{rf} - RY \\
 &= \frac{(60,78)^2 + (86,26)^2}{1 \times 6} - 1.801,73 \\
 &= 1.855,83 - 1.081,73 \\
 &= 54,10
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 EY &= JK_{tot} - JK_F - JKK \\
 &= 190,61 - 116,90 - 54,10 \\
 &= 19,61
 \end{aligned}$$

TABEL ANAVA

Sumber	db	JK	KT	F _{hitung}	F _{Tabel}	
					5%	1%
Perlakuan :						
✓ Krim	5	116,90	23,38	5,96*	5,05	10,97
✓ Kondisi	1	54,10	54,10	13,80*	6,61	16,26
Gallat	5	19,61	3,92			
Jumlah	11	190,61				

Ho ditolak pada tingkat kepercayaan 95%.

Uji Jumlah Beda Nyata Duncan

Untuk uji antar-krim dilakukan uji Duncan sebagai berikut :

Db gallat : 5

P	2	3	4	5	6
JN 5%	3,64	3,74	3,79	3,83	3,83
JNT 5%	2,94	3,02	3,06	3,10	3,10
JN 1%	5,70	5,96	6,11	6,18	6,26
JNT 1%	4,61	4,82	4,94	4,99	5,06

JNT diperoleh dengan cara sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{JNT} &= JN \times \sqrt{\frac{KTG}{n}} \\ &= 3,64 \times \sqrt{\frac{3,92}{6}} \\ &= 2,94 \end{aligned}$$

Rata-rata krim sebagai berikut :

I	IV	III	II	VI	V
7,08	10,63	12,28	12,38	13,70	17,45

Perbandingan antar-krim pada taraf 1 % :

1. I – II, jarak 4, $JNT_4 = 4,94 < 5,30 \longrightarrow$ sangat signifikan
2. I – III, jarak 3, $JNT_3 = 4,82 < 5,20 \longrightarrow$ sangat signifikan
3. I – IV, jarak 2, $JNT_2 = 4,61 > 3,55 \longrightarrow$ non-signifikan
4. I – V, jarak 6, $JNT_6 = 5,06 < 10,37 \longrightarrow$ sangat signifikan
5. I – VI, jarak 5, $JNT_5 = 4,99 < 6,62 \longrightarrow$ sangat signifikan
6. II – III, jarak 2, $JNT_2 = 4,61 > 0,10 \longrightarrow$ non-signifikan
7. II – IV, jarak 3, $JNT_3 = 4,82 > 1,75 \longrightarrow$ non-signifikan
8. II – V, jarak 3, $JNT_3 = 4,82 < 5,07 \longrightarrow$ sangat signifikan
9. II – VI, jarak 2, $JNT_2 = 4,61 > 1,32 \longrightarrow$ non-signifikan
10. III – IV, jarak 2, $JNT_2 = 4,61 > 1,65 \longrightarrow$ non-signifikan
11. III – V, jarak 4, $JNT_4 = 4,94 < 5,17 \longrightarrow$ sangat signifikan
12. III – VI, jarak 3, $JNT_3 = 4,82 > 1,42 \longrightarrow$ non-signifikan
13. IV – V, jarak 5, $JNT_5 = 4,99 < 6,82 \longrightarrow$ sangat signifikan
14. IV – VI, jarak 4, $JNT_4 = 4,94 > 3,07 \longrightarrow$ non-signifikan
15. V – VI, jarak 2, $JNT_2 = 4,61 > 3,75 \longrightarrow$ non-signifikan

Selengkapnya dapat dilihat pada tabel berikut :

Formula	I	II	III	IV	V	VI
I	-	SS	SS	NS	SS	SS
II	SS	-	NS	NS	SS	NS
III	SS	NS	-	NS	SS	NS
IV	NS	NS	NS	-	SS	NS
V	SS	SS	SS	SS	-	NS
VI	SS	NS	NS	NS	NS	-

Keterangan :

- JKF = Jumlah kuadrat krim
- JKK = Jumlah kuadrat kondisi
- EY = Jumlah kuadrat kekeliruan
- Fi = Pengaruh aditif taraf ke-i faktor formula krim
- Kj = Pengaruh aditif taraf ke-j faktor kondisi
- JKFK = Jumlah kuadrat pengaruh interaksi taraf ke-i faktor formula dan taraf ke-j faktor kondisi
- db = Derajat Bebas
- KT = Kuadrat Tengah
- JN = Jarak Nyata
- JNT = Jarak Nyata Terkecil
- NS = Non Signifikan
- SS = Sangat Signifikan

Lampiran G. Perhitungan Konsentrasi Emulgator Nonionik yang Digunakan

Fase Minyak	(% b/b)	A (% fase minyak)	B (HLB butuh)	A X B
Asam stearat	6	0,54	15	8,18
Setil Alkohol	3	0,27	13	3,54
Lanolin anhidrat	2	0,18	10	<u>1,82</u> +
				13,54

Jadi HLB butuh minyak dari krim sebanyak 200 gram = 13,35

HLB tween 60 = 15 ; HLB span 60 = 4,3

$$\% \text{ tween 60} = \frac{13,35 - 4,3}{15 - 4,3} \times 100\%$$

$$= 84,58 \%$$

$$\% \text{ span 60} = 100 \% - 84,58 \%$$

$$= 15,42 \%$$

1. Untuk krim IV dengan konsentrasi 3 %

$$3 \% \times 200 \text{ gram} = 6 \text{ gram}$$

$$\text{Tween 60} = 84,58 \% \times 6 \text{ g} = 5,07 \text{ g}$$

$$\text{Span 60} = 15,42 \% \times 6 \text{ g} = 0,93 \text{ g}$$

2. Untuk krim V dengan konsentrasi 4 %

$$4 \% \times 200 \text{ gram} = 8 \text{ gram}$$

$$\text{Tween 60} = 84,58 \% \times 8 \text{ g} = 6,77 \text{ g}$$

$$\text{Span 60} = 15,42 \% \times 8 \text{ g} = 1,23 \text{ g}$$

3. Untuk krim VI dengan konsentrasi 5 %

$$5 \% \times 200 \text{ gram} = 10 \text{ gram}$$

$$\text{Tween 60} = 84,58 \% \times 10 \text{ g} = 8,46 \text{ g}$$

$$\text{Span 60} = 15,42 \% \times 10 \text{ g} = 1,54 \text{ g}$$