

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Kulit adalah bagian tubuh yang berfungsi sebagai pelindung dari berbagai faktor eksternal karena lapisan ini menutupi seluruh permukaan tubuh manusia. Oleh karena itu, kesehatan kulit menjadi fokus utama bagi semua kalangan, termasuk orang dewasa dan remaja (Sari, 2015). Namun, kerusakan kulit sering terjadi akibat radikal bebas dari paparan sinar ultraviolet (UV) matahari. Beberapa masalah kulit yang dapat timbul meliputi perubahan warna kulit, hiperpigmentasi, kemerahan, kulit terbakar, hilangnya elastisitas, timbulnya kerutan, hingga risiko kanker kulit (Isfardiyana & Safitri, 2014).

Berdasarkan jumlah kasus kerusakan kulit akibat hiperpigmentasi pada kalangan perempuan di Asia Tenggara mencapai 40% dan sebanyak 55,12% kasus hiperpigmentasi yang diperparah karena paparan sinar matahari (Setyawati et al., 2019). Kondisi ini diperburuk karena iklim tropis di Indonesia yang menyebabkan radikal bebas terus meningkatkan sintesis melanin dan memicu terjadinya hiperpigmentasi. Melanin adalah senyawa yang diproduksi oleh sel melanosit dengan bantuan enzim tirosinase. Selain memberi warna pada kulit, melanin juga berperan dalam melindungi kulit dari radikal bebas, sinar UV, stres oksidatif, dan kerusakan DNA (Mustika et al., 2020).

Radikal bebas adalah senyawa dengan elektron tidak berpasangan yang sangat reaktif sehingga dapat menyebabkan kerusakan dalam tubuh, termasuk kulit (Sari, 2015). Radikal bebas terbentuk karena kondisi stres oksidatif akibat peningkatan konsentrasi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang tidak seimbang dengan jumlah antioksidan (Yusharyahya, 2021). Pada dasarnya, kulit memiliki mekanisme pertahanan antioksidan untuk mengatasi radikal bebas (ROS). Namun, paparan sinar UV yang terlalu besar ini menyebabkan kebutuhan akan antioksidan dari luar dan agen inhibitor tirosinase dalam mencegah peningkatan produksi melanin akibat radiasi sinar UV (Himawan et al., 2016; Mustika et al., 2020).

Saat ini, produk kosmetik yang banyak beredar di masyarakat umumnya mengandung bahan kimia sintetis dibandingkan produk bahan alam (Cahaya & Fitri, 2020). Namun, ekstrak tanaman kini semakin menarik minat pasar karena meningkatnya permintaan konsumen terhadap produk kosmetik alternatif yang menggunakan bahan-bahan alami (Putri et al., 2022). Oleh karena itu, perlu dikembangkan suatu produk kosmetik berbahan alami seperti ekstrak bunga kembang sepatu dan daun pacar kuku yang dapat membantu menjaga kesehatan



aan dini, dan melindungi kulit dari radikal bebas (Anggita et al., kuku (*Lawsonia inermis* L.) diketahui berpotensi sebagai dengan kandungan fenol dan flavonoid sebagai komponen diketahui memiliki gugus hidroksil (Herwin et al., 2022; Djarami diketahui bahwa ekstrak tanaman ini mengandung senyawa

berupa asam *p-coumaric*, *2-methoxy-3-methyl-1,4-naphthoquinone*, *apiin*, *lawsone*, *apigenin*, *luteolin*, dan *cosmosiin* yang diketahui berperan sebagai agen antioksidan (Mikhaeil et al., 2015). Berdasarkan penelitian yang dilaporkan oleh Kumar et al., (2014), daun pacar kuku memiliki nilai IC_{50} sebesar 44,96 $\mu\text{g/mL}$ dengan kategori aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Selain itu, berdasarkan penelitian yang dilaporkan oleh Gholamhoseinian & Razmi, (2012) menunjukkan bahwa ekstrak daun pacar kuku dapat menghambat enzim tirosinase sebesar 65% dari konsentrasi 1.040 ppm.

Tanaman bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) diketahui memiliki aktivitas inhibitor tirosinase (Garg et al., 2012). Senyawa yang berperan sebagai agen inhibitor tirosinase yaitu polifenol dan flavonoid (Amin et al., 2024). Berdasarkan penelitian yang dilaporkan oleh Wong et al., (2010) diketahui bahwa tanaman ini memiliki aktivitas anti tirosinase dengan nilai % inhibisi sebesar 11% dari konsentrasi ekstrak 500 $\mu\text{g/mL}$. Selain itu, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Munira et al., (2024) menunjukkan bahwa ekstrak bunga kembang sepatu juga memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} yaitu 3,56 ppm. Berdasarkan data tersebut, kombinasi antara ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) dan bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) berpotensi sebagai bahan aktif dalam formulasi sediaan serum.

Serum adalah sediaan kosmetik yang dapat memberikan efek dengan pengaplikasian dalam jumlah kecil. Hal ini karena serum mengandung bahan aktif dengan konsentrasi tinggi dan viskositas rendah, sehingga dapat diserap oleh kulit dengan baik. Kemampuan penetrasi yang baik ini menjadikan serum lebih efektif dalam mengatasi berbagai masalah kulit (Bui & Mittal, 2021). Kualitas dan stabilitas serum sangat bergantung pada basisnya, dan karbopol 940 dipilih sebagai basis hidrofilik karena stabilitasnya yang baik, kemampuan mengikat air dengan cepat, dan tidak mengiritasi kulit (Bakri et al., 2023). Pemilihan konsentrasi karbopol 940 sebagai *gelling agent* dapat mempengaruhi karakteristik fisik dan stabilitas dari sediaan serum (Bainunniza et al., 2024).

Sehingga, penelitian ini berfokus pada formulasi dan evaluasi stabilitas fisik dari sediaan serum kombinasi ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) dan bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) menggunakan variasi konsentrasi karbopol 940 yang diawali dengan uji antioksidan dan inhibitor tirosinase.

I.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antioksidan dari berbagai perbandingan kombinasi ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) dan ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) dengan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) sebagai inhibitor tirosinase dari berbagai perbandingan kombinasi ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) dan ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) dengan metode dopakrom ?



3. Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi karbopol 940 terhadap stabilitas fisik sediaan serum kombinasi ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) dan ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) ?

I.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari berbagai perbandingan kombinasi ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) dan ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) dengan menggunakan metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl).
2. Untuk mengetahui aktivitas inhibitor tirosinase dari berbagai perbandingan kombinasi ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) dan ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) dengan metode dopakrom.
3. Untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi karbopol 940 terhadap stabilitas fisik sediaan serum kombinasi ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) dan ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.).



BAB II

METODE PENELITIAN

II.1 Alat dan Bahan

II.1.1 Alat

Dalam penelitian ini, alat-alat yang digunakan antara lain: *96-well microplate* (IWAKI®), alat maserasi, *aluminium foil*, cawan porselen, *homogenizer* (Turrax®), jangka sorong, *microplate reader* (ELISA) (Biotek®), mikropipet (DragonLab®), *object glass*, oven (Mettler®), pH meter (Horiba®), plat kaca, *rotary evaporator* (Buchi®), seperangkat alat gelas (Pyrex®), timbangan analitik (Ohaus®), viskometer LV (Brookfield®), *water bath* (Mettler®).

II.1.2 Bahan

Dalam penelitian ini, bahan-bahan yang digunakan antara lain: *2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) (Sigma-Aldrich®), *L-3,4-dihydroxyphenylalanine* (Sigma-Aldrich®), akuades (Waterone™), asam askorbat (Sigma-Aldrich®), asam kojat (Sigma-Aldrich®), bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.), *dinatrium ethylene diamine tetraacetic* (Na₂EDTA), daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.), dimetil sulfoksida (DMSO), *disodium hydrogen phosphate* (Na₂HPO₄), DMDM Hydantoin, etanol 70%, etanol pro analisis (PA) 96%, *fragrance*, gliserin, karbopol 940 (Acrypol®), propilen glikol, *sodium dihydrogen phosphate* (NaH₂PO₄), trietanolamin (TEA), dan *tyrosinase from mushroom* (Sigma-Aldrich®).

II.2 Metode Kerja

II.2.1 Pembuatan simplisia

II.2.1.1 Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.)

Sampel bunga kembang sepatu segar diperoleh dari Kabupaten Bone, Sulawesi Selatan. Preparasi dilakukan dengan mengumpulkan bunga kembang sepatu sebanyak 3,1 kg. Kembang sepatu dibersihkan dengan air mengalir dan dipotong kecil-kecil dengan tujuan untuk memperluas area permukaan. Sampel dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40°C, hingga kering dan dilakukan sortasi (Kemenkes RI, 2017).

II.2.1.2 Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.)

Sampel daun pacar kuku segar diperoleh dari Kabupaten Bone, Sulawesi Selatan. Preparasi dilakukan dengan mengumpulkan daun pacar kuku sebanyak 2,5 kg. Daun pacar kuku dibersihkan dengan air mengalir dan ditiriskan. Kemudian dipotong kecil-kecil untuk memperluas area permukaan. Lalu dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40°C, hingga kering dan dilakukan sortasi (Kemenkes RI, 2017).



II.2.1.2 Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.)

Sampel daun pacar kuku segar diperoleh dari Kabupaten Bone, Sulawesi Selatan. Preparasi dilakukan dengan mengumpulkan daun pacar kuku sebanyak 2,5 kg. Daun pacar kuku dibersihkan dengan air mengalir dan ditiriskan. Kemudian dipotong kecil-kecil untuk memperluas area permukaan. Lalu dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40°C, hingga kering dan dilakukan sortasi (Kemenkes RI, 2017).

Sampel bunga kembang sepatu segar diperoleh dari Kabupaten Bone, Sulawesi Selatan. Preparasi dilakukan dengan mengumpulkan bunga kembang sepatu sebanyak 3,1 kg. Kembang sepatu dibersihkan dengan air mengalir dan dipotong kecil-kecil dengan tujuan untuk memperluas area permukaan. Sampel dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40°C, hingga kering dan dilakukan sortasi (Kemenkes RI, 2017).

menggunakan 5 Liter etanol 70% (Perbandingan 1:10). Proses ekstraksi dilakukan selama 3 x 24 jam. Lalu, dilakukan pemisahan maserat dengan metode filtrasi menggunakan kertas saring. Dilakukan remaserasi dengan etanol 70% sebanyak 2,5 Liter. Hasil maserat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C dan tekanan 175 mbar. Kemudian ekstrak kental yang diperoleh diuapkan di atas *water bath* dan dimasukkan ke dalam desikator hingga seluruh pelarut menguap serta dilakukan perhitungan persen rendemen (Kemenkes RI, 2017).

Perhitungan :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

II.2.2.2 Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.)

Dilakukan proses maserasi pada ruangan yang tidak terpapar sinar matahari secara langsung. Diambil sebanyak 500 g daun pacar kuku dan dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 5 Liter (Perbandingan 1:10) antara sampel dan pelarut, selama 3 x 24 jam. Sampel hasil maserasi disaring dan di remaserasi kembali dengan 2,5 Liter etanol 70%. Lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan tekanan 175 mbar. Ekstrak yang diperoleh kemudian diletakkan diatas *water bath* hingga seluruh pelarut menguap dan dimasukkan ke dalam desikator serta dilakukan perhitung persen rendemennya (Kemenkes RI, 2017).

Perhitungan :

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

II.2.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

II.2.3.1 Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Bunga Kembang Sepatu

Ditimbang sebanyak 10 mg sampel ekstrak bunga kembang sepatu. Dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL, dilarutkan, dan dicukupkan dengan etanol PA 96% hingga tanda batas. Sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm.

II.2.3.2 Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Daun Pacar Kuku

Ditimbang sebanyak 10 mg sampel ekstrak daun pacar kuku. Dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL, dilarutkan, dan dicukupkan dengan etanol PA 96% hingga tanda batas. Sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1000 ppm.

II.2.3.3 Pembuatan Larutan Stok Kombinasi DPK-BKS

Ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa sinensis* L.) dan ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* L.) masing-masing ditimbang dengan total bobot yaitu 10 mg. Larutan stok kombinasi ekstrak dibuat dalam 5 variasi perbandingan yaitu 1:1,

(DPK-BKS). Kemudian dilarutkan dalam labu tentukur 10 mL % hingga tanda batas dan dihomogenkan. Sehingga diperoleh si 1000 ppm.



II.2.3.4 Pembuatan Larutan Stok DPPH 0,4 mM

Ditimbang DPPH sebanyak 3,9 mg dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 mL. Kemudian dilarutkan dengan etanol PA 96% hingga tanda batas dan dihomogenkan, sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 0,4 mM.

II.2.3.5 Pembuatan Larutan Stok Asam Askorbat

Ditimbang asam askorbat sebanyak 10 mg dan dilarutkan dengan pelarut etanol PA 96% dalam labu tentukur 10 mL, sehingga diperoleh konsentrasi asam askorbat 1000 ppm. Larutan kemudian dicuplik sebanyak 1 mL ke dalam labu tentukur 10 mL dan dicukupkan dengan etanol PA 96% hingga tanda batas. Larutan dihomogenkan, sehingga diperoleh larutan asam askorbat 100 ppm.

II.2.3.6 Pengukuran Kadar % Inhibisi dan Nilai IC₅₀

Dilakukan pengukuran % inhibisi dengan menggunakan *well microplate reader* pada panjang gelombang 516 nm. Plat ini memiliki 96 sumuran yang terdiri atas 8 baris (A-H) dan 12 kolom (1-12). Secara berurutan pada kolom 1-12 menunjukkan variasi perbandingan kedua ekstrak yaitu 1:0, 0:1, 1:1, 1:2, 2:1, 1:3, 3:1, asam askorbat, dan blanko yang dibuat dalam 3 replikasi.

Pengukuran % inhibisi, larutan stok standar asam askorbat dicuplik sebanyak 2,4,6,8, dan 10 µL dari stok asam askorbat 100 ppm. Dimasukkan ke dalam *well microplate* dan ditambahkan 90 µL larutan stok DPPH dan dicukupkan dengan etanol PA 96% hingga 200 µL. Sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm. Larutan stok masing-masing ekstrak dicuplik sebanyak 5, 10, 15, 20, dan 25 µL dari masing-masing stok 1000 ppm. Dimasukkan ke dalam *well microplate* dan ditambahkan 90 µL larutan stok DPPH dan dicukupkan dengan etanol PA 96% hingga 200 µL. Sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 25, 50, 75, 100, dan 125 ppm (Blois, 1958).

Dibuat blanko dengan mencuplik sebanyak 90 µL larutan stok DPPH dan dicukupkan dengan etanol PA 96% hingga 200 µL dalam *well microplate*. Seluruh larutan dibuat sebanyak 3 replikasi, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada tempat gelap. Larutan diukur pada panjang gelombang 516 nm (Blois, 1958).

Nilai % inhibisi dan IC₅₀ ditentukan menggunakan aplikasi *Microsoft Excell*. Dilakukan perhitungan % inhibisi dari masing-masing larutan berdasarkan hasil absorbansi yang didapatkan. Kemudian dilakukan penentuan nilai IC₅₀ dari persamaan regresi linear $y = ax + b$ yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel uji ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu x) dengan % aktivitas penangkapan radikal bebas (antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu y). Rumus yang dapat digunakan yaitu :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\text{IC}_{50} (\mu\text{g/mL}) = \frac{50 - b}{a}$$



II.2.4 Uji Aktivitas Inhibitor Tirosinase (Hachiya et al., 1989)

II.2.4.1 Pembuatan Larutan Stok Buffer Fosfat 0,05 M pH 6,5

Sebanyak 1,251 g NaH_2PO_4 dan 0,295 g Na_2HPO_4 ditimbang dan dilarutkan ke dalam 250 mL akuades. Lalu dilakukan pengukuran pH dengan pH meter.

II.2.4.2 Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Bunga Kembang Sepatu

Ditimbang sebanyak 50 mg ekstrak bunga kembang sepatu, dilarutkan dengan sedikit buffer fosfat. Kemudian, dicukupkan dengan buffer fosfat hingga tanda batas, pada labu tentukur 50 mL. Sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm.

II.2.4.3 Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Daun Pacar Kuku

Ditimbang sebanyak 50 mg sampel ekstrak daun pacar kuku, dilarutkan dengan sedikit buffer fosfat. Kemudian, dicukupkan dengan buffer fosfat hingga tanda batas, pada labu tentukur 50 mL. Sehingga diperoleh konsentrasi 1000 ppm.

II.2.4.4 Pembuatan Larutan Stok Asam Kojat

Sebanyak 1 mg asam kojat ditimbang dan dilarutkan dengan buffer fosfat hingga tanda batas, pada labu tentukur 10 mL. Sehingga diperoleh konsentrasi asam kojat 100 ppm.

II.2.4.5 Pembuatan Larutan Stok Substrat L-DOPA 2 mM

Sebanyak 9,8 mg L-DOPA ditimbang, masukkan ke dalam labu tentukur 25 mL, dilarutkan, dan dicukupkan dengan buffer fosfat hingga tanda batas. Sehingga diperoleh larutan L-DOPA dengan konsentrasi 2 mM.

II.2.4.6 Pembuatan Larutan Stok Enzim Tirosinase 333 Unit/mL

Serbuk enzim tirosinase 7164 unit/mg ditimbang sebanyak 1 mg dan dilarutkan dengan 10 mL dapar fosfat pH 6,5, sehingga diperoleh konsentrasi enzim sebesar 716,4 unit/mL. Cuplik larutan sebanyak 4,648 mL dan masukkan ke dalam labu tentukur 10 mL, kemudian cukupkan dengan buffer fosfat pH 6,5 hingga tanda batas. Sehingga diperoleh konsentrasi 333 unit/mL.

II.2.4.7 Pembuatan Variasi Konsentrasi

Dibuat larutan ekstrak DPK, BKS, dan lima kombinasi ekstrak DPK-BKS dalam konsentrasi 50, 200, 350, dan 650 ppm di dalam *microtube* 1,5 mL. Larutan stok ekstrak DPK dan BKS dicuplik dengan perbandingan 1:0, 0:1, 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, dan 3:1 hingga diperoleh total volume yaitu 50, 200, 350, 500, dan 650 μL , kemudian dicukupkan dengan buffer fosfat hingga 1 mL. Sehingga diperoleh 35 *microtube* yang berisi 7 perbandingan kombinasi ekstrak dengan masing-masing 5 variasi konsentrasi. Adapun untuk larutan asam kojat sebagai standar dibuat dalam konsentrasi 15, 30, 45, 60, dan 75 ppm dalam *microtube*. Larutan stok asam kojat dicuplik masing-masing sebanyak 150, 300, 450, 600, dan 750 μL , kemudian dicukupkan dengan buffer fosfat hingga 1 mL.



Kadar % Inhibisi dan Nilai IC_{50}

n % inhibisi dengan menggunakan *well microplate reader* pada 475 nm. Plat ini memiliki 96 sumuran yang terdiri atas 8 baris (1-12). Secara berurutan pada kolom 1-12 menunjukkan variasi ekstrak yaitu 1:0, 0:1, 1:1, 1:2, 2:1, 1:3, 3:1, asam kojat, dan dalam 3 replikasi.

Larutan dari setiap variasi konsentrasi sampel dan standar asam kojat dicuplik sebanyak 70 μ L dan dimasukkan ke dalam *well microplate*. Adapun untuk blanko dicuplik buffer fosfat pH 6,5 sebanyak 70 μ L. Kemudian, setiap *well* ditambahkan sebanyak 110 μ L L-DOPA dan dilanjutkan dengan penambahan 30 μ L enzim tirosinase. Semua larutan dalam *well* diinkubasi selama 5 menit, lalu ditambahkan 40 μ L DMSO 2,45 M sebagai *stop solution* yang berperan untuk menghentikan reaksi. Kemudian, dilakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 475 nm (Hachiya et al., 1989).

Dilakukan perhitungan % inhibisi dari masing-masing larutan berdasarkan hasil absorbansi yang didapatkan menggunakan aplikasi *Microsoft Excel* dan *Graphpad prism 9*. Rumus yang dapat digunakan untuk menentukan % inhibisi yaitu :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Kemudian, dilakukan penentuan nilai IC_{50} dengan cara sampel terlebih dahulu ditransformasi ke dalam bentuk logaritma, kemudian data yang diperoleh dinormalisasi. Data normalisasi logaritma yang diperoleh dari variasi konsentrasi dan % inhibisi dianalisis dengan *non-linear regression* pada aplikasi *Graphpad prism 9* sehingga diperoleh nilai IC_{50} sampel.

II.2.5 Formulasi Sediaan Serum

II.2.5.1 Rancangan Formulasi Serum

Tabel 1. Rancangan formula serum kombinasi ekstrak Daun Pacar Kuku dan Bunga Kembang Sepatu

Komposisi	Kegunaan	Formula (%b/v)			
		F0	F1	F2	F3
Ekstrak daun pacar kuku	Zat aktif	-	0,25	0,25	0,25
Ekstrak bunga kembang sepatu	Zat aktif	-	0,75	0,75	0,75
Karbopol 940	Basis serum	0,5	0,4	0,5	0,6
TEA	<i>Alkalizing agent</i>	0,27	0,38	0,48	0,6
Propilen glikol	<i>Enhancer</i>	10	10	10	10
Gliserin	Humektan	5	5	5	5
Na ₂ EDTA	Penghelat	0,01	0,01	0,01	0,01
DMDM Hydantoin	Pengawet	0,3	0,3	0,3	0,3
<i>Fragrance</i>	Parfum	0,001	0,001	0,001	0,001
^A	Buffer	1	1	1	1
	Pembawa	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100



II.2.5.2 Pembuatan Serum

Pembuatan serum dimulai dengan mendispersikan karbopol 940 ke dalam akuades, lalu dihidrasi selama 1 hari. Setelah proses hidrasi selesai, TEA ditambahkan sedikit demi sedikit dan dihomogenkan dengan homogenizer hingga terbentuk massa gel. Secara terpisah, larutkan ekstrak bunga kembang sepatu dan daun pacar kuku ke dalam propilen glikol dan gliserin, lalu masukkan ke dalam campuran basis. Tambahkan DMDM Hydantoin dan Na₂EDTA ke dalam campuran dan dihomogenkan. Terakhir, tambahkan *fragrance scandalous* dan buffer fosfat pH 5,5. Campuran serum kemudian dihomogenkan dengan homogenizer (Garg et al., 2002).

II.2.6 Evaluasi Stabilitas Fisik Serum

II.2.6.1 Uji Organoleptis

Uji organoleptis dievaluasi berdasarkan aspek visual meliputi warna sediaan, bau, dan tekstur dari sediaan serum (Kemenkes RI, 2020).

II.2.6.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan mengoleskan 1 g sediaan serum diatas kaca bening secara merata. Sampel uji harus menunjukkan hasil yang homogen dan bebas dari butiran partikel yang masih menggumpal (Kemenkes RI, 2020; Garg et al., 2002).

II.2.6.3 Uji pH

Uji pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. Terlebih dahulu alat dikalibrasi menggunakan buffer fosfat pH 7. Kemudian dimasukkan pH meter ke dalam sediaan serum dan diamati hasilnya. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali dan dihitung rata-ratanya. Sediaan serum harus memenuhi syarat pH kulit yaitu antara 4,5 – 6,5 (Kemenkes RI, 2020; Garg et al., 2002).

II.2.6.4 Uji Viskositas

Uji viskositas ditentukan dengan menggunakan alat viskometer Brookfield LV. Pengujian viskositas dilakukan dengan menggunakan spindle 4 dengan kecepatan 50 RPM dan spindle 5 dengan kecepatan 50 RPM. Angka viskositas yang diperoleh kemudian dikalikan dengan faktor koreksi yang tertera pada tabel brosur alat. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali dan dihitung nilai rata-ratanya. Rentang viskositas sediaan harus berada pada 2000 – 4000 cPs (Kemenkes RI, 2020; Garg et al., 2002).

II.2.6.5 Uji Daya Sebar

Uji daya sebar ditentukan dengan menempatkan 0,5 gram sediaan diatas pelat kaca, kemudian diatasnya diletakkan pelat kaca kedua. Ditambahkan beban seberat 50 gram setiap 1 menit, hingga total beban yang ditambahkan yaitu 150 gram. Setelah itu, tambahkan diameter sediaan (Kemenkes RI, 2020; Garg et al.,



at

25 gram diletakkan diantara dua *object glass*. Ditambahkan beban 50 gram setiap 5 menit. Beban diangkat dan dihitung waktu yang diperlukan agar beban terlepas. Sediaan dikatakan baik apabila uji daya lekat serum memenuhi syarat (Kemenkes RI, 2020; Garg et al., 2002).

II.2.6.7 Uji Penyimpanan Dipercepat

Uji dilakukan dengan menyimpan masing-masing formula sediaan serum pada suhu $40^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ dan kelembapan relatif $75\% \pm 5\%$ RH selama 15 hari. Kemudian, dilakukan kembali pengujian organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, dan daya lekat dari sediaan serum (ICH, 1996).

II.2.7 Analisis Data

Data hasil penelitian yang diperoleh kemudian dikumpulkan, ditabulasi, dan dilakukan analisis secara statistika dengan aplikasi *Microsoft Excel* dan *GraphPad Prism 9*. Data terlebih dahulu diuji normalitas dengan metode *Shapiro-Wilk* sebelum dianalisis. Metode tersebut dipilih karena jumlah data yang akan dianalisis kurang dari 50 (Stewart, 2002).

Data hasil uji antioksidan dan inhibitor tirosinase yang terdistribusi secara normal ($p \geq 0,05$) akan dianalisis dengan uji *One-Way ANOVA*, sedangkan untuk data yang tidak terdistribusi secara normal ($p < 0,05$) akan dianalisis dengan metode *Kruskal Wallis Test*. Kemudian, dilakukan uji homogenitas untuk menentukan uji lanjutan/*Post Hoc Test*. Jika asumsi uji homogenitas terpenuhi ($p \geq 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji *Multiple Comparisons* dengan metode *Turkey*. Adapun, jika asumsi uji homogenitas tidak terpenuhi ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan metode *Games-Howell* (Stewart, 2002).

Data hasil uji pH, viskositas, daya sebar, dan daya lekat yang terdistribusi normal akan dianalisis dengan metode *Paired T-Test* untuk mengetahui signifikansi dari setiap formula serum sebelum dan setelah penyimpanan dipercepat. Apabila data tidak terdistribusi normal maka akan dianalisis dengan metode *Wilcoxon Signed Ranks Test*. Kemudian, seluruh data hasil analisis statistik akan dibuat ke dalam bentuk histogram (Stewart, 2002).





Optimized using
trial version
www.balesio.com