

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Penelitian ini menggunakan daun sirih merah segar yang dikeringkan dan dibuat serbuk. Daun sirih merah kemudian dilakukan determinasi di Unit Laboratorium Biologi Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Karanganyar. Determinasi tanaman dalam penelitian ini bertujuan untuk mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman yang diteliti dengan kunci determinasi, mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan bahan dari tanaman lain.

Berdasarkan surat determinasi dari B2P2TOOT dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini benar tanaman sirih merah (*Piper crocatum*) dengan spesies *Piper crocatum* Ruiz & Pav. dengan sinonim *Steffensia crocata* (Ruiz & Pav.) Kunth dan familia *Piperaceae*. Hasil determinasi tanaman sirih merah ini dapat dilihat pada lampiran 1.

B. Penyiapan Tanaman

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sirih merah yang telah di serbuk yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Desember 2018.

C. Pembuatan Serbuk

Daun sirih merah yang telah diperoleh kemudian disortasi basah dengan tujuan untuk menghilangkan bagian-bagian yang tidak diinginkan misalnya daun rusak dan kemungkinan bagian daun lain yang terikut saat pemetikan. Cuci dengan air mengalir sampai bersih kemudian dikeringkan dengan oven suhu $\pm 54^{\circ}\text{C}$ selama 48jam yang bertujuan untuk menghilangkan kadar air yang masih terkandung dalam simplisia serta untuk mempermudah dalam penyerbukan.

Proses penyerbukan dilakukan dengan menggunakan alat penggiling (*grinder*). Serbuk yang diperoleh kemudian di ayak dengan no mesh 40 hingga dipeoleh serbuk yang dibutuhkan. Tujuan dari penyerbukan ini adalah untuk memaksimalkan hasil ekstraksi yang lebih efektif dalam menarik zat aktif.

D. Rendemen Bobot Kering

Simplisia kering akan mengalami penurunan bobot setelah mengalami proses pengeringan karena kehilangan kadar air. Hasil perhitungan rendemen bobot kering diihitung dari perbandingan bobot simplisia kering terhadap tanaman segar daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) dikalikan 100 %. Hasil perhitungan ini dapat dilihat pada tabel 4. Cara perhitungan rendemen bobot kering dapat dilihat pada lampiran 4.

Tabel 1. Hasil perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot awal serbuk daun sirih merah

Bobot awal (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen % b/b
8000	3050	38,13

E. Ekstrak dan Fraksi

1. Pembuatan ekstrak daun sirih merah

Pembuatan ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dilakukan dengan menimbang 1000 gram kemudian dimasukkan dalam botol kaca gelap untuk proses maserasi. Bahan dimaserasi dengan menggunakan etanol 96% sebanyak 7,5 bagian kemudian ditutup dan digojog. Botol tersebut didiamkan selama 5 hari pada suhu ruangan dan digojong setiap 6 jam sekali. Penggojokan ini dimaksudkan untuk memperoleh keseimbangan konsentrasi zat yang tersari dalam cairan penyari. Hasil filtrat disaring dengan kain flanel kemudian di ulangi penyaringan dengan kertas saring. Residu yang diperoleh dibilas dengan 2,5 bagian sisa etanol 96% kemudian didiamkan selama 2 hari dan digojog setiap 6jam. Filtrat disaring dengan kain flanel dan kertas sarin kemudian hasilnya digabungkan dengan fittrat pertama.

Hasil maserasi yang diperoleh dipekatkan dengan alat *vacuum rotary evaporator* dengan tujuan untuk menghilangkan pelarut dalam ekstrak. Proses pemekatan dilakukan sampai ekstrak agak pekat dan dimasukkan dalam oven

dengan suhu 54 °C untuk memperoleh ekstrak kental daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.). Hasil rendemen ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) yang diperoleh yakni sebesar 188,617 gram. Nilai ini menunjukkan jumlah zat aktif yang tersari dalam etanol 96% dari 1000 gram serbuk adalah 18,86%. Hasil perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 2. Rendemen ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav)

Bobot serbuk simplisia (g)	Bobot wadahkosong (g)	Bobot wadah + ekstrak (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%b/v)
1000	288,873	477,49	188,617	18,86%

2. Hasil karakterisasi ekstrak daunsirih merah

2.1 Susut pengeringan. Tujuan dilakukan penetapan susut pengeringan adalah untuk mengetahui batasan maksimal (rentang) besarnya senyawa yang hilang selama proses pengeringan. Penetapan susut pengeringan ekstrak daun sirih merah dilakukan menggunakan *moisture balance*. Penetapan susut pengeringan dilakukan untuk mengetahui kadar air, pelarut dan senyawa yang mudah menguap yang hilang setelah ekstrak dikeringkan. Suhu penetapan susut pengeringan adalah 105°C kecuali dinyatakan lain. Pada 105°C ini air akan menguap, dan senyawa-senyawa yang mempunyai titik didih lebih rendah dari air akan ikut menguap. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak daun sirih merah dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 3. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak daun sirih merah

Sampel	Replikasi	Ekstrak (g)	% susut pengeringan
Ekstrak	1	2	9,10
Ekstrak	2	2	9,20
Ekstrak	3	2	9,10
Rata-rata ± SD			9,13±0,0577

Penetapan susut pengeringan ekstrak daun sirih merah dilakukan dengan tiga kali replikasi diperoleh kadar penyusutan sebesar 9,13 %. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah memenuhi nilai standar susut pengeringan karena tidak lebih dari 10% (Depkes RI 2008).

2.2 Kadar air. Kadar air ekstrak ditentukan untuk mengetahui besarnya kandungan air yang masih terdapat pada ekstrak. Penentuan kadar air ini menggunakan metode gravimetri dengan memanaskan menggunakan pereaksi

toluen hingga seluruh kandungan air dalam ekstrak memisah. Hasil penelitian kadar air ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) memenuhi syarat yaitu sebesar 8,5 %. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun sirih merah dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 4. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun sirih merah

Sampel	Replikasi	Ekstrak (g)	Volume air (ml)	Kadar air (% v/b)
Ekstrak	1	20	1,6	8
Ekstrak	2	20	1,8	9
Ekstrak	3	20	1,7	8,5
	Rata-rata	20	1,7	8,5

Menurut literatur kadar air dalam ekstrak tidak boleh melebihi 10 % v/b, hal ini bertujuan untuk menghindari cepatnya pertumbuhan jamur dalam ekstrak (Soetarno dan Soediro 1997). Adanya jamur dalam ekstrak akan berpengaruh terhadap kandungan senyawa dalam ekstrak yang mempunyai aktivitas farmakologi. Perhitungan kadar air ekstrak sirih merah dapat dilihat pada lampiran 7.

2.3 Bobot jenis. Bobot jenis adalah besarnya massa per satuan volume pada suhu kamar (25°C) yang ditentukan dengan piknometer. Tujuan penetapan bobot jenis adalah memberikan batasan (rentang) besarnya massa per satuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair hingga ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dituang. Pada penetapan bobot jenis ini ekstrak harus diencerkan terlebih dahulu karena mempunyai konsistensi yang sangat kental sehingga sukar dituang. Pengenceran ekstrak daun sirih merah ini menggunakan etanol menjadi konsentrasi 5 %. Hasil penetapan bobot jenis ekstrak daun sirih merah dapat dilihat pada tabel 7. Perhitungan bobot jenis ekstrak dapat dilihat pada lampiran 8.

Tabel 5. Hasil penetapan bobot jenis ekstrak daun sirih merah 5 %

Sampel	Replikasi	Bobot air	Bobot ekstrak	Bobot jenis (% v/b)
Ekstrak	1	26,3044	23,0684	0,8768
Ekstrak	2	26,3105	23,0705	0,8769
Ekstrak	3	26,2980	23,0542	0,8767
	Rata-rata	26,3043	23,0643	0,8768

3. Pembuatan fraksi etil asetat daun sirih merah

Fraksinasi ini bertujuan untuk memisahkan senyawa satu dengan dengan yang lain berdasarkan kelarutannya. Jika pada ekstrak terdapat senyawa polar maka akan ditarik oleh pelarut polar yaitu air dan senyawa semi polar akan ditarik oleh pelarut semi polar yaitu etil asetat. Senyawa semi polar yang dikehendaki dalam penelitian ini adalah flavonoid. Pembuatan fraksi etil asetat daun sirih merah dilakukan tiga kali replikasi masing-masing menggunakan 20 gram ekstrak kental daun sirih merah. Sebanyak 20 gram ekstrak kental daun sirih merah ditambahkan 10 ml etanol aduk sampai larut kemudian ditambahkan 40ml air. Partisi dengan 50 ml etil asetat hingga diperoleh fraksi air dan fraksi etil asetat. Ambil fraksi etil asetat dan pekatkan untuk menghilangkan pelarutnya dengan memanaskannya diatas *waterbath*. Hasil fraksinasi diperoleh rendemen sebanyak 42, 89 %. Hasil perhitungan rendemen fraksi dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 6. Hasil rendemen fraksi etil asetat daun sirih merah

Sampel	Replikasi	Bobot ekstrak (g)	Rendemen fraksi % b/v
Ekstrak	1	20	14,30
Ekstrak	2	20	14,30
Ekstrak	3	20	14,29
Jumlah			42,89±0,0058

Uji organoleptis bertujuan untuk mengamati bentuk, bau, rasa dan warna dari fraksi etil asetat daun sirih merah. Hasil pemeriksaan terhadap fraksi etil asetat daun sirih merah secara organoleptis menunjukkan bahwa fraksi berupa fraksi yang kental, mempunyai bau khas tanaman sirih merah dan berwarna hijau kehitaman. Hasil pemeriksaan organoleptis fraksi etil asetat daun sirih merah dapat dilihat pada tabel 10. Cara perhitungan rendemen fraksi dapat dilihat pada lampiran 7.

Tabel 7. Hasil pemeriksaan fraksi etil asetat daun sirih merah

Sampel	Organoleptis			
	Bentuk	Bau	Rasa	Warna
Fraksi etil asetat	Kental	Khas fraksi	Agak pahit	Hijau kehitaman

4. Hasil identifikasi ekstrak daun sirih merah

Identifikasi kandungan kimia terhadap ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kandungan

senyawa di dalam ekstrak daun sirih merah menggunakan uji secara kualitatif yakni uji tabung. Uji tabung dilakukan berdasarkan terjadinya perubahan warna maupun endapan untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam fraksi. Kandungan senyawa yang berperan dalam aktivitas tabir surya adalah senyawa flavonoid yaitu suatu senyawa yang mempunyai gugus kromofor yang dapat menyerap sinar UV. Tabel hasil identifikasi kandungan kimia pada fraksi etil asetat daun sirih merah dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sirih merah.

Kandungan kimia	Pustaka	Hasil uji	Keterangan
Flavonoid	Terbentuk warna kuning pada lapisan amil alkohol	Pada uji ekstrak daun sirih merah terbentuk warna kuning pada lapisan amil alkohol	Ekstrak daun sirih merah : positif (+)
Alkaloid	Terbentuk endapan warna merah jingga dengan pereaksi Dragendorff Terbentuk endapan putih dengan pereaksi Mayer	Pada uji ekstrak daun sirih merah tidak terbentuk endapan merah jingga dan dengan pereaksi Mayer terbentuk endapan putih	Ekstrak daun sirih merah: positif (+)
Tanin	Terbentuk warna biru, biru hitam, hijau	Pada uji ekstrak daun sirih merah terbentuk warna kuning	Ekstrak daun sirih merah : negatif (-)
Saponin	Terbentuk busa setinggi 1-10 cm selama lebih dari 10 menit	Pada uji ekstrak daun sirih merah terbentuk busa yang stabil	Ekstrak daun sirih merah : positif (+)
Triterpenoid	Terbentuk cincin coklat atau violet	Pada uji ekstrak daun sirih merah terbentuk cincin coklat	Ekstrak daun sirih merah : positif (+)

Berdasarkan hasil identifikasi kandungan kimia dengan metode uji tabung menunjukkan hasil positif untuk senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, dan triterpenoid, hasil negatif untuk senyawa tanin.

F. Formulasi dan Pengujian

1. Hasil formulasi krim tabir surya fraksi etil asetat daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.)

Formulasi menghasilkan tiga formula krim yang berbeda konsentrasi yaitu : 0 %; 0,2%; 0,4%; dan 0,6%. Satu formula sebagai kontrol negatif dan satu formula sebagai kontrol positif yang mempunyai aktivitas tabir surya. Setiap formula dilakukan replikasi sebanyak tiga kali dan dilakukan uji terhadap aktivitas

tabir surya dengan mencari nilai SPF krim dari fraksi etil asetat menggunakan spektrofotometri UV.

2. Hasil pengujian sifat fisik krim tabir surya fraksi etil asetat daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.)

Uji mutu fisik yang dilakukan adalah pengamatan secara organoleptis, uji homogenitas sediaan krim, uji daya sebar, uji waktu lekat, uji pH, uji viskositas, uji tipe krim, uji stabilitas dengan metode *Freeze and Thaw*, serta uji iritasi terhadap 30 orang responden.

2.1 Hasil uji organoleptis krim. Pengujian secara organoleptis sediaan dilakukan dengan tujuan untuk melihat tampilan fisik dengan memberikan deskripsi antara lain: bentuk sediaan, konsistensi, bau dan warna dari sediaan yang dihasilkan. Hasil pengujian secara organoleptis krim dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 9. Hasil pengujian secara organoleptis krim

Formula	Organoleptis	Waktu pengujian	
		Hari ke-1	Hari ke-21
Formula 1	Bentuk	Krim	Krim
	Konsistensi	Kental	Sangat kental
	Bau	Mawar	Mawar
	Warna	Putih kehijauan	Putih kehijauan
Formula 2	Bentuk	Krim	Krim
	Konsistensi	Kental	Sangat kental
	Bau	Mawar	Mawar
Formula 3	Warna	Krem kehijauan	Krem kehijauan
	Bentuk	Krim	Krim
	Konsistensi	Kental	Sangat kental
Formula 4	Bau	Mawar	Mawar
	Warna	Krem kecoklatan	Krem kecoklatan
	Bentuk	Krim	Krim
Formula 5	Konsistensi	Kental	Sangat kental
	Bau	Tidak berbau	Tidak berbau
	Warna	Putih	Putih
	Bentuk	Krim	Krim
Formula 5	Konsistensi	Agak cair	Agak cair
	Bau	Tidak berbau	Tidak berbau
	Warna	Coklat	Coklat

Keterangan :

Formula 1 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0, 2 %

Formula 2 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0, 4 %

Formula 3 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0,6 %

Formula 4 : krim kontrol negatif tanpa fraksi daun sirih merah (basis)

Formula 5 : krim kontrol positif dengan aktivitas tabir surya (wardah SPF 30++)

Tabel 12 menunjukkan hasil pengamatan terhadap formula 1 hingga formula 5 pada hari ke-1 hingga hari ke-21. Warna krim dengan penambahan ekstrak mengalami perubahan menjadi lebih pekat tetapi warna ini tetap stabil pada hari ke-1 hingga hari ke-21. Bau dari krim tidak mengalami perubahan selama penyimpanan. Kondisi konsistensi krim pada hari ke-1 hingga hari ke-21 mengalami perubahan dari kental menjadi sangat kental. Krim pada hari ke-1 cenderung lebih cair dibandingkan hari ke-21 karena pengaruh formula yang baru dibuat cenderung berkurang viskositasnya karena pengadukan. Konsistensi krim formula cenderung stabil.

2.2 Hasil uji homogenitas krim. Homogenitas adalah salah satu faktor penting dalam sediaan krim. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui apakah zat aktif telah terdistribusi secara merata atau tidak dalam sediaan krim serta mengetahui tercampurnya komponen-komponen lain pada krim. Homogenitas suatu sediaan mempengaruhi keefektifan terapi dari suatu sediaan krim. Sediaan yang homogen akan memiliki kadar zat aktif yang sama setiap kali pengambilan untuk digunakan. Sediaan yang homogen dapat terlihat dari warna yang seragam pada basis krim, tekstur yang halus dan tidak terasa menggumpal saat disebar pada kaca objek. Formula krim yang dibuat dengan variasi konsentrasi tidak ada masalah terhadap homogenitas. Data hasil pengamatan homogenitas dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 10. Hasil uji homogenitas krim tabir surya fraksi etil setat daun sirih merah

Formula	Homogenitas	
	Hari ke-1	Hari ke-21
Formula 1	Homogen	Homogen
Formula 2	Homogen	Homogen
Formula 3	Homogen	Homogen
Formula 4	Homogen	Homogen
Formula 5	Homogen	Homogen

Keterangan :

Formula 1 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0, 2 %

Formula 2 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0, 4 %

Formula 3 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0,6 %

Formula 4 : krim kontrol negatif tanpa fraksi daun sirih merah (basis)

Formula 5 : krim kontrol positif dengan aktivitas tabir surya (wardah SPF 30++)

Dari pengujian homogenitas menunjukkan bahwa seluruh formula krim fraksi daun sirih merah homogen. Formula 1 hingga formula 3 memiliki warna

yang merata pada basis krim. Formula 4 sebagai kontrol negatif dan formula 5 sebagai kontrol positif menunjukkan krim yang homogen dan tidak ada gumpalan atau butiran kasar dari bahan yang tidak tercampurkan. Homogenitas krim tercapai jika pencampuran bahan dilakukan dengan tepat. Titik kritis formulasi krim ini adalah terletak pada pencampuran antara fase minyak dan air dengan cara yang benar serta pencampuran fraksi etil asetat pada fase yang tepat. Pencampuran fraksi kedalam basis harus hati-hati karena dapat membuat krim menjadi pecah. Untuk menghindari hal tersebut maka fraksi yang telah ditimbang dilarutkan pada fase minyak yang sudah melebur dan diaduk secara perlahan sampai larut. Setelah itu campuran fraksi dan minyak dicampur dengan dicampur dengan fase air yang juga telah dipanaskan dan diaduk cepat supaya krim tidak pecah.

2.3 Hasil uji daya sebar krim. Tujuan dilakukan uji daya sebar adalah untuk mengetahui kecepatan sebar krim pada kulit dan luas penyebaran yang dapat ditempuh oleh sediaan krim yang dibuat. Selain untuk mengetahui kecepatan dan luas penyebaran uji ini juga untuk mengetahui derajat kelunakan dari krim yang baik yang mudah dioleskan pada kulit. Pengujian daya sebar dilakukan menggunakan alat ekstensiometer yang berupa dua lempeng kaca yang berbentuk bulat. Daya sebar sediaan krim ditunjukkan dengan luas penyebaran krim saat diberikan beban 44,58 gram, 94,58 gram 144,58 gram dan 194,58 gram. Krim yang baik dapat menyebar dengan mudah tanpa diberikan tekanan saat diaplikasikan pada kulit. Krim yang mudah menyebar akan mudah dioleskan pada kulit dan luas permukaan krim yang kontak dengan kulit juga semakin besar sehingga absorpsi obat pada kulit berlangsung cepat. Sediaan yang menyebar dengan mudah akan menjadikan distribusi zat aktif pada kulit juga menjadi lebih merata.

Daya sebar sediaan topikal tidak mempunyai nilai absolut karena sediaan topikal disesuaikan dengan tujuan terapi. Untuk tujuan agar zat aktif melekat lebih lama dikulit maka viskositasnya harus ditingkatkan, sedangkan peningkatan viskositas akan mengurangi kemampuan sediaan untuk menyebar. Hasil pengukuran daya sebar krim dapat dilihat pada tabel 1

Tabel 11. Hasil uji daya sebar krim tabir surya fraksi etil setat daun sirih merah

Formula	Beban (g)	Diameter penyebaran (cm)	
		Hari ke-1	Hari ke-21
1	44,58	5,20±0,1111	4,60±0,1000
	94,58	5,83±0,1115	5,23±0,1155
	144,58	6,53±0,1115	5,67±0,1528
	194,58	7,27±0,2082	6,23±0,1155
2	44,58	4,70±0,1000	4,27±0,0577
	94,58	5,47±0,1528	4,63±0,0577
	144,58	5,93±0,1528	5,13±0,0577
	194,58	6,53±0,1528	5,60±0,1000
3	44,58	5,90±0,1155	5,40±0,1000
	94,58	6,70±0,2000	5,67±0,1528
	144,58	7,27±0,2082	6,40±0,1000
	194,58	7,73±0,1528	7,07±0,1528
4	44,58	4,87±0,1528	4,50±0,1000
	94,58	5,27±0,1528	5,17±0,1528
	144,58	6,13±0,2082	5,60±0,1732
	194,58	6,70±0,2000	6,07±0,1528
5	44,58	6,30±0,1000	6,27±0,0577
	94,58	6,63±0,1528	6,60±0,1000
	144,58	7,10±0,1000	6,97±0,1528
	194,58	7,47±0,1528	7,30±0,1000

Keterangan :

Formula 1 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0, 2 %

Formula 2 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0, 4 %

Formula 3 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0,6 %

Formula 4 : krim kontrol negatif tanpa fraksi daun sirih merah (basis)

Formula 5 : krim kontrol positif dengan aktivitas tabir surya (wardah SPF 30++)

Hasil uji daya sebar dari tabel menunjukkan krim 2 dengan konsentrasi fraksi etil asetat 0,4 mempunyai daya sebar yang lebih kecil dari krim 1 yang mempunyai konsentrasi 0,2 %, krim 3 dengan konsentrasi 0,6 % mempunyai daya sebar yang lebih besar dari krim 1 dan 2. krim 4 (basis) mempunyai daya sebar lebih tinggi dari krim 2. Daya sebar terbesar terdapat pada formula krim 5 yaitu krim kontrol positif. Hasil daya sebar krim dengan peningkatan konsentrasi fraksi tidak semakin menurun tetapi hasilnya naik turun. Nilai daya sebar dan viskositas saling berbanding terbalik tidak berlaku pada pengujian krim ini. Krim diharapkan menyebar dengan mudah tanpa tekanan yang berarti sehingga mudah dioleskan dan tidak menimbulkan rasa sakit saat dioleskan sehingga meningkatkan kenyamanan pengguna. Daya sebar sediaan semisolid yang baik adalah 50-70 mm sehingga nyaman saat digunakan (Voigt 1994). Hasil penelitian daya sebar krim fraksi etil asetat daun sirih merah adalah 5-7 cm (50-70 mm) sehingga memenuhi syarat daya sebar krim yang baik. Dari semua formula menunjukkan bahwa

formula memenuhi kriteria daya sebar yang baik. Daya sebar bukan merupakan data absolut karena tidak ada literatur yang menyatakan angka pastinya. Jadi data hasil daya sebar merupakan data yang relatif (Suardi *et al.* 2008).

Tabel menunjukkan bahwa formula yang paling tinggi menghasilkan daya sebar adalah formula 5 (kontrol positif). Formula kontrol positif mempunyai nilai daya sebar tertinggi karena konsistensi agak cair. Uji ANOVA menunjukkan ada perbedaan signifikan dengan masing-masing formula, semakin luas penyebaran sediaan pada permukaan kulit maka absorpsi bahan obat yang terkandung akan semakin meningkat (Naibaho dkk 2013).

2.4 Hasil uji waktu lekat krim. Tujuan dilakukannya pengujian waktu lekat krim ini adalah untuk mengetahui kemampuan krim melekat pada kulit. Hal ini berhubungan dengan lama waktu kontak sediaan dengan kulit untuk mencapai efek yang diinginkan. Krim yang baik mampu menjaga waktu kontak yang efektif dengan kulit sehingga tujuan penggunaan dan terapinya tercapai. Sediaan topikal harus mempunyai kemampuan melekat yang cukup namun tidak boleh lengket dikulit karena dapat mengurangi kenyamanan penggunaan. Semakin lama waktu melekat krim pada kulit maka waktu kontak zat aktif dengan kulit lebih besar dan efektif dalam penghantaran obat. Pengujian daya lekat terhadap masing-masing formula krim dilakukan dengan replikasi sebanyak 3 kali.

Kemampuan sediaan melekat dipengaruhi oleh viskositas. Viskositas yang semakin tinggi akan meningkatkan kemampuan melekat krim. Semakin lama krim melekat maka kontak zat aktif akan lebih lama dan efek yang diperoleh lebih efektif. Formula krim1 dan 2 mempunyai waktu lekat lebih rendah karena karena jumlah konsentrasi fraksi etil asetat yang digunakan lebih kecil dari pada formula 3. Jumlah konsentrasi fraksi etil asetat pada formula 3 yang lebih tinggi menyebabkan viskositas meningkat dan waktu lekat semakin besar. Sedangkan pada formula krim 4 mempunyai waktu lekat yang lebih rendah dari formula 3 viskositas lebih rendah karena tidak ada penambahan konsentrasi fraksi. Hasil pengukuran waktu lekat krim dapat dilihat pada tabel 15.

Tabel 12. Hasil uji waktu lekat krim

Formula	Nilai waktu lekat (detik)	
	Hari ke-1	Hari ke-21
Formula 1	0,53±0,8890	0,54±0,0800
Formula 2	0,53±0,1050	0,55±0,0954
Formula 3	0,54±0,0862	0,54±0,1060
Formula 4	0,44±0,1106	0,44±0,0862
Formula 5	0,37±0,0721	0,34±0,0666

Keterangan :

Formula 1 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0, 2 %

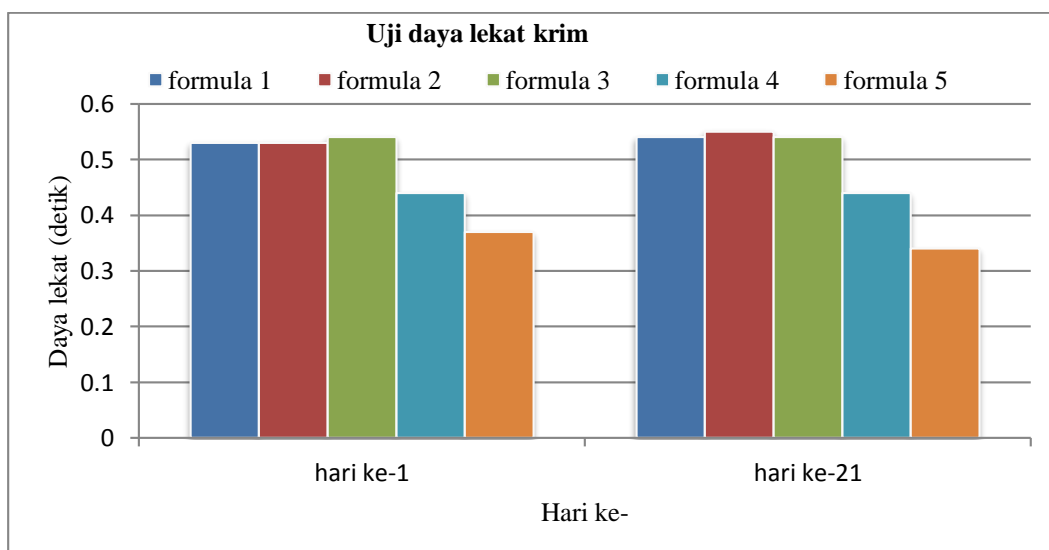
Formula 2 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0, 4 %

Formula 3 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0,6 %

Formula 4 : krim kontrol negatif tanpa fraksi daun sirih merah (basis)

Formula 5 : krim kontrol positif dengan aktivitas tabir surya (wardah SPF 30++)

Dari hasil uji waktu lekat krim 1, 2, 3, 4, dan 5 maka semua krim tidak memenuhi persyaratan daya lekat krim yang baik karena syarat daya lekat krim yang baik adalah lebih dari 4 detik (Wasitaatmadja 1997). Setelah dilakukan uji *Anovad* dari hari ke-1 dan ke-21 diperoleh hasil bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antar formula. Hal menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dengan adanya beda konsentrasi fraksi etil asetat.

**Gambar 10. Histogram daya lekat krim**

2.5 Hasil uji pH krim. Pengujian pH terhadap sediaan dilakukan untuk mengetahui apakah krim yang telah dibuat bersifat asam, basa, atau netral. Pengujian pH dilakukan untuk mengetahui kesesuaian dan menjamin keamanan krim terhadap kulit agar tidak menimbulkan iritasi saat pemakaian. Krim yang terlalu basa menimbulkan kulit menjadi kering dan bersisik, sedangkan jika pH

terlalu asam dapat menimbulkan iritasi pada kulit. Tabel menunjukkan rentang pH yang basa tetapi dengan penambahan konsentrasi fraksi etil asetat maka krim semakin asam. Kadar keasaman atau pH sediaan topikal harus sesuai dengan pH penerimaan kulit, yaitu pH yaitu pH 5 hingga 10 (Padmadisastra dkk 2007). pH krim yang ideal untuk kulit normal adalah 4,5-6,5 (Draelos dan Lauren 2006). Dari semua krim yang dibuat tidak memenuhi syarat krim yang ideal. Hasil uji pH dapat dilihat pada tabel 16.

Tabel 13. Hasil uji pH krim

Formula	Nilai pH sediaan	
	Hari ke-1	Hari ke-21
Formula 1	7,61±0,1102	7,43±0,0436
Formula 2	7,43±0,0450	7,40±0,0200
Formula 3	7,22±0,0751	7,20±0,0900
Formula 4	7,72±0,0862	7,68±0,0300
Formula 5	6,91±0,1007	6,55±0,2335

Keterangan :

Formula 1 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0, 2 %

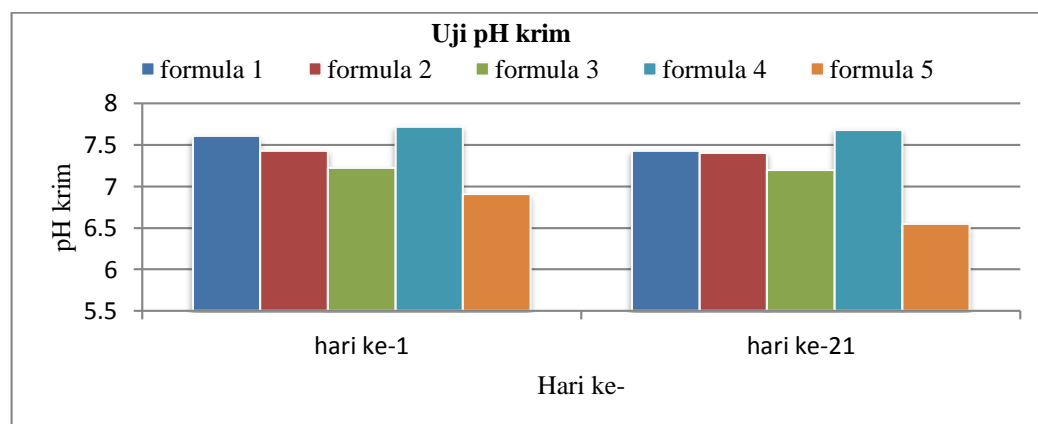
Formula 2 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0, 4 %

Formula 3 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0,6 %

Formula 4 : krim kontrol negatif tanpa fraksi daun sirih merah (basis)

Formula 5 : krim kontrol positif dengan aktivitas tabir surya (wardah SPF 30++)

Menurut pengujian *paired sample test*, pH pada formula krim hari ke-1 dan ke-21 menunjukkan tidak terjadi perubahan pH krim secara signifikan sehingga krim aman digunakan. Menurut analisis *Anova* terjadi perbedaan pH yang signifikan antar formula. Uji *anova* digunakan untuk mengetahui apakah ada perbedaan signifikan atau tidak antar formula dari setiap jenis pengujian. *Paired samples test* untuk mengetahui apakah terjadi perubahan signifikan hasil uji sebelum dan sesudah penyimpanan krim.



Gambar 11. Histogram uji pH krim

2.6 Hasil uji viskositas krim. Viskositas adalah kemampuan kemampuan suatu fluida untuk mengalir atau dinyatakan sebagai kekentalan. Viskositas yang semakin tinggi akan menyebabkan kemampuan mengalir menjadi berkurang. Viskositas krim harus sesuai dengan penggunaan. Krim yang diperuntukkan pada daerah yang luas maka harus mempunyai viskositas relatif kecil agar mudah menyebar. Sediaan krim tidak boleh terlalu keras karena akan menyulitkan pengambilan dari wadah dan pengolesan di kulit. Viskositas krim yang terlalu tinggi dapat mengurangi rasa nyaman saat pemakaian dan terasa lengket. Selain itu viskositas yang semakin besar akan menurunkan kemampuan sediaan dalam melepaskan zat aktif dari pembawanya. Hasil uji viskositas krim dapat dilihat pada tabel 17.

Tabel 14. Hasil uji viskositas

Formula	Nilai viskositas (dPas)	
	Hari ke-1	Hari ke-21
Formula 1	100	100
Formula 2	100	100
Formula 3	110	100
Formula 4	90	100
Formula 5	60	60

Keterangan :

Formula 1 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0, 2 %

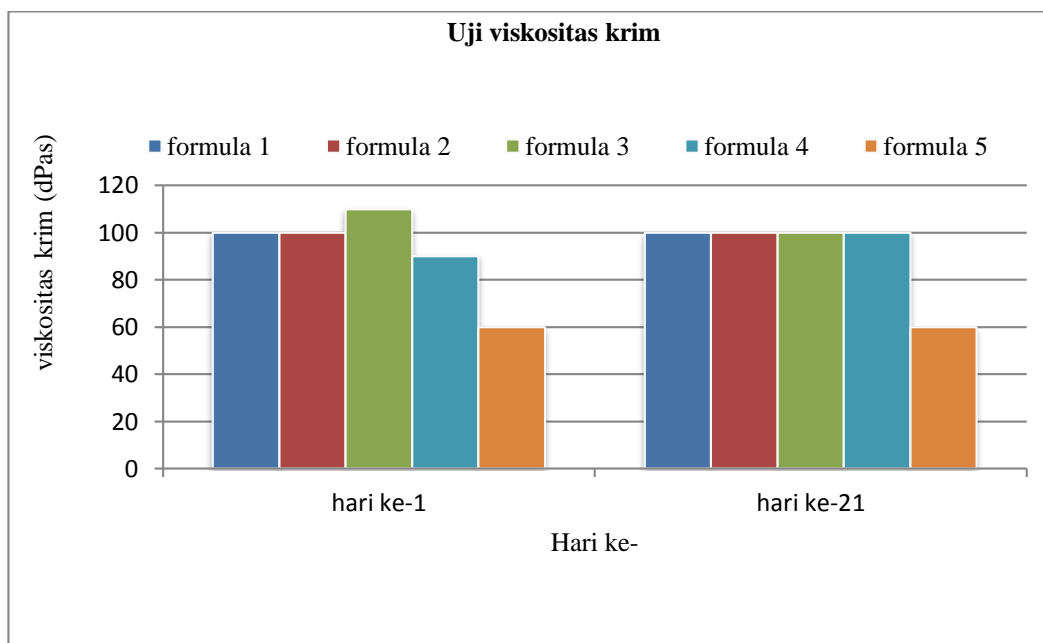
Formula 2 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0, 4 %

Formula 3 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0,6 %

Formula 4 : krim kontrol negatif tanpa fraksi daun sirih merah (basis)

Formula 5 : krim kontrol positif dengan aktivitas tabir surya (wardah SPF 30++)

Salah satu faktor yang mempengaruhi viskositas adalah konsentrasi atau jumlah komponen dalam formula. Penggunaan variasi konsentrasi fraksi etil asetat yang berbeda pada formula 1, 2, dan 3 menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan karena selisih konsentrasi satu formula dengan formula lainnya hanya 0,2% dimana selisih sangat sedikit sehingga tidak begitu berpengaruh terhadap viskositasnya. Pada uji *paired sample test* tidak terjadi perbedaan signifikan antara pengujian pada hari ke-1 dan ke-21.



Gambar 12. Histogram uji viskositas krim

Dari hasil uji *oneway anova* formula tersebut menunjukkan semua formula memiliki viskositas yang tidak berbeda signifikan dari hari ke-1 hingga hari ke-21. Hal tersebut menunjukkan bahwa formula stabil selama penyimpanan karena tidak mengalami perubahan viskositas. Krim dapat mengalami penurunan viskositas jika selama penyimpanan dilakukan penggojokan. Dari seluruh formula krim yang dibuat, formula 4 mempunyai viskositas yang paling rendah karena formulanya tanpa penambahan fraksi daun sirih merah. Formula 3 mempunyai viskositas paling tinggi karena konsentrasi fraksi etil asetat yang ditambahkan paling besar yaitu 0,6 %. Formula 1 dan 2 mempunyai viskositas yang sama dan formula 3 viskositas lebih tinggi dari formula semua formula pada hari 1 pengujian. Hari ke-21 viskositas formula 1, 2, 3, dan 4 sama dan formula 5 rendah karena konsistensi agak cair. Perbedaan konsentrasi fraksi etil asetat yang ditambahkan tidak viskoterlalu berpengaruh terhadap viskositas dari krim. Meningkatnya viskositas disebabkan formula krim selama penyimpanan yang mungkin kehilangan air dan menyebabkan peningkatan kerapatan molekul sehingga krim menjadi lebih viskos. Dari uji *anova* terjadi perbedaan signifikan viskositas antar formula.

2.7 Hasil uji stabilitas krim. Pengujian stabilitas krim dilakukan dengan metode dipercepat yakni metode *freeze and Thaw*. Pengujian ini dimaksudkan untuk mengetahui adanya ketidakstabilan krim berupa pemisahan fase krim maupun fraksi. Metode *freeze and Thaw* dilakukan dengan penyimpanan formula pada suhu -4°C selama 48 jam dan suhu 48°C selama 48 jam (1 siklus). Pengujian dilakukan sebanyak 5 siklus. Hasil menunjukkan semua formula cukup stabil karena tidak terjadi pemisahan. Hasil uji stabilitas dapat dilihat pada tabel 18.

Tabel 15. Hasil uji stabilitas

Formula	Stabilitas krim				
	siklus				
	1	2	3	4	5
Formula 1	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah
Formula 2	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah
Formula 3	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah
Formula 4	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah
Formula 5	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah	Tidak memisah

Keterangan :

Formula 1 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0, 2 %

Formula 2 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0, 4 %

Formula 3 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0,6 %

Formula 4 : krim kontrol negatif tanpa fraksi daun sirih merah

Formula 5 : krim kontrol positif dengan aktivitas tabir surya

Tabel 18 menunjukkan bahwa semua formula krim stabil dengan adanya fraksi etil asetat daun sirih merah. Tidak ada pemisahan antara fase minyak dengan fase air maupun pemisahan fraksi dengan basisnya, maka krim stabil.

2.8 Hasil uji tipe krim. Uji tipe krim ini bertujuan untuk mengetahui tipe krim apakah krim tersebut merupakan tipe minyak dalam air (M/A) atau tipe air dalam minyak (A/M). Uji ini dilakukan dengan menggunakan *methylene blue* dan sudan 3 dengan alat plat tetes. Semua formula krim secukupnya diletakkan pada lubang plat tetes kemudian ditambahkan masing-masing dengan 3 tetes *methylene blue* dan sudan 3 kemudian di aduk-aduk dan dibiarkan beberapa saat. Terlihat bahwa krim dengan metilen blue memberikan warna biru yang homogen sedangkan pereaksi sudan 3 terjadi warna merah dan memisah. Dari uji ini dapat diketahui tipe krim dari semua formula yang dibuat adalah tipe air dalam minyak. Dari komposisi formula sudah bisa ketahu tipe krim M/A karena menggunakan pengemulsi trietanolamin. Selain itu juga dapat dilihat dari komposisi air lebih banyak pada formula krim. Hasil uji tipe krim dapat dilihat pada tabel 19.

Tabel 16. Hasil uji tipe krim

Formula	Pereaksi		Tipe krim
	Metilen blue	Sudan 3	
Formula 1	Homogen	Tidak homogen	Minyak dalam air
Formula 2	Homogen	Tidak homogen	Minyak dalam air
Formula 3	Homogen	Tidak homogen	Minyak dalam air
Formula 4	Homogen	Tidak homogen	Minyak dalam air
Formula 5	Homogen	Tidak homogen	Minyak dalam air

Keterangan :

Formula 1 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0, 2 %

Formula 2 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0, 4 %

Formula 3 : krim fraksi daun sirih merah dengan konsentrasi 0,6 %

Formula 4 : krim kontrol negatif tanpa fraksi daun sirih merah (basis)

Formula 5 : krim kontrol positif dengan aktivitas tabir surya (wardah SPF 30++)

2.9 Hasil uji iritasi krim. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui apakah krim dari semua formula menimbulkan iritasi terhadap responden atau tidak. Responden dipilih secara acak dengan jenis kelamin laki-laki dan perempuan. Penilaian iritasi yaitu menilai adanya kemerahan, gatal dan bengkak pada kulit lengan bagian bawah yang dioleskan krim selama 3 hari. Hasil menunjukkan adanya terjadinya respon iritasi berupa kemerahan sebanyak 1/30 (1 dari 30 probandus) terhadap formula 2, 2/30 (2 dari 30 probandus) dari formula 3. Respon gatal terjadi pada 3/30 (3 dari 30 probandus) terhadap formula 3 dan 1/30 dari formula 2. Respon bengkak tidak terjadi pada semua formula. Hal ini menunjukkan bahwa basis krim dan formula dengan kandungan fraksi etil asetat relatif aman dan tidak mengiritasi kulit. Respon kemerahan dan gatal terjadi pada responden dengan kulit sensitif karena mekanisme imun terhadap zat asing yang pertama kontak pada kulit. Kuisisioner uji iritasi dapat dilihat pada lampiran 12 dan hasil uji iritasi pada lampiran 13.

3. Hasil uji SPF krim dan fraksi etil asetat

Uji SPF ini untuk mengetahui apakah formula krim dan fraksi etil asetat mempunyai aktivitas tabir surya yang efektif untuk perlindungan kulit dari radiasi sinar UV matahari. Salah satu parameter tabir surya yang baik adalah memiliki nilai SPF yang tinggi, sehingga mampu melindungi kulit dalam jangka waktu yang cukup panjang (Caswell 2001). Nilai SPF menunjukkan tingkat lamanya tabir surya bisa melindungi kulit dari radiasi sinar matahari (UV) atau berapa lama bisa berada di bawah sinar matahari tanpa membuat kulit terbakar (*sunburn*). Semakin tinggi nilai SPF, semakin besar perlindungan terhadap kulit. Kulit yang

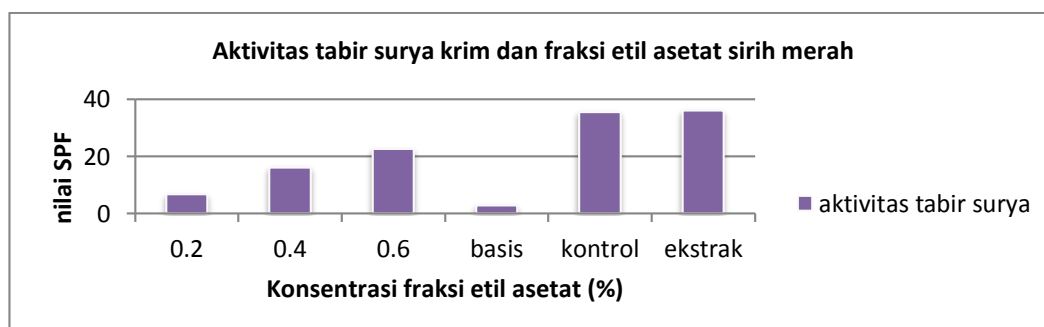
terpapar sinar matahari tanpa dilindungi tabir surya akan menghitam setelah 10 menit. Krim dengan SPF 2 artinya memiliki waktu 2×10 menit = 20 menit, bagi konsumen terlindung dari sinar matahari (Allen 2010).

Uji SPF dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer UV terhadap tiga konsentrasi fraksi etil asetat pada formula krim yang berbeda yaitu konsentrasi 0,2 %, 0,4 %, dan 0,6 %. Hasil pengukuran SPF krim masing-masing dari konsentrasi terendah hingga konsentrasi tertinggi adalah 8,62; 16,03 dan 22,54. Hasil tertinggi adalah pada konsentrasi fraksi etil asetat 0,6 % dihasilkan SPF sebesar 22,54 dimana nilai SPF ini sangat efektif untuk perlindungan kulit dari radiasi sinar UV. Nilai keefektifan SPF minimal adalah 15, jadi dari ketiga konsentrasi fraksi yang diuji yang efektif untuk perlindungan radiasi UV adalah konsentrasi 0,4 % dan 0,6 %. Semakin besar konsentrasi fraksi etil asetat maka nilai SPF akan semakin tinggi. Hasil uji SPF formula dan fraksi etil asetat dapat dilihat pada tabel 20.

Tabel 17. Hasil uji SPF krim dan fraksi etil asetat daun sirih merah

Formula	Nilai SPF dan SD
Formula 1	8,62±0,0061
Formula 2	16,03±0,0171
Formula 3	22,54±0,0815
Formula 4	2,79±0,0077
Formula 5	35,50±0,4929
Fraksi etil asetat	36,12±0,2448

Fraksi etil asetat menghasilkan SPF yang lebih tinggi dari formula krim. Hal ini menunjukkan bahwa basis krim yang digunakan ada pengaruh terhadap nilai SPF yang dihasilkan pada formula krim. Krim kontrol positif menghasilkan SPF 35,50 hal ini lebih besar dari yang tercantum pada label yaitu SPF 30++. SPF formula yang paling efektif terdapat pada konsentrasi 0,6 % yaitu sebesar 22,54.



Gambar 13. Uji aktivitas tabir surya

Dari gambar histogram terlihat bahwa semakin besar konsentrasi fraksi etil asetat pada formula krim maka akan semakin besar SPF yang dihasilkan. Konsentrasi fraksi etil asetat berbanding lurus dengan nilai SPF. Hasil perhitungan SPF fraksi etil asetat dapat dilihat pada lampiran 6.

