

**FORMULASI KRIM NANOEMULSI EKSTRAK ANGKAK, SERTA UJI
PENETRASI, STABILITAS DAN KEAMANANNYA**



oleh:

**Denia Isra Putri
20144335A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**FORMULASI KRIM NANOEMULSI EKSTRAK ANGKAK, SERTA UJI
PENETRASI, STABILITAS DAN KEAMANANNYA**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

oleh:

**Denia Isra Putri
20144335A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

FORMULASI KRIM NANOEMULSI EKSTRAK ANGKAK, SERTA UJI PENETRASI, STABILITAS DAN KEAMANANNYA

Oleh :

Denia Isra Putri

20144335A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 6 Juli 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Dekan,



Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama

Dr. Jason Merari P, M.M., M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping

Muhammad Dzakwan., M.Si., Apt

Penguji :

- | | | |
|---|---------|--|
| 1. Ilham Kuncahyo, S.Si., M.Sc., Apt | 1. | |
| 2. Dra. Suhartinah, M.Sc., Apt | 2. | |
| 3. Nuraini Harmastuti, M.Si | 3. | |
| 4. Dr. Jason Merari P, M.M., M.Si., Apt | 4. | |

HALAMAN PERSEMBAHAN



“Dia memberikan hikmah (ilmu yang berguna) kepada siapa yang dikehendakinya. Barang siapa yang mendapatkan hikmah itu sesungguhnya ia telah mendapatkan kebajikan yang banyak. Dan tiadalah yang menerima peringatan melainkan orang-orang yang berakal”

(Q.S Al-Baqarah:269)

Untuk ribuan tujuan yang harus dicapai, untuk jutaan mimpi yang akan dikejar, untuk sebuah pengharapan, agar hidup jauh lebih bermakna, hidup tanpa mimpi ibarat arus sungai. Mengalir tanpa tujuan. Teruslah belajar, berusaha dan berdoa dalam menggapainya. Jatuh berdiri lagi. Kalah mencoba lagi. Gagal bangkit lagi. Never give up! Sampai Allah SWT berkata “waktunya pulang”

-Sang Pemimpi-

“hidupku terlalu berat untuk mengandalkan diri sendiri tanpa melibatkan bantuan Allah SWT dan orang lain”

Dengan segala kerendahan hati saya persembahkan karya ini kepada:

1. Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW atas segala berkah dan karunia-Nya.
2. Keluarga terutama papa dan mama tercinta yang selalu mendoakan dan meridhoi segala hal yang telah kulakukan hingga mencai sampai ketitik ini serta dukungan dari keluarga besarku hingga dapat meraih mimpi ini.
3. Dr. Jason Merari Peranginangin., S.Si., M.M., M.Si., Apt dan Muhammad Dzakwan M.Si., Apt selaku orang tuaku sekaligus dosen pembimbing yang senantiasa membantu serta memberikan motivasi ataupun masukan sehingga tercapailah hasil karya ini.
4. Semua sahabat khususnya Shabrina, Lia, Rifa, dan Apriyani serta teman-teman yang lain di S1 Farmasi terutama teman-teman FST-OA 2014, terimakasih atas semua bantuan dan semangat kalian.
5. Almamater Universitas Setia Budi, Bangsa, dan Negara.

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penulisan/ karya ilmiah/ skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 28 Juni 2018

Penulis,



Denia Isra Putri

KATA PENGANTAR

Segala Puji syukur kehadiran Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa serta junjungan Nabi besar Muhammad SAW atas berkah, karunia dan anugrah kesehatan, serta jalan yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **FORMULASI KRIM NANOEMULSI EKSTRAK ANGKAK, SERTA UJI PENETRASI, STABILITAS DAN KEAMANANNYA** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Strata 1 pada Program Studi S1 Farmasi Universitas Setia Budi.

Skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari beberapa pihak, baik material maupun spiritual. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. Jason Merari Peranginangin., S.Si., M.M., M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan petunjuk, bimbingan, nasehat dan motivasi kepada penulis selama penelitian sehingga dapat terlaksana dengan baik.
4. Muhammad Dzakwan., M.si., Apt selaku dosen pembimbing pendamping serta pembimbing akademik yang selalu membimbing dan mengarahkan sejak pertama kuliah hingga selesai dan yang telah meluangkan waktu, perhatian, dan keikhlasannya dalam memberikan ilmu dan bimbingan sehingga skripsi ini selesai.
5. Segenap Dosen pengajar, karyawan, dan Staff Laboratorium Universitas Setia Budi yang telah banyak memberikan ilmu pengetahuan khususnya di bidang farmasi.
6. Para sahabat khususnya Shabrina, Lia, Rifa, Apriyani dan semua teman-teman FST-OA serta seluruh teman-teman S1 Farmasi USB angkatan 2014 atas dukungan dan semangatnya.

7. Terimakasih untuk sahabat-sahabat saya Upik, Bobby, Fafa, dan Icing yang sudah mensupport saya.
8. Terimakasih kepada best partner dan support system saya.
9. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu-persatu. Terimakasih.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak. Semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas semua bantuan yang telah diberikan dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu farmasi dan almamater tercinta.

Surakarta, 28 Juni 2018

Penulis



Denia Isra Putri

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
INTISARI.....	xvii
ABSTRACT	xviii
 BAB I PENDAHULUAN	 1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 4
A. Beras.....	4
B. Angkak	4
1. Pengertian Angkak	4
2. Klasifikasi Jamur <i>Monascus purpureus</i>	5
3. Kandungan Kimia.....	6
3.1 Flavonoid	7
3.2 Antosianin	7
C. Metode Penyarian.....	8
1. Ekstraksi	8
1.1 Maserasi	8
1.2 Perkolasi.....	9
1.3 Soxhletasi.....	9
2. Cairan Penyari	9

D. Antioksidan	9
E. Uji Aktivitas Antioksidan	10
F. Nanoemulsi	11
1. Pengertian	11
2. Keuntungan Nanoemulsi	13
3. Komposisi Nanoemulsi	13
3.1 Fase Minyak	13
3.2 Surfaktan dan Ko-Surfaktan	14
4. Monografi Bahan	14
4.1 Tween-80 (polioksietilen 20 sorbitan monooleat)	14
4.2 Cremophor RH40	15
4.3 Etanol 96%	15
4.4 Gliserin	16
4.5 PEG 400 (Polyethylene Glycol 400)	16
4.6 Minyak zaitun	17
4.7 Minyak Kedelai	17
4.8 Minyak Kelapa Murni	17
4.9 Asam oleat	18
4.10 Isopropil Maristat	18
4.11 Aqua demineralisata	18
5. Karakterisasi Nanoemulsi	19
5.1 Ukuran Partikel dan Distribusi Ukuran	19
5.2 <i>Zeta Potensial</i>	19
5.3 Analisis morfologi	Error! Bookmark not defined.
G. Krim	19
1. Definisi Krim	19
2. Tipe Krim	20
3. Monografi Bahan	20
3.1 Stearil alkohol	20
3.2 Asam stearat	20
3.3 Setil alkohol	21
3.4 Propil Paraben	22
3.5 Metil Paraben	22
3.6 Tween 80	22
3.7 Aquadest	22
4. Evaluasi Mutu Sediaan Krim	23
4.1 Evaluasi organoleptis	23
4.2 Evaluasi homogenitas	23
4.3 Evaluasi tipe krim	23
4.4 Evaluasi viskositas	23
4.5 Evaluasi daya lekat	23
4.6 Evaluasi daya sebar	23
4.7 Evaluasi pH	23
H. Kulit	24
1. Definisi Kulit	24
2. Anatomi Kulit	24

2.1	Epidermis	24
2.2	Dermis.....	25
2.3	Subkutis.....	25
3.	Penetrasi Obat Melalui Kulit.....	25
3.1	Absorpsi transepidemal.....	25
3.2	Absorpsi transappendageal	25
I.	Uji Iritasi	26
J.	Uji Daya Penetrasi <i>in vitro</i> dengan Metode Sel Difusi Franz	27
K.	Landasan Teori.....	29
L.	Hipotesis.....	30
M.	Konsep Penelitian.....	31
BAB III METODOLOGI PENELITIAN		32
A.	Populasi dan Sampel	32
B.	Variabel Penelitian	32
1.	Identifikasi variabel utama	32
2.	Klasifikasi variabel utama	32
3.	Definisi operasional variabel utama	33
C.	Bahan dan Alat	34
1.	Bahan.....	34
2.	Alat	35
D.	Rencana Jalannya Penelitian	35
1.	Pembuatan Serbuk Beras Angkak	35
2.	Pembuatan Ekstrak Angkak	35
3.	Pemeriksaan Fisik Ekstrak Angkak.....	35
4.	Penetapan Kadar Lembab Ekstrak Angkak.....	35
5.	Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Angkak	35
5.1	Uji Flavonoid	35
6.	Uji Antioksidan dan Ekstrak Angkak.....	36
6.1	Pembuatan Larutan Stok DPPH 100 ppm.....	36
6.2	Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Angkak 100 ppm	36
6.3	Pembuatan Larutan Stok Vitamin C 100 ppm	36
6.4	Penentuan Panjang Gelombang Maksium DPPH.....	36
6.5	Penentuan Operating Time	36
6.6	Uji Aktivitas Antioksidan	37
7.	Percobaan pendahuluan	37
8.	Pembuatan nanoemulsi ekstrak angkak.....	37
9.	Karakterisasi nanoemulsi ekstrak angkak	37
10.	Komposisi formula krim nanoemulsi ekstrak angkak (Bernatoniene et al., 2011 & Gaikwad et al., 2011).....	38
11.	Pembuatan sediaan krim nanoemulsi ekstrak angkak	38
12.	Uji Mutu Fisik dan Stabilitas Sediaan Krim	38
12.1	Penentuan Tipe Emulsi Sediaan Krim Nanoemulsi Ekstrak Angkak Tipe O/W.....	38
12.2	Uji Organoleptis Sediaan Krim Nanoemulsi Ekstrak Angkak Tipe O/W	38

12.3	Uji Homogenitas Sediaan Krim Nanoemulsi Ekstrak Angkak Tipe O/W	39
12.4	11.4 Uji Daya Sebar Sediaan Krim Nanoemulsi Ekstrak Angkak Tipe O/W	39
12.5	Uji Daya Lekat Sediaan Krim Nanoemulsi Ekstrak Angkak Tipe O/W	39
12.6	Uji Viskositas Sediaan Krim Nanoemulsi Ekstrak Angkak Tipe O/W	39
12.7	Uji pH Sediaan Krim Nanoemulsi Ekstrak Angkak Tipe O/W	39
12.8	Uji <i>Freeze and Thaw</i>	39
13.	Uji Iritasi Krim	40
14.	Uji sel difusi <i>Franz</i>	41
E.	Analisa Hasil	42
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		44
1.	Hasil Pembuatan Serbuk Beras Angkak	44
2.	Hasil Pembuatan Ekstrak Angkak	44
3.	Hasil Penetapan Sifat Fisik Ekstrak Angkak	45
4.	Hasil Penetapan Kadar Lembab Serbuk Beras Angkak dan Ekstrak Angkak	45
5.	Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Ekstrak Angkak	46
6.	Hasil Uji Antioksidan Ekstrak Angkak	47
6.1	Penentuan panjang gelombang maksimum	47
6.2	Hasil penentuan operating time	47
6.3	Hasil pengujian aktivitas antioksidan	47
7.	Percobaan Pendahuluan	49
8.	Hasil pengujian stabilitas mutu fisik sediaan krim	52
8.1	Hasil uji organoleptis krim	52
8.2	Hasil uji homogenitas krim	53
8.3	Hasil uji tipe krim	53
8.4	Hasil uji viskositas	54
8.5	Hasil uji daya lekat	55
8.6	Hasil uji daya sebar	57
8.7	Hasil uji pH.	59
8.8	Hasil uji stabilitas krim dengan metode uji pemisahan fase dengan metode <i>freeze and thaw</i>	61
9.	Hasil Uji Keamanan	61
10.	Hasil Uji Daya Penetrasi sel difusi <i>Franz</i>	63
10.1	Pembuatan kurva kalibrasi ekstrak angkak dalam dapar fosfat 7,4	63
10.2	Uji Penetrasi Sediaan	63
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		67
A.	Kesimpulan	67

B. Saran.....	67
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN.....	76

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Angkak	5
Gambar 2. Struktur Umum Flavonoid	7
Gambar 3. Struktur Antosianin	7
Gambar 4. Struktur Kimia Tween	14
Gambar 5. Struktur Kimia Gliserin	16
Gambar 6. Potongan Struktur PEG.	17
Gambar 7. Struktur Kulit.....	24
Gambar 8. Difusi <i>Franz</i>	28
Gambar 9. Konsep Penelitian.....	31
Gambar 10. Skema jalannya penelitian.....	43
Gambar 11. Hasil IC ₅₀ ekstrak angkak dan vitamin C	48
Gambar 12. Hasil uji viskositas krim	55
Gambar 13. Hasil uji daya lekat krim	56
Gambar 14. Hasil uji daya sebar krim kontrol negatif hari ke-1 dan hari ke-21... 58	58
Gambar 15. Hasil uji daya sebar krim ekstrak angkak hari ke-1 dan hari ke-21 .. 58	58
Gambar 16. Hasil uji daya sebar krim nanoemulsi hari ke-1 dan hari ke-21	59
Gambar 17. Hasil uji pH krim.....	60
Gambar 18. Grafik kurva baku pembanding.....	63
Gambar 19. Jumlah kumulatif krim terpenetrasi tiap waktu.....	64
Gambar 20. Fluks (kecepatan penetrasi) tiap waktu	65

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Ketentuan kekuatan antioksidan	11
Tabel 2. Definisi operasional variabel utama.....	33
Tabel 3. Komposisi formula krim nanoemulsi ekstrak angkak.....	38
Tabel 4. Skor derajat edema.....	40
Tabel 5. Skor derajat eritema	40
Tabel 6. Skor derajat iritasi	41
Tabel 7. Rendemen berat serbuk terhadap berat kering beras angkak	44
Tabel 8. Hasil persentase rendemen ekstrak beras angkak	45
Tabel 9. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak angkak	45
Tabel 10. Penetapan kadar lembab serbuk dan ekstrak beras angkak.....	46
Tabel 11. Hasil uji flavonoid ekstrak angkak.....	46
Tabel 12. Hasil uji aktivitas antioksidan	48
Tabel 13. Data skrining surfaktan dan ko-surfaktan serta perbandingan surfaktan dan ko-surfaktan	50
Tabel 14. Data formula dengan nilai PDI rendah	51
Tabel 15. Hasil uji organoleptis krim.....	52
Tabel 16. Hasil uji homogenitas krim	53
Tabel 17. Hasil uji tipe krim	54
Tabel 18. Uji viskositas krim	54
Tabel 19. Uji daya lekat krim.....	56
Tabel 20. Uji daya sebar krim	57
Tabel 21. Uji pH krim	60
Tabel 22. Uji <i>Freeze and Thaw</i>	61

Tabel 23. Hasil uji iritasi primer	62
Tabel 24. Hasil uji iritasi okuler.....	62
Tabel 25. Data jumlah kumulatif krim terpenetrasi	64
Tabel 26. Data fluks krim terpenetrasi.....	65

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil izin kode etik kehewananan	77
Lampiran 2. Hasil ukuran partikel nanoemulsi terpilih	78
Lampiran 3. Hasil zeta potensial nanoemulsi terpilih.....	79
Lampiran 4. Gambar penelitian	80
Lampiran 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak angkak.....	86
Lampiran 6. Perhitungan rendemen berat beras angkak menjadi serbuk beras angkak.....	87
Lampiran 7. Perhitungan rendemen ekstrak	88
Lampiran 8. Hasil penetapan kadar lembab serbuk dan ekstrak beras angkak...	88
Lampiran 9. Hasil uji antioksidan ekstrak angkak.....	89
Lampiran 10. Data hasil uji organoleptis krim	91
Lampiran 11. Data hasil uji tipe krim	92
Lampiran 12. Data hasil uji pH krim	92
Lampiran 13. Data hasil uji homogenitas krim.....	95
Lampiran 14. Data hasil uji viskositas krim	96
Lampiran 15. Data hasil uji daya lekat krim.....	99
Lampiran 16. Data hasil uji daya sebar krim	102
Lampiran 17. Data hasil uji pemisahan fase dengan metode <i>Freeze and thaw</i> .	113
Lampiran 18. Hasil Uji keamanan primer dan okuler krim pada kelinci.....	113
Lampiran 19. Hasil uji daya penetrasi krim.....	115

DAFTAR SINGKATAN

DPPH	1,1 <i>Diphenyl-2-picrylhydrazyl</i>
IC ₅₀	Inhibitory Concentration
IIO	Indeks iritasi okuler
IIPR	Indeks Iritasi Primer
KEA	Krim Ekstrak Angkak
KN	Kontrol Negatif
KNE	Krim Nanoemulsi Ekstrak angkak

INTISARI

PUTRI, DENIA ISRA. 2018. FORMULASI KRIM NANOEMULSI EKSTRAK ANGKAK, SERTA UJI PENETRASI, STABILITAS DAN KEAMANANNYA, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Angkak merupakan beras yang difermentasi menggunakan kapang *Monascus sp.* Angkak mengandung senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan alami, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai antikerut. Angkak dibuat dalam bentuk ekstrak, kemudian dalam upaya mencapai efek yang optimum diperlukan sistem penghantaran yang baik yaitu dalam bentuk nanoemulsi. Untuk memudahkan penggunaan maka dibentuk dalam sediaan krim. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak angkak, formulasi nanoemulsi yang baik dan formulasinya dalam bentuk sediaan krim serta diuji daya penetrasi dan keamanannya.

Nanoemulsi dibuat dengan pencampuran fase minyak, surfaktan dan ko-surfaktan terpilih, ekstrak angkak dan fase air, kemudian diputar dengan *ultra turrax* kecepatan 1500 rpm selama 30 menit. Krim dibuat kedalam tipe minyak dalam air (M/A). Krim dibuat dalam 3 formula dimana formula 1 sebagai kontrol negative (KN), formula 2 sebagai krim ekstrak angkak (KEA) dan formula 3 sebagai krim nanoemulsi ekstrak angkak (KNE). Aktivitas antioksidan ekstrak angkak diuji dengan metode DPPH. Krim diuji stabilitas, keamanan dengan nilai indeks iritasi primer dan okuler dan diuji penetrasi dengan sel difusi *Franz*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak angkak memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 2,60 ppm. Nanoemulsi terpilih dengan perbandingan surfaktan dan kosurfaktan yaitu, tween 80 dan gliserin (1:3) yang memiliki ukuran globul 152.267 nm, indeks polidispersitas 0,271 dan zeta potesial sebesar -14 mV. KNE memiliki daya penetrasi yang lebih tinggi dibandingkan KEA. Jumlah kumulatif ekstrak angkak terpenetrasi selama 2 jam dari KNE sebesar $2.288,02 \pm 1,43 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ sedangkan KEA sebesar $766,26 \pm 0,53 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Hasil keamanan KNE menunjukkan bahwa krim sedikit iritasi dengan nilai IIPR sebesar 1,67 dan untuk IIO tidak iritasi dengan nilai 0.

Kata kunci: ekstrak angkak, aktivitas antioksidan, nanoemulsi, krim, uji daya penetrasi, stabilitas, iritasi kulit, iritasi mata.

ABSTRACT

PUTRI, DENIA ISRA. 2018. FORMULATION OF NANOEMULSION CREAM OF ANGKAK EXTRACT AND PENETRATION, STABILITY AND SAFETY TESTS. MINITHESIS. PHARMACEUTICAL FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Angkak (*red yeast rice*) was a rice obtained by fermentation using *Monascus sp.* Angkak contained flavonoid compound with potency of natural antioxidant, so it can be used as anti wrinkle. Angkak was made in form of extract, then in order to achieve an optimum effect use of angkak extract needed a good delivery systems in the form of nanoemulsion. And to easy of use then nanoemulsi formed in cream. Purpose of the research was to know antioxidant activity of angkak extract, a good nanoemulsion formulation and its cream preparation that was examined for penetration test and safety.

Nanoemulsion was made by mixing the oil phase, surfactant and co-surfactant selected, red yeast rice extract and water phase, then rotated with *ultra turrax* speed of 1500 rpm for 30 minutes. Cream made into a type of oil in water (O / W). Cream was divided into three formulas, where in: formula 1 was negative control (KN), formula 2 was angkak extract cream (KEA), and formula 3 was nanoemulsion angkak extract cream (KNE). Antioxidant activity of angkak extract was examined by using DPPH method. Cream tested stability, safety test with primary irritation index value and ocular and penetration tested by *Franz* diffusion cells.

The results of the research indicated that the angkak extract had potent antioxidant activity with IC_{50} value of 2.60 ppm. Nanoemulsion selected with a ratio of surfactant and cosurfactant, tween 80 and glycerin (1:3) with globule size of 152.267 nm, polydispersity index of 0.271 and zeta potential of -14 mV. KNE had higher penetration test than KEA. The cumulative amount of angkak extract penetrated for 2 hours of KNE of $2288.02 \pm 1.43 \text{ ug / cm}^2$ while the KEA for $766.26 \pm 0.53 \text{ ug / cm}^2$. Safety test showed KNE that the cream a little irritation with IIPR value of 1.67 and for IIO no irritation to the value of 0.

Key words: *Angkak extract, antioxidant activity, non-emulsion, cream, penetration test, stability, skin irritation, eye irritation.*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pada keadaan normal, secara fisiologis sel memproduksi radikal bebas sebagai konsekuensi logis reaksi biokimia dalam kehidupan aerobik yang berperan dalam fagositosis, fertilitas, sintesis DNA dan protein (Mates *et al.* 1999). Dengan adanya faktor pertambahan usia, proses metabolisme seseorang akan menurun termasuk detoksifikasi radikal bebas dalam tubuh. Apabila radikal bebas tidak segera ditangkap oleh senyawa antioksidan, maka kerusakan material genetik akan terjadi dan akan berdampak lebih lanjut munculnya penyakit degeneratif.

Antioksidan adalah zat yang dapat menetralkan radikal bebas. Hal ini disebabkan karena antioksidan mampu memberikan pasangan elektron pada elektron bebas yang radikal sehingga tidak liar lagi (Kosasih 2004). Terdapat dua macam antioksidan yaitu antioksidan alami maupun sintesis. Antioksidan alami berfungsi sebagai penangkap, penstabil radikal dan peredam oksigen singlet (Gordon 1990).

Angkak merupakan produk fermentasi menggunakan kapang *Monascus* sp. berasal dari negara China. Pembuatan pertama dilakukan oleh Dinasti Ming yang berkuasa di China pada abad ke-14 sampai abad ke-17 (Ardiansyah 2005). Warna merah angkak selain berpotensi sebagai pengganti warna merah sintetis sebagai sumber antioksidan alami, yang saat ini penggunaannya sangat luas pada berbagai produk makanan. Kapang *Monascus purpureus* yang ditumbuhkan pada beras sebagai substrat dapat menghasilkan pigmen kuning, merah dan orange. Pigmen yang dihasilkan oleh angkak mengandung zat antosianin dari kelompok flavonoid yang mempunyai antioksidan kuat yang dapat meningkatkan daya tahan tubuh (Purbani 2007). Pigmen warna utama yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus* pada fermentasi angkak adalah monaskorubrin dan monaskoflavin (Anonim 2008).

Berdasarkan penelitian sebelumnya ekstrak angkak memiliki efektivitas sebagai antioksidan karena memiliki kandungan flavonoid, yaitu antosianin. Pada penelitian ini akan dilakukan pengujian aktivitas antioksidan terhadap ekstrak angkak dengan metode DPPH (*1,1 Diphenyl-2-picrylhidrazyl*). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil, parameter yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ialah IC_{50} (konsentrasi substrat untuk menghasilkan 50% reduksi dari DPPH) (Molyneux 2003). Dalam upaya mencapai efek yang optimum penggunaan ekstrak angkak, diperlukan sistem penghantaran yang baik, yaitu seperti bentuk nanoemulsi. Nanoemulsi adalah sistem emulsi dengan bentuk transparan, fase minyak dalam air yang distabilkan oleh surfaktan atau lapisan film molekul surfaktan yang memiliki ukuran tetesan dari 50-500 nm (Shakeel *et al.* 2008). Dengan ukuran tersebut, globul dapat terpenetrasi baik dan menembus epidermis, sehingga ekstrak angkak yang terlarut dalam globul akan banyak berpenetrasi menyebabkan meningkatnya efektivitas antioksidan di dalam epidermis. Nanoemulsi ekstrak angkak dibuat dengan variasi perbandingan surfaktan dan kosurfaktan yang baik. Nanoemulasi meskipun memiliki rentang ukuran tetesan yang sama seperti mikroemulsi, berbeda dalam aspek struktural dan stabilitas termodinamika jangka panjang. Nanoemulsi dapat diberikan dalam beberapa bentuk sediaan, seperti cairan, krim, semprotan, gel, aerosol, dan busa.

Nanoemulsi adalah penghantar yang potensial bagi kosmetik terkontrol. Nanoemulsi dapat mengoptimalkan dispersi zat aktif ke dalam lapisan kulit tertentu (Guglielmini 2008). Oleh karena itu, untuk memudahkan penggunaan serta untuk mendapatkan efek maksimal dibuat sediaan yang cocok. Salah satu sediaan yang dapat digunakan adalah sediaan topikal dalam bentuk krim. Hal ini bertujuan untuk meningkatkan efektivitas dan kenyamanan secara accentabilitas penggunaan pada kulit. Selain itu, bentuk sediaan krim memiliki keuntungan antara lain selain mudah diaplikasikan lebih nyaman digunakan pada kulit. Krim akan diuji keamanannya dengan uji iritasi menggunakan kelinci. Untuk mengetahui daya penetrasi sediaan krim nanoemulsi ekstrak angkak dilakukan uji sel difusi *Franz*. Sel difusi *Franz* adalah suatu sel difusi tipe vertikal untuk

mengetahui penetrasi zat secara *in vitro* dengan menggunakan kulit hewan uji tikus.

B. Rumusan Masalah

Perumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Apakah ekstrak angkak memiliki aktivitas sebagai antioksidan?
2. Jenis dan perbandingan surfaktan dan ko-surfaktan apakah yang dapat menghasilkan nanoemulsi ekstrak angkak yang baik?
3. Bagaimana daya penetrasi sediaan krim nanoemulsi ekstrak angkak dan krim ekstrak angkak dengan metode sel difusi *Franz*?
4. Apakah krim nanoemulsi ekstrak angkak dan krim ekstrak angkak dapat menyebabkan iritasi primer dan okuler?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak angkak dengan nilai IC_{50} .
2. Mengetahui jenis dan perbandingan surfaktan dan ko-surfaktan yang dapat menghasilkan nanoemulsi ekstrak angkak yang baik.
3. Mengetahui kemampuan penetrasi sediaan krim nanoemulsi ekstrak angkak dan krim ekstrak angkak dengan menggunakan metode sel difusi *Franz*.
4. Mengetahui apakah krim nanoemulsi ekstrak angkak dan krim ekstrak angkak aman digunakan.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai pengaruh jenis dan perbandingan surfaktan dan ko-surfaktan pada formulasi nanoemulsi ekstrak angkak serta memberikan informasi tentang kemampuan penetrasi, stabilitas dan keamanan krim nanoemulsi ekstrak angkak dan krim ekstrak angkak.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Beras

Kata "beras" mengacu pada bagian butir padi (gabah) yang telah dipisah dari sekam. Sekam secara anatomi 'lemma' (bagian yang menutupi). Beras sendiri secara biologi adalah bagian biji padi yang terdiri dari aleuron (lapis terluar yang sering kali ikut terbuang dalam proses pemisahan kulit), endospermia (tempat sebagian besar pati dan protein beras) dan embrio (yang merupakan calon tanaman baru). Bagian terbesar beras didominasi oleh pati (sekitar 80-85%). Beras juga mengandung protein, mineral dan air. Pati beras dapat digolongkan menjadi dua kelompok yaitu amilosa (pati dengan struktur tidak bercabang) dan amilopektin (pati dengan struktur bercabang) (Anonim 2008).

Ada tiga jenis warna beras yang ada di dunia ini, pertama adalah beras putih, kedua ada beras merah dan yang ketiga adalah beras hitam yang hanya tumbuh pada daerah tertentu. Beberapa macam dan warna yang berbeda secara genetik antara lain beras biasa yang berwarna putih agak transparan karena hanya memiliki sedikit aleuron, dan kandungan amilosa umumnya sekitar 20%. Beras merah, akibat aleuron mengandung gen yang memproduksi antosianin yang merupakan sumber warna merah atau ungu dan beras hitam yang sangat langka disebabkan aleuron dan endospermia memproduksi antosianin dengan intensitas tinggi sehingga berwarna ungu pekat mendekati hitam (Anonim 2008).

B. Angkak

1. Pengertian Angkak

Angkak adalah beras yang difermentasi, sehingga penampakannya berwarna merah. Angkak telah digunakan secara luas di Asia sebagai pewarna makanan alami pada ikan, keju Cina, anggur merah, dan sosis (Blanc *et al.* 1995). Angkak sudah sejak lama digunakan sebagai bahan bumbu, pewarna, dan obat karena mengandung bahan bioaktif berkhasiat. Jamur *Monascus purpureus*

menghasilkan pigmen yang tidak toksik dan tidak mengganggu sistem kekebalan tubuh (Fardiaz dan Zakaria 1996).

Manfaat angkak sering dikaitkan sebagai obat dari berbagai macam penyakit seperti demam berdarah, hiperkolesterol, hipertensi (Wang *et al.* 2000) cit Ardiansyah (2005), berhasil membuktikan bahwa angkak dapat menurunkan jumlah lemak darah tikus Sprague Dawley (SD). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa zat aktif yang terdapat di dalam angkak, yaitu lovastatin, memiliki potensi antioksidan karena dapat meningkatkan aktivitas glutathione peroksidase dan mengatasi stres oksidatif (Anonim 2008; Zhou *et al.* 2002).



Gambar 1. Angkak

2. Klasifikasi Jamur *Monascus purpureus*

Pembuatan angkak menggunakan Genus *Monascus* yang terkenal adalah *Monascus purpureus* yang mempunyai koloni tipis rata berwarna kemerahan dan dikenal sebagai jamur untuk membuat angkak (Sudarmadji 1988). Klasifikasi dan morfologi *Monascus purpureus* menurut Alexopoulos *et al.* (1996) cit Kusumawati (2004), jamur *Monascus purpureus* diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisio	: Amastigomycotina
Sub Divisio	: Ascomycotina
Classis	: Ascomycetes
Sub Classis	: Plectomycetidae
Ordo	: Eurotiales
Familia	: Trichocomaceae
Genus	: <i>Monascus</i>

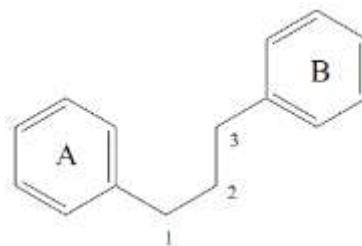
Jamur *Monascus* memproduksi angkak dengan mengkonversi substrat zat tepung menjadi beberapa metabolit, seperti alkohol, agen antibiotik, antihipertensi, enzim, asam lemak, senyawa aromatik, keton, asam organik, pigmen, dan vitamin (Yongsmith 1999). Pigmen merah angkak terbentuk karena keluarnya cairan granular melewati ujung-ujung hifa *Monascus purpureus*. Ketika kultur masih muda, cairan ekskresinya tidak berwarna, tetapi secara bertahap terjadi perubahan menjadi kemerahan. Hal ini terjadi karena pada waktu kultur masih muda, semua nutrisi dipakai untuk pertumbuhan dan setelah dewasa sebagian nutrisi dipakai untuk membentuk pigmen angkak (Carels & Shepherd 1977).

Pigmen yang dihasilkan oleh kapang tersebut memiliki warna merah, merah keunguan dan kuning. Pigmen tersebut mempunyai kelarutan yang tinggi, warnanya stabil, mudah dicerna dan tidak bersifat karsinogenik. Monaskorubin dan monaskoflavin merupakan pigmen utama pada angkak, yang keduanya dibedakan berdasarkan kelarutannya dalam eter. Pigmen merah dari angkak ini biasa digunakan untuk mewarnai bahan makanan seperti pasta ikan, daging asin, acar dan produk-produk berlemak lainnya (Winarno dan Titi S.R 1994).

3. Kandungan Kimia

Banyak hasil penelitian yang menunjukkan kemampuan dari angkak dalam menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Aktivitas hipokolesterolemik ini dimungkinkan dengan adanya kandungan beberapa bentuk senyawa monakolin, utamanya monakolin K (Endo & Hasumi 1984; Endo *et al.* 1986). Angkak selain mengandung beberapa bentuk senyawa monakolin yang merupakan inhibitor enzim HMG CoA reduktase juga mengandung beberapa senyawa lain termasuk asam lemak jenuh dan tak jenuh seperti asam palmitat, asam linoleat, asam oleat, dan asam stearat yang memiliki kemungkinan untuk membantu mengontrol kadar kolesterol dalam darah (Zhang *et al.* 1998 dalam Wei *et al.* 2003). Selain itu, angkak juga memiliki kandungan kelompok senyawa flavonoid seperti antosianin (bentuk glikon dari antosianidin) merupakan salah satu kelompok bahan alam pada tumbuhan (Pietta 2000).

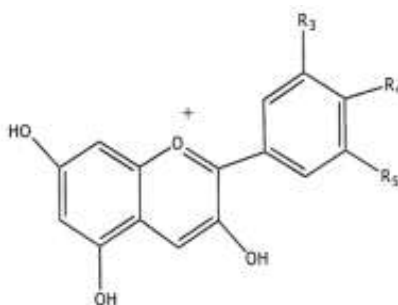
3.1 Flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder, kemungkinan keberadaannya dalam daun dipengaruhi oleh adanya proses fotosintesis sehingga daun muda belum terlalu banyak mengandung flavonoid (Markham 1988).



Gambar 2. Struktur Umum Flavonoid (Redha 2010).

Dalam tumbuhan flavonoid terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang mungkin terdapat dalam satu tumbuhan dalam bentuk kombinasi glikosida (Harbone 1987). Flavonoid merupakan senyawa pereduksi yang baik, menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim. Flavonoid bertindak sebagai penampung yang baik radikal hidroksi dan superoksida dengan demikian melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak. Aktivitas antioksidannya dapat menjelaskan mengapa flavonoid tertentu merupakan komponen aktif tumbuhan yang digunakan secara tradisional untuk mengobati gangguan fungsi hati (Robinson 1995).

3.2 Antosianin. Antosianin merupakan senyawa berwarna yang bertanggung jawab untuk kebanyakan warna merah, biru, dan ungu pada buah, sayur, dan tanaman hias. Senyawa ini termasuk dalam golongan flavonoid. Struktur utamanya ditandai dengan adanya dua cincin aromatik benzena (C_6H_6) yang dihubungkan dengan tiga atom karbon yang membentuk cincin.



Gambar 3. Struktur Antosianin (Simanjuntak *et al.* 2014)

Substitusi beberapa gugus kimia pada rangka antosianin dapat mempengaruhi warna yang diekspresikan oleh antosianin dan kestabilannya. Penambahan gugus glikosida atau peningkatan jumlah gugus hidroksi bebas pada cincin A menyebabkan warna cenderung biru dan relatif tidak stabil. Penambahan jumlah gugus metoksi atau metilasi akan menyebabkan warna cenderung merah dan relatif stabil.

C. Metode Penyarian

1. Ekstraksi

Ekstraksi atau penyarian adalah proses pemisahan zat yang terdapat dalam sel ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut dalam cairan penyari. Pada umumnya penyarian akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan penyari semakin luas. Metode dasar penyarian adalah maserasi, perkolasi dan soxhletasi. Pemilihan terhadap keempat metode tersebut disesuaikan untuk memperoleh sari yang diinginkan. Penyarian merupakan peristiwa perpindahan massa zat aktif yang semula berada di dalam sel ditarik oleh cairan penyari sehingga zat aktif larut oleh cairan penyari (Anonim 1986).

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok diluar pengaruh cahaya matahari langsung (Anonim 1979).

Metode ekstraksi yang dapat digunakan antara lain:

1.1 Maserasi. Maserasi (macerace = mengairi, melunakkan) adalah cara ekstraksi yang paling sederhana (Ansel 1989). Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel.

Pada penyarian dengan maserasi, perlu dilakukan pengadukan. Pengadukan diperlukan untuk meratakan konsentrasi larutan diluar butir serbuk

simplisia, sehingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga adanya derajat perbedaan konsentrasi yang sekecil-kecilnya antara larutan di dalam sel dengan larutan di luar sel (Anonim 1986).

1.2 Perkolasi. Teknik ini biasanya dilakukan dengan cara melewati pelarut pada bahan -bahan tumbuhan yang akan diekstrak. Pelarut yang digunakan tidak mudah menguap dan dapat melarutkan senyawa kimia terkandung dalam simplisia dengan baik. Dalam teknik perkolasi dibutuhkan pelarut lebih banyak (Anonim 1986).

1.3 Soxhletasi. Soxhletasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dan pada umumnya dilakukan dengan alat khusus (soxhlet) sehingga terjadi ekstraksi kontinyu, jumlah pelarut relatif konstan karena adanya pendingin balik (Anonim 2000).

2. Cairan Penyari

Selain cara penyarian, cairan penyari juga dapat mempengaruhi proses penyarian. Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria murah, mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tak mudah menguap, selektif, tidak mempengaruhi zat berkhasiat dan diperbolehkan oleh peraturan. Untuk penyarian simplisia Farmakope Indonesia menetapkan bahwa sebagai cairan penyari adalah air, etanol, etanol - air atau eter (Anonim 1986).

D. Antioksidan

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang mempunyai satu elektron/lebih yang tidak berpasangan biasanya pada rumus bangunnya ditulis dengan titik tebal dibelakang atom atau molekul ($R\bullet$). Radikal bebas di dalam tubuh sangat berbahaya sebab untuk memperoleh pasangan elektron, ia amat reaktif dan merusak jaringan (Afriansyah 1996). Meskipun suatu radikal tidak bermuatan positif atau negatif, spesi semacam ini sangat reaktif karena adanya elektron yang tidak berpasangan.

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) atau reduktan. Senyawa antioksidan memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu

menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif (Winarsih 2007). Sumber-sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi 2 kelompok antara lain: antioksidan sintetik yaitu antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia dan antioksidan alami yaitu antioksidan hasil ekstraksi bahan alami (Ardiansyah 2007). Antioksidan sintetik BHA, BHT, PG, dan TBHQ sering digunakan untuk mengontrol terjadinya oksidasi, tetapi tidak menutup kemungkinan antioksidan tersebut menyebabkan efek karsinogenik. Antioksidan alami secara toksikologi lebih aman untuk dikonsumsi dan lebih mudah diserap oleh tubuh daripada antioksidan sintesis (Madhavi *et al.* 1996).

E. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengukuran perbandingan aktivitas antioksidan akan dilakukan secara spektrofotometri UV-Vis dengan metode yang sudah baku, sederhana, serta memerlukan sedikit sampel yaitu menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil 2-pikril hidrazil*) dimana perubahan warna yang khas dari senyawa ini dapat juga diamati secara visual (Blois 1958).

Metode DPPH dipilih karena sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Senyawa antioksidan akan bereaksi dengan radikal DPPH melalui mekanisme donasi atom hidrogen dan menyebabkan terjadinya peluruhan warna DPPH dari ungu ke kuning yang diukur pada panjang gelombang 517 nm (Hanani 2005). Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hidrogen. Pengurangan intensitas warna mengindikasikan peningkatan kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas. Dengan kata lain, aktivitas antioksidan diperoleh dengan menghitung jumlah pengurangan intensitas warna ungu DPPH yang sebanding dengan pengurangan konsentrasi larutan DPPH melalui pengukuran absorbansi larutan uji (Prakash *et al.* 2001).

Aktivitas penangkapan radikal bebas dapat dinyatakan dengan satuan persen (%) aktivitas antioksidan. Nilai ini diperoleh dengan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{(\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel})}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Nilai 0 % berarti sampel tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti pengujian aktivitas antioksidan perlu dilanjutkan dengan pengenceran sampel untuk mengetahui batas konsentrasi aktivitasnya. Suatu bahan dapat dikatakan aktif sebagai antioksidan bila presentase aktivitas antioksidannya lebih atau sama dengan 50 % (Parwata *et al.* 2009).

Dalam metode DPPH terdapat parameter IC_{50} . Parameter IC_{50} merupakan parameter yang menunjukkan konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkap radikal bebas sebanyak 50% yang diperoleh melalui persamaan regresi. Semakin kecil IC_{50} suatu senyawa uji maka senyawa tersebut semakin efektif sebagai penangkal radikal bebas (Rohman 2005). Secara spesifik, ketentuan kekuatan antioksidan ditunjukkan pada Tabel 1 dibawah ini:

Tabel 1. Ketentuan kekuatan antioksidan

Nilai IC_{50}	Kekuatan
<50 ppm	Sangat kuat
50-100 ppm	Kuat
100-150 ppm	Sedang
150-200 ppm	Lemah
>200 ppm	Sangat Lemah

Sumber: Hidajat (2005)

F. Nanoemulsi

1. Pengertian

Nanoemulsi adalah sistem emulsi dengan bentuk transparan, fase minyak dalam air yang distabilkan oleh surfaktan atau lapisan film molekul surfaktan yang memiliki ukuran tetesan dari 50-500 nm (Shakeel *et al.* 2008). Dengan ukuran tetesan kecil, diharapkan bisa meningkatkan penyerapan obat.

Tidak seperti mikroemulsi (yang juga transparan atau translucent dan termodinamika stabil) nanoemulsi hanya stabil secara kinetis. Namun, jangka panjang stabilitas fisik nanoemulsi (tanpa flokulasi atau koalesensi) membuat

mereka unik dan kadang-kadang disebut sebagai "mendekati termodinamika stabilitas" (Tadros *et al.* 2004;. Girard *et al.* 1997).

Nanoemulsi adalah penghantar yang potensial bagi kosmetik terkontrol. Nanoemulsi dapat mengoptimalkan dispersi zat aktif ke dalam lapisan kulit tertentu (Guglielmini 2008). Sistem nanoemulsi dapat menembus kulit pada jangkauan yang lebih besar dibandingkan komposisi topikal biasa. Nanoemulsi memiliki luas area permukaan yang lebih luas dan energi bebas yang lebih besar dari makroemulsi, sehingga nanoemulsi merupakan sistem transport yang lebih efektif.

Pada penelitian ini digunakan metode emulsi spontan. Emulsifikasi spontan hampir sama dengan metode nanopresipitasi yang digunakan dalam pembuatan nanopartikel polimer. Namun, polimer yang digunakan adalah minyak. Prosedur ini melibatkan pembuatan dua fase, satu surfaktan hidrofilik yang mengandung fase berair dan fasa organik atau minyak lainnya seperti mygliol yang mengandung obat, surfaktan yang larut dalam minyak seperti Span dan pelarut organik yang dapat larut sebagian seperti aseton atau etil asetat. Fase organik ditambahkan tetes demi tetes ke fase berair dengan pengadukan (walaupun sebaliknya, menambahkan air ke minyak sama layaknya jika terjadi emulsi W / O) untuk membentuk emulasi nano kecil (Yuvraj Singh *et al.* 2016).

Pendekatan energi tinggi memanfaatkan perangkat mekanik yang mampu menghasilkan energi yang dapat mengecilkan ukuran butiran, misalnya, homogenizer tekanan tinggi, microfluidizer dan metode sonikasi (Gutierrez *et al.* 2008; Leong *et al.* 2009; Velikov *et al.* 2008; Wooster *et al.* 2008). Ukuran minimum butiran yang dapat diproduksi menggunakan pendekatan masing-masing tergantung pada beberapa faktor yang berbeda. Pengecilan ukuran partikel menggunakan pendekatan berenergi tinggi tergantung pada jenis dan kondisi operasi homogenizer (misalnya intensitas energi, waktu dan suhu), komposisi sampel (misalnya jenis dan konsentrasi minyak serta emulsifier) dan sifat fisikokimia fase komponen (misalnya tegangan antarmuka dan viskositas) (McClements 2011).

2. Keuntungan Nanoemulsi

Daya tarik emulsi nano untuk aplikasi di perawatan pribadi dan kosmetik serta dalam perawatan kesehatan adalah karena keuntungan sebagai berikut:

(1) Tidak seperti mikroemulsi (yang membutuhkan tinggi konsentrasi surfaktan, biasanya sekitar 20% dan lebih tinggi), nanoemulsi bisa disiapkan dengan menggunakan konsentrasi surfaktan rendah, surfaktan konsentrasi terdiri antara 3-10% mungkin cukup. (2) Ukuran kecil tetesan untuk penggunaan kulit memungkinkan mereka untuk deposit secara seragam pada kulit. (3) Nanoemulsi cocok untuk efisiensi warna bahan aktif melalui kulit (Sonneville-AUBRUN *et al.* 2004). Tegangan taktis O / W memungkinkan peningkatan penetrasi zat aktif. (4) Karena ukurannya yang kecil, nanoemulsi bisa penetrasi melalui permukaan kulit "kasar" dan ini meningkatkan penetrasi aktif. (5) Sifat fluiditas sistem (pada konsentrasi rendah minyak) serta tidak adanya pengental mungkin memberi mereka karakter dan estetika kulit yang menyenangkan. (6) Nanoemulsi bisa diaplikasikan sebagai pengganti untuk liposom dan vesikula (yang jauh lebih sedikit stabil) dan mungkin dalam beberapa kasus untuk membangun fase kristal cair lamellar di sekitar tetesan nanoemulsi. (7) Nanoemulsi merupakan langkah utama dalam nanokapsul dan sintesis nanospheres nanopresipitasi (Fessi *et al.* 1989) dan polikondensasi antarmuka digabungkan dengan emulsifikasi spontan (Bouchemal *et al.* 2004; Montasser *et al.* 2001).

3. Komposisi Nanoemulsi

3.1 Fase Minyak. Komponen minyak yang digunakan memiliki kemampuan berpenetrasi berbeda yang nantinya akan mengembang di daerah grup ekor dari lapisan surfaktan sehingga mempengaruhi HLB. Minyak rantai pendek dapat berpenetrasi pada area grup ekor lebih baik daripada rantai panjang alkana sehingga dapat menurunkan HLB. Asam lemak jenuh seperti asam laurat, miristat, dan kaprat dan asam lemak tidak jenuh seperti asam oleat, linoleat, dan linolenat telah banyak dipelajari sejak lama dan ditemukan memiliki sifat peningkat penetrasi masing-masing. Ester asam lemak seperti ester dari etil atau meyl asam laurat, miristat, dan oleat pun dapat digunakan sebagai fase minyak. Jika fase minyak akan ditambahkan obat, disarankan menggunakan obat lipofilik

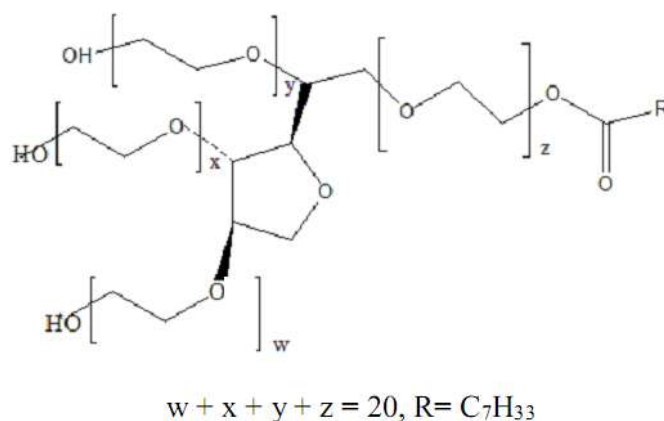
atau yang memiliki kelarutan tinggi didalam fase minyak tersebut agar dapat meminimalkan volume dalam formulasi (Talegaonkar *et al.* 2008)

3.2 Surfaktan dan Ko-Surfaktan. Surfaktan memegang peranan yang penting dalam pembentukan nanoemulsi. Surfaktan menurunkan tegangan permukaan antara fase minyak dan air, menurunkan jumlah energi yang dibutuhkan untuk merusak globul, dan menghasilkan ukuran globul yang lebih kecil (Silva *et al.* 2011). Karena nanoemulsi memiliki luas permukaan yang besar, konsentrasi surfaktan yang tinggi dibutuhkan sebagai penstabil (Mason *et al.* 2006).

Penggunaan surfaktan rantai tunggal secara sendirian pada kebanyakan kasus tidak cukup dapat menurunkan tegangan permukaan agar dapat membentuk nanoemulsi. Keberadaan kosurfaktan dapat meningkatkan fleksibilitas dari film. Penambahan alkohol rantai pendek hingga sedang (C_3 - C_8) biasa dijadikan kosurfaktan yang nantinya dapat menurunkan tegangan permukaan dan meningkatkan fluiditas permukaan (Talegaonkar *et al.* 2008).

4. Monografi Bahan

4.1 Tween-80 (polioksietilen 20 sorbitan monooleat).



Gambar 4. Struktur Kimia Tween (Rowe dkk. 2009)

Tween 80 merupakan suatu emulgator, surfaktan non ionik, pelarut, pembasah, dan bahan penyuspensi. Tween 80 digunakan secara luas dalam kosmetik dan sediaan topikal. Tween 80 dianggap tidak toksik, serta tidak iritan.

Tween 80 adalah cairan berminyak yang berwarna kuning pada suhu 25°C dengan berat molekul sebesar 1310 dan specific gravity sebesar 1,08.

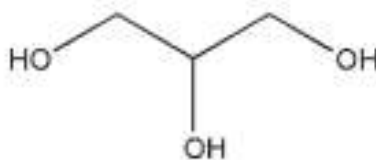
Tween 80 adalah seri ester asam lemak parsial sorbitol dan anhidrida yang dikopolimerisasi dengan kira-kira 20, 5, atau 4 mol etilena oksida untuk masing-masing mol sorbitol dan anhidridanya. Produk yang dihasilkan oleh karena itu merupakan campuran molekul dengan ukuran yang bervariasi daripada satu senyawa seragam tunggal. Polisorbat yang mengandung 20 unit oxyethylene adalah surfaktan nonionik hidrofilik yang digunakan secara luas sebagai agen pengemulsi dalam pembuatan emulsi farmasi minyak dalam minyak yang stabil. Polisorbat juga dapat digunakan sebagai agen pelarut untuk berbagai zat termasuk minyak esensial dan larut dalam minyak, vitamin, dan sebagai bahan pembasahan dalam perumusan suspensi oral dan parenteral (Rowe *et al.* 2009).

4.2 Cremophor RH40. Polioksil 40 minyak jarak terhidrogenasi terjadi sebagai pasta putih sampai kekuningan, semi padat pada 20°C yang mencair pada 30°C. Ini memiliki bau khas yang sangat samar dan hampir tidak berasa dalam larutan berair. Dapat digunakan sebagai agen pengemulsi, agen pelarut, agen pembasahan. Turunan turunan minyak kovoksietilena adalah campuran kompleks dari berbagai komponen hidrofobik dan hidrofilik. Dalam masing-masing rentang memiliki tingkat etoksilasi (mol) / unit PEG yang berbeda seperti yang ditunjukkan oleh akhiran numeriknya (n). Struktur kimia dari minyak kastor terhidrogenasi polietoksilat dianalogikan dengan minyak jarak polietoksilat dengan pengecualian bahwa ikatan rangkap dalam rantai lemak telah jenuh oleh hidrogenasi (Rowe *et al.* 2009).

4.3 Etanol 96%. Etanol adalah cairan yang jelas, tidak berwarna, bergerak, dan mudah menguap dengan sedikit bau dan bau khas rasa. Etanol memiliki titik didih 78,15°C dan berat jenis 0.8119-0.8139 pada suhu 20°C. Etanol dan larutan etanol berair dari berbagai konsentrasi banyak digunakan dalam formulasi farmasi dan kosmetik. Meskipun etanol terutama digunakan sebagai pelarut, ia juga digunakan sebagai desinfektan, dan dalam larutan sebagai pengawet antimikroba. Solusi etanol topikal digunakan dalam pengembangan sistem pengiriman obat transdermal sebagai peningkat penetrasi. Etanol juga telah

digunakan dalam pengembangan sediaan transdermal sebagai ko-surfaktan (Rowe *et al.* 2009).

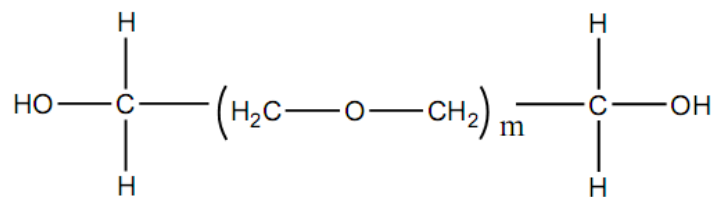
4.4 Gliserin.



Gambar 5. Struktur Kimia Gliserin. (Rowe dkk. 2009)

Gliserin adalah cairan bening, tidak berwarna, tidak berbau, kental, higroskopik. Memiliki rasa manis, kira-kira 0,6 kali lebih manis seperti sukrosa. dengan rumus molekul $C_3H_8O_3$ dan berat molekul 92.09, dengan titik didih $290^{\circ}C$ (dengan dekomposisi). Dalam formulasi farmasi dan kosmetik topikal, gliserin digunakan terutama untuk sifat humektan dan emoliennya. Gliserin digunakan sebagai pelarut atau pelarut dalam krim dan emulsi. Dalam formulasi parenteral, gliserin digunakan terutama sebagai pelarut dan ko-pelarut. Dalam larutan oral, gliserin digunakan sebagai pelarut, zat pemanis, bahan pengawet antimikroba, dan zat penguat viskositas. Ini juga digunakan sebagai plasticizer dan coating film. Gliserin bersifat higroskopis. Gliserin murni tidak rentan terhadap oksidasi oleh atmosfer di bawah kondisi penyimpanan biasa, namun menguraikan pemanasan dengan evolusi akrolein beracun. Campuran gliserin dengan air, etanol (95%), dan propilen glikol secara kimiawi stabil (Rowe *et al.* 2009).

4.5 PEG 400 (Polyethylene Glycol 400). PEG atau α -Hydro- ω -hydroxypoly (oxy-1,2-ethanediyl) adalah suatu emulgator, suspending agent, dan penstabil emulsi. PEG telah digunakan secara luas dalam formulasi produk parenteral, topikal, mata, oral, dan rektal. PEG memiliki bentuk yang berbeda tergantung dari berat molekulnya. PEG 400 berwujud cair dan dapat larut di air, aseton, alkohol, benzen, gliserin, dan glikol. pH PEG 400 dalam larutan konsentrasi 5% adalah 4,0-7,0. PEG memiliki viskositas pada suhu $25^{\circ}C$ sebesar 90 mm²/s (cSt) dan HLB sebesar 13,1. PEG bersifat stabil, hidrofilik, dan tidak iritan terhadap kulit (Rowe *et al.* 2009).



Gambar 6. Potongan Struktur PEG. (Rowe dkk. 2009)

4.6 Minyak zaitun. Minyak zaitun adalah campuran gliserida asam lemak yang berfungsi sebagai oleaginous vehicle (pembawa berminyak). Minyak zaitun digunakan sebagai suatu pelarut dan kondisioner pada produk kosmetik kulit dan rambut. Minyak zaitun hampir tidak larut dalam etanol (95%). Minyak zaitun larut dalam eter, kloroform, petroleum ringan (50-70°C), dan karbon disulfida. Indeks refractive minyak zaitun adalah 1,4657–1,4893. Minyak zaitun umumnya dianggap bahan tambahan yang tidak iritan dan tidak toksik (Rowe *et al.* 2009).

4.7 Minyak Kedelai. Dalam sediaan farmasi, emulsi minyak kedelai terutama digunakan sebagai sumber lemak dalam rejimen nutrisi parenteral total (TPN). Meskipun minyak lainnya, seperti minyak kacang, telah digunakan untuk tujuan ini, minyak kedelai sekarang disukai karena dikaitkan dengan reaksi merugikan yang lebih sedikit. Emulsi yang mengandung minyak kedelai juga telah digunakan sebagai pembawa untuk pemberian obat oral dan intravena. Selain itu, minyak kedelai telah digunakan dalam perumusan banyak obat sistem pengantaran seperti liposom, mikrosfer, emulsi kering, sistem pengemulsi sendiri, mikroemulsi, nanoemulsi dan nanokapsul, suspensi padat dalam minyak, dan banyak emulsi. Minyak kedelai juga bisa digunakan dalam kosmetik dan dikonsumsi sebagai minyak nabati. Karena minyak kedelai memiliki sifat emolien, digunakan sebagai aditif mandi dalam perawatan kondisi kulit kering (Rowe *et al.* 2009).

4.8 Minyak Kelapa Murni. Minyak kelapa umumnya terjadi sebagai massa putih ke cahaya kuning atau minyak mentah tanpa warna atau terang kuning, dengan sedikit aroma khas kelapa dan ringan. Minyak kelapa dimurnikan adalah massa putih atau hampir putih. Bentuk yang diambil minyak kelapa tergantung pada suhu, itu terjadi sebagai kuning pucat menjadi cairan tak

berwarna antara 28°C dan 30°C, sebagai semi padat pada 20°C, dan sebagai padatan kristal rapuh keras di bawah 15°C. Minyak kelapa dapat digunakan dalam formulasi berbagai sediaan lainnya termasuk emulsi dan nanoemulsi, larutan intranasal, dan kapsul dan supositoria rektum. Selain itu, minyak kelapa telah dilaporkan memiliki aktivitas antijamur terhadap berbagai jenis *Candida* (Rowe *et al.* 2009).

4.9 Asam oleat. Cairan berwarna coklat kekuningan sampai coklat pucat dengan bau dan rasa seperti lemak yang khas. Asam oleat terutama terdiri dari (Z)-9-oktadekenoat bersama dengan jumlah asam jenuh dan tak jenuh yang berbeda-beda. Ini mungkin mengandung antioksidan yang sesuai. Asam oleat digunakan sebagai zat pengemulsi dalam makanan dan formulasi farmasi topikal. Ini juga telah digunakan sebagai penambah penetrasi dalam formulasi transdermal, untuk meningkatkan ketersediaan hayati obat terlarut dalam formulasi tablet, dan sebagai bagian dari kendaraan dalam kapsul gelatin lembut, dalam formulasi mikroemulsi topikal, dalam pemberian obat pengantar obat oral oral. sistem, dalam mukoadesif oral, dan inhaler dosis terukur. Perilaku fase dispersi sonatifik asam oleat telah dijelaskan, dan mekanisme untuk tindakan penetrasi topikal yang meningkatkan asam oleat telah dipresentasikan (Rowe *et al.* 2009).

4.10 Isopropil Miristat. Isopropil miristat adalah cairan viskositas viskositas yang jelas, tidak berwarna, praktis tidak berbau yang mengental sekitar 5°C. Ini terdiri dari ester dari propan-2-ol dan asam lemak berat molekul jenuh tinggi, terutama asam myristic. Isopropil miristat digunakan sebagai penambah penetrasi untuk formulasi transdermal, dan telah digunakan bersamaan dengan ultrasound terapeutik dan iontophoresis. Ini telah digunakan dalam emulsi pelepasan minyak gelatin berkepanjangan minyak dan di berbagai mikroemulsi. Mikroemulsi semacam itu dapat meningkatkan bioavailabilitas secara topikal dan aplikasi transdermal (Rowe *et al.* 2009).

4.11 Aqua demineralisata. Aqua demineralisata (Aqua DM / Air demineral) dibuat dari air minum yang dimurnikan menggunakan penukaran ion yang cocok. Aquademineral memiliki pemerian berupa cairan jernih, tidak

berwarna, tidak berbau dan tidak memiliki rasa. Air demineral memiliki rumus kimia H_2O (Departemen Kesehatan RI, 1979).

5. Karakterisasi Nanoemulsi

5.1 Ukuran Partikel dan Distribusi Ukuran. Tetapan-ukuran dan distribusi untuk setiap nanoemulsion diukur dengan menggunakan alat uji *Particle Size Analyzer* (PSA). Ukuran partikel sampel digambarkan oleh ukuran zeta partikel rata-rata (PS) dan distribusi ukuran dengan indeks polidispersitas (PDI). Pengukuran dilakukan dalam rangkap tiga untuk setiap kelompok.

5.2 Zeta Potensial. *Zeta potensial* masing-masing nanoemulsion ditentukan menggunakan alat uji *Particle Size Analyzer* (PSA). Data muatan partikel (mV) dikumpulkan lebih dari 30 pada pembacaan. Pengukuran *zeta potensial* dilaporkan sebagai rata-rata tiga pengukuran yang terpisah.

G. Krim

1. Definisi Krim

Krim adalah suatu sediaan semipadat yang terbuat dari campuran 2 fase (minyak dan air) yang tidak dapat saling campur, sehingga membutuhkan emulgator yang sesuai (semisolid emulsion) untuk pencampurannya. Krim ditujukan untuk aplikasi pada kulit (external application). Krim adalah suatu sistem emulsi dengan karakteristik mudah dioleskan, konsistensi dan sifat reologinya tergantung pada jenis emulsi (o/w atau w/o), sifat dan konsentrasi zat padat yang terdapat di dalam formula. Emulsi tipe o/w digunakan sebagai basis tercuci. Sementara itu, emulsi tipe w/o digunakan sebagai emollient dan cleansing (Sulaiman dan Kuswahyuning 2008).

Sifat umum sediaan krim ialah mampu melekat pada permukaan tempat pemakaian dalam waktu yang cukup lama sebelum sediaan ini dicuci atau dihilangkan. Krim dapat memberikan efek mengkilap, berminyak, melembapkan, dan mudah tersebar merata, mudah berpenetrasi pada kulit, mudah/sulit diusap, mudah/sulit dicuci air (Anwar 2012). Keuntungan sediaan krim ialah kemampuan penyebarannya yang baik pada kulit, memberikan efek dingin karena lambatnya penguapan air pada kulit, memberikan efek dingin karena lambatnya penguapan

air pada kulit, mudah dicuci dengan air, serta pelepasan obat yang baik. Selain itu tidak terjadi penyumbatan dikulit dan krimnya tampak putih dan bersifat lembut kecuali krim asam stearat (Juwita 2013).

2. Tipe Krim

Krim merupakan sistem emulsi yang terdiri dari dua fase cair yang tidak tercampurkan, dimana salah satu fase bersifat polar (misalnya fase air) dan fase lainnya bersifat nonpolar (misalnya fase minyak). Jika fase minyak didispersikan sebagai globul dalam fase kontinu berair, maka sistem tersebut merupakan krim dengan tipe minyak dalam air (m/a) atau *oil-in-water* (o/w). Tipe ini lebih banyak disukai karena mudah diaplikasikan pada kulit, tidak berminyak, dan mudah dicuci. Sedangkan jika fase air didispersikan kedalam fase kontinu minyak, maka sistem tersebut adalah krim tipe air dalam minyak (a/m) atau *water in oil* (w/o) (Martin 1983).

3. Monografi Bahan

3.1 Stearil alkohol. Stearil alkohol seperti potongan keras, putih, wax, serpih, atau butiran dengan sedikit bau khas dan rasa hambar. Stearil alkohol stabil terhadap asam dan alkali dan biasanya tidak menjadi tengik. Ini harus disimpan dalam wadah tertutup dengan baik di tempat sejuk dan kering. Stearil alkohol memiliki titik lebur 59.4-59.8°C, dan memiliki kelarutan dalam kloroform, etanol (95%), eter, heksana, propilena glikol, benzena, aseton, dan minyak nabati, tidak larut dalam air. Stearil alkohol digunakan dalam kosmetik dan krim farmasi topikal dan salep sebagai agen penguat. Dengan meningkatkan viskositas emulsi, stearil alkohol meningkatkan kestabilannya. Stearil alkohol juga memiliki sifat pengemulsi emolien dan lemah, dan digunakan untuk meningkatkan kapasitas menahan air dari salep, mis. petrolatum. Sebagai tambahan, stearil alkohol telah digunakan dalam tablet dengan pelepasan terkontrol, supositoria, dan mikrosfer. Dan juga telah diteliti untuk digunakan sebagai penambah penetrasi transdermal (Rowe *et al.* 2009).

3.2 Asam stearat. Asam stearat adalah padatan kristal putih keras, putih atau agak samar, agak mengkilap, atau putih putih atau kekuningan. Ini memiliki bau sedikit (dengan ambang bau 20 ppm) dan rasa menyarankan lemak. Asam

stearat adalah bahan yang stabil, dapat ditambahkan bahan antioksidan. Asam stearat diproduksi oleh hidrolisis lemak dengan terus menerus dengan suhu tinggi di ruang bertekanan tinggi, asam stearat juga dapat diproduksi dengan hidrogenasi biji kapas dan minyak nabati lainnya, asam stearat berasal dari sumber lemak yang dapat dimakan kecuali jika digunakan untuk penggunaan luar, dimana sumber lemak non-aktif dapat digunakan. Asam stearat banyak digunakan dalam formulasi farmasi oral dan topikal. Dalam formulasi topikal, asam stearat digunakan sebagai zat pengemulsi dan pelarut. Bila dinetralkan sebagian dengan alkali atau trietanolamina, asam stearat digunakan dalam pembuatan krim. Asam stearat yang dinetralkan sebagian ini membentuk dasar krim bila dicampur dengan 5-15 kali berat cairan cairnya sendiri, penampilan dan plastisitas krim ditentukan oleh proporsi alkali yang digunakan. Asam asam digunakan sebagai zat pengerasan dalam supositoria gliserin. Asam stearat juga banyak digunakan pada produk kosmetik dan makanan (Rowe *et al.* 2009).

3.3 Setil alkohol. Setil alkohol seperti waxy, serpihan putih, granul, dan kotak. Ini memiliki bau khas samar dan rasa hambar. Setil alkohol stabil dengan adanya asam, alkali, cahaya, dan udara. Setil alkohol harus disimpan dalam wadah tertutup dengan baik di tempat sejuk dan kering. Setil alkohol memiliki titik lebur 45-52°C dan 49°C untuk bahan murni. Kelarutan dalam etanol (95%) dan eter, kelarutan meningkat dengan meningkatnya suhu; praktis tidak larut dalam air. Mampu meleleh dengan lemak, parafin padat dan padat, dan isopropil miristat. Setil alkohol banyak digunakan dalam kosmetik dan formulasi farmasi seperti supositoria, bentuk pelepasan padat yang dimodifikasi, emulsi, lotion, krim, dan salep. Dalam lotion, krim, dan salep setil alkohol digunakan karena sifat emolien, air-absorptif, dan pengemulsi. Ini meningkatkan stabilitas, meningkatkan tekstur, dan meningkatkan konsistensi. Sifat emolien adalah karena penyerapan dan retensi setil alkohol di epidermis, di mana ia melumasi dan melembutkan kulit sambil memberikan tekstur 'beludru' yang khas. Setil alkohol juga digunakan untuk sifat penyerapan airnya dalam emulsi air dalam minyak. Misalnya, campuran petrolatum dan setil alkohol (19: 1) akan menyerap 40-50% berat airnya (Rowe *et al.* 2009).

3.4 Propil Paraben. Pemerian dari propil paraben ($C_{10}H_{12}O_3$) atau biasa disebut sebagai nipasol yaitu berupa serbuk hablur kecil, tidak berwarna. Kelarutannya sangat sukar larut dalam air, sukar larut dalam air mendidh, mudah larut dalam etanol dan dalam eter. Jarak lebur propil paraben yaitu antara 96^0 dan 99^0 (Anonim 2014). Fungsi dalam sediaan krim adalah sebagai antifungi atau pengawet. Propil paraben pada konsentrasi 0,01-0,6% digunakan dalam preparasi topikal (Rowe *et al.* 2009).

3.5 Metil Paraben. Metil paraben ($C_8H_8O_3$) sebagai kristal tak berwarna atau bubuk kristal putih. Ini tidak berbau atau hampir tidak berbau dan memiliki sedikit rasa panas. Memiliki titik lebur $125-128^0C$ dan memiliki kelarutan dalam gliserin 1 dalam 60, propilen glikol 1 dalam 5, air 1 dalam 50 pada 50^0C dan 1 dalam 30 pada 80^0C . Metil paraben banyak digunakan sebagai pengawet antimikroba dalam kosmetik, produk makanan, dan formulasi farmasi. Metil paraben bisa digunakan sendiri atau dikombinasikan dengan paraben lain atau dengan agen antimikroba lainnya. Dalam kosmetik, metil paraben adalah pengawet antimikroba yang paling sering digunakan. Metil paraben (0,18%) bersama propilparaben (0,02%) telah digunakan untuk pelestarian berbagai formulasi farmasi parenteral (Rowe *et al.* 2009).

3.6 Tween 80. Tween 80 (polisorbat 80) memiliki rumus molekul ($C_{64}H_{124}O_{26}$). Tween 80 sebagai *emulsifying agent*, *weeting agent*, dan *solubilizing agent*. Tween digunakan sebagai *emulsifying agent* dengan konsentrasi 1-15% pada emulsi tipe minyak dalam air dan digunakan sebagai *emulsifying agent* dengan konsentrasi 1-10% yang dikombinasikan dengan *emulsifier* hidrofilik pada emulsi minyak dalam air (Rowe *et al.* 2009).

3.7 Aquadest. Air murni yang diperoleh dengan penyulingan dan digunakan sebagai pelarut.

4. Evaluasi Mutu Sediaan Krim

4.1 Evaluasi organoleptis. Evaluasi organoleptis lebih mengarah pada pemeriksaan fisik sediaan krim yang meliputi pemeriksaan warna, bau dan ada atau tidaknya pemisahan fase pada sediaan krim yang dibuat (Juwita 2013).

4.2 Evaluasi homogenitas. Evaluasi homogenitas bertujuan untuk mengetahui kehomogenan sediaan krim termasuk kehomogenan zat aktif saat di aplikasikan pada kulit, kehomogenan ini sangat berkaitan dengan aktifitas dari zat aktif tersebut saat diaplikasikan pada kulit (Zain 2012).

4.3 Evaluasi tipe krim. Evaluasi tipe krim bertujuan untuk mengetahui tipe sediaan krim yang dibuat apakah telah sesuai dengan tujuan pembuatan, selain itu untuk mengetahui apakah terjadi perubahan tipe krim (fase inverse) pada waktu penyimpanan tertentu yang dapat di uji dengan uji pengenceran maupun dengan uji disperse zat warna (Pakki *et al.* 2009).

4.4 Evaluasi viskositas. Evaluasi viskositas sediaan krim bertujuan untuk mengetahui konsistensi dan kestabilan sediaan krim selama penyimpanan (Sari 2014).

4.5 Evaluasi daya lekat. Evaluasi daya lekat bertujuan untuk mengetahui kemampuan daya lekat krim pada permukaan kulit (Utami 2015).

4.6 Evaluasi daya sebar. Evaluasi daya sebar sangat berkaitan dengan sifat penyebaran krim ketika digunakan, dimana semakin besar daya sebar maka zat aktif akan terdistribusi dengan baik (Swastika *et al.* 2013).

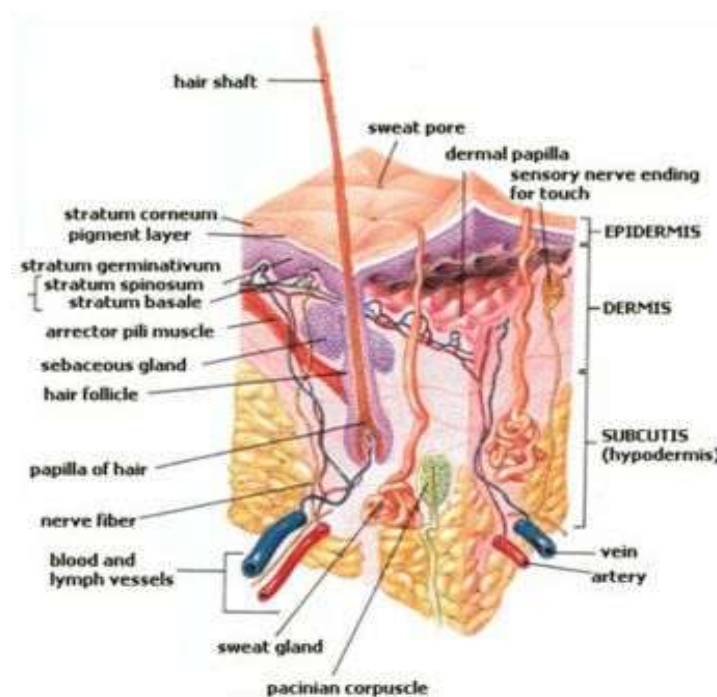
4.7 Evaluasi pH. Evaluasi pH sediaan krim ini perlu diperhatikan karena akan mempengaruhi kondisi kulit yang kontak dengan sediaan krim, yakni bila pH krim terlalu asam akan mengiritasi kulit (Zain 2012).

4.8 Evaluasi stabilitas sediaan krim dengan metode *Freeze and Thaw*. Penyimpanan pada siklus *freeze thaw* dilakukan untuk melihat stabilita fisik krim setelah disimpan selama tiga puluh hari pada suhu yang berbeda yaitu 4° C dan 40° C. Penyimpanan dilakukan dalam enam siklus dan satu siklus berlangsung selama tiga hari pada masing-masing pada masing-masing suhu (Hamsinah 2016).

H. Kulit

1. Definisi Kulit

Kulit merupakan organ tubuh terbesar yang menutupi seluruh tubuh manusia dengan berat mencapai sepertiga total berat tubuh manusia. Kulit memiliki beberapa fungsi. Salah satu fungsi kulit adalah fungsi perlindungan terhadap komponen-komponen lingkungan seperti energi radiasi sinar matahari, cuaca, senyawa kimia, dan tenaga fisik. Kulit dibagi menjadi 3 lapisan utama, yaitu epidermis, dermis, dan hipodermis (So 2008).



Gambar 7. Struktur Kulit (So 2008)

2. Anatomi Kulit

Secara histologis kulit tersusun atas 3 lapisan utama yaitu lapisan epidermis atau kutikel lapis dermis (korium, kutis vera, *true skin*), dan lapis subkutis (*hypodermis*). Subkutia ditandai dengan adanya jaringan ikat longgar dan sel-sel yang membentuk jaringan lemak. Lapisan epidermis dan dermis dibatasi oleh taut dermoepidermal (Kusantati *et al.* 2008).

2.1 Epidermis. Epidermis merupakan jaringan epitel berlapis pipih, dengan sel epitel yang mempunyai lapisan tertentu. Lapisan ini terdiri dari 5

lapisan yaitu stratum germinativum, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum, dan stratum korneum.

2.2 Dermis. Dermis merupakan jaringan ikat fibroelastis, dimana di dalamnya didapatkan banyak pembuluh-pembuluh darah, pembuluh-pembuluh limfa, serat-serat saraf, kelenjar keringat dan kelenjar minyak, yang masing-masing mempunyai arti fungsional untuk kulit itu sendiri. Lapisan ini jauh lebih tebal daripada epidermis, terbentuk oleh jaringan elastis dan fibrosa padat dengan elemen seluler, kelenjar, dan rambut sebagai adneksa kulit.

2.3 Subkutis. Lapisan ini merupakan kelanjutan dermis, terdiri atas jaringan ikat longgar berisi sel-sel lemak di dalamnya. Sel lemak merupakan sel bulat, besar, dengan inti terdesak ke pinggir karena sitoplasma lemak yang bertambah. Sel-sel ini membentuk kelompok yang dipisahkan satu dengan yang lainnya oleh trabekulua dan fibrosa. Lapisan sel lemak disebut panikulus adiposus, berfungsi sebagai cadangan makanan. Di lapisan ini terdapat ujung-ujung saraf tepi, pembuluh darah, dan saluran getah bening. Tebal jaringan lemak tidak sama, bergantung pada lokasi. Lapisan lemak ini juga berfungsi sebagai bantalan.

3. Penetrasi Obat Melalui Kulit

Penetrasi melintasi stratum korneum dapat terjadi karena adanya proses difusi melalui dua mekanisme, yaitu (Lund 1994):

3.1 Absorpsi transepidemal. Jalur absorpsi transepidermal merupakan jalur difusi melalui stratum korneum yang terjadi melalui dua jalur, yaitu jalur transelular yang berarti jalur melalui protein di dalam sel dan melewati daerah yang kaya akan lipid, dan jalur paraselular yang berarti jalur melalui ruang antar sel. Penetrasi transepidemal berlangsung melalui dua tahap. Pertama, pelepasan obat dari pembawa ke stratum korneum, tergantung koefisien partisi obat dalam pembawa dan stratum korneum. Kedua, difusi melalui epidermis dan dermis dibantu oleh aliran pembuluh darah dalam lapisan dermis.

3.2 Absorpsi transappendageal. Jalur absorpsi transappendageal merupakan jalur masuknya obat melalui folikel rambut dan kelenjar keringat disebabkan karena adanya pori-pori diantaranya, sehingga memungkinkan obat

berpentiasi. Penetrasi obat melalui jalur transepidermal lebih baik daripada jalur transappendageal, karena luas permukaan pada jalur transappendageal lebih kecil.

I. Uji Iritasi

Uji iritasi merupakan bagian dari uji toksisitas. Uji ini dirancang untuk menyediakan informasi mengenai efek-efek lokal, terutama iritasi dan korosi pada kulit. Proses peradangan yang tergolong sebagai iritasi kulit dicirikan dengan adanya edema dan eritema. Kajian iritasi kulit dirancang untuk meniru pemaparan pada manusia dan biasa dilakukan pada kelinci. Uji ini dilakukan untuk mendapatkan nilai indeks iritasi kulit primer/primary dermal irritation index (IIPR) dan nilai indeks iritasi okuler (IIO) dari suatu bahan.

Pengujian iritasi atau alergi in vivo adalah dengan uji iritasi pada kulit. Uji iritasi krim dilakukan pada 6 ekor kelinci sesuai metode Draize. Pada pengujian ini sediaan dioleskan pada area kulit tertentu kemudian diamati selama 72 jam (minimal 24 jam). Untuk setiap keadaan kulit diberi nilai sesuai metode skoring dari Draize sebagai berikut:

1. Eritema
 - a. Tidak ada eritema = 0
 - b. Sangat sedikit eritema (hampir tidak terlihat) = 1
 - c. Eritema tepi berbatas jelas = 2
 - d. Eritema sedang sampai berat = 3
 - e. Eritema berat (merah bit) sampai sedikit membentuk kerak = 4
2. Edema
 - a. Tidak ada edema = 0
 - b. Sangat sedikit edema (hampir tidak terlihat) = 1
 - c. Edema tepi berbatas jelas = 2
 - d. Edema sedang (tepi naik ± 1 mm) = 3
 - e. Edema berat (tepi naik lebih dari 1 mm dan meletus keluar daerah penjanan) = 4

Indeks iritasi dihitung dengan cara menjumlahkan nilai dari setiap kelinci percobaan setelah 24 dan 72 jam pemberian sampel iritan, kemudian dibagi

jumlah hewan coba. Penilaian iritasinya sebagai berikut (Sani dan Lukmayani 2010):

0,0 = tidak mengiritasi

0,1-0,4 = sangat sedikit iritasi

0,4-1,9 = sedikit iritasi

2,0-4,9 = iritasi sedang

5,0-8,0 = iritasi parah

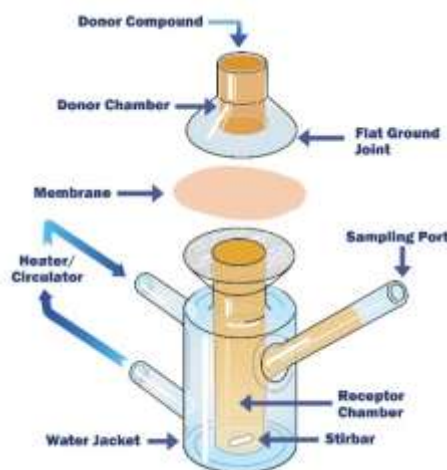
J. Uji Daya Penetrasi *in vitro* dengan Metode Sel Difusi Franz

Studi penetrasi *in vitro* dilakukan untuk mengukur kecepatan dan jumlah senyawa yang melewati kulit, di mana hal tersebut bergantung pada obat, bentuk sediaan, bahan eksipien, bahan peningkat penetrasi, dan variabel formulasi lainnya (Witt & Bucks 2003).

Sel difusi *Franz* adalah suatu sel difusi tipe vertikal untuk mengetahui penetrasi zat secara *in vitro*. Sel difusi *Franz* mempunyai komponen berupa kompartemen donor, kompartemen reseptor, tempat pengambilan sampel, cincin O, dan *water jacket*. Kompartemen donor berisi zat yang akan diuji penetrasinya. Kompartemen reseptor berisi cairan berupa air atau dapar fosfat pH 7,4 yang mengandung albumin. Tempat pengambilan sampel adalah tempat pada sel difusi *Franz* untuk mengambil cairan dari kompartemen reseptor dengan volume tertentu. *Water jacket* berfungsi untuk menjaga temperatur tetap konstan selama sel difusi *Franz* dioperasikan.

Pada sel difusi *Franz* antara kompartemen donor dan kompartemen reseptor terpisahkan oleh suatu pelapis atau potongan kulit. Membran yang digunakan dalam uji penetrasi ini dapat digunakan membran berupa kulit hewan. Membran diletakkan di antara kedua kompartemen yang dilengkapi O-ring untuk menjaga letak membran. Selanjutnya kompartemen reseptor diisi dengan larutan penerima. Suhu pada sel dijaga dengan sirkulasi air menggunakan *water jacket* di sekeliling kompartemen reseptor. Sediaan yang akan diuji diaplikasikan pada membran kulit. Kemudian pada interval waktu tertentu cairan dari kompartemen reseptor diambil dan segera digantikan dengan cairan yang sama sejumlah cairan

yang diambil. Selanjutnya jumlah obat yang terpenetrasi mealui kulit dapat dianalisis dengan metode yang sesuai (Walters & Brain, 2002: Fan, Mitchnick, & Loxley, 2007).



Gambar 8. Difusi Franz (Witt., Bucks, 2003)

Jumlah kumulatif krim yang terpenetrasi per luas area difusi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) dihitung dengan rumus (Thakker & Chern 2003):

$$Q = \frac{\{C_n \cdot V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \cdot S\}}{A}$$

Keterangan:

Q merupakan jumlah kumulatif zat aktif yang terpenetrasi per luas area difusi dengan satuan ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$), C_n adalah konsentrasi krim ($\mu\text{g}/\text{ml}$) pada sampling menit ke- n , V adalah volume sel difusi Franz (ml), C_i $n-1$ $i=1$ merupakan jumlah konsentrasi krim ($\mu\text{g}/\text{ml}$) pada sampling pertama (menit ke- $(n-1)$) hingga sebelum menit ke- n , S adalah volume sampling (0,5 ml), dan A adalah luas area membran (cm^2).

Kemudian dilakukan perhitungan fluks obat berdasarkan hukum Fick I:

$$J = \frac{M}{S \times t}$$

Keterangan:

Fluks (J), ($\mu\text{g cm}^{-2} \text{ jam}^{-1}$) merupakan jumlah kumulatif ekstrak yang melalui membran (μg) (M) berbanding terbalik dengan luas area difusi (cm^2) (S) dan waktu (jam) (t).

Selanjutnya dibuat grafik jumlah kumulatif krim yang terpenetrasi (μg) per luas area difusi (cm^2) terhadap waktu (jam) dan grafik fluks ($\mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$) terhadap waktu (jam).

K. Landasan Teori

Angkak merupakan produk fermentasi beras oleh kapang *Monascus purpureus*. Angkak telah lebih dahulu dikenal sebagai obat tradisional untuk berbagai penyakit infeksi, mencegah pembendungan darah (blood blockage) serta mencegah dan mengobati hiperkolesterolemia (Pattanagul *et al.* 2007; Takemoto *et al.* 2001). Pigmen yang dihasilkan oleh angkak mengandung zat antosianin dari kelompok flavonoid yang mempunyai antioksidan kuat yang dapat meningkatkan daya tahan tubuh (Purbani 2007). Pigmen juga merupakan komponen bioaktif yang utama pada angkak. Pigmen angkak terdiri dari pigmen kuning (monaskin dan ankaflavin), pigmen jingga (monaskurbin dan rubropunkatin), dan pigmen merah (monaskorubrin dan rubropunktamin) (Pattanagul *et al.* 2007). Pigmen tersebut mengandung zat antosianin dari golongan flavonoid yang menyebabkan angkak berpotensi sebagai sumber antioksidan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa zat aktif yang terdapat di dalam angkak, yaitu lovastatin, memiliki potensi antioksidan karena dapat meningkatkan aktivitas glutathione peroksidase dan mengatasi stres oksidatif (Anonim 2008; Zhou *et al.* 2002). Menurut Tisnadjaja dan Bustanussalam (2012) nilai IC_{50} pada angkak berkisar 90 sampai 110 ppm menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari angkak memiliki aktivitas antioksidan. Dari penelitian yang telah dilakukan terhadap kemampuan aktivitas antioksidan angkak, dilakukan penelitian formulasi nanoemulsi ekstrak angkak dengan variasi perbandingan surfaktan (Tween 80 dan Cremophor RH40) dan ko-surfaktan (Etanol 96%, gliserin, dan PEG 400) dengan metode emulsi spontan. Nanoemulsi adalah penghantar yang potensial bagi kosmetik terkontrol. Nanoemulsi dapat mengoptimalkan dispersi zat aktif ke dalam lapisan kulit tertentu (Guglielmini 2008). Selanjutnya dikembangkan menjadi sediaan krim nanoemulsi ekstrak angkak untuk memudahkan dalam pengaplikasian dan dalam memaksimalkan perawatan kulit melawan radikal bebas. Sediaan krim yang diketahui dapat

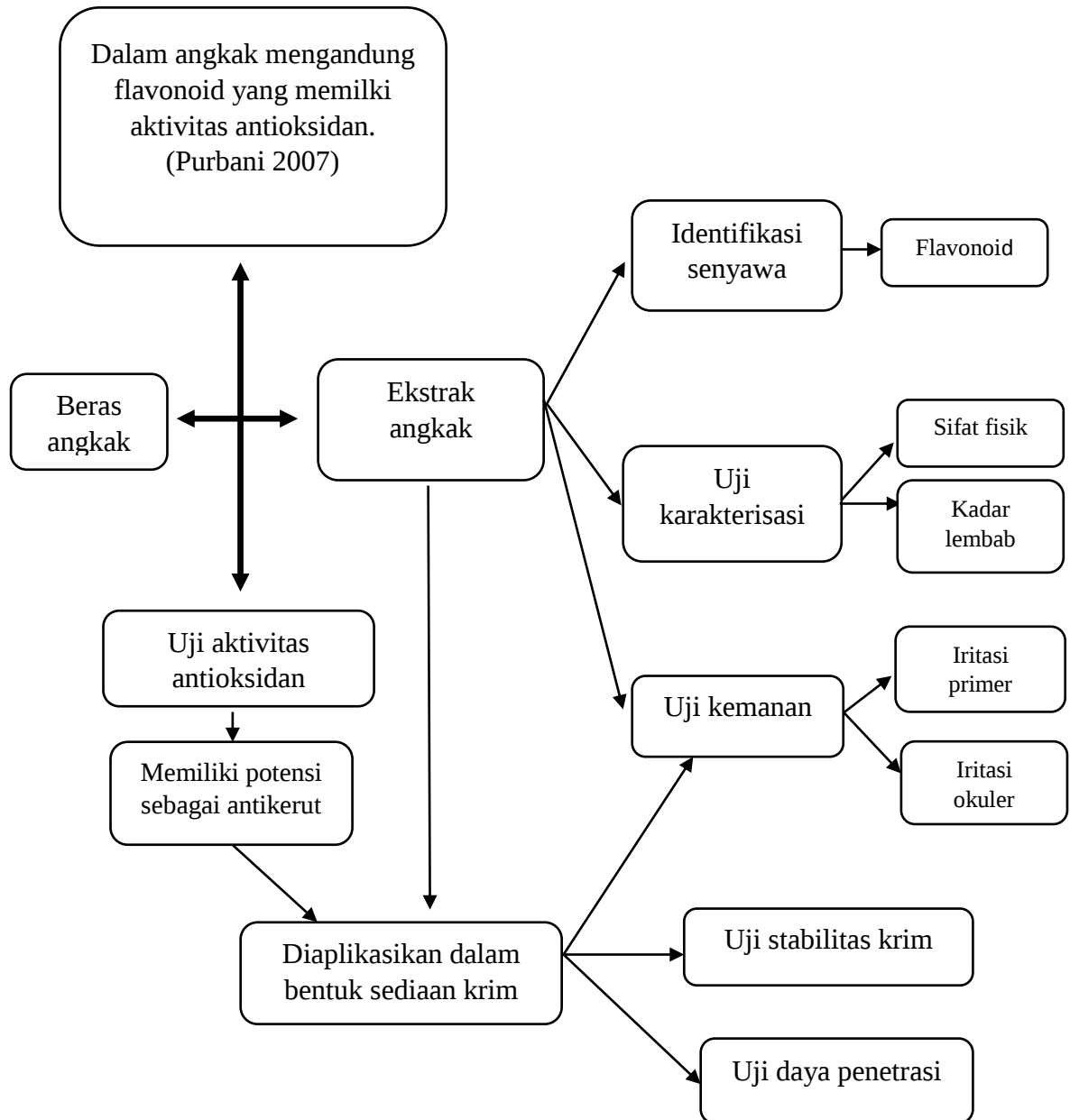
menyebar dengan mudah di kulit dan dapat menghantarkan zat aktif dengan baik. Formulasi sediaan krim ditujukan agar krim dapat menyampaikan zat aktif dengan baik dan eksipien yang berada di dalam sediaan dapat mendukung penyampaian. Krim nanoemulsi ekstrak angkak akan diuji karakteristik, stabilitas mutu fisik, uji iritasi dan daya penetrasi secara *in vitro* dengan sel difusi Franz.

L. Hipotesis

Berdasarkan uraian yang telah dijelaskan, dapat disusun hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Ekstrak angkak memiliki aktivitas antioksidan.
2. Diperoleh jenis dan perbandingan surfaktan dan ko-surfaktan untuk menghasilkan nanoemulsi ekstrak angkak yang baik.
3. Krim nanoemulsi ekstrak angkak memiliki kemampuan penetrasi yang lebih baik daripada krim ekstrak angkak.
4. Krim nanoemulsi ekstrak angkak dan krim ekstrak angkak memiliki keamanan diketahui dengan uji iritasi primer dan okuler.

M. Konsep Penelitian



Gambar 9. Konsep Penelitian

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua obyek yang menjadi sasaran penelitian Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah krim nanoemulsi ekstrak angkak yang dibuat dengan *stabilizer* surfaktan dan kosurfaktan.

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam melakukan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah beras angkak yang diperoleh dari Pasar Gede Kota Surakarta, yang di fermentasikan menggunakan kapang *Monascus purpureus*.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama adalah variabel yang diteliti langsung. Variabel utama dalam penelitian ini adalah formula dari nanoemulsi ekstrak angkak yang dibuat dengan kombinasi surfaktan dan kosurfaktan.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah metode pembuatan nanoemulsi ekstrak angkak (alat, kecepatan pengadukan dan waktu).

Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah karakteristik dari nanoemulsi (ukuran partikel nanoemulsi).

Variabel utama keempat dalam penelitian ini adalah formulasi krim nanoemulsi ekstrak angkak.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini diklasifikasikan dalam berbagai variabel, antara lain variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel terikat.

Variabel bebas yaitu variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel terikat yaitu variasi perbandingan surfaktan Tween 80, Cremophor RH40 dan kosurfaktan yang berbeda Etanol 96%, Gliserin, dan PEG 400 yang digunakan dalam formulasi nanoemulsi.

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah aktivitas antioksidan ekstrak angkak, karakterisasi nanoemulsi ekstrak angkak yang meliputi: *zeta potensial*, ukuran partikel, stabilitas fisik krim (organoleptis, homogenitas, viskositas, tipe krim, daya lekat, daya sebar, pH krim, pengujian stabilitas sediaan krim dengan metode *Freeze and Thaw*), uji iritasi krim dan daya penetrasi krim nanoemulsi ekstrak angkak.

Variabel terkendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapat tidak tersebar dan dapat diulangi oleh peneliti lain secara tepat yaitu proses pembuatan nanoemulsi ekstrak angkak.

3. Definisi operasional variabel utama

Tabel 2. Definisi operasional variabel utama

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala	Analisis data
Aktivitas antioksidan	Penurunan absorbansi DPPH setelah diberi ekstrak angkak	Spektrofotometer UV-Vis	Absorbansi dan IC ₅₀	Rasio	<i>Independent sample t-test</i>
Keamanan pada kelici					
a. Indeks iritasi primer (IIPR)	Status kulit kelinci setelah diberi sediaan	Pengamatan visual	Skala iritasi (0-4)	Ordinal	-
b. Indeks iritasi okuler (IIO)	Status mata kelinci setelah diberi sediaan	Pengamatan visual	Skala iritasi (0-5)	Ordinal	-
Uji daya penetrasi					
a. Q	Jumlah kumulatif zat yang terpenetrasi per luas area	Sel difusi <i>Franz</i> Spektrofotometer UV-Vis	Absorbansi	Rasio	<i>Repeated ANOVA</i>
b. J	Fluks (kecepatan penetrasi tiap satuan waktu) menurut hukum Fick I	Sel difusi <i>Franz</i> Spektrofotometer UV-Vis	Absorbansi	Rasio	<i>Repeated ANOVA</i>
Stabilitas Mutu Fisik Krim					
a. Tipe Krim	Tipe emulsi dalam krim	Pengamatan visual	Tipe minyak dalam air (M/A) atau air dalam minyak	Kualitatif	-

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur (A/M)	Skala	Analisis data
b. Organ oleptis krim	Perubahan bentuk fisik krim selama penyimpanan	Pengamatan Warna, bau, dan konsistensi	Warna, bau, dan konsistensi	Kualitatif	-
c. Homo genitas krim	Homogen apabila tidak ada partikel kasar	Pengamatan visual	Homogen atau tidak homogen	Kualitatif	-
d. Daya sebar krim	Penyebaran krim ketika diberi beban	Penggaris	Diameter (cm)	Rasio	<i>Paired t-test</i> dan <i>ANOVA</i>
e. Daya lekat krim	Kemampuan daya lekat krim pada permukaan kulit	Stopwatch	Waktu (detik)	Rasio	<i>Paired t-test</i> dan <i>ANOVA</i>
f. Viskositas	Konsistensi dan kestabilan krim selama penyimpanan	Viskometer	dPas	Rasio	<i>Paired t-test</i> dan <i>ANOVA</i>
g. pH krim	Tingkat keasaman atau kebasaan krim selama penyimpanan	Ph meter	Nilai pH	Rasio	<i>Paired t-test</i> dan <i>ANOVA</i>
h. <i>Freeze and thaw</i>	Stabilitas krim setelah disimpan pada suhu 4°C dan 40°C	Pengamatan visual	Pemisahan fase	Kualitatif	-

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah beras angkak, tween 80 (Merck), cremophor RH40 (Merck), etanol 96% (pro analisis, etanol 96% (teknis), gliserin (Merck), PEG 400 (Merck), Virgin Coconut Oil (Merck), Isopropyl Maristat (Merck), asam oleat (Merck), olive oil (Merck), soy bean oil (Merck), aquadest, aqua demineralisata, stearil alkohol (Merck), asam stearat

(Merck), setil alkohol (Merck), methyl paraben (Merck), propil paraben (Merck), hewan uji kelinci (*galur New Zealand*).

2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat uji ukuran partikel dan *zeta potensial Particle Size Analyzer* (Malvern), *homogenizer*, *magnetic stirrer*, *hotplate stire* (Thermo Scientific, China), *Ultraturrax* (IKA T25), timbangan analitik (Ohaus), mortir dan stamper, alat-alat gelas alat (Pyrex, Jepang) dan non gelas yang terdapat di laboratorium.

D. Rencana Jalannya Penelitian

1. Pembuatan Serbuk Beras Angkak

Beras angkak yang diperoleh dari pedagang Pasar Gede Surakarta dalam bentuk beras angkak yang sudah dikeringkan. Kemudian diserbuk dengan cara digiling dan diayak menggunakan ayakan 40.

2. Pembuatan Ekstrak Angkak

1000 gram serbuk beras angkak dibasahi dengan 7500 ml etanol 96% dan maserasi selama 5 hari disimpan dalam ruangan yang terhindar dari sinar matahari. Setelah itu maserat disaring dengan kain flanel. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan evaporator pada suhu 50°C sampai bebas etanol dan selanjutnya dioven sampai dihasilkan ekstrak kental (Depkes 2008).

3. Pemeriksaan Fisik Ekstrak Angkak

Pemeriksaan ini meliputi pemeriksaan bentuk, warna, bau, dan rasa dari ekstrak angkak.

4. Penetapan Kadar Lembab Ekstrak Angkak

Pemeriksaan kadar lembab pada ekstrak angkak ini menggunakan alat *moisture balance*, yakni dengan cara ditimbang 2 gram serbuk ekstrak angkak kemudian dimasukkan dalam alat *moisture balance* pada suhu 105°C. Nilai kadar lembab dalam satuan persen.

5. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Angkak

5.1 Uji Flavonoid. Sebanyak 1 g ekstrak angkak yang diperoleh ditambah 10 ml air panas dididihkan lalu disaring. Selanjutnya ditambah beberapa tetes HCL

pekat, kemudian ditambahkan 0,2 g bubuk Mg dan amyl alkohol kemudian dikocok kuat. Hasil akan menunjukkan warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amyl alkohol yang menandakan adanya flavonoid.

6. Uji Antioksidan dan Ekstrak Angkak

6.1 Pembuatan Larutan Stok DPPH 100 ppm. Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan etanol p.a pada labu takar 100 ml ad sampai tanda batas.

6.2 Pembuatan Larutan Stok Ekstrak Angkak 100 ppm. Ekstrak angkak ditimbang sebanyak 5 mg kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai tanda batas labu takar 50,0 ml. Selanjutnya dibuat seri pengenceran konsentrasi yaitu 2 ppm, 6 ppm, dan 8 ppm.

6.3 Pembuatan Larutan Stok Vitamin C 100 ppm. Serbuk vitamin C ditimbang sebanyak 5 mg kemudian dilarutkan dengan etanol p.a sampai tanda batas labu takar 50,0 ml. Selanjutnya dibuat seri pengenceran konsentrasi yaitu 4 ppm, 6 ppm, dan 10 ppm.

6.4 Penentuan Panjang Gelombang Maksium DPPH. Penentuan panjang gelombang (λ) maksimum larutan DPPH 100 ppm untuk uji kativitas antioksidan sampel dan vitamin C dilakukan sebagai berikut: 2,0 ml larutan DPPH 100 ppm ditambah 2,0 ml etanol p.a dan amati serapannya pada rentang 500-530 nm setelah didiamakan selama 30 menit. Panjang gelombang maksimum adalah panjang gelombang yang mempunyai nilai absorbansi paling tinggi.

6.5 Penentuan Operating Time. Penetapan *operating time* yaitu dengan mencampurkan 2,0 ml larutan DPPH 100 ppm dengan 2,0 ml larutan ekstrak dan ditambahkan etanol p.a sampai 5,0 ml, kocok sampai homogen dan amati serapannya pada panjang gelombang 517 nm. Baca absorbansinya mulai dari menit 0 sampai menit didapatkan nilai absorbansi yang stabil pada menit tertentu. Untuk penentuan *operating time* dapat ditentukan dari grafik antara waktu pembacaan dan absorbansi.

6.6 Uji Aktivitas Antioksidan. Larutan stok (ekstrak angkak dan pembanding vitamin C) yang telah dibuat seri pengenceran masing-masing diambil sebanyak 1,0 ml ditambahkan 1,0 ml larutan DPPH 100 ppm. Campuran diinkubasi selama operating time yang telah diperoleh dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum DPPH. Absorbansi yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk mengukur aktivitas penangkapan radikal bebas dari berbagai seri konsentrasi lainnya.

7. Percobaan pendahuluan

Percobaan pendahuluan dilakukan untuk menentukan kondisi percobaan terbaik dan komposisi bahan yang sesuai untuk menghasilkan sediaan nanoemulsi yang stabil dan homogen. Percobaan pendahuluan yang dilakukan adalah *screening* surfaktan dengan kosurfaktan dan perbandingan konsentrasi. *Screening* konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan dibuat dengan perbandingan konsentrasi yaitu (1:1); (1:2); (1:3); (3:1);(2:1). Selanjutnya dipilih formula yang homogen, stabil, dan memiliki ukuran yang kecil.

8. Pembuatan nanoemulsi ekstrak angkak

Pembuatan nanoemulsi ekstrak angkak diawali dengan pembuatan fase surfaktan dan kosurfaktan. Kemudian dibuat fase minyak (Virgin Coconut Oil, Isopropil Maristat, Asam Oleat, Olive Oil, dan Soybean Oil) dibuat sebanyak 10% dari fase surfaktan dan kosurfaktan. Kemudian ditimbang ekstrak angkak 5% dari volume total dan dilarutkan dalam fase minyak. Fase minyak dicampurkan dengan fase surfaktan dan kosurfaktan dengan pengadukan tetap dan fase air ditambahkan kedalamnya dengan diteteskan secara teratur.

9. Karakterisasi nanoemulsi ekstrak angkak

Penetapan distribusi ukuran partikel, indeks polidispersitas dan *zeta potensial* untuk mengetahui ukuran sediaan nanoemulsi dilakukan pengukuran ukuran dan distribusi nanopartikel menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA). Untuk mengetahui nilai *zeta potensial* diukur menggunakan *zeta potensial analyzer*.

10. Komposisi formula krim nanoemulsi ekstrak angkak (Bernatoniene et al., 2011 & Gaikwad et al., 2011).

Tabel 3. Komposisi formula krim nanoemulsi ekstrak angkak

	Bahan	F1(g/10 g)	F2(g/10 g)	F3(g/10 g)
Fase Minyak	Ekstrak angkak	-	0,025	-
	Cetostearil alkohol	0,7	0,7	0,7
	Asam stearat	0,7	0,7	0,7
	Cetyl alkohol	0,6	0,6	0,6
Fase Air	Propil paraben	0,005	0,005	0,005
	Tween 80	0,05	0,05	0,05
	Nanoemulsi ekstrak angkak terpilih	0,5	-	-
	Metil paraben	0,015	0,015	0,015
	Aquadest	7,43	7,43	7,43

11. Pembuatan sediaan krim nanoemulsi ekstrak angkak

Timbang masing-masing bahan. Fase minyak (cetostearil alkohol, cetyl alkohol, asam stearat, dan propil paraben) dan fase air (tween 80 dan metil paraben) dilebur bersama dengan menggunakan *waterbath*. Krim dibuat dengan fase air ditambahkan kedalam fase minyak di dalam mortir hangat sedikit demi sedikit sambil diaduk cepat hingga terbentuk basis krim. Nanoemulsi ekstrak angkak dimasukkan dalam mortir sedikit demi sedikit sambil diaduk sampai homogen. Sediaan krim yang telah jadi dimasukkan dalam wadah yang terlindung dari cahaya dan disimpan pada suhu ruangan.

12. Uji Mutu Fisik dan Stabilitas Sediaan Krim

12.1 Penentuan Tipe Emulsi Sediaan Krim Nanoemulsi Ekstrak Angkak Tipe O/W. Penentuan tipe emulsi dilakukan menggunakan metode pengenceran dengan air yaitu dengan menambahkan air pada sediaan kemudian diaduk, bila sediaan tetap homogen maka sediaan termasuk tipe O/W. Metode pewarnaan, dengan cara krim dimasukkan dalam vial kemudian ditetesi dengan larutan biru metilen bila warna biru terdispersi keseluruh emulsi berarti tipe krim minyak dalam air dan bila diamati dengan mikroskop fase dispersinya tidak berwarna sedangkan fase kontinyu berwarna biru.

12.2 Uji Organoleptis Sediaan Krim Nanoemulsi Ekstrak Angkak Tipe O/W. Pemeriksaan organoleptis krim nanoemulsi ekstrak angkak tipe O/W dilakukan secara visual meliputi warna, bau, dan konsistensi.

12.3 Uji Homogenitas Sediaan Krim Nanoemulsi Ekstrak Angkak

Tipe O/W. Pengujian homogenitas krim dilakukan dengan cara krim diletakkan diantara 2 kaca objek kemudian diperhatikan ada atau tidaknya partikel kasar dalam sediaan krim, bila terdapat partikel kasar berarti sediaan krim belum homogen.

12.4 Uji Daya Sebar Sediaan Krim Nanoemulsi Ekstrak Angkak

Tipe O/W. Pengujian daya sebar dilakukan dengan menimbang 0,5 gram krim diletakkan diatas kaca bulat (diameter 15 cm), diatasnya diletakkan kaca yang lainnya dan dibiarkan selama 1 menit kemudian diameter penyebaran krim diukur, selanjutnya ditambahkan beban tambahan 50 gram, 100 gram, 150 gram, dan 200 gram didiamkan selama 1 menit lalu diukur diameter yang konstan. Daya sebar krim yang baik yaitu bila diperoleh diameter yang semakin lebar.

12.5 Uji Daya Lekat Sediaan Krim Nanoemulsi Ekstrak Angkak

Tipe O/W. Pengujian daya lekat sediaan krim dilakukan dengan sediaan krim dioleskan diatas gelas objek yang sebelumnya telah ditentukan luasnya, kemudian gelas objek yang lain diletakkan diatas krim tersebut dan ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit. Gelas objek dipasang pada alat uji, lepaskan beban seberat 80 gram dan dicatat waktu yang diperlukan hingga kedua objek glass terlepas.

12.6 Uji Viskositas Sediaan Krim Nanoemulsi Ekstrak Angkak Tipe

O/W. Pengukuran viskositas sediaan dilakukan menggunakan alat viskometer cup and bob. Pertama alat visco meter dinyalakan, kemudian memilih rotor yang sesuai lalu sediaan dimasukkan kedalam rotor. Rotor dipasang pada alat, tombol pemutar alat dinyalakan, lalu jarum penunjuk viskositas dibaca.

12.7 Uji pH Sediaan Krim Nanoemulsi Ekstrak Angkak Tipe O/W.

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan alat pH meter yang dikalibrasi menggunakan larutan dapar pH 7 dan pH 4. Elektroda pH meter dicelupkan ke dalam krim, jarum pH meter dibiarkan bergerak sampai menunjukkan posisi tetap kemudian catat pH yang ditunjukkan jarum. Krim sebaiknya memiliki pH yang sesuai dengan pH kulit yaitu 6,0 - 7,0.

12.8 Uji Freeze and Thaw.

Pengujian stabilitas ini dilakukan dengan cara sediaan krim pada masing-masing formula ditimbang sebanyak 2 gram dan

dimasukkan kedalam vial yang tertutup rapat. Pengujian *Freeze and Thaw* dilakukan dengan penyimpanan pada suhu 4°C pada 48 jam pertama dan suhu 40°C pada 48 jam berikutnya. Pengujian dilakukan sebanyak 3 siklus kemudian dilakukan pengamatan terhadap stabilitas krim meliputi memisah atau tidaknya krim tersebut (Yulia 2009).

13. Uji Iritasi Krim

Uji iritasi dilakukan secara *in vivo* pada enam kelinci dengan metode Draize. Kelinci yang digunakan adalah kelinci (*galur New Zealand*) berkelamin jantan yang bulu di bagian punggungnya telah dicukur. Pencukuran ini dilakukan 24 jam sebelum diberi perlakuan. Bahan uji diberikan dengan cara dioleskan pada area uji. Setelah dioleskan bahan uji, area uji lalu ditutup dengan perban yang tidak reaktif. Setelah 24 jam, perban dibuka dan area uji dibersihkan dengan air untuk menghilangkan sisa bahan uji. Pada waktu 24, 48 dan 72 jam setelah pemberian bahan uji, area uji diperiksa dan diamati perubahannya sebagai reaksi kulit terhadap bahan uji dan dinilai dengan cara memberi skor 0 sampai 4 tergantung tingkat keparahan reaksi kulit yang dilihat (Draize, 1959).

Tabel 4. Skor derajat edema

Reaksi kulit	Skor
Tanpa edema	0
Sangat sedikit edema (hampir tidak terlihat)	1
Edema tepi berbatas jelas	2
Edema sedang (tepi naik ± 1 mm)	3
Edema berat (tepi naik lebih dari 1 mm dan meletus keluar daerah penjanan)	4

Tabel 5. Skor derajat eritema

Reaksi kulit	Skor
Tanpa eritema	0
Sangat sedikit eritema (hampir tidak terlihat)	1
Eritema tapi berbatas jelas	2
Eritema sedang sampai berat	3
Eritema berat (merah bit) sampai sedikit membetuk kerak	4

Masing-masing sediaan uji di hitung jumlah dari indeks eritema dan indeks edema kemudian dihitung indeks iritasi dengan cara seperti berikut:

$$\text{Indeks iritasi primer} = \frac{\text{Jumlah eritema 24/48/72 jam} + \text{Jumlah edema 24/48/72 jam}}{\text{Jumlah kelinci}}$$

Tabel 6. Skor derajat iritasi

Reaksi kulit	Skor
Tidak mengiritasi	0,0
Sangat sedikit iritasi	0,1 – 0,4
Sedikit iritasi	0,4 – 1,9
Iritasi sedang	2,0 – 4,9
Iritasi parah	5,0 – 8,0

(Sani dan Lukmayani 2010).

14. Uji sel difusi *Franz*

14.1 Pembuatan larutan dapar fosfat pH 7,4. Kalium dihidrogen fosfat 0,2 M sebanyak 50,0 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 200,0 mL lalu ditambahkan 39,1 mL natrium hidroksida 0,2 N dan dicukupkan volumenya dengan aquadest, kemudian pH dapar dilihat dengan pH meter pada nilai 7,4 (Farmakope Indonesia Edisi III).

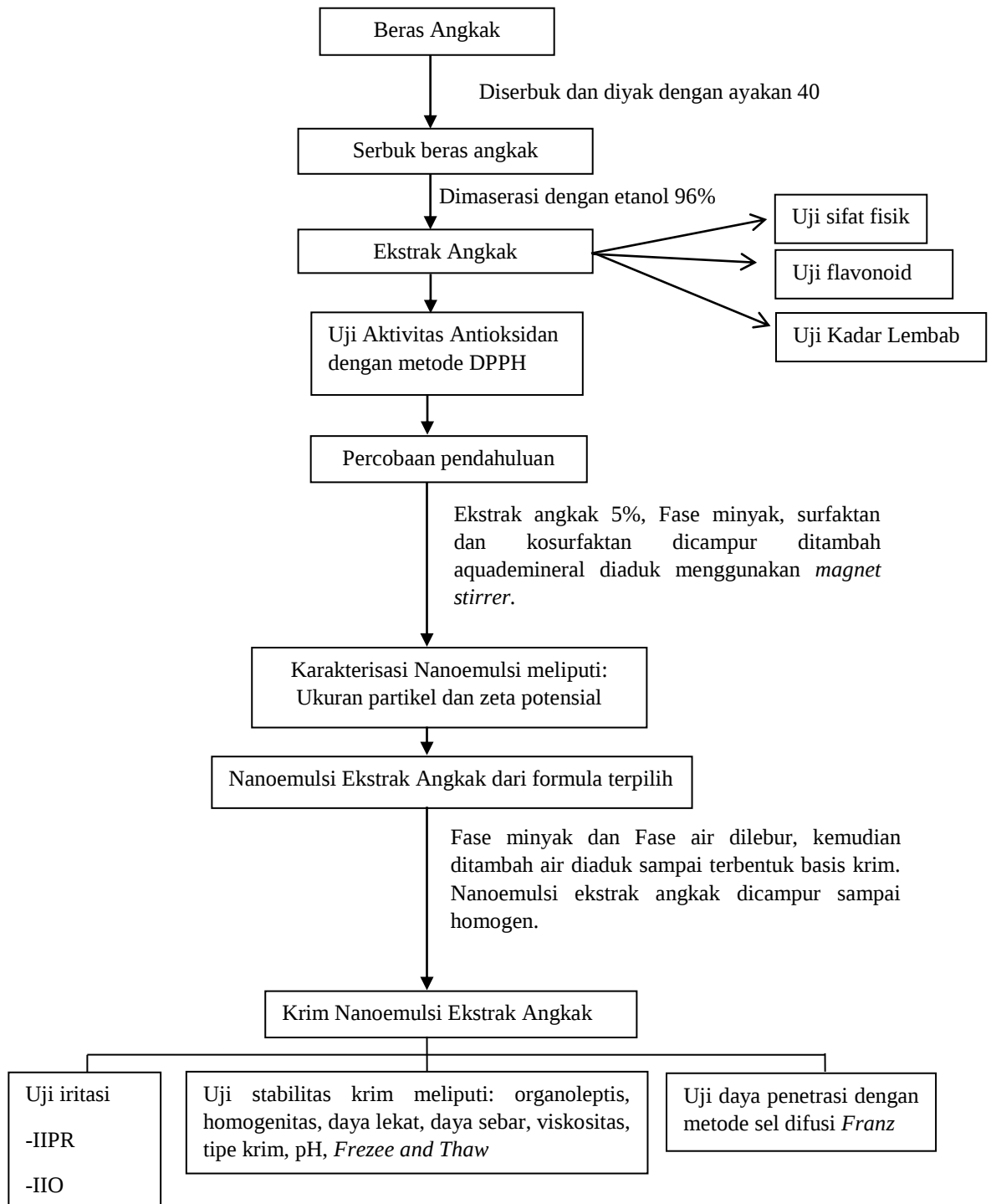
14.2. Pembuatan kurva kalibrasi ekstrak angkak dalam dapar fosfat pH 7,4. Ekstrak angkak ditimbang sebanyak 50,0 mg dimasukkan ke dalam labu takar 50,0 mL dilarutkan dalam etanol dan dicukupkan volumenya dengan dapar fosfat pH 7,4. Panjang gelombang (λ) maksimum ekstrak angkak dalam dapar fosfat pH 7,4 ditentukan dengan melakukan *scanning* pada panjang gelombang antara 400-700 nm. masing-masing konsentrasi diukur serapannya pada panjang gelombang maksimumnya. Setelah didapat serapan pada masing-masing konsentrasi kemudian dihitung persamaan regresi liniernya.

14.3. Uji penetrasi. Membran kulit tikus yang dihidrasi selama 30 menit dengan dapar fosfat pH 7,4 dan dipasangkan pada sel difusi *Franz* dengan bagian dermal menghadap ke kompartemen reseptor. Dapar fosfat pH 7,4 dan pengaduk magnetik dimasukkan ke dalam kompartemen reseptor sampai tanda batas yang ditentukan. Sebanyak 1 gram krim nanoemulsi ekstrak angkak dimasukkan ke kompartemen donor. Selama sel difusi *Franz* beroperasi, suhu diatur konstan pada $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ dengan *water jacket* dan homogenitas cairan dijaga dengan pengadukan magnetik dengan kecepatan 250 rpm. Pengambilan sampel dilakukan sebanyak 3 mL dari larutan kompartemen reseptor pada menit ke 30, 60, 90, 120. Selanjutnya diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada lamda maksimum. Kadar krim nanoemulsi ekstrak angkak yang terpenetrasi ditentukan

dan dihitung fluks dan jumlah kumulatif krim nanoemulsi ekstrak angkak yang terdapat dalam cairan reseptor setiap waktu pengambilan sampel. Larutan yang disampling, segera diganti dengan dapar fosfat pH 7,4 untuk mempertahankan volume cairan tetap konstan.

E. Analisa Hasil

Data yang diperoleh dianalisis statistik dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* untuk melihat distribusi normal data, untuk aktivitas antioksidan dilanjutkan dengan uji statistik *independent sample t-test*, untuk stabilitas krim menggunakan ANOVA untuk melihat perbedaan antar formula dan *paired t-test* untuk melihat perbedaan antara hari ke-1 dan hari ke-21, untuk uji penetrasi menggunakan uji *repeated ANOVA* untuk mengetahui perbedaan secara keseluruhan antar waktu.



Gambar 10. Skema jalannya penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Pembuatan Serbuk Beras Angkak

Beras angkak sebanyak 1 kg diserbuk kemudian diayak menggunakan ayakan mesh 40, ayakan yang digunakan adalah nomor 40 untuk mendapatkan serbuk yang cukup kasar. Dan diperoleh serbuk beras angkak sebanyak 993,065 gram, sehingga diperoleh rendemen sebesar 99,31%. Pembuatan serbuk dan pengayakan bertujuan untuk mempermudah proses ekstraksi karena semakin kecil ukuran serbuk maka luas permukaan akan semakin besar sehingga proses penyarian akan semakin efektif. Hasil rendemen serbuk beras angkak dapat dilihat pada tabel 7 dan perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 6.

Tabel 7. Rendemen berat serbuk terhadap berat kering beras angkak

Sampel	Bobot kering (gram)	Bobot serbuk (gram)	Rendemen (%)
Beras angkak	1000	993,065	99,31%

2. Hasil Pembuatan Ekstrak Angkak

Pembuatan ekstrak angkak dilakukan dengan metode maserasi. Ekstrak angkak yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak yang diperoleh dari proses ekstraksi maserasi. Ekstraksi bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada serbuk. Metode maserasi dipilih untuk mengekstraksi serbuk karena senyawa yang akan diekstraksi dari serbuk beras angkak yaitu senyawa flavonoid dimana golongan senyawa ini tidak tahan panas dan mudah teroksidasi pada suhu tinggi sehingga dalam penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi yang akan mencegah kerusakan komponen-komponen yang tidak tahan panas. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu etanol 96% karena merupakan pelarut universal yang dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang terkandung dalam serbuk simplisia terutama senyawa flavonoid.

Serbuk angkak diekstraksi dengan pelarut etanol 96%. Serbuk beras angkak yang digunakan adalah 1000 gram dengan pelarut etanol 96% sebanyak 7,5 liter, kemudian serbuk disaring dan dibilas kembali menggunakan etanol 96% sebanyak 2,5 liter.

Tabel 8. Hasil persentase rendemen ekstrak beras angkak

Sampel	Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Beras angkak	1000	140,22	14,02

Tabel 8 menunjukkan persentase rendemen dari ekstrak angkak sebesar 14,02%, rendemen adalah perbandingan jumlah (kuantitas) ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi serbuk. Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak, tetapi kualitas ekstrak berbanding terbalik dengan rendemen semakin tinggi nilai rendemen maka semakin rendah mutu yang di dapatkan. Rendemen ekstrak angkak yang didapatkan memiliki kualitas yang baik. Perhitungan rendemen ekstrak angkak dapat dilihat pada lampiran 7.

3. Hasil Penetapan Sifat Fisik Ekstrak Angkak

Pemeriksaan organoleptis ditentukan menggunakan panca indera yang bertujuan untuk pengenalan awal ekstrak yang dilakukan secara sederhana yang meliputi pemeriksaan bentuk, warna, bau dan rasa yang diamati seobjektif mungkin.

Tabel 9. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak angkak

Jenis pemeriksaan	Hasil
Bentuk	Ekstrak kental
Warna	Merah
Bau	Khas
Rasa	Tidak berasa

Tabel 9 menunjukkan hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak angkak bahwa ekstrak angkak memiliki konsistensi kental, berwarna merah, berbau khas dan tidak berasa.

4. Hasil Penetapan Kadar Lembab Serbuk Beras Angkak dan Ekstrak Angkak

Penetapan kadar lembab serbuk dan ekstrak angkak dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Dengan cara menimbang serbuk dan ekstrak angkak sebanyak 2 gram, lalu dimasukkan dalam alat pada suhu 105°C.

Tabel 10. Penetapan kadar lembab serbuk dan ekstrak beras angkak

	Berat	Kadar Lembab (%)	Pustaka (%)
Serbuk	2,0	7,7	≤10
	2,0	7,7	
	2,0	7,7	
	Rata-rata ± SD	7,7±0,0	
Ekstrak	2,0	5,7	
	2,0	4,7	
	2,0	5,7	
	Rata-rata ± SD	5,37±0,58	

Tabel 10 menunjukkan hasil persentase rata-rata kadar lembab dalam serbuk beras angkak adalah 7,7 % dan rata-rata kadar lembab dalam ekstrak beras angkak adalah 5,37 %. Hal ini menunjukkan bahwa kadar air serbuk beras angkak dan ekstrak angkak telah memenuhi syarat, yaitu tidak lebih dari 10 %. Nilai untuk kadar lembab ekstrak tidak boleh melebihi yang tertera dalam monografi karena apabila nilai kadar lembab ekstrak melebihi batas yang tertera dalam monografi dapat menyebabkan ekstrak mudah ditumbuhi jamur, bakteri serta perubahan kimiawi sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada ekstrak. Hasil perhitungan persentase rata-rata kadar lembab serbuk dan ekstrak beras angkak terlampir pada lampiran 8.

5. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Ekstrak Angkak

Identifikasi kandungan senyawa dilakukan untuk mengetahui kebenaran senyawa yang terkandung dalam ekstrak angkak. Identifikasi kandungan senyawa dilakukan dengan metode uji tabung. Metode uji tabung menggunakan pereaksi-pereaksi yang sesuai untuk masing-masing senyawa yang diuji yaitu flavonoid. Hasil identifikasi kandungan senyawa pada ekstrak angkak dengan metode uji tabung dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Hasil uji flavonoid ekstrak angkak

No	Kandungan Kimia	Prosedur	Hasil	Pustaka (Setyowati 2013)	Ket
1.	Flavonoid	500 mg ekstrak + 10 ml air panas dididihkan 5 menit lalu disaring + 100 mg serbuk Mg + 1 ml HCL pekat + amyl alkohol kocok kuat	+	Terbentuk warna merah dalam senyawa amyl alcohol	Terbentuk warna merah dalam amyl alkohol

Berdasarkan hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dengan metode tabung, ekstrak angkak mengandung senyawa flavonoid. Identifikasi flavonoid pada ekstrak dengan penambahan HCl pekat dimaksudkan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis o-glikosil. Pada uji flavonoid dihasilkan larutan berwarna merah menurut Robinson (1995) menandakan adanya flavonoid akibat reduksi oleh asam klorida pekat dan magnesium. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dapat dilihat pada lampiran 5.

6. Hasil Uji Antioksidan Ekstrak Angkak

6.1 Penentuan panjang gelombang maksimum. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan terhadap larutan DPPH 100 ppm. Panjang gelombang maksimum dapat ditentukan dengan melihat absorbansi maksimum yang dihasilkan pada pembacaan tersebut. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum yang diperoleh adalah 517 nm. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum sesuai dengan panjang gelombang maksimum yang dimiliki oleh DPPH. Radikal DPPH memiliki warna komplementer ungu dan memberikan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 515-520 nm. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh digunakan untuk penentuan waktu reaksi dan pengukuran peredaman radikal bebas.

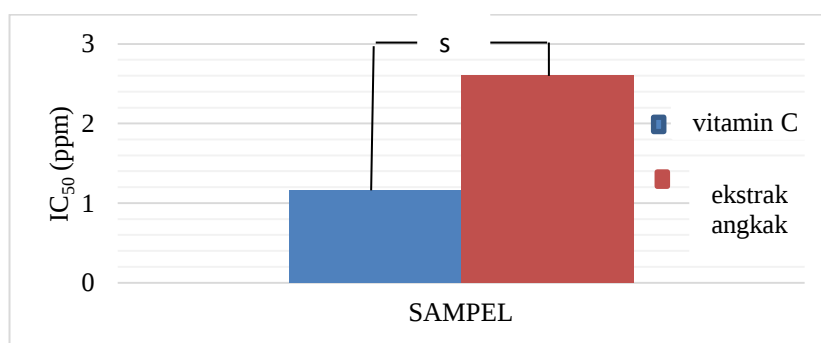
6.2 Hasil penentuan operating time. *Operating time (OT)* digunakan untuk menentukan waktu paling tepat larutan uji dalam meredam radikal bebas DPPH, dengan operating time dapat diketahui pada menit berapa terjadi kestabilan. Penentuan operating time dilakukan terhadap larutan DPPH yang direaksikan dengan larutan ekstrak dan baku pembanding yaitu vitamin C yang dibaca pada gelombang maksimum 517 nm selama 30 menit. Hasil operating time vitamin C diperoleh selama 7-12 menit dan ekstrak angkak diperoleh 8-10 menit. Operating time diperoleh pada saat larutan uji memberikan nilai serapan yang stabil pada waktu tertentu.

6.3 Hasil pengujian aktivitas antioksidan. Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah menggunakan metode serapan radikal DPPH. Parameter untuk mengetahui aktivitas antioksidan dapat dilihat

dari nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration 50*). IC_{50} merupakan konsentrasi substrat yang dapat menyebabkan berkurangnya 50% aktivitas DPPH (Molyneux 2003). Semakin kecil nilai IC_{50} menandakan semakin besar aktivitas antioksidan sehingga konsentrasi yang dibutuhkan untuk meredam radikal DPPH sebesar 50% semakin kecil (Widyaningsih 2010). Pengujian antioksidan pada baku dan sampel dilakukan pada panjang gelombang 517 nm selama waktu kestabilan. Variasi konsentrasi untuk kurva baku vitamin C yang digunakan yaitu 4, 6, dan 10 ppm. Sedangkan variasi konsentrasi untuk ekstrak angkak yang digunakan yaitu 2, 6, dan 8 ppm. Hasil pengujian aktivitas antioksidan yang didapatkan dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Hasil uji aktivitas antioksidan

Formula	IC_{50} (ppm)			
	I	II	III	Rerata $\pm$ SD
Vitamin C	1,16	1,16	1,16	1,16 $\pm$ 0
Ekstrak angkak	2,60	2,53	2,67	2,6 $\pm$ 0,07



Keterangan : s = signifikan
ts = tidak signifikan

Gambar 11. Hasil IC_{50} ekstrak angkak dan vitamin C

Nilai IC_{50} diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel (senyawa uji) dengan symbol x terhadap aktivitas penangkapan radikal rata-rata dengan symbol y dari beberapa seri replikasi pengukuran. Hasil pengujian kurva baku vitamin C diperoleh nilai IC_{50} baku vitamin C sebesar 1,16 $\pm$ 0 ppm dan nilai IC_{50} ekstrak angkak sebesar 2,6 $\pm$ 0,07 yang merupakan tergolong antioksidan kuat karena memiliki nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm. Vitamin C digunakan sebagai pembanding karena berpotensi

menangkap radikal bebas. Ekstrak angkak memiliki aktivitas antioksidan karena Pada proses fermentasi dalam pembuatan angkak, selain menghasilkan sel, *Monascus purpureus* juga menghasilkan metabolit sekunder berupa pigmen *Monascorubrin* yang berwarna merah. Warna merah yang dihasilkan oleh *Monascus purpureus* merupakan pigmen alami yang mengandung *antosianin* yang berperan sebagai antioksidan (Purbani 2007). *Antosianin* merupakan sekelompok zat warna berwarna kemerahan yang larut di dalam air dan termasuk senyawa *flavonoid* (Kumalaningsih 2006). Berdasarkan uji *independent t-test* didapatkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara nilai IC_{50} ekstrak angkak dan vitamin C karena nilai $sig \leq 0,05$. Perhitungan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada lampiran 9.

7. Percobaan Pendahuluan

Pembuatan nanoemulsi ekstrak angkak dilakukan dengan metode emulsi spontan yang dilanjutkan dengan pengadukan kecepatan tinggi. Nanoemulsi adalah sistem emulsi dengan bentuk transparan, fase minyak dalam fase air yang distabilkan oleh surfaktan atau lapisan film molekul surfaktan yang memiliki ukuran dari 50-500 nm (Shakeel *et al.* 2008). Penelitian awal dilakukan percobaan pendahuluan terlebih dahulu yang bertujuan untuk mengetahui komposisi dan proporsi perbandingan surfaktan dan ko-surfaktan yang baik sehingga dapat membentuk nanoemulsi yang stabil dan homogen. Proses pembuatan nanoemulsi dicampurkan surfaktan dan ko-surfaktan dengan ekstrak angkak yang dilarutkan dalam fase minyak kemudian ditambahkan fase air dengan konstan.

Pembuatan nanoemulsi dibantu dengan pengadukan kecepatan tinggi sehingga dihasilkan nanoemulsi dengan ukuran yang lebih kecil. Semakin kecil ukuran partikel, maka nanoemulsi yang terbentuk akan lebih stabil. Hal ini disebabkan karena partikel yang besar memiliki tegangan muka yang lebih kecil dibandingkan dengan partikel yang berukuran kecil. Kecepatan dan lama putaran sangat berpengaruh terhadap ukuran partikel yang terbentuk. Kecepatan putar yang semakin tinggi akan menyebabkan ukuran partikel yang semakin kecil.

Tabel 13. Data skrining surfaktan dan ko-surfaktan serta perbandingan surfaktan dan ko-surfaktan

No	Formula	Ukuran Partikel (nm)	Indeks Polidispersitas
1.	F1	95,063±6,744	0,377±0,007
2.	F2	174,5±9,341	0,389±0,005
3.	F3	215,133±103,130	0,56±0,074
4.	F4	105,670±9,047	0,420±0,002
5.	F5	199±11,226	0,287±0,003
6.	F6	129,367±3,338	0,421±0,009
7.	F7	123,667±2,103	0,387±0,006
8.	F8	225,733±13,879	0,227±0,012
9.	F9	169,467±1,250	0,228±0,001
10.	F10	180,733±4,210	0,299±0,025
11.	F11	568,6±39,962	0,466±0,027
12.	F12	217,133±5,083	0,263±0,004
13.	F13	152,267±2,818	0,217±0,005
14.	F14	230,867±10,594	0,231±0,009
15.	F15	195,167±2,201	0,205±0,007
16.	F16	389,733±43,627	0,438±0,003
17.	F17	384,7±17,921	0,416±0,026
18.	F18	236,7±7,907	0,211±0,011
19.	F19	37,467±6,921	0,451±0,006
20.	F20	282,167±25,369	0,276±0,007
21.	F21	141,8±5,890	0,249±0,006
22.	F22	177,2±21,225	0,412±0,007
23.	F23	190,567±44,902	0,437±0,023
24.	F24	75,289±22,676	0,455±0,006
25.	F25	24,59±1,377	0,338±0,044
26.	F26	29,323±1,247	0,289±0,029
27.	F27	154,333±1,553	0,299±0,006
28.	F28	167,1±2,893	0,377±0,049
29.	F29	158,733±41,801	0,411±0,006
30.	F30	165,063±90,753	0,45±0,021

Keterangan: *highlight* hijau adalah formula yang tidak memenuhi kriteria inklusi

Kriteria inklusi : 1. Ukuran partikel < 500 nm

2. Indeks polidispersitas < 0,3

Tabel 13 merupakan hasil dari *screening* surfaktan dan kosurfaktan. Formula yang di *highlight* hijau merupakan formula yang tidak memenuhi kriteria inklusi. *Screening* ini dilakukan untuk mendapatkan formula yang baik. Maka dipilih formula yang memiliki nilai indeks polidispersitas kecil karena akan terbentuk nanoemulsi yang stabil dari kemungkinan terjadinya pertumbuhan partikel dan pemisahan gravitasi (Ahmed *et al.* 2012).

Tabel 14. Data formula dengan nilai PDI rendah

No	Formula	Keterangan	Ukuran Partikel (nm)	Indeks Polidispersitas
1.	F5	RH: etanol (1:1)	199 ± 11,226	0,287 ± 0,003
2.	F8	Tween: etanol (1:2)	225,733 ± 13,879	0,227 ± 0,012
3.	F9	Tween:PEG (1:2)	169,467 ± 1,250	0,228 ± 0,001
4.	F10	RH: Gliserin (1:2)	180,733 ± 4,210	0,299 ± 0,025
5.	F12	RH: PEG (1:2)	217,133 ± 5,083	0,263 ± 0,004
6.	F13	Tween: Gliserin (1:3)	152,267 ± 2,818	0,217 ± 0,005
7.	F14	Tween: etanol (1:3)	230,867 ± 10,594	0,231 ± 0,009
8.	F15	Tween: PEG (1:3)	195,167 ± 2,201	0,205 ± 0,007
9.	F18	RH: PEG (1:3)	236,7 ± 7,907	0,211 ± 0,011
10.	F20	Tween:etanol(2:1)	282,367 ± 25,369	0,276 ± 0,007
11.	F21	Tween: PEG (2:1)	141,8 ± 5,890	0,249 ± 0,006
12.	F27	Tween:PEG (3:1)	154,333 ± 1,553	0,299 ± 0,006

Keterangan: *highlight* biru adalah formula nanoemulsi yang dipilih.

Formula nanoemulsi yang dipilih adalah F13 yaitu tween:gliserin (1:3). F13 masuk dalam kriteria inklusi yaitu ukuran partikel < 500 nm dan indeks polidispersitas < 0,3. Nilai indeks polidispersitas mendekati 0 menunjukkan dispersi yang homogen. F13 dipilih karena memiliki ukuran partikel 152,267 nm dan indeks polidispersitas 0.271 yang artinya F13 memiliki tingkat keseragaman distribusi ukuran partikel yang baik. Selain ukuran partikel, nilai indeks polidispersitas (PDI) juga memberikan informasi mengenai kestabilan nanoemulsi. Indeks polidispersitas (PDI) adalah parameter yang digunakan untuk melihat keseragaman ukuran partikel pada nanoemulsi. Semakin rendah nilai indeks polidispersitas, maka menunjukkan ukuran yang semakin seragam. Nanoemulsi yang memiliki zeta potensial diatas ± 40 mV menunjukkan emulsi yang stabil, hal ini dikarenakan muatan permukaan akan mencegah agregasi antar partikel (Wahyuningsih 2015). Zeta potensial adalah alat penting untuk mengetahui keadaan permukaan nanoemulsi dan memprediksi stabilitas jangka panjang dari nanoemulsi. F13 memiliki zeta potesial sebesar -14 mV.

Surfaktan yang terpilih untuk formula nanoemulsi ekstrak angkak adalah tween 80. Penggunaan surfaktan dapat menurunkan tegangan antarmuka dari kedua fase cairan yang tidak saling bercampur, mengurangi gaya tolak antara cairan-cairan dan mengurangi gaya tarik menarik antar molekul sejenis, sehingga mencegah terjadinya koalesen (Ansel 1989 dan Tangsuphoom *et al.* 2005). Tween 80 termasuk surfaktan nonionik yang bersifat tidak toksik, tidak mengiritasi kulit,

dan hidrofilik sehingga cocok digunakan sebagai surfaktan dalam pembuatan nanoemulsi minyak dalam air. Sedangkan ko-surfaktan yang dipilih adalah gliserin. Penggunaan gliserin sebagai kosurfaktan disebabkan karena sifatnya tidak rentan terhadap oksidasi pada penyimpanan serta dapat digunakan sebagai peningkat penetrasi untuk sediaan topikal (Rowe 2009). Ko-surfaktan tidak hanya mampu menurunkan tegangan muka antara air dan minyak, namun juga dapat meningkatkan mobilitas ekor hidrokarbon surfaktan sehingga lebih mudah terlarut dalam minyak (Debnath *et al.* 2011).

8. Hasil pengujian stabilitas mutu fisik sediaan krim

Sifat fisik sediaan krim nanoemulsi ekstrak angkak yang dievaluasi adalah organoleptis, homogenitas, daya sebar, daya lekat, pH, viskositas, dan stabilitas metode *Freeze and Thaw*. Pengujian terhadap sifat fisik perlu dilakukan karena hal ini berhubungan dengan kualitas sehingga dihasilkan krim yang stabil.

8.1 Hasil uji organoleptis krim. Uji organoleptis dimaksudkan untuk melihat tampilan fisik suatu sediaan yang meliputi bentuk (konsistensi), warna dan bau. Organoleptis akan berpengaruh terhadap kenyamanan pengguna, oleh karena itu sediaan yang dihasilkan sebaiknya memiliki warna yang menarik, bau yang menyenangkan dan tekstur yang lembut di kulit. Hasil uji organoleptis krim dapat dilihat pada tabel 15.

Tabel 15. Hasil uji organoleptis krim				
Sediaan	Waktu	Konsistensi	Warna	Bau
Krim kontrol negatif	Hari ke-1 Hari ke-21	Kental	Putih	Tidak berbau
Krim ekstrak angkak	Hari ke-1 Hari ke-21	Kental	Merah Muda+++	Khas ekstrak
Krim nanoemulsi	Hari ke-1 Hari ke-21	Kental	Merah Muda++	Khas ekstrak

Pengujian organoleptis krim dilakukan pada sediaan krim yang baru dibuat dan yang telah disimpan selama 21 hari. Uji ini dimaksudkan untuk mengetahui apakah selama waktu penyimpanan sediaan krim tetap stabil atau mengalami perubahan warna, bau maupun konsistensinya. Hasil uji organoleptis krim pada hari ke-1 menunjukkan bahwa krim nanoemulsi dan ekstrak angkak memiliki konsistensi yang kental, berwarna merah muda dan berbau khas ekstrak. Krim

ekstrak angkak memiliki warna lebih merah muda yang dibandingkan dengan krim nanoemulsi.

8.2 Hasil uji homogenitas krim. Pengamatan homogenitas krim bertujuan untuk melihat penyebaran zat aktif dalam sediaan. Jika sediaan krim telah homogen maka diasumsikan kadar zat aktif akan selalu sama pada saat pemakaian atau pengambilan (Swastika *et al.* 2013). Sediaan krim yang baik harus bersifat homogen selama penyimpanan sehingga pada saat mengaplikasikannya pada kulit kadar zat aktif akan selalu sama sehingga akan mempunyai kesempatan yang sama dalam memberikan efek terapi. Hasil setiap formula krim tidak ada butiran-butiran kasar, maka semua formula sediaan krim dikatakan homogen. Hasil pengamatan uji homogenitas krim dapat dilihat pada tabel 16 .

Tabel 16. Hasil uji homogenitas krim

Sediaan	Homogenitas	
	Hari ke-1	Hari ke-21
Krim kontrol negatif	Homogen	Homogen
Krim ekstrak angkak	Homogen	Homogen
Krim nanoemulsi	Homogen	Homogen

Pengamatan terhadap homogenitas sediaan krim pada hari ke-1 dan pada penyimpanan selama 21 hari menunjukkan bahwa krim nanoemulsi, krim ekstrak angkak, dan krim kontrol negatif memiliki homogenitas yang baik ditunjukkan dengan tidak adanya gumpalan-gumpalan kasar.

8.3 Hasil uji tipe krim. Uji tipe krim bertujuan untuk mengetahui tipe sediaan krim yang telah dibuat serta untuk mengetahui apakah selama penyimpanan terjadi perubahan tipe krim atau tidak. Tipe krim yang diharapkan pada sediaan ini yaitu tipe minyak dalam air. Tipe krim minyak dalam air dipilih karena sediaan krim dengan tipe ini bersifat mudah di cuci dengan air sehingga nyaman saat digunakan. Metode yang digunakan untuk uji tipe krim dalam penelitian ini yaitu dengan metode pengenceran dan metode pewarnaan, penggunaan kedua metode ini bertujuan untuk menghindari kesalahan dalam pengujian. Hasil pengujian tipe krim dapat dilihat pada tabel 17.

Tabel 17. Hasil uji tipe krim

Sediaan	Pengenceran dengan air		Pewarnaan dengan methylen blue	
	Hari ke-1	Hari ke-21	Hari ke-1	Hari ke-21
Krim kontrol negatif	Terencerkan	Terencerkan	Fase dispers tidak berwarna, fase kontinyu biru	Fase dispers tidak berwarna, fase kontinyu biru
Krim ekstrak angkak	Terencerkan	Terencerkan	Fase dispers tidak berwarna, fase kontinyu biru	Fase dispers tidak berwarna, fase kontinyu biru
Krim nanoemulsi	Terencerkan	Terencerkan	Fase dispers tidak berwarna, fase kontinyu biru	Fase dispers tidak berwarna, fase kontinyu biru

Hasil pengujian tipe krim pada hari ke-1 dan hari ke-21 baik dengan menggunakan metode pengenceran maupun dengan metode pewarnaan menggunakan *methylen blue* memperlihatkan bahwa semua sediaan krim mempunyai tipe emulsi minyak dalam air tanpa mengalami perubahan selama penyimpanan.

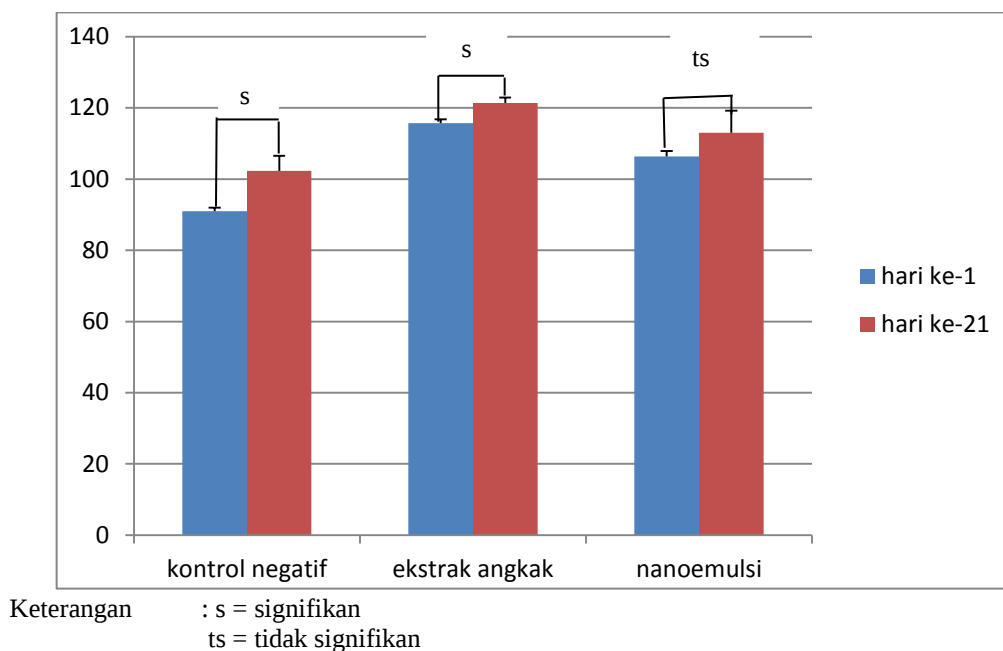
8.4 Hasil uji viskositas. Pengukuran viskositas dilakukan karena dapat mempengaruhi mudah tidaknya sediaan mengalir keluar dari wadah, mudah tidaknya zat aktif keluar dari pembawa dan mudah tidaknya sediaan untuk diaplikasikan. Semakin tinggi nilai viskositas sediaan maka tahanan untuk mengalir semakin besar yang membuat suatu sediaan sukar untuk mengalir keluar dari wadah dan sukar diaplikasikan. Viskositas sediaan krim yang baik yaitu harus mudah diambil dari wadahnya, mudah dioleskan, tidak boleh terlalu keras, tidak boleh terlalu encer dan menempel pada kulit karena berhubungan dengan kenyamanan dalam pemakaian dan sangat berpengaruh terhadap efektifitas terapi. Hasil uji viskositas dapat dilihat pada tabel 18 dan lampiran 14.

Tabel 18. Uji viskositas krim

Sediaan	Hari ke-1(d.Pas)	Hari ke-21(d.Pas)	Peningkatan
Krim kontrol negatif	91,00±1	102,33±4,17	11,33±3,09
Krim ekstrak angkak	115,67±1,16	121,33±1,53	5,67±0,58
Krim nanoemulsi	106,33±1,53	113,00±6,24	6,67±4,73

Berdasarkan pengujian viskositas didapatkan hasil bahwa formula ekstrak angkak memiliki viskositas tertinggi diikuti oleh formula nanoemulsi dan formula kontrol negatif. Kekentalan krim dipengaruhi oleh adanya asam lemak. Asam lemak dalam formula ini adalah asam stearat, stearyl alkohol dan setil alkohol. Semakin banyak kandungan asam lemak menyebabkan krim semakin kental dan

tingginya nilai viskositas (Fitriana 2015). Formula nanoemulsi memiliki peningkatan viskositas yang lebih tinggi dibandingkan dengan formula ekstrak angkak dan kontrol negatif.



Gambar 12. Hasil uji viskositas krim

Pada uji *paired t-test* pada hari ke-1 dan hari ke-21 menunjukkan bahwa krim kontrol negatif dan krim ekstrak angkak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan selama penyimpanan, sedangkan formula krim nanoemulsi tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan selama penyimpanan atau dapat dikatakan stabil dalam penyimpanan.

Pada uji ANOVA dari peningkatan viskositas menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara ketiga formula karena nilai signifikansi $0,189 > 0,05$. Semua formula tidak memiliki perbedaan yang signifikan meskipun adanya peningkatan pada hari ke-21. Peningkatan viskositas dapat terjadi karena komponen basis yang digunakan.

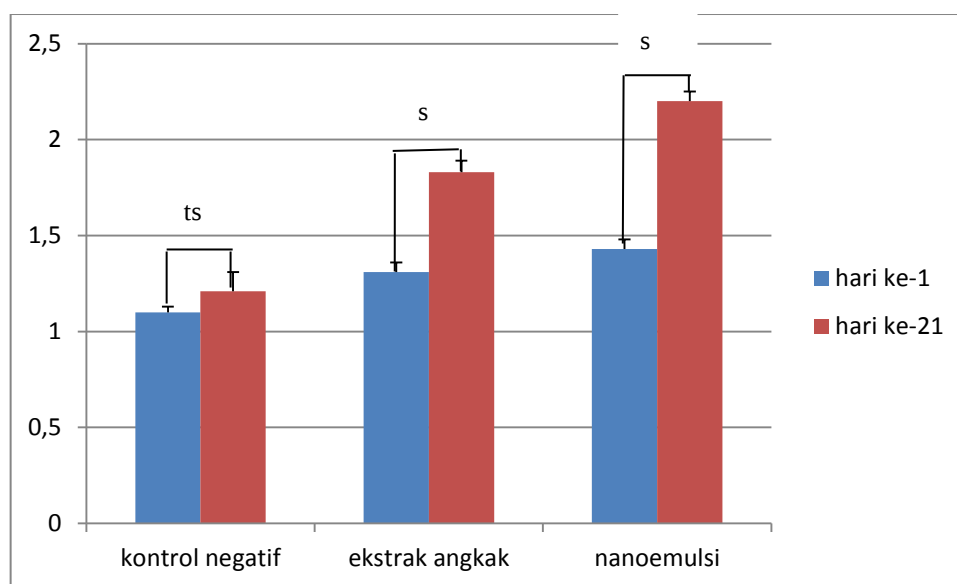
8.5 Hasil uji daya lekat. Uji daya lekat bertujuan mengetahui kemampuan sediaan krim untuk melekat pada permukaan kulit ketika digunakan. Semakin lama daya lekat krim melekat dikulit, maka zat aktif yang terabsorpsi semakin besar sebaliknya jika waktu yang dibutuhkan singkat atau dengan kata

lain hanya melekat sebentar maka daya kerja obatnya singkat. Kemampuan daya lekat berbanding terbalik dengan daya sebar, semakin tinggi daya lekat maka daya sebar akan semakin menurun. Hasil pengukuran uji daya lekat krim dapat dilihat pada tabel 19 dan lampiran 15.

Tabel 19. Uji daya lekat krim

Sediaan	Rata-rata $\pm$ SD dari uji daya lekat (detik)		Peningkatan daya lekat
	Hari ke-1	Hari ke-21	
Krim kontrol negatif	1,10 $\pm$ 0,04	1,21 $\pm$ 0,10	0,11 $\pm$ 0,02
Krim ekstrak angkak	1,31 $\pm$ 0,05	1,83 $\pm$ 0,06	0,53 $\pm$ 0,04
Krim nanoemulsi	1,43 $\pm$ 0,05	1,71 $\pm$ 0,05	0,28 $\pm$ 0,03

Dari tabel di atas menunjukkan bahwa krim nanoemulsi memiliki daya lekat yang lebih besar dibandingkan dengan krim ekstrak angkak dan krim kontrol negatif. Krim ekstrak angkak memiliki peningkatan yang lebih tinggi dibanding krim lainnya. Hal ini mungkin karena adanya penambahan ekstrak.



Keterangan : s = signifikan
ts = tidak signifikan

Gambar 13. Hasil uji daya lekat krim

Pada uji *paired t-test* menunjukkan bahwa krim kontrol negatif tidak ada perbedaan yang signifikan pada hari ke-1 dan hari ke-21. Tetapi krim ekstrak angkak dan krim nanoemulsi menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada hari ke-1 dan hari ke-21.

Pada uji *post hoc* peningkatan daya lekat ketiga formula memiliki perbedaan yang signifikan. Krim ekstrak angkak berbeda signifikan terhadap krim kontrol negatif dan krim nanoemulsi. Semakin stabil daya lekat sediaan maka semakin cepat daya kerja obat, sehingga waktu penyembuhan makin cepat. Sebaliknya tidak stabilnya daya lekat maka makin lama daya kerja obat dan waktu penyembuhannya akan semakin lama. Kenaikan dan penurunan nilai daya lekat disebabkan oleh viskositas krim yang terjadi perubahan selama penyimpanan. Viskositas yang semakin tinggi akan menyebabkan kemampuan melekat krim semakin tinggi pula, semakin kecil viskositas maka daya lekatnya juga semakin kecil.

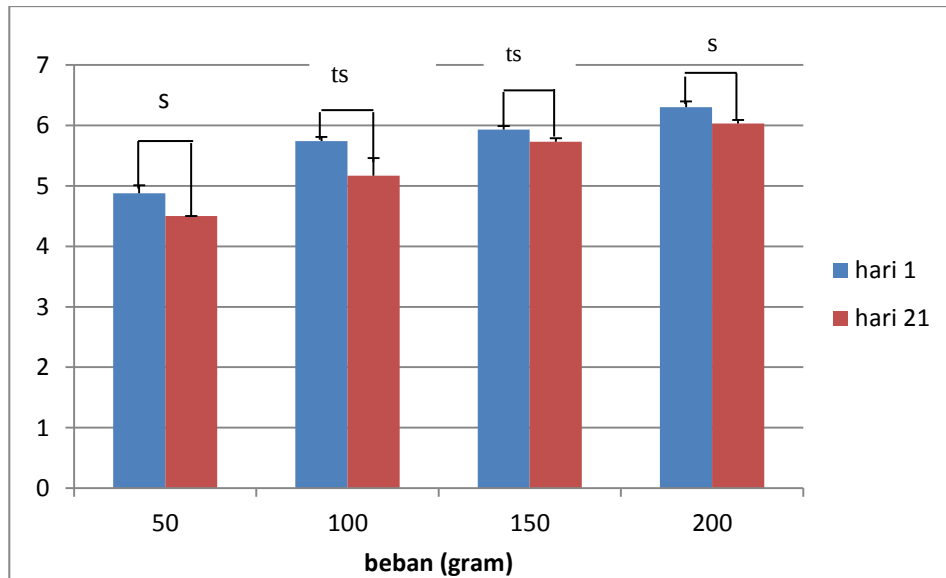
8.6 Hasil uji daya sebar. Pengujian daya sebar terhadap krim untuk mengetahui kemampuan sediaan menyebar saat diaplikasikan kekulit. Krim yang baik memiliki daya sebar yang besar sehingga diaplikasikan pada permukaan kulit pada permukaan kulit tanpa adanya penekanan berlebihan. Kemampuan daya sebar pada krim berkaitan dengan seberapa luas permukaan kulit yang kontak dengan sediaan ketika diaplikasikan. Semakin luas daya sebar, luas permukaan kulit yang kontak dengan krim akan semakin luas dan zat aktif akan terdistribusi dengan baik. Hasil pengukuran uji daya sebar dapat dilihat pada tabel 20 dan lampiran 16.

Tabel 20. Uji daya sebar krim

Sediaan	Beban	Luas penyebaran (cm)		Penurunan daya sebar
		Hari ke-1	Hari ke-21	
Krim kontrol negatif	50 g	4,88±0,13	4,5±0	0,38 ± 0,13
	100 g	5,74±0,07	5,17±0,29	0,57 ± 0,24
	150 g	5,93±0,06	5,73±0,06	0,2 ± 0,2
	200 g	6,3±0,1	6,03±0,06	0,27 ± 0,06
Krim ekstrak angkak	50 g	4,06±0,06	3,8±0,2	0,23 ± 0,15
	100 g	5,46±0,42	4,5±0,2	0,97 ± 0,23
	150 g	5,75±0,18	4,9±0	0,85 ± 0,18
	200 g	5,9±0,17	5,1±0	0,8 ± 0,17
Krim nanoemulsi	50 g	4,1±0,1	3,9±0,27	0,2 ± 0,17
	100 g	4,73±0,06	4,4±0,1	0,33 ± 0,05
	150 g	5,54±0,05	5,2±0,2	0,34 ± 0,16
	200 g	5,8±0,1	5,55±0,13	0,25 ± 0,05

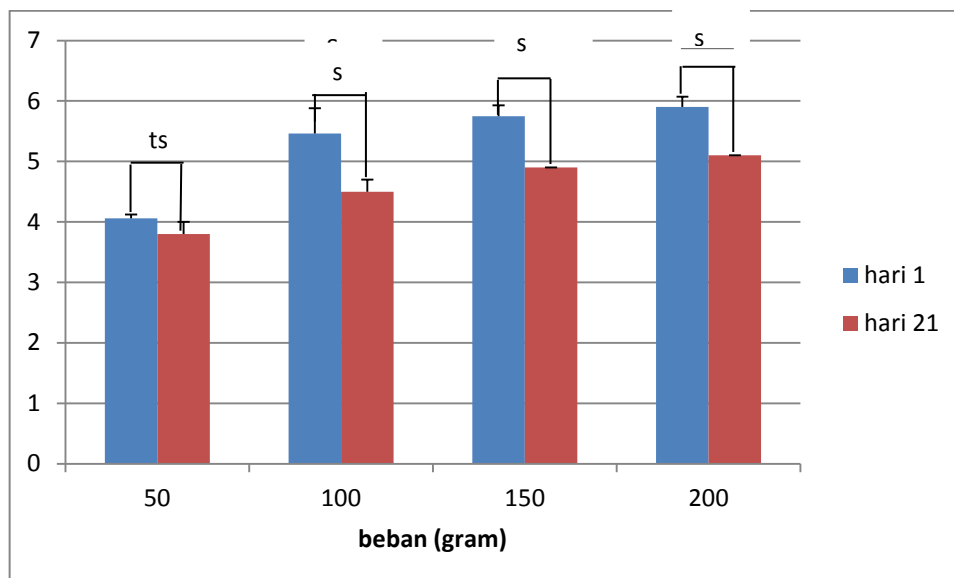
Tabel di atas menunjukkan hasil uji daya sebar krim masing-masing formula pada hari ke-1 dan hari ke-21. Semua formula memiliki penurunan daya

sebar krim di hari ke-21. Formula kontrol negatif memiliki daya sebar yang lebih tinggi dibanding daripada formula lainnya. Berdasarkan tabel diatas formula ekstrak memiliki penurunan yang lebih besar dibandingkan formula lainnya.



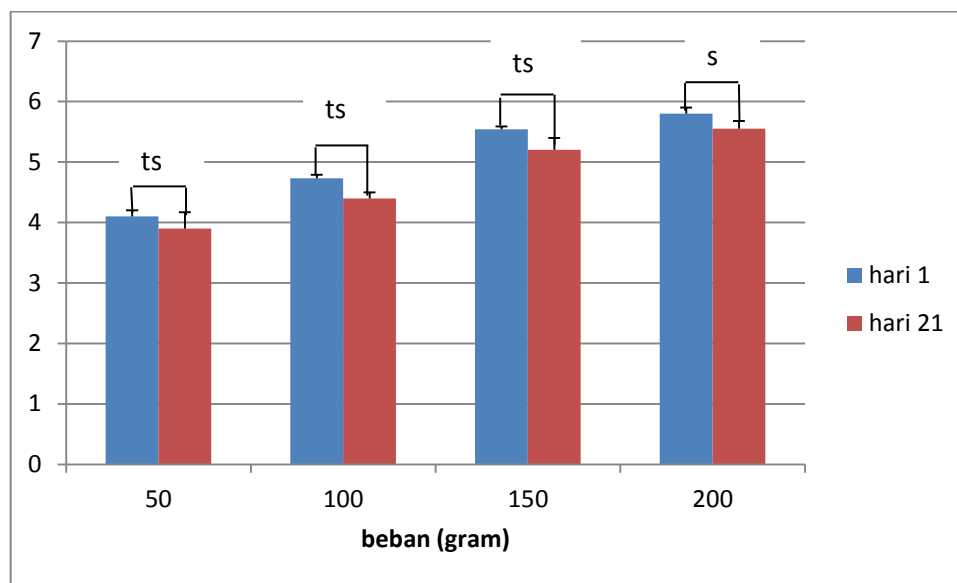
Keterangan : s = signifikan
ts = tidak signifikan

Gambar 14. Hasil uji daya sebar krim kontrol negatif hari ke-1 dan hari ke-21



Keterangan : s = signifikan
ts = tidak signifikan

Gambar 15. Hasil uji daya sebar krim ekstrak angkak hari ke-1 dan hari ke-21



Keterangan : s = signifikan
ts = tidak signifikan

Gambar 16. Hasil uji daya sebar krim nanoemulsi hari ke-1 dan hari ke-21

Pada uji *paired t-test* pada hari ke-1 dan hari ke-21 sesuai dengan beban didapatkan hasil krim kontrol negatif pada beban 50 gram dan 200 gram memiliki $\text{sig} \leq 0,05$ yang menandakan adanya perbedaan yang signifikan selama penyimpanan. Krim ekstrak angkak pada beban 100 gram, 150 gram dan 200 gram memiliki perbedaan yang signifikan selama penyimpanan. Dan pada krim nanoemulsi pada beban 200 gram memiliki perbedaan yang signifikan selama penyimpanan.

Pada uji ANOVA berdasarkan penurunan daya sebar selama penyimpanan tidak didapatkan perbedaan yang signifikan dan sediaan tidak mengalami perubahan. Daya sebar berkaitan dengan viskositas krim karena semakin rendah viskositas maka akan semakin tinggi kemampuan krim untuk mengalir sehingga krim akan lebih mudah menyebar dan akan terdistribusi secara merata. Kenaikan nilai daya sebar disebabkan karena viskositas krim semakin menurun selama penyimpanan sehingga tahanan cair untuk mengalir semakin berkurang.

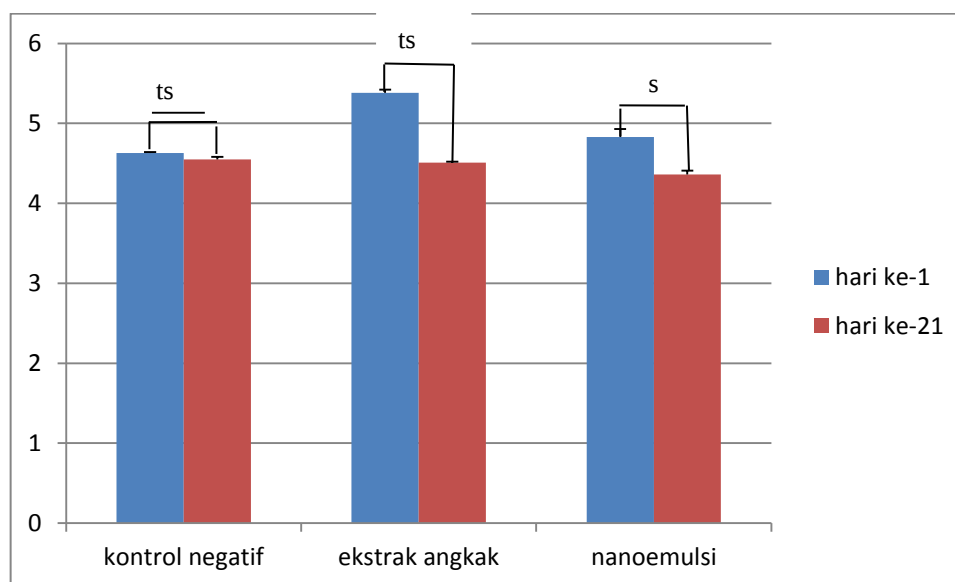
8.7 Hasil uji pH. Pengukuran pH bertujuan untuk mengetahui tingkat keasaman dan kebasaan dari sediaan agar tidak mengiritasi kulit. Sediaan krim memiliki pH yang ideal sebaiknya sesuai dengan pH fisiologis kulit yaitu 4,5-8, karena jika krim memiliki pH yang terlalu basa akan menyebabkan kulit kering

dan jika pH terlalu asam akan menimbulkan iritasi kulit (Djajadisastra 2004). Hasil pengujian pH sediaan krim dapat dilihat pada tabel 21 dan lampiran 12.

Tabel 21. Uji pH krim

Sediaan	pH krim selama penyimpanan		Penurunan pH
	Hari ke-1	Hari ke-21	
Krim kontrol negatif	4,63±0,012	4,55±0,03	0,08±0,03
Krim ekstrak angkak	5,376±0,04	4,513±0,01	0,86±0,04
Krim nanoemulsi	4,83±0,10	4,68±0,01	0,19±0,06

Hasil pengujian pH krim pada hari ke-1 dan hari ke-21 semua krim memiliki pH yang sesuai dengan pH fisiologis pada kulit. Tetapi, krim ekstrak angkak memiliki penurunan pH yang lebih besar dibandingkan dengan krim lainnya. Hal ini mungkin dipengaruhi oleh ekstrak angkak yang membuat pH lebih asam. Penambahan konsentrasi tween 80 juga mempengaruhi nilai pH sediaan krim, karena tween 80 memiliki pH yang basa yaitu 6-8, sehingga dengan penambahan konsentrasi tween 80 pada masing-masing formula akan menyebabkan kenaikan pH krim (Mardiana 2017).



Keterangan : s = signifikan
ts = tidak signifikan

Gambar 17. Hasil uji pH krim

Pada uji *paired t-test* hari ke-1 dan hari ke-21 krim kontrol positif dan krim ekstrak angkak tidak memiliki perbedaan yang signifikan selama

penyimpanan sedangkan krim nanoemulsi memiliki perbedaan yang signifikan selama penyimpanan.

Pada uji ANOVA penurunan pH dari ketiga krim memiliki perbedaan yang signifikan karena nilai signifikansi $0,000 \leq 0,05$. Uji *post hoc* berdasarkan penurunan pH semua krim memiliki perbedaan yang signifikan.

8.8 Hasil uji stabilitas krim dengan metode uji pemisahan fase dengan metode *freeze and thaw*. Uji *freeze and thaw* dilakukan dengan menyimpan krim pada dua suhu yang berbeda untuk melihat pengaruh suhu terhadap pemisahan fase krim. Krim yang baik tidak akan memisah jika disimpan pada berbagai suhu yang berbeda. Hasil uji stabilitas krim dapat dilihat pada tabel 22.

Tabel 22. Uji *Freeze and Thaw*

Sediaan	Stabilitas krim	
	Hari ke-1	Hari ke-21
Krim kontrol negatif	Tidak memisah	Tidak memisah
Krim ekstrak angkak	Tidak memisah	Tidak memisah
Krim nanoemulsi	Tidak memisah	Tidak memisah

Hasil uji stabilitas menunjukkan bahwa setelah dilakukan 3 siklus pengujian terlihat semua formula tidak menunjukkan pemisahan fase karena semua sediaan krim stabil dengan penyimpanan di berbagai suhu ruang penyimpanan yang ditandai dengan tidak saling memisahkannya antara fase minyak dan fase air. Pada proses *freeze* suhu 4°C fase air akan membeku dan cenderung menyusut sehingga terjadi penyempitan ruang fase air dan menyebabkan globul minyak saling berdekatan atau cenderung bergabung membentuk ikatan antar partikel yang lebih rapat yang berakibat kekentalan sediaan menjadi meningkat. Pada proses *thaw* kristal akan mencair dan akan kembali menyebar pada sistem. Jika kecepatan pemulihan dari krim lambat maka dapat terjadi ketidakstabilan oleh karena itu emulgator sangat berpengaruh dalam menjaga stabilitas sediaan krim.

9. Hasil Uji Keamanan

Uji keamanan dilakukan untuk mengetahui derajat iritasi secara *in vivo* pada empat kelinci dengan metode *Draize*. Pengamatan uji iritasi oleh metode

Draize dilakukan berdasarkan 2 hal, yaitu eritema dan edema yang ditimbulkan. Kulit dapat menunjukkan reaksi yang kecil atau bahkan tidak menunjukkan reaksi pada saat kontak pertama dengan bahan kimia. Tapi dapat ditunjukkan setelahnya oleh bahan iritan tertentu pada 12-48 jam setelahnya. Uji iritasi dilakukan untuk mengetahui bahan yang digunakan mengiritasi kulit atau tidak karena akan digunakan untuk sediaan topikal.

Pengamatan untuk uji iritasi dilakukan pada 0 jam dan 24, 48 dan 72 jam setelah diberikan sediaan uji dengan cara mengamati reaksi kulit yang timbul dengan 2 parameter yaitu eritema dan edema. Eritema terlihat pada warna kemerahan di kulit dan bentuk luka yang nampak (jika ada). Edema dapat dilihat pada tinggi permukaan kulit yang naik/bengkak dibanding kulit yang normal. Kemudian hasil pengamatan tersebut diberi skor. Tingkat iritasi dihitung berdasarkan pada perhitungan skor pengamatan pada lampiran 18.

Tabel 23. Hasil uji iritasi primer

Sediaan	Nilai IIPR	Keterangan
Krim kontrol negatif	1	Krim sangat sedikit iritasi
Krim ekstrak angkak	3	Krim sedikit iritasi
Krim nanoemulsi	1,67	Krim sangat sedikit iritasi

Uji iritasi okular dilakukan untuk memastikan bahwa sediaan tidak mengiritasi apabila masuk ke dalam mata pengguna. Pengamatan dilakukan selama 3 hari dengan melihat terjadinya iritasi pada bagian iris, kornea, konjungtiva, dan kemosis pada mata kelinci. Data hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 24.

Tabel 24. Hasil uji iritasi okuler

Sediaan	Nilai IIPR	Keterangan
Krim kontrol negatif	0	Krim tidak mengiritasi
Krim ekstrak angkak	0	Krim tidak mengiritasi
Krim nanoemulsi	0	Krim tidak mengiritasi

Dari hasil pengamatan terlihat bahwa semua sediaan krim tidak mengiritasi mata kelinci dengan indeks iritasi okuler nol.

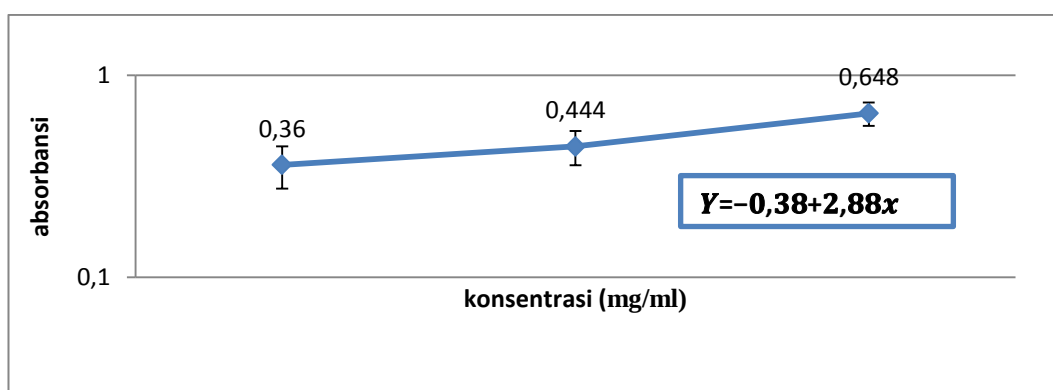
10. Hasil Uji Daya Penetrasi sel difusi *Franz*

10.1 Pembuatan kurva kalibrasi ekstrak angkak dalam dapar fosfat

7,4. Kurva kalibrasi ekstrak angkak dalam dapar fosfat dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak angkak terlebih dahulu dalam etanol. Kemudian larutan ekstrak angkak dalam etanol diencerkan secara kuantitatif menggunakan dapar fosfat hingga didapatkan konsentrasi 0,25; 0,3 dan 0,35 mg/ml. Selanjutnya diukur serapan pada masing-masing konsentrasi dalam panjang gelombang maksimumnya. Setelah didapat hasil serapan kemudian dibuat kurva kalibrasi. Persamaan kurva kalibrasi diperoleh yaitu:

$$y = -0,38 + 2,88x$$

$$r = 0,9722$$



Gambar 18. Grafik kurva baku pembanding

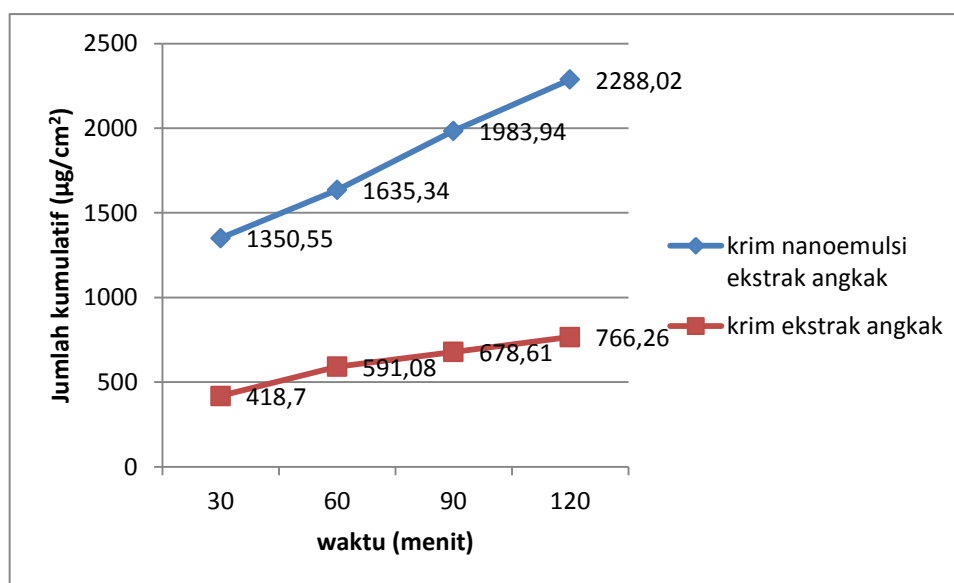
10.2 Uji Penetrasi Sediaan. Uji penetrasi dengan sel difusi *Franz* menggunakan kulit tikus sebagai membran antara kompartemen donor dan kompartemen reseptor. Kulit tikus yang akan digunakan dicukur bulunya kemudian dihilangkan lemak yang dapat mengganggu penetrasi kemudian direndam menggunakan dapar fosfat pH 7,4 selama 30 menit lalu disimpan dahulu dalam lemari es selama 24 jam. Medium reseptor yang digunakan untuk uji penetrasi ini adalah dapar fosfat pH 7,4 karena larutan ini menggambarkan cairan fisiologis tubuh.

Sediaan krim ditimbang sebanyak 0,5 gram dan dioleskan pada membran, kompartemen reseptor alat dijaga suhunya sebesar 37°C dan diaduk dengan magnetik stirer dengan kecepatan 250 rpm. Membran diletakkan diantara kompartemen reseptor dan donor, dimana membran harus kontak dengan cairan

reseptor agar sediaan yang diaplikasikan pada membran dapat berpenetrasi menembus kulit dan masuk dalam cairan reseptor. Untuk mengetahui konsentrasi obat dikompartemen reseptor dilakukan pengambilan sampel pada menit ke 30, 60, 90, dan 120. Setelah sampel diambil kemudian dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer lalu dimasukkan ke persamaan regresi dan diperoleh konsentrasi obat terpenetrasi. Dari data konsentrasi tersebut, dapat dihitung jumlah kumulatif dan fluks tiap waktu obat terpenetrasi. Hasil jumlah kumulatif terpenetrasi per luas area dapat dilihat pada tabel 25 dan perhitungan dapat dilihat pada lampiran 19.

Tabel 25. Data jumlah kumulatif krim terpenetrasi

Formula	Jumlah kumulatif ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) tiap waktu			
	30 menit	60 menit	90 menit	120 menit
Krim nanoemulsi ekstrak angkak	1.350,55 $\pm$ 3,94	1.635,34 $\pm$ 2,75	1.983,94 $\pm$ 1,18	2.288,02 $\pm$ 1,43
Krim ekstrak angkak	418,70 $\pm$ 0	591,08 $\pm$ 0,64	678,61 $\pm$ 0,48	766,26 $\pm$ 0,53



Gambar 19. Jumlah kumulatif krim terpenetrasi tiap waktu

Penetrasi angkak melalui membran kulit tikus selama 2 jam dari sediaan krim nanoemulsi dan krim ekstrak angkak berturut-turut ialah 2.288,02 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) dan 766,26 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$). Dari hasil tersebut, angkak dalam sediaan nanoemulsi memiliki jumlah penetrasi kumulatif yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak angkak. Hal ini kemungkinan disebabkan karena sediaan nanoemulsi memiliki ukuran partikel dan tegangan antarmuka yang lebih kecil sehingga

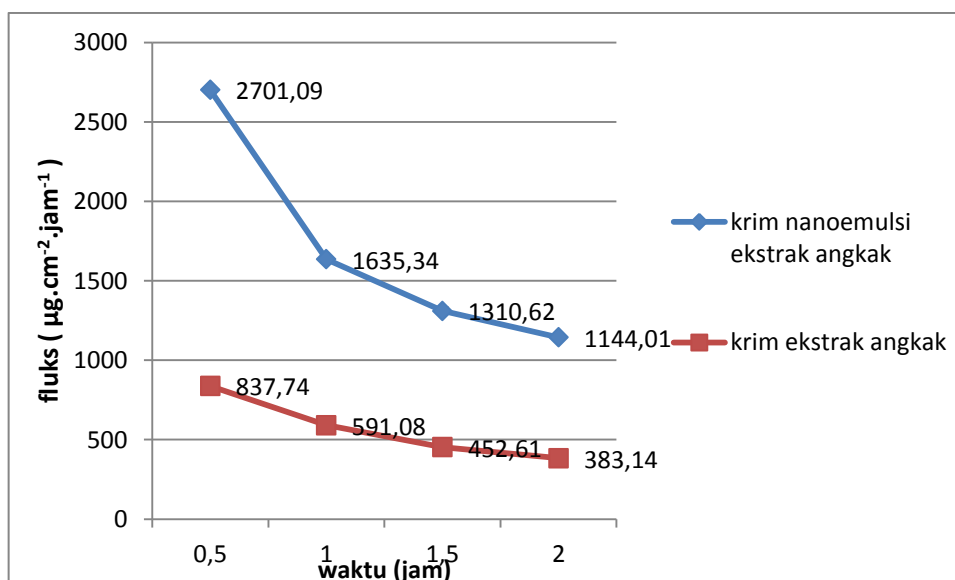
memudahkan untuk berpenetrasi. Selain ukuran yang kecil, viskositas juga berpengaruh terhadap pelepasan bahan aktif dari basis menuju permukaan membran. Rendahnya viskositas krim nanoemulsi dibandingkan dengan krim ekstrak angkak akan meningkatkan kecepatan penetrasi, sehingga meningkatkan mobilitas zat aktif menuju permukaan membran. Emulsi dengan ukuran nano (nanoemulsi) dapat meningkatkan absorpsi, meningkatkan bioavailabilitas obat, membantu solubilisasi zat aktif yang bersifat hidrofobik, serta memiliki efisiensi dan penetrasi yang cepat pada sebagian obat (Devarajan dan Raichandran 2011).

Obat-obatan dalam ukuran nanometer mampu meningkatkan penyerapan oleh tubuh. Selain itu, nanoemulsi memiliki energi bebas yang jauh lebih besar dibandingkan emulsi sehingga menjadikannya suatu sistem transport yang efektif.

Data fluks krim yang terpenetrasi tiap waktu dapat dilihat pada tabel 26 dan perhitungan dapat dilihat pada lampiran 19.

Tabel 26. Data fluks krim terpenetrasi

Formula	fluks (kecepatan penetrasi tiap waktu)			
	30 menit	60 menit	90 menit	120 menit
Krim nanoemulsi ekstrak angkak	2.701,09±7,88	1.635,34±2,75	1.310,62±21,58	1.144,01±0,72
Krim ekstrak angkak	837,74±0	591,08±0,64	452,61±0,03	383,14±0,27



Gambar 20. Fluks (kecepatan penetrasi) tiap waktu

Dari gambar diatas diketahui nilai fluks dari sediaan krim nanoemulsi dan krim ekstrak angkak mengalami penurunan. Nilai fluks pertama pada menit ke-30

untuk sediaan krim nanoemulsi dan krim ekstrak angkak berturut-turut sebesar $2.701,09 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{jam}^{-1}$ dan $837,74 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{jam}^{-1}$. Nilai fluks keempat pada menit ke-120 untuk sediaan krim nanoemulsi dan krim ekstrak angkak berturut-turut sebesar $1.144,01 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{jam}^{-1}$ dan $383,14 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{jam}^{-1}$. Nilai fluks pertama lebih besar dibandingkan fluks keempat. Hal ini menandakan bahwa kecepatan penetrasi angkak pada jam-jam pertama lebih cepat dibandingkan jam pada fluks keempat. Fluks atau kecepatan penetrasi ekstrak angkak sebesar 30 menit yang menandakan krim sudah terabsorpsi diwaktu 30 menit. Jumlah kumulatif krim yang terpenetrasi meningkat tiap waktu dan fluks menurun tiap waktu karena semakin meningkatnya waktu maka kemampuan berpenetrasi semakin menurun.

Berdasarkan uji *repeated ANOVA* untuk jumlah kumulatif krim nanoemulsi dan krim ekstrak angkak pada tabel *multivariated test* diperoleh nilai signifikansi $0,000 \leq 0,05$. Hal ini berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada tiap perlakuan minimal ada 2 perlakuan yang berbeda. Pada tabel *pairwise comparasion*, merupakan hasil yang menunjukkan hubungan antara yang pertama dengan kedua, pertama dengan ketiga dan seterusnya. Hasil signifikansi menunjukkan nilai signifikansi $\leq 0,05$ hal ini berarti bahwa perbedaan ada pada setiap perlakuan pengukuran. Dan uji *repeated ANOVA* untuk nilai fluks krim nanoemulsi dan krim ekstrak angkak pada tabel *multivariated test* diperoleh nilai signifikansi $0,000 \leq 0,05$. Hal ini berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada tiap perlakuan minimal ada 2 perlakuan yang berbeda. Pada tabel *pairwise comparasion* hasil signifikansi menunjukkan nilai signifikansi $\leq 0,05$ hal ini berarti bahwa perbedaan ada pada setiap perlakuan pengukuran.

Berdasarkan hasil uji *independent sample t-test* antara jumlah kumulatif terpenetrasi krim ekstrak angkak dan krim nanoemulsi terhadap waktu didapatkan hasil bahwa tiap waktu menunjukkan signifikansi $\leq 0,05$ hal ini berarti ada perbedaan yang signifikan. Uji *independent t-test* fluks krim ekstrak angkak dan krim nanoemulsi terhadap waktu menunjukkan signifikansi $\leq 0,05$ hal ini berarti menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan tiap waktu.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Pertama, ekstrak angkak memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 2,60 ppm.

Kedua, formula terbaik yang terpilih adalah tween 80:gliserin dengan perbandingan 1:3 yang memiliki ukuran partikel 152.267 nm dan indeks polidispersitas 0.271.

Ketiga, krim nanoemulsi ekstrak angkak memiliki kemampuan penetrasi yang lebih besar dibandingkan dengan krim ekstrak angkak. Daya penetrasi krim nanoemulsi ekstrak angkak dan krim ekstrak angkak berturut-turut sebesar $1.350,55 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ dan $418,7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ pada menit ke-30, $1.635,34 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ dan $591,08 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ pada menit ke-60, $1.983,94 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ dan $678,61 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ pada menit ke-90, dan $2.288,02 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ dan $766,26 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ pada menit ke-120. Dan kecepatan penetrasi krim nanoemulsi ekstrak angkak dan krim ekstrak angkak berturut-turut sebesar $2.701,09 \mu\text{g}.\text{cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$ dan $837,74 \mu\text{g}.\text{cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$ pada menit ke-30, $1.635,34 \mu\text{g}.\text{cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$ dan $591,08 \mu\text{g}.\text{cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$ pada menit ke-60, $1.310,62 \mu\text{g}.\text{cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$ dan $452,61 \mu\text{g}.\text{cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$ pada menit ke-90 dan $1.144,01 \mu\text{g}.\text{cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$ dan $383,14 \mu\text{g}.\text{cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$ pada menit ke-120.

Keempat, krim nanoemulsi ekstrak angkak memiliki derajat keamanan tidak mengiritasi secara primer dan okuler sehingga aman digunakan. Dengan nilai IIPR primer sebesar $1,67 \leq 4,00$ dan IIPR okuler sebesar $0,00 \leq 4,00$.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk variasi dosis formula sediaan krim yang diteliti agar didapatkan aktivitas yang lebih baik dan agar mampu memberikan sifat fisik krim yang lebih baik.

Kedua, perlu dilakukannya *screening* fase minyak untuk mendapatkan fase minyak yang paling baik.

Ketiga, mengganti surfaktan dengan surfaktan yang bermuata sehingga dapat mengoptimalkan penetrasi.

Keempat, perlu dilakukan stabilitas ukuran partikel nanoemulsi dan pengukuran ukuran partikel pada krim nanoemulsi.

Ketiga, dapat dilakukan pengujian daya penetrasi dengan waktu yang lebih lama lagi agar didapatkan hasil optimal krim yang terpentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriansyah, N. (1996). Radikal Bebas Dikenal untuk Dikendalikan. Sadar Pangan dan Gizi. 1: 6-7.
- Agustina, A. L (2014) Formulasi Nanoemulsi M/A Yang Mengandung Minyak Argan (*Argania Spinosa* Kernel Oil) Dan Uji Efektivitas Sebagai Anti Kerut. **Tesis**. Sekolah Farmasi, Institut Teknolgi Bandung.
- Ahmed K, Y Li, Dj Mcclemments, H Xiao. 2012. Nanoemulsion and emulsion based delivery systems for curcumin: encapsulation and release properties. *Journal Food Chem*. 132:799-807.
- Anonim. 2000. Beras Putih. www.asiamaya.com/nutrients/berasputih.html (10 November 2017. 10:00 WIB).
- Anonim. 2008. Gaya Hidup Sehat. www.kompas.com/read.php%3Fcnt%3D.xml/ (10 November 2017. 11.10 WIB)
- Anonim, 1979, Farmakope Indonesia, Edisi ketiga, 591, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Anonim, 1986, Sediaan Galenik, 2-3, Jakarta, Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim, 2000, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Edisi I, 3-6, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Ansel, H.C. 1989. Pengantar Bentuk sediaan Farmasi. Edisi 4. UI Press. Jakarta. Halaman 96,147.
- Anwar, Effionora. 2012. *Eksipien dalam Sediaan Farmasi (Karakterisasi dan Aplikasi)*. Dian Rakyat: Jakarta
- Ardiansyah. 2005. Minum Angkak Menyehatkan. www.beriptek.com/angkak/ (11 November 2017. 10.00 WIB).
- Ardiansyah. 2005. Minum Angkak Menyehatkan. www.beriptek.com/angkak/ (13 November 2017. 09.00 WIB).
- Ardiansyah. 2007. Antioksidan dan Perannya Bagi Kesehatan. www.ardiansyah.multiply.com/journal/item/14/ (16 November 2017. 13.00 WIB).
- Bernatoniene J., *et al.* 2011. Topical Application of Calendula officinalis (L.): Formulation and Evaluation of Hydrophilic Cream with Antioxidant Activity. *Journal of Medical Plants Research*. Vol.5 (6). Pp 868-877.

- Blanc P.J., Loret M.O., and Goma G., 1995. Production of citrinin by various species of *Monascus*, *Biotech Letters*., 17(3): 291-294.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant Determination by the Use of Stable Free radical. *Nature*, 181: 1199-1200.
- Carels, M and Shepherd., 1977. The Effect of Different Nitrogen Sources on Pigment Production and Sporulation of *Monascus purpureus* with Regard to Quality and Quantity. *J. Food Sci.* 45: 567-569.
- Debnath S, Satayanarayana, Kumar GV. 2011. Nanoemulsion a method to improve the solubility of lipophilic drugs. *Journal of adv in Pharmaceutical Sci* vol 2(2-3):72-83.
- Depkes RI. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Devarajan V., Ravichandran V., 2011. Nanoemulsions: as modified drug delivery tool. *International journal of comprehensive pharmac.*
- Djajadisastra, J. 2004. *Cosmetic Stability*. Depok: UI.
- Draize, J.H. 1959. Dermal Toxicity. in Appraisal of the Safety of Chemicals in Food, Drugs and Cosmetics. *The Association of Food and Drug Officials of the United States, Bureau of Food and Drugs, Austin, TX*. Pages 46-59.
- Endo, Akira & K. Hasumi, 1984, Dihydromonacolin L and monacolin X, new metabolites those inhibit cholesterol biosynthesis, *The Journal of Antibiotics*, Vol.38, No. 3.
- Fardiaz, S.F.D.B, dan F. Zakaria, 1996. Toksisitas dan imunogenitas pigmen angkak yang diproduksi dari kapang *Monascus purpureus* pada substrat limbah cair tapioka. *Buletin Teknologi dan Industri Pangan* 1 (12): 34-38.
- Fatmawaty, A., A, Marianti., T, Rosany., A, Rabiah. 2016. Uji Iritasi Krim Hasil Fermentasi Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) Dengan Variasi Konsentrasi Emulgator Novemer Pada Kulit Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences* 1(2): 62-65.
- Fessi, H., Puisieux, F., Devissaguet, JP, Ammoury, N., Benita, S., 1989. Pembentukan Nanokapsule Oleh Deposisi Polimer Antar Muka Berikut Penghindaran Pelarut. *Int. J. Pharm.* 55, 25-28.
- Fitriana, Rizka Astikah. 2015. Optimasi Formula Krim Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn) Menggunakan Asam Stearat sebagai Emulgator dan Trietanolamin sebagai Alkalizing Agent dengan Metode Desain Faktorial. *Naskah Publikasi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

- Gaikwad M., Kale S. 2011. Formulation for Sun Protection Factor of Moringa oleifera Lam (family-moringaceae) Oil Sunscreen Cream. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol 2, issue 4.
- Gordon, M.F. 1990. The mechanism of antioxidant action in vitro, In: Hudson, B.J.F. (ed), Food Antioxidants, London: Elsevier Applied Science. 1-18.
- Guglielmini, G. 2008. Nanostructured novel carrier for topical application, *Clin. Dermatol.* 26(4):341–346.
- Gutierrez JM, Gonzalez C, Maestro A, Sole I, Pey CM, Nolla J. 2008. Nanoemulsions: new applications and optimization of their preparation. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 13(4): 245-251.
- Hamsinah, D S, Darijanto, Maululddin. 2016. Uji stabilitas formulasi krim tabir surya serbuk rumput laut (*Eucheuma cottoni*. Doty). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia* 3(2): 155-158.
- Hanani, E., Abdul, M., dan Ryany, S. 2005. *Identifikasi Senyawa Antioksidan Dalam Spons Callyspongia sp Dari Kepulauan Seribu*. Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol. II (3): 127-133. ISSN: 1693-9883.
- Harborne, J. B., 1987, Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Edisi kedua, Hal 5, 69-76, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soedira, ITB Press, Bandung.
- Hidajat, B. 2005. Penggunaan Antioksidan Pada Anak. *Artikel Kimia*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Indrasari, Siti dewi., Prihadi W., & Purwani. 2008. *Evaluasi Mutu Fisik, Mutu Giling, dan kandungan Antosianin Kultivar Beras Merah*. Balai Besar Penelitian Tanaman Padi: Jawa Barat.
- Juwita AP, Yamlean PVY, Edy HJ. 2013. Formulasi krim ekstrak etanol daun lamun (*Syringodium isoetifolium*). *Jurnal Ilmiah Farmasi* 2:8-13.
- K, Bouchemal., S. Briançon, E., Perrier., H, Fessi. 2004. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimisation. *International Journal of Pharmaceutics* 280: 241–251
- Kosasih, dkk. 2004. Peranan Antioksidan pada Lanjut Usia. Jakarta: Pusat Kajian Nasional Masalah Lanjut Usia.
- Kumalaningsih, Sri. 2006. *Antioksidan Alami*. Penerbit Trubus Agrisarana. Surabaya.

- Kusantati, H., Prihatin, P.T., dan Wiana, W. 2008. *Tata Kecantikan Kulit*. Jakarta: Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan.
- Kusumawati, T. H. 2004. Kajian Pembentukan Warna pada *Monascus-Nata* Kompleks dengan Menggunakan Kombinasi Ekstrak Beras, Ampas Tahu dan Dedak Padi sebagai Media. Jurusan Biologi Fakultas MIPA. UNS. Surakarta.
- Laili, H. N., L. Winarti dan L. O. R. K. Sari, 2014, Preparasi dan Karakterisasi Nanopartikel Kitosan-Naringenin dengan Variasi Rasio Massa Kitosan-Natrium Tripolifosfat (Preparation and Caracterization of Naringenin-Chitosan Nanoparticles with Various Mass Ratio of Chitosan-Sodium Tripolyphosphat), *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*, 2(2): 308-313.
- Lund, W. 1994. *The Pharmaceutical Codex*, 12th edition London: The Pharmaceutical Press.
- Madhavi, D.L., Deshpande, S.S., and Salunkhe, D.K. 1996. *Food Antioxidants Technological, Toxicological, and Health Perspective*. New York: Marcell Dekker Inc.
- Mardiana L. 2017. Formulasi krim antioksidan ekstrak sarang semut papua (*Myrmecodia pendans* Merr. & Perry) dengan variasi konsentrasi emulgator tween 80 dan span 80 [Skripsi]. Surakarta: fakultas farmasi, Universitas Setia Budi.
- Markham, K.R., 1988, Cara Mengidentifikasi Flavonoid, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 15, Penerbit ITB, Bandung.
- Martin A., Swarbick, J., Cammarata, A. 1993. *Farmasi Fisik Jilid II, edisi ke-3. Terj. Dari Physical Pharmacy*, oleh Joshita. Jakarta: UI Press.
- Mason, T.G., Wilking, J.N., Melson, K., Chang, C.B., dan Graves, S.M., 2006, Nanoemulsion: Formation, Structure, and Physical Properties, *Journal of Physics*, 18, 635-666.
- Mates JM, PM Abuja and R Albertini. 1999. Antioxidant diseases. *Clin Biochem*. 32(8), 595-603.
- McClements DJ. 2011. Formation of nanoemulsions stabilized by model food grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size. *Food Hydrocoll*. 25: 1000-1008.
- Molyneux, P. 2003. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazil (DPPH), for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology*. Institute of Food Research Colney, Norwich, United Kingdom. Vol 26(2): 211-219.

- Pakki E, Sartini, Tayeb R, Maisarah NL. 2009. Formulasi dan evaluasi kestabilan fisik Krim antioksidan ekstrak biji kakao (*theobroma cacao* L.). *Majalah Farmasi dan Farmakologi* 13(2):1-7.
- Pattanagul P, Pinthong R, Phianmongkhol A, Leksawasdi N. 2007. Review of Angkak Production (*Monascus purpureus*). *Chiang Mai J.* 34(3): 319-
- Pietta, P.G. (2000) Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63, 1036-1042.
- Prakash, A., et al. 2001. "Antioxidant Activity". *Medallion Laboratories Analitical Progress*, Vol. 19. No. 2.
- Parwata, I.M.O.A., Wiwik, S.R., dan Raditya, Y. 2009. Isolasi dan Uji Antiradikal Bebas Minyak Atsiri Pada Daun Sirih (*Piper betle*, Linn) Secara Spektroskopi Ultra Violet-Tampak. *Jurnal Kimia*. ISSN: 1907-9850. Vol. 3 (1): 7-13.
- Purbani, Enny. 2007. Tiga Bahan Alami Untuk DBD. www.agrina-online.com/show_article.php/ (10 November 2017. 10.35 WIB).
- Redha, Abdi. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. Jurusan Teknologi Pertanian Politeknik Negeri Pontianak. Vol 9.
- Robinson, T., 1995, Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, Edisi VI, Hal 191-216, Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, ITB, Bandung.
- Rohman, A., dan Riyanto. 2005. *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Mengkudu (Morinda Citrifolia L.)*, *J. Agritech*. Vol, 25 No 3;131-136.
- Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME, editor. 2009. *Handbook Of Pharmaceutical Excipients*. ED ke-6. London: Pharmaceutical Press.
- Sani, E. P. dan Lukmayani Y. 2010. Sabun Transparan Berbahan Dasar Minyak Jelantah serta Hasil Uji Iritasinya pada Kelinci. [skripsi]. Bandung. Jurusan Fakultas Farmasi, Universitas Islam Bandung.
- Sangi M, MRJ Runtuwene, HEI Simbala, VMA Makang. 2008. Analisis fitokimia tumbuhan obat dikabupaten minahasa utara [Jurnal]. Manado: Jurusan Kimia FMIPA, UNSRAT.
- Sari MP. 2014. Formulasi krim tabir surya fraksi etil asetat kulit pisang ambon putih [*Musa*(AAA group)] dan penentuan nilai factor pelindung surya (FPS) fraksi etil asetat secara in vitro [Skripsi]. Bandung: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung.
- Setyowati H, Hanifah HZ, Nugraheni RP. 2013. Krim kulit buah durian (*Durio*

zibethinus L.) sebagai obat herbal pengobatan infeksi jamur *Candida albicans*. Semarang: Strata 1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Farmasi Semarang.

- Shakeel, F., Baboota, S., Ahuja, A., Ali, J., Aqil, M., & Shafiq, S. 2008. *Evaluasi Stabilitas celecoxib nanoemulsion mengandung tween 80*. Thai Journal Pharm. Sci. 32, 49.
- Silva, H.D., Cerqueira, M. A., Souza, B. W., *et al.* (2011). Nanoemulsions of β -Carotene Using a High-energy Emulsification-evaporation Technique. *Journal of Food Engineering* 102, 130-135
- Simanjuntak L, Chairina S, Fatimah. 2014. Ekstraksi Pigmen Antosianin dari Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). Jurnal Teknik Kimia Universitas Sumatera Utara.
- Singh, Y., Jaya, G., Kavita, R., Farooq, A. 2016. *Nanoemulsion: Concepts, development and applications in drug delivery*. Pharmaceutics Division, CSIR-Central Drug Research Institute, Lucknow, India, 226.
- So, P., 2008, *Skin Cancer*, 33-6, Chelsea House Publisher, New York.
- Sudarmadji, Slamet. 1988. Proses-Proses Mikrobiologi Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM. Yogyakarta.
- Sulaiman, T. N. Dan Kuswahyuning, R., 2008, *Teknologi dan Formulasi Sediaan Semipadat*, 73, 75, 139, Pustaka Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Swastika A, Mufrod, Purwanto. 2013. Aktivitas antioksidan krim ekstrak sari tomat (*Solanum lycopersicum L.*). Traditional Medicine Journal 18(3): 132-140.
- Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J., & Solans, C. (2004). Formation and stability of nanoemulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108 – 109, 303–18.
- Talegaonkar, S., Tariq, M., dan Abood, R.M., 2011, Design and Development of O/W Nanoemulsion for The Transdermal Delivery of Ondansetron, *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3 (12), 1495-1512.
- Tangsuphoom N, JN Coupland. 2005. Effect of heating and homogenization on the stability of coconut milk emulsions. *Journal Food Sci.* 70 (8):466-470.
- Thakker, K.D., & Chern, W.H. (2003, May). Development and Validation of In Vitro Release Tests for Semisolid Dosage Forms-Case Study. *Dissolution Technology*. 10-15.

- Tisnadjaja, D., 2003, Pengaruh Penambahan Glukosa dan Sodium asetat pada Proses Produksi Bahan Penurun Kolesterol Monascus Powder, Nusa Kimia, Jurnal Ilmu-Ilmu Kimia, Vol. 3, No. 1. ISSN 1412467-467X, 34-41.
- Tisnadjaja D dan Bustanussalam. 2012. Yogyakarta. Hubungan profil kromatografi dari ekstrak angkak dengan aktivitas antioksidannya. *Prosiding Seminar Nasional XXI*.
- Utami SP. 2015. Formulasi sediaan krim tipe M/A dari minyak atsiri (*Pogostemon cablin* B.) dan uji aktivitas repelan [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Walters, K.A & Jonathan, H. 1993. Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement. New York: Marcel Dekker Inc.
- Widyaningsih, W. 2010. Uji Aktiivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Dewa (*Gynura procumbens*) dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Prosiding Seminar Nasional Kosmetika Alami* ISBN: 978-979-18458-2-3.
- Winarno, F.G., dan Titi, S. R. 1994. Bahan Tambahan Untuk Makanan dan Kontaminan. Pustaka Sinar Harapan. Jakarta.
- Winarsih, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Witt, Krista & D. Bucks. 2003. Studying In Vitro Skin Penetration and Drug Release to Optimize Dermatological Formulations In *Pharmaceutical Technology*. USA: Advanstars Communication Inc.
- Yongsmith, B., 1999. Fermentative microbiology of vitamins and pigments, 1st Edn., Kasetsart University Press, Bangkok.
- Zain DM. 2012. Formulasi krim antibakteri dengan kombinasi ekstrak propolis lebah local (*Trigona* spp) dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) [Skripsi]. Bandung: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung.
- Zhou Z, D Zhenwen and X Shenmeng. 2002. Study of Xuezhikang Chinese New Drugs Journal <http://www.wpu.com.on/English/e-3.htm> (13 November 2017. 11.25 WIB)

L
A
M
P
I
R
A
N

Lampiran 1. Hasil izin kode etik keheawatan

3/26/2018	Form A2	
	HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN Dr. Moewardi General Hospital RSUD Dr. Moewardi School of Medicine Sebelas Maret University Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret	
ETHICAL CLEARANCE KELAIKAN ETIK Nomor : 357 / III / HREC / 2018		
<i>The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret University, after reviewing the proposal design, herewith to certify</i> Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta, setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan <i>That the research proposal with topic :</i> Bahwa usulan penelitian dengan judul FORMULASI KRIM NANOEMULSI EKSTRAK ANGKAK, SERTA UJI PENETRASI, STABILITAS DAN KEAMANANNYA <i>Principal investigator</i> : Denia Isra Putri Peneliti Utama : 20144335A <i>Location of research</i> : Lab USB Lokasi Tempat Penelitian : <i>Is ethically approved</i> Dinyatakan layak etik		
 Issued on : 26 Mar 2018 <i>Chairman</i> Ketua <i>Dr. Hani Kujose, dr. Dr.F.MM</i> NIP. 19624022 199503 1 001		

Lampiran 2. Hasil ukuran partikel nanoemulsi terpilih

Size Distribution Report by Intensity v2.2



Sample Details

Sample Name: Tween : Gliserin 1:3 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes: 1ml ad 10ml

File Name: Denia_280218.dts

Dispersant Name: Water

Record Number: 58

Dispersant RI: 1.330

Material RI: 1.52

Viscosity (cP): 0.8872

Material Absorption: 1.000

Measurement Date and Time: Thursday, March 1, 2018 10:...

System

Temperature (°C): 25.0

Duration Used (s): 70

Count Rate (kcps): 183.7

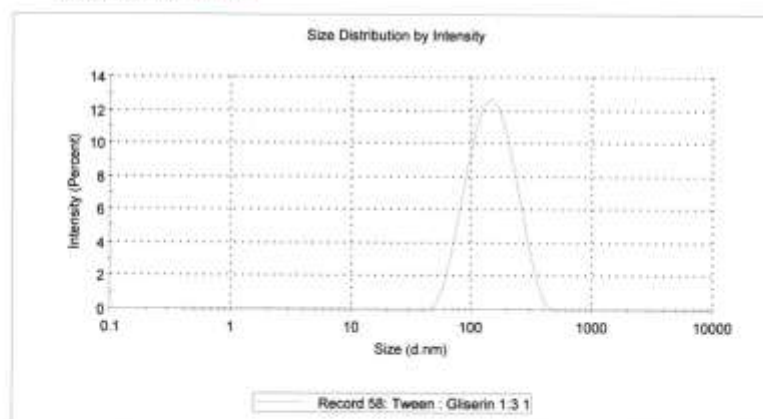
Measurement Position (mm): 1.05

Cell Description: Disposable sizing cuvette

Attenuator: 2

Results

	Size (d.nm):	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 119.5	Peak 1: 154.5	100.0	66.04
Pdi: 0.215	Peak 2: 0.000	0.0	0.000
Intercept: 0.934	Peak 3: 0.000	0.0	0.000
Result quality : Good			



Lampiran 3. Hasil zeta potensial nanoemulsi terpilih

Zeta Potential Report v2.3

Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008



Sample Details

Sample Name: SAMPEL DENIA 1
SOP Name: mansettings.nano
General Notes: 1:10

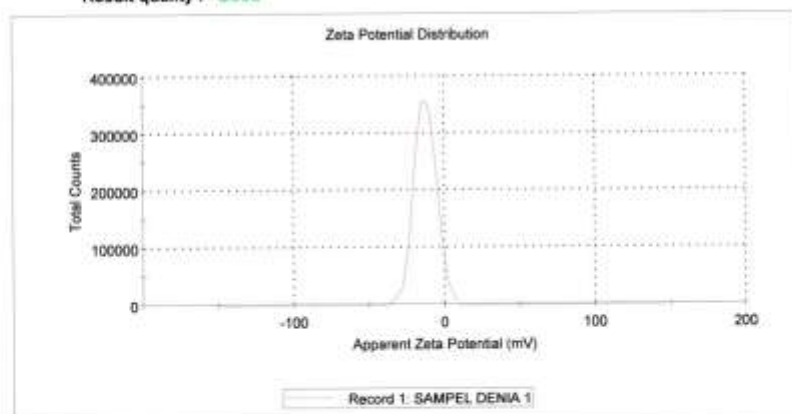
File Name: SABRINA DAN DENIA.dls Dispersant Name: Water
Record Number: 1 Dispersant RI: 1.330
Date and Time: Friday, March 16, 2018 3:39:31 PM Viscosity (cP): 0.8872
Dispersant Dielectric Constant: 78.5

System

Temperature (°C): 25.0 Zeta Runs: 12
Count Rate (kcps): 325.3 Measurement Position (mm): 4.50
Cell Description: Zeta dip cell Attenuator: 6

Results

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -13.2	Peak 1: -13.2	100.0	7.08
Zeta Deviation (mV): 7.08	Peak 2: 0.00	0.0	0.00
Conductivity (mS/cm): 0.0669	Peak 3: 0.00	0.0	0.00
Result quality : Good			



Lampiran 4. Gambar penelitian

A. Bahan penelitian

		a. Gambar beras angkak.
		b. Gambar serbuk beras angkak.
		c. Gambar alat <i>moisture balance</i> .
		d. Alat difusi <i>Franz</i>

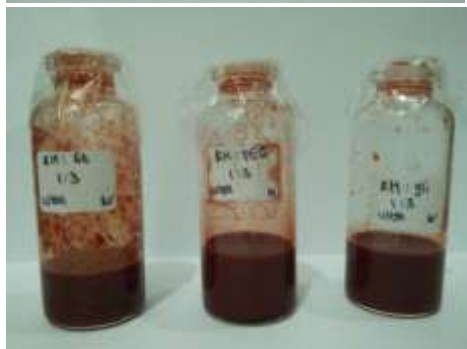
B. Proses maserasi

		a. Gambar botol maserasi.
		b. Gambar alat evaporator.
		c. Gambar ekstrak beras angkak

C. Gambar formula krim



D. Gambar formula nanoemulsi





E. Gambar pengujian krim

		a. Gambar uji tipe krim
		b. Gambar uji tipe krim dibawah mikroskop
		c. gambar uji homogenitas krim
		d. Gambar uji pH krim

		e. Gambar uji daya sebar krim
		f. Gambar uji daya lekat krim
		g. Gambar uji viskositas krim
		h. Gambar uji <i>freeze and thaw</i>

F. Gambar uji keamanan

Kelinci	Uji iritasi primer		
	24 jam	48 jam	72 jam
Kontrol Negatif			
Ekstrak angkak			
Nanoemulsi			

Kelinci	Uji iritasi okuler		
	24 jam	48 jam	72 jam
Kontrol Negatif			
Ekstrak angkak			
Nanoemulsi			

Lampiran 5. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak angkak

a. Uji flavonoid ekstrak angkak



Lampiran 6. Perhitungan rendemen berat beras angkak menjadi serbuk beras angkak

Diketahui:

- Berat beras angkak = 1000 gram
- Berat serbuk beras beras angkak = 993 gram

Perhitungan % rendemen:

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Berat serbuk}}{\text{Berat beras}} \times 100\%$$

$$\% \text{ rendemen} = \frac{993}{1000} \times 100\%$$

$$\% \text{ rendemen} = 99,3 \%$$

Lampiran 7. Perhitungan rendemen ekstrak

Perhitungan berat ekstrak

$$\begin{array}{rcl}
 \text{Berat wadah + ekstrak} & = & 304,56 \text{ gr} \\
 \text{Berat wadah kosong} & = & 164,342 \text{ gr} \\
 \hline
 \text{Berat ekstrak} & = & 140,218 \text{ gr}
 \end{array}$$

Perhitungan % rendemen ekstrak :

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk}} \times 100\% \\
 &= \frac{140,218 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 14.02 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 8. Hasil penetapan kadar lembab serbuk dan ekstrak beras angkak

	Berat	Kadar lembab (%)	Pustaka (%)
Serbuk	2,00	7,7	≤10
	2,00	7,7	
	2,00	7,7	
	Rata-rata SD	± 7,7±0,0	
Ekstrak	2,0	5,7	
	2,0	4,7	
	2,0	5,7	
	Rata-rata SD	± 5,37±0,58	

Serbuk beras angkak

- Replikasi 1 = sebanyak 2 gram serbuk menunjukkan angka 7,7%
 - Replikasi 2 = sebanyak 2 gram serbuk menunjukkan angka 7,6%
 - Replikasi 3 = sebanyak 2 gram serbuk menunjukkan angka 7,7%
- Maka didapatkan hasil rata-rata kadar lembab serbuk beras angkak sebesar 7,6%

Ekstrak beras angkak

- Replikasi 1 = sebanyak 2 gram serbuk menunjukkan angka 5,7%
 - Replikasi 2 = sebanyak 2 gram serbuk menunjukkan angka 4,7%
 - Replikasi 3 = sebanyak 2 gram serbuk menunjukkan angka 5,7%
- Maka didapatkan hasil rata-rata kadar lembab ekstrak beras angkak sebesar 5,37%

Lampiran 9. Hasil uji antioksidan ekstrak angkak

A. Data kurva baku vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			
	I	II	III	Rerata
4	0,225	0,225	0,225	0,225
6	0,189	0,189	0,189	0,189
10	0,036	0,036	0,036	0,036

B. Data absorbansi ekstrak angkak

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			
	I	II	III	Rerata
Blanko (100)	0,703	0,703	0,703	0,703
2	0,384	0,382	0,379	0,382
6	0,202	0,202	0,202	0,202
8	0,198	0,190	0,191	0,193

C. Hasil % inhibisi kurva baku dan ekstrak angkak

Kurva baku	Ekstrak angkak
$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$	
4 ppm $\% \text{ inhibisi} = \frac{0,703 - 0,225}{0,703} \times 100\% = 67,99\%$	2 ppm Absorbansi 1 $\% \text{ inhibisi} = \frac{0,703 - 0,384}{0,703} \times 100\% = 45,38 \%$
6 ppm $\% \text{ inhibisi} = \frac{0,703 - 0,189}{0,703} \times 100\% = 73,12\%$	Absorbansi 2 $\% \text{ inhibisi} = \frac{0,703 - 0,382}{0,703} \times 100\% = 45,66 \%$
10 ppm $\% \text{ inhibisi} = \frac{0,703 - 0,036}{0,703} \times 100\% = 99,88\%$	Absorbansi 3 $\% \text{ inhibisi} = \frac{0,703 - 0,379}{0,703} \times 100\% = 46,09 \%$
	6 ppm $\% \text{ inhibisi} = \frac{0,703 - 0,202}{0,703} \times 100\% = 71,27 \%$
	8 ppm Absorbansi 1 $\% \text{ inhibisi} = \frac{0,703 - 0,198}{0,703} \times 100\% = 71,83 \%$
	Absorbansi 2 $\% \text{ inhibisi} = \frac{0,703 - 0,190}{0,703} \times 100\% = 72,97 \%$
	Absorbansi 3 $\% \text{ inhibisi} = \frac{0,703 - 0,191}{0,703} \times 100\% = 72,83 \%$

D. Hasil IC_{50} kurva baku dan ekstrak angkak

IC_{50} kurva baku vitamin C

$$a = 43,587$$

$$b = 5,511$$

$$r = 0,9832$$

$$IC_{50} = \frac{50-a}{b}$$

$$IC_{50} = \frac{50-43,587}{5,511} = 1,16 \text{ ppm}$$

IC_{50} ekstrak angkak

IC_{50} Absorbansi 1	IC_{50} Absorbansi 2	IC_{50} Absorbansi 3
$a = 37,74$ $b = 4,70$ $r = 0,9508$	$a = 38,87$ $b = 4,40$ $r = 0,9299$	$a = 36,94$ $b = 4,90$ $r = 0,960$
$IC_{50} = \frac{50-a}{b}$ $IC_{50} = \frac{50-37,74}{4,70} = 2,60$ ppm	$IC_{50} = \frac{50-a}{b}$ $IC_{50} = \frac{50-38,87}{4,40} = 2,53$ ppm	$IC_{50} = \frac{50-a}{b}$ $IC_{50} = \frac{50-36,94}{4,90} = 2,67$ ppm

E. Hasil uji statistik antioksidan

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		IC50
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1.8800
	Std. Deviation	.78996
Most Extreme Differences	Absolute	.319
	Positive	.319
	Negative	-.295
Kolmogorov-Smirnov Z		.781
Asymp. Sig. (2-tailed)		.575

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Group Statistics

Antioksidan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
IC50	1.00	3	1.1600	.00000	.00000
	2.00	3	2.6000	.07000	.04041

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference		
								Lower	Upper	
IC50 Equal variances assumed	4.000	.116	-35.631	4	.000	-1.44000	.04041	-1.55221	-1.32779	
Equal variances not assumed			-35.631	2.000	.001	-1.44000	.04041	-1.61389	-1.26611	

Lampiran 10. Data hasil uji organoleptis krim

Sediaan	Hari ke-1		Hari ke-21	
	Warna & bau	Konsistensi	Warna & bau	Konsistensi
KRIM KONTROL NEGATIF	Merah muda dan berbau ekstrak	Kental	Merah muda dan berbau ekstrak	Kental
KRIM EKSTRAK ANGKAK	Merah muda dan berbau ekstrak	Kental	Merah muda dan berbau ekstrak	Kental
KRIM NANOEMULSI	Merah muda dan berbau ekstrak	Kental	Merah muda dan berbau ekstrak	Kental

Lampiran 11. Data hasil uji tipe krim

Sediaan	Hari ke-1		Hari ke-21	
	Air	Metilen blue	Air	Metilen blue
KRIM KONTROL NEGATIF	Terencerkan	Fase dispers tidak berwarna, fase kontinyu biru	Terencerkan	Fase dispers tidak berwarna, fase kontinyu biru
KRIM EKSTRAK ANGKAK	Terencerkan	Fase dispers tidak berwarna, fase kontinyu biru	Terencerkan	Fase dispers tidak berwarna, fase kontinyu biru
KRIM NANOEMULSI	Terencerkan	Fase dispers tidak berwarna, fase kontinyu biru	Terencerkan	Fase dispers tidak berwarna, fase kontinyu biru

Lampiran 12. Data hasil uji pH krim

Sediaan		Hari ke-1	Hari ke-21	Penurunan pH
KRIM KONTROL NEGATIF	R1	4,62	4,58	0,04
	R2	4,64	4,55	0,09
	R3	4,62	4,52	0,1
	Rata-rata ±SD	4,63 ± 0,01	4,55 ± 0,03	0,08±0,03
KRIM EKSTRAK ANGKAK	R1	5,34	4,52	0,82
	R2	5,37	4,50	0,87
	R3	5,42	4,52	0,9
	Rata-rata ±SD	5,38 ± 0,04	4,51 ± 0,01	0,86±0,04
KRIM NANOEMULSI	R1	4,92	4,67	0,25
	R2	4,84	4,69	0,15
	R3	4,85	4,69	0,16
	Rata-rata ±SD	4,83 ± 0,09	4,68 ± 0,01	0,19±0,05

Uji statistik oneway ANOVA dan paired t-test pH krim
One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		selisih pH
N		9
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,4711
	Std. Deviation	,34585
Most Extreme Differences	Absolute	,192
	Positive	,192
	Negative	-,177
Kolmogorov-Smirnov Z		,575
Asymp. Sig. (2-tailed)		,895

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

ANOVA

selisih Ph

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,928	2	,464	97,373	,000
Within Groups	,029	6	,005		
Total	,957	8			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

selisih pH
 Tukey HSD

(I) formula	(J) formula	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	ekstrak angkak	-,78667*	,05637	,000	-,9596	-,6137
	nanoemulsi	-,39667*	,05637	,001	-,5696	-,2237
ekstrak angkak	kontrol negatif	,78667*	,05637	,000	,6137	,9596
	nanoemulsi	,39000*	,05637	,001	,2170	,5630
Nanoemulsi	kontrol negatif	,39667*	,05637	,001	,2237	,5696
	ekstrak angkak	-,39000*	,05637	,001	-,5630	-,2170

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

selisih pH

Tukey HSD^a

Formula	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol negatif	3	,0767	,4733	,8633
Nanoemulsi	3			
ekstrak angkak	3			
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

1. Data statistik paired test hari ke-1 dan hari ke-21 formula krim kontrol negatif

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari ke-1	Hari ke-21
N		3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4,6267	4,5500
	Std. Deviation	,01155	,03000
Most Extreme Differences	Absolute	,385	,175
	Positive	,385	,175
	Negative	-,282	-,175
Kolmogorov-Smirnov Z		,667	,303
Asymp. Sig. (2-tailed)		,766	1,000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Hari ke-1 - Hari ke-21	,07667	,03215	,01856	-,00319	,15652	4,131	2	,054

2. Data statistik paired test hari ke-1 dan hari ke-21 formula krim ekstrak angkak

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari ke-1	Hari ke-21
N		3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	5,1100	4,5133
	Std. Deviation	,42462	,01155
Most Extreme Differences	Absolute	,373	,385
	Positive	,270	,282
	Negative	-,373	-,385
Kolmogorov-Smirnov Z		,645	,667
Asymp. Sig. (2-tailed)		,799	,766

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Hari ke-1 - Hari ke-21	,59667	,43085	,24875	-,47363	1,66696	2,399	2	,139

3. Data statistik paired test hari ke-1 dan hari ke-21 formula krim nanoemulsi

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		hari ke-1	ari ke-21
N		3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4.8700	4.6833
	Std. Deviation	.04359	.01155
Most Extreme Differences	Absolute	.343	.385
	Positive	.343	.282
	Negative	-.246	-.385
Kolmogorov-Smirnov Z		.595	.667
Asymp. Sig. (2-tailed)		.871	.766

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

	Paired Differences					T	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair hari ke-1 - 1 ari ke-21	.18667	.05508	.03180	.04985	.32348	5.870	2	.028

Lampiran 13. Data hasil uji homogenitas krim

Sediaan	Hari ke-1	Hari ke-21
KRIM KONTROL NEGATIF	Homogen	Homogen
KRIM EKSTRAK ANGKAK	Homogen	Homogen
KRIM NANOEMULSI	Homogen	Homogen

Lampiran 14. Data hasil uji viskositas krim

Sediaan	Viskositas (Dpas)		Peningkatan viskositas
	Hari ke-1	Hari ke-21	
KRIM KONTROL	90	97	7
NEGATIF	92	105	13
	91	105	14
RATA-RATA±SD	91 ±1	102,33± 4,17	11,33±3,09
KRIM EKSTRAK	115	120	5
ANGKAK	117	123	6
	115	121	6
RATA-RATA±SD	115,67± 1,16	121,33± 1,53	5,67±0,58
KRIM	105	108	3
NANOEMULSI	106	111	5
	108	120	12
RATA-RATA±SD	106,33± 1,53	113± 6,24	6,67±4,73

Uji statistik *oneway* ANOVA dan *paired t-test* viskositas krim

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		peningkatan viskositas
N		9
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	7.8889
	Std. Deviation	4.01386
Most Extreme Differences	Absolute	.254
	Positive	.254
	Negative	-.180
Kolmogorov-Smirnov Z		.763
Asymp. Sig. (2-tailed)		.606

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

peningkatan viskositas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.624	2	6	.061

ANOVA

peningkatan viskositas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	54.889	2	27.444	2.225	.189
Within Groups	74.000	6	12.333		
Total	128.889	8			

Post Hoc Tests**Multiple Comparisons**

peningkatan viskositas

Tukey HSD

(I) formula	(J) formula	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	ekstrak angkak	5.66667	2.86744	.199	-3.1314	14.4648
	nanoemulsi	4.66667	2.86744	.306	-4.1314	13.4648
ekstrak angkak	kontrol negatif	-5.66667	2.86744	.199	-14.4648	3.1314
	nanoemulsi	-1.00000	2.86744	.936	-9.7981	7.7981
nanoemulsi	kontrol negatif	-4.66667	2.86744	.306	-13.4648	4.1314
	ekstrak angkak	1.00000	2.86744	.936	-7.7981	9.7981

Homogeneous Subsets

peningkatan viskositas

Tukey HSD^a

Formula	N	Subset for alpha = 0.05
		1
ekstrak angkak	3	5.6667
Nanoemulsi	3	6.6667
kontrol negative	3	11.3333
Sig.		.199

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1. Data statistik paired test hari ke-1 dan hari ke-21 formula krim kontrol negatif

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari ke-1	Hari ke-21
N		3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	91,00	102,33
	Std. Deviation	1,000	4,619
Most Extreme Differences	Absolute	,175	,385
	Positive	,175	,282
	Negative	-,175	-,385
Kolmogorov-Smirnov Z		,303	,667
Asymp. Sig. (2-tailed)		1,000	,766

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Hari ke-1 - Hari ke-21	-11,333	3,786	2,186	-20,738	-1,929	-5,185	2	,035

2. Data statistik paired test hari ke-1 dan hari ke-21 formula krim ekstrak angkak

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari ke-1	Hari ke-21
N		3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	115,67	121,33
	Std. Deviation	1,155	1,528
Most Extreme Differences	Absolute	,385	,253
	Positive	,385	,253
	Negative	-,282	-,196
Kolmogorov-Smirnov Z		,667	,438
Asymp. Sig. (2-tailed)		,766	,991

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Hari ke-1 - Hari ke-21	-5,667	,577	,333	-7,101	-4,232	-17,000	2	,003

3. Data statistik paired test hari ke-1 dan hari ke-21 formula krim nanoemulsi

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		hari ke-1	ari ke-21
N		3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	106.3333	113.0000
	Std. Deviation	1.52753	6.24500
Most Extreme Differences	Absolute	.253	.292
	Positive	.253	.292
	Negative	-.196	-.212
Kolmogorov-Smirnov Z		.438	.506
Asymp. Sig. (2-tailed)		.991	.960

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 hari ke-1 - ari ke-21	-6.66667	4.72582	2.72845	-18.40624	5.07291	-2.443	2	.135

Lampiran 15. Data hasil uji daya lekat krim

Sediaan		Hari ke-1	Hari ke-21	Peningkatan Daya Lekat
KRIM KONTROL NEGATIF	R1	1,06	1,25	0,19
	R2	1,10	1,32	0,22
	R3	1,13	1,35	0,22
Rata-rata ± SD		1,1±0,04	1,21±0,10	0,11±0,02
KRIM EKSTRAK ANGKAK	R1	1,25	1,8	0,55
	R2	1,32	1,8	0,48
	R3	1,35	1,9	0,55
Rata-rata ± SD		1,31±0,05	1,83±0,06	0,53±0,04
KRIM NANOEMULSI	R1	1,39	1,65	0,26
	R2	1,42	1,73	0,31
	R3	1,48	1,75	0,27
Rata-rata ± SD		1,43±0,05	1,71±0,03	0,28±0,03

Uji statistik *oneway* ANOVA dan *paired t-test* daya lekat krim

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

peningkatan daya lekat
Tukey HSD

(I) formula	(J) formula	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	ekstrak angkak	-.31667*	.02419	.000	-.3909	-.2424
	nanoemulsi	-.07000	.02419	.062	-.1442	.0042
ekstrak angkak	kontrol negatif	.31667*	.02419	.000	.2424	.3909
	nanoemulsi	.24667*	.02419	.000	.1724	.3209
nanoemulsi	kontrol negatif	.07000	.02419	.062	-.0042	.1442
	ekstrak angkak	-.24667*	.02419	.000	-.3209	-.1724

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Homogeneous Subsets

peningkatan daya lekat

Tukey HSD^a

Formula	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kontrol negative	3	.2100	
Nanoemulsi	3	.2800	
ekstrak angkak	3		.5267
Sig.		.062	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1. Data statistik paired test hari ke-1 dan hari ke-21 formula krim kontrol negatif

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari ke-1	Hari ke-21
N		3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1,0967	1,2133
	Std. Deviation	,03512	,10263
Most Extreme Differences	Absolute	,204	,269
	Positive	,185	,199
	Negative	-,204	-,269
Kolmogorov-Smirnov Z		,354	,466
Asymp. Sig. (2-tailed)		1,000	,982

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	Df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Hari ke-1 - Hari ke-21	-,11667	,06807	,03930	-,28576	,05243	-2,969	2	,097

Data statistik paired test hari ke-1 dan hari ke-21 formula krim ekstrak angkak

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari ke-1	Hari ke-21
N		3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1,3067	1,8333
	Std. Deviation	,05132	,05774
Most Extreme Differences	Absolute	,269	,385
	Positive	,199	,385
	Negative	-,269	-,282
Kolmogorov-Smirnov Z		,466	,667
Asymp. Sig. (2-tailed)		,982	,766

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	Df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Hari ke-1 - Hari ke-21	-,52667	,04041	,02333	-,62706	-,42627	-22,571	2	,002

Data statistik paired test hari ke-1 dan hari ke-21 formula krim nanoemulsi

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		hari ke-1	ari ke-21
N		3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1.4300	1.7100
	Std. Deviation	.04583	.05292
Most Extreme Differences	Absolute	.253	.314
	Positive	.253	.225
	Negative	-.196	-.314
Kolmogorov-Smirnov Z		.438	.544
Asymp. Sig. (2-tailed)		.991	.929

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Sediaan			Penurunan daya sebar			
			50	100	150	200
Krim negatif	Kontrol	R1	0,24	0,67	0,39	0,2
		R2	0,4	0,75	0,2	0,3
		R3	0,5	0,3	0	0,3
		Rata-rata $\pm$ SD	0,38 $\pm$ 0,13	0,57 $\pm$ 0,24	0,2 $\pm$ 0,2	0,27 $\pm$ 0,06
Krim angkak	Ekstrak	R1	0,4	0,7	0,65	0,6
		R2	0,2	1,1	0,9	0,9
		R3	0,1	1,1	1	0,9
		Rata-rata $\pm$ SD	0,23 $\pm$ 0,15	0,97 $\pm$ 0,23	0,85 $\pm$ 0,18	0,8 $\pm$ 0,17
Krim Nanoemulsi		R1	0,3	0,39	0,52	0,25
		R2	0,3	0,3	0,3	0,3
		R3	0	0,3	0,2	0,2
		Rata-rata $\pm$ SD	0,2 $\pm$ 0,17	0,33 $\pm$ 0,05	0,34 $\pm$ 0,16	0,25 $\pm$ 0,05

Uji statistik *twoway* ANOVA dan *paired t-test* daya sebar krim

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

			penurunan daya sebar
N			36
Normal Parameters ^{a,b}	Mean		,4989
	Std. Deviation		,39347
Most Extreme Differences	Absolute		,210
	Positive		,210
	Negative		-,140
Kolmogorov-Smirnov Z			1,262
Asymp. Sig. (2-tailed)			,083

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

	Value Label	N
formula	1,00 kontrol negatif	12
	2,00 ekstrak angkak	12
	3,00 nanoemulsi	12
beban	1,00 50 gram	9
	2,00 100 gam	9
	3,00 150 gram	9
	4,00 200 gram	9

Descriptive Statistics

Dependent Variable: penurunan daya sebar

Formula	beban	Mean	Std. Deviation	N
kontrol negative	50 gram	,3800	,13115	3
	100 gam	,5733	,24007	3
	150 gram	,1967	,19502	3
	200 gram	,8667	,98150	3
	Total	,5042	,51265	12
ekstrak angkak	50 gram	,2333	,15275	3
	100 gam	,9667	,23094	3
	150 gram	,8500	,18028	3
	200 gram	,8000	,17321	3
	Total	,7125	,33583	12
Nanoemulsi	50 gram	,2000	,17321	3
	100 gam	,3300	,05196	3
	150 gram	,3400	,16371	3
	200 gram	,2500	,05000	3
	Total	,2800	,12218	12
Total	50 gram	,2711	,15656	9
	100 gam	,6233	,32531	9
	150 gram	,4622	,33581	9
	200 gram	,6389	,57867	9
	Total	,4989	,39347	36

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: penurunan daya sebar

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2,864 ^a	11	,260	2,446	,032
Intercept	8,960	1	8,960	84,174	,000
Formula	1,123	2	,561	5,274	,013
Beban	,795	3	,265	2,489	,085
formula * beban	,946	6	,158	1,481	,227
Error	2,555	24	,106		
Total	14,379	36			
Corrected Total	5,419	35			

a. R Squared = ,529 (Adjusted R Squared = ,312)

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: penurunan daya sebar

F	df1	df2	Sig.
8,060	11	24	,000

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

a. Design: Intercept + formula + beban + formula * beban

1. formula

Dependent Variable: penurunan daya sebar

Formula	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
kontrol negative	,504	,094	,310	,699
ekstrak angkak	,713	,094	,518	,907
Nanoemulsi	,280	,094	,086	,474

2. beban

Dependent Variable: penurunan daya sebar

beban	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
50 gram	,271	,109	,047	,496
100 gam	,623	,109	,399	,848
150 gram	,462	,109	,238	,687
200 gram	,639	,109	,414	,863

3. formula * beban

Dependent Variable: penurunan daya sebar

Formula beban		Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
kontrol negative	50 gram	,380	,188	-,009	,769
	100 gam	,573	,188	,185	,962
	150 gram	,197	,188	-,192	,585
	200 gram	,867	,188	,478	1,255
ekstrak angkak	50 gram	,233	,188	-,155	,622
	100 gam	,967	,188	,578	1,355
	150 gram	,850	,188	,461	1,239
	200 gram	,800	,188	,411	1,189
Nanoemulsi	50 gram	,200	,188	-,189	,589
	100 gam	,330	,188	-,059	,719
	150 gram	,340	,188	-,049	,729
	200 gram	,250	,188	-,139	,639

Post Hoc Tests**Multiple Comparisons**

penurunan daya sebar

Tukey HSD

(I) beban	(J) beban	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
50 gram	100 gam	-,3522	,15380	,129	-,7765	,0721
	150 gram	-,1911	,15380	,607	-,6154	,2332
	200 gram	-,3678	,15380	,106	-,7921	,0565
100 gam	50 gram	,3522	,15380	,129	-,0721	,7765
	150 gram	,1611	,15380	,724	-,2632	,5854
	200 gram	-,0156	,15380	1,000	-,4398	,4087
150 gram	50 gram	,1911	,15380	,607	-,2332	,6154
	100 gam	-,1611	,15380	,724	-,5854	,2632
	200 gram	-,1767	,15380	,664	-,6009	,2476
200 gram	50 gram	,3678	,15380	,106	-,0565	,7921
	100 gam	,0156	,15380	1,000	-,4087	,4398
	150 gram	,1767	,15380	,664	-,2476	,6009

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,106.

Homogeneous Subsets

penurunan daya sebar

Tukey HSD^{a,b}

beban	N	Subset
		1
50 gram	9	,2711
150 gram	9	,4622
100 gam	9	,6233
200 gram	9	,6389
Sig.		,106

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error)

= ,106.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9,000.

b. Alpha = ,05.

1. Data statistik hari ke-1 dan hari ke-21 formula kontrol negatif

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Hari ke-1	3	4,8800	,13115	4,74	5,00
Hari ke-21	3	4,5000	,00000	4,50	4,50

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	Hari ke-1	Hari ke-21
N	3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean 4,8800	Mean 4,5000
	Std. Deviation ,13115	Std. Deviation ,00000 ^c
Most Extreme Differences	Absolute ,227	
	Positive ,190	
	Negative -,227	
Kolmogorov-Smirnov Z	,394	
Asymp. Sig. (2-tailed)	,998	

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

	Paired Differences					T	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 Hari ke-1 - Hari ke-21	,38000	,13115	,07572	,05421	,70579	5,019	2	,037

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Hari ke-1	3	5,7400	,06557	5,67	5,80
Hari ke-21	3	5,1667	,28868	5,00	5,50

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	Hari ke-1	Hari ke-21
N	3	3
Normal Parameters ^{a,b}		
Mean	5,7400	5,1667
Std. Deviation	,06557	,28868
Most Extreme Differences		
Absolute	,227	,385
Positive	,190	,385
Negative	-,227	-,282
Kolmogorov-Smirnov Z	,394	,667
Asymp. Sig. (2-tailed)	,998	,766

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 Hari ke-1 - Hari ke-21	,57333	,24007	,13860	-,02303	1,16970	4,136	2	,054

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Hari ke-1	3	5,9300	,06083	5,89	6,00
Hari ke-21	3	5,7333	,25166	5,50	6,00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	Hari ke-1	Hari ke-21
N	3	3
Normal Parameters ^{a,b}		
Mean	5,9300	5,7333
Std. Deviation	,06083	,25166
Most Extreme Differences		
Absolute	,356	,219
Positive	,356	,219
Negative	-,255	-,189
Kolmogorov-Smirnov Z	,616	,380
Asymp. Sig. (2-tailed)	,842	,999

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Hari ke-1 - Hari ke-21	,19667	,19502	,11260	-,28779	,68113	1,747	2	,223

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Hari ke-1	3	6,3000	,10000	6,20	6,40
Hari ke-21	3	6,0333	,05774	6,00	6,10

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	Hari ke-1	Hari ke-21
N	3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean 6,3000	6,0333
	Std. Deviation ,10000	,05774
Most Extreme Differences	Absolute ,175	,385
	Positive ,175	,385
	Negative -,175	-,282
Kolmogorov-Smirnov Z	,303	,667
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000	,766

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 Hari ke-1 - Hari ke-21	,26667	,05774	,03333	,12324	,41009	8,000	2	,015

2. Data statistik hari ke-1 dan hari ke-21 formula ekstrak angkak

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
beban 50 harike-1	3	4.0333	.05774	4.00	4.10
beban 50 harike-21	3	3.8000	.20000	3.60	4.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		beban 50 harike-1	beban 50 harike-21
N		3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4.0333	3.8000
	Std. Deviation	.05774	.20000
Most Extreme Differences	Absolute	.385	.175
	Positive	.385	.175
	Negative	-.282	-.175
Kolmogorov-Smirnov Z		.667	.303
Asymp. Sig. (2-tailed)		.766	1.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	beban 50 harike-1 - beban 50 harike-21	.23333	.15275	.08819	-.14612	.61279	2.646	2	.118

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
beban 100 harike-1	3	5.4667	.41633	5.00	5.80
beban 100 harike-21	3	4.5000	.20000	4.30	4.70

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		beban 100 harike-1	beban 100 harike-21
N		3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	5.4667	4.5000
	Std. Deviation	.41633	.20000
Most Extreme Differences	Absolute	.292	.175
	Positive	.212	.175
	Negative	-.292	-.175
Kolmogorov-Smirnov Z		.506	.303
Asymp. Sig. (2-tailed)		.960	1.000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 beban 100 harike-1 - beban 100 harike-21	.96667	.23094	.13333	.39298	1.54035	7.250	2	.018

NPar Test

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
beban 150	3	5.7500	.18028	5.55	5.90
beban 150	3	4.9000	.00000	4.90	4.90

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		beban 150	beban 150
N		3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	5.7500	4.9000
	Std. Deviation	.18028	.00000
Most Extreme Differences	Absolute	.276	.500
	Positive	.203	.500
	Negative	-.276	-.500
Kolmogorov-Smirnov Z		.478	.866
Asymp. Sig. (2-tailed)		.976	.441

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

Paired Samples Test									
		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	beban 150 - beban 150	.85000	.18028	.10408	.40217	1.29783	8.167	2	.015

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
beban 200	3	5.9000	.17321	5.70	6.00
beban 200	3	5.1000	.00000	5.10	5.10

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		beban 200	beban 200
N		3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	5.9000	5.1000
	Std. Deviation	.17321	.00000
Most Extreme Differences	Absolute	.385	.500
	Positive	.282	.500
	Negative	-.385	-.500
Kolmogorov-Smirnov Z		.667	.866
Asymp. Sig. (2-tailed)		.766	.441

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	beban 200 - beban 200	.80000	.17321	.10000	.36973	1.23027	8.000	2	.015

3. Data statistik hari ke-1 dan hari ke-21 formula nanoemulsi

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		hari ke-1	ari ke-21
N		3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4,1000	3,9000
	Std. Deviation	,10000	,26458
Most Extreme Differences	Absolute	,175	,314
	Positive	,175	,314
	Negative	-,175	-,225
Kolmogorov-Smirnov Z		,303	,544
Asymp. Sig. (2-tailed)		1,000	,929

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	hari ke-1 - ari ke-21	,20000	,26458	,15275	-,45724	,85724	1,309	2	,321

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		hari ke-1	ari ke-21
N		3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4,7300	4,4000
	Std. Deviation	,06083	,10000
Most Extreme Differences	Absolute	,356	,175
	Positive	,356	,175
	Negative	-,255	-,175
Kolmogorov-Smirnov Z		,616	,303
Asymp. Sig. (2-tailed)		,842	1,000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	hari ke-1 - ari ke-21	,33000	,15395	,08888	-,05243	,71243	3,713	2	,065

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		hari ke-1	ari ke-21
N		3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	5,5400	5,2000
	Std. Deviation	,05292	,20000
Most Extreme Differences	Absolute	,314	,175
	Positive	,314	,175
	Negative	-,225	-,175
Kolmogorov-Smirnov Z		,544	,303
Asymp. Sig. (2-tailed)		,929	1,000

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	hari ke-1 - ari ke-21	,34000	,25060	,14468	-,28252	,96252	2,350	2	,143

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		hari ke-1	ari ke-21
N		3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	5,8000	5,5500
	Std. Deviation	,10000	,13229
Most Extreme Differences	Absolute	,175	,314
	Positive	,175	,314
	Negative	-,175	-,225
Kolmogorov-Smirnov Z		,303	,544
Asymp. Sig. (2-tailed)		1,000	,929

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	hari ke-1 - ari ke-21	,25000	,05000	,02887	,12579	,37421	8,660	2	,013

T-Test

Lampiran 17. Data hasil uji pemisahan fase dengan metode *Freeze and thaw*

Sediaan	Stabilitas	
	Hari ke-1	Hari ke-21
Krim Kontrol negatif	Tidak memisah	Tidak memisah
Krim Ekstrak angkak	Tidak memisah	Tidak memisah
Krim Nanoemulsi	Tidak memisah	Tidak memisah

Lampiran 18. Hasil Uji keamanan primer dan okuler krim pada kelinci

A. Uji keamanan primer

Kelinci	Replikasi	Respon setelah pemberian sediaan					
		24 jam		48 jam		72 jam	
		Eritema	Udema	Eritema	Udema	Eritema	Udema
Kontrol negatif	1	1	0	0	0	0	0
	2	1	0	0	0	0	0
	3	1	0	0	0	0	0
Total		3	0	0	0	0	0
IIPR		1					
Kesimpulan		Krim sangat sedikit iritasi					
Ekstrak angkak	1	2	0	1	0	0	0
	2	2	0	1	0	0	0
	3	2	0	1	0	0	0
Total		6	0	3	0	0	0
IIPR		3					
Kesimpulan		Krim sedikit iritasi					
Nanoemulsi	1	2	0	1	0	0	0
	2	1	0	1	0	0	0
	3	1	0	0	0	0	0
Total		4	0	1	0	0	0
IIPR		1,67					
Kesimpulan		Krim sangat sedikit iritasi					

$$\text{Indeks iritasi primer} = \frac{\text{Jumlah eritema 24/48/72 jam} + \text{Jumlah edema 24/48/72 jam}}{\text{Jumlah kelinci}}$$

- 1) Kontrol negatif: Indeks iritasi primer = $\frac{3}{3} = 1$
- 2) Ekstrak angkak: Indeks iritasi primer = $\frac{9}{3} = 3$
- 3) nanoemulsi: Indeks iritasi primer = $\frac{5}{3} = 1,67$

Lampiran 19. Hasil uji daya penetrasi krim

A. Kurva baku pembanding

Konsentrasi mg/ml	Absorbansi (Å)			
	I	II	III	Rerata
0,25	0,359	0,360	0,361	0,360
0,3	0,445	0,443	0,445	0,444
0,35	0,647	0,649	0,648	0,648

A	-0,38
B	2,88
R	0,9722
$Y = -0,38 + 2,88x$	

B. Perhitungan konsentrasi kadar krim ekstrak angkak tiap kali sampling

Waktu (menit)	Absorbansi (Å)			
	I	II	III	Rerata
30	0,014	0,014	0,014	0,014
60	0,019	0,018	0,018	0,0183
90	0,021	0,021	0,021	0,021
120	0,022	0,023	0,023	0,023

30 menit: R1 $0,014 = -0,38 + 2,88x$ $x = \frac{0,394}{2,88}$ $x = 0,1368 \text{ mg/ml}$ $x = 136,8 \text{ } \mu\text{g/ml}$	60 menit: R1 $0,019 = -0,38 + 2,88x$ $x = \frac{0,399}{2,88}$ $x = 0,138,5 \text{ mg/ml}$ $x = 138,5 \text{ } \mu\text{g/ml}$
90 menit: R1 $0,021 = -0,38 + 2,88x$ $x = \frac{0,401}{2,88}$ $x = 0,1392 \text{ mg/ml}$ $x = 139,2 \text{ } \mu\text{g/ml}$	120 menit: R1 $0,022 = -0,38 + 2,88x$ $x = \frac{0,402}{2,88}$ $x = 0,1396 \text{ mg/ml}$ $x = 139,6 \text{ } \mu\text{g/ml}$

C. Hasil kadar krim ekstrak angkak

Waktu (menit)	Kadar ($\mu\text{g/ml}$)			
	I	II	III	Rerata $\pm$ SD
30	136,8	136,8	136,8	$136,8 \pm 0$
60	138,5	138,2	138,2	$138,3 \pm 0,17$
90	139,2	139,2	139,2	$139,2 \pm 0$
120	139,6	139,9	139,9	$139,8 \pm 0,17$

D. Perhitungan Jumlah kumulatif krim ekstrak angkak yang terpenetrasi per luas area difusi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

$Q = \frac{\{Cn.V + \sum_{i=1}^{n-1} . Ci . S\}}{A}$	
30' R1	$Q = \frac{(136,8 \mu\text{g} \times 15 \text{ ml}) + (0 \mu\text{g} \times 3 \text{ ml})}{4,906 \text{ cm}^2}$ $Q = \frac{2055 \mu\text{g}}{4,906 \text{ cm}^2}$ $Q = 418,26 \mu\text{g}/\text{cm}^2$
60' R1	$Q = \frac{(138,5 \mu\text{g} \times 15 \text{ ml}) + (136,8 \mu\text{g} \times 3 \text{ ml})}{4,906 \text{ cm}^2}$ $Q = \frac{2077,5 + 410,4 \mu\text{g}}{4,906 \text{ cm}^2}$ $Q = 507,11 \mu\text{g}/\text{cm}^2$
90' R1	$Q = \frac{(139,2 \mu\text{g} \times 15 \text{ ml}) + (136,8 \mu\text{g} \times 3 \text{ ml}) + (138,5 \mu\text{g} \times 3 \text{ ml})}{4,906 \text{ cm}^2}$ $Q = \frac{2088 + 410,4 + 414,6 \mu\text{g}}{4,906 \text{ cm}^2}$ $Q = 593,95 \mu\text{g}/\text{cm}^2$
120' R1	$Q = \frac{(139,6 \mu\text{g} \times 15 \text{ ml}) + (136,8 \mu\text{g} \times 3 \text{ ml}) + (138,5 \mu\text{g} \times 3 \text{ ml}) + (139,2 \mu\text{g} \times 3 \text{ ml})}{4,906 \text{ cm}^2}$ $Q = \frac{2088 + 410,4 + 414,6 + 417,6 \mu\text{g}}{4,906 \text{ cm}^2}$ $Q = 680,29 \mu\text{g}/\text{cm}^2$

E. Hasil jumlah kumulatif krim ekstrak angkak yang terpenetrasi per luas area difusi $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

Waktu (menit)	Q ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)			
	I	II	III	Rerata $\pm$ SD
30	418,87	418,87	418,87	418,70 $\pm$ 0
60	591,81	591,71	591,71	591,08 $\pm$ 0,64
90	678,07	678,88	678,88	678,61 $\pm$ 0,48
120	765,65	766,57	766,57	766,26 $\pm$ 0,53

F. Perhitungan fluks (kecepatan penetrasi tiap satuan waktu) berdasarkan hukum Fick I

$J = \frac{M}{s \times t}$ atau $J = \frac{Q}{t}$	
30 menit R1 $J = \frac{418,26 \text{ } \mu\text{g/cm}^2}{0,5}$ $J = 836,52 \text{ } \mu\text{g.cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$	60 menit R1 $J = \frac{507,11 \text{ } \mu\text{g/cm}^2}{1}$ $J = 507,11 \text{ } \mu\text{g.cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$
90 menit R1 $J = \frac{593,95 \text{ } \mu\text{g/cm}^2}{1,5}$ $J = 395,97 \text{ } \mu\text{g.cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$	120 menit R1 $J = \frac{680,29 \text{ } \mu\text{g/cm}^2}{2}$ $J = 340,15 \text{ } \mu\text{g.cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$

G. Hasil fluks krim ekstrak angkak

Waktu (menit)	Fluks ($\mu\text{g.cm}^{-2}.\text{jam}^{-1}$)			
	I	II	III	Rerata $\pm$ SD
30	837,74	837,74	837,74	837,74 $\pm$ 0
60	591,81	590,71	590,71	591,08 $\pm$ 0,64
90	452,65	452,59	452,59	452,61 $\pm$ 0,03
120	382,83	383,29	383,29	383,14 $\pm$ 0,27

H. Perhitungan konsentrasi kadar krim nanoemulsi ekstrak angkak tiap kali sampling

Waktu (menit)	Absorbansi ($\text{\AA}$)		
	I	II	III
30	0,018	0,020	0,020
60	0,023	0,024	0,024
90	0,046	0,046	0,047
120	0,051	0,051	0,050

30 menit: R1 $y = -0,38 + 2,88x$ $0,018 = -0,38 + 2,88x$ $x = 0,13819 \text{ mg/ml}$ $x = 138,19 \text{ } \mu\text{g/ml}$	90 menit: R1 $y = -0,38 + 2,88x$ $0,046 = -0,38 + 2,88x$ $x = 0,14792 \text{ mg/ml}$ $x = 147,92 \text{ } \mu\text{g/ml}$
60 menit: R1 $y = -0,38 + 2,88x$ $0,023 = -0,38 + 2,88x$ $x = 0,13993 \text{ mg/ml}$ $x = 139,93 \text{ } \mu\text{g/ml}$	120 menit: R1 $y = -0,38 + 2,88x$ $0,051 = -0,38 + 2,88x$ $x = 0,14965 \text{ mg/ml}$ $x = 149,65 \text{ } \mu\text{g/ml}$

I. Hasil kadar krim nanoemulsi

Waktu (menit)	Kadar (µg/ml)			
	I	II	III	Rerata ± SD
30	136,19	136,89	136,89	136,66 ± 0,40
60	139,93	140,28	140,28	140,16 ± 0,20
90	147,92	147,92	148,26	148,03 ± 0,20
120	149,65	149,65	149,31	149,54 ± 0,19

J. Perhitungan Jumlah kumulatif krim nanoemulsi ekstrak angkak yang terpenetrasi per luas area difusi (µg/cm²)

$Q = \frac{\{C_n \cdot V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \cdot S\}}{A}$	
30 menit R1 Q $= \frac{(138,19 \mu g/ml \times 15 ml) + (0 \times 3)}{1,54 cm^2}$ $= 1346 \mu g/cm^2$	90 menit R1 Q $= \frac{(147,92 \mu g/ml \times 15 ml) + \{(138,19 + 139,93) \times 3\}}{1,54 cm^2}$ $= 1982,57 \mu g/cm^2$
60 menit R1 Q $= \frac{(139,93 \mu g/ml \times 15 ml) + (138,19 \times 3)}{1,54 cm^2}$ $= 1632,16 \mu g/cm^2$	120 menit R1 Q $= \frac{(149,65 \mu g/ml \times 15 ml) + \{(138,19 + 139,93 + 147,92) \times 3\}}{1,54 cm^2}$ $= 2287,58 \mu g/cm^2$

K. Hasil jumlah kumulatif krim nanoemulsi yang terpenetrasi per luas area difusi µg/cm²

Waktu (menit)	Kadar (µg/ml)			
	I	II	III	Rerata ± SD
30	1346	1352,82	1352,82	1350,55 ± 3,94
60	1632,16	1636,93	1636,93	1635,34 ± 2,75
90	1982,57	1984,62	1984,62	1983,94 ± 1,18
120	2287,58	2289,62	2286,86	2288,02 ± 1,43

L. Perhitungan fluks (kecepatan penetrasi tiap satuan waktu) berdasarkan hukum Fick I

$J = \frac{M}{s \times t}$ atau $J = \frac{Q}{t}$	
30 menit R1 $J = \frac{1346 \mu\text{g}/\text{cm}^2}{0,5 \text{ jam}}$ $= 2692 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{jam}^{-1}$	90 menit R1 $J = \frac{1982,57 \mu\text{g}/\text{cm}^2}{1,5 \text{ jam}}$ $J = 1285,71 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{jam}^{-1}$
60 menit R1 $J = \frac{1632,16 \mu\text{g}/\text{cm}^2}{1 \text{ jam}}$ $J = 1632,16 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{jam}^{-1}$	120 menit R1 $J = \frac{2287,58 \mu\text{g}/\text{cm}^2}{2 \text{ jam}}$ $J = 1143,79 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{jam}^{-1}$

M. Hasil fluks krim nanoemulsi

Waktu (menit)	Fluks ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{jam}^{-1}$)			
	I	II	III	Rerata $\pm$ SD
30	2692	2705,64	2705,64	2701,09 $\pm$ 7,88
60	1632,16	1636,93	1636,93	1635,34 $\pm$ 2,75
90	1285,71	1323,08	1323,08	1210,62 $\pm$ 21,58
120	1143,79	1144,81	1143,43	1144,01 $\pm$ 0,72

Hasil SPSS Jumlah Kumulatif Krim Ekstrak angkak

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Q30	Q60	Q90	Q120
N		3	3	3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	418,7000	506,5033	593,7600	680,3087
	Std. Deviation	,00000	,52539	,00000 ^c	1,23726
Most Extreme Differences	Absolute	,500	,385		,385
	Positive	,500	,385		,282
	Negative	-,500	-,282		-,385
Kolmogorov-Smirnov Z		,866	,667		,667
Asymp. Sig. (2-tailed)		,441	,766		,766

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Pairwise Comparisons

Measure: nilaikumulatif

(I) waktu	(J) waktu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-87,803 [*]	,303	,000	-89,108	-86,498
	3	-175,060	,000	.	-175,060	-175,060
	4	-261,609 [*]	,714	,000	-264,682	-258,535
2	1	87,803 [*]	,303	,000	86,498	89,108
	3	-87,257 [*]	,303	,000	-88,562	-85,952
	4	-173,805 [*]	1,018	,000	-178,184	-169,427
3	1	175,060	,000	.	175,060	175,060
	2	87,257 [*]	,303	,000	85,952	88,562
	4	-86,549 [*]	,714	,000	-89,622	-83,475
4	1	261,609 [*]	,714	,000	258,535	264,682
	2	173,805 [*]	1,018	,000	169,427	178,184
	3	86,549 [*]	,714	,000	83,475	89,622

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Multivariate Tests

	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared
Pillai's trace	1,000	83787,982 ^a	1,000	2,000	,000	1,000
Wilks' lambda	,000	83787,982 ^a	1,000	2,000	,000	1,000
Hotelling's trace	41893,991	83787,982 ^a	1,000	2,000	,000	1,000
Roy's largest root	41893,991	83787,982 ^a	1,000	2,000	,000	1,000

Each F tests the multivariate effect of waktu. These tests are based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

a. Exact statistic

Hasil SPSS Fluks Krim Ekstrak angkak

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		J30	J60	J90	J120
N		3	3	3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	297,7400	506,5033	395,8400	340,1533
	Std. Deviation	,00000 ^c	,52539	,00000 ^c	,61776
Most Extreme Differences	Absolute		,385		,385
	Positive		,385		,282
	Negative		-,282		-,385
Kolmogorov-Smirnov Z			,667		,667
Asymp. Sig. (2-tailed)			,766		,766

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Pairwise Comparisons

Measure:fluks

(I) waktu	(J) waktu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-208,763 [*]	,303	,000	-210,068	-207,458
	3	-98,100	,000	.	-98,100	-98,100
	4	-42,413 [*]	,357	,000	-43,948	-40,879
2	1	208,763 [*]	,303	,000	207,458	210,068
	3	110,663 [*]	,303	,000	109,358	111,968
	4	166,350 [*]	,660	,000	163,510	169,190
3	1	98,100	,000	.	98,100	98,100
	2	-110,663 [*]	,303	,000	-111,968	-109,358
	4	55,687 [*]	,357	,000	54,152	57,221
4	1	42,413 [*]	,357	,000	40,879	43,948
	2	-166,350 [*]	,660	,000	-169,190	-163,510
	3	-55,687 [*]	,357	,000	-57,221	-54,152

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Multivariate Tests

	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared
Pillai's trace	1,000	473661,592 ^a	1,000	2,000	,000	1,000
Wilks' lambda	,000	473661,592 ^a	1,000	2,000	,000	1,000
Hotelling's trace	236830,796	473661,592 ^a	1,000	2,000	,000	1,000
Roy's largest root	236830,796	473661,592 ^a	1,000	2,000	,000	1,000

Each F tests the multivariate effect of waktu. These tests are based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

a. Exact statistic

Hasil SPSS Jumlah Kumulatif Krim Nanoemulsi Ekstrak angkak

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Q30	Q60	Q90	Q120
N		3	3	3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1350,5467	1635,3400	1983,9367	2288,0200
	Std. Deviation	3,93753	2,75396	1,18357	1,43164
Most Extreme Differences	Absolute	,385	,385	,385	,287
	Positive	,282	,282	,282	,287
	Negative	-,385	-,385	-,385	-,209
Kolmogorov-Smirnov Z		,667	,667	,667	,498
Asymp. Sig. (2-tailed)		,766	,766	,766	,965

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Pairwise Comparisons

Measure: nilaikumulatif

(I) waktu	(J) waktu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-284,793 [*]	,683	,000	-287,733	-281,853
	3	-633,390 [*]	1,590	,000	-640,231	-626,549
	4	-937,473 [*]	2,202	,000	-946,950	-927,997
2	1	284,793 [*]	,683	,000	281,853	287,733
	3	-348,597 [*]	,907	,000	-352,498	-344,696
	4	-652,680 [*]	1,585	,000	-659,499	-645,861
3	1	633,390 [*]	1,590	,000	626,549	640,231
	2	348,597 [*]	,907	,000	344,696	352,498
	4	-304,083 [*]	,922	,000	-308,049	-300,118
4	1	937,473 [*]	2,202	,000	927,997	946,950
	2	652,680 [*]	1,585	,000	645,861	659,499
	3	304,083 [*]	,922	,000	300,118	308,049

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Multivariate Tests

	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared
Pillai's trace	1,000	46053,462 ^a	2,000	1,000	,003	1,000
Wilks' lambda	,000	46053,462 ^a	2,000	1,000	,003	1,000
Hotelling's trace	92106,924	46053,462 ^a	2,000	1,000	,003	1,000
Roy's largest root	92106,924	46053,462 ^a	2,000	1,000	,003	1,000

Each F tests the multivariate effect of waktu. These tests are based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

a. Exact statistic

Hasil SPSS Fluks Krim Nanoemulsi Ekstrak angkak

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		J30	J60	J90	J120
N		3	3	3	3
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2701,0933	1635,3400	1310,6233	1144,0100
	Std. Deviation	7,87506	2,75396	21,57558	,71582
Most Extreme Differences	Absolute	,385	,385	,385	,287
	Positive	,282	,282	,282	,287
	Negative	-,385	-,385	-,385	-,209
Kolmogorov-Smirnov Z		,667	,667	,667	,498
Asymp. Sig. (2-tailed)		,766	,766	,766	,965

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Pairwise Comparisons

Measure: fluks

(I) waktu	(J) waktu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	1065,753*	2,957	,000	1053,032	1078,475
	3	1390,470*	7,910	,000	1356,436	1424,504
	4	1557,083*	4,455	,000	1537,917	1576,250
2	1	-1065,753*	2,957	,000	-1078,475	-1053,032
	3	324,717*	10,867	,001	277,961	371,472
	4	491,330*	1,533	,000	484,735	497,925
3	1	-1390,470*	7,910	,000	-1424,504	-1356,436
	2	-324,717*	10,867	,001	-371,472	-277,961
	4	166,613	12,353	,005	113,462	219,764
4	1	-1557,083*	4,455	,000	-1576,250	-1537,917
	2	-491,330*	1,533	,000	-497,925	-484,735
	3	-166,613	12,353	,005	-219,764	-113,462

Based on estimated marginal means

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

a. Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Multivariate Tests

	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared
Pillai's trace	1,000	35280,813 ^a	2,000	1,000	,004	1,000
Wilks' lambda	,000	35280,813 ^a	2,000	1,000	,004	1,000
Hotelling's trace	70561,627	35280,813 ^a	2,000	1,000	,004	1,000
Roy's largest root	70561,627	35280,813 ^a	2,000	1,000	,004	1,000

Each F tests the multivariate effect of waktu. These tests are based on the linearly independent pairwise comparisons among the estimated marginal means.

a. Exact statistic

Hasil SPSS Jumlah kumulatif Krim Ekstrak Angkak dan Nanoemulsi per waktu

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
waktu 30 menit	6	884.7083	510.30640	418.87	1352.82

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		waktu 30 menit
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	884.7083
	Std. Deviation	510.30640
Most Extreme Differences	Absolute	.319
	Positive	.319
	Negative	-.317
Kolmogorov-Smirnov Z		.782
Asymp. Sig. (2-tailed)		.573

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
waktu 60 menit	Equal variances assumed	8.993	.040	-639.973	4	.000	1044.26333	1.63173	1048.79374	1039.73292
	Equal variances not assumed			-639.973	2.212	.000	1044.26333	1.63173	1050.67683	1037.84984

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
waktu 90 menit	6	1331.2733	714.95731	678.07	1984.62

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		waktu 90 menit
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1331.2733
	Std. Deviation	714.95731
Most Extreme Differences	Absolute	.319
	Positive	.319
	Negative	-.319
Kolmogorov-Smirnov Z		.782
Asymp. Sig. (2-tailed)		.574

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test**Independent Samples Test**

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
waktu 90 menit	Equal variances assumed	5.064	.088	-1776.581	4	.000	-1305.32667	.73474	-1307.36663	-1303.28670
	Equal variances not assumed			-1776.581	2.610	.000	-1305.32667	.73474	-1307.87583	-1302.77750

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
waktu 120 menit	6	1527.1417	833.50101	765.65	2289.62

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		waktu 120 menit
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1527.1417
	Std. Deviation	833.50101
Most Extreme Differences	Absolute	.319
	Positive	.319
	Negative	-.319
Kolmogorov-Smirnov Z		.782
Asymp. Sig. (2-tailed)		.574

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
waktu 120 menit	Equal variances assumed	3.468	.136	-1726.102	4	.000	-1521.75667	.88161	-1524.20442	-1519.30891
	Equal variances not assumed			-1726.102	2.540	.000	-1521.75667	.88161	-1524.87259	-1518.64074

Hasil SPSS Fluks Krim Ekstrak Angkak dan Nanoemulsi

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
waktu 30 menit	6	1769.4167	1020.61281	837.74	2705.64

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		waktu 30 menit
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1769.4167
	Std. Deviation	1020.61281
Most Extreme Differences	Absolute	.319
	Positive	.319
	Negative	-.317
Kolmogorov-Smirnov Z		.782
Asymp. Sig. (2-tailed)		.573

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
waktu 30 menit	Equal variances assumed	16.000	.016	-409.828	4	.000	-1863.353	4.54667	-1875.97690	-1850.72976
	Equal variances not assumed			-409.828	2.000	.000	-1863.353	4.54667	-1882.91606	-1843.79061

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
waktu 60 menit	6	1113.2083	571.96938	590.71	1636.93

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		waktu 60 menit
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1113.2083
	Std. Deviation	571.96938
Most Extreme Differences	Absolute	.319
	Positive	.319
	Negative	-.318
Kolmogorov-Smirnov Z		.781
Asymp. Sig. (2-tailed)		.575

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
waktu 60 menit	Equal variances assumed	8.993	.040	-639.973	4	.000	-1044.26333	1.63173	-1048.79374	-1039.73292
	Equal variances not assumed			-639.973	2.212	.000	-1044.26333	1.63173	-1050.67683	-1037.84984

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
waktu 90 menit	6	881.6167	470.15132	452.59	1323.08

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		waktu 90 menit
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	881.6167
	Std. Deviation	470.15132
Most Extreme Differences	Absolute	.319
	Positive	.319
	Negative	-.305
Kolmogorov-Smirnov Z		.782
Asymp. Sig. (2-tailed)		.574

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
waktu 90 menit	Equal variances assumed	15.949	.016	-68.880	4	.000	-858.0133	12.45668	-892.59863	-823.42804
	Equal variances not assumed			-68.880	2.000	.000	-858.0133	12.45668	-911.60985	-804.41682

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
waktu 120 menit	6	763.5733	416.74777	382.83	1144.81

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		waktu 120 menit
N		6
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	763.5733
	Std. Deviation	416.74777
Most Extreme Differences	Absolute	.319
	Positive	.319
	Negative	-.319
Kolmogorov-Smirnov Z		.782
Asymp. Sig. (2-tailed)		.574

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
waktu 120 menit	Equal variances assumed	3.468	.136	-1726.090	4	.000	-760.87333	.44081	-762.09721	-759.64946
	Equal variances not assumed			-1726.090	2.540	.000	-760.87333	.44081	-762.43129	-759.31537