

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Hasil determinasi tanaman kersen (*Muntingia calibura* L.)

Determinasi tanaman tanaman kersen (*Muntingia calibura* L.) dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Identifikasi dilakukan untuk mencocokkan ciri morfologi pada tanaman yang diteliti dengan kunci determinasi, supaya tumbuhan yang digunakan benar-benar benar tumbuhan yang diteliti untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta menghindari kemungkinan tercampurnya bahan dengan tumbuhan lain.

Hasil determinasi tanaman kersen (*Muntingia calibura* L.) berdasarkan Steenis: FLORA

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 15a. Golongan 8 – 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156b – 162b – 163b – 167b – 169b – 171b – 177b – 179b – 180b – 182b – 183b – 184b – 185b – 186b. Familia 74. Tiliaceae. 1a. 1. Muntingia. *Muntingia calibura* L. Hasil determinasi tanaman secara lengkap dapat dilihat di lampiran 2.

2. Pengambilan bahan dan pembuatan serbuk daun kersen

Daun kersen pada penelitian ini diperoleh dari pohon kersen di daerah Mojosongo Surakarta. Daun dikeringkan dengan cara dijemur dan dioven. Proses pengeringan bertujuan untuk mencegah kerusakan kandungan zat aktif yang ada dalam tanaman sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama. Kerusakan tersebut akibat peruraian zat aktif secara enzimatis seperti hidrolisis, oksidasi dan polimerisasi, sehingga rendemennya akan turun. Pengeringan simplisia harus dilakukan secepatnya sebab aktivitas enzim akan naik dengan adanya air dalam simplisia, apalagi air tersebut dari sisa pencucian. Pengeringan menyebabkan kadar air yang terdapat dalam simplisia akan berkurang sampai pada titik tertentu yang menyebabkan enzim-enzim menjadi tidak aktif. Simplisia

dalam keadaan kering dapat mencegah tumbuhnya jamur dan bakteri. Pengeringan memudahkan tahap selanjutnya karena ringkas, mudah dikemas, dan mudah disimpan. Simplisia dibuat serbuk dengan cara digiling kemudian diayak dengan ayakan mesh 40. Ayakan mesh 40 digunakan agar serbuk lebih halus dan mudah saat diekstraksi.

Tabel 7. Rendemen serbuk daun kersen

Berat daun	Berat serbuk	Rendemen (%)
2000 gram	1000 gram	50%

Daun kersen kering yang digunakan sebanyak 2 kg kemudian setelah diserbuk diperoleh rendemen daun kersen sebesar 50%. Hasil penimbangan rendemen dapat dilihat pada tabel 7 dan hasil perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 5. Serbuk daun kersen memiliki luas permukaan yang lebih besar dengan pelarut saat proses ekstrasi, sehingga senyawa aktif akan terekstrak lebih banyak dan prosesnya lebih cepat.

3. Pembuatan ekstrak daun kersen

Pembuatan ekstrak daun kersen dilakukan dengan mencuci daun kersen sebanyak 8000 gram dengan air bersih, kemudian diangin-anginkan tanpa terkena cahaya matahari langsung selama 2 hari. Daun dioven dengan suhu 40°C selama 24 jam (Alkhakim 2013). Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah etanol 96%, karena etanol adalah pelarut universal yang dapat menyari senyawa polar, nonpolar, dan semi polar (Poelengan *et al.* 2007).

Masukkan 1000 gram serbuk daun kersen ke dalam maserator, tambahkan etanol 96% sebanyak 10 liter. Rendam selama 6 jam pertama sambil sekali-sekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Pisahkan maserat dengan cara sentrifugasi, dekantasi atau filtrasi. Ulangi proses penyarian sekurang-kurangnya satu kali dengan jenis pelarut yang sama dengan volume pelarut etanol 96% sebanyak 5 liter. Kumpulkan semua maserat, kemudian uapkan dengan penguap vakum atau penguap tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak kental (DepKes RI 2013). Maserat yang sudah pekat dituang dalam cawan porselin. Diuapkan di atas *waterbath* suhu 80°C agar didapat ekstrak kental daun kersen. Hasil persentase rendemen ekstrak daun kersen dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Rendemen ekstrak daun kersen

Sampel	Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Daun kersen	1000	224,252	22,42%

Dari tabel diatas, hasil ekstraksi daun kersen dengan metode maserasi menunjukkan nilai rendemen sebesar 22,42%. Hasil dan perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 6.

4. Susut pengeringan serbuk daun kersen dan ekstrak daun kersen

Uji susut pengeringan dilakukan untuk mengetahui berapa kadar air dan zat lain dalam serbuk maupun ekstrak daun kersen yang mudah menguap pada proses pemanasan. Dengan mengetahui susut pengeringan dapat memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Depkes 2000). Penentuan susut pengeringan menggunakan alat *moisture balance*. Bahan sebanyak 2 gram diletakkan dalam wadah *moisture balance* yang sebelumnya telah ditara, dan dilihat bobot awal bahan. Uji susut pengeringan dilakukan pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada temperatur 105°C selama 30 menit atau sampai berat konstan. Pada suhu 105°C air akan menguap dan senyawa-senyawa yang mempunyai titik didih lebih rendah dari air akan ikut menguap. Penetapan susut pengeringan pada ekstrak merupakan salah satu persyaratan yang harus dipenuhi dalam standarisasi tanaman yang berkhasiat obat.

Tabel 9. Susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun kersen

	Berat (g)	Susut pengeringan (%)
Serbuk	2,07	9,70
	2,03	8,90
	2,03	10,80
Rata-rata ± SD		9,8 ± 0,95
Ekstrak	2,06	20,00
	2,03	19,80
	2,14	20,10
Rata-rata ± SD		19,96 ± 0,15

Kadar air yang diperbolehkan dalam simpisia untuk menghambat pertumbuhan jamur dan aktivitas enzim adalah kurang dari 10%. Pada proses pengeringan belum diketahui secara pasti apakah kadar air sudah kurang dari

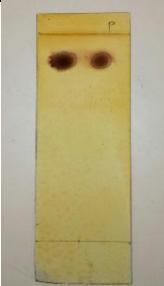
10%. Walaupun ekstrak dinyatakan sudah kering pada pengeringan oven, namun ekstrak daun kersen yang disimpan dalam keadaan terbuka kemungkinan dapat menyerap air dari lingkungan sekitar, apalagi bila disimpan dalam jangka waktu yang lama. Proses penguapan pelarut juga dapat menyebabkan susut pengeringan ekstrak besar karena tidak semua pelarut menguap saat proses penguapan, sehingga pelarut masih tersisa di dalam ekstrak.

Hasil persentase rata-rata susut pengeringan serbuk daun kersen adalah $9,8 \pm 0,95\%$. Depskes RI (1995) menyebutkan bahwa syarat uji susut pengeringan $<10\%$, sehingga nilai susut pengeringan serbuk daun kersen memenuhi persyaratan. Rata-rata susut pengeringan ekstrak daun kersen adalah $19,96 \pm 0,15\%$. Nilai susut pengeringan ekstrak daun kersen memenuhi persyaratan karena ekstrak kental jika memiliki kadar air antara 5-30% maka memenuhi syarat susut pengeringan (Voigt 1994). Hasil menunjukkan bahwa proses pengeringan simplisia daun kersen dengan sinar matahari berjalan optimal.

5. Kandungan senyawa ekstrak daun kersen

Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun kersen dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), dimana hasilnya dilihat secara kualitatif menggunakan reaksi warna untuk mengetahui kandungan flavonoid. Tujuan KLT yaitu untuk memisahkan senyawa berdasarkan pita-pita yang terlihat di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Flavanol merupakan salah satu golongan flavonoid yang tersebar luas dalam daun, memiliki ciri khas setelah reaksi hidrolisis berupa bercak kuning pada kromatogram. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun kersen dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Kandungan kimia ekstrak daun kersen

Lempeng KLT	Flavonoid
	+

Hasil identifikasi kandungan kimia senyawa menunjukkan ekstrak daun kersen mengandung flavonoid, hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Nurhasanah (2012). Hasil KLT terlihat secara visual tidak terdapat bercak warna apapun. Setelah diberikan pereaksi semprot seperti FeCl_3 maka terdapat bercak warna hitam secara visual, sedangkan dengan pereaksi semprot AlCl_3 timbul bercak dibawah sinar UV 254 nm. Hasil positif pada skrining fitokimia daun kersen yaitu kuersetin, untuk mempertegas hasil, maka dilakukan uji KLT dengan fase gerak etil asetat:n-butanol:asam format (7:1:2) dan diperoleh R_f 0,7. Hasil menunjukkan bahwa eluen etil asetat:n-butanol:asam format (7:1:2) merupakan eluen yang baik untuk pemisahan komponen dalam ekstrak daun kersen.

Pereaksi semprot larutan FeCl_3 menunjukkan warna hitam yang artinya isolat tersebut termasuk ke dalam golongan fenol. Bercak yang diuapi uap amonia menunjukkan perubahan yaitu spot yang awalnya berwarna hijau menjadi berwarna hijau kekuningan. Pada penyemprotan dengan AlCl_3 spot yang awalnya berwarna hijau menjadi kuning. Hasil perubahan pereaksi semprot AlCl_3 dan uap amonia menunjukkan bahwa isolat tersebut merupakan golongan flavonoid. Senyawa-senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan umumnya adalah flavonoid, fenolik, alkaloid, saponin, steroid dan triterpenoid. Menurut Waji dan Andis (2009), senyawa-senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan umumnya merupakan senyawa flavonoid, fenolat, dan alkaloid.

6. Pengujian fisik sediaan krim ekstrak daun kersen

Uji sifat fisik sediaan krim yang dilakukan yaitu pengamatan organoleptis, pH, homogenitas, viskositas, daya lekat, dan daya sebar.

5.1 Organoleptis. Pengamatan organoleptis dilakukan untuk mengetahui warna sediaan, konsistensi sediaan dan bau dari sediaan (Anief, 1997). Sediaan yang baik memiliki warna yang konsisten atau tidak berubah selama penyimpanan, tekstur halus, dan bau tidak tengik. Hasil organoleptis dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Hasil organoleptis krim ekstrak daun kersen

Formula	Minggu ke-1			Minggu ke-2		
	Warna	Bau	Tekstur	Warna	Bau	Tekstur
F1	Putih	Adeps lanae	Semi padat	Putih	Adeps lanae	Semi padat

F2	Hijau	Adeps lanae	Semi padat	Hijau	Adeps lanae	Semi padat
F3	Hijau	Adeps lanae	Semi padat	Hijau	Adeps lanae	Semi padat
F4	Hijau	Adeps lanae	Semi padat	Hijau	Adeps lanae	Semi padat

Keterangan :

F1 : Krim kontrol negatif

F2 : Krim ekstrak daun kersen 3%

F3 : Krim ekstrak daun kersen 6%

F4 : Krim ekstrak daun kersen 9%

Tabel 11 menunjukkan warna krim kontrol negatif dan krim dengan ekstrak daun kersen tidak berubah. Semua krim berbau khas adeps lanae yang merupakan salah satu bahan basis krim, selama penyimpanan krim tidak berbau tengik. Tekstur krim lembut dan tidak ada butiran kasar saat dioles.

5.2 pH. Pengukuran pH krim dilakukan untuk mengetahui apakah krim memiliki pH yang sesuai dengan kulit sehingga tidak terlalu asam atau basa agar tidak merusak kulit. pH yang terlalu asam menyebabkan iritasi pada kulit sedangkan pH yang terlalu basa dapat menyebabkan kulit bersisik. Pengujian pH krim menggunakan pH meter dengan cara dicelupkan kedalam sediaan krim pada minggu ke-0 sampai minggu ke-2.

Tabel 12. Hasil pengujian pH krim ekstrak daun kersen

Formula	Minggu ke-1	Minggu ke-2
F1	$6,64 \pm 0,08$	$6,56 \pm 0,11$
F2	$6,43 \pm 0,19$	$6,38 \pm 0,20$
F3	$6,22 \pm 0,30$	$6,02 \pm 0,29$
F4	$5,60 \pm 0,05$	$5,50 \pm 0,08$

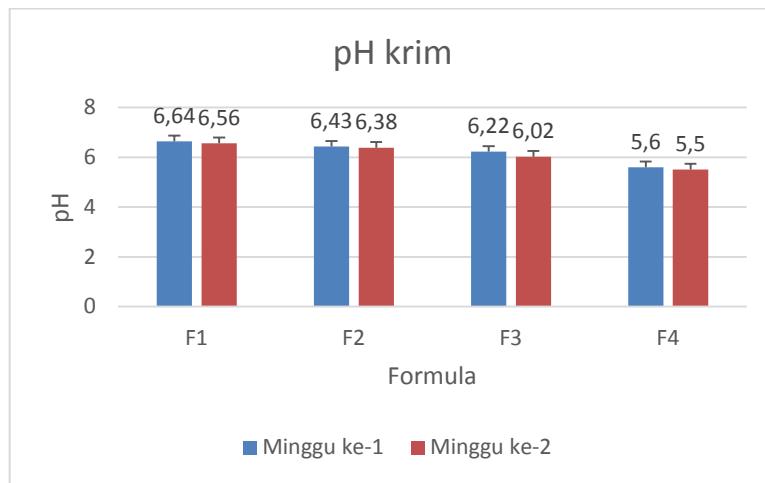
Keterangan :

F1 : Krim kontrol negatif

F2 : Krim ekstrak daun kersen 3%

F3 : Krim ekstrak daun kersen 6%

F4 : Krim ekstrak daun kersen 9%



Gambar 13. Grafik hubungan formula dengan pH

Hasil pengamatan pH krim pada tabel 12 menunjukkan bahwa pada penyimpanan selama 21 hari sediaan krim mengalami penurunan pH. Penurunan pH dapat dipengaruhi oleh suhu, kandungan zat lain dalam sediaan yang ikut bereaksi yang dapat mengganggu. Rentang pH yang dapat diterima kulit berkisar 4,0-7,5 (Aswal 2013). Penurunan pH tidak terlalu besar dan masih dalam rentang ph yang aman bagi kulit.

5.3 Homogenitas. Uji homogenitas bertujuan untuk melihat dan mengetahui tercampurnya bahan-bahan sediaan krim. Uji homogenitas dilakukan dengan menggunakan objek glass dengan cara sejumlah tertentu sediaan dioleskan pada sekeping objek glass, sediaan harus menunjukkan susunan homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar.

Tabel 13. Hasil pengujian homogenitas krim ekstrak daun kersen

Formula	Minggu ke-1	Minggu ke-2
F1	Homogen	Homogen
F2	Homogen	Homogen
F3	Homogen	Homogen
F4	Homogen	Homogen

Keterangan :

F1 : Krim kontrol negatif

F2 : Krim ekstrak daun kersen 3%

F3 : Krim ekstrak daun kersen 6%

F4 : Krim ekstrak daun kersen 9%

Pengamatan pada formula krim menunjukkan tidak adanya butiran halus atau sediaan dikatakan homogen sehingga kadar zat aktif dalam krim pada saat pemakaian atau pengambilan akan selalu sama atau semua bahan aktif memiliki kesempatan yang sama untuk menempati tempat terapi (Ditjen POM 1979).

Lachman dkk. (1994) menyatakan bahwa homogenitas sistem emulsi dipengaruhi oleh teknik atau cara pencampuran yang dilakukan serta alat yang digunakan pada proses pembuatan emulsi tersebut.

5.4 Viskositas. Uji viskositas dilakukan untuk mengetahui tingkat kekentalan yang dihasilkan oleh krim. Viskositas berpengaruh terhadap konsistensi krim. Viskositas yang tinggi menyebabkan konsistensi yang dimiliki krim lebih kental. Efektivitas terapi yang diinginkan serta kenyamanan dalam penggunaan juga dipengaruhi oleh viskositas. Semakin tinggi viskositas krim maka akan semakin sukar krim dioleskan pada kulit. Sedangkan lebih rendah viskositas sediaan krim maka semakin besar daya sebar krim, dan daya lekat sediaan krim pada kulit menjadi singkat. Hasil pengamatan viskositas krim ekstrak daun kersen dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 14. Hasil pengujian viskositas krim ekstrak daun kersen

Formula	Minggu ke-1	Minggu ke-2
F1	$255,00 \pm 5,00$	$246,67 \pm 5,77$
F2	$85,00 \pm 5,00$	$81,67 \pm 2,88$
F3	$136,67 \pm 5,77$	$91,67 \pm 7,63$
F4	$163,33 \pm 5,77$	$151,67 \pm 2,88$

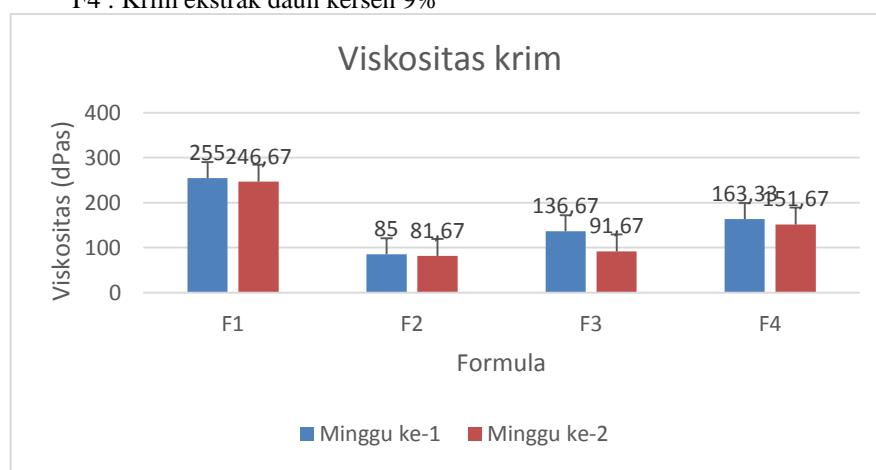
Keterangan :

F1 : Krim kontrol negatif

F2 : Krim ekstrak daun kersen 3%

F3 : Krim ekstrak daun kersen 6%

F4 : Krim ekstrak daun kersen 9%



Gambar 14. Grafik hubungan formula dengan viskositas

Hasil pengamatan terhadap viskositas krim menunjukkan bahwa viskositas dari keempat formula dari minggu ke minggu cenderung menurun. Penurunan

viskositas dapat memperbesar daya sebar, semakin besar kontak krim dengan kulit maka semakin luas penyebarannya, serta absorpsi krim ke kulit akan semakin cepat.

5.5 Daya lekat. Uji daya lekat dilakukan untuk mengetahui kemampuan krim melekat pada kulit. Krim seberat 0,25 g diletakkan pada gelas obyek dan ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit. Setelah itu gelas obyek dipasang pada alat tes. Alat tes diberi beban 80 g dan kemudian dicatat waktu pelepasan krim dari gelas obyek (Michael and Ash, 1977). Sediaan topikal harus memiliki kemampuan melekat yang cukup namun tidak boleh lengket di kulit karena dapat mengurangi kenyamanan penggunaan. Daya lekat akan berhubungan dengan lamanya kontak antara basis dengan permukaan kulit dan kenyamanan penggunaan basis. Semakin lama krim melekat, maka semakin lama kontak yang akan terjadi antara kulit dan krim, sehingga penghantaran zat aktif semakin efektif.

Tabel 15. Hasil pengujian daya lekat krim ekstrak daun kersen

Formula	Minggu ke-1	Minggu ke-2
F1	2,56 ± 0,15	1,9 ± 0,10
F2	2,20 ± 0,10	1,73 ± 0,11
F3	2,26 ± 0,32	1,80 ± 0,43
F4	2,36 ± 0,25	1,96 ± 0,15

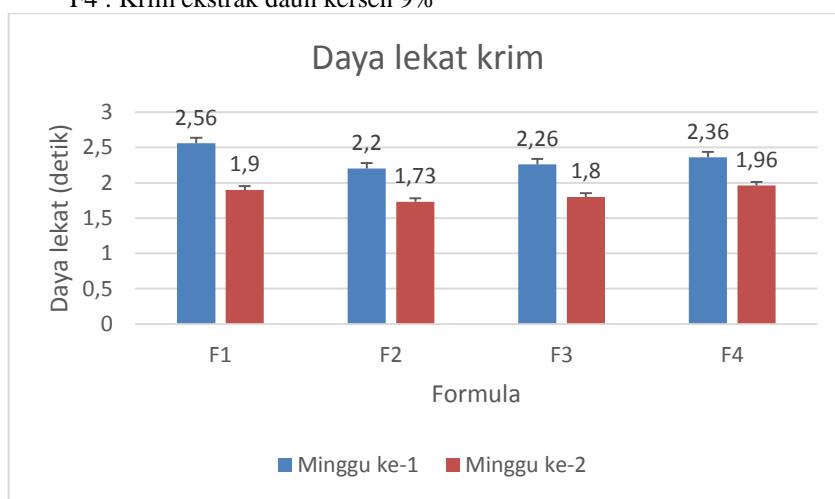
Keterangan :

F1 : Krim kontrol negatif

F2 : Krim ekstrak daun kersen 3%

F3 : Krim ekstrak daun kersen 6%

F4 : Krim ekstrak daun kersen 9%



Gambar 15. Grafik hubungan formula dengan daya lekat

Tabel 15 menunjukkan daya lekat krim menurun seiring berjalananya waktu, semakin banyak ekstrak yang ditambahkan maka semakin besar daya lekatnya. Dari hasil daya lekat F1, F2, dan F3 tidak sesuai persyaratan daya lekat krim yang baik yaitu lebih dari 4 detik (Wasitaatmadja 1997). Penurunan daya lekat dapat dipengaruhi oleh tempat penyimpanan yang lembab dan bahan higroskopis dalam krim dapat menyerap uap air di udara sehingga jumlah air dalam krim bertambah.

5.6 Daya sebar. Pemeriksaan daya sebar menggunakan sepasang lempeng kaca dan anak timbang gram. Krim ditimbang $\pm 0,5$ g, diletakkan di tengah kaca, di atas kaca diberi anak timbang sebagai beban dan dibiarkan 1 menit. Pengujian daya sebar bertujuan untuk melihat kemampuan menyebar sediaan di atas permukaan kulit (Voigt 1995). Kemampuan menyebar krim yang baik akan memberikan kemudahan pengaplikasian pada permukaan kulit. Selain itu penyebaran zat aktif pada kulit akan lebih merata sehingga efek yang ditimbulkan zat aktif menjadi lebih optimal.

Tabel 16. Hasil pengujian daya sebar krim ekstrak daun kersen

Formula	Minggu ke-1			Minggu ke-2		
	Beban			0	50	100
F1	$3,38 \pm 0,03$	$4,32 \pm 0,20$	$4,60 \pm 0,15$	$3,65 \pm 0,16$	$4,40 \pm 0,24$	$4,72 \pm 0,10$
F2	$4,22 \pm 0,34$	$5,42 \pm 0,23$	$5,88 \pm 0,76$	$4,87 \pm 0,33$	$5,94 \pm 0,52$	$6,75 \pm 0,09$
F3	$4,11 \pm 0,86$	$4,74 \pm 0,09$	$5,15 \pm 0,42$	$4,81 \pm 0,05$	$5,64 \pm 0,19$	$6,32 \pm 0,31$
F4	$3,83 \pm 0,18$	$4,66 \pm 0,31$	$5,05 \pm 0,25$	$4,27 \pm 0,09$	$5,22 \pm 0,12$	$5,77 \pm 0,05$

Keterangan :

F1 : Krim kontrol negatif

F2 : Krim ekstrak daun kersen 3%

F3 : Krim ekstrak daun kersen 6%

F4 : Krim ekstrak daun kersen 9%

Hasil daya sebar krim menunjukkan adanya kenaikan seiring bertambahnya waktu penyimpanan. Hal ini berhubungan dengan penurunan viskositas, semakin kecil viskositas maka daya sebar semakin besar. Semakin besar daya sebar krim semakin baik karena semakin luas juga kontak antara kulit dan krim sehingga zat aktif yang terkandung dapat menyebar dengan baik dan merata.

7. Pengujian stabilitas sediaan krim ekstrak daun kersen

Formulasi krim ekstrak daun kersen menghasilkan 4 formula yaitu krim kontrol negatif tidak ada penambahan ekstrak, krim ekstrak daun kersen 3%, krim

ekstrak daun kersen 6%, dan krim ekstrak daun kersen 9%. Uji stabilitas bertujuan untuk mengetahui formula krim stabil dalam batasan yang ditetapkan selama periode penyimpanan, meliputi pengujian organoleptis, pH, homogenitas, viskositas, daya lekat, dan daya sebar.

Pengujian stabilitas krim dilakukan dengan metode *cycling test*, dimana satu siklus sediaan krim disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam lalu dikeluarkan dan ditempatkan pada suhu 40±2°C selama 24 jam. Percobaan ini diulang sebanyak 6 siklus. Kondisi fisik krim dibandingkan selama percobaan dengan sediaan sebelumnya. Pengujian *cycling test* dilakukan dengan tujuan untuk menguji kestabilan emulsi dalam sediaan krim. Uji ini dilakukan untuk melihat adanya kristalisasi atau berawan dan untuk menguji emulsi krim sebagai indikator kestabilan emulsi (Rieger 2000).

7.1 Organoleptis. Uji organoleptik yaitu pengujian terhadap produk yang dilakukan menggunakan indra manusia meliputi mata, telinga, indera pencicip, indera pembau dan indera perabaan atau sentuhan. Parameter yang digunakan yaitu aroma/bau, tekstur, dan warna. Hasil uji organoleptis krim dapat dilihat pada lampiran 6.

Pengujian organoleptis krim dilakukan pada sediaan krim yang baru dibuat dan yang telah diuji dengan metode *Cycling Test*. Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah selama waktu penyimpanan sediaan krim tetap stabil atau mengalami perubahan organoleptis berupa perubahan warna, bau maupun konsistensinya. Hasil uji organoleptis pada hari ke-1 menunjukkan bahwa pada semua formula tidak memiliki perubahan yang signifikan. Krim tetap memiliki warna dan bau yang sama serta memiliki konsistensi semi padat. Krim yang dikatakan memenuhi uji organoleptis jika dalam pengamatan karakteristik krim tidak ada perubahan atau pemisahan fase emulsi, perubahan warna yang ditimbul atau bau tengik (Anief 2007).

Tabel 17. Hasil organoleptis krim ekstrak daun kersen

		F1	F2	F3	F4
Siklus 1	Warna & bau	Putih, adeps lanae	Hijau, adeps lanae	Hijau, adeps lanae	Hijau, adeps lanae
	Tekstur	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat
Siklus 2	Warna & bau	Putih, adeps lanae	Hijau, adeps lanae	Hijau, adeps lanae	Hijau, adeps lanae

	Tekstur	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat
Siklus 3	Warna & bau	Putih, adeps lanae	Hijau, adeps lanae	Hijau, adeps lanae	Hijau, adeps lanae
	Tekstur	Semi padat	Semi padat	Semi padat	Semi padat
Siklus 4	Warna & bau	Putih, adeps lanae	Hijau, adeps lanae	Hijau, adeps lanae	Hijau, adeps lanae
	Tekstur	Semi padat	Padat & cair	Padat & cair	Padat & cair
Siklus 5	Warna & bau	Putih, adeps lanae	Hijau, adeps lanae	Hijau, adeps lanae	Hijau, adeps lanae
	Tekstur	Semi padat	Padat & cair	Padat & cair	Padat & cair
Siklus 6	Warna & bau	Putih, adeps lanae	Hijau, adeps lanae	Hijau, adeps lanae	Hijau, adeps lanae
	Tekstur	Semi padat	Padat & cair	Padat & cair	Padat & cair

Keterangan :

F1 : Krim kontrol negatif

F2 : Krim ekstrak daun kersen 3%

F3 : Krim ekstrak daun kersen 6%

F4 : Krim ekstrak daun kersen 9%

Tabel 18. Pemisahan krim ekstrak daun kersen

Formula	F2	F3	F4
Pemisahan Fase			

Formula kontrol negatif yang telah dilakukan *Cycling Test* tidak mengalami perubahan yang signifikan sehingga konsistensinya tetap semi padat, serta pada warna dan bau tidak terjadi perubahan. Krim ekstrak daun kersen 3%, krim ekstrak daun kersen 6%, dan krim ekstrak daun kersen 9% mengalami pemisahan fase pada siklus ke-4 karena pemanasan berulang yang dilakukan didalam oven dengan suhu 40°C, krim menjadi padat di bagian atas dan encer di bagian bawah. Krim dengan tipe minyak dalam air ini penyimpanannya lebih stabil bila berada

dalam suhu ruang atau kulkas. Krim tetap memiliki bau yang sama yaitu bau khas adeps lanae.

7.2 pH. Pengamatan pH dilakukan untuk mengukur tingkat keasaman atau kebasaan dari sediaan (Wilkinson 1982). Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. Pengujian ini dilakukan dengan cara membenamkan alat/elektroda pada sediaan krim yang diuji, kemudian tunggu beberapa detik sampai angka pada layar stabil dan dicatat nilai pH yang muncul pada layar. Rentang pH yang dapat diterima kulit berkisar 4,0-7,5 (Aswal 2013). Jika pH krim tidak sesuai dengan pH kulit maka akan menyebabkan iritasi kulit.

Tabel 19. Rata-rata pH krim

Siklus	F1	F2	F3	F4
1	6,61 ± 0,05	6,43 ± 0,14	6,17 ± 0,33	5,58 ± 0,19
2	6,60 ± 0,07	6,43 ± 0,14	6,03 ± 0,86	5,54 ± 0,20
3	6,58 ± 0,12	6,43 ± 0,10	6,02 ± 0,11	5,53 ± 0,13
4	6,56 ± 0,13	6,42 ± 0,04	6,00 ± 0,21	5,53 ± 0,02
5	6,51 ± 0,07	6,40 ± 0,15	5,84 ± 0,11	5,52 ± 0,13
6	6,49 ± 0,08	6,40 ± 0,13	5,74 ± 0,10	5,52 ± 0,05

Keterangan :

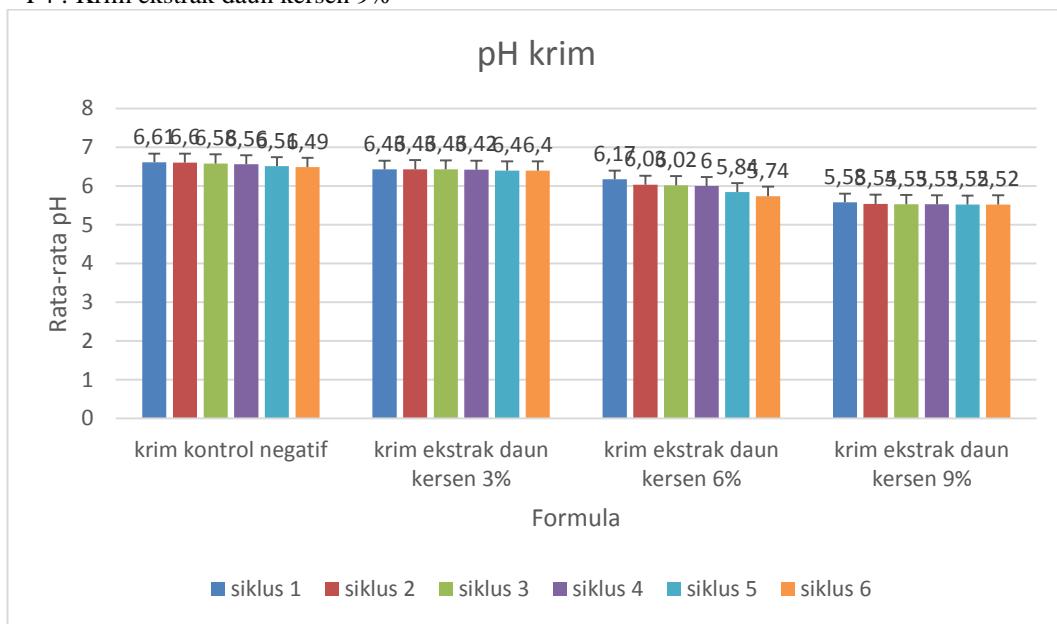
(*) : berbeda signifikan terhadap siklus 1

F1 : Krim kontrol negatif

F2 : Krim ekstrak daun kersen 3%

F3 : Krim ekstrak daun kersen 6%

F4 : Krim ekstrak daun kersen 9%



Gambar 16. Grafik hubungan formula dengan pH

Hasil uji pH krim terjadi penurunan yang ditunjukkan dari penurunan pH pada siklus 6. Pada uji *Repeated Measures Anova* menunjukkan kestabilan pH pada siklus 1 sampai siklus 6 disetiap krim. Krim kontrol negatif, krim ekstrak kersen 3%, krim ekstrak kersen 6%, dan krim ekstrak kersen 9% memiliki kestabilan yang sama yaitu nilai $Sig > 0,05$ yang berarti tidak ada perbedaan yang signifikan. Pada uji *Repeated Measures Anova* tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada stabilitas pH dari keempat formula karena basis krim yang digunakan sama walaupun ada penambahan ekstrak, hasil kestabilan tetap tidak berubah. Hasil SPSS uji pH dapat dilihat pada lampiran 11.

Perubahan pH sediaan selama penyimpanan menandakan kurang stabilnya sediaan selama penyimpanan. Ketidakstabilan ini dapat merusak produk selama penyimpanan atau penggunaan. Perubahan nilai pH dapat dipengaruhi oleh media yang terdekomposisi oleh suhu tinggi saat pembuatan atau penyimpanan yang menghasilkan asam atau basa. Asam atau basa ini yang mempengaruhi pH. Perubahan pH juga disebabkan faktor lingkungan seperti suhu, penyimpanan yang kurang baik, ekstrak yang kurang stabil dalam sediaan karena teroksidasi (Young *et al.* 2002).

7.3 Homogenitas krim. Pengamatan pada hari pertama menunjukkan semua krim tidak ada butiran halus atau sediaan dikatakan homogen, sehingga kadar zat aktif dalam krim pada saat pemakaian atau pengambilan akan selalu sama atau semua bahan aktif memiliki kesempatan yang sama untuk menempati tempat terapi (Ditjen POM,1979). Krim harus homogen dan tidak terlihat adanya butiran halus (Depkes RI 1979). Lachman dkk., (1994) menyatakan bahwa homogenitas sistem emulsi dipengaruhi oleh teknik atau cara pencampuran yang dilakukan serta alat yang digunakan pada proses pembuatan emulsi tersebut.

Tabel 20. Homogenitas krim

Sediaan	Siklus 1	Siklus 2	Siklus 3	Siklus 4	Siklus 5	Siklus 6
F1	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
F2	Homogen	Homogen	Homogen	Tidak homogen	homogen	homogen
F3	Homogen	Homogen	Homogen	Tidak homogen	homogen	homogen
F4	Homogen	Homogen	Homogen	Tidak	Tidak	Tidak

	homogen	homogen	homogen
Keterangan :			
F1 : Krim kontrol negatif			
F2 : Krim ekstrak daun kersen 3%			
F3 : Krim ekstrak daun kersen 6%			
F4 : Krim ekstrak daun kersen 9%			

Krim kontrol negatif atau basis tidak mengalami perubahan, sehingga dapat dinyatakan stabil. Krim kontrol negatif tidak mengalami pemisahan saat dipanaskan di dalam oven. Pada siklus ke-4 terlihat adanya butiran halus pada sediaan krim ekstrak kersen 3%, krim ekstrak kersen 6%, dan krim ekstrak kersen 9% sehingga dikatakan tidak homogen. Hasil ini menunjukkan krim tidak stabil, pemisahan fase dapat disebabkan karena pemanasan. Butiran halus timbul karena adanya pemanasan yang menyebabkan partikel fase dispers bergabung menjadi partikel yang lebih besar. Pemanasan dapat menyebabkan fase dispers bergabung menjadi partikel yang lebih besar atau sering disebut koalesen. Jika jumlah koalesen banyak maka pendispersian kembali tidak dapat dilakukan. Pemisahan fase dispersi dan fase terdispersi dari suatu emulsi disebut *cracking* yang berhubungan dengan terjadinya koalesen.

7.4. Viskositas krim. Uji viskositas krim dilakukan dengan menggunakan alat viskometer *Cup and Bob*. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui seberapa besar kental sediaan krim yang dihasilkan. Hasil uji viskositas dapat dilihat pada lampiran 13. Pengujian dilakukan dengan replikasi sebanyak tiga kali untuk masing-masing formula.

Hasil viskositas krim kontrol negatif mengalami penurunan viskositas tapi tidak menunjukkan perubahan yang signifikan. Krim ekstrak daun kersen 3%, krim ekstrak kersen 6%, dan krim ekstrak kersen 9% mengalami penurunan viskositas yang signifikan. Penyimpanan krim pada suhu 40°C menyebabkan krim mengalami pemisahan fase dispersi dan fase terdispersi, atau sering disebut dengan istilah *cracking* yang dikarenakan perubahan temperatur yang ekstrim. Krim kontrol negatif tidak terjadi penurunan viskositas yang besar kerena tidak ada penambahan ekstrak.

Tabel 21. Rata-rata viskositas krim

Siklus	F1	F2	F3	F4
1	258,33 ± 2,88	85,00 ± 5,00	136,67 ± 5,77	163,33 ± 5,77
2	255,00 ± 5,00	81,67 ± 2,88	91,67 ± 7,63	151,67 ± 2,88

3	$253,33 \pm 5,77$	$75,00 \pm 5,00$	$75,00 \pm 5,00$	$96,67 \pm 5,77$
4	$251,67 \pm 7,63$	$15,00 \pm 5,00$	$21,67 \pm 2,88^*$	$18,33 \pm 2,88^*$
5	$246,67 \pm 5,77$	$9,67 \pm 0,57^*$	$7,67 \pm 1,52^*$	$7,67 \pm 1,52^*$
6	$243,33 \pm 2,88$	$6,67 \pm 1,52^*$	$4,67 \pm 0,57^*$	$4,33 \pm 0,57^*$

Keterangan :

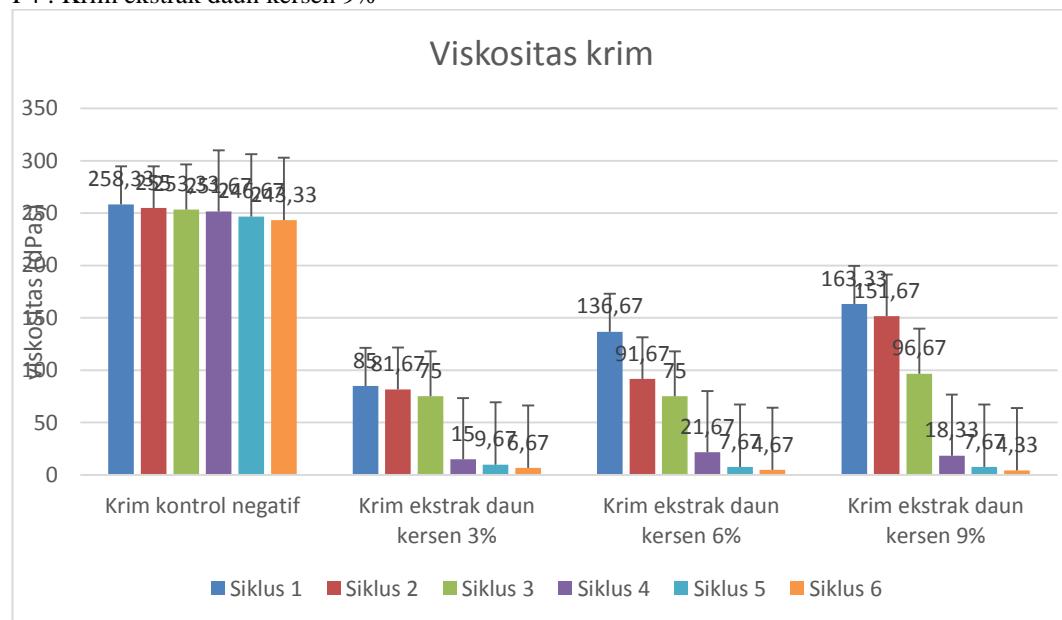
(*) : berbeda signifikan terhadap siklus 1

F1 : Krim kontrol negatif

F2 : Krim ekstrak daun kersen 3%

F3 : Krim ekstrak daun kersen 6%

F4 : Krim ekstrak daun kersen 9%



Gambar 17. Grafik hubungan formula dengan viskositas

Krim yang baik memiliki viskositas tidak kurang dari 50 dPas (Gozali *et al.* 2009). Formula krim kontrol negatif, krim ekstrak kersen 6%, dan krim ekstrak kersen 9% pada siklus ke-1 sampai siklus ke-3 memiliki viskositas diatas 50 dPas sehingga dapat dikatakan memiliki viskositas yang baik. Pada uji *Repeated Measures Anova* viskositas formula krim kontrol negatif pada siklus ke-1 hingga siklus ke-6 mengalami penurunan dan tidak memiliki perbedaan yang signifikan karena nilai *Sig* > 0,05. Krim ekstrak daun kersen 3% memiliki penurunan yang signifikan pada siklus ke-5 dan siklus ke-6 karena memiliki nilai *Sig* < 0,05. Krim ekstrak kersen 6% memiliki penurunan yang signifikan pada siklus ke-4 hingga siklus ke-6 karena memiliki nilai *Sig* < 0,05. Krim ekstrak kersen 9% memiliki penurunan yang signifikan pada siklus ke-4 hingga siklus ke-6 karena memiliki nilai *Sig* < 0,05. Hasil SPSS uji viskositas dapat dilihat pada lampiran 14.

Viskositas emulsi akan menurun jika temperatur dinaikkan, dan akan meningkat bila temperatur rendah. Hal ini karena panas yang diperoleh akan memperbesar jarak antara atom sehingga gaya antar atom akan berkurang, jarak menjadi renggang mengakibatkan viskositas krim menurun (Alfred *et al.* 1993).

Konsistensi krim berhubungan dengan viskositas dan daya sebaranya. Viskositas krim berbanding lurus dengan daya sebar krim. Semakin tinggi angka viskositas maka semakin lama daya lekat krim pada kulit. Viskositas krim berbanding terbalik dengan daya sebar, semakin rendah nilai viskositas maka semakin tinggi nilai daya sebar. Formula basis krim terdapat gliserin yang dapat menurunkan viskositas krim. Penambahan bahan-bahan lain seperti propilenglikol dan gliserin yang konsistensinya cair, dapat menurunkan viskositas sediaan krim (Ida 2012).

7.5 Daya lekat krim. Suatu sediaan krim diharapkan dapat melekat pada kulit dalam waktu yang lama, sehingga dapat melindungi kulit dari radiasi sinar ultraviolet dalam waktu relatif lebih lama. Semakin lama sediaan melekat pada kulit, semakin banyak zat aktif yang dilepaskan. Pengujian dilakukan dengan replikasi tiga kali untuk masing-masing formula. Daya lekat krim berbanding lurus dengan viskositas krim. Semakin tinggi angka viskositas maka semakin lama daya lekat krim pada kulit.

Tabel 22. Rata-rata daya lekat krim

Siklus	F1	F2	F3	F4
1	$2,80 \pm 0,15$	$2,23 \pm 0,37$	$2,23 \pm 0,21$	$2,30 \pm 0,36$
2	$2,46 \pm 0,15$	$2,06 \pm 0,15$	$2,16 \pm 0,32$	$2,26 \pm 0,15$
3	$1,83 \pm 0,05$	$1,56 \pm 0,25$	$2,13 \pm 0,21$	$2,13 \pm 0,11$
4	$1,53 \pm 0,15^*$	$1,33 \pm 0,05$	$1,60 \pm 0,10$	$1,83 \pm 0,05$
5	$1,30 \pm 0,36$	$1,30 \pm 0,17$	$1,50 \pm 0,10$	$1,66 \pm 0,11$
6	$1,23 \pm 0,15$	$1,06 \pm 0,11$	$1,13 \pm 0,23$	$1,40 \pm 0,69$

Keterangan :

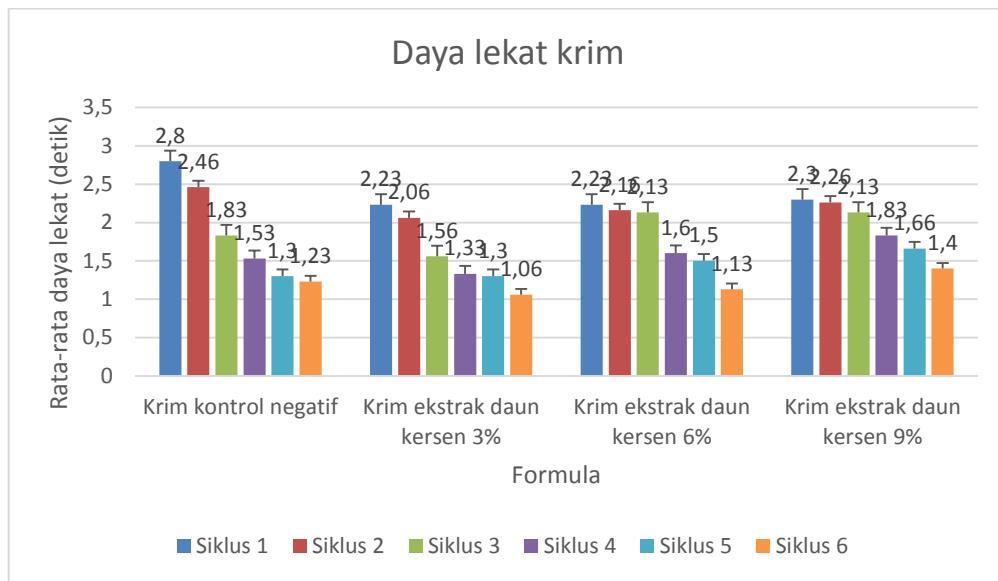
(*) : berbeda signifikan terhadap siklus 1

F1 : Krim kontrol negatif

F2 : Krim ekstrak daun kersen 3%

F3 : Krim ekstrak daun kersen 6%

F4 : Krim ekstrak daun kersen 9%



Gambar 18. Grafik hubungan formula dengan daya lekat

Hasil *Repeated Measures Anova* menunjukkan krim kontrol negatif menunjukkan ada perubahan yang signifikan karena nilai $Sig < 0,05$ pada siklus ke-4. Sedangkan krim ekstrak daun kersen 3%, krim ekstrak kersen 6%, dan krim ekstrak kersen 9% tidak ada perubahan yang signifikan karena nilai $Sig > 0,05$ dari siklus 1 sampai siklus 6.

Daya lekat krim menurun seiring berjalananya waktu. Hasil daya lekat krim tidak sesuai persyaratan daya lekat krim yang baik yaitu lebih dari 4 detik (Wasitaatmadja 1997). Penurunan daya lekat dapat dipengaruhi oleh tempat penyimpanan yang lembab dan bahan higroskopis dalam krim dapat menyerap uap air di udara sehingga jumlah air dalam krim bertambah sehingga harus diletakkan di tempat yang kering.

7.6 Daya sebar krim. Pengujian daya sebar bertujuan untuk melihat kemampuan menyebar sediaan di atas permukaan kulit (Voigt 1995). Semakin besar diameter daya sebar, semakin mudah sediaan saat diaplikasikan dan semakin besar juga luas permukaan yang dapat dijangkau oleh krim. Kemampuan menyebar krim yang baik akan memberikan kemudahan pengaplikasian pada permukaan kulit. Selain itu penyebaran zat aktif pada kulit akan lebih merata sehingga efek yang ditimbulkan zat aktif menjadi lebih optimal. Semakin besar

daya sebar krim semakin baik karena semakin luas juga kontak antara kulit dan krim sehingga zat aktif yang terkandung dapat menyebar dengan baik dan merata.

Uji daya sebar dilakukan pada lempeng kaca bundar dan anak timbang 50 gram dan 100 gram. Krim ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian diletakkan di tengah kaca bundar, di atas kaca diberi kaca yang atasnya terdapat anak timbang sebagai beban dan dibiarkan 1 menit. Daya sebar krim yang baik yaitu antara 5-7 cm.

Hasil uji daya sebar semua formula krim mengalami peningkatan daya sebar. Daya sebar berbanding terbalik dengan viskositas dimana semakin besar daya sebar krim maka semakin kecil konsistensi krim. Hasil daya sebar krim sesuai dengan teori, yaitu semakin kecil viskositas maka semakin besar daya sebar. Pada penelitian ini terlihat daya sebar krim semakin lebar, dan viskositas krim semakin kecil.

Tabel 23. Rata-rata daya sebar krim

Siklus	Beban			
	0	50 gram	100 gram	
F1	1 2 3 4 5 6	3,29 ± 0,01 3,38 ± 0,06 3,61 ± 0,20 3,65 ± 0,19 3,73 ± 0,23 3,77 ± 0,24	4,01 ± 0,05 4,11 ± 0,12 4,29 ± 0,12 4,32 ± 0,12 4,35 ± 0,11 4,37 ± 0,11	4,50 ± 0,08 4,62 ± 0,10 4,78 ± 0,13 4,83 ± 0,13 4,86 ± 0,13 4,88 ± 0,13
	Beban			
	Siklus	0	50 gram	100 gram
F2	1	3,55 ± 0,34	4,04 ± 0,35	4,27 ± 0,32
	2	3,86 ± 0,12	4,62 ± 0,29	4,93 ± 0,44
	3	4,19 ± 0,11	5,10 ± 0,10	5,73 ± 0,09

	4	$6,90 \pm 0,20^*$	$7,17 \pm 0,05$	$7,53 \pm 0,09^*$
	5	$8,22 \pm 0,10^*$	$8,47 \pm 0,04^*$	$8,73 \pm 0,07^*$
	6	$8,82 \pm 0,05^*$	$9,02 \pm 0,18^*$	$9,24 \pm 0,09^*$
	Siklus	Beban		
		0	50 gram	100 gram
F3	1	$3,55 \pm 0,34$	$4,04 \pm 0,35$	$4,27 \pm 0,32$
	2	$3,86 \pm 0,12$	$4,62 \pm 0,29$	$4,93 \pm 0,44$
	3	$4,82 \pm 0,28$	$4,84 \pm 0,93$	$5,48 \pm 1,10$
	4	$7,68 \pm 0,09$	$7,89 \pm 0,06$	$8,36 \pm 0,11$
	5	$8,26 \pm 0,10$	$8,55 \pm 0,10^*$	$8,67 \pm 0,11^*$
	6	$8,84 \pm 0,09$	$8,98 \pm 0,17^*$	$9,18 \pm 0,17$
F4	Siklus	Beban		
		0	50 gram	100 gram
	1	$4,04 \pm 0,39$	$4,81 \pm 0,56$	$5,23 \pm 0,58$
	2	$4,19 \pm 0,35$	$5,37 \pm 0,26$	$5,89 \pm 0,30$
	3	$4,84 \pm 0,26$	$6,03 \pm 0,24$	$6,79 \pm 0,13$
	4	$7,82 \pm 0,16$	$8,09 \pm 0,14$	$8,35 \pm 0,09$
	5	$8,28 \pm 0,17^*$	$8,65 \pm 0,09$	$8,75 \pm 0,12$
	6	$8,85 \pm 0,11^*$	$9,01 \pm 0,13$	$9,20 \pm 0,07$

Keterangan :

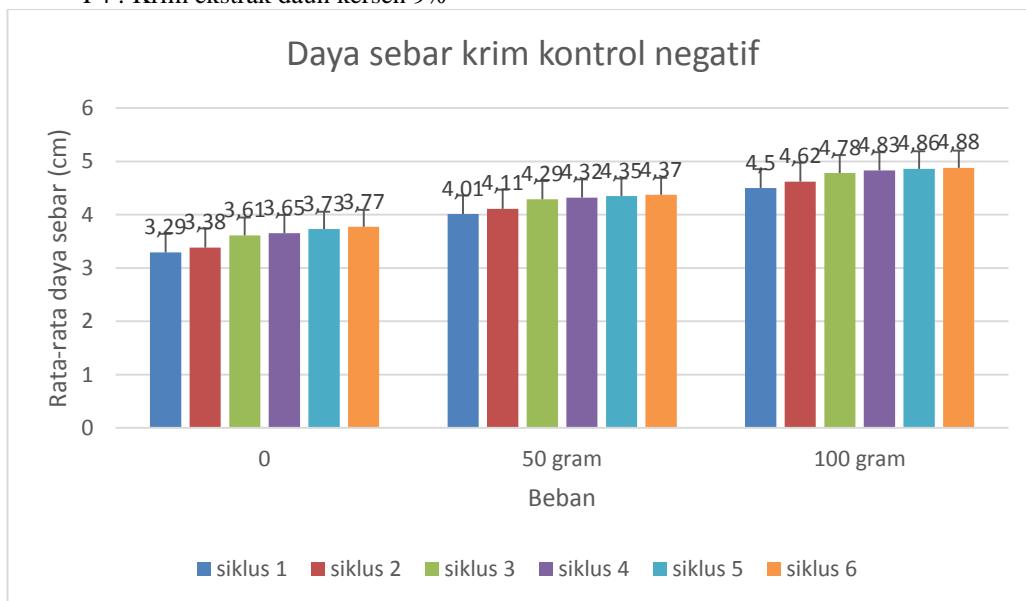
(*) : berbeda signifikan terhadap siklus 1

F1 : Krim kontrol negatif

F2 : Krim ekstrak daun kersen 3%

F3 : Krim ekstrak daun kersen 6%

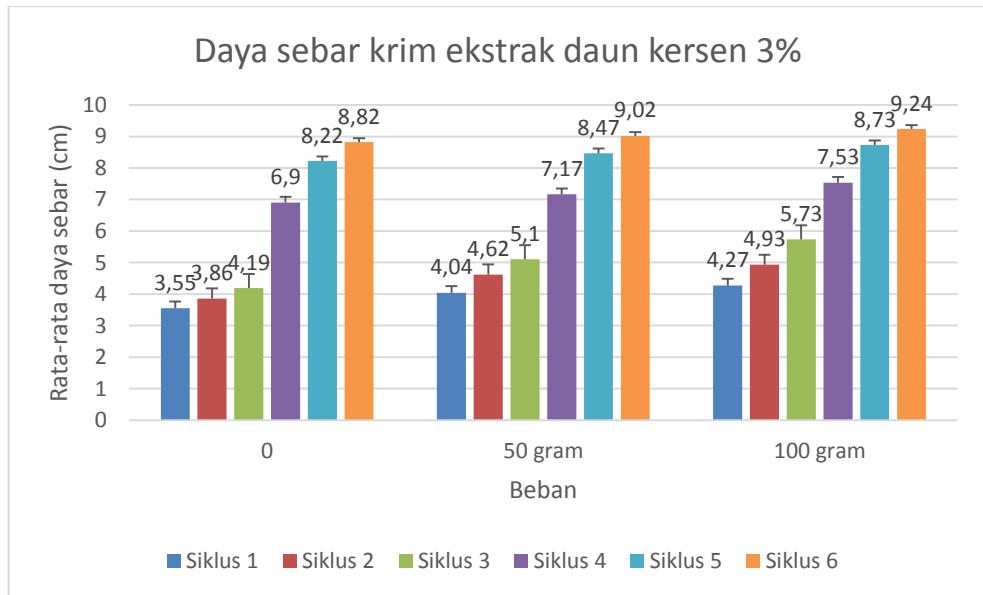
F4 : Krim ekstrak daun kersen 9%



Gambar 19. Grafik hubungan beban dengan daya sebar krim kontrol negatif

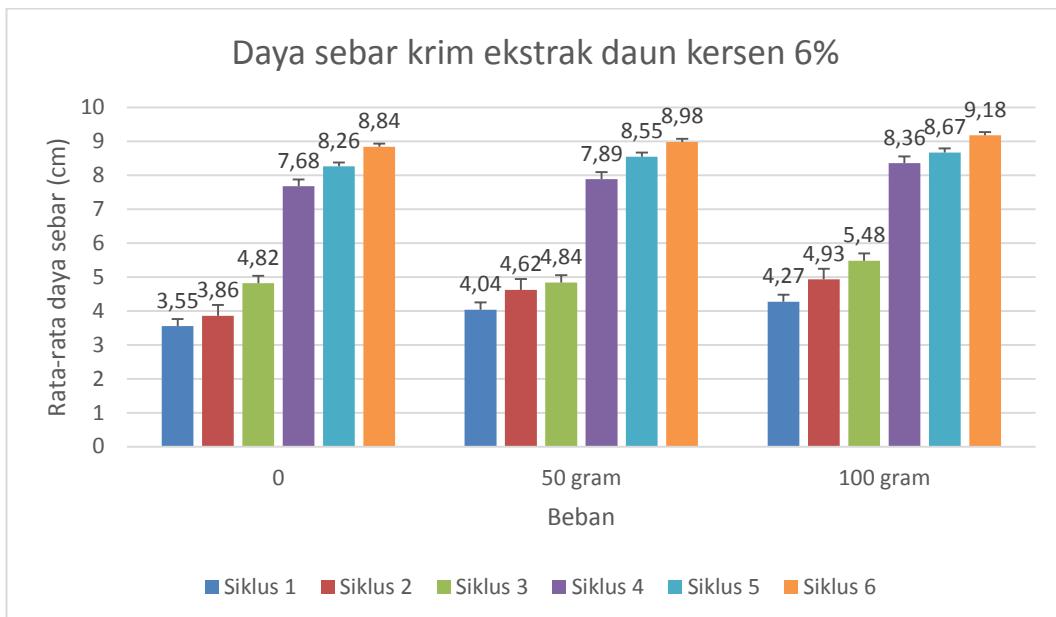
Pada gambar 19 formula krim kontrol negatif memiliki kenaikan daya sebar disetiap bebannya dan kenaikan daya sebar disetiap beban yang ditambahkan. Pada uji *Repeated Measures Anova* krim kontrol negatif dengan beban 0 gram, beban 50 gram, serta beban 100 gram tidak menunjukkan adanya perbedaan yang

signifikan karena nilai $Sig > 0,05$. Hasil uji SPSS daya sebar krim kontrol negatif dapat dilihat pada lampiran 17. Krim kontrol negatif tetap stabil meskipun tidak memenuhi syarat daya sebar yaitu 5-7 cm.



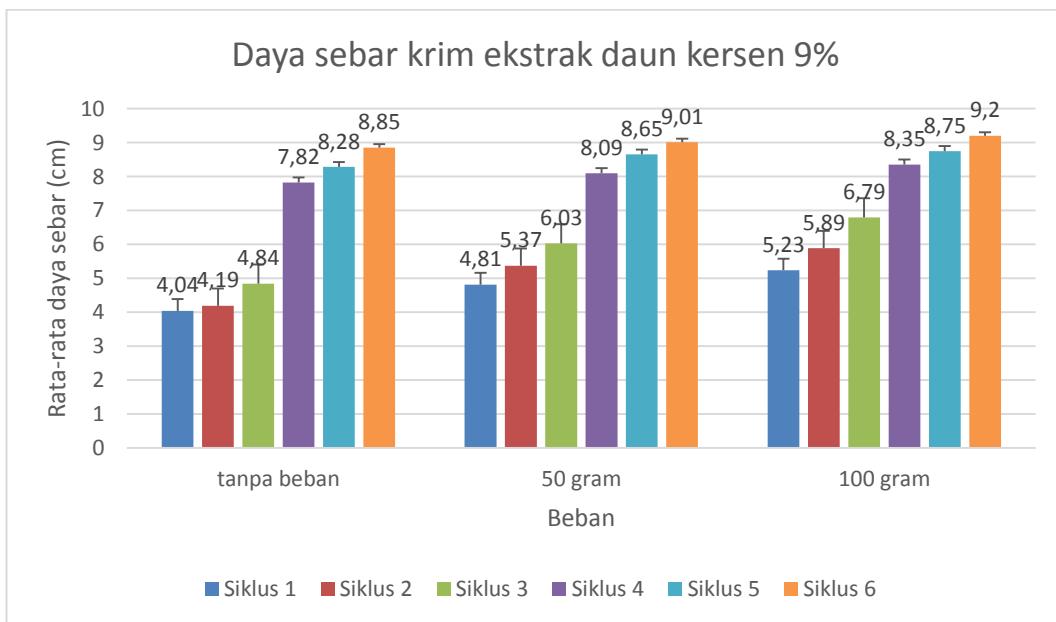
Gambar 20. Grafik hubungan beban dengan daya sebar krim ekstrak daun kersen 3%

Pada gambar 20 formula krim ekstrak daun kersen 3% memiliki kenaikan daya sebar disetiap bebannya. Uji *Repeated Measures Anova* menunjukan daya sebar krim dengan beban 0 gram dan 100 gram memiliki perbedaan yang signifikan karena nilai $Sig. < 0,05$ di siklus ke-4, 5, dan 6. Daya sebar krim dengan beban 50 gram memiliki perbedaan yang signifikan karena nilai $Sig. < 0,05$ pada siklus ke-5 dan ke-6. Daya sebar krim ekstrak daun kersen 3% tidak memenuhi syarat karena terlalu besar atau melampaui batas yang ditentukan (5-7 cm).



Gambar 21. Grafik hubungan beban dengan daya sebar krim ekstrak daun kersen 6%

Pada gambar 21 formula krim ekstrak daun kersen 6% memiliki kenaikan daya sebar disetiap bebannya. Uji *Repeated Measures Anova* menunjukan daya sebar krim dengan beban 50 gram memiliki perbedaan yang signifikan karena nilai *Sig.* < 0,05 di siklus ke-5 dan siklus ke-6. Daya sebar krim dengan beban 100 gram terdapat perbedaan yang signifikan karena nilai *Sig.* < 0,05 pada siklus ke-5.



Gambar 22. Grafik hubungan beban dengan daya sebar krim ekstrak daun kersen 9%

Pada gambar 22 formula krim ekstrak daun kersen 9% memiliki kenaikan daya sebar disetiap siklus. Uji *Repeated Measures Anova* pada krim ekstrak daun kersen 9% dengan beban 0 gram menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan karena nilai *Sig* < 0,05 pada siklus ke-5 dan ke-6. Peningkatan daya sebar yang signifikan disebabkan karena kenaikan suhu, cara penyimpanan, kelembaban udara yang masuk saat membuka dan menutup sediaan, serta saat pengambilan sediaan untuk diuji.

8. Keamanan krim

Penggunaan sediaan pada kulit dapat menyebabkan kerusakan kulit yang terjadi di daerah yang dipaparkan sediaan. Oleh karena itu sediaan yang digunakan harus ditentukan keamanannya sebelum digunakan. Uji toksisitas kulit yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji iritasi primer dan okuler. Pengujian ini menggunakan 4 ekor kelinci jantan New Zealand dengan bobot 1.5-2 kg. Uji tingkat iritasi kulit dilakukan terhadap krim kontrol negatif dan krim ekstrak daun kersen dengan menggunakan teknik Draize test yang umum digunakan untuk mendefinisikan irritant lokal utama sebagai senyawa yang menghasilkan reaksi radang kulit.

Pengamatan uji iritasi oleh metode Draize dilakukan berdasarkan 2 hal, yaitu eritema dan udema 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 (Lu 2002).

Pencukuran bulu kelinci dilakukan 24 jam sebelum krim dioleskan. Krim dioleskan pada punggung kelinci, kemudian ditutup dengan kapas steril dan dibalut dengan kasa steril. 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. Beberapa bahan dalam formulasi produk kosmetik seperti surfaktan maupun pengawet memang berpotensi untuk mengiritasi kulit.

Tabel 24. Iritasi primer

Sediaan	Nilai IIPR	Keterangan
Krim kontrol negatif	0,67	Krim sangat sedikit mengiritasi
Krim ekstrak daun kersen 3%	0,67	Krim sangat sedikit mengiritasi
Krim ekstrak daun kersen 6%	0,33	Krim sangat sedikit mengiritasi
Krim ekstrak daun kersen 9%	0,67	Krim sangat sedikit mengiritasi

Keterangan :

IIPR (indeks iritasi primer) menunjukkan dengan adanya edema (akumulasi cairan di bawah kulit dan ruang interstisial) dan erythema (kemerahan kulit akibat peningkatan aliran darah lokal).

Hasil pengamatan pada uji iritasi primer, dapat dikatakan sediaan krim kontrol negatif bersifat sangat sedikit mengiritasi kulit kelinci dengan indeks iritasi primer adalah 0,67. Krim ekstrak kersen 3%, krim ekstrak kersen 6%, dan krim ekstrak kersen 9% bersifat sangat sedikit mengiritasi. Hasil ini tidak tergolong membahayakan karena krim tidak menimbulkan edema dan eritema.

Tabel 25. Iritasi okuler

Sediaan	Nilai IIO	Keterangan
Krim kontrol negatif	0	Krim tidak mengiritasi
Krim ekstrak daun kersen 3%	0	Krim tidak mengiritasi
Krim ekstrak daun kersen 6%	0	Krim tidak mengiritasi
Krim ekstrak daun kersen 9%	0	Krim tidak mengiritasi

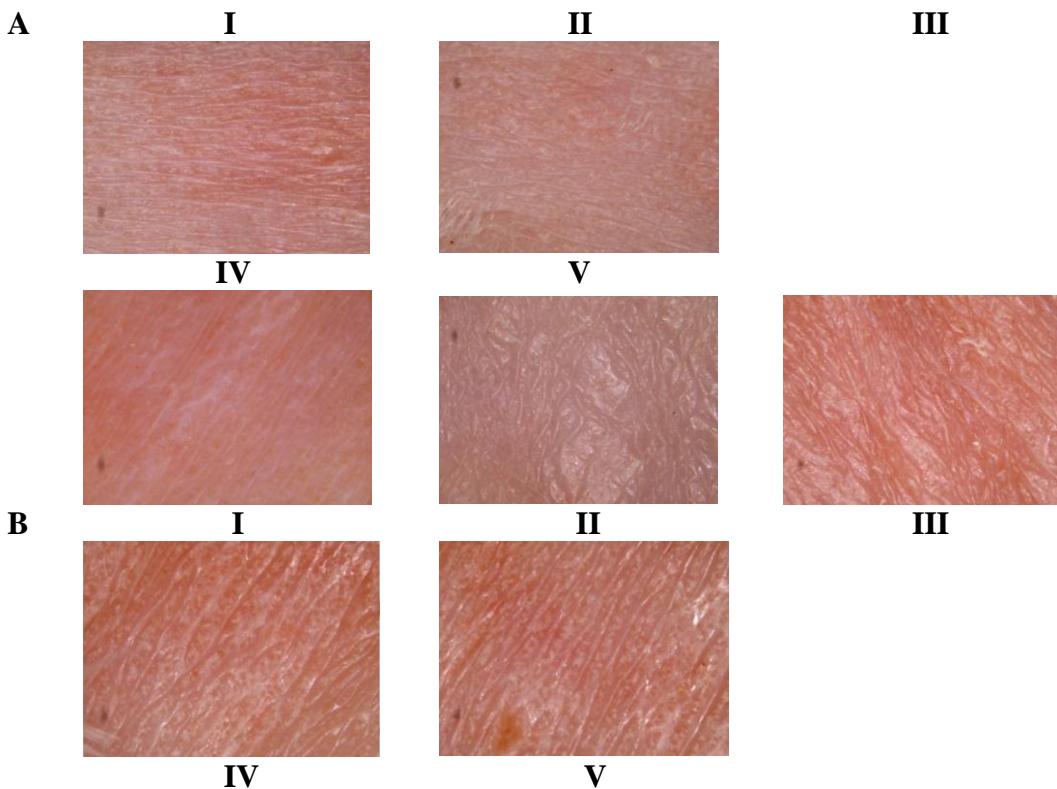
Keterangan : IIO (indeks iritasi okuler) menunjukkan adanya iritasi iris, konjungtiva, kornea, dan kemosis.

Hasil pengamatan terlihat bahwa semua sediaan krim tidak mengiritasi mata kelinci dengan indeks iritasi okuler nol sehingga dapat disimpulkan bahwa krim aman digunakan. Uji iritasi okuler 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.

9. Aktivitas anti-aging pada hewan uji

Krim ekstrak kersen telah melalui uji keamanan pada hewan uji kelinci. Hasil uji iritasi primer didapatkan hasil krim sangat sedikit mengiritasi, sedangkan uji iritasi okuler krim tidak mengiritasi mata kelinci dengan indeks iritasi okuler nol sehingga memenuhi syarat untuk uji *anti-aging*.





Gambar 23. Foto perbandingan kulit kelinci sebelum dan sesudah induksi sinar UV-A

Keterangan:

A = Sebelum induksi sinar UV-A, B = Sesudah induksi sinar UV-A selama 2 minggu, I = Kelinci yang akan dioles kontrol negatif (basis krim), II = Kelinci yang akan dioles kontrol positif (Revitalift®), III = Kelinci yang akan dioles krim ekstrak daun kersen 3%, IV = Kelinci yang akan dioles krim ekstrak daun kersen 6%, V = Kelinci yang akan dioles krim ekstrak daun kersen 9%.

Pengujian aktivitas *anti-aging* pada daun kersen didasarkan karena adanya aktivitas antioksidan pada daun kersen yang dapat digunakan sebagai *anti-aging*. Penelitian yang dilakukan Sami dkk. (2017) menunjukkan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun kersen (*Muntinga calabura* L.) dengan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) didapatkan IC₅₀ sebesar 6,8249 µg/ml. Ekstrak daun kersen memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat karena nilai IC₅₀ < 50 µg/ml.

Pengujian aktivitas *anti-aging* diawali dengan induksi kerutan pada kulit kelinci, kelinci disinari dengan lampu Exoterra Daylight Basking Spot yang mengandung UV-A dengan dosis 63,694 J.cm⁻²/jam selama 6 jam per hari selama 2 minggu (Budiawan 2018). Kulit kelinci sebelum diinduksi terlihat masih halus

tanpa ada kerutan, tetapi setelah diinduksi dengan sinar UV-A selama 2 minggu kulit kelinci terlihat kasar dan terlihat adanya kerutan (gambar 23).

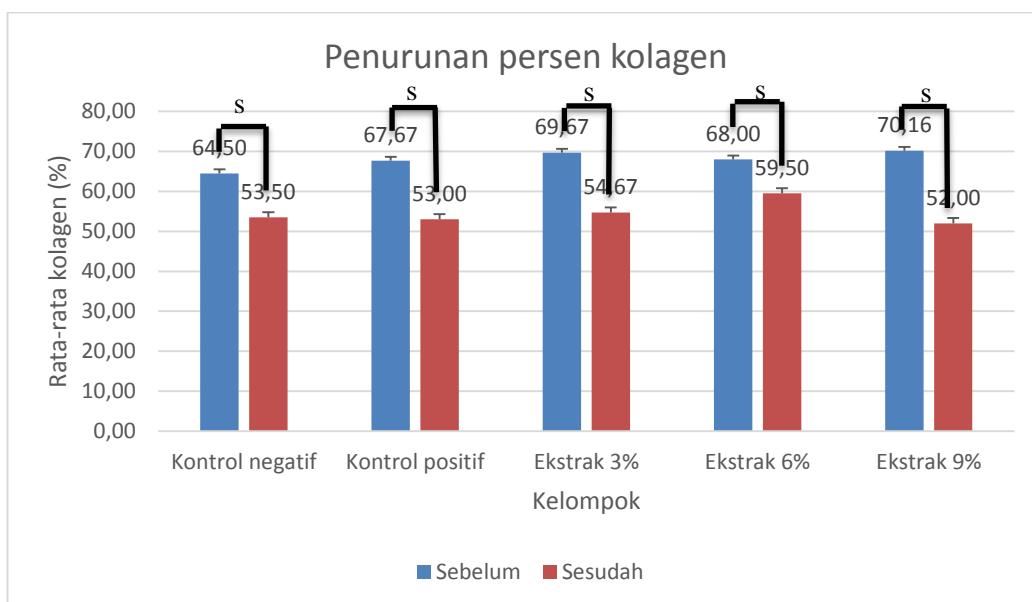
Sinar UV-A dapat menginduksi penuaan dini pada kulit hewan uji, hasil induksi pada penelitian ini sejalan dengan penelitian milik Komatsu *et al* (2017) yang menggunakan hewan uji tikus. Pada lapisan dermis terdapat kolagen, elastin, glikosaminoglikan, dan proteoglikan yang dihasilkan dan disekresikan oleh sel fibroblas menuju lingkungan ekstrasel untuk menjaga integritas dan struktur kulit (Park & Hwang 2011). Kulit yang kekurangan kolagen akan kehilangan elastisitasnya sehingga terbentuk kerutan.

Tabel 26. Persen kolagen, persen kelembaban, dan persen elastisitas sebelum dan sesudah induksi sinar UV-A selama 14 hari.

Kelom pok	persen kolagen		persen elastisitas		persen kelembaban	
	sebelum	sesudah	sebelum	sesudah	sebelum	sesudah
I	64,50±3,01	53,50±1,64*	58,16±4,49	46,67±3,93*	17,50±2,94	4,16±2,04*
II	67,67±5,95	53,00±3,34*	65,00±2,89	42,33±8,06*	17,67±1,36	7,67±1,96*
III	69,67±2,58	54,67±2,33*	59,83±4,40	44,83±3,86*	12,67±2,06	7,16±1,32*
IV	68,00±4,00	59,50±5,89*	63,50±3,08	56,16±0,98*	14,33±1,63	9,00±1,54*
V	70,16±1,83	52,00±5,76*	60,00±2,09	48,33±1,75*	14,50±2,07	7,50±1,87*

Keterangan :

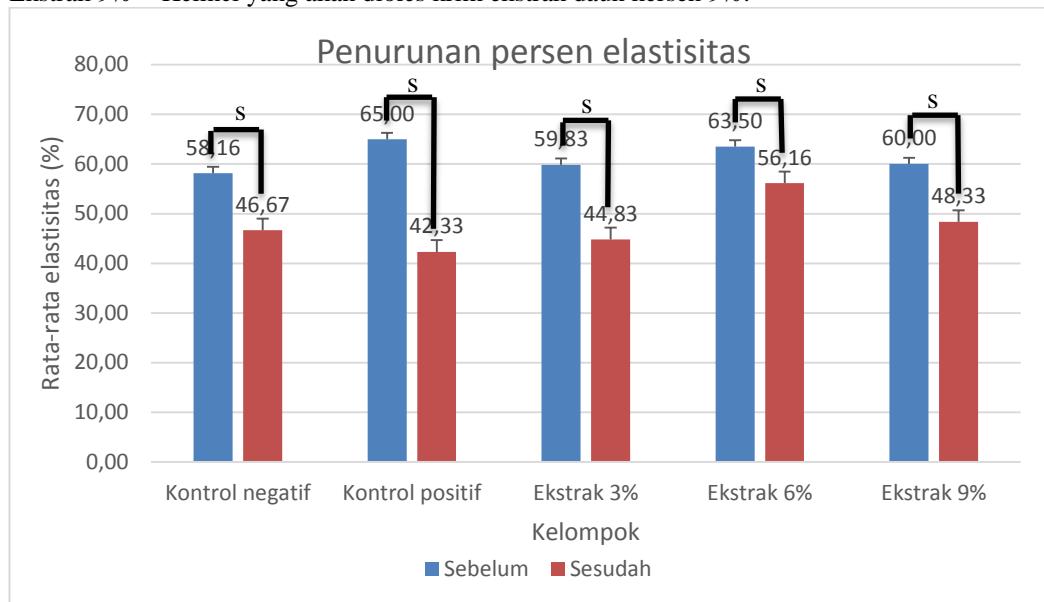
I = Kelinci yang akan dioles kontrol negatif (basis krim), II = Kelinci yang akan dioles kontrol positif (Revitalift®), III = Kelinci yang akan dioles krim ekstrak daun kersen 3%, IV = Kelinci yang akan dioles krim ekstrak daun kersen 6%, V = Kelinci yang akan dioles krim ekstrak daun kersen 9%, (*) = perbedaan yang signifikan ($\text{Sig} > 0,05$) dengan sebelum induksi sinar UV-A (*paired T-test*).



Gambar 24. Persen kolagen sebelum dan sesudah induksi sinar UV-A

Keterangan:

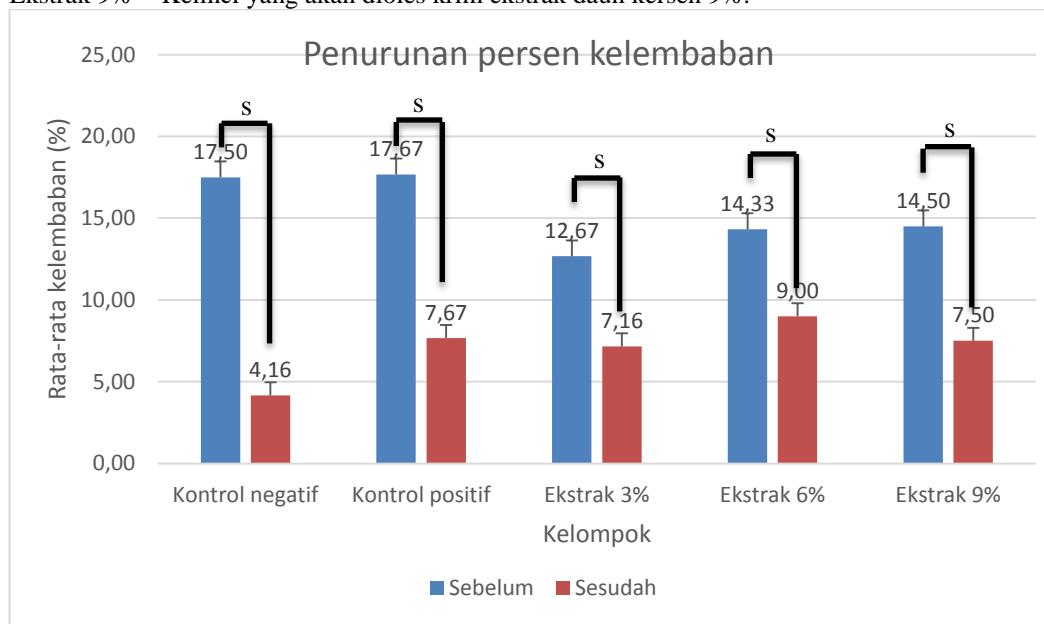
s = signifikan, Sebelum = sebelum induksi sinar UV-A (T-14), Sesudah = sesudah induksi sinar UV-A selama 2 minggu (T0), Kontrol negatif = Kelinci yang akan dioles basis krim, Kontrol positif = Kelinci yang akan dioles (Revitalift®), Ekstrak 3% = Kelinci yang akan dioles krim ekstrak daun kersen 3%, Ekstrak 6% = Kelinci yang akan dioles krim ekstrak daun kersen 6%, Ekstrak 9% = Kelinci yang akan dioles krim ekstrak daun kersen 9%.



Gambar 25. Persen elastisitas sebelum dan sesudah induksi sinar UV-A

Keterangan:

s = signifikan, Sebelum = sebelum induksi sinar UV-A (T-14), Sesudah = sesudah induksi sinar UV-A selama 2 minggu (T0), Kontrol negatif = Kelinci yang akan dioles basis krim, Kontrol positif = Kelinci yang akan dioles (Revitalift®), Ekstrak 3% = Kelinci yang akan dioles krim ekstrak daun kersen 3%, Ekstrak 6% = Kelinci yang akan dioles krim ekstrak daun kersen 6%, Ekstrak 9% = Kelinci yang akan dioles krim ekstrak daun kersen 9%.



Gambar 26. Persen kelembaban sebelum dan sesudah induksi sinar UV-A

Keterangan:

s = signifikan, Sebelum = sebelum induksi sinar UV-A (T-14), Sesudah = sesudah induksi sinar UV-A selama 2 minggu (T0), Kontrol negatif = Kelinci yang akan dioles basis krim, Kontrol positif = Kelinci yang akan dioles (Revitalift®), Ekstrak 3% = Kelinci yang akan dioles krim ekstrak daun kersen 3%, Ekstrak 6% = Kelinci yang akan dioles krim ekstrak daun kersen 6%, Ekstrak 9% = Kelinci yang akan dioles krim ekstrak daun kersen 9%.

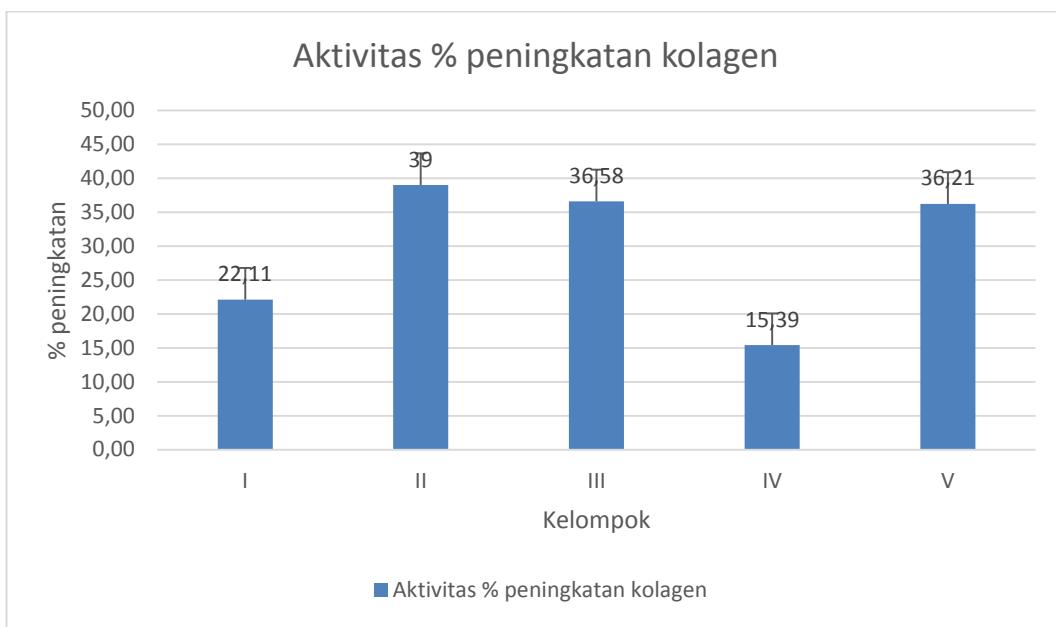
Pengukuran parameter penuaan dini menggunakan alat *Skin Analyzer* dapat dilihat dari hasil *paired T-test* yang menunjukkan adanya perubahan yang signifikan karena nilai *Sig* < 0,05. Nilai rata-rata persen kolagen, persen elastisitas, dan persen kelembaban setelah diinduksi sinar UV-A selama 14 hari menunjukkan adanya perubahan yang signifikan. Sinar UV-A yang memapar kulit menyebabkan terbentuknya radikal bebas (ROS) dan menimbulkan kerusakan DNA, ROS dapat menghancurkan kolagen sehingga jumlahnya menurun. Terakumulasinya penurunan kolagen ini merupakan indikator pada kulit yang mengalami kekeriputan akibat proses penuaan (Selamet 2013). Induksi sinar UV-A yang telah dilakukan selama 14 hari dapat dinyatakan berhasil, ditunjukkan dengan menurunnya persen kolagen, persen elastisitas, dan persen kelembaban.

Tabel 27. Persen kolagen kulit hewan uji

Kelompok	Persen kolagen				
	Sebelum induksi	Setelah induksi sinar UVA (T0)	Sesudah dioles krim (T30)	Peningkatan parameter	Aktivitas % peningkatan kolagen
I	64,50 ± 3,01	53,50 ± 1,64	65,33 ± 1,50*	11,83 ± 2,92 ^b	22,11
II	67,67 ± 5,95	53,00 ± 3,34	73,67 ± 4,41*	20,67 ± 5,20 ^{ad}	39,00
III	69,67 ± 2,58	54,67 ± 2,33	74,67 ± 6,62*	20,00 ± 6,29 ^d	36,58
IV	68,00 ± 4,00	59,50 ± 5,89	68,67 ± 4,17*	9,16 ± 4,62 ^{bce}	15,39
V	70,16 ± 1,83	52,00 ± 5,76	70,83 ± 3,97*	18,83 ± 5,49 ^d	36,21

Keterangan :

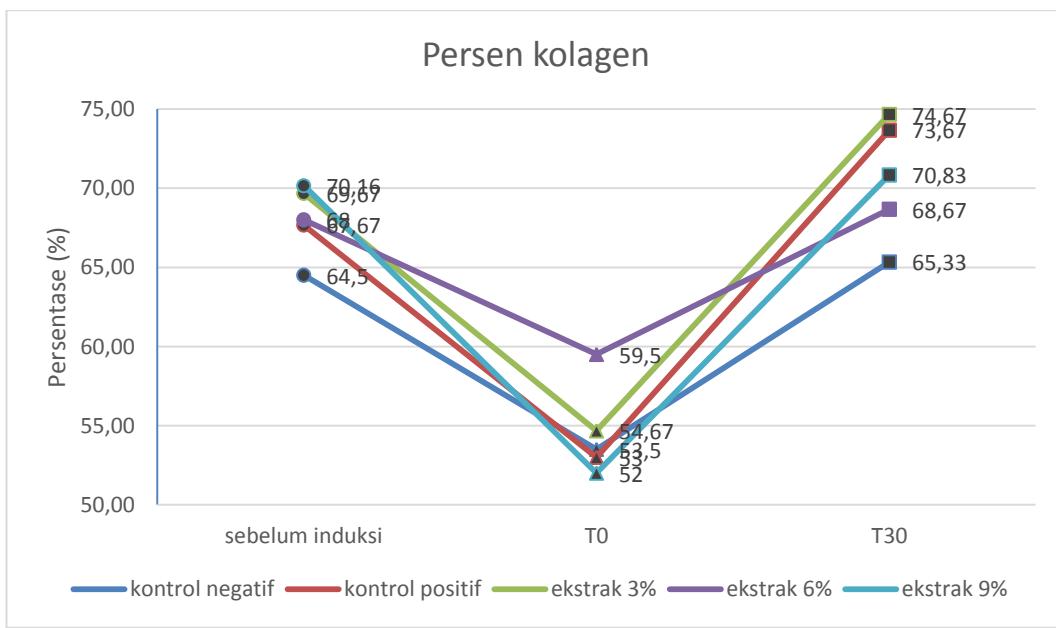
I = Kontrol negatif (basis krim), II = Kontrol positif (Revitalift®), III = krim ekstrak daun kersen 3%, IV = krim ekstrak daun kersen 6%, V = krim ekstrak daun kersen 9%, (*) = perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) dengan sebelum dioles krim (*paired T-test*), a = berbeda nyata dengan kontrol negatif, b = berbeda nyata dengan kontrol positif, c = berbeda nyata dengan krim ekstrak daun kersen 3%, d = berbeda nyata dengan krim ekstrak daun kersen 6%, e = berbeda nyata dengan krim ekstrak daun kersen 9% (*one way ANOVA*).



Gambar 27. Aktivitas persen peningkatan kolagen

Keterangan :

I = Kontrol negatif (basis krim), II = Kontrol positif (Revitalift®), III = krim ekstrak daun kersen 3%, IV = krim ekstrak daun kersen 6%, V = krim ekstrak daun kersen 9%.



Gambar 28. Persen kolagen sebelum induksi, sesudah induksi, dan sesudah dioles krim

Keterangan:

Sebelum induksi = sebelum induksi sinar UV-A (T-14), T0 = sesudah induksi sinar UV-A (hari ke-0), T30 = sesudah dioles krim selama 30 hari (hari ke-30/akhir pengamatan), Kontrol negatif = basis krim, Kontrol positif = (Revitalift®), Ekstrak 3% = krim ekstrak daun kersen 3%, Ekstrak 6% = krim ekstrak daun kersen 6%, Ekstrak 9% = krim ekstrak daun kersen 9%.

Peningkatan persen kolagen pada kontrol negatif dikarenakan tubuh secara alami memiliki antioksidan. Antioksidan yang sudah diproduksi di dalam tubuh

manusia yang dikenal dengan antioksidan endogen atau enzim antioksidan enzim Superoksida Dismutase (SOD), Glutation Peroksidase (GPx), dan Katalase (CAT) (Sadikin, 2002 ; Murray, 2009). Pada umumnya, efektivitas krim cenderung meningkat sebanding dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Peningkatan parameter persen kolagen dari ketiga krim yang paling besar yaitu krim ekstrak daun kersen dengan konsentrasi 3% yang memiliki aktivitas persen peningkatan kolagen sebesar 36,58%.

Hasil uji parameter persen kolagen menunjukkan semua kelompok mengalami peningkatan yang signifikan ($p<0,05$). Peningkatan parameter kolagen paling besar ditunjukkan oleh kontrol positif, sedangkan krim ekstrak daun kersen yang memiliki peningkatan paling besar yaitu krim dengan konsentrasi ekstrak 3%. Konsentrasi efektif krim ekstrak daun kersen yaitu 3% karena memiliki mutu fisik yang paling baik.

Hasil rata-rata pengujian persen kolagen pada tabel 27 menunjukkan bahwa krim ekstrak daun kersen 3%, krim ekstrak kersen 6%, dan krim ekstrak kersen 9% mengalami peningkatan yang signifikan karena nilai $p<0,05$. Peningkatan parameter persen kolagen bagian kulit yang dioles krim ekstrak daun kersen 3% dan krim ekstrak kersen 9% pada hari ke-30 tidak berbeda signifikan dengan peningkatan persen kolagen pada bagian kulit yang dioles krim kontrol positif. Gambar 28 menunjukkan grafik penurunan parameter persen kolagen setelah kulit hewan uji diinduksi, serta kenaikan persen kolagen setelah kulit hewan uji dioles dengan sediaan krim.

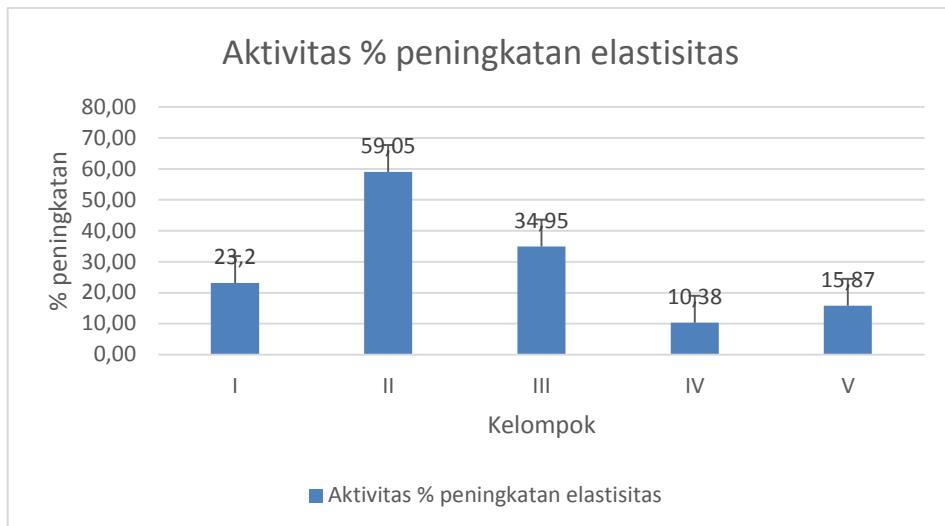
Tabel 28. Persen elastisitas kulit hewan uji

Kelompok	Persen elastisitas				
	Sebelum induksi	Sebelum dioles krim (T0)	Sesudah dioles krim (T30)	Peningkatan parameter	Aktivitas % peningkatan elastisitas
I	58,16 ± 4,49	46,67 ± 3,93	57,50 ± 5,61*	10,83 ± 5,63 ^b	23,20
II	65,00 ± 2,89	42,33 ± 8,06	67,33 ± 4,32*	25,00 ± 7,92 ^{ade}	59,05
III	59,83 ± 4,40	44,83 ± 3,86	60,50 ± 8,43*	15,67 ± 6,91	34,95
IV	63,50 ± 3,08	56,16 ± 0,98	62,00 ± 4,00*	5,83 ± 4,49 ^b	10,38
V	60,00 ± 2,09	48,33 ± 1,75	56,00 ± 4,28*	7,67 ± 3,26 ^b	15,87

Keterangan :

I = Kontrol negatif (basis krim), II = Kontrol positif (Revitalift®), III = krim ekstrak daun kersen 3%, IV = krim ekstrak daun kersen 6%, V = krim ekstrak daun kersen 9%, (*) = perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) dengan sebelum dioles krim (*paired T-test*), a = berbeda nyata dengan kontrol negatif, b = berbeda nyata dengan kontrol positif, c = berbeda nyata dengan krim ekstrak daun

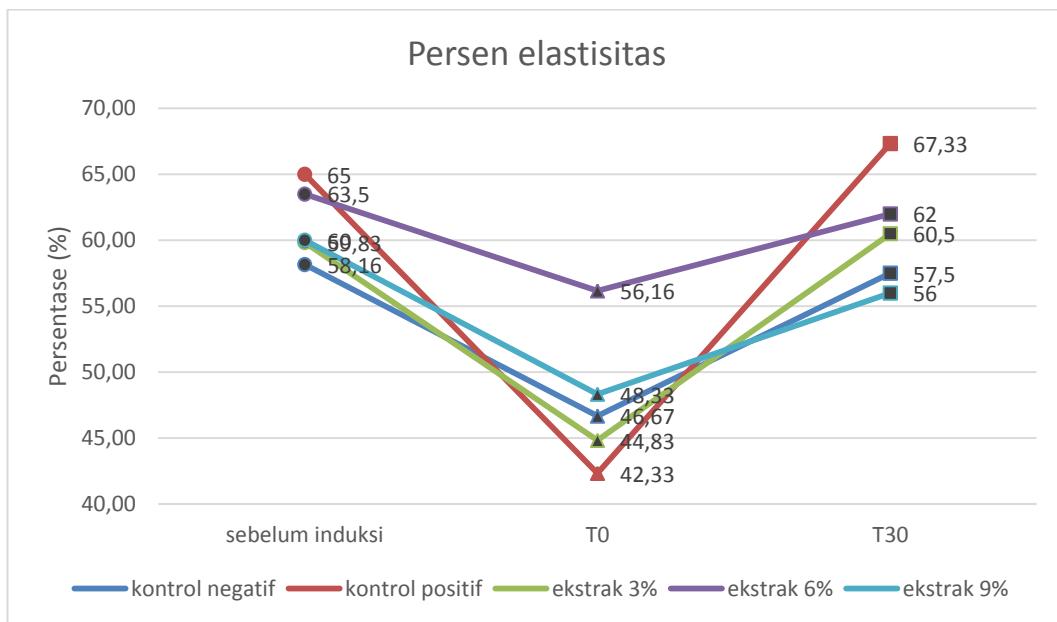
kersen 3%, d = berbeda nyata dengan krim ekstrak daun kersen 6%, e = berbeda nyata dengan krim ekstrak daun kersen 9% (*one way ANOVA*).



Gambar 29. Aktivitas persen peningkatan elastisitas

Keterangan :

I = Kontrol negatif (basis krim), II = Kontrol positif (Revitalift®), III = krim ekstrak daun kersen 3%, IV = krim ekstrak daun kersen 6%, V = krim ekstrak daun kersen 9%.



Gambar 30. Persen elastisitas sebelum induksi, sesudah induksi, dan sesudah dioles krim

Keterangan:

Sebelum induksi = sebelum induksi sinar UV-A (T-14), T0 = sesudah induksi sinar UV-A (hari ke-0), T30 = sesudah dioles krim selama 30 hari (hari ke-30/akhir pengamatan), Kontrol negatif = basis krim, Kontrol positif = (Revitalift®), Ekstrak 3% = krim ekstrak daun kersen 3%, Ekstrak 6% = krim ekstrak daun kersen 6%, Ekstrak 9% = krim ekstrak daun kersen 9%.

Krim ekstrak daun kersen mengandung senyawa antioksidan flavonoid dalam bentuk fenol dalam kandungan yang tinggi sehingga memberikan efek

antioksidan (Nurhasanah, 2012). Flavonoid dapat memberi efek antioksidan dengan mencegah generasi ROS, langsung menangkap ROS atau secara tidak langsung terjadi peningkatan enzim (Akhlaghi, 2009). Efek ini berdasarkan kemampuan gugus hidroksilnya dalam mendonorkan elektron dan hidrogen pada radikal bebas (Akhlaghi, 2009). Kemampuan antioksidan ini menurunkan kadar ROS dan memberikan perlindungan pada kolagen dari degradasi.

Hasil uji parameter persen elastisitas menunjukkan semua kelompok mengalami peningkatan yang signifikan ($p<0,05$). Peningkatan parameter elastisitas paling besar ditunjukkan oleh kontrol positif, sedangkan krim ekstrak daun kersen yang memiliki peningkatan paling besar yaitu krim dengan konsentrasi ekstrak 3%. Peningkatan persen elastisitas berbanding lurus dengan waktu. Gambar 30 menunjukkan grafik penurunan parameter persen elastisitas setelah kulit hewan uji diinduksi, serta kenaikan persen elastisitas setelah kulit hewan uji diolesi dengan sediaan krim. Peningkatan parameter persen elastisitas dari ketiga krim yang paling besar yaitu krim ekstrak daun kersen dengan konsentrasi 3% yang memiliki aktivitas persen peningkatan kolagen sebesar 34,95%. Formula dengan kadar 3% merupakan formula optimum yang memberikan efek terbaik.

Krim ekstrak daun kersen 3% memiliki kemampuan peningkatan parameter elastisitas karena tidak berbeda signifikan dengan krim kontrol positif. Aktivitas *anti-aging* pada konsentrasi 3% paling efektif karena tingkat kekentalan atau viskositas krim berbeda. Krim dengan kadar 6% dan 9% memiliki viskositas lebih besar dari krim kadar 3%, sehingga proses absorpsi ke kulit semakin sulit.

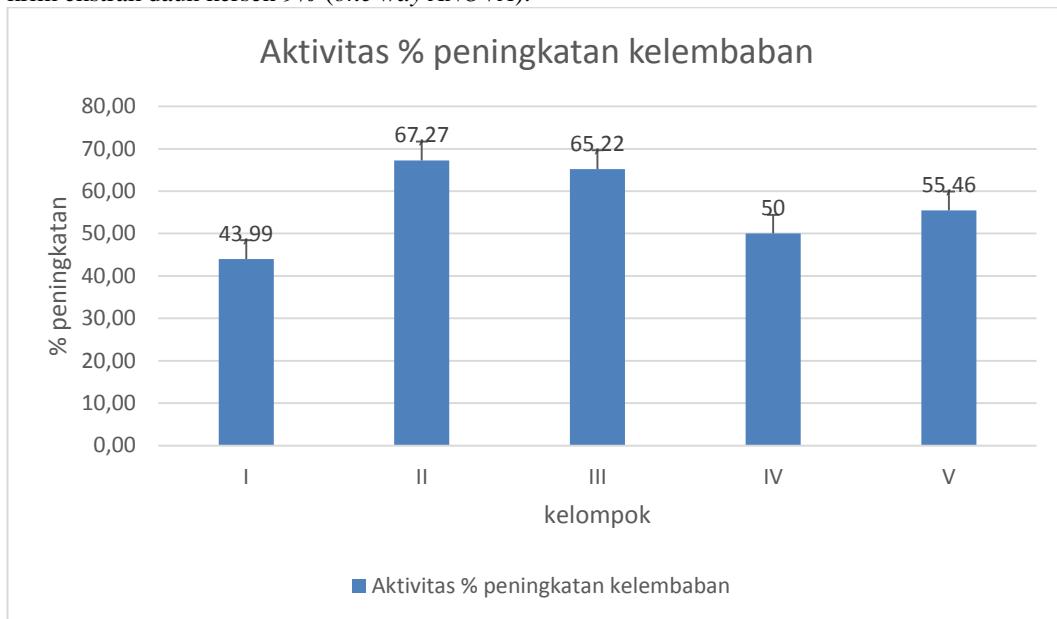
Peningkatan persen elastisitas pada kulit kelinci terjadi karena ekstrak daun kersen memiliki aktivitas antioksidan. Reaktifitas radikal bebas itu dapat dihambat oleh sistem antioksidan yang merupakan bagian dari sistem kekebalan tubuh (Winarsi 2007). Peningkatan parameter elastisitas dikarenakan meningkatnya produksi kolagen dan serat elastin. Kolagen dan serabut elastin yang berada di lapisan dermis berperan dalam menjaga elastisitas kulit (Menon 2015).

Tabel 29. Persen kelembaban kulit hewan uji

Kelompok	Persen kelembaban					Aktivitas % peningkatan kelembaban
	Sebelum induksi	Sebelum dioles krim (T0)	Sesudah dioles krim (T30)	Peningkatan parameter		
I	17,50 ± 2,94	4,16 ± 2,04	6,00 ± 1,89*	1,83 ± 1,47		43,99
II	17,67 ± 1,36	7,67 ± 1,96	12,83 ± 2,78*	5,16 ± 3,12		67,27
III	12,67 ± 2,06	7,16 ± 1,32	11,83 ± 2,22*	4,67 ± 2,42		65,22
IV	14,33 ± 1,63	9,00 ± 1,54	13,50 ± 1,87*	4,50 ± 2,94		50,00
V	14,50 ± 2,07	7,50 ± 1,87	11,67 ± 1,63*	4,16 ± 2,13		55,46

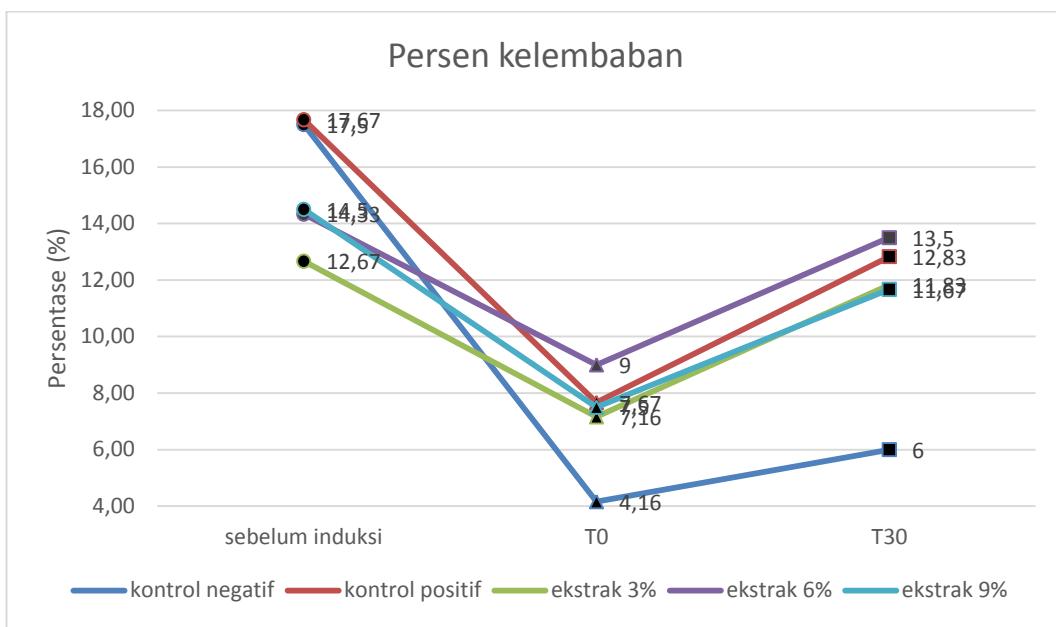
Keterangan :

I = Kontrol negatif (basis krim), II = Kontrol positif (Revitalift®), III = krim ekstrak daun kersen 3%, IV = krim ekstrak daun kersen 6%, V = krim ekstrak daun kersen 9%, (*) = perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) dengan sebelum dioles krim (*paired T-test*), a = berbeda nyata dengan kontrol negatif, b = berbeda nyata dengan kontrol positif, c = berbeda nyata dengan krim ekstrak daun kersen 3%, d = berbeda nyata dengan krim ekstrak daun kersen 6%, e = berbeda nyata dengan krim ekstrak daun kersen 9% (*one way ANOVA*).

**Gambar 31. Aktivitas persen peningkatan kelembaban**

Keterangan :

I = Kontrol negatif (basis krim), II = Kontrol positif (Revitalift®), III = krim ekstrak daun kersen 3%, IV = krim ekstrak daun kersen 6%, V = krim ekstrak daun kersen 9%.



Gambar 32. Persen kelembaban sebelum induksi, sesudah induksi, dan sesudah dioles krim
Keterangan:

Sebelum induksi = sebelum induksi sinar UV-A (T-14), T0 = sesudah induksi sinar UV-A (hari ke-0), T30 = sesudah dioles krim selama 30 hari (hari ke-30/akhir pengamatan), Kontrol negatif = basis krim, Kontrol positif = (Revitalift®), Ekstrak 3% = krim ekstrak daun kersen 3%, Ekstrak 6% = krim ekstrak daun kersen 6%, Ekstrak 9% = krim ekstrak daun kersen 9%.

Gambar 32 menunjukkan grafik penurunan parameter persen kelembaban setelah kulit hewan uji diinduksi, serta kenaikan persen kelembaban setelah kulit hewan uji diolesi dengan sediaan krim. Peningkatan parameter persen kelembaban dari ketiga krim yang paling besar yaitu krim ekstrak daun kersen dengan konsentrasi 3% yang memiliki aktivitas persen peningkatan kolagen sebesar 65,22%. Peningkatan persen kelembaban berbanding lurus dengan waktu.

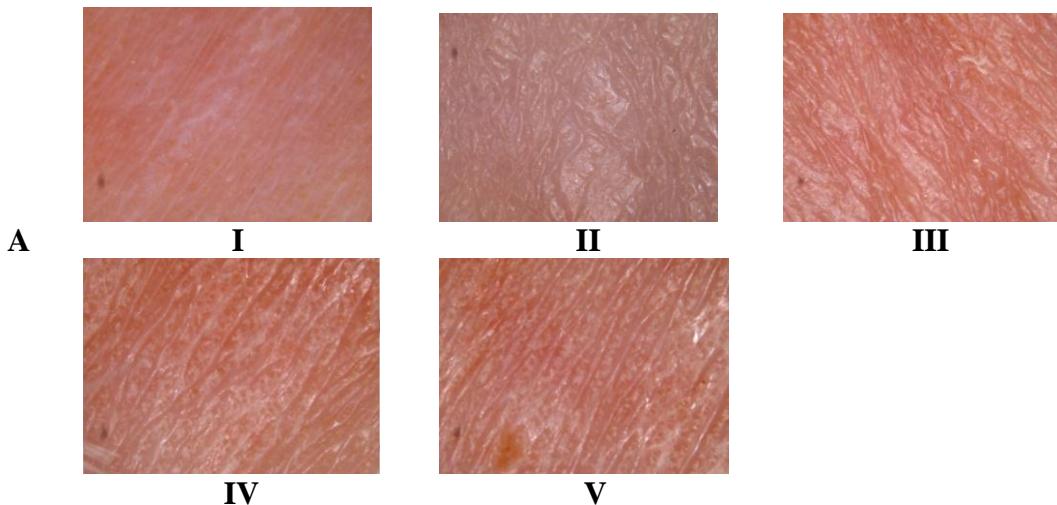
Peningkatan parameter kelembaban yang paling besar yaitu krim kontrol positif dan krim ekstrak daun kersen dengan konsentrasi 3% (tabel 29). Konsentrasi formula krim dengan kadar 3% paling efektif karena dengan konsentrasi ekstrak yang semakin besar pH krim semakin asam. Jika pH krim tidak sesuai dengan pH kulit maka dapat menyebabkan iritasi kulit.

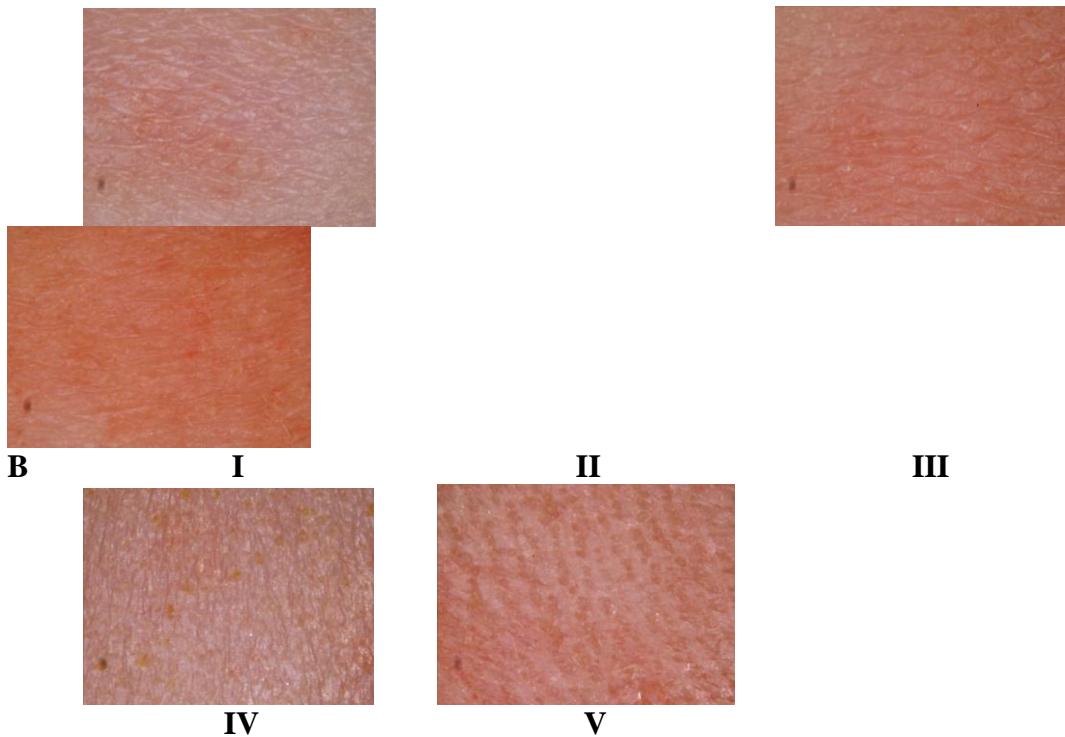
Aktivitas % peningkatan kolagen, elastisitas, dan kelembaban pada kelompok IV atau krim ekstrak daun kersen dengan konsentrasi 6% paling rendah. Hewan uji yang dipakai kelompok IV adalah seekor kelinci dengan replikasi 6 kali pada punggung hewan. Kelinci yang diberikan krim ekstrak daun kersen 6%

mengalami patah tulang pada kakinya, sehingga kesulitan untuk berjalan dan berat badan kelinci menjadi turun. Berat badan yang tidak sama dengan kelinci yang lain dapat menyebabkan data menjadi kacau.

Formulasi krim meningkatkan kemampuan *stratum corneum* dalam menjaga kelembaban, karena dalam formulasi mengandung bahan yang berfungsi untuk melembabkan kulit yaitu gliserin. Lapisan tanduk (*stratum corneum*) hampir tidak mengandung air karena adanya penguapan air, elastisitasnya kecil, dan sangat efektif untuk pencegahan penguapan air dari lapisan yang lebih dalam (Syaifuddin 2009).

Parameter persen kolagen, persen kelembaban, dan persen elastisitas mengalami perubahan signifikan antara hari ke-0 dan hari ke-30 yang ditunjukkan dari foto kulit kelinci (gambar 33) menggunakan alat *Skin Analyzer*. Foto kulit kelinci pada kontrol negatif tidak begitu menunjukkan perbaikan kerutan sedangkan kelompok kontrol positif dan kelompok krim ekstrak daun kersen menunjukkan perbaikan kerutan.





Gambar 33. Foto perbandingan kulit kelinci sebelum dan sesudah dioles krim

Keterangan:

A = Sesudah induksi (T0), B = Sesudah dioles krim selama 30 hari (T30), I = Kontrol negatif (basis krim), II = Kontrol positif (Revitalift®), III = krim ekstrak daun kersen 3%, IV = krim ekstrak daun kersen 6%, V = krim ekstrak daun kersen 9%.

Hasil dari pengujian *anti-aging* menggunakan alat *Skin Analyzer* dengan parameter persen kolagen, persen kelembaban, dan persen elastisitas ini menunjukkan bahwa krim yang mengandung ekstrak kersen memiliki efek *anti-aging*. Hasil pengamatan ini sesuai dengan penelitian Sami *et al* (2017) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun kersen memiliki efek antioksidan sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai *anti-aging*. Data lengkap hasil uji aktivitas *anti-aging* pada hewan uji menggunakan alat *Skin Analyzer* dengan parameter persen kolagen, persen kelembaban, dan persen elastisitas dapat dilihat pada lampiran 20.