

# UJI STABILITAS FISIK DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FORMULA KRIM YANG MENGANDUNG EKSTRAK KULIT BUAH DELIMA (*Punica granatum L*)

Joshita Djajadisastra, Juheini Amin  
Fakultas Farmasi UI

## ABSTRACT

Pomegranate (*Punica granatum L*) is a kind of the fruit have powerful antioxidant activity because it contains flavonoids and tannins such as elagic acid, gallic acid punicalin, punicalagin, anthocyanins, elligatanin, gallotanin, quercetin, catechins compound. These compounds are known to prevent and inhibit the formation of free Radicals that cause premature aging and chronic disease. In this research pomegranate pericarp extract formulated into three concentrate of creams : 0.75%, 1% and 2%. Physical stability test conducted by keeping those three concentrate of creams at three temperature conditions : in room temperature; 40C;  $40 \pm 2$  OC, centrifuge test and cycling test. This research showed that pomegranate pericarp extract cream 0.75%, 1% and 2% had stable conditions after testing it at three temperature conditions, centrifuge test and cycling test. Determination of antioxidant activity conducted by DPPH reduction method based on the resulted inhibition value (IC50). By that, there is antioxidant activity at the three concentrate of creams: 0.75%, 1% and 2% and meet the minimum value of IC50. Anova statistic test showed antioxidant activity on the three of creams has not a significant decreasing in keeping time from  $t_0$  to  $t_8$  as well as before and after irradiation with UV A by Wilcoxon test.

**Keywords:** pomegranate rind extract (*Punica granatum L*), antioxidant activity, decreasing of antioxidant activity, DPPH

## ABSTRAK

Delima (*Punica granatum L*) merupakan salah satu buah memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena mengandung senyawa flavanoid dan tannin seperti asam elagic, asam gallat, punicalin, punicalagin, anthocianin, elligatanin, gallotanin, kuersetin, katekin. Senyawa-senyawa ini diketahui dapat mencegah dan menghambat terbentuknya radikal bebas yang menyebabkan penuaan dini dan penyakit kronis. Dalam penelitian ini ekstrak kulit buah delima diformulasikan dalam bentuk krim yang dibedakan kandungannya yaitu konsentrasi 0,75%, 1%, 2%. Uji kestabilan fisik dilakukan dengan penyimpanan sediaan pada tiga suhu yaitu suhu kamar; suhu 40C;  $40 \pm 2$  OC, uji mekanik dan cycling test. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa krim ekstrak kulit buah delima 0,75%, 1% dan 2% memiliki kestabilan setelah pengujian suhu kamar; suhu 40C;  $40 \pm 2$  OC, uji mekanik dan cycling test. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode peredaman

Corresponding author : [joshitadjajadisastra@yahoo.com](mailto:joshitadjajadisastra@yahoo.com)

DPPH berdasarkan nilai penghambatan (IC50) yang didapat. Dengan demikian diperoleh hasil bahwa krim ekstrak kulit buah delima dengan konsentrasi 0,75%, 1% dan 2% memiliki aktivitas antioksidan dan masih memenuhi nilai minimum IC50. Uji statistik Anova menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada krim ekstrak kulit buah delima dengan waktu penyimpanan t0 sampai t8 mengalami penurunan yang tidak bermakna dan penurunan aktivitas antioksidan sebelum dan sesudah penyinaran UV A dengan uji Wilcoxon pada krim ekstrak kulit buah delima juga tidak bermakna

**Kata kunci :** ekstrak kulit buah delima, aktivitas antioksidan, penurunan aktivitas antioksidan, DPPH

## PENDAHULUAN

Sinar matahari sebagai sumber kehidupan bagi manusia dan bumi ternyata tidak selalu memberikan dampak yang menguntungkan bagi manusia karena dapat menimbulkan berbagai kerugian bagi kulit manusia yaitu dari sinar ultraviolet yang terkandung dalam sinar matahari, yakni menyebabkan penuaan kulit, penyakit kanker, serta dapat merusak tekstur kulit (Generation anti-aging cream, 2010)

Antioksidan berfungsi mengatasi atau menetralkan radikal bebas sehingga diharapkan dengan pemberian atau pemakaian produk yang mengandung antioksidan tersebut proses tua dihambat atau paling tidak “tidak dipercepat” serta dapat mencegah terjadinya kerusakan tubuh dari timbulnya penyakit degeneratif (Kosasih, Tony, & Hendro, 2006). Bila ketersediaan antioksidan dalam tubuh tidak memadai, maka daya tahan tubuh akan menurun dan proses penuaan dini akan terjadi. Oleh sebab itu, ketersediaan antioksidan dalam tubuh harus dipertahankan dan ditingkatkan untuk dapat menangkal serangan radikal bebas. Bila serangan radikal bebas dalam tubuh tidak terkendali, maka elastisitas jaringan kolagen dan otot akan hilang. Akibatnya, kulit menjadi keriput dan timbul bintik-bintik pigmen kecokelatan (lipo-

fuchsin) pada kulit (Wirakusumah, 2000).

Di dalam tubuh kita terdapat senyawa yang disebut antioksidan yaitu senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas, seperti: enzim SOD (superoksida dismutase), glutathione, dan katalase. Antioksidan juga dapat diperoleh dari asupan makanan yang banyak mengandung vitamin C, vitamin E dan betakaroten serta senyawa fenolik. Bahan pangan yang dapat menjadi sumber antioksidan alami, yaitu rempah-rempah, coklat, biji-bijian, buah-buahan, sayur-sayuran seperti buah tomat, pepaya, jeruk, delima dan sebagainya (Prakash, 2001). Senyawa fenolik atau polifenolik antara lain dapat berupa golongan flavonoid. Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan telah banyak diteliti belakangan ini, dimana flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas (Giorgi, 2000).

Ekstrak kulit delima salah satu kandidat yang harus diperhitungkan dalam kemampuan antioksidannya. Menurut penelitian ekstrak kulit delima mengandung kaya akan senyawa flavonoid, asam fenolat, dan tanin diantaranya gallotannin, ellagitannin, anthocianin, asam ellagic, kuersetin, asam galat, katekin yang mempunyai khasiat sebagai antioksidan

(Madrigal et al, 2009).

Dalam penelitian ini ekstrak kulit buah delima yang digunakan akan dibentuk dalam sediaan setengah padat. Sediaan setengah padat yang dipilih adalah krim. Krim adalah bentuk sediaan topikal yang digunakan secara luas dalam kosmetika karena mudah menyebar rata dan lebih mudah dibersihkan, khususnya krim emulsi minyak dalam air (Ansel, 1989).

Pengujian yang dilakukan dalam penelitian ini adalah untuk menguji kestabilan fisik produk krim dari ekstrak kulit buah delima dimana berdasarkan parameter yang sudah ditentukan dan pengukuran aktivitas antioksidan pada sediaan krim ekstrak kulit buah delima menggunakan metode peredaman DPPH.

## METODE

### Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis (Jasco V-530, Jepang), pH meter tipe 510 (Eutech Instrument, Singapura),

mikroskop optik (Nikon model Eclipse E 200, Jepang), kamera digital (Canon Power Shot A470, Jepang), homogenizer (Omni-Multimix Inc., Malaysia), penetrometer (Herzoo, Jerman), sentrifugator (Kubota 5100, Jepang), oven (Memmert, Jerman), penangas air (Memmert, Hongkong), timbangan analitik tipe 210-LC (Adam, Amerika Serikat), viskometer Brookfield, Lemari Pendingin dan alat-alat gelas.

### Bahan

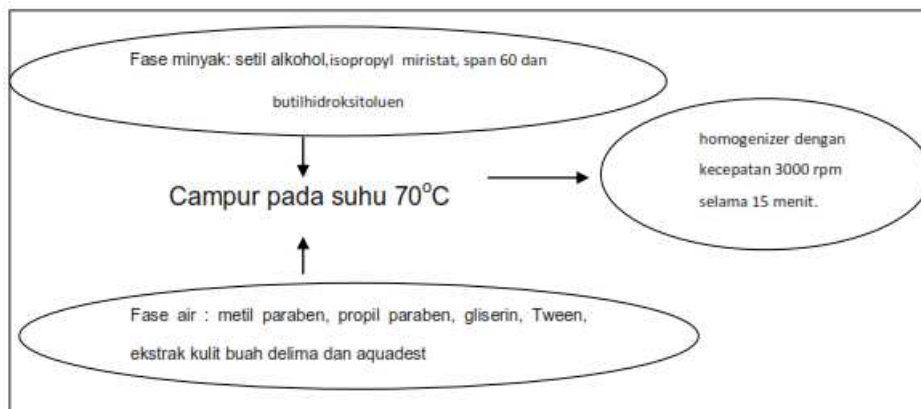
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol (Merck, Indonesia), Ekstrak Kulit dan buah delima (Balitro, Indonesia), vitamin E (tokoferol), isopropyl miristat, setil alkohol, tween 60, span 60, gliserin, BHT (Cognis, Indonesia), propil paraben, metil paraben, aquadest, DPPH.

### Prosedur Kerja

*Formulasi krim ekstrak kulit buah delima*

**Tabel 1.** Formulasi krim ekstrak kulit buah delima

No	Bahan	Konsentrasi				Blanko (+)
		Blanko (-)	%	%	%	
1.	Vitamin E	-	-	-	-	0,500
2.	Ekstra delm	-	0,75	1	2	-
3.	Isopropyl	6,00	5,934	5,919	5,859	5,949
4.	Setil Alkohol	9,00	8,901	8,878	8,788	8,923
5.	Tween 60	4,3627	4,3147	4,3038	4,260	4,324
6.	Span 60	0,637	0,629	0,628	0,622	0,631
7.	Gliserin	10,00	9,89	9,865	9,765	9,915
8.	BHT	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
9.	Metil Paraben	0,25	0,05	0,05	0,05	0,25
10.	Propil Paraben	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
11.	Aquadest	Ad 100	Ad 100	A 100	Ad 100	Ad 100



**Gambar 1.** Skema pembuatan krim ekstrak kulit buah delima

Uji aktivitas antioksidan (Natalia, 2008). Untuk mengetahui efektifitas kerja antioksidan pada krim yang diformulasi oleh karena itu diuji ketahanan krim terhadap beberapa faktor yaitu pengaruh radiasi sinar UV-A. UV-A adalah sinar yang dipancarkan oleh matahari yang dapat meningkatkan kerusakan pada kulit, dimana daya tahan kulit dinyatakan dengan MED (Minimum Erythema Dose). MED Sinar UV-A dapat menyebabkan eritema terhadap kulit adalah 50.000-60.000 mJ/cm<sup>2</sup>.

Untuk uji ini, akan dibuat kondisi pemaparan krim terhadap sinar UV-A pada Med 50.000-60.000 mJ/cm<sup>2</sup>. Tahap yang dilakukan yaitu penyinaran lampu fluoresensi terhadap krim selama 5 hari 15 jam 28 menit pada jarak 10 cm. lampu UV yang digunakan telah melalui tahap kalibrasi. Sampel krim diratakan pada kaca objek setebal 1 mm, lalu dipaparkan pada lampu fluoresensi selama 5 hari 15 jam 28 menit pada jarak 10 cm.

#### *Uji Penurunan Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH*

Uji penurunan aktivitas krim antioksidan ekstrak kulit delima, pengukuran nya dilakukan pada minggu ke 0 (bulan pertama) dan bulan kedua. Total penyimpanan adalah 2 bulan.

Pengujian aktivitas antioksidan pada krim terhadap radikal bebas DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hal yang dilakukan adalah sampel krim sebanyak 1,0 gram dilarutkan dalam etanol pa hingga volumenya menjadi 50,0 ml, dimana konsentrasi yang diperoleh adalah 20.000 ppm. Lalu dipipet 1 ml dilarutkan dengan etanol hingga 100,0 ml didapatkan konsentrasi 200 ppm. Pipet 1, 2, dan 3 ml encerkan kedalam labu ukur ad 10,0 ml sehingga didapatkan konsentrasi terakhir 20 ppm, 40 ppm dan 60 ppm. Larutan sampel dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm dan 60 ppm masing-masing dipipet sebanyak 1,0 ml ditambahkan 1,0 ml DPPH 50 ppm dan 2 ml pelarut etanol kemudian diinkubasi dalam ruang tertutup pada suhu 37°C selama 30 menit. Ukur serapannya dengan spektrofotom-

eter UV-Vis pada absorbansinya pada panjang gelombang optimum hasil pengukuran yaitu 515 nm.

Pembandingan yang digunakan Vitamin E yang merupakan blanko positif dimana dibuat dengan perlakuan yang sama pada sampel. Setelah 30 menit sampel dan blanko diukur secara spektrofotometri dengan mengukur serapan larutan pada panjang gelombang maksimum.

#### *Uji Stabilitas Fisik Krim Antioksidan*

Stabilitas fisik krim dinilai terhadap sediaan krim yang disimpan pada suhu kamar (27o-28o C), suhu rendah (4-8o C) dan suhu tinggi ( $40 \pm 2o$  C dengan RH  $75 \% \pm 5\%$ ) selama 12 minggu dengan pengamatan setiap minggu sekali (Asean Guideline on Stability Study of Drug Product, 2005). Pada tiap minggu dilakukan pengamatan organoleptis meliputi bau, warna dan kejernihan, serta homogenitas, pH, konsistensi, viskositas, rheologi dan diameter globulnya rata-rata (Asean Guideline on Stability Study of Drug Product, 2005).

Selain menguji stabilitas krim pada berbagai suhu, uji stabilitas juga dilakukan dengan metode cycling test yaitu dengan menyimpan krim pada suhu 4o C selama 24 jam lalu dikeluarkan dan ditempatkan pada suhu  $40 \pm 2o$  C selama 24 jam. Percobaan ini diulang sebanyak 6 siklus. Kondisi fisik krim dibandingkan selama percobaan dengan sediaan sebelumnya (Asean Guideline on Stability Study of Drug Product, 2005). Untuk uji mekanik (sentrifugasi), sampel krim disentrifugasi dengan kecepatan putaran 3750 rpm pada radius sentrifuge selama 5 jam karena hasilnya ekuivalen dengan efek

gravitasi selama 1 tahun. Setelah disentrifugasi, diamati apakah terjadi pemisahan fase atau tidak antara fase air dengan fase minyak (Asean Guideline on Stability Study of Drug Product, 2005).

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penelitian ini bertujuan mengetahui dan membandingkan stabilitas fisik dan aktivitas antioksidan pada krim yang mengandung ekstrak kulit buah delima dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Konsentrasi ekstrak kulit buah delima 0,75%, 1% dan 2%. Perbedaan konsentrasi ini dimaksudkan untuk melihat dan membandingkan perbedaan stabilitas fisik dan aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah delima dalam masing-masing krim, dimana akhirnya akan didapatkan formula yang memiliki stabilitas fisik dan aktivitas antioksidan yang bagus.

Pembuatan krim dilakukan dengan kecepatan pengadukan sebesar 3500 rpm dimana pemilihan kecepatan ini didasarkan pada kecepatan pengadukan yang lazim digunakan pada pembuatan krim. Bahan aktif yang digunakan dalam krim antioksidan ini adalah ekstrak kulit buah delima, sedangkan bahan tambahannya terdiri dari isopropil miristat, setil alkohol, tween 60, span 60, gliserin, BHT, metil paraben, propil paraben dan aquadest. Pemilihan bahan-bahan krim, terdiri dari isopropil miristat, setil alkohol, span 60, tween 60, gliserin, BHT, metil paraben dan propil paraben (De Polo, 1998) dimana bahan ini sering digunakan dalam formulasi krim. Pada pembuatan krim ekstrak kulit buah delima dilarutkan pada fase air, bahwa ekstrak kulit buah delima larut dalam air (Ghasemian, 2006).

Fase minyak pada formulasi ini dipilih yaitu isopropil miristat dan setil alkohol karena memiliki karakteristik pembentuk basis dan emulien yang baik. Untuk emulgator digunakan span 60 dan tween 60 yang memiliki nilai HLB 4,7 dan 14,9 juga mempunyai karakteristik non ionik yang baik untuk kulit, dimana persentase yang digunakan dalam krim berdasarkan perhitungan HLB butuh fase minyak. Metil paraben dan propil paraben berfungsi sebagai antimikroba. Gliserin dipilih sebagai humektan dan BHT digunakan sebagai antioksidan untuk menunda atau mencegah oksidasi lemak dalam krim (Ansel, 1989, Wade & Weller, 1994).

Setelah terbentuk krim dilakukan evaluasi terhadap krim dengan parameter-parameternya. Evaluasi fisik yang dilakukan meliputi pengamatan organoleptis, homogenitas, pengukuran pH, pengukuran viskositas konsistensi dan pengukuran diameter globul. Sedangkan uji stabilitas fisik dilakukan pada penyimpanan suhu 40°C, suhu kamar, dan suhu 40± 2°C. tahap selanjutnya dilakukan evaluasi terhadap aktivitas antioksidan terhadap krim minggu ke 0, minggu ke 4, dan minggu ke 8, sebelum dan sesudah pemaparan sinar UV A sehingga hasil akhir yang didapatkan berupa nilai IC50.

Hasil dari evaluasi krim ekstrak kulit buah delima pada awal penyimpanan atau minggu ke-0 diperoleh sifat krim yang lembut, mudah menyebar, membentuk konsistensi setengah padat, dan cukup nyaman ketika dioleskan pada kulit.

Pemeriksaan organoleptis awal menunjukkan perbedaan warna pada ketiga konsentrasi krim, semakin tinggi konsentrasi ekstrak kulit delima nya warna yang dihasilkan pada krim akan lebih pekat. Pada konsentrasi krim 2% memberikan warna kuning kecoklatan, krim 1% kuning dan 0,75 % memberikan warna kuning keputihan atau kuning langsung. Ketiga konsentrasi krim ekstrak kulit buah delima yang dihasilkan tidak mengalami perubahan bau. Perubahan bau atau ketengikan dapat disebabkan oleh oksigen dari udara yang mengoksidasi lemak atau minyak.

Selain itu efek dari cahaya merupakan salah satu katalisator reaksi oksidasi. Pemeriksaan homogenitas pada krim 0,75%, 1% dan 2% menunjukkan ketiga krim ini homogen secara fisik, menunjukkan bahwa bahan-bahan krim yang digunakan dalam formulasi terlarut dan tercampur sempurna.

Nilai pH yang terukur dari ketiga for-

**Tabel 2.** Hasil Pengamatan pada krim ekstrak kulit buah delima

Pengamatan	Krim		
	0,75%	1%	2%
<b>Organoleptis</b>	Kuning Muda tidak berbau homogen	kuning, berbau tidak berbau, homogen	Kuning kecoklatan, tidak berbau homogen
<b>pH</b>	3,60	3,52	3,45
<b>Angka Kedalaman Penetrasi Kerucut (1/10)</b>	270	285	310
<b>Viskositas pada 20 rpm (eps)</b>	15.000	21.000	22.500

mula yaitu krim 0,75% 3,60; krim 1% 3,52; krim 2% 3,45. Ketiga krim menunjukkan pH ke arah asam, hal ini disebabkan oleh kandungan ekstrak kulit buah delima kulit buah delima berupa senyawa fenolik seperti asam elagic, asam gallic, punicalagin, punicalin yang bersifat asam lemah dan pH ekstrak kulit buah delima yaitu 3,1. pH ekstrak asam diperkirakan karena pada saat ekstraksi digunakan pelarut organik adalah etanol. Etanol itu sendiri mempunyai sifat asam. Sifat asam ini bahkan lebih kuat dari ekstrak kulit buah delima daripada pH basis krim sehingga membawa pH krim ke arah asam.

Konsistensi yang dimiliki ketiga krim ekstrak kulit buah delima yaitu krim 0,75% sebesar  $270 \times 10^{-1}$  mm, krim 1% sebesar  $285 \times 10^{-1}$  mm dan krim 2% sebesar  $310 \times 10^{-1}$  mm. Angka penetrasi tersebut memenuhi kriteria sediaan krim sehingga terasa mudah dioleskan dan disebarkan di kulit. Konsistensi yang dihasilkan pada krim ini dipengaruhi oleh bahan penambah konsistensi formula krim seperti setil alkohol yang merupakan alkohol rantai panjang berbentuk padat, semakin banyak setil alkohol yang dipakai maka semakin tinggi konsistensinya.

Hasil pengukuran viskositas pada konsentrasi krim 0,75% 15000 cps, konsentrasi krim 1% 21000 cps dan konsentrasi krim 2% 22500 cps pada kecepatan 20 rpm. pengukuran viskositas krim ekstrak kulit buah delima dapat dilihat pada Tabel 4.8. Sifat laju alir pada krim ekstrak kulit buah delima menunjukkan sifat laju alir yaitu plastis tiksotropik dimana krim memiliki konsistensi lebih rendah pada setiap rate of shear sehingga menandakan adanya pemecahan struk-

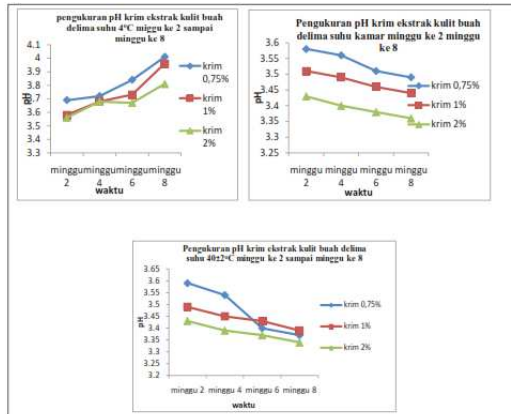
tur yang tidak terbentuk kembali dengan segera jika stress tersebut dihilangkan atau dikurangi.

Pada uji stabilitas krim ekstrak delima dilakukan pengamatan pada organoleptis dan homogenitas; pH; pengukuran globul pada penyimpanan suhu 40C, suhu kamar dan suhu  $40 \pm 2$  C, cycling test dan uji mekanik.

Pengamatan organoleptis krim pada penyimpanan suhu kamar, 40 C dan  $40 \pm 2$  C selama 8 minggu tidak menunjukkan pemisahan fase. Kesimpulan yang diperoleh adalah ketiga krim stabil secara fisik pada penyimpanan suhu kamar, 40 C dan  $40 \pm 2$  C selama 8 minggu.

Pada suhu penyimpanan yang berbeda-beda sediaan ketiga krim ekstrak kulit buah delima tidak menimbulkan bau tengik, dapat disimpulkan bahwa fase minyak yang terdapat didalam krim tidak mengalami oksidasi. Selain itu penyimpan selama 8 minggu pada suhu kamar tidak menunjukkan perubahan warna, berarti krim stabil. Perubahan warna yang signifikan terjadi pada penyimpanan suhu dingin dan panas, dimana terlihat krim warna krim semakin memudar atau lebih terang pada penyimpanan suhu dingin dan warna krim lebih pekat pada penyimpanan suhu tinggi. Hal ini dapat disimpulkan faktor suhu mempengaruhi kestabilan krim, oleh karena pengaruh kecepatan reaksi yang terjadi dan tiap kenaikan suhu 10oC dapat mempercepat reaksi kimia 2 sampai 3 kali (Djajadisastra, 2004).

Hasil pengukuran pH pada penyimpanan suhu 40C ketiga krim cenderung naik, ini disebabkan reaksi oksidasi senyawa fenol yang terdapat dalam krim ekstrak kulit buah delima dan sifat basis



**Gambar 2.** Hasil pengukuran pH tiap sediaan pada penyimpanan 4oC, suhu kamar, dan suhu 40±2 oC

krim yang digunakan bersifat netral. Pada suhu kamar dan 40±2 oC ketiga krim mengalami penurunan relatif sedikit, penurunan ini terjadi karena terbentuk senyawa kuinon oleh reaksi oksidasi pada senyawa fenolat. Cara pengukuran pH, menurut Farmakope Indonesia edisi 1V yaitu krim dicampur dengan air aquadest bebas CO<sub>2</sub>. Pada penelitian ini pengukuran pH, krim yang diukur tidak menggunakan bebas CO<sub>2</sub>.

Pada pengukuran diameter globul menunjukkan bahwa ukuran diameter globul rata-rata krim ekstrak kulit buah delima berubah secara tidak teratur pada penyimpanan suhu 4oC dan 40±oC antara 1,828- 2,520 µm. Menurut literatur ukuran globul yang diperoleh telah memenuhi persyaratan ukuran diameter globul yaitu 0,5-50 µm untuk emulsi keruh yang lebih besar dibandingkan diameter globul mikro emulsi sekitar 0,01-0,08 µm (Riskiana, 2004). Bentuk dan ukuran globul dipengaruhi oleh berbagai faktor yang berlangsung selama proses pembuatan krim, diantaranya jumlah emulgator yang digunakan, pen-

campuran, pengadukan dan karena globul cairan minyak selalu sferis.

Krim adalah suatu sistem yang mempunyai energi bebas permukaan pada partikel terdispersinya. Partikel tersebut berenergi tinggi dan cenderung untuk mengelompokkan kembali sedemikian rupa dalam mengurangi permukaan total dan dalam memperkecil energi bebas permukaannya (Djajadisatra, 2004).

Pada pengamatan sediaan ketiga krim dilakukan pada pembesaran 400 kali, dimana mengalami peningkatan diameter globul rata-rata menunjukkan bahwa krim termasuk emulsi keruh. Peningkatan ukuran globul disebabkan oleh suhu yang menurunkan tegangan permukaan antar muka dalam krim sehingga terjadi peningkatan globul, dimana terjadi tumbukan antar partikel.

Pada pengukuran globul dibuat kurva distribusi ukuran globul, bila jumlah globul yang terletak dalam satu kisaran ukuran tertentu diplot persentase kumulatif terhadap kisaran ukuran atau globul rata-rata, maka diperoleh kurva distribusi



frekuensi. Plot seperti itu dapat memberikan suatu gambaran yang jelas dari distribusi bahwa suatu garis tengah rata-rata tidak dapat dicapai (Martin, 1993).

Pemeriksaan konsistensi pada ketiga konsentrasi krim ekstrak kulit buah delima dilakukan menggunakan penetrometer. Pemeriksaan konsistensi bertujuan untuk memeriksa konsistensi sediaan sehingga dapat diketahui apakah sediaan yang dihasilkan termasuk semipadat yang mudah diaplikasikan kepada kulit atau tidak. Pemeriksaan dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-8 pada suhu kamar. Hasil penetrasi setelah penyimpanan 8 minggu yaitu konsentrasi 0,75%  $265 \times 10^{-1}$  mm; 1%  $270 \times 10^{-1}$  mm dan konsentrasi 2%  $285 \times 10^{-1}$  mm. Dari hasil pemeriksaan konsistensi ketiga krim menunjukkan bahwa masing-masing sediaan mengalami kenaikan angka kedalaman penetrasi kerucut yang menunjukkan adanya penurunan konsistensi pada penyimpanan selama 8 minggu. Hal ini disebabkan oleh penguapan air sebagai fase eksternal selama penyimpanan krim sehingga konsentrasi zat pemberi konsistensi serta zat terdispersi lainnya dalam krim bertambah.

Seluruh krim mengalami penurunan viskositas pada minggu ke-8 dibandingkan dengan nilai viskositasnya pada minggu ke-0. Viskositas dapat dipengaruhi oleh banyak faktor yaitu faktor pencampuran, pengadukan, pemilihan surfaktan, zat pengental dan ukuran partikel dispersi. Hasil pengukuran viskositas krim selama penyimpanan mengalami penurunan, dikarenakan oleh kenaikan diameter globul. Sifat alir masing-masing krim pada minggu ke-0 dan ke-8 dari ketiga konsentrasi krim ekstrak kulit buah de-

lima tidak mengalami perubahan yaitu tetap bersifat plastis tiksotropik. Reogram krim ekstrak kulit buah delima ini memperlihatkan adanya penurunan disebelah kiri dari kurva naik. Sifat aliran seperti ini merupakan sifat yang diharapkan dalam suatu sediaan krim karena diharapkan kemampuan penyebaran yang baik terhadap kulit (Natalia, 2008).

Cycling test merupakan salah satu tahap pengujian terhadap kestabilan krim. Pengujian cycling test dilakukan untuk menguji kestabilan emulsi dalam sediaan krim. Uji ini untuk melihat apakah terjadi kristalisasi pada krim. Pada uji ini dilakukan pada penyimpanan suhu dingin ( $4^{\circ}\text{C}$ ) dan suhu tinggi ( $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) dalam 6 siklus, tiap siklus batasan waktunya selama 24 jam suhu dingin setelah itu. Pada uji ini tidak terlihat adanya pemisahan fase pada sediaan.

Uji stabilitas krim lainnya yaitu uji mekanik atau sentrifuse. Uji mekanik dimaksudkan untuk melihat kestabilan krim setelah pengocokan dengan kecepatan yang tinggi. Ketiga sediaan krim disentrifugasi dengan kecepatan 3750 rpm selama 5 jam yang ekuivalen dengan efek gravitasi selama 1 tahun. Dari uji ini, tidak terjadi pemisahan fase sediaan.

Pengujian aktivitas antioksidan salah satunya metode DPPH, metode ini merupakan metode yang sering digunakan. Prinsip kerja metode ini berdasarkan adanya senyawa antioksidan akan mendonorkan hidrogen pada DPPH, yaitu bereaksi dengan antioksidan maka absorpsi DPPH akan berkurang yang ditandai adanya perubahan warna, dimana DPPH yang berwarna ungu berubah menjadi warna kuning pucat. Pengukuran sampel diukur pada panjang gelombang 515 nm.

Panjang gelombang untuk pengukuran antioksidan metode DPPH adalah diukur pada panjang 515 nm setelah dilakukan optimasi dengan konsentrasi larutan DPPH nya adalah 50 ppm. Penentuan aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dinyatakan dengan nilai peredaman DPPH (IC50).

Penurunan besar serapan masing-masing konsentrasi larutan uji terhadap blanko DPPH dihitung sebagai presentase inhibisi. Setelah didapatkan presentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, persamaan  $y = A + Bx$  ditentukan dengan penghitungan secara regresi linier dimana  $x$  adalah konsentrasi ( $\mu\text{g/ml}$ ) dan  $y$  adalah presentase inhibisi (%). Nilai IC50 didapatkan dari nilai  $x$  setelah mengganti  $y$  dengan 50.

Konsentrasi sampel yang digunakan sebesar 20, 40 dan 60 ppm dengan pengukuran 3 kali. Hasil pengukuran dan persamaan regresi linier yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel. Semakin rendah nilai IC50 maka semakin kuat aktivitas antioksidan dari sampel. Pada pengukuran aktivitas antioksidan krim ekstrak kulit buah delima minggu ke 0 didapatkan IC50 rata-rata krim konsentrasi 0,75% sebesar 27,57 ppm, krim konsentrasi 1%

sebesar 22,44 ppm dan krim konsentrasi 2% sebesar 19,30 ppm.

Dalam formula krim terdapat senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan yaitu BHT, namun dalam pengukuran ini BHT dijadikan sebagai blanko negatif, sehingga kita dapat melihat perbandingan aktivitas antioksidan dalam sediaan krim dengan sediaan yang mengandung BHT saja. Dalam hasil pengukuran IC50 yang terdapat pada blanko (-) adalah 47,28 ppm. Selain blanko negatif juga digunakan blanko positif yaitu vitamin E. sebagaimana kita ketahui vitamin E memiliki aktivitas antioksidan juga sehingga banyak digunakan dalam formulasi krim pada umumnya. Pengukuran tidak hanya dilakukan pada minggu awal saja, tapi dilakukan pada minggu ke 4 dan minggu ke 8 untuk melihat penurunan aktivitas antioksidan pada sediaan krim

Untuk mengetahui apakah penurunan aktivitas antioksidan yang terjadi selama penyimpanan waktu minggu awal samapi minggu ke delapan bermakna atau tidak maka dilakukan uji statistika parametrik, yaitu Anova. Pemilihan uji ini berdasarkan varian yang diuji homogen, sampel idenpenden, data terdistribusi normal dan jenis data yang dihubungkan nu-

**Tabel 2.** Pengukuran aktivitas antioksidan krim ekstrak kulit buah delima 0,75%, 1%, 2% pada minggu Ke-0, ke-4 dan ke-8 dengan metode DPPH (kuantitatif) secara spektrofotometer UV-Vis

Krim	IC50 (ppm)		
	Minggu ke-0	Minggu ke-4	Minggu ke-8
Ekstrak kulit buah delima 0,75%	27,57	30,31	43,14
Ekstrak kulit buah delima 1%	22,54	27,15	30,36
Ekstrak kulit buah delima 2%	19,30	22,60	26,18
Blanko negatif (BHT)	47,28	-	-
Blanko positif (Vitamin E)	59,55	-	-

**Tabel 3.** Pengukuran aktivitas antioksidan krim ekstrak kulit buah delima 0,75%, 1%, 2% pada minggu Penyinaran UV A dengan metode DPPH (kuantitatif) secara spektrofotometer UV-Vis

Krim	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstra kulit buah delima 0,75%	43,14
Ekstra kulit buah delima 1%	30,36
Ekstra kulit buah delima 2%	26,18

merik dan kategori ( Hastono,2007).

Hasil pengukuran dengan uji Anova yaitu data terdistribusi normal, homogen dan  $H \neq 0$  (ditolak), dimana tidak ada perbedaan bermakna pada penurunan aktivitas antioksidan IC<sub>50</sub> selama penyimpanan krim ekstrak kulit buah delima dari minggu ke 0 sampai minggu ke 8.

Salah satu dampak yang merugikan bagi kulit manusia adalah munculnya penuaan dini yang diakibatkan terkena sinar ultraviolet yang terus menerus. Efek merugikan bagi kulit dari UV B dan UV A. Sembilan puluh persen (90%) faktor pemicu penuaan sel kulit berasal dari paparan sinar ultraviolet. UV A panjang gelombang nya 315 - 400 nm dan merupakan pemacu utama kerusakan kulit karena UV A dapat masuk ke bagian kulit dermis. Radiasinya lebih kuat dibandingkan UV B (Generation anti-aging cream, 2010)

Untuk mengetahui penurunan aktivitasnya bermakna atau tidak bermakna dilakukan uji statistika non parametric yaitu, Wilcoxon. Pemilihan uji ini berdasarkan pengujian sampel yang berpasangan yang berdasarkan populasi yang sama atau berdasarkan sampel yang sama (Santoso,2010).

Disini dilakukan pengujian penurunan aktivitas antioksidan sebelum dan sesudah pemaparan dengan sinar UV

A dengan hasil hipotesis  $H \neq 0$  (ditolak) penurunan aktivitas antioksidan sebelum dan sesudah tidak ada bedanya. Sehingga tidak terjadi penurunan yang bermakna setelah pemaparan lampu UV A.

### KESIMPULAN

Sediaan krim yang dibuat dalam tiga konsentrasi yang mengandung ekstrak kulit buah delima 0,75% , 1% dan 2% memiliki kestabilan secara fisik berdasarkan uji kestabilan fisik. Pengukuran aktivitas antioksidan krim ekstrak kulit buah delima menunjukkan aktivitas antioksidan yang baik dan masih memenuhi kadar minimum IC<sub>50</sub>. Pengukuran penurunan aktifitas antioksidan pada penyimpanan suhu kamar minggu ke 0 sampai minggu ke 8 menunjukkan penurunan aktivitas yang tidak bermakna setelah dilakukan uji statistik parametrik Anova. Pengukuran penurunan aktivitas antioksidan pada sebelum dan sesudah penyinaran menunjukkan perbedaan penurunan aktivitas antioksidan yang tidak bermakna setelah dilakukan uji Wilcoxon.

### DAFTAR ACUAN

Ansel, H.C. (1989). Pengantar bentuk Sediaan Farmasi, edisi keempat. Terj. Dari *Introduction to Pharmaceutical*

- Dosage Form*, oleh Farida Ibrahim. Jakarta: UI Press
- Connor, Steven. (2003). *The book of skin*, New York : Cornell University Press, 176
- Cartesen, JT. (1990). *Drug Stability Principles and Practises*, Vol .43. New York : Marcell Dekker, Inc. hal: 282
- Harmita, (2006). Buku Ajar Analisis Fisikokimia. Depok : Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia. hal: 15-22
- Javanmardi, J., C. Stushnoff, E. Locke, & J.M. Vivanco. (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chem*, 83, 547-550
- Jurenka J, MT. (2008). Therapeutic Applications of Pomegranate (*Punica granatum L.*): A Review. *Alternative Medicine Review* Volume 13, 2 juni:128-144
- Mun'im, A., Azizahwat i, & Trastiana. (2008). Aktivitas antioksidan cendawan suku Pleurotaceae dan Polyporaceae dari hutan UI. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5 (1), 36-41.
- Natalia, Sherly. (2008). Stabilitas Fisik dan Aktivitas Antioksidan Sediaan Krim Anti - Aging yang Mengandung Ekstrak Coklat (*Theobroma cacao Linn*). Program Sarjana Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan alam , Universitas Indonesia, Depok: Departemen Farmasi
- Shivaprasad, H. N., S. Mohan, M. D. Kharya, M. R. Shiradkar, & K. Lakshman. (2005). *In-vitro models for antioxidant activity evaluation: A review*.