

BAB VI

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini dilakukan beberapa tahapan mulai dari persiapan bahan dan pembuatan bahan utama yaitu kefir susu sapi dan rumput laut yang selanjutnya dibuat sediaan Masker wajah.

6.1 Determinasi Tanaman Rumput Laut (*Euceuma cottonii*)

Berdasarkan hasil Determinasi yang dilakukan di UNPAD (Universitas Padjajaran) di lab fakultas MIPA menunjukkan bahwa tanaman yang dipakai pada penelitian adalah rumput laut dari spesies *Euceuma cottonii*. Hasil Determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

6.2 Preparasi Rumput Laut

Pencucian dan perendaman rumput laut dilakukan agar terbebas dari benda asing seperti pasir, kerikil dan kotoran lain maka pencucian dilakukan sampai benar-benar bersih di air mengalir. Rumput Laut mengandung mineral yang sangat kaya dan dibutuhkan oleh kulit seperti Vitamin B kompleks, vitamin C, Magnesium, dan berbagai mineral lainnya yang membantu metabolisme sel kulit (Wibowo, Fitriyani., 2012).

6.3 Pembuatan kefir susu Sapi

Pada proses pembuatan kefir, susu sapi sebanyak 1L ditambahkan ke dalam wadah steril yang berisi grain kefir sebanyak 50 gram dilakukan pengadukan secara perlahan lalu ditutup rapat agar mikroorganisme lain tidak dapat tumbuh. Setelah didiamkan pada

suhu ruang selama 24 jam, kefir terbentuk dengan baik dimana lapisan kefir dengan whey terpisah. Kefir merupakan lapisan yang kental seperti krim dan terletak di bagian atas sedangkan whey berupa cairan yang encer yang terletak di lapisan bawah. Dalam proses pembuatannya, alat harus dalam keadaan steril dengan terlebih dahulu di rendam dengan air panas. Adapun tampilan dari grain kefir dapat dilihat pada gambar VI.1 di bawah ini :



Gambar VI.1 : Grain kefir

Pemisahan kefir dari *whey* dilakukan dengan disaring menggunakan kain steril agar keduanya tidak bercampur. Gambar kefir dan *whey* setelah dilakukan pemisahan dapat dilihat pada gambar VI.2.



Gambar VI.2 : Kefir dan *Whey*

Kefir merupakan bahan utama sama halnya dengan rumput laut. Kefir yang diperoleh memiliki kekentalan seperti krim serta mempunyai rasa asam dan beralkohol. Manfaat kefir sebagai kecantikan sudah banyak dilakukan karena kefir memiliki kemampuan untuk menghaluskan dan mencerahkan kulit, maka dengan bahan utama kefir dan penambahan rumput laut diharapkan menghasilkan aktivitas yang baik terhadap kulit.

Dari 1L susu sapi didapatkan kefir sebanyak 265,22 gram dengan rendemen 26,522%, kefir akan digunakan pada tahap selanjutnya yaitu pembuatan Formulasi kefir dengan Rumput laut dan bahan-bahan lain.

6.4 Ekstraksi rumput laut

Ekstraksi rumput laut didapatkan ekstrak kasar, sebanyak 41,55 gram dengan rendemen 13,85%. Ekstrak yang didapat digunakan dalam uji penghambatan torosinase. Ekstrak dapat dilihat pada gambar VI.3.



Gambar VI.3 : Ekstrak rumput laut

6.5 Pembuatan masker

Variasi Formulasi yang di buat untuk sediaan masker pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel VI.1.

Tabel VI.1 : Variasi formulasi yang di buat sediaan

Bahan	Formula %b/v				
	F1	F2	F3	F4	F5
Kefir	44,25	33,18	22,12	11,06	0
Rumput Laut	0	11,06	22,12	33,18	44,25
Dm Dm Hydantoin	1	1	1	1	1
Cetil alkohol	1	1	1	1	1
PVA	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
Tween80	2	2	2	2	2
TEA	2tetes	2tetes	2tetes	2tetes	2tetes
Aquabides	44,25	44,25	44,25	44,25	44,25

Bahan utama yang dibuat untuk menghasilkan sediaan masker pencerah wajah yaitu kefir susu sapi dan rumput laut dimana kedua bahan ini dimasukan setelah basis krim terbentuk dan suhu pada basis telah menurun dengan tujuan agar senyawa aktif tidak hilang atau rusak. Terdapat pula bahan tambahan pembentuk sediaan masker krim yaitu Cetil alkohol yang memiliki karakteristik pembentuk basis dan emolien yang baik dalam pembuatan masker krim. Dm dm hydantoin berfungsi sebagai antimikroba yang mencegah sediaan dari kontaminasi mikroorganisme. Polivinil alkohol (PVA) merupakan pembentuk *film* yang baik larut dalam

air, menjadikan masker cepat mengering dan mudah dilepaskan dari kulit. Kefir terdapat partikel halus yang sukar bercampur sehingga perlu diupayakan untuk menaikkan kelarutannya dengan penambahan Tween 80 yang merupakan surfaktan nonionik (Lachman *et al.*, 1994). Tween 80 dapat menurunkan tegangan permukaan antara obat dan medium sehingga molekul obat akan larut ke dalam medium (Martin *et al.*, 1993). TEA dapat menyeimbangkan kadar asam maka ditambahkan pada sediaan karena sediaan bersifat asam, dengan ditambahkan nya TEA diharapkan pH sediaan masuk kedalam rentang pH kulit. Aquabides merupakan air yang melalui penyulingan dua kali, atau air yang melalui proses penyulingan bertingkat, yang digunakan sebagai pelarut.

Formula masker yang didapat merupakan sediaan semi solid yang memiliki warna putih kecuali pada F5 sediaan masker berwarna putih kegelapan. Masker wajah ini jika dioleskan pada kulit tidak dapat mengering dengan cepat karena terdapat kandungan air merupakan bahan yang tidak mudah menguap dan terdapat campuran minyak dalam formulasinya. Ketika diaplikasikan pada kulit sediaan yang paling cepat mengering yaitu F5. Keuntungan sediaan kosmetik yang mengandung minyak adalah lebih efektif dalam membersihkan kotoran yang larut dalam minyak dan tidak larut dalam air, serta resiko kulit menjadi kering dan pecah-pecah dapat dikurangi. Masker wajah yang memiliki tekstur tidak dapat mengering atau mengeras ketika dioleskan pada wajah sangat cocok digunakan untuk jenis kulit kering. Masker jenis ini bekerja

sangat efisien dan dapat meningkatkan level kelembaban kulit dengan cepat. Sediaan masker dapat dilihat pada gambar VI.4.



Gambar VI.4 : Sediaan Masker

Selanjutnya dilakukan evaluasi dengan parameter pengujian meliputi pengukuran pH, Homogenitas, viskositas, Tipe krim, Uji iritasi, dan pengujian Tirosinase. Evaluasi sediaan dilakukan untuk mengetahui kualitas dan stabilitas dari masker untuk digunakan pada Kulit.

6.6 Uji Evaluasi Masker

6.6.1 Uji Homogenitas

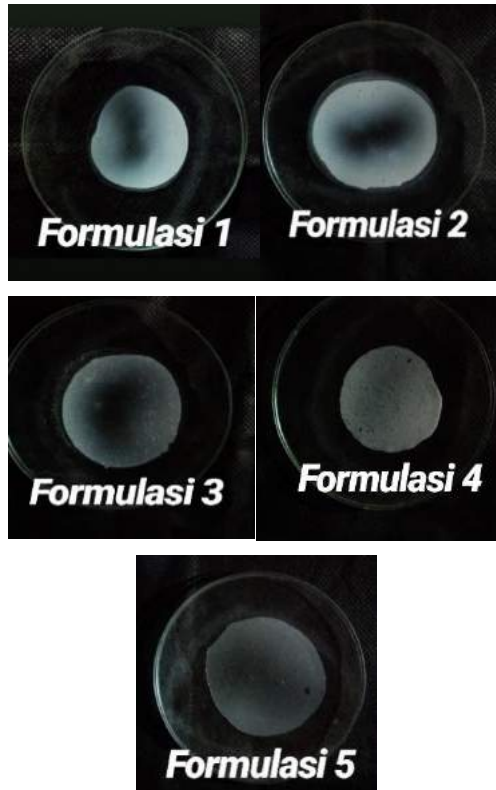
Uji dilakukan pada semua formula yaitu F1, F2, F3, F4 dan F5 adapun hasil dari pengujian terdapat pada tabel VI.2.

Tabel VI.2 : Pengujian homogenitas

Formulasi	Homogen	Tidak
F1	✓	
F2	✓	
F3	✓	

F4	✓	
F5	✓	

Hasil Pengujian pada uji homogenitas dapat dilihat data gambar VI.5.



Gambar VI.5 : Pengujian Homogenitas

Homogenitas merupakan karakteristik yang sangat penting untuk sediaan farmasi yang menunjukkan bahwa semua bahan yang dicampurkan dapat tercampur dengan baik. Homogenitas dari sediaan masker krim yang telah di uji

menggunakan kaca objek menunjukkan bahwa pada F1,F2,F3 dan F4, F5 homogen karena masker butiran kecil yang tersebar merata, dengan tekstur yang halus. Sementara pada F5 dengan 100% rumput laut didapatkan sediaan bening, tanpa partikel halus yang tersebar rata.

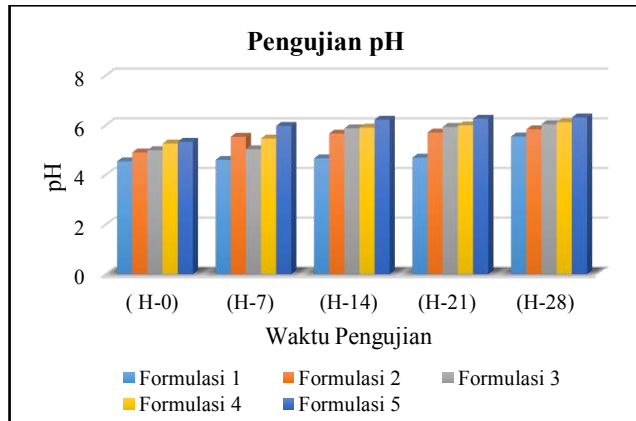
6.6.2 Uji pH

Pengujian pH sediaan didapatkan data yang terdapat pada tabel VI.3.

Tabel VI.3 : Pengujian pH

Formulasi	Waktu Pengujian				
	Hari ke- 0	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21	Hari ke-28
F1	4,54	4,60	4,66	4,69	5,54
F2	4,90	5,53	5,66	5,70	5,83
F3	4,99	5,03	5,87	5,93	6,04
F4	5,26	5,46	5,90	5,99	6,12
F5	5,33	5,97	6,22	6,26	6,31

Dari tabel VI.3 diatas dapat digambarkan secara representatif pada gambar VI.6 di bawah ini.



Gambar VI.6 : Pengujuan pH

Kestabilan pH merupakan parameter yang menentukan kestabilan sediaan, pengujian pH menggunakan pH meter yang dikalibrasi terlebih dahulu dengan buffer pH 4 kemudian buffer pH 7, Pengujian dilakukan pada hari ke 0, 7, 14, 21 dan 28 data menunjukkan pH yang stabil dan masih masuk kedalam kisaran pH yang ideal menurut SNI 16-4399-1996 rentang pH krim masker untuk kulit yaitu 4,5 – 8,0. Jika pH tidak sesuai dengan pH kulit maka akan menyebabkan iritasi pada kulit yang berupa ruam atau gatal. Hasil pengukuran pH setiap rentang waktu 7 hari selalu mengalami kenaikan yang disebabkan reaksi Oksidasi senyawa fenolik berupa florotanin yang berfungsi sebagai pertahanan dari radiasi sinar ultra violet (UV). Rumput laut juga diketahui mengandung senyawa flavonoid, Flavonoid merupakan golongan terbesar senyawa fenolik yang memiliki gugus kromofor (Maharany et al. 2017). Namun pH F1, F2, F3, F4,

F5 masih termasuk ke dalam rentang, maka dapat disimpulkan bahwa formulasi tersebut aman digunakan pada kulit dan tidak akan timbul iritasi.

F1 memiliki nilai pH yang lebih rendah dari pada formulasi lain karena F1 lebih banyak terdapat kefir susu sapi, kefir sendiri merupakan produk fermentasi yang menghasilkan asam laktat dari laktosa oleh mikroba seperti *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus* (Safitri dan Swarastuti., 2013)

6.6.3 Uji Viskositas

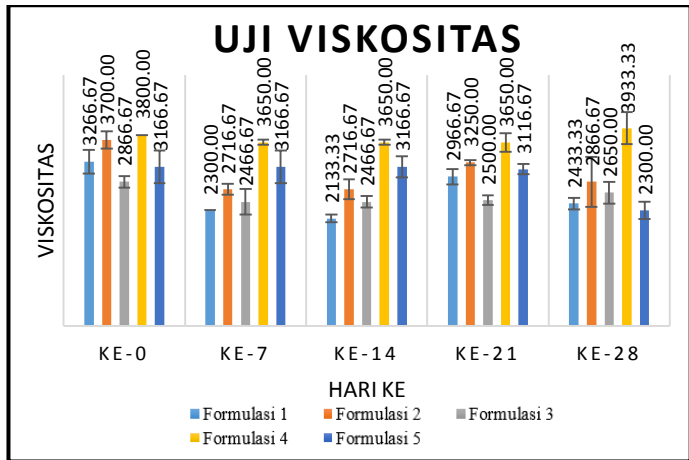
Didapatkan hasil dari Uji Viskositas yang terdapat pada tabel

Tabel VI.4 : Pengujian Viskositas

Formulasi	Waktu pengujian				
	Hari ke-0	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21	Hari ke-28
F1	3266	2300	2133	2966	2433
F2	3700	2716	2716	3250	2466
F3	2866	2650	2466	2466	2150
F4	3800	3650	3650	3650	3933
F5	3166	3166	3166	3166	2300

Ket : Nilai Viskositas di atas merupakan Viskositas rata-rata dari tiga kali pengulangan.

Dari tabel VI.4 diatas dapat digambarkan secara representatif pada gambar VI.7 di bawah ini.



Gambar VI.7 : Pengujian Viskositas

Viskositas merupakan karakteristik yang penting karena mempengaruhi pelepasan zat aktif dari sediaan, viskositas memiliki hubungan dengan kestabilan masker krim yang dibuat. Viskositas suatu sediaan dapat dipengaruhi oleh faktor pengadukan, percampuran saat pembuatan dan pemilihan emulgator (Matrin, *et al.*, 1993).

Uji Viskositas dilakukan dengan menggunakan alat Viskositas Brookfield dan alat spindel no 7 dengan kecepatan 20rpm, dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan agar nilai viskositas yang didapatkan lebih tepat. Pengujian dilakukan sebanyak 5 kali pada hari ke 0, 7, 14, 21 dan 28 didapatkan nilai yang tertera pada tabel 6. Dimana nilai standar viskositas krim masker ini memiliki rentang antara 2000-50.000Cps (Mektildis.,2016). Krim masker Formulasi 3 memiliki nilai viskositas yang paling kecil dibandingkan

dengan formula lain yang merupakan formula paling stabil secara fisik. Dalam pengujian nilai viskositas mengalami perubahan selama penyimpanan, semakin kecil perubahan viskositas maka masker krim semakin stabil.

Masker krim menunjukkan kenaikan viskositas merupakan efek normal penyimpanan sediaan pada suhu lebih tinggi. Perbedaan temperatur saat penyimpanan juga dapat mengakibatkan perubahan viskositas yang semakin meningkat. Viskositas masker krim sebaiknya tidak terlalu kental atau encer, apabila viskositasnya terlalu kental maka sulit diaplikasikan pada kulit secara merata, dan apabila terlalu encer pada saat diaplikasikan pada kulit kontak masker dengan kulit tidak lama dan efeknya akan berkurang.

6.6.4 Uji Iritasi

Uji iritasi dilakukan secara klinik yaitu pada punggung tangan manusia, didapatkan hasil yang tertera pada Tabel VI.5.

Responden	Formulasi				
	F1	F2	F3	F4	F5
1	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-

7	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-

Tabel VI.5 : Pengujian Iritasi

Ket : - Tidak Iritasi, + Iritasi

Pengujian iritasi dilakukan pada sepuluh responden uji yang terdiri dari wanita berusia 20-50 tahun dipilih yang telah memenuhi kriteria inklusi dan tidak memenuhi kriteria eksklusi. Sukarelawan uji berusia 20-50 tahun karena kelompok usia ini merupakan usia kerja dan usia pelajar/mahasiswa, yang banyak menggunakan kosmetik (Trihapsoro, 2003). Bahan uji terdiri dari 5 Formula masker dengan variasi kefir susu sapi dan rumput laut. Penempelan bahan uji dilakukan pada punggung lengan karena tipisnya lapisan tanduk pada lengan sehingga penyerapan bahan cukup besar, bahan yang menempel tidak banyak mengalami gerakan, lepas atau kendur. Pengamatan efek iritasi dilakukan pada hari ke 0, 7, 14, 21 dan 28. Reaksi iritasi kulit positif ditandai dengan adanya reaksi kemerahan (eritema) dan edema pada daerah kulit yang diberi perlakuan (Irsan dkk., 2013).

Hasil pengujian menunjukkan tidak adanya iritasi pada semua formulasi baik F1,F2,F3,F4 dan F5. Dari 10 responden tidak menunjukkan adanya reaksi kemerahan atau gatal pada punggung lengan setelah masker kering punggung lengan responden terlihat normal sediaan telah aman dari efek iritasi saat

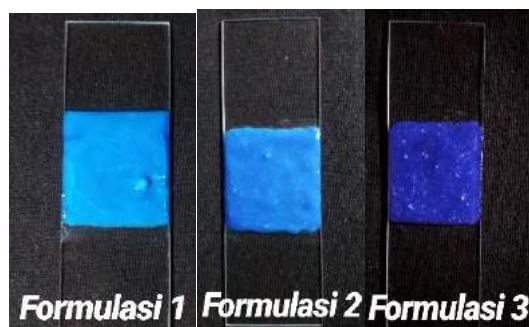
penggunaan. Efek iritasi berhubungan erat dengan pH sediaan, apabila pH dari sediaan sama dengan pH kulit maka tidak akan terjadi iritasi saat pemakaian masker krim.

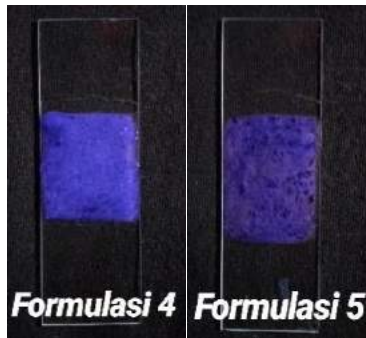
6.6.5 Uji Tipe Krim

Uji dilakukan agar dapat diketahui sediaan masker krim termasuk tipe air dalam minyak atau minyak dalam air hasil pengujian terdapat di tabel VI.6.

Formulasi	M/A	A/M
F1	✓	
F2	✓	
F3	✓	
F4	✓	
F5	✓	

Tabel VI.6 : Pengujian tipe Krim





Gambar VI.8 : Uji tipe krim

Krim merupakan suatu emulsi yang memiliki dua tipe yaitu air dalam minyak dan minyak dalam air. Penentuan tipe krim dilakukan karena pada umumnya untuk tujuan kosmetik lebih cocok krim bertipe minyak dalam air salah satunya karena mudah tercuci air sehingga mudah digunakan. Pengujian tipe krim ini dilakukan di atas kaca objek dengan penambahan metilen blue kemudian memperhatikan perubahannya. Pada F1, F2, F3, F4 dan F5 setelah sejumlah sediaan di tambahkan metilen blue terlihat warna biru merata pada sediaan maka sediaan termasuk kedalam tipe emulsi minyak dalam air dengan fase luar air yang memiliki banyak keuntungan dimana krim mudah dicuci, tidak lengket dan mudah mengering dibandingkan dengan sediaan dengan jenis emulsi air dalam minyak.

6.6.6 Uji Penghambatan Enzim Tirosinase

Unit aktivitas tirosinase yang digunakan sebesar 150 unit/ml, dalam pengujian digunakan asam kojat sebagai kontrol positif

dengan konsentrasi 0,5%; 1,0%; 1,5% dan 2,0% sesuai dengan konsentrasi dari pengujian sampel. Asam kojat digunakan sebagai pembanding dalam sediaan kosmetik pencerah wajah yang memiliki mekanisme kerja sebagai penghambat tirosinase. Penggunaan kontrol positif ini bertujuan untuk membandingkan besarnya aktivitas penghambatan tirosinase dengan sampel krim pencerah wajah.

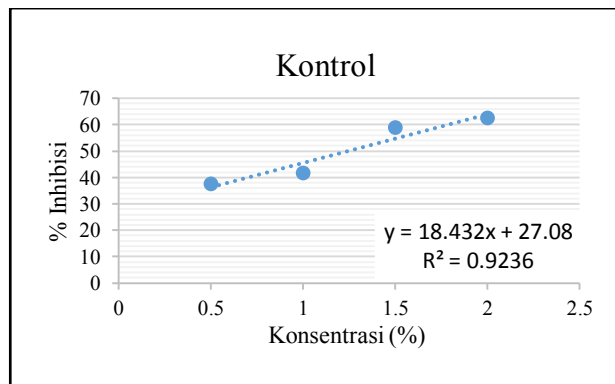
Pengujian penghambatan enzim tirosinase menggunakan sampel F3 karena dari semua uji merupakan sediaan yang paling baik, uji pH telah memasuki persyaratan pH kulit. Uji viskositas memiliki nilai viskositas paling kecil dibanding dengan sediaan lainnya berarti sediaan F3 merupakan sediaan yang paling stabil secara fisik. Pada uji iritasi tidak mengakibatkan iritasi yang ditandai adanya ruam atau kemerahan. Uji tipe krim pada F3 termasuk ke dalam tipe krim minyak dalam air dimana tipe ini sangat cocok bagi sediaan kosmetik karena mudah dibersihkan.

Untuk mengetahui penghambatan aktivitas tirosinase sebagai pencerah wajah dilakukan tidak menggunakan manusia sebagai subjek. Pengujian menggunakan alat ELISA *reader* dan didapatkan nilai absobansi. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 450nm. Prinsip kerjanya berdasarkan pada adanya produk dopakrom yang merupakan hasil oksidasi L-DOPA oleh enzim tirosinase. Senyawa pencerah wajah pada sampel berkompetisi dengan L-DOPA untuk berikatan dengan enzim Tirosinase.

Dari pengujian menggunakan alat ELISA *reader* didapatkan nilai absorbansi yang akan digunakan dalam penentuan nilai persentase inhibisi. Konsentrasi dari masing-masing sampel dan kontrol dapat menghambat setengah dari aktivitas tirosinase (IC50) ditentukan dengan cara membandingkan absorbansi dengan sampel dan tanpa penambahan sampel. Hasil regresi didapatkan dengan memplotkan konsentrasi dengan persen inhibisi. Persamaan regresi linear dari kontrol didapatkan :

$$Y = ax + b \longrightarrow Y = 18,432x + 27,08$$

Dari data %Inhibisi dan konsentrasi kontrol dilakukan dibuat grafik yang dapat dilihat di gambar VI.9.



Gambar VI.9: Persen Inhibisi kontrol

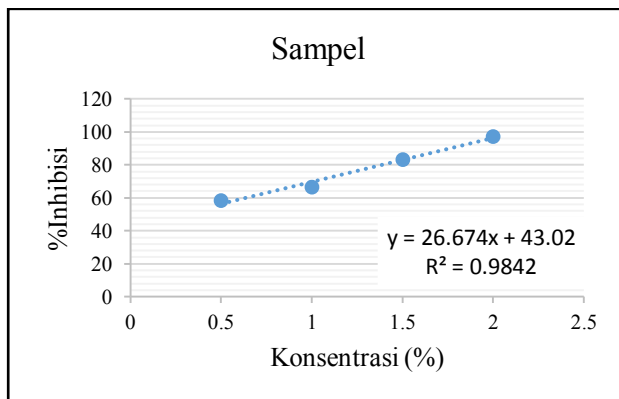
Nilai inhibisi dari kontrol dengan perbedaan konsentrasi mengalami kenaikan yang signifikan. Sesuai dengan konsentrasi kontrol yang semakin besar, maka semakin besar pula persen penghambat tirosinase, terdapat pada gambar 8 dimana konsentrasi 0,5% memiliki %inhibisi paling kecil yaitu 37,50%, pada konsentrasi 1,0% mengalami peningkatan menjadi 41,66%,

1,5% dengan %inhibisi 58,83% dan 2,0% dengan %inhibisi 62,50%. Dari persamaan linear dapat ditentukan nilai IC50. Nilai IC50 dari kontrol yaitu 1,24%.

Selanjutnya dilakukan pengujian terhadap sampel, Formulasi yang di gunakan dalam pengujian yaitu F3 yang telah dipilih diantara semua Formulasi. F3 dengan perbandingan kefir susu sapi : rumput laut (1:1), dibuat terlebih dahulu stok dengan kefir susu sapi 2gram : rumput laut 2gram. Dibuat konsentrasi yang sama seperti kontrol. Berikut persamaan regresi linear dari sampel :

$$Y = ax + b \longrightarrow Y = 26,674x + 43,02.$$

Dari data %Inhibisi dan konsentrasi sampel dilakukan dibuat grafik yang dapat dilihat di gambar VI.10.



Gambar VI.10 : Persen Inhibisi sampel

Nilai Inhibisi sampel dari berbagai konsentrasi mengalami peningkatan konsentrasi 0,5% dengan %Inhibisi 58,33%, konsentrasi 1,0% dengan %Inhibisi 66,60%, konsentrasi 1,5%

dengan %Inhibisi 83,30% dan konsentrasi 2,0% dengan %inhibisi 97,22%. Dari persamaan linear dapat ditentukan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ dari sampel yaitu 0,26%.

Besarnya nilai persen penghambat tirosinase sampel lebih kecil dibandingkan dengan kontrol yang mengandung asam kojat sehingga dapat disimpulkan bahwa sampel yang mengandung kefir susu sapi dan rumput laut memiliki aktivitas penghambatan tirosinase yang lebih besar dibandingkan dengan kontrol asam kojat pada konsentrasi yang sama.

Sampel F3 dapat menghambat aktivitas tirosinase dan juga menghambat kerja enzim (Rahayu 2012). Maka sampel memiliki aktivitas sebagai inhibitor tirosinase yang baik. Dibandingkan dengan kontrol positif asam kojat.