

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Buah manggis segar yang diperoleh dari perkebunan di Purwakarta, setelah di determinasi di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung, hasilnya menunjukkan benar merupakan buah manggis dengan nama spesies *Garcinia mangostana* L, yang termasuk ke dalam keluarga Clusiaceae (Guttiferae) (Lampiran 2).

Buah manggis segar yang telah dikumpulkan kemudian disortasi kering dan dibersihkan. Pembersihan dan pencucian buah manggis ini dimaksudkan untuk menghilangkan pengotor yang dapat menimbulkan kontaminasi dan mengganggu proses penetapan parameter-parameter simplisia dan ekstrak. Kemudian dilakukan pemisahan kulit buah manggis dari isinya. Kulit buah manggis yang telah terpisah di rajang dengan tujuan untuk mempercepat proses pengeringan.

Pengeringan dilakukan pada suhu 50°C menggunakan lemari pengering. Digunakan suhu 50°C karena pada suhu tersebut diharapkan senyawa antioksidan yang akan diambil tidak rusak. Pengeringan bertujuan agar kadar air dalam kulit buah manggis berkurang sehingga pada saat telah kering dan menjadi simplisia tidak mudah terkena jamur dan dapat bertahan lama. Hasil dari pengeringan diperoleh simplisia kering yang kemudian digiling hingga mendapatkan serbuk simplisia. Proses penggilingan dilakukan agar memperkecil ukuran partikel dan memperbesar luas permukaan sehingga pada saat dilakukan proses ekstraksi, luas

permukaan yang besar akan membuat pelarut masuk ke dalam simplisia dan dapat menarik semua zat aktif yang ada didalamnya secara maksimal. Serbuk simplisia yang didapat selanjutnya di karakterisasi dengan penetapan kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, dan kadar abu larut air.

Tabel V. 1 Hasil penetapan karakteristik simplisia

Karakteristik simplisia	Hasil penelitian (%)	Pustaka/ literatur (%)
Kadar Air	3,99	< 10
Kadar Abu Total	2,75	< 2,90
Kadar Abu Tidak Larut asam	0,15	< 0,04
Kadar Abu Larut air	2,60	

Parameter kadar air dilakukan untuk memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air dalam bahan (Depkes, 2000). Penetapan batas minimal kandungan air bertujuan untuk menjaga kualitas simplisia dari pertumbuhan mikroba atau jamur selama proses penyimpanan. Berdasarkan (Tabel V.I), hasil penetapan kadar air simplisia kulit buah manggis adalah 3,99 % dimana batasan kadar air simplisia yang digunakan dalam sediaan obat yaitu kurang dari 10 %. Sehingga simplisia kulit buah manggis ini memenuhi persyaratan untuk digunakan dalam sediaan obat pada penelitian ini.

Parameter kadar abu digunakan untuk memeberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai sampai terbentuknya ekstrak (Depkes, 2000). Selain itu penetapan kadar abu total bertujuan untuk memberikan profil senyawa logam atau cemarannya yang dapat mempengaruhi mutu dan khasiat dari senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia tersebut. Berdasarkan tabel V.1 dihasilkan kadar abu total dari simplisia

kulit buah manggis yaitu 2,75 % memenuhi persyaratan pustaka tidak lebih dari 2,90 %.

Untuk penetapan kadar abu tidak larut asam hasil yang diperoleh adalah 0,15 % penetapan kadar abu tidak larut asam dilakukan dengan melarutkan hasil abu yang diperoleh dari kadar abu sebelumnya dalam larutan asam. Penetapan kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk mengetahui pengotor seperti debu dan pasir dari simplisia sudah tidak ada. Jika dibandingkan dengan pustaka kadar abu tidak larut asam ini melebihi kadar dari pustaka yaitu $< 0,04$ %. Berarti simplisia yang digunakan masih mengandung pengotor seperti pasir atau debu. Sedangkan untuk hasil kadar abu larut air adalah 2,60 %.

Selanjutnya simplisia sebanyak 4 kg yang sudah dikarakterisasi diekstraksi. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Pertama-tama serbuk simplisia di tempatkan pada wadah kemudian diberi sebagian pelarut dan didiamkan selama 24 jam, dengan beberapa kali pengadukan. Selanjutnya dilakukan penyarian untuk memisahkan residu dan filtrat. Residu yang didapat di rendam kembali dengan pelarut baru dilakukan sampai 3 kali maserasi untuk mendapatkan hasil maserat yang maksimal mengandung senyawa yang diharapkan. Kemudian maserat tersebut dikentalkan dengan evaporasi, ekstrak kental diperoleh sebanyak 347,441 gram sehingga rendemennya 8,68 % .

Selajutnya dilakukan penapisan fitokimia untuk melihat golongan-golongan senyawa yang terkandung pada simplisia dan ekstrak kental yang didapat (Tabel V. 2).

Tabel V. 2 Hasil penapisan fitokimia

Golongan Senyawa	Simplisia	Ekstrak	Pustaka
Tanin	√	√	√
Kuinon	√	√	√
Alkaloid	√	√	√
Saponin	√	√	√
Fenol & Polifenol	√	√	√
Flavonoid	√	√	√
Steroid /Triterpenoid	√	√	√

Pada penelitian tedahulu mengatakan bahwa ekstrak dan simplisia kulit buah manggis mengandung alkaloid, saponin, tanin, fenol dan polifenol, flavonoid, dan steroid/triterpenoid (Praptiwi, 2010:6-7). Sama seperti penelitian terlebih dahulu penelitian kali ini simplisia dan ekstrak mengandung senyawa-senyawa yang sama dengan pustaka.

Selanjutnya terhadap ekstrak dilakukan fraksinasi. Fraksinasi dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair dimana prinsip dari ekstraksi cair-cair ini adalah pemisahan berdasarkan perbedaan kelarutan, dimana digunakan pelarut yang tidak saling bercampur satu sama lain sehingga dapat dihasilkan senyawa diharapkan. Senyawa akan berada atau terlarut pada pelarut yang sesuai dengan sifat atau tingkat kepolaran dari senyawa tersebut.

Pelarut yang digunakan dalam fraksinasi ini merupakan pelarut non polar hingga polar yaitu n-heksan, etil asetat dan air. Air merupakan pelarut yang bersifat polar yang akan melarutkan senyawa yang bersifat polar juga. N-heksan dan etil asetat akan melarutkan senyawa-senyawa yang non polar dan semi polar,

karena n-heksan dan etil asetat merupakan pelarut organik yang cenderung bersifat kurang polar dibandingkan air. Hasil fraksi pekat dan rendemen fraksi dapat dilihat (Tabel V. 3).

Tabel V.3 Hasil fraksinasi

Jenis Pelarut	Jumlah Fraksi Pekat	Rendemen Fraksi
n-Heksan	0,36 gr	0,48%
Etil Asetat	15,20 gr	21,10 %
Air	33,60 gr	44,80 %

Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH terhadap ekstrak dan fraksi kulit buah manggis. Hasil uji aktivitas ini menggambarkan kemampuan ekstrak dan fraksi untuk menangkal radikal bebas. Hal ini terlihat dari penurunan nilai absorbansi DPPH setelah penambahan sampel. Selanjutnya nilai absorbansi tersebut digunakan untuk mendapatkan nilai persen inhibisi.

Penentuan IC_{50} dilakukan dengan melihat nilai persen inhibisi dari berbagai konsentrasi larutan uji. IC_{50} adalah konsentrasi substrat yang merendam radikal bebas DPPH sebanyak 50%. IC_{50} akan berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan substrat. Semakin kuat aktivitas antioksidan substrat, nilai IC_{50} nya akan semakin kecil. Sebagai pembanding yang digunakan dalam penelitian kali ini adalah vitamin C. Vitamin C telah diketahui memiliki sifat sebagai antioksidan.

Tabel V. 4 Hasil uji aktivitas antioksidan

Sampel	IC ₅₀ (µg/ml)
	Rata-Rata±SD
Ekstrak etanol	42,95 ± 1,02
Fraksi n-Heksan	31,42 ± 1,86
Fraksi Etil Asetat	21,21 * ± 0,06
Fraksi Air	56,03 ± 3,78
Vitamin C	4,82 ± 0,11

Keterangan :

* : Terdapat perbedaan bermakna antara nilai IC₅₀ fraksi etil asetat dibandingkan dengan ekstrak dan fraksi lainnya.

Dari data (tabel V.4) di atas fraksi etil asetat memiliki nilai IC₅₀ terkecil dibandingkan 2 fraksi lainnya, ini berarti fraksi etil asetat memiliki aktivitas antioksidan tertinggi. Berdasarkan uji statistik ANAVA nilai IC₅₀ fraksi etil asetat dan 2 fraksi lainnya berbeda bermakna ($p < 0,05$) (Lampiran 5). Nilai IC₅₀ fraksi etil asetat jika dibandingkan dengan nilai IC₅₀ vitamin C nilainya 4 kali lipat lebih tinggi, ini berarti aktivitas antioksidannya 4 kali lebih rendah dari vitamin C.

Berdasarkan uji aktivitas antioksidan dipilih fraksi etil asetat untuk digunakan sebagai zat aktif dari sediaan krim antioksidan. Sebelum membuat krim, dilakukan terlebih dahulu orientasi formula untuk menentukan nilai HLB butuh fase minyak. Fase minyak yang dipakai pada penelitian kali ini adalah VCO. VCO digunakan karena minyak ini mempunyai beberapa kelebihan diantaranya mampu melembabkan kulit dan mengaluskan kulit. VCO sendiri mempunyai aktivitas antioksidan sehingga diharapkan menunjang aktivitas antioksidan kulit buah manggis. Emulgator yang digunakan berupa tween 80 dan span 80 dengan konsentrasi 20%. Orientasi dilakukan untuk mengetahui nilai HLB butuh VCO sehingga bisa di dapatkan sediaan krim yang stabil selama penyimpanan.

Dibuat krim dengan beberapa nilai HLB yaitu 8, 10, 12, dan 14. Selanjutnya dilakukan uji sentrifugasi selama 5 jam dengan kecepatan 2000 rpm. Hasil sentrifugasi menunjukkan bahwa basis yang paling stabil pada nilai HLB 12 (Tabel V.5).

Tabel V. 5 Hasil penentuan HLB butuh VCO

Jam ke-	HLB 8	HLB 10	HLB 12	HLB 14
1	Pecah	Pecah	Stabil	Pecah sebagian
2	Pecah	Pecah	Stabil	Pecah sebagian
3	Pecah	Pecah	Stabil	Pecah sebagian
4	Pecah	Pecah	Stabil	Pecah sebagian
5	Pecah	Pecah	Stabil	Pecah sebagian

Terhadap formula basis dengan nilai HLB 12 tersebut dilakukan optimasi lanjutan untuk menurunkan konsentrasi surfaktan yang digunakan. Tujuan dilakukan optimasi ini untuk menurunkan resiko iritasi sediaan akibat tingginya konsentrasi surfaktan. Hasil optimasi konsentrasi surfaktan dapat dilihat (Tabel V. 6).

Tabel V. 6 Hasil optimasi konsentrasi surfaktan

Jam ke-	Konsentrasi surfaktan		
	10 %	15 %	20 %
1	Pecah	Stabil	Stabil
2	Pecah	Stabil	Stabil
3	Pecah	Stabil	Stabil
4	Pecah	Stabil	Stabil
5	Pecah	Stabil	Stabil

Berdasarkan tabel di atas terlihat bahwa konsentrasi surfaktan terendah yang masih bisa menjaga kestabilan krim adalah konsentrasi 15%. Sehingga konsentrasi surfaktan yang dipilih adalah konsentrasi 15%. Kemudian dibuat

formulasi krim antioksidan fraksi kulit buah manggis dengan variasi konsentrasi fraksi .

Tabel V. 7 Formulasi sediaan

Bahan / formula	F I (%)	F II (%)
Fraksi kulit buah manggis	0,5	2
<i>Virgin coconut oil</i>	20	20
Tween 80	10,79	10,79
Span 80	4,21	4,21
Cetostearil alkohol	10	10
Propilenglikol	10	10
Metil paraben	0,18	0,18
Propil paraben	0,02	0,02
Tokoferol asetat	0,05	0,05
Aquadestilata add	100	100

Zat aktif dalam sediaan ini adalah fraksi etil asetat kulit buah manggis yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Dibuat formula dengan 2 variasi konsentrasi fraksi yaitu 0,5 % dan 2%. Konsentrasi 0,5% mengacu pada dosis dari krim vitamin C yang ada di pasaran. Konsentrasi 2% didasarkan pada perbandingan IC_{50} fraksi etil asetat dan vitamin C yang diketahui 4 : 1. Dengan menaikkan konsentrasi fraksi 4 kali lipat dari konsentrasi lazim vitamin C diharapkan dapat diperoleh aktivitas antioksidan yang sama. Variasi konsentrasi tersebut juga dibuat untuk melihat pengaruh konsentrasi fraksi terhadap organoleptik sediaan krim yang dihasilkan.

Selanjutnya dilakukan evaluasi terhadap sediaan berupa uji organoleptik, homogenitas, penentuan tipe emulsi, viskositas, dan penentuan pH. Selain itu dilakukan uji stabilitas dipercepat dimana sediaan di simpan pada suhu tinggi yaitu suhu 40 °C kemudian diamati organoleptiknya dan pH sediaan selama 28

hari. Selain itu dilakukan juga uji sentrifugasi dan uji *Freeze-thaw*, yaitu untuk melihat stabilitas fisik sediaan krim. Terakhir dilakukan uji iritasi kulit kepada kelinci untuk melihat tingkat keamanan sediaan krim terhadap kulit.

Untuk uji organoleptik meliputi pengamatan terhadap perubahan warna, bau dan homogenitas dari sediaan. Pengujian dilakukan pada suhu ruang dan suhu 40°C, dengan hasil (Tabel V. 8 dan Tabel V. 9)

Tabel V. 8 Hasil uji organoleptik sediaan pada suhu ruang

Formula	Pengujian	Hari ke 1	Hari ke 28
F I	Bau	Khas VCO	Khas VCO
	Warna	Krem	Krem
	Homogenitas	Homogen	Homogen
F II	Bau	Khas	Khas
	Warna	Kuning	Kuning
	Homogenitas	Homogen	Homogen

Table V. 9 Hasil uji organoleptik sediaan pada suhu 40 °C

Formula	Pengujian	Hari ke 1	Hari ke 28
F I	Bau	Khas VCO	Khas VCO
	Warna	Krem	Krem
	Homogenitas	Homogen	Homogen
F II	Bau	Khas	Khas
	Warna	Kuning	Kuning
	Homogenitas	Homogen	Homogen

Berdasarkan tabel di atas warna dari sediaan dengan dosis 0,5 % berwarna krem (lampiran 4) sedangkan untuk dosis 2% berwarna kuning. Warna tidak berubah selama diuji 28 hari baik pada suhu 40 °C maupun pada suhu ruangan. Untuk bau sediaan mempunyai bau yang khas, bau tersebut dihasilkan dari bau

minyak VCO nya. Sediaan homogen atau tercampur merata ditandai dengan tidak adanya bintik-bintik atau campuran zat yang tidak merata pada saat pengujian.

Selanjutnya untuk uji penentuan tipe emulsi menunjukkan sediaan krim antioksidan fraksi kulit buah manggis ini termasuk tipe emulsi minyak dalam air. Pengujian dilakukan dengan dua cara didapat hasil sebagai berikut.

Tabel V. 10 Hasil pengujian penentuan tipe emulsi.

Pengujian	Hasil	Tipe emulsi
Uji zat warna biru	Berdifusi pada fase eksternal	Minyak dalam air
Uji pengenceran	Terlarut sempurna	Minyak dalam air

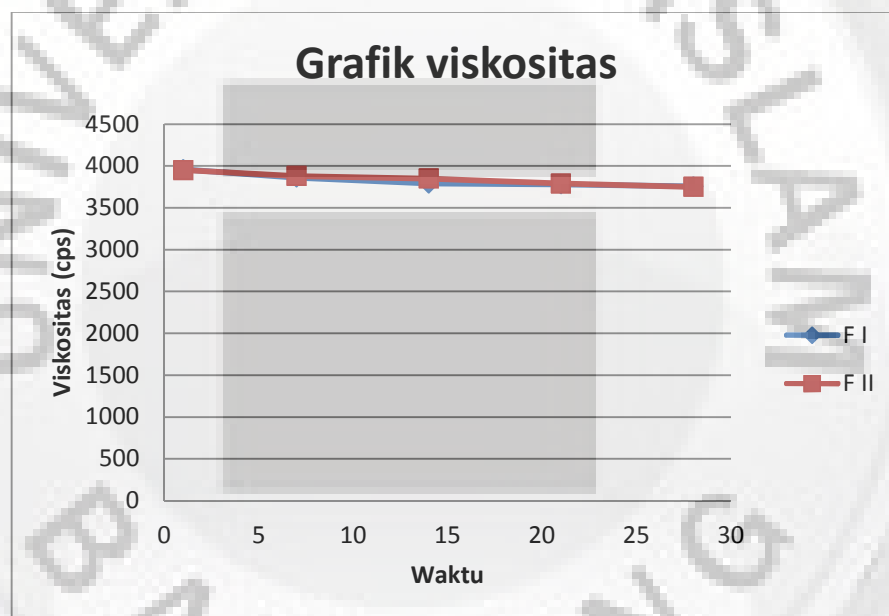
Dilihat dari data tabel diatas bahwa sediaan krim yang di buat termasuk tipe emulsi minyak dalam air. Hal tersebut sesuai dengan HLB butuh VCO formula yang dibuat adalah 12 dimana harga HLB 8 sampai 18 akan membentuk tipe emulsi minyak dalam air (Ansel, 2005:513-515). Sehingga menghasilkan krim yang mudah menyebar dengan rata, lebih mudah dicuci dengan air, tidak lengket, dan memberikan rasa dingin pada kulit sesuai dengan kelebihan krim tipe emulsi minyak dalam air.

Untuk pengujian pH dilakukan menggunakan pH universal, hasil pengujian menunjukkan pH dari sediaan relatif stabil pada pH 5. pH tersebut merupakan pH yang sesuai untuk sediaan topikal, karena masih berada dalam rentang pH yang diperbolehkan untuk digunakan pada kulit manusia (4,5-6,5) (Tranggono, 2007: 78).

Untuk pengujian viskositas, pengukuran viskositas dilakukan pada hari 1 sampai hari ke- 28 dengan menggunakan viskometer *Brookfield* RVT dengan spindle 15 dan kecepatan 100 rpm, dengan hasil pada tabel di bawah ini.

Tabel V. 11 Hasil pengujian viskositas sediaan pada suhu ruang

Formula	Viskositas Hari ke- (cps)				
	1	7	14	21	28
F I	3960	3860	3790	3780	3755
FII	3950	3880	3850	3790	3750



Gambar V.1 Grafik pengamatan viskositas sediaan pada suhu ruang.

Berdasarkan grafik di atas viskositas sediaan untuk dosis 0,5 % ataupun dosis 2% pada suhu ruangan mengalami sedikit penurunan selama penyimpanan, penurunan terjadi karena kemungkinan lama penyimpanan. Akan tetapi penurunan viskositas tersebut tidak menyebabkan pemisahan fasa dari sediaan krim yang dihasilkan.

Selanjutnya dilakukan uji sentrifugasi terhadap sediaan krim. Uji ini dilakukan untuk melihat kestabilan krim karena pengaruh gravitasi, dengan hasil pada tabel dibawah ini.

Tabel V. 12 Hasil pengujian sentrifugasi selama 5 jam

Jam ke-	F I	F II
1	Stabil	Stabil
2	Stabil	Stabil
3	Stabil	Stabil
4	Stabil	Stabil
5	Stabil	Stabil

Berdasarkan tabel di atas sediaan krim stabil selama sentrifuga. Kestabilan ditandai tidak terbentuk pemecahan fase pada sediaan krim.

Untuk uji *freeze thaw*, evaluasi ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh perubahan suhu terhadap kestabilan sediaan dengan hasil pada tabel dibawah ini

Tabel V. 13 Hasil uji *freeze thaw*

Uji <i>freeze thaw</i>	F I	F II
Siklus 1	Stabil	Stabil
Siklus 2	Stabil	Stabil
Siklus 3	Stabil	Stabil
Siklus 4	Stabil	Stabil
Siklus 5	Stabil	Stabil

Berdasarkan tabel diatas hasil uji pada siklus 1 hingga siklus ke 5 krim tidak mengalami pemisahan fase. Hal tersebut menunjukkan sediaan krim stabil selama pengujian *freeze thaw*.

Selanjutnya dilakukan pengujian terakhir yaitu uji iritasi kulit pada kelinci albino galur *New zealand*. Masing-masing sediaan diuji pada tiga ekor kelinci

kemudian dihitung indeks iritasi kutan primer untuk menentukan tingkat iritasi setiap formula, dengan hasil pada tabel dibawah ini .

Tabel V. 14 Hasil uji iritasi

Formula	Kelinci	Skor pengamatan pada t-							
		24 jam		48 jam		72 jam		96 jam	
		E	U	E	U	E	U	E	U
F I	I	2	0	2	0	1	0	0	0
	II	1	0	1	0	0	0	0	0
	III	1	0	1	0	0	0	0	0
F II	I	2	0	2	0	1	0	0	0
	II	1	0	1	0	0	0	0	0
	III	1	0	1	0	0	0	0	0

Ketengan :

E : eritema

U : udem

0 : tidak ada eritema atau udem

1 : sedikit eritema atau udem

2 : eritema tampak jelas atau udema ringan.

Eritema adalah kemerahan pada kulit akibat kongesti pembuluh darah kapiler dan udema adalah cairan yang abnormal diruang interseluler tubuh dan udema adalah cairan yang abnormal diruang interseluler tubuh (Dorland, 2002:701-761). Setelah dilakukan perhitungan indeks iritasi primer kutan (IIPK) diperoleh hasil nilai IIPK 0,84. Menurut klasifikasi indeks iritasi primer kutan nilai 0,84 bisa digolongkan bahwa sediaan krim FI dan FII hampir tidak mengiritasi (berada dalam rentang 0,04-0,99) (Lampiran 6).