

**UJI AKTIVITAS INHIBISI HIALURONIDASE DAN
FORMULASI GEL EKSTRAK DAUN
JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.)**

SKRIPSI



OLEH:

REGINA ISLAMU PUTRI
NIM : 2020112135

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
2024**

KATA PENGANTAR



Syukur alhamdulillah segala puji dan syukur hanya kepada Allah SWT yang sentiasa melimpahkan rahmat dan nikmat-Nya berupa ilmu, kesehatan, dan kemudahan sehingga penulis telah dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS INHIBISI HIALURONIDASE DAN FORMULASI SEDIAAN GEL EKSTRAK DAUN JERUK PURUT (*CITRUS HYSTRIX DC.*)”** yang merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan strata satu pada Universitas Perintis Indonesia.

Selesainya penulisan skripsi ini tidak lepas dari do’a, dukungan, semangat dan kasih sayang dari Bapak/Ibu, saudara dan sahabat. Rasa hormat dan terimakasih yang tulus penulis sampaikan kepada:

1. Ibu Dr. apt. Hj Widyastuti, S.Si, M.Farm selaku pembimbing I dan Ibu apt. Meta Emilia Surya Dharma, M.Farm selaku pembimbing II, yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan dengan sabar membimbing penulis untuk membantu penyempurnaan skripsi ini.
2. Ibu apt. Revi Yenti, M.Si selaku Ketua Prodi S1 Farmasi Universitas Perintis Indonesia.
3. Ibu apt. Eka Fitrianda, M.Farm selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.
4. Bapak Yendrizal Jafri S.Kp, M.Biomed selaku Rektor Universitas Perintis Indonesia
5. Ibu Tisa Mandala Sari, S.Pd, M.Si sebagai pembimbing akademik dalam

kegiatan akademis atas nasehat dan arahan yang diberikan selama ini.

6. Bapak dan Ibu dosen, serta seluruh Staf pengajar Universitas Perintis Indonesia yang telah memberikan ilmu pengetahuan dan bimbingan serta nasehat yang sangat berguna bagi penulis selama menjalani pendidikan di Universitas Perintis Indonesia.
7. Staf Karyawan/karyawati serta analis labor Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia.

Semoga Allah SWT membalas semua amalan dan budi baik yang telah diberikan semua pihak dalam membantu penulis. Penulis menyadari sepenuhnya skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi penyempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini menjadi sumbangan berguna bagi ilmu pengetahuan serta bermanfaat bagi kita semua.

Akhirnya, hanya kepada Allah SWT penulis serahkan segalanya mudah-mudahan dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi kita semua.

Padang, 29 Februari 2024

Hormat Saya

Penulis

ABSTRAK

Sinar *Ultraviolet* dapat menyebabkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) pada kulit. Salah satu efek ROS adalah penuaan kulit (*aging*). Hialuronidase merupakan salah satu enzim yang berperan dalam proses penuaan kulit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas inhibisi hialuronidase secara *in vitro* menggunakan metode spektrofotometer dari ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan pelarut yang berbeda (etanol 96%, etil asetat dan n-heksan). Ekstrak terbaik akan diformulasikan dalam bentuk sediaan gel dengan basis *carbopol* 940 dan kitosan. Hasil dari penelitian ini ekstrak etanol dan etil asetat mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, fenolik dan steroid sedangkan ekstrak n-heksan hanya mengandung senyawa terpenoid. Aktivitas inhibisi hialuronidase ekstrak daun jeruk purut menunjukkan nilai IC_{50} ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan masing-masing sebesar 55,9469 $\mu\text{g/mL}$, 97,8999 $\mu\text{g/mL}$ dan 114,3011 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak etanol daun jeruk purut merupakan ekstrak terbaik yang dibuat dalam bentuk sediaan gel dengan basis *carbopol* 940 dan kitosan dengan konsentrasi 0,5%. Berdasarkan evaluasi fisik yang dilakukan didapati hasil semua uji memenuhi syarat. Aktivitas inhibisi gel ekstrak etanol hialuronidase memiliki %inhibisi pada F01 sebesar 24,1192%, F02 sebesar 69,5122%, F1 sebesar 68,8347%, F2 sebesar 86,4499% dan ekstrak etanol sebesar 78,9973%. Kesimpulan ekstrak daun jeruk purut memiliki aktivitas inhibisi hialuronidase dan dapat dibuat dalam bentuk sediaan gel dengan basis *carbopol* 940 dan kitosan.

Kata kunci : Daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.), hialuronidase, gel.

ABSTRACT

Ultraviolet rays can cause Reactive Oxygen Species (ROS) on the skin. One of the effects of ROS is skin aging. Hyaluronidase is an enzyme that plays a role in the skin aging process. This study aims to determine the hyaluronidase inhibition activity in vitro using the spectrophotometer method from kaffir lime leaf extract (*Citrus hystrix* DC.) with different solvents (96% ethanol, ethyl acetate and n-hexane). The best extract will be formulated in gel dosage form with a base of carbopol 940 and chitosan. The results of this research were that the ethanol and ethyl acetate extracts contained secondary metabolite compounds of flavonoids, phenolics and steroids, while the n-hexane extract only contained terpenoid compounds. The hyaluronidase inhibition activity of kaffir lime leaf extract showed IC₅₀ values for ethanol, ethyl acetate and n-hexane extracts of 55.9469 µg/mL, 97.8999 µg/mL and 114.3011 µg/mL, respectively. Kaffir lime leaf ethanol extract is the best extract made in gel dosage form with a base of carbopol 940 and chitosan with a concentration of 0.5%. Based on the physical evaluation carried out, it was found that the results of all tests met the requirements. The inhibition activity of the hyaluronidase ethanol extract gel had % inhibition at F01 of 24.1192%, F02 of 69.5122%, F1 of 68.8347%, F2 of 86.4499% and ethanol extract of 78.9973%. Conclusion: Kaffir lime leaf extract has hyaluronidase inhibitory activity and can be made in gel dosage form based on carbopol 940 and chitosan.

Key words: Kaffir lime leaves (*Citrus hystrix* DC.), hyaluronidase, gel.

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR LAMPIRAN	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	4
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.)....	4
2.1.2 Tinjauan Kimia Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	5
2.1.3 Tinjauan Farmakologi Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	5
2.1.4 Tinjauan Farmasetika Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.)	5
2.2 Hialuronidase	6
2.3 Gel.....	6
2.3.1 Gelling Agent.....	7
2.3.2 Evaluasi Sediaan Gel	7
2.4 Monografi Bahan	9
2.4.1 <i>Carbopol</i> 940	9
2.4.2 Kitosan	10
2.4.3 Propilenglikol.....	11
2.4.4 DMDM Hydantoin.....	11
BAB III METODE PENELITIAN	13
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	13
3.2 Alat dan Bahan	13
3.1.1 Alat.....	13

3.1.2 Bahan	13
3.3 Prosedur Penelitian	14
3.3.1 Ekstraksi Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	14
3.3.2 Pengujian Parameter Spesifik Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	14
3.3.3 Pengujian Parameter Non-Spesifik Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	15
3.3.4 Pengujian Parameter Fitokimia Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	16
3.3.5 Uji Aktivitas Inhibisi Hialuronidase Ekstrak Daun Jeruk Purut.....	17
3.3.6 Formulasi Gel Ekstrak Daun Jeruk Purut	20
3.3.7 Evaluasi Sediaan	21
3.3.8 Uji Aktivitas Inhibisi Hialuronidase Gel	Error! Bookmark not defined.
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
4.1 Hasil.....	24
4.1.1 Identifikasi Tanaman Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	24
4.1.2 Pemeriksaan Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	24
4.1.3 Uji Aktivitas Inhibisi Hialuronidase Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	26
4.1.4 Formulasi Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	26
4.1.5 Uji Aktivitas Inhibisi Hialuronidase Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	27
4.2 Pembahasan	28
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Identifikasi Tanaman Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.)	40
Lampiran 2. Ekstraksi daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.)	42
Lampiran 3. Pemeriksaan ekstrak daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.)	43
Lampiran 4. Pengujian Aktivitas Inhibisi Hialuronidase Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	45
Lampiran 5. Identifikasi Bahan Baku.....	48

Lampiran 6. Evaluasi Organoleptis Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.)	53
Lampiran 7. Pengujian Aktivitas Inhibisi Hialuronidase Etanol Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	58

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Formula sediaan gel ekstrak etanol daun jeruk purut	20
Tabel 2.	Hasil pemeriksaan parameter spesifik ekstrak daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	43
Tabel 3.	Hasil pemeriksaan non spesifik ekstrak daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	44
Tabel 4.	Hasil pemeriksaan skrining fitokimia ekstrak daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	45
Tabel 5.	Pengujian Aktivitas Inhibisi Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.) Terhadap Hialuronidase	46
Tabel 6.	Hasil Perhitungan Nilai IC ₅₀ Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.) Terhadap Hialuronidase	47
Tabel 7.	Identifikasi Pemeriksaan <i>Carbopol</i> 940	48
Tabel 8.	Identifikasi Pemeriksaan Kitosan	49
Tabel 9.	Identifikasi Pemeriksaan Triethanolamine (TEA).....	50
Tabel 10.	Identifikasi Pemeriksaan Propilenglikol	51
Tabel 11.	Identifikasi Pemeriksaan DMDM Hydantoin	52
Tabel 12.	Hasil Evaluasi Organoleptis Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.)	53
Tabel 13.	Hasil Evaluasi Homogenitas Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.)	54
Tabel 14.	Hasil Pemeriksaan pH Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	55
Tabel 15.	Hasil Uji ANOVA pH F01, F02, F1 dan F2 Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	55
Tabel 16.	Hasil Pengujian Viskositas Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.)	56
Tabel 17.	Hasil Uji ANOVA Viskositas F01, F02, F1 dan F2 Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.)	56
Tabel 18.	Hasil Pengujian Stabilitas (<i>Freeze and Thaw</i>) Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	57
Tabel 19.	Pengujian Aktivitas Inhibisi Gel Etanol Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.) Terhadap Hialuronidase	58
Tabel 20.	Hasil Uji ANOVA Aktivitas Inhibisi Gel Etanol Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	58
Tabel 21.	Post Hoc Test Perhitungan Ekstrak Etanol Elastase.....	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Tanaman jeruk purut (Sumber: Plantamor.com).....	4
Gambar 2.	Struktur kimia <i>Carbopol</i> 940 (Rowe, <i>et al.</i> , 2009).....	9
Gambar 3.	Struktur Kitosan (Rowe, <i>et al.</i> , 2009).....	10
Gambar 4.	Struktur Propilenglikol (Rowe, <i>et al.</i> , 2009).....	11
Gambar 5.	DMDM Hydantoin.....	11
Gambar 6.	Surat Identifikasi (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	40
Gambar 7.	Tanaman jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	41
Gambar 8.	Daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	41
Gambar 9.	Ekstraksi daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix</i> DC.).....	42
Gambar 10.	Grafik pengujian aktivitas inhibisi hialuronidase.....	46
Gambar 11.	Sertifikat Analisis <i>Carbopol</i> 940.....	48
Gambar 12.	Sertifikat Analisis Kitosan.....	49
Gambar 13.	Sertifikat Analisis Triethanolamine (TEA).....	50
Gambar 14.	Sertifikat Analisis Propilenglikol.....	51
Gambar 15.	Sertifikat Analisis DMDM Hydantoin.....	52
Gambar 16.	Organoleptis Sediaan Gel.....	53
Gambar 17.	Homogenitas Sediaan Gel.....	54

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penuaan (*aging*) adalah suatu proses menghilangnya kemampuan jaringan secara perlahan-lahan untuk memperbaiki atau mengganti diri dan mempertahankan struktur, serta fungsi normalnya. Penuaan kulit adalah fenomena biologis yang sangat kompleks yang dikendalikan oleh banyak faktor intrinsik dan ekstrinsik yang menyebabkan hilangnya progresif integritas struktural dan fungsi fisiologis kulit (Rihhadatulaisy dan Norisca, 2020). Faktor ekstrinsik terjadi karena faktor lingkungan seperti radiasi sinar UV. Faktor yang berasal dari dalam tubuh itu sendiri (faktor intrinsik) diantaranya aktivitas enzim-enzim tertentu. Enzim yang terlibat dalam proses penuaan kulit antara lain elastase, hialuronidase, dan kolagenase. Enzim-enzim tersebut memiliki peran masing-masing dalam keterlibatannya dalam proses penuaan, dimana efek anti-*aging* terkait dengan penghambatan aktivitas enzim tersebut (Mumpuni, *et al.*, 2019).

Sinar UV dapat menyebabkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) pada kulit. Salah satu efek dari *Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah penuaan kulit. Antioksidan dapat melindungi kulit dari ROS dan berbagai kerusakan sel akibat radiasi UV dan antipenuaan. Ekstrak dari tumbuhan yang mengandung antioksidan sangat menarik di bidang kosmetik karena antioksidan mengandung molekul yang dapat menonaktifkan ROS, mengembalikan homeostatis kulit dan mencegah eritema dan penuaan dini (Haerani, *et al.*, 2018). Elastin, kolagen, dan asam hialuronat adalah komponen penting dari matriks ekstraseluler yang memainkan peran penting dalam penampilan kulit yang awet muda. Asam hialuronat adalah komponen utama dari matriks ekstraseluler dermal, menjaga kadar air, elastisitas,

dan retensi hidrasi kulit. Karena asam hialuronat didepolimerisasi oleh degradasi enzim hialuronidase, penghambatan aktivitas hialuronidase penting dalam mencegah pemecahan asam hialuronat, karena dapat menyebabkan keriput, kulit kering, dan hilangnya kekencangan. Oleh karena itu, aktivitas anti-hialuronidase sangat penting dalam menunda proses penuaan kulit (Cruz, *et al.*, 2023). Berdasarkan uraian tersebut, maka dapat diketahui bahwa antioksidan dan hialuronidase berpengaruh pada proses penuaan kulit.

Jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) merupakan tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jeruk purut memiliki nilai IC_{50} 25,907 $\mu\text{g/mL}$, yang menandakan aktivitas antioksidannya sangat kuat (Muzuka, *et al.*, 2018). Nilai aktivitas antioksidan perasan jeruk purut yaitu 71,34 $\mu\text{g/mL}$ dan tergolong antioksidan kuat (Puspitasari dan Sumantri, 2019). Nilai aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit jeruk purut yaitu senilai 146,06 $\mu\text{g/mL}$ dan tergolong ke dalam antioksidan sedang (Sitinjak, 2017).

Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti tertarik melakukan pengujian aktivitas ekstrak daun jeruk purut sebagai anti-*aging* dengan menguji inhibisi hialuronidase karena memiliki antioksidan yang sangat kuat. Ekstrak daun jeruk purut yang dibuat dalam bentuk sediaan setengah padat yaitu dalam bentuk sediaan gel. Gel memiliki beberapa keuntungan diantaranya tidak lengket, mudah dioleskan, tidak meninggalkan lapisan berminyak pada kulit, viskositas gel tidak mengalami perubahan yang berarti selama penyimpanan (Lieberman, *et al.*, 1998). Selanjutnya sediaan gel dilakukan pengujian inhibisi terhadap hialuronidase.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan pelarut yang berbeda memiliki aktivitas sebagai inhibisi hialuronidase?
2. Apakah ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dapat diformulasikan dalam bentuk sediaan gel dengan basis *carbopol* 940 dan kitosan?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui aktivitas dari ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan pelarut yang berbeda terhadap inhibisi hialuronidase
2. Untuk mengetahui formulasi sediaan gel dengan basis *carbopol* 940 dan kitosan dari ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan pengetahuan tentang aktivitas inhibisi hialuronidase dari ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan pelarut yang berbeda
2. Memberikan pengetahuan tentang formulasi sediaan gel dengan basis *carbopol* 940 dan kitosan dari ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Menurut Plantamor (2024) berdasarkan tata nama sistematika botani, tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.), diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Famili	: Rutaceae
Genus	: Citrus
Species	: <i>Citrus hystrix</i> D.C.
Sinonim	: Jeruk purut (Indonesia), limau purut (Malaysia), kabuyaw (Tagalog), ma feng cheng (China), kobu mikan (Jepang), caffir lime (Inggris).



Gambar 1. Tanaman jeruk purut (Plantamor, 2024)

2.1.2 Tinjauan Kimia Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Kandungan fitokimia ekstrak etanol kulit buah jeruk purut mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid, tannin dan saponin. (Nathanael, *et al.*, 2015). kandungan fitokimia ekstrak air perasan jeruk purut mengandung flavonoid, fenolik dan steroid (Alwalidain, 2023). Beberapa bahan kimia yang terkandung dalam jeruk purut diantaranya daun minyak atsiri 1,0-1,5%, steroid triterpenoid, minyak atsiri dengan kandungan sitrat 2,0-2,5% (Hariana, 2007).

2.1.3 Tinjauan Farmakologi Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Tanaman jeruk purut memiliki aktivitas farmakologi, seperti ekstrak etanol daun jeruk purut mempunyai daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* (Milala dan M.Pandapotan, 2023). Ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) memiliki senyawa metabolit sekunder yang mampu menghambat pertumbuhan *Propionibacterium acne* yang merupakan salah satu bakteri penyebab jerawat (Ramadani, *et al.*, 2023).

2.1.4 Tinjauan Farmasetika Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Ekstrak dari tanaman jeruk purut dapat diformulasikan dalam sediaan farmasetika, seperti sediaan *hand soap* ekstrak etanol daun jeruk purut terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Milala dan M.Pandapotan, 2023). Sediaan krim yang dibuat dari bahan aktif ekstrak etanol daun jeruk purut dengan konsentrasi 0,25%, 0,5% dan 1% dapat dibuat sebagai krim tabir surya (Qonitah, *et al.*, 2022). Ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) dapat diformulasikan menjadi sediaan balsam aromaterapi yang stabil dan memenuhi syarat serta dapat bertahan selama 12 bulan dengan konsentrasi cera alba yang paling optimal sebesar 15% (Astuti dan Debby, 2021).

2.2 Hialuronidase

Hialuronidase adalah enzim metabolisme asam hialuronat. Asam hialuronat adalah glikosaminoglikan non-sulfat dan merupakan bagian penting dari matriks ekstraseluler kulit. Penurunan kandungan asam hialuronat kulit dianggap sebagai ciri utama penuaan kulit. (Buhren, 2018).

Asam hialuronat adalah komponen utama dari matriks ekstraseluler dermal, menjaga kadar air, elastisitas, dan retensi hidrasi kulit. Karena asam hialuronat didepolimerisasi oleh degradasi enzim hialuronidase, penghambatan aktivitas hialuronidase penting dalam mencegah pemecahan asam hialuronat, karena dapat menyebabkan keriput, kulit kering, dan hilangnya kekencangan. Oleh karena itu, aktivitas anti-hialuronidase sangat penting dalam menunda proses penuaan kulit. (Cruz, *et al.*, 2023).

Uji anti-penuaan dilakukan melalui uji penghambatan aktivitas hialuronidase, salah satu enzim penting dalam proses penuaan. Sampel yang digunakan yaitu ekstrak bonggol nanas dan luteolin. Hasil uji aktivitas penghambatan hialuronidase, senyawa luteolin memiliki nilai IC_{50} lebih rendah, yaitu sebesar $67,38 \pm 3,99 \mu\text{g/mL}$ dibanding dengan ekstrak bonggol nanas nilai IC_{50} $161,15 \pm 1,05 \mu\text{g/mL}$. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa pembanding luteolin memiliki aktivitas antihialuronidase yang lebih tinggi daripada ekstrak bonggol nanas (Jusri, *et al.*, 2019).

2.3 Gel

Gel adalah sediaan semi padat dengan campuran koloidal antara dua zat berbeda yaitu fase padat dan cair, bahan pembentuk gel biasanya adalah sebuah polimer dengan konsentrasi beberapa persen yang dapat memberikan konsistensi

semisolid pada formulasi baik fisik maupun kimia, kebanyakan gel seharusnya tergolong pada sediaan cair, namun mereka juga memiliki sifat seperti benda padat, contohnya adalah gel gelatin, agar agar dan gel rambut (Rowe,*et al.*, 2019).

2.3.1 Gelling Agent

Gelling agent atau basis gel adalah bahan tambahan yang digunakan untuk mengentalkan dan menstabilkan berbagai macam obat dan sediaan kosmetik.

Gelling agent dapat dibedakan berdasarkan cara memperolehnya sebagai berikut:

a. Bahan-bahan yang berasal dari alam

Basis gel yang berasal dari alam disebut juga dengan polisakarida antara lain karaginan, tragakan, pektin, agar dan asam alginat.

b. Bahan-bahan selulosa

Bahan-bahan yang berasal dari selulosa yang digunakan sebagai basis gel (*gelling agent*) pada formulasi gel adalah polisakarida yang secara struktur merupakan turunan selulosa (dengan beberapa substitusi kimia).

c. Bahan-bahan vinil alkohol

Bahan-bahan yang berasal dari vinil alkohol yang digunakan sebagai *gelling agent* dalam sediaan farmasetika dan kosmetik antara lain polimer karboksivinil yang dikenal sebagai karbomer, PVA, PVC (Voight, 1995).

d. Bahan-bahan carbomer

Bahan-bahan yang berasal dari carbomer atau disebut juga bahan-bahan dari tanah liat alam seperti bentonit dan magnesium aluminium silikat.

2.3.2 Evaluasi Sediaan Gel

1. Uji organoleptis

Uji organoleptis dapat diamati secara visual dan dilihat secara langsung

bentuk, warna dan bau dari sediaan gel yang dibuat. Gel biasanya jernih dengan konsentrasi setengah padat (Astuti, *et al.*, 2017).

2. Uji homogenitas

Uji homogenitas sediaan gel bertujuan untuk melihat bahan-bahan yang digunakan dalam formulasi terdispersi merata atau tidak. Homogenitas gel yang baik menunjukkan susunan yang tidak terdapat butiran kasar, rata dan tidak terdapat gumpalan (Astuti, *et al.*, 2017).

3. Uji pH

Uji pH sediaan gel diharuskan sesuai dengan pH kulit yaitu berkisar antara 4,5-6,5. Jika $\text{pH} < 4,5$ maka akan menyebabkan iritasi, sedangkan jika $\text{pH} > 6,5$ maka akan menyebabkan kulit kering hingga bersisik (Astuti, *et al.*, 2017).

4. Uji viskositas

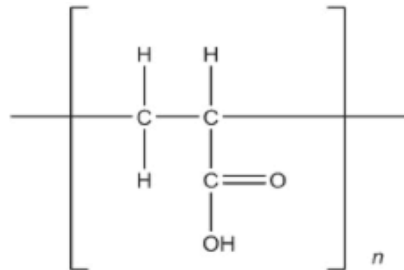
Uji viskositas bertujuan untuk menentukan nilai kekentalan suatu zat. Semakin tinggi nilai viskositasnya maka semakin tinggi nilai kekentalannya. Sediaan gel yang memiliki viskositas yang terbaik yaitu berada pada rentang 2000-4000 Cps. (Setyawan, *et al.*, 2023)

5. Uji stabilitas

Pemeriksaan stabilitas dilakukan dengan menggunakan Metode *Freeze and Thaw*

2.4 Monografi Bahan

2.4.1 *Carbopol 940*



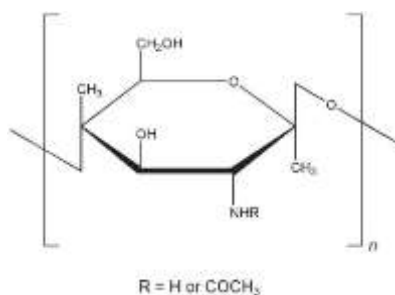
Gambar 2. Struktur kimia *Carbopol 940* (Rowe, *et al.*, 2009)

Menurut Handbook of Pharmaceutical Excipients 6 tahun 2009 *carbopol* ialah salah satu jenis carbomer. Biasanya *carbopol 940* digunakan sebagai gelling agent dengan konsentrasi 0,5 – 2%. *Carbopol 940* mempunyai rumus molekul $(C_3H_4O_2)_n$. *Carbopol* merupakan salah satu jenis gelling agent digunakan sebagian besar di dalam cairan atau sediaan formulasi semisolid berkenaan dengan farmasi sebagai agent pensuspensi atau agent penambah kekentalan. Digunakan pada formulasi krim, gel dan salep. *Carbopol 940* berwarna putih berbentuk serbuk halus, bersifat asam higroskopik, dengan sedikit karakteristik bau (Rowe, *et al.*, 2009).

Carbopol 940 dapat larut di dalam air, di dalam etanol (95%) dan gliserin, dapat terdispersi di dalam air untuk membentuk larutan koloidal bersifat asam, sifat merekatnya rendah. *Carbopol* bersifat stabil dan higroskopik, penambahan temperatur berlebih dapat mengakibatkan kekentalan menurun sehingga mengurangi stabilitas. *Carbopol* mempunyai viskositas antara 40.000 – 60.000 cP digunakan sebagai bahan pengental yang baik memiliki viskositasnya tinggi, menghasilkan gel yang bening. *Carbopol 940* menghasilkan sistem hidroalkohol

yang lebih transparan (Voight, 1995). *Carbopol* 940 akan mengembang jika didispersikan dalam air dengan adanya zat – zat pengalkali seperti trietanolamin yang berfungsi menetralkan keasaman carbomer sehingga sediaan gel yang dibuat akan jernih (Rowe,2009).

2.4.2 Kitosan



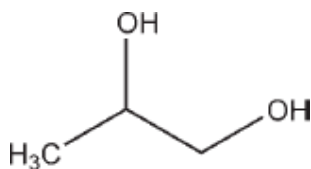
Gambar 3. Struktur Kitosan (Rowe, *et al.*, 2009)

Kitosan adalah kitin yang cukup terdeasetilasi untuk membentuk garam amina yang larut. Kitosan memiliki nama lain Poly-β-(1,4)-2-Amino-2-deoxy-D-glucose, 2-Amino-2-deoxy-(1,4)-β-D-glucopyranan, chitosani hydrochloridum, deacetylated chitin, deacetylchitin, β-1,4-poly-D-glucosamine, poly-D-glucosamine, poly-(1,4- β-D-glucopyranosamine). Kitosan berbentuk bubuk atau serpihan yang tidak berbau, berwarna putih atau putih krem. Kitosan sukar larut dalam air dan praktis tidak larut dalam etanol (95%). Kitosan memiliki pH berkisar antara 4,0-6,0. (Rowe, *et al.*, 2009).

Kitosan digunakan dalam kosmetik untuk digunakan dalam sejumlah formulasi farmasi. Kitosan telah diolah menjadi beberapa bentuk farmasi termasuk gel, tablet, dan pelapis untuk liposom. Serbuk kitosan merupakan bahan yang stabil pada suhu kamar, meskipun bersifat higroskopis setelah dikeringkan. Kitosan sebaiknya disimpan dalam wadah tertutup rapat di tempat sejuk dan kering. Kitosan

harus disimpan pada suhu 2–88⁰C. Kitosan umumnya dianggap sebagai bahan yang tidak beracun dan tidak menyebabkan iritasi. (Rowe, *et al.*, 2009).

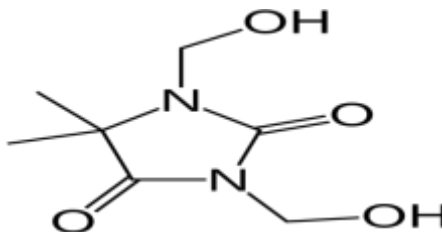
2.4.3 Propilenglikol



Gambar 4. Struktur Propilenglikol (Rowe, *et al.*, 2009)

Propilenglikol memiliki berat molekul 7,09, berfungsi sebagai pengawet, antimikroba, desinfektan, humektan, pelarut, zat penstabil, kosolven yang larut dalam air. Pemerian propilenglikol adalah bening, tidak berwarna, kental, praktis tidak berbau, cair, dengan rasa manis, agak tajam yang menyerupai gliserin. Kelarutan dapat bercampur dengan aseton, kloroform, etanol (95%), gliserin, dan air. Larut pada 1 dalam 6 bagian eter, tidak tercampur dengan minyak mineral ringan atau minyak tetap, tetapi akan melarutkan sebagian minyak esensial. Inkompatibilitas propilen glikol tidak sesuai dengan reagen pengoksidasi seperti kalium permanganat. propilenglikol digunakan dalam konsentrasi 15% (Rowe, *et al.*, 2009).

2.4.4 DMDM Hydantoin (Dimethylol-dimethyl Hydantoin)



Gambar 5. DMDM Hydantoin

DMDM hydantoin merupakan salah satu jenis pengawet yang banyak ditemukan dalam produk kosmetik dengan konsentrasi penggunaan hingga 1%. Digunakan sebagai bahan antimikroba dengan spektrum luas, efektif untuk fungi, kapang serta bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Dengan berat molekul 188,19 dengan penampakan cair berwarna bening dengan sedikit berbau. Stabil dalam rentang pH yang luas dan kondisi temperatur (Liebert, 1998).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Juni 2023 – Desember 2023 di Laboratorium Universitas Perintis Indonesia (UPERTIS) Padang, Laboratorium LLDIKTI Wilayah X Padang dan Laboratorium Kultur Sel Fakultas Farmasi Universitas Andalas (UNAND) Padang.

3.2 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah wadah berwarna gelap, corong, kertas saring, timbangan analitik, gunting, *rotary evaporator* (Heidolph), cawan penguap, gegap, erlenmeyer, *beaker glass*, gelas ukur, gelas arloji, tabung reaksi, pipet tetes, spatel, kertas perkamen, objek glass, cover glass, lumpang, stamfer, pH meter, krus porselins, tang krus, oven, furnes, desikator, stirrer, *viscometer Brookfield* (KU-3 Viscometer), pinset, plat tetes, *plat well* (Biologix), *microplate reader* (Bio-Rad), dan vial.

3.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun jeruk purut, *carbopol* 940 (Lubrizol), kitosan (Chimultiguna), propilenglikol (Dow), DMDM hydantoin (Nguyen ba), triethanolamine (Emplura), etanol 96%, etil asetat, n-heksan, aquadest, kloroform, amoniak, serbuk Mg, FeCl₃, HCl 1 M, H₂SO₄, Pereaksi Mayer, *niacinamide*, *ultrapure water*, hialuronidase, NaCl, NaOH, Na asetat, CH₃COOH, *Bovine Serum Albumin* (BSA), dapar fosfat, Na fosfat monobasic dan Na fosfat dibasic.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Ekstraksi Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Sampel yang digunakan adalah daun jeruk purut yang diambil dari daerah Batusangkar, Provinsi Sumatera Barat. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini diidentifikasi di Herbarium Jurusan Biologi Fakultas FMIPA Universitas Andalas (UNAND) Padang. Daun Jeruk Purut segar dicuci dan dibersihkan dari kotoran yang menempel pada daun, dikeringkan sampai kering, dirajang menjadi kecil-kecil, lalu di timbang sebanyak 1 kg kemudian dimasukkan ke dalam maserasi dengan direndam pelarut etanol 96%, etil asetat dan n-heksan di wadah yang berbeda. Setelah itu, pisahkan maserat dengan cara filtrasi dengan menggunakan kertas saring, lalu ulangi proses penyaringan sampai cairan penyaring tampak bening. Sehingga diperoleh 3 maserat dengan pelarut yang berbeda. Masing-masing maserat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental.

3.3.2 Pengujian Parameter Spesifik Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

1. Organoleptis

Pemeriksaan yang dilakukan dengan mengamati menggunakan panca indra terhadap bentuk, bau, rasa, dan warna (Depkes RI, 1979).

2. Rendemen

Pemeriksaan pada randemen ekstrak jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dilakukan dengan membandingkan berat ekstrak daun Jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang didapat dengan berat sampel awal lalu dihitung hasilnya (Depkes RI, 1979).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat awal sampel}} \times 100\%$$

3. Kelarutan

Pada pemeriksaan kelarutan pengerjaannya dilakukan di dalam pelarut aquadest dan etanol 96%. Timbang 10 mg ekstrak lalu dilarutkan masing-masingnya ke dalam aquadest dan dalam etanol 96% (Depkes RI, 1979)

3.3.3 Pengujian Parameter Non-Spesifik Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

1. Penetapan susut pengeringan

Timbang ekstrak sebanyak 1-2 g dalam botol timbang dangkal bertutup yang sebelumnya telah dipanaskan dalam oven dengan suhu penetapan (105°C) selama 1 jam atau hingga bobot tetap. Pada waktu oven dibuka, botol segera ditutup dan dibiarkan dalam desikator sampai suhunya mencapai suhu kamar sebelum ditimbang. Hitung susut pengeringan dengan rumus: (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

$$\% \text{ Susut pengeringan} = \frac{(B-A)-(C-A)}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Berat Krus Kosong (g)

B = Berat Krus + Sampel Sebelum Pengeringan (g)

C = Berat Krus + Sampel Setelah Pengeringan (g)

2. Penetapan kadar abu

Ekstrak daun jeruk purut ditimbang ekstrak sebanyak 2-3 g, dimasukkan ke dalam krus porselin yang telah dipijarkan dan ditara, kemudian ekstrak diratakan. Pijarkan perlahan-lahan sampai terbentuk arang. Krus dimasukkan ke dalam furnes dengan suhu $600 \pm 25^\circ\text{C}$ sampai bebas karbon, kemudian didinginkan dalam desikator dan ditimbang berat

abu kadar abu ditentukan dalam persen terhadap berat sampel yang digunakan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{C-A}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Berat Krus Kosong (g)

B = Berat Krus + Sampel Sebelum Pemijaran (g)

C = Berat Krus + Sampel Setelah Pemijaran (g)

3.3.4 Pengujian Parameter Fitokimia Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Ekstrak daun jeruk purut ditimbang sebanyak 1 gram dimasukkan ke corong pisah, ditambahkan 5 mL kloroform asetat, dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan, yaitu lapisan air digunakan untuk memeriksa senyawa flavonoid, fenolik dan saponin dan kloroform untuk memeriksa senyawa alkaloid, terpenoid dan steroid (Harbone, 1987).

1. Uji alkaloid (Metode “Culvenore – Fitzgerald”)

Diambil lapisan kloroform 1 ml, lalu ditambahkan 10 mL kloroform amoniak 0,05 N, diaduk perlahan, ditambahkan beberapa tetes H₂SO₄ 2N, selanjutnya dikocok perlahan, dibiarkan memisah. Lapisan asam ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Mayer, reaksi positif alkaloid ditandai adanya endapan putih hingga gumpalan putih.

2. Uji flavonoid (Metode “Sianidin Test”)

Diambil lapisan air 1 – 2 tetes lalu diteteskan pada plat tetes ditambahkan 1-2 butir logam Mg dan 2-3 Hcl(p), terbentuknya warna kuning, jingga atau merah menandakan adanya flavonoid.

3. Uji fenolik

Diambil lapisan air 1-2 tetes, diteteskan pada plat tetes dan ditambahkan FeCl_3 , terbentuknya warna hijau kehitaman menandakan adanya kandungan fenolik.

4. Uji saponin

Diambil 2 ml lapisan air, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, selanjutnya dikocok kuat-kuat. Terbentuknya busa permanen (\pm 15 menit) menandakan adanya saponin.

5. Uji terpenoid dan steroid (Metode “Simes”)

Diambil sedikit lapisan kloroform, selanjutnya ditambahkan norit lalu disaring. Hasil saringan yang didapat kemudian diteteskan ke plat tetes sampai kering, tambahkan asam asetat anhidrat serta $\text{H}_2\text{SO}_4(\text{p})$. Terbentuknya warna biru atau hijau menandakan adanya steroid sedangkan bila terbentuk warna merah menunjukkan adanya terpenoid.

3.3.5 Uji Aktivitas Inhibisi Hialuronidase Ekstrak Daun Jeruk Purut

1. Pembuatan larutan

a. Larutan uji

Timbang ekstrak dan *niacinamide* sebanyak 1 mg dan ditambah aquabidest steril sebanyak 2 mL (buat seri konsentrasi 25 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 50 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 200 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ dan 400 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$).

b. Larutan dapar fosfat 300 mM (pH 5,35 pada 37°C)

Pengenceran larutan 1:16,7 menggunakan larutan Na fosfat monobasik 5 M dalam *ultrapure water*. pH dijaga pada 5,35 pada 37°C menggunakan NaOH 1M atau HCl 1M. Timbang Na fosfat 2,1294 g, larutkan dengan *ultrapure water* ad 50 mL

c. Larutan asam albumin

Ditimbang 0,72 mL Na asetat 1 M pH 4,8 + 0,136 mL asam asetat + 30 mg *Bovine Serum Albumin* (BSA), larutkan, tambahkan *ultrapure water* ad 30 mL. pH dijaga 3,75 pada suhu 25°C dengan penambahan HCl 5 M.

d. Larutan asam hialuronat 0,015%

Ditimbang asam hialuronat 1,5 mg dilarutkan dengan larutan dapar fosfat 300 mM (pH 5,35) hingga 5 mL, panaskan larutan pada suhu 90 – 95°C dengan stirrer sampai asam hialuronat terlarut (15 – 30 menit), larutan dijaga jangan sampai mendidih. Setelah larut, larutan didinginkan sampai suhu 37°C dalam *water bath*, jaga volume larutan dengan menambahkan *ultrapure water*. pH dijaga 5,35 pada suhu 37°C dengan penambahan NaOH 1 M atau HCl 1 M. Larutan selanjutnya ditambahkan dengan larutan asam albumin sebanyak 5 mL dan larutkan.

e. Pelarut enzim

Ditimbang 0,2115 mL Na fosfat monobasik 0,2 M + 0,2885 mL Na fosfat dibasik + 0,077 mL NaCl 5 M + 0,5 mg *Bovine Serum Albumin* (BSA), larutkan, tambahkan *ultrapure water* ad 5 mL. pH dijaga 7,0 pada suhu 37°C dengan penambahan NaOH 1 M atau HCl 1 M

f. Enzim hialuronidase 0,02 mg/mL

Hialuronidase ditimbang sebanyak 0,1 mg kemudian dilarutkan dengan pelarut enzim pada kondisi dingin (2 – 8°C) hingga 5 mL.

2. Uji Aktivitas inhibisi Hialuronidase

- a. Larutan uji : larutan uji (Ekstrak dan *niacinamide* dengan berbagai konsentrasi) sebanyak 25 μL ditambah 3 μL enzim hialuronidase dan 12 μL dapar fosfat (pH 5,35), diamkan selama 10 menit pada suhu 37°C, tambahkan 10 μL asam hialuronat diamkan selama 45 menit pada suhu 37°C di tempat gelap. Larutan asam albumin ditambahkan 100 μL , diamkan pada suhu ruang selama 10 menit.
- b. Larutan uji kontrol : larutan uji (Ekstrak dan *niacinamide* dengan berbagai konsentrasi) sebanyak 25 μL ditambah 15 μL dapar fosfat (pH 5,35), diamkan selama 10 menit pada suhu 37°C, tambahkan 10 μL asam hialuronat diamkan selama 45 menit pada suhu 37°C di tempat gelap. Larutan asam albumin ditambahkan 100 μL , diamkan pada suhu ruang selama 10 menit.
- c. Larutan uji (A) : sebanyak 3 μL enzim hialuronidase ditambah 37 μL dapar fosfat (pH 5,35), diamkan selama 10 menit pada suhu 37°C, tambahkan 10 μL asam hialuronat diamkan selama 45 menit pada suhu 37°C di tempat gelap. Larutan asam albumin ditambahkan 100 μL , diamkan pada suhu ruang selama 10 menit.
- d. Larutan uji (B) : sebanyak 40 μL dapar fosfat (pH 5,35) ditambahkan 10 μL asam hialuronat diamkan selama 45 menit pada suhu 37°C di tempat gelap. Larutan asam albumin ditambahkan 100 μL , diamkan pada suhu ruang selama 10 menit.
- e. Ukur serapan pada panjang gelombang 600 nm
- f. Hitung persentase inhibisi

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{[(Lart.kontrol A - Lart.kontrol B) - (Lart.uji - Lart.uji kontrol)]}{(Lart.kontrol A - Lart.kontrol B)} \times 100\%$$

- g. Buat grafik konsentrasi dengan persentase inhibisi
- h. Tentukan nilai IC₅₀

3.3.6 Formulasi Gel Ekstrak Daun Jeruk Purut

1. Pemeriksaan bahan baku

TEA dan propilenglikol diperiksa sesuai dengan FI edisi III. *Carbopol* 940, kitosan dan DMDM hydantoin diperiksa sesuai dengan *Pharmaceutical Exipient* (Rowe, et al, 2009).

2. Formula sediaan gel ekstrak etanol daun jeruk purut

Tabel 1. Formula sediaan gel ekstrak etanol daun jeruk purut

Bahan	Jumlah (%)			
	F0 ₁	F0 ₂	F1	F2
Ekstrak daun jeruk purut	-	-	0,5	0,5
<i>Carbopol</i> 940	1	-	1	-
Kitosan	-	3	-	3
TEA	0,5	-	0,5	-
Asam asetat 1%	-	40	-	40
NaOH	-	5	-	5
Propilenglikol	10	10	10	10
DMDM hydantoin	0,3	0,5	0,3	0,5
Aquadest ad	100	100	100	100

Keterangan :

- F0₁ : Basis gel *carbopol* 940
- F0₂ : Basis gel kitosan
- F1 : Gel *carbopol* 940 ekstrak etanol daun jeruk purut
- F2 : Gel kitosan ekstrak etanol daun jeruk purut

3. Cara pembuatan gel

a. F0₁

Carbopol 940 dikembangkan ke dalam aquadest sebanyak 20 mL. Lalu diaduk sampai terbentuk massa kental. Kemudian ditambahkan TEA, diaduk hingga terbentuk massa gel. Tambahkan propilenglikol dan

DMDM hydantoin lalu diaduk hingga homogen, lalu cukupkan dengan aquadest, ad 100.

b. F0₂

Kitosan dikembangkan dengan asam asetat 1% sebanyak 40 mL. Lalu diaduk sampai terbentuk massa kental atau massa gel. Tambahkan propilenglikol dan DMDM hydantoin lalu diaduk hingga homogen, lalu cukupkan dengan aquadest, ad 100.

c. F1

Carbopol 940 dikembangkan ke dalam aquadest sebanyak 20 mL. Lalu diaduk sampai terbentuk massa kental. Kemudian ditambahkan TEA, diaduk hingga terbentuk massa gel. Tambahkan propilenglikol serta ekstrak etanol daun jeruk purut, setelah itu tambahkan DMDM hydantoin lalu aduk hingga homogen, lalu cukupkan dengan aquadest, ad 100.

d. F2

Kitosan dikembangkan dengan asam asetat 1% sebanyak 120 mL. Lalu diaduk sampai terbentuk massa kental atau massa gel. Tambahkan propilenglikol, DMDM hydantoin dan ekstrak etanol daun jeruk purut lalu diaduk hingga homogen, lalu cukupkan dengan aquadest, ad 100.

3.3.7 Evaluasi Sediaan

1. Uji organoleptis

Dilakukan dengan memeriksa tampilan fisik dari sediaan. Pemeriksaan yang dilakukan meliputi bentuk, warna, dan bau. Pengujian dilakukan selama 6 minggu.

2. Uji homogenitas

Sediaan gel dioleskan secara merata dan tipis di kaca objek, sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan diamati tiap minggunya selama 6 minggu.

3. Uji pH

Dikalibrasi alat pH meter dengan dapar pH 4 dan pH 7. Sebanyak 1 g sediaan diencerkan dengan aquadest hingga 10 mL, diaduk homogen. Elektroda dicelupkan ke dalam wadah tersebut dan dibiarkan angka bergerak sampai posisi konstan. Angka yang ditunjukkan pH meter merupakan pH sediaan.

4. Uji viskositas

Sebanyak 100 g sediaan ditempatkan dalam wadah kemudian celupkan rotor hingga tenggelam pada sediaan. Dijalankan viskometer Stormer (KU-3) kemudian viskositas dari gel terbaca. Pengukuran dilakukan pada saat setelah dibuat, minggu ke-3, dan minggu ke-6.

5. Pengujian stabilitas

- a. Pemeriksaan stabilitas dengan menggunakan metode *Freeze and Thaw* dengan cara sediaan gel untuk masing-masing formula ditimbang sebanyak 10 gram lalu dimasukkan ke dalam 3 pot yang ditutup rapat pada suhu 4°C selama 24 jam lalu dikeluarkan dan ditempatkan pada oven suhu 40°C selama 24 jam, proses ini dihitung selama 6 minggu.
- b. Stabilitas pada suhu ruang dengan memasukkan ke dalam vial dan selama 24 jam disimpan pada suhu ruang dan diamati selama 6 minggu jika terjadi pemisahan.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Identifikasi Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Identifikasi tanaman jeruk purut di lakukan di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Padang dengan nomor surat No. 410/K-ID/ANDA/VII/2023 pada tanggal 4 Juli 2023. Didapatkan sampel tanaman jeruk purut dengan spesies (*Citrus hystrix* DC.) dengan *Family* (Rutaceae). (Lampiran 1, gambar 6)

4.1.2 Pemeriksaan Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

1. Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Ekstraksi pada daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dilakukan menggunakan 3 pelarut yang berbeda yaitu etanol 96%, etil asetat, n-heksan. Proses ekstraksi daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dilakukan menggunakan *Rotary evaporator*. Sebanyak 1 kg daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) pada masing-masing pelarut didapati ekstrak etanol 96% sebanyak 102,754 g, ekstrak etil asetat sebanyak 55,4513 g dan ekstrak n-heksan sebanyak 20,031 g. (Lampiran 2, gambar 9)

2. Pemeriksaan Parameter Spesifik Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Pemeriksaan organoleptis ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan pelarut etanol 96%, etil asetat dan n-heksan semua pelarut berbentuk ekstrak kental, berwarna hijau kehitaman, berbau khas dan mempunyai rasa pahit. (Lampiran 3, tabel 2)

Pemeriksaan rendemen ekstrak etanol 96% daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yaitu 10,2754%, rendemen ekstrak etil asetat yaitu 5,54513% dan rendemen n-heksan yaitu 2,0031%. (Lampiran 3, tabel 2)

Pemeriksaan kelarutan pada ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) didapati hasil untuk ekstrak etanol 96% dengan pelarut aquadest sukar larut dan dengan pelarut etanol sukar larut. Ekstrak etil asetat dengan pelarut aquadest sukar larut dan dengan pelarut etanol sukar larut. Ekstrak n-heksan dengan pelarut aquadest sangat sukar larut dan dengan pelarut etanol sangat sukar larut. (Lampiran 3, tabel 2)

Pemeriksaan pH ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) didapati hasil pada ekstrak etanol 96% yaitu $4,64 \pm 0,25$, pada ekstrak etil asetat yaitu $2,13 \pm 0,17$, dan pada ekstrak n-heksan yaitu $5,75 \pm 0,16$. (Lampiran 3, tabel 2)

3. Hasil pemeriksaan parameter non spesifik ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

Pemeriksaan susut pengeringan dari ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) didapati nilai susut pengeringan pada ekstrak etanol 96% yaitu 9,2080%, pada ekstrak etil asetat yaitu 9,6029% dan pada n-heksan yaitu 10,2156%. (Lampiran 3, tabel 3)

Pemeriksaan kadar abu dari ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) didapati nilai kadar abu pada ekstrak etanol 96% yaitu 2,8089%, pada ekstrak etil asetat yaitu 2,7070% dan pada ekstrak n-heksan yaitu 1,2430%. (Lampiran 3, tabel 3)

4. Hasil pemeriksaan parameter fitokimia ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

Pemeriksaan fitokimia ekstrak etanol 96% dan ekstrak etil asetat daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) mengandung senyawa flavonoid, fenolik dan steroid. Sedangkan ekstrak n-heksan hanya mengandung terpenoid (Lampiran 3, tabel 4)

4.1.3 Uji Aktivitas Inhibisi Hialuronidase Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Berdasarkan hasil pengujian inhibisi hialuronidase dari ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) didapatkan nilai IC_{50} ekstrak etanol 96% yaitu 55,9469 $\mu\text{g/mL}$, nilai IC_{50} ekstrak etil asetat yaitu 97,8999 $\mu\text{g/mL}$, nilai IC_{50} ekstrak n-heksan yaitu 114,3011 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai IC_{50} *niacinamide* sebagai kontrol positif yaitu 45,7541 $\mu\text{g/mL}$. (Lampiran 4, tabel 5)

4.1.4 Formulasi Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

1. Pemeriksaan bahan baku pada bahan pembuatan gel seluruhnya memenuhi persyaratan.
2. Pemeriksaan organoleptis pada sediaan gel ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan basis *carbopol* 940 dan kitosan semua formula tidak mengalami perubahan selama 6 minggu (Lampiran 6, tabel 12)
3. Pemeriksaan homogenitas pada sediaan gel ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) didapati hasil bahwa semua formula homogen selama 6 minggu. (Lampiran 6, tabel 13)

4. Pemeriksaan pH pada sediaan gel ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) selama 6 minggu didapati hasil bahwa formula yang memiliki pH paling tinggi yaitu pada F0₁ dengan rata-rata pH $5,45 \pm 0,24$ dan formula yang memiliki pH paling rendah yaitu pada F2 dengan rata-rata sebesar $4,6 \pm 0,03$. (Lampiran 6, tabel 14)
5. Pemeriksaan viskositas pada sediaan gel ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dilakukan pada minggu ke-1, minggu ke-3 dan minggu ke-6 dan didapati hasil bahwa formula dengan viskositas tertinggi yaitu F0₂ dengan rata-rata viskositas $3788,33 \pm 16,666$ dan formula dengan viskositas terendah yaitu F0₁ dengan rata-rata viskositas $2104,56 \pm 49,926$ (Lampiran 6, tabel 16)
6. Pemeriksaan stabilitas pada sediaan gel ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) didapatkan hasil bahwa sediaan gel tidak mengalami pemisahan dan juga tidak mengalami perubahan fisik pada siklus *freeze and thaw* serta pada suhu ruang dan dinyatakan bahwa sediaan gel stabil. (Lampiran 6, tabel 18)

4.1.5 Uji Aktivitas Inhibisi Hialuronidase Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas inhibisi hialuronidase dari sediaan gel ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) didapati rata-rata inhibisi pada F0₁ yaitu 24,1192%, pada F0₂ yaitu 69,5122%, pada F1 yaitu 68,8347%, pada F2 yaitu 86,4499% dan pada ekstrak etanol yaitu 78,9973%. (Lampiran 7, tabel 19)

4.2 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk melihat potensi ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dalam menghambat hialuronidase. Serta pengaruh gelling agent *carbopol* 940 dan kitosan terhadap ekstrak daun jeruk purut. Penggunaan sampel daun jeruk purut pada penelitian ini dilatarbelakangi oleh penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa nilai antioksidan daun jeruk purut berada pada rentang sangat kuat yaitu 25,907 $\mu\text{g/mL}$ (Muzuka, *et al*, 2018). Ekstraksi pada daun jeruk purut ini menggunakan pelarut yang berbeda yaitu pelarut polar menggunakan etanol 96%, pelarut semi polar menggunakan etil asetat dan pelarut non polar menggunakan n-heksan. Tujuan menggunakan tiga pelarut yang berbeda yaitu untuk membandingkan ekstrak dari pelarut mana yang memiliki aktivitas inhibisi terbaik pada hialuronidase. Selanjutnya ekstrak yang terbaik akan di formulasikan dalam bentuk sediaan gel dengan basis *carbopol* 940 dan kitosan.

Pemeriksaan daun jeruk purut ini meliputi pemeriksaan spesifik, pemeriksaan non-spesifik dan pemeriksaan fitokimia. Pemeriksaan spesifik diantaranya yaitu pengujian organoleptis, rendemen, pH, dan kelarutan. Pemeriksaan organoleptis memiliki tujuan untuk mengetahui bentuk, bau, warna dan rasa dari ekstrak daun jeruk purut. Didapati hasil bahwa ekstrak daun jeruk purut dengan pelarut yang berbeda semuanya memiliki bentuk ekstrak kental, berbau khas, berwarna hijau kehitaman dan rasanya pahit. Pemeriksaan rendemen ekstrak daun jeruk purut bertujuan untuk mengetahui berapa banyak ekstrak yang didapatkan dari sampel yang digunakan. Semakin tinggi rendemen suatu ekstrak maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik dari sampel (Budiyanto, 2015). Dari hasil pemeriksaan, didapati rendemen ekstrak daun jeruk purut yang paling tinggi yaitu ekstrak dengan

pelarut etanol sebesar 10,2574% dan rendemen yang paling rendah yaitu ekstrak dengan pelarut n-heksan sebesar 2,0031%. Pemeriksaan pH bertujuan untuk melihat tingkat keasaman dari suatu ekstrak yang akan digunakan untuk membuat sediaan gel supaya tidak mengiritasi kulit ketika digunakan. Nilai pH kulit manusia berkisar antara 4,5-6,5. Jika pH ekstrak kurang dari 4,5 dapat mengiritasi kulit dan jika melebihi 6,5 dapat membuat kulit menjadi kering dan bersisik (Astuti, *et al.*, 2017). Hasil dari pengujian pH ekstrak daun jeruk purut yaitu ekstrak etanol dan n-heksan daun jeruk purut masih berada dalam rentang pH kulit manusia sedangkan ekstrak etil memiliki pH kurang dari 4,5 yang dapat mengiritasi kulit manusia. Pemeriksaan kelarutan bertujuan untuk mencari tingkat kelarutan dari ekstrak daun jeruk purut dalam air dan etanol. Ekstrak etanol dan etil asetat daun jeruk purut memiliki kelarutan sukar larut dalam pelarut aquadest maupun pelarut etanol. Ekstrak n-heksan memiliki kelarutan sangat sukar larut dalam pelarut aquadest dan dalam pelarut etanol.

Pemeriksaan parameter non-spesifik dari ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) meliputi pemeriksaan susut pengeringan dan pemeriksaan kadar abu. Pemeriksaan susut pengeringan bertujuan untuk melihat besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Nilai susut pengeringan yang memenuhi syarat yaitu tidak lebih dari 10% (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995). Pada ekstrak n-heksan daun jeruk purut tidak memenuhi syarat karena memiliki nilai susut pengeringan sebesar 10,2156% yang artinya ekstrak n-heksan daun jeruk purut merupakan ekstrak cair yang dimana banyak kandungan air yang masih terkandung dalam ekstrak. Pemeriksaan kadar abu bertujuan untuk mengetahui seberapa besar kandungan mineral dalam sampel yang didapatkan saat proses awal pembuatan

sampai terbentuknya ekstrak. Nilai kadar abu yang memenuhi syarat yaitu tidak melebihi 6% (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000). Hasil yang didapatkan semua ekstrak daun jeruk purut dengan pelarut yang berbeda memenuhi syarat.

Pemeriksaan parameter fitokimia pada ekstrak daun jeruk purut bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak daun jeruk purut. Skrining fitokimia melihat senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, terpenoid dan steroid. Hasil dari ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat daun jeruk purut diketahui mengandung senyawa flavonoid, fenolik dan steroid sedangkan ekstrak n-heksan daun jeruk purut hanya mengandung senyawa terpenoid. Berdasarkan penelitian yang dilakukan sebelumnya, ekstrak etanol daun jeruk purut mengandung senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, polifenolat, kuinon, monoterpenoid dan seskuiterpenoid (Arfania, 2017). Ekstrak etil asetat daun jeruk purut mengandung senyawa alkaloid, saponin, terpenoid, flavonoid, tanin dan polifenol (Listina, *et al*, 2023). Ekstrak n-heksan daun jeruk purut mengandung senyawa terpenoid (Fransiska, *et al*, 2021). Adanya perbedaan kandungan pada hasil penelitian yang dilakukan dengan penelitian sebelumnya yaitu bisa dipengaruhi oleh pelarut dan metode ekstraksi. Pelarut yang tidak sesuai memungkinkan senyawa aktif yang diinginkan tidak dapat tertarik secara baik dan sempurna (Azizah, *et al*, 2021). Hal ini dapat dipengaruhi juga oleh tempat tumbuh tanaman seperti suhu maupun jenis tanah pada tempat tanaman tumbuh.

Pengujian aktivitas inhibisi hialuronidase menggunakan alat *microplate reader* karena memiliki sifat sensitifitas yang tinggi, kecepatan deteksi yang tinggi, serta

sangat akurat, dan dilakukan pada panjang gelombang 600 nm. Pengujian aktivitas inhibisi hialuronidase bertujuan untuk melihat ada atau tidaknya inhibisi senyawa bioaktif yang terkandung pada ekstrak daun jeruk purut. Aktivitas penghambatan dari ekstrak ditentukan dengan melihat nilai IC_{50} yaitu konsentrasi dimana sampel uji menghambat aktivitas hialuronidase sebesar 50%. Kontrol positif yang digunakan pada pemeriksaan ini yaitu *niacinamide*. *Niacinamide* memiliki beberapa manfaat khususnya pada perawatan kulit meliputi pencerah, antiaging, pengobatan jerawat serta mengatasi dermatitis atopik (Aspadiah, 2023). Hasil dari nilai IC_{50} yang diperoleh pada ekstrak etanol daun jeruk purut yaitu 55,9469 $\mu\text{g/mL}$, pada ekstrak etil asetat yaitu 97,8999 $\mu\text{g/mL}$, pada ekstrak n-heksan yaitu 114,3011 $\mu\text{g/mL}$, dan pada *niacinamide* 45,7541 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan hasil yang diperoleh, ekstrak terbaik yang memiliki aktivitas inhibisi hialuronidase yang terbaik yaitu ekstrak etanol, karena semakin kecil nilai IC_{50} maka kemampuan penghambatan aktivitas hialuronidase semakin kuat. Setelah pemeriksaan ekstrak dilakukan, maka dilanjutkan dengan pembuatan sediaan gel dengan menggunakan ekstrak yang memiliki nilai IC_{50} yang paling bagus terhadap inhibisi hialuronidase yaitu ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.).

Setelah dilakukannya pembuatan sediaan gel, maka dilakukan evaluasi terhadap sediaan gel yang meliputi pengujian organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji viskositas dan uji stabilitas. Pemeriksaan organoleptis bertujuan untuk melihat sifat fisik sediaan gel secara visual seperti melihat bentuk, warna dan bau sediaan gel selama 6 minggu. Hasil dari uji organoleptis menunjukkan semua formula berbentuk setengah padat, berwarna bening dan berbau khas. Semua formula dinyatakan stabil atau tidak mengalami perubahan baik bentuk, warna dan bau selama 6 minggu.

Evaluasi homogenitas bertujuan untuk melihat apakah semua bahan pada sediaan tercampur rata atau tidak selama penyimpanan 6 minggu. Gel yang homogen menunjukkan gel yang stabil. Gel yang homogen ditandai dengan tidak adanya butir-butir kasar pada sediaan yang dioleskan pada kaca transparan (Depkes RI, 1979). Hasil evaluasi homogenitas menunjukkan bahwa semua formula gel dari ekstrak etanol daun jeruk purut mempunyai susunan yang homogen selama penyimpanan 6 minggu.

Evaluasi pH pada sediaan gel mempunyai tujuan untuk melihat apakah sediaan gel yang dibuat telah sesuai dengan pH kulit manusia yaitu pada rentang antar 4,5-6,5 sehingga tidak menimbulkan kerusakan pada kulit manusia. Jika pH ekstrak kurang dari 4,5 dapat mengiritasi kulit dan dapat membuat kulit menjadi kering dan bersisik jika melebihi 6,5 (Astuti, *et al.*, 2017). Hasil dari pengukuran pH selama 6 minggu memiliki nilai rata-rata yang masih berada pada rentang pH kulit manusia dan aman digunakan. Selanjutnya dilakukan analisis dengan menggunakan metode *One-way ANOVA* dan menunjukkan hasil pada formula F01 ada perbedaan yang signifikan ($p = 0,033$) yang terjadi perubahan pada minggu ke-6. Pada F2 ada perbedaan yang signifikan ($p = 0,02$) yang terjadi perubahan pada minggu ke-6.

Evaluasi viskositas pada sediaan gel memiliki tujuan untuk melihat tingkat kekentalan pada sediaan gel dengan menggunakan alat *viscometer Brookfield* pada minggu ke-1, minggu ke-3 dan minggu ke-6. Semakin tinggi nilai viskositas maka semakin tinggi tingkat kekentalan sediaan tersebut (Astuti, *et al.*, 2017). Persyaratan viskositas gel yang baik yaitu pada rentang 2000-4000 cPs (Setyawan, *et al.*, 2023). Hasil uji viskositas menunjukkan semua formula berada pada rentang viskositas gel yang baik. Selanjutnya dilakukan analisis menggunakan metode *One-way ANOVA*,

F02 menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P = 0,010$), terjadinya penurunan viskositas pada minggu ke-3 dan ke-6. Pada F2 menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P = 0,000$) terjadi penurunan pada setiap minggunya. Nilai viskositas sediaan dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti temperatur, cahaya, konsentrasi bahan baku dan kelembapan udara. Kemasan yang kurang kedap menyebabkan gel menyerap uap air dari luar sehingga menambah volume air dalam gel (Kumesan, *et al*, 2013).

Evaluasi stabilitas pada sediaan gel mempunyai tujuan untuk melihat kestabilan sediaan dengan metode *Freeze and Thaw*. Sediaan disimpan dalam dua suhu yang berbeda yaitu pada suhu dingin (4°C) selama 24 jam dan pada suhu ruang (40°C) selama 24 jam selama 6 siklus. Hasil uji stabilitas menunjukkan semua sediaan gel stabil ditandai dengan tidak terjadinya pemisahan serta tidak terjadinya perubahan fisik selama 6 siklus.

Pengujian inhibisi hialuronidase dilakukan terhadap sediaan gel dengan menggunakan alat *microplate reader* dengan panjang gelombang 600 nm. Pengujian dilakukan pada sediaan gel F01, F02, F1, F2 dan ekstrak etanol. Hasil dari pengujian inhibisi hialuronidase terhadap sediaan gel menunjukkan bahwa formula terbaik yaitu pada F2 yang memiliki rata-rata inhibisi tertinggi dengan nilai 86,44986% yang menggunakan *gelling agent* kitosan. Semakin tinggi persentase inhibisi, semakin kuat penghambatan terhadap hialuronidase.

Selanjutnya dilakukan analisis data menggunakan *one way ANOVA*. Analisis data menggunakan software SPSS untuk melihat perbedaan signifikan pada masing-masing formula dalam menghambat hialuronidase dengan $p < 0,05$. Hasil yang diperoleh yaitu adanya perbedaan yang signifikan ($p = 0,000$) pada masing-masing

formula gel. Untuk melihat perbandingan antara masing-masing formula dan ekstrak etanol dilanjutkan dengan pengujian *post hoc test*. Pada *post hoc test* terhadap formula dan ekstrak etanol dibandingkan dengan persentase inhibisi yang besar hingga persentase terkecil. Dari data yang diperoleh didapati hasil bahwa F2 dengan ekstrak tidak ada perbedaan signifikan ($P = 0,918$), F1 dengan ekstrak tidak ada perbedaan signifikan ($P = 0,793$), F2 dengan F02 tidak ada perbedaan signifikan ($P = 0,391$), F1 dengan F01 terdapat perbedaan signifikan ($P = 0,004$), F2 dengan F1 tidak ada perbedaan signifikan ($P = 0,357$). Jadi dari data tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak setelah dijadikan sediaan gel menggunakan *gelling agent carbopol 940* dan kitosan tidak berbeda dalam memberikan inhibisi hialuronidase. Pada *gelling agent* kitosan (F2 dengan F02) tidak ada perbedaan signifikan antara basis gel dengan gel menggunakan ekstrak sedangkan pada *gelling agent carbopol 940* (F1 dengan F01) terjadi perbedaan signifikan antara basis gel dengan gel menggunakan ekstrak.

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan pelarut yang berbeda memiliki aktivitas sebagai inhibisi hialuronidase. Ekstrak terbaik didapatkan pada ekstrak etanol dengan nilai IC_{50} sebesar 55,9469 $\mu\text{g/mL}$.
2. Ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dapat diformulasi dalam bentuk sediaan gel dengan basis *carbopol* 940 dan kitosan. Formula terbaik didapatkan pada F2 dengan %inhibisi hialuronidase sebesar 86,4499%.

5.2 Saran

1. Melakukan pengujian dari ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) terhadap aktivitas inhibisi enzim yang lain seperti elastase dan kolagenase.
2. Ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dapat dibuat dengan *gelling agent* yang lain seperti HPMC, CMC, Xanthan gum, dll.

DAFTAR PUSTAKA

- Afify.A.M., Stem. M., G. Markus., S. Robert. 1993. Purification and Characterization of Human Serum Hyaluronidase. *Archives of Biochem and Biophysics*.305(2):434 -441.
- Alwalidain, Chairani. 2023. Uji Aktivitas Tabir Surya, Inhibitor Tirosinase dan Antioksidan Serta Formulasi Sediaan Gel Ekstrak Sari Buah Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC). *Skripsi Padang* : Universitas Perintis Indonesia
- Aprilyanie, Isti, Virsa Handayani, Rezki Amriati Syarif. 2023. Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Buah Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.) Dengan Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Makassar Natural Product Journal* Vol.1 No.1
- Arfania, Maya. 2017. Telaah Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix* DC) Di Kabupaten Karawang. *PharmaXplore* Vol 2(2)
- Ary, W.B dan Waskito F., 2006. Berbagai Pengawet Kosmetik Sebagai Penyebab Dermatitis Kontak Alergi. *Dexa Media*, Vol 19 No. 2
- Aspadih, Vica, Suryani Wa Ode Sitti Z., Astrid I., Rahmat M. 2023. Review: Perawatan Kulit dengan *Niacinamide* Sebagai Bahan Aktif. *Lansau : Jurnal Ilmu Kefarmasian* Vol.1 No.1
- Astuti, D. P., Patihul Husni., Kusdi Hartono. 2017. Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Antiseptik Tangan Minyak Atsiri Bunga Lavender (*Lavandula angustifolia* Miller). *Farmaka Suplemen*, Vol 15 No.1
- Astuti, Ratnaningsih Dewi dan Debby Putri Milenia. 2021. Formulasi Dan Evaluasi Balsam Aroma Terapi Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) dengan Variasi Cera Alba Sebagai *Stabilizing Agent*. *Jurnal Kesehatan Farmasi* Vol.3 No.1
- Azizah, M. A., Kusnadi, Joko S. 2021. Perbedaan Metode Ekstraksi Terhadap Skrining Fitokimia Ekstrak Tanaman Krokot (*Portulaca oleracea* L). *jurnal Ilmiah Farmasi*
- Budiyanto, A. 2015. Potensi Antioksidan, Inhibitor Tirosinase dan Nilai Toksisitas dari Beberapa Spesies Tanaman Mangrove di Indonesia. *Skripsi Bogor* : Institut Pertanian Bogor
- Buhren, Bettina Alexandra., Holger Schruppf, Edwin Bolke, Kai Kammers dan Peter Arne Gerber. 2018. Standardized in vitro analysis of the degradability of hyaluronic acid fillers by hyaluronidase. *European journal of medical research*.
- Cruz, Ana M., Margarida C. Gonçalves, Matilde S. Marques, Francisco Veiga, Ana Cláudia Paiva-Santos dan Patricia C. Pires. 2023. Review : In Vitro Models

for Anti-Aging Efficacy Assessment: A Critical Update in Dermocosmetic Research. *Cosmetics* 10 (66) : 1-21.

- Deliara, Henas., Arum Kartikadewi, Dyah Mustika Nugraheni. 2020. Ekstrak Ethanol Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Berpotensi sebagai Agen Penurun Kolesterol : Studi In Vivo. *Medica Arteriana (MED-ART)*
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia, Edisi III*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia, Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta: Dikjen POM, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional; Hal 10-1.
- Elmitra, Yahdian Rasyadi, Naufal Amira. 2021. Uji Aktivitas Krim Antibakteri Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus Hystrix DC*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Pharmacy*, Vol. 8 No.2
- Fransiska, Angel Novia., Diba M., Hermin M., Irene V.S., Setya T. 2021. Identifikasi Senyawa Terpenoid dan Steroid Pada Beberapa Tanaman Menggunakan Pelarut n-Heksan. *Jurnal Health Sains* Vol.2 No.6
- Haerani, Ani., Anis Yohana Chaerunisa., Anas Subarnas. 2018. Artikel Tinjauan : Antioksidan Untuk Kulit. *Farmaka* Vol. 16 No.2
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Hariana, A. (2007). *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 1*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hyunwook, Jung. 2020. Hyaluronidase: An Overview Of Its Properties, Applications, and Side Effects. *National Library of Medicine*.
- Jusri, R., Widodo, W. S., Widowati, W., Armansyah, A., Sormin, D. E., Fachrial, E., Lister, I. N. E. 2019. Comparison of antioxidant and anti-hyaluronidase potentials of pineapple core extract (*Ananas comosus* (L.) Merr.) and Luteolin. *Majalah Kedokteran Bandung*, 51(2), 63±69.
- Kumesan, Y.A.N., Paulina V. Y. Yamelan, Hamidah S. Supriati. 2013. Formulasi dan Uji Aktivitas Gel Antijerawat Ekstrak Umbi Bakung (*Crinum Asiaticum* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi* Vol.2 No.2
- Lieberman, A. H., Rieger M.M., and S. G. Banker. 1998. *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse System, Volume 3, Second Edition, Revised and Expanded*. Marcel Dekker, New York.

- Liebert, Mary Ann. 1989. Find Report On The Safety Assessment Of DMDM Hydantoin. *Journal of The American College of Toxicology*. 7(3) : 1-33
- Listina, Osie., Agung Nur Cahyanta., Desi Sri Rejeki., Firman Sidiq Putrawan. 2023. Aktivitas Anti Jamur Senyawa Bioaktif Ekstrak Etil Asetat dan Metanol Daun Jeruk Purut (*Cytrus hystrix*) terhadap *Candida Albican*. *Journal of Health Science Research* Volume 1 No.1
- Milala, Sagita Crispy Br S. dan M. Pandapotan Nasution. 2023. Uji Antibakteri Formulasi Sediaan Hand Soap Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix* DC) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Journal of Health and Medical Science* Volume 2, Nomor 2
- Mumpuni, Esti., Esti Mulatsari, dan Tri Kumala Noerfa. 2019. Skrining Virtual dan Elusidasi Moda Ikatan Senyawa Inhibitor Enzim Elastase Dan Hyaluronidase Pada Beberapa Tanaman Dengan Aktivitas Anti-Aging. *Jurnal Farmasi Indonesia* Vol. 11(2)
- Muzuka, Muhammad Okta Dody, Adeltrudis Adelsa Danimayostus, Siti Jazimah Iswarin. 2018. Uji Antioksidan Etosom Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) sebagai Anti Penuaan Kulit dengan Metode DPPH. *Pharmaceutical Journal Of Indonesia* 2018. 3(2): 39-44
- Nathanael, Joshua., Nastiti W., dan P. Kianto Atmojo. 2015. Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) pada Sel HeLa *Cervical Cancer Cell Line*. *Jurnal Teknobiologi*. p1-12
- Plantamor. 2024. *Plantamor Situs Dunia Tumbuhan. Informasi spesies Jeruk Purut*. Diakses pada 13 Januari 2024
- Puspitasari, Dwi Anita dan Sumantri. 2019. Aktivitas Antioksidan Perasan Jeruk Manis (*Citrus sinensis*) dan Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Menggunakan Metode ABTS. *MFF* 2019; 23(2):48-51
- Qonitah, Fadilah, Reni Ariastuti, Nurul Astia Wuri, Pratiwi Maharani. 2022. Evaluasi Fisik Formula Krim yang Mengandung Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix*). *Jurnal UsahidSolo* Vol.2
- Ramadani, Siti Aysah Denti., Sugeng Riyanto., Eka Pebi Hartianty. 2023. Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) Terhadap *Propionibacterium acne*. *Jurnal Farmasi dan Farmakoinformatik* Vol.1 No.2
- Rihhadatulaisy, Sausan dan Norisca Aliza Putriana. 2020. Review : Aktivitas Anti Aging Pada Beberapa Tanaman Dengan Berbagai Metode Pengujiannya. *Periodical of Dermatology and Venereology* Vol.30 : 208-214.
- Rowe, R. C., Quinn, M. E. and Sheskey, P. J., 2009, *Handbook of Pharmaceutical Excipients, Edisi VII*. USA: Pharmaceutical Press and the American Pharmacist Association.

- Setyawan, Roby, Camelia D.P.S., Oky H., Suci R., Rose I. P. S., Arinda N.C. 2023. Formulasi, Evaluasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Antioksidan Ekstrak Tali Putri (*Cassytha filiformis* L). *bencoolen Journal of Pharmacy* Vol.3 No.1
- Sitinjak, risnauli. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Etanol Kulit Buah Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) Dengan Metode Pemerangkapan DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil). *Skripsi*. Medan: Universitas Sumatera Utara
- Soepomo. 2012. Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC). Indonesia: *Pusat Data dan Informasi PERSI*.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi* (Terjemahan) Noerono, S. Edisi V. UGM press: Yogyakarta
- Widyastuti, Lucia Maria Santoso, Riyanto. 2017. Pengaruh Ekstrak Kulit Jeruk Purut (*Citrus Hystrix* DC.) Terhadap penurunan kadar Asam Urat Mencit Jantan (*Mus Musculus* L.) Yang Diinduksi Kalium Bromat dan Sumbangannya Pada Pembelajaran Biologi Sma. *Jurnal Pembelajaran Biologi* Vol. 4(1)
- Yuhara, N. A., Rawar, E. A., & Kristariyanto, Y. A. 2022. Masker Peel-Off Kulit Buah Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Sebagai Antiacne. *FARMASIS: Jurnal Sains Farmasi*, 3(1), 12–17

Lampiran 1. Identifikasi Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)



HERBARIUM UNIVERSITAS ANDALAS (ANDA)
Departemen Biologi FMIPA Universitas Andalas Kampus Limau Manih Padang
Sumbang Indonesia 25163 Telp. +62-751-777427 e-mail: herbariumanda@yahoo.com

Nomor : 410/K-ID/ANDA/VII/2023
Lampiran : -
Perihal : Hasil Identifikasi

Kepada Yth,
Regina Islami Putri
di
Tempat

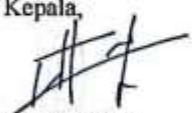
Dengan hormat,
Sehubungan dengan surat permohonan determinasi sampel jeruk purut dari Universitas Perintis Indonesia di Padang No. 433/ADK/FAK.FARMASI-UPERTIS/VI/2023 tanggal 4 Juli 2023 di Herbarium Universitas Andalas Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, kami telah membantu mengidentifikasi tumbuhan yang dibawa, dari:

Nama : Regina Islami Putri
No. BP : 2020112135
Instansi : Universitas Perintis Indonesia

Berikut ini diberikan hasil identifikasi yang dikeluarkan dari Herbarium Universitas Andalas.

No	Family	Spesies
1.	Rutaceae	<i>Citrus hystrix</i> DC.

Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Padang, 4 Juli 2023
Kepala,

Dr. Nurainas
NIP. 196908141995122001

Gambar 6. Surat Identifikasi (*Citrus hystrix* DC.)

Lampiran 1. (lanjutan)

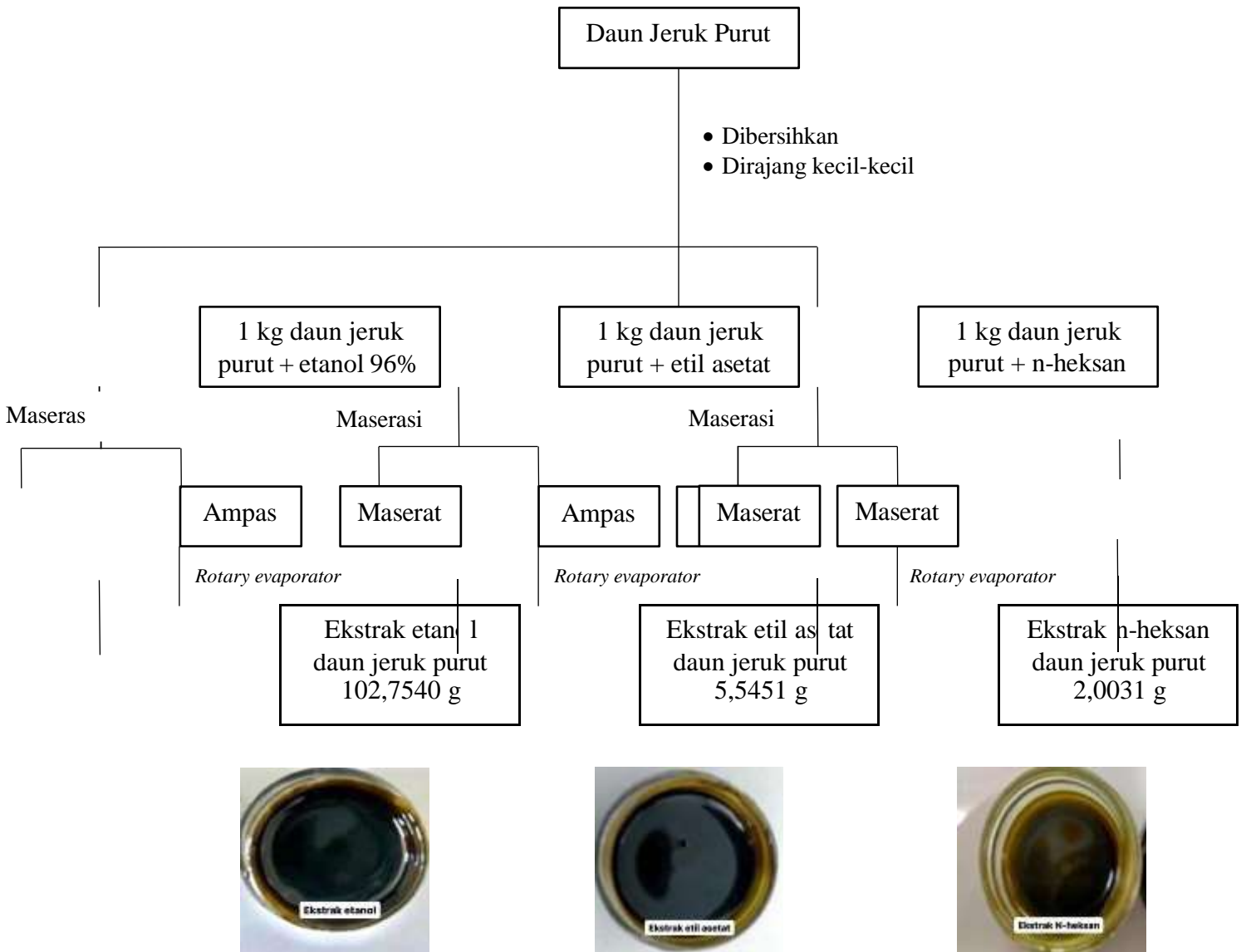


Gambar 7. Tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)



Gambar 8. Daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

Lampiran 2. Ekstraksi daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)



Gambar 9. Ekstraksi daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

Lampiran 3. Pemeriksaan ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

1. Parameter spesifik

Tabel 2. Hasil pemeriksaan parameter spesifik ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

No.	Jenis Pengujian	Hasil Pengujian Ekstrak		
		Etanol	Etil Asetat	n-Heksan
1.	Organoleptis • Bentuk • Warna • Bau • Rasa	Ekstrak kental Hijau kehitaman Khas Pahit	Ekstrak kental Hijau kehitaman Khas Pahit	Ekstrak kental Hijau kehitaman Khas Pahit
2.	Rendemen	10,2574%	5,5451%	2,0031%
3.	Ph	4,64 ± 0,25	2,13 ± 0,17	5,75 ± 0,16
4.	Kelarutan • Aquadest • Etanol	1:530 (sukar larut) 1:330 (sukar larut)	1:453 (sukar larut) 1:243 (sukar larut)	1:4660 (sangat sukar larut) 1:2916 (sangat sukar larut)

Perhitungan rendemen ekstrak daun jeruk (*Citrus hystrix* DC.)

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen ekstrak etanol} &= \frac{102,574 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 10,2574\% \end{aligned}$$

Lampiran 3. (lanjutan)

2. Parameter non spesifik

Tabel 3. Hasil pemeriksaan non spesifik ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

Pemeriksaan	Keterangan	Hasil Pengujian Ekstrak		
		Etanol	Etil Asetat	n-Heksan
Susut pengeringan	Berat krus kosong (A)	50,4048 g	57,1051 g	58,7771 g
	Berat krus + sampel sebelum pemijaran (B)	51,4061 g	58,1048 g	59,7834 g
	Berat krus + sampel setelah pemijaran (C)	51,2985 g	58,0088 g	59,6806 g
Hasil		9,2080 %	9,6029 %	10,2156 %
Kadar abu	Berat krus kosong (A)	51,3994 g	56,0958 g	58,7522 g
	Berat krus + sampel sebelum pemijaran (B)	53,4002 g	58,1054 g	60,8037 g
	Berat krus + sampel setelah pemijaran (C)	51,4556 g	56,1502 g	58,7777 g
Hasil		2,8089 %	2,7070 %	1,2430 %

- Perhitungan Susut Pengeringan

$$\% \text{ Susut Pengeringan} = \frac{(B-A)-(C-A)}{B-A} \times 100\%$$

$$\% \text{ SP ekstrak etanol} = \frac{(51,4061 \text{ g} - 50,4048 \text{ g}) - (51,2985 \text{ g} - 50,4048 \text{ g})}{51,4061 \text{ g} - 50,4048 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 9,2080\%$$

- Perhitungan Kadar Abu

$$\% \text{ Kadar abu} = \frac{C-A}{B-A}$$

$$\% \text{ Kadar abu ekstrak etanol} = \frac{51,4556 \text{ g} - 51,3994 \text{ g}}{53,4002 \text{ g} - 51,3994 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,0562 \text{ g}}{2,0008 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 2,8089\%$$

Keterangan :

SP = Susut Pengeringan

Lampiran 3. (lanjutan)

3. Skrining fitokimia

Tabel 4. Hasil pemeriksaan skrining fitokimia ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.)

No.	Uji Fitokimia	Pereaksi	Ekstrak Etanol	Ekstrak Etil Asetat	Ekstrak n-Heksan
1.	Alkaloid	1 mL larutan kloroform + 10 mL kloroform amoniak 0,05 N + 2 tetes H ₂ SO ₄ , aduk perlahan dan dibiarkan memisah, lapisan asam diambil lalu ditambah 2-3 tetes pereaksi mayer. Sampel mengandung alkaloid menandakan adanya endapan putih.	-	-	-
2.	Flavonoid	1-2 tetes lapisan air + 1-2 butir logam Mg dan 2-3 HCl, terbentuk warna merah menandakan adanya flavonoid.	+	+	-
3.	Fenolik	1-2 tetes lapisan air + FeCl ₃ . Terbentuknya warna hijau-kehitaman menandakan adanya fenolik.	+	+	-
4.	Saponin	2 mL lapisan air, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok kuat. Terbentuknya busa permanen selama ± 15 menit menandakan adanya saponin.	-	-	-
5.	Terpenoid	Lapisan kloroform disaring menggunakan norit + asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ (p). Terbentuknya warna merah meandakan adanya terpenoid.	-	-	+
6.	Steroid	Lapisan kloroform disaring menggunakan norit + asam asetat anhidrat + H ₂ SO ₄ (p). Terbentuknya warna biru atau hijau meandakan adanya steroid.	+	+	-

Keterangan :

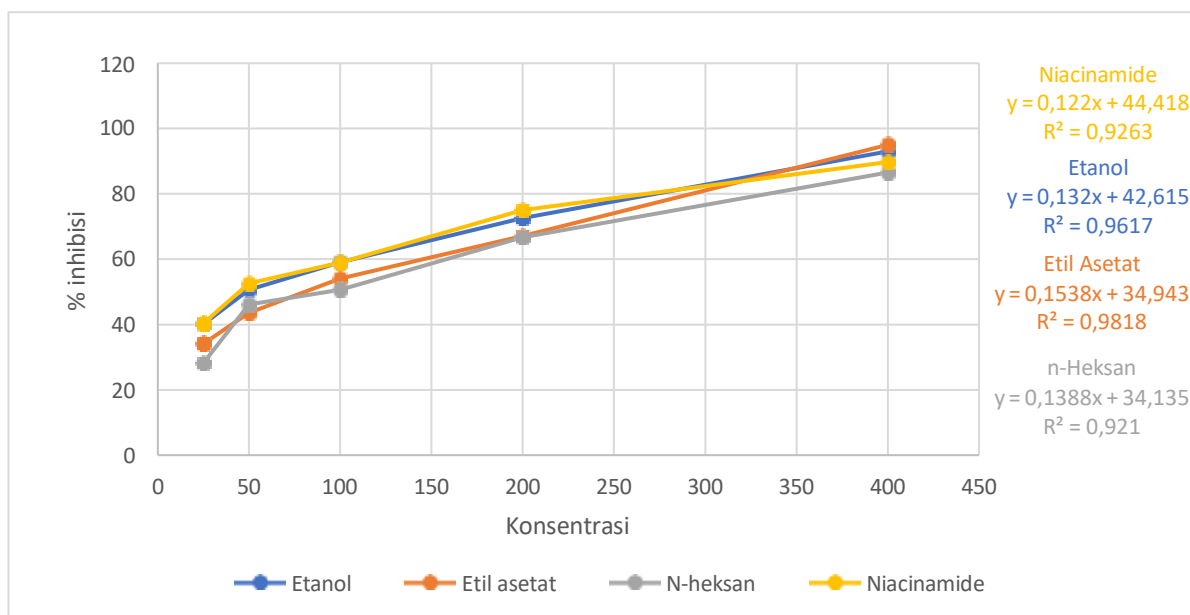
+ = ada

- = tidak ada

Lampiran 4. Pengujian Aktivitas Inhibisi Hialuronidase Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Tabel 5. Pengujian Aktivitas Inhibisi Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.) Terhadap Hialuronidase.

Sampel	Konsentrasi $\mu\text{g/mL}$	% inhibisi			Rata-rata % inhibisi
Etanol	25	46,10778	34,13174	40,11976	40,11976
	50	44,61078	50,5988	56,5868	50,5988
	100	67,0659	49,1018	61,0778	59,0818
	200	80,5389	74,5509	62,5749	72,5549
	400	97,0060	91,0180	91,0180	93,0140
Etil Asetat	25	34,13174	40,11976	28,14371	34,13174
	50	53,59281	35,62874	41,61677	43,61277
	100	52,09581	52,09581	58,08383	54,09182
	200	67,06587	61,0778	73,05389	67,0659
	400	97,0060	91,0180	97,0060	95,0100
n-Heksan	25	15,3846	38,4615	30,7692	28,2051
	50	46,1538	53,8462	38,4615	46,1538
	100	48,0769	40,3846	63,4615	50,641
	200	61,5385	69,2308	69,2308	66,6667
	400	78,8462	94,2308	86,5385	86,5385
Niacinamide	25	25	40,3846	55,7692	40,3846
	50	42,30769	57,69231	57,69231	52,5641
	100	69,2308	61,5385	46,1538	58,9744
	200	75	82,6923	67,3077	75
	400	92,3077	92,3077	84,6154	89,7436



Gambar 10. Grafik pengujian aktivitas inhibisi hialuronidase

Lampiran 4. (lanjutan)

Tabel 6. Hasil Perhitungan Nilai IC₅₀ Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.) Terhadap Hialuronidase

Ekstrak	Persamaan Regresi	R²	IC₅₀ (µg/mL)
Etanol	$y = 0,1320x + 42,6150$	0,9617	55,9469
Etil asetat	$y = 0,1538x + 34,9430$	0,9818	97,8999
n-Heksan	$y = 0,1388x + 34,1350$	0,9210	114,3011
<i>Niacinamide</i>	$y = 0,1220x + 44,4180$	0,9263	45,7541

Contoh perhitungan :

Mencari nilai IC₅₀ ekstrak etanol dari persamaan regresi antara konsentrasi dengan % inhibisi yaitu :

$$y = 0,1320x + 42,6150$$

$$50 = 0,1320x + 42,6150$$

$$50 - 42,6150 = 0,1320x$$

$$10,546 = 0,1320x$$

$$x = \frac{7,3850}{0,1320}$$

$$x = 55,9469$$

Lampiran 5. Identifikasi Bahan Baku

1. Carbopol 940

Lubrizol		Product Specification	
CARBOPOL® 940 NF POLYMER			
Carbopol® 940 NF polymer meets the limits cited in the current edition of the following monograph:			
<ul style="list-style-type: none"> United States Pharmacopeia/National Formulary (USP/NF) monograph for Carbomer 940 			
General Product Characteristics			
Appearance: White, fluffy powder			
Odor: Slightly acetic			
Test	Specification	Lot Test Frequency ¹	Test Procedure ²
Identification			
Colorimetric test	Pass	1:200	USP/NF
Gel formation test	Pass	1:200 ³	USP/NF
Carboxylic Acid Content, Assay %	56.0 - 68.0	1:1	Lubrizol 1318-A
Viscosity, cP, 25°C			
Brookfield RVT, 20 rpm, neutralized to pH 7.3 - 7.6			
0.5 wt% mucilage, spindle #7	40,000 - 80,000	1:1	Lubrizol 430-I
Clarity, % Transmission			
0.5% Dispersion, neutralized, 420 nm	85 min	1:1	Lubrizol 485-D
Loss on Drying, %	2.0 max	1:1	USP/NF
Heavy Metals, ppm			
Total heavy metals, as Pb	20 max	1:200	USP/NF
Specific metals: Hg, Pb, As, Sb	10 max	1:200	Lubrizol SA-012
Residual Solvent⁴, ppm			
Benzene	1,000 max	1:1	Lubrizol SA-095
Residual Monomer, ppm			
Free acrylic acid	2,500 max	1:1	Lubrizol SA-005
¹ Where lot test frequency is less than 1:1, Lubrizol Advanced Materials, Inc. certifies that each batch/lot meets requirements for the characteristics based on historical process and product data. Because these characteristics are tested on a skip-lot test frequency, results are not reported on the Certificate of Analysis.			
² Lubrizol test procedures have been cross-validated to specified compendial procedure(s) or validated if they are included in the monograph.			
³ Gel formation is confirmed by the viscosity test procedure (Lubrizol 430-I) for each lot of polymer that is produced. Every 200 lots, the gel formation test is conducted according to USP requirements.			
⁴ No other residual solvents as listed in USP/NF <467> (Class 1, 2, 3, Table 4 or any other solvents) or Ph. Eur. 2.4.24 are used in the manufacturing process of this product. Since the monograph specifies a limit for benzene, the Residual Solvents test <467> limit for benzene is superseded by the monograph limit.			
<small>The information contained herein is believed to be reliable, but no representation, guarantee or warranty of any kind is made as to its accuracy, suitability for particular applications or the results to be obtained. The information refers to material as manufactured with normal, tested equipment and does not necessarily indicate end product performance or reproducibility. Formulations provided may not have been tested for stability and should be used only as a suggested starting point. Because of the variability of methods, conditions and equipment used commercially to produce these materials, the responsibility for guaranteeing the results to the suitability of the products for the applications described, full-scale testing and end product performance are the responsibility of the user. Lubrizol Advanced Materials, Inc. shall not be liable for and the customer assumes all risk and liability for any and all use or handling of any material beyond Lubrizol Advanced Materials, Inc.'s direct control. THE SELLER MAKES NO WARRANTIES, EXPRESS OR IMPLIED, INCLUDING, BUT NOT LIMITED TO, THE IMPLIED WARRANTIES OF MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. Nothing contained herein is to be construed as permission, recommendation or an inducement to practice any patented invention without permission of the patent owner.</small>			
<small>Lubrizol Advanced Materials, Inc. / 3911 Brookville Road, Cleveland, Ohio 44134-2247 / 216.442.2000</small>			
<small>Rev. 20180901</small>			

Gambar 11. Sertifikat Analisis *Carbopol 940*

Tabel 7. Identifikasi Pemeriksaan *Carbopol 940*

No	Pemeriksaan	Persyaratan (Rowe <i>et.al</i> , 2009)	Pengamatan
1.	Organoleptis <ul style="list-style-type: none"> Bentuk Warna Bau 	Serbuk Halus putih Praktis tidak berbau	Serbuk Halus putih Praktis tidak berbau
2.	Kelarutan <ul style="list-style-type: none"> Dalam air Dalam etanol 95% 	Larut dalam air -	Larut dalam air -

Lampiran 5. (lanjutan)

2. Kitosan



Gambar 12. Sertifikat Analisis Kitosan

Tabel 8. Identifikasi Pemeriksaan Kitosan

No	Pemeriksaan	Persyaratan (Rowe <i>et.al</i> , 2009)	Pengamatan
1.	Organoleptis <ul style="list-style-type: none"> • Bentuk • Warna • Bau 	Serbuk Halus putih Praktis tidak berbau	Serbuk Halus putih Praktis tidak berbau
2.	Kelarutan <ul style="list-style-type: none"> • Dalam air • Dalam etanol 95% 	Sukar larut Praktis tidak larut	Sukar larut Praktis tidak larut

Lampiran 5. (lanjutan)

3. Triethanolamine (TEA)



The image shows a specification sheet for Triethanolamine EMPLURA®. It features a blue 'M' logo in the top right corner. The title 'Specification' is prominently displayed. Below the title, the product identifier '8.22341.5000 Triethanolamine EMPLURA®' is listed. A table of specifications follows, detailing Assay (GC, area%), Density (d 20 °C/4 °C), Water (K. F.), and Identity (IR) with their respective values and units. A note at the bottom explains that the product's state (solid, liquid, or supercooled melt) depends on its specific melting range. The sheet is signed by Dr. Oliver Schramel, the responsible laboratory manager for quality control.

Specification		
Assay (GC, area%)	≥ 99.0	% (area)
Density (d 20 °C/4 °C)	1.122 - 1.125	
Water (K. F.)	≤ 0.30	%
Identity (IR)	passes test	

Due to its specific melting range the product may be solid, liquid, a solidified melt or a supercooled melt.

Dr. Oliver Schramel
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

Gambar 13. Sertifikat Analisis Triethanolamine (TEA)

Tabel 9. Identifikasi Pemeriksaan Triethanolamine (TEA)

No	Pemeriksaan	Persyaratan (Rowe <i>et.al</i> , 2009)	Pengamatan
1.	Organoleptis <ul style="list-style-type: none">• Bentuk• Warna• Bau	Cairan kental Tidak berwarna Tidak berbau	Cairan kental Tidak berwarna Tidak berbau
2.	Kelarutan <ul style="list-style-type: none">• Dalam air• Dalam etanol 96%	Tercampur Tercampur	Mudah larut Mudah larut

Lampiran 5. (lanjutan)

4. Propilenglikol

Date: 2021-05-27 (YYYY-MM-DD) Time: 19:05:25 (HH:MM:SS) Page 1 of 4

 DOW (CHEMICAL PACIFIC (SINGAPORE) PRIVATE LIMITED		Ship From: Tuan Lee Cheang Sdn Bhd Chonburi Thailand			
Certificate of Analysis Product Number: 0000114077 Product Name: Propylene Glycol USP/EP Delivery No.: 82098296 / 000010 Codes Number: 112482916 Shipping Units: 40,000 DR Date Shipped: 2021-05-27 (YYYY-MM-DD) Shipment No.: 38829032		Customer Information  Container ID: 0000114049 Specification Number: 0000005918			
Batch Number: 081510961 Seal Number: Expiration Date: 2023-05-23 (YYYY-MM-DD) Manufacturing Date: 2021-05-23 (YYYY-MM-DD) Quantity: 40,000 DR Net Weight: 9400,000 KG Manufacturing Plant: MTY AIR PU Manufacturer's Address: 10/A Nov 2 ARIA IND NET SANGKANG Rayong 21130		It is hereby certified that the material indicated above has been inspected and tested in accordance with the conditions and requirements of the contract or purchase order and, unless agreed otherwise conforms in all respects to the specification relevant thereto and it meets all requirements of the current United States Pharmacopoeia, current Food Chemical Codex, current European Pharmacopoeia and current Pharmacopoeia of Japan.			
Test	Unit	Lower Limit	Upper Limit	Value	Method
Assay	%	99.80	-	99.95	Current USP
M Acidity	ml	-	0.20	0.02	Current USP
M Chlorides	ppm	-	70	< 70	Current USP
M Residue on Ignition per 10g	mg	-	3.50	0.92	Current USP
M Specific Gravity @ 25/25°C		1.035	1.037	1.036	Current USP
Spec. Grav. @ 20C		1.0374	1.0388	1.0380	ASTM D4052
M Sulfate	ppm	-	40	< 40	Current USP
Water Content	%	-	0.200	0.028	Current USP


Gambar 14. Sertifikat Analisis Propilenglikol

Tabel 10. Identifikasi Pemeriksaan Propilenglikol

No	Pemeriksaan	Persyaratan (Rowe <i>et.al</i> , 2009)	Pengamatan
1.	Organoleptis <ul style="list-style-type: none"> • Bentuk • Warna • Bau 	Cairan Tidak berwarna Tidak berbau	Cairan Tidak berwarna Tidak berbau
2.	Kelarutan <ul style="list-style-type: none"> • Dalam air • Dalam etanol 95% 	Larut Larut	Larut Larut

Lampiran 5. (lanjutan)

5. DMDM Hydantoin



NGUYEN BA TRADING AND MANUFACTURING CO. LTD
 947/46/6 Cach Mang Thang 8 Street, Ward 7, Tan Binh District.
 Tel: 39490974 – 39771039 – Fax: 39491374
 Email: nguyenbachem@hotmail.com – Website: <http://nguyenbachem.com>

DMDM Hydantoin

Chemical name:
 Dimethylol Dimethyl Hydantoin (DMDMH)

CAS NO: 6440-58-0

Trade name:
 Hydantoin, 1,3-bis(hydroxymethyl)-5,5-dimethyl-, 1,3-Bis(hydroxymethyl)-5,5-dimethylhydantoin; 1,3-dimethylol-5,5-dimethylhydantoin; 2,4-Imidazolidinedione, 1,3-bis(hydroxymethyl)-5,5-dimethyl-; Dantoin dmdmh 55; Dimethylol-5,5-dimethylhydantoin; DMDM hydantoin; dmdmh; dmdmh 55; Glydant; Nipeguard

Molecular formula: C7H12N2O4

Molecular weight: 188.2

Introduction:
 DMDMH is biocide. The active ingredient provides broad-spectrum activity against common bacteria and fungi. It is approved by EPA and FDA for industrial and cosmetic applications.

Physical and Chemical Properties:
 Percent Active: 55.0%
 Description: Colorless liquid
 PH: 6.5-7.5
 Stability: Stable for 1 year @ 25 °C

Gambar 15. Sertifikat Analisis DMDM Hydantoin

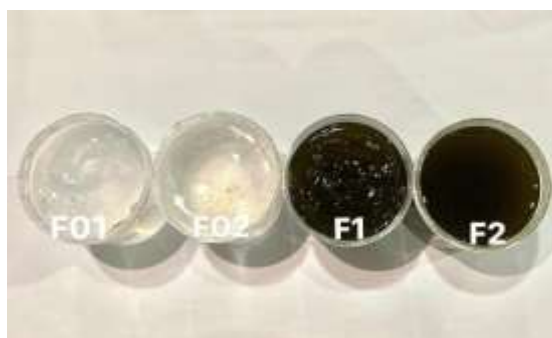
Tabel 11. Identifikasi Pemeriksaan DMDM Hydantoin

No	Pemeriksaan	Persyaratan (Rowe <i>et.al</i> , 2009)	Pengamatan
1.	Organoleptis <ul style="list-style-type: none"> • Bentuk • Warna • Bau 	Cairan kental Tidak berwarna Tidak berbau	Cairan kental Tidak berwarna Tidak berbau
2.	Kelarutan <ul style="list-style-type: none"> • Dalam air • Dalam etanol 95% 	Larut Larut	Larut Larut

Lampiran 6. Evaluasi Organoleptis Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Tabel 12. Hasil Evaluasi Organoleptis Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Parameter		Minggu ke-					
		1	2	3	4	5	6
F0 ₁	<ul style="list-style-type: none"> • Bentuk • Warna • Bau 	½ padat Bening Khas	½ padat Bening Khas	½ padat Bening Khas	½ padat Bening Khas	½ padat Bening Khas	½ padat Bening Khas
F0 ₂	<ul style="list-style-type: none"> • Bentuk • Warna • Bau 	½ padat Bening Khas	½ padat Bening Khas	½ padat Bening Khas	½ padat Bening Khas	½ padat Bening Khas	½ padat Bening Khas
F1	<ul style="list-style-type: none"> • Bentuk • Warna • Bau 	½ padat Hijau pekat Khas	½ padat Hijau pekat Khas	½ padat Hijau pekat Khas	½ padat Hijau pekat Khas	½ padat Hijau pekat Khas	½ padat Hijau pekat Khas
F2	<ul style="list-style-type: none"> • Bentuk • Warna • Bau 	½ padat Hijau pekat Khas	½ padat Hijau pekat Khas	½ padat Hijau pekat Khas	½ padat Hijau pekat Khas	½ padat Hijau pekat Khas	½ padat Hijau pekat Khas



Gambar 16. Organoleptis Sediaan Gel

Keterangan :

F0₁ : Basis gel *carbopol* 940

F0₂ : Basis gel kitosan

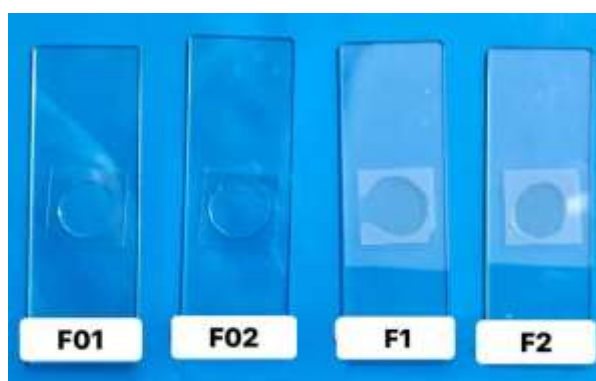
F1 : Gel *carbopol* 940 ekstrak etanol daun jeruk purut

F2 : Gel kitosan ekstrak etanol daun jeruk purut

Lampiran 6. (lanjutan)

Tabel 13. Hasil Evaluasi Homogenitas Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut
(*Citrus hystrix* DC.)

Formula	Minggu ke-					
	1	2	3	4	5	6
F0 ₁	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
F0 ₂	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
F1	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
F2	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen



Gambar 17. Homogenitas Sediaan Gel

Keterangan :

F0₁ : Basis gel *carbopol* 940

F0₂ : Basis gel kitosan

F1 : Gel *carbopol* 940 ekstrak etanol daun jeruk purut

F2 : Gel kitosan ekstrak etanol daun jeruk purut

Lampiran 6. (lanjutan)

Tabel 14. Hasil Pemeriksaan pH Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Formula	Minggu ke-						Rata-rata ± SD	P< 0,05
	1	2	3	4	5	6		
F0 ₁	5,18	5,13	5,19	5,48	5,48	5,49	5,45 ± 0,24	0,033
	5,48	4,95	5,49	5,13	5,19	6,40		
	5,49	5,01	5,49	5,18	6,13	6,13		
Rata-rata	5,38 ± 0,14	5,03 ± 0,07	5,39 ± 0,13	5,26 ± 0,14	5,6 ± 0,35	6,01 ± 0,34		
F0 ₂	4,73	4,75	4,77	4,75	4,80	4,78	4,76 ± 0,03	0,096
	4,70	4,76	4,69	4,80	4,76	4,76		
	4,77	4,72	4,72	4,78	4,88	4,76		
Rata-rata	4,73 ± 0,02	4,74 ± 0,02	4,73 ± 0,03	4,78 ± 0,02	4,81 ± 0,04	4,77 ± 0,01		
F1	4,95	4,95	4,86	4,89	5,18	5,01	4,97 ± 0,07	0,093
	4,92	5,13	4,89	4,92	4,94	5,19		
	4,86	4,94	4,95	4,92	4,88	5,13		
Rata-rata	4,91 ± 0,03	5,01 ± 0,08	4,9 ± 0,03	4,91 ± 0,01	5 ± 0,12	5,11 ± 0,07		
F2	4,54	4,56	4,60	4,60	4,62	4,70	4,6 ± 0,03	0,002
	4,56	4,60	4,56	4,63	4,60	4,63		
	4,53	4,56	4,62	4,63	4,64	4,64		
Rata-rata	4,54 ± 0,01	4,57 ± 0,02	4,59 ± 0,02	4,62 ± 0,01	4,62 ± 0,01	4,66 ± 0,03		

Tabel 15. Hasil Uji ANOVA pH F0₁, F0₂, F1 dan F2 Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

ANOVA

F0₁

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.655	5	.331	3.575	.033
Within Groups	1.111	12	.093		
Total	2.765	17			

F0₂

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.016	5	.003	2.431	.096
Within Groups	.016	12	.001		
Total	.031	17			

F1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.102	5	.020	2.464	.093
Within Groups	.099	12	.008		
Total	.201	17			

F2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.024	5	.005	7.485	.002
Within Groups	.008	12	.001		
Total	.032	17			

Lampiran 6. (lanjutan)

Tabel 16. Hasil Pengujian Viskositas Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Formula	Viskositas cP (minggu/waktu)			Rata-rata ± SD	P < 0,05
	1	3	6		
F0 ₁	2392	2368	2151	2223,11 ± 51,41	0,428
	2264	2254	2259		
	2136	2156	2028		
Rata-rata	2264 ± 85,33	2259,33 ± 72,44	2146 ± 78,67		
F0 ₂	3922	3753	3838	3803,11 ± 29,04	0,177
	3818	3779	3745		
	3809	3789	3784		
Rata-rata	3846,67 ± 48,22	3773,67 ± 13,78	3789 ± 32,67		
F1	2574	2487	2451	2488,56 ± 66,9631	0,010
	2663	2456	2368		
	2530	2510	2358		
Rata-rata	2589 ± 49,333	2484,333 ± 18,889	2392,333 ± 39,111		
F2	3695	3627	3474	3601,56 ± 92,592	0,000
	3725	3622	3440		
	3686	3671	3474		
Rata-rata	3702 ± 15,333	3640 ± 20,667	3462,667 ± 15,111		

Tabel 17. Hasil Uji ANOVA Viskositas F0₁, F0₂, F1 dan F2 Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

ANOVA

F0₁

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26790.222	2	13395.111	.980	.428
Within Groups	82000.667	6	13666.778		
Total	108790.889	8			

F0₂

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10859.556	2	5429.778	2.344	.177
Within Groups	13901.333	6	2316.889		
Total	24760.889	8			

F1













	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	58096.889	2	29048.444	10.987	.010
Within Groups	15863.333	6	2643.889		
Total	73960.222	8			

F2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	92571.556	2	46285.778	90.796	.000
Within Groups	3058.667	6	509.778		
Total	95630.222	8			

Lampiran 6. (lanjutan)

Tabel 18. Hasil Pengujian Stabilitas (Freeze and Thaw) Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Siklus	24 jam pada suhu (4 ⁰)	24 jam pada suhu (40 ⁰)	Keterangan
Siklus 1			Stabil
Siklus 2			Stabil
Siklus 3			Stabil
Siklus 4			Stabil
Siklus 5			Stabil
Siklus 6			Stabil

Lampiran 7. Pengujian Aktivitas Inhibisi Hialuronidase Etanol Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

Tabel 19. Pengujian Aktivitas Inhibisi Gel Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.) Terhadap Hialuronidase.

Sampel	% Inhibisi			Rata-rata % inhibisi
F0 ₁	18,69919	26,82927	26,82927	24,1192
F0 ₂	77,64228	69,5122	61,38211	69,5122
F1	71,54472	55,28455	79,6748	68,8347
F2	91,86992	75,60976	91,86992	86,4499
Ekstrak Etanol	97,96748	73,57724	65,44715	78,9973

Tabel 20. Hasil Uji ANOVA Aktivitas Inhibisi Gel Etanol Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.)

ANOVA

Inhibisi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7081.870	4	1770.468	14.349	.000
Within Groups	1233.836	10	123.384		
Total	8315.706	14			

Tabel 21. *Post Hoc Test* Perhitungan Ekstrak Etanol Elastase

Sampel	Mean	Mean Difference (I-J)			
		F01	F1	F02	Ekstrak
F2	86,44	62,33*	17,61	16,93	7,45
Ekstrak	78,99	54,88*	10,16	9,48	-
F02	69,51	45,40*	0,68	-	-
F1	68,83	44,72*	-	-	-
F01	24,11	-	-	-	-

Keterangan :

* : Berbeda nyata