

**FORMULASI EMULGEL DAN UJI AKTIVITAS  
ANTIOKSIDAN SUBFRAKSINASI EKSTRAK ETIL  
ASETAT KULIT JERUK PURUT (*Citrus hystrix* D.C)**

**DRAFT PROPOSAL**



**Oleh :**

**AHMAD ABRAR HERRU**  
**NIM : 2020112007**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA  
PADANG  
2023**

## BAB I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Radikal bebas merupakan salah satu factor yang menyebabkan terjadinya berbagai penyakit degeneratif. Radikal bebas sudah sejak lama diketahui dapat menyebabkan kerusakan sel, *reticulum endoplasma* dan dapat mengganggu Deoxyribonucleic acid (DNA) (Fajrawati 2013). Polusi, debu merupakan contoh sumber radikal bebas, selain dapat menimbulkan penyakit-penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes melitus dan hipertensi radikal bebas juga merupakan salah satu factor penuaan dini (Zuhra *et al*, 2008). Radikal bebas berlebih dalam tubuh dapat menimbulkan penyakit seperti penuaan dini, penyakit degeneratif, kanker dan jantung. Molekul tidak stabil dan reaktif dari radikal bebas dapat berinteraksi dengan molekul sekitar untuk mencapai kestabilan (Mustarichie and Priambodo, 2019). Radikal bebas dapat dinetralisir dengan senyawa antioksidan.

Antioksidan bekerja pada beberapa cara berbeda terhadap proses oksidatif yaitu scavenging radikal bebas secara enzimatik atau dengan reaksi kimia langsung, *scavenging* radikal lipid peroksil, berikatan dengan ion logam dan memperbaiki kerusakan oksidatif. Antioksidan berfungsi menambahkan atau menghilangkan satu elektron untuk menetralsir ROS, sehingga radikal bebas menjadi stabil dan menghambat proses oksidasi. (Bauman L *et al* ., 2009)

Buettner dan Vertuani membagi antioksidan berdasarkan cara kerjanya yaitu antioksidan primer dan sekunder. Antioksidan primer disebut juga antioksidan pemecah rantai, antioksidan ini bekerja dengan memecah rantai reaksi sehingga

radikal bebas menjadi kurang reaktif. Antioksidan sekunder atau disebut juga antioksidan preventif yang bekerja dengan menginaktifkan logam, *scavenge singlet oxygen* dan menstabilkan ROS. Antioksidan juga dapat dibagi berdasarkan kelarutannya menjadi antioksidan hidrofilik dan hidrofobik. Antioksidan hidrofilik atau water soluble adalah antioksidan yang bereaksi dengan ROS pada sitoplasma sel dan plasma darah, contohnya asam askorbat, glutathione dan asam urat. Antioksidan hidrofobik atau lipid soluble adalah antioksidan yang melindungi membran sel dari lipid peroksidase, contohnya karoten, *α-tokoferol* dan ubiquinon. (Bauman L *et al.* , 2009)

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dapat berasal dari bahan alami dan juga sintetis. Antioksidan alami yang berasal dari metabolit sekunder tumbuhan fenolik atau polifenol, flavonoid, asam sinamat, kumarin, tokoferol, dan asam organik (Irianti, Tanti T *et al.*, 2017). Antioksidan sintetis berasal dari bahan kimia seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *terbutylhydroquinone* (TBHQ) dan *propyl gallate* (PG) (Sayuti & Yenrina, 2015).

Tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) mempunyai senyawa fenolik dan flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Ekstrak *n-heksan* pada kulit buah jeruk purut terdapat kandungan zat flavonoid, fenolik, terpenoid, dan kumarin yang mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, didapat kapasitas antioksidan pada ekstrak kulit jeruk purut *n-heksan* sebesar 35,75%.

Menurut penelitian Warsito *et al.* (2017), minyak atsiri kulit jeruk purut memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat, yang dibuktikan dengan hasil uji antioksidan menggunakan metode DPPH dengan nilai IC50 sebesar

6,43 ppm. Menurut Warsito et al. (2018), aktivitas antioksidan dalam minyak atsiri kulit jeruk purut berkaitan dengan senyawa antioksidan yang berasal dari golongan monoterpen hidrokarbon (MH). Yamunadevi et al. (2011), secara fisika golongan terpenoid bersifat larut dalam lemak atau non polar dan terdapat di dalam sitoplasma sel tumbuhan. Minyak atsiri terdiri dari senyawa volatil yang berasal dari terpenoid dan non terpenoid (Agouillal et al., 2017), minyak atsiri berupa cairan hidrofobik yang mudah menguap (Kementerian Perdagangan RI, 2011).

Tanaman jeruk purut diformulasi dalam bentuk sediaan emulgel. Sediaan emulgel atau sediaan emulsi, kelebihan emulgel adalah nyaman saat digunakan dan dapat melekat dalam jangka waktu lama pada kulit (Paramawidhita, 2019). Emulgel digunakan sebagai pembawa obat yang bersifat hidrofobik. Emulgel merupakan sediaan yang bersifat tiksotropik, transparan, tidak mengandung lemak, tidak lengket, mudah menyebar, mudah dihilangkan, melembabkan kulit, stabil dalam jangka waktu lama, ramah terhadap lingkungan, dan penampilan baik (Putranti *et al.*, 2019).

Berdasarkan hal tersebut, dilakukan penelitian terhadap aktivitas antioksidan subfraksi ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) dengan variasi pelarut (etil asetat, dan *n*-heksan). Hasil subfraksi ekstrak yang mempunyai aktivitas antioksidan paling baik akan dilanjutkan dengan formulasi dalam bentuk sediaan emulgel.

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Apakah subfraksi ekstrak etil asetat kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) memiliki aktivitas antioksidan?
2. Apakah subfraksi ekstrak etil asetat kulit jeruk purut (*Citrus hystrix*

D.C) dapat diformulasikan dalam bentuk sediaan emulgel?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui subfraksi ekstrak etil asetat kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) memiliki aktivitas antioksidan.
2. Untuk mengetahui subfraksi ekstrak etil asetat kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) dapat diformulasikan dalam bentuk sediaan emulgel.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Memberikan pengetahuan tentang subfraksi ekstrak etil asetat kulit tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) memiliki aktivitas antioksidan.
2. Memberikan pengetahuan tentang subfraksi ekstrak kulit tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) dapat diformulasikan dalam bentuk sediaan emulgel?

### **1.5 Hipotesis**

H0 : Tidak ada aktivitas antioksidan pada subfraksi ekstrak etil asetat kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.).

H1 : Ada aktivitas antioksidan pada subfraksi ekstrak etil asetat kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.).

H0 : Subfraksi ekstrak etil asetat kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) dapat diformulasikan dalam bentuk sediaan emulgel.

H1 : Subfraksi ekstrak etil asetat kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) tidak dapat diformulasikan dalam bentuk sediaan emulgel.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Tanaman Jeruk Purut

#### 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Jeruk Purut

Klasifikasi tanaman jeruk purut adalah sebagai berikut (Plantamor, 2023):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Famili	: Rutaceae
Genus	: <i>Citrus</i>
Species	: <i>Citrus hystrix</i> D.C.



**Gambar 1.** Tanaman Jeruk Purut (Sumber : Tanipedia.co.id)

Jeruk atau limau/limo purut (*Citrus hystrix* D.C) ditemukan oleh seorang pakar ahli botani yang bernama *De candolle* (D.C) yang digunakan pada akhir nama tanaman tersebut. Tumbuhan jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) secara morfologinya memiliki

daun majemuk menyirip beranak daun satu, helaian anak daun berbentuk bulat telur sampai lonjong, pangkalnya membundar atau tumpul dengan panjang 8–15 cm dan lebar 2–6 cm, memiliki bau yang harum jika diremas, bunganya berbentuk bintang bewarna putih kemerah-merahan atau putih kekuning-kuningan. Buah jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) berbentuk bulat telur, kulitnya bewarna hijau berkerut, berbenjol-benjol, dan rasanya asam agak pahit (Dalimartha. 2000). Bijinya banyak, bergerigi, berbentuk bulat telur lonjong dengan panjang 1–1,2 cm, monoembrionik dengan kotiledon putih (Swingle, W.T *et al.* 1967).

### **2.1.2 Tinjauan Kimia Tanaman Jeruk Purut**

Berdasarkan uji fitokimia yang dilakukan pada kulit buah jeruk purut banyak terdapat senyawa golongan kumarin, juga adanya senyawa lain yaitu flavonoid dan steroid. Flavonoid yang terdapat pada jeruk purut antara lain narirutin, naringenin, hesperidin, neohesperidin, nobietilen, dan tangeretin (Nogata dkk., 2006), dan mengandung komponen utama lain yaitu  $\beta$ -pinen (21,44%), sitronellal (20,91%), limonen (12,59%), dan tripinen (11,93%) (Warsito, 2017). Daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) mengandung alkaloid polifenol,  $\alpha$ -tokoferol, minyak atsiri, tannin, steroid triterpenoid, sitronellal, flavanoid sianidin, myricetin, peonidin, quercetin, luteolin, hesperetin, apigenin, dan isoharmnetin. Senyawa-senyawa ini bertindak aktif dalam aktivitas antioksidan terutama senyawa flavonoid (Rahmi. U., *et al.* 2013).

Pada penelitian sebelumnya yang pernah dilakukan oleh Hombing Y (2015), kandungan dari kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) diantaranya adalah tanin, steroid triterpenoid, minyak atsiri, saponin, polifenol, flavonoid rutin, naringin, dan hesperidin. Penelitian Fidrianny *et al.*, (2016) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk purut mempunyai kandungan flavonoid total sebesar 4,46 g QE/100 g,

kandungan fenolik total sebesar 3,55 g GAE/100 g, serta mempunyai aktivitas antioksidan dengan metode DPPH sangat kuat. Selain itu, penelitian yang sudah dilakukan oleh Qonitah dkk (2020) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun jeruk purut mempunyai kandungan flavonoid total sebesar (4,25±0,45)% b/b EK dan kandungan fenolik total sebesar (8,04±0,44) (8,04±0,44)% b/b EAG.

Kandungan senyawa flavonoid pada jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) yang terdapat dalam jumlah besar antara lain, neohesperidin, naringin, neoericitrin, dan poncirin yang mana memiliki peran memberi rasa pahit pada jeruk (Wang *et al.* 2017). Menurut Dalimartha (2000) daun jeruk purut mengandung tanin 1,8%, steroid terpenoid dan minyak atsiri 1-1,5% v/v, sedangkan kulit buah mengandung saponin, tanin 1%, steroid triterpenoid dan minyak atsiri yang mengandung sitrat 2-2,5% v/v.

### **2.1.3 Tinjauan Farmakologi Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C)**

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan Yuliani R, dkk menyatakan bahwa jeruk purut memiliki efek farmakologis sebagai antibakteri, antiseptik dan antioksidan. Senyawa yang berperan sebagai antibakteri adalah minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan tanin. Kandungan minyak atsiri dari kulit jeruk purut dapat menghambat respirasi dari sel bakteri (Dalimartha, 2000). Minyak atsiri dalam daun jeruk purut mempunyai potensi sebagai antibakteri pada *Klebsiella pneumonia* (Jamaludin *et al.*, 2017), dan mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Crispy, S., & Pandapotan, M. 2023). Kandungan minyak atsiri pada jeruk purut diuji efektivitasnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Kurniangsih, D. 2020). Kandungan Flavonoid pada jeruk purut berfungsi sebagai antioksidan yang mampu menetralkan oksigen reaktif dan berkontribusi terhadap pencegahan penyakit kronis seperti kanker (Devy *et al.*, 2010).



Kandungan aktif dari tanaman jeruk purut memiliki potensi untuk menurunkan kadar kolesterol total dalam darah (Hombing Y., 2015). Selain itu, tanaman jeruk purut memiliki manfaat sebagai analgesik dan dapat memberikan efek relaksasi (Cahyati *et al.*, 2016). Penelitian Hakim *et al.*,(2019) menunjukkan bahwa kandungan *sitronellal* dalam daun jeruk purut dapat berkhasiat sebagai aromaterapi. Ekstrak daun jeruk purut mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri (Marwani, R. 2022)

Efek farmakologis jeruk purut diantaranya sebagai antispasmodik dan antiseptik (Etika, A. 2019). Kandungan pada jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri melawan *Escheria coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirrabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acninobakteri baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Eretrococcus faecalis*, *bacillus subtilis*, *Candida albicans*, dan *Candia parapsilosis*(Yuliani, dkk 2011). Ekstrak daun jeruk purut sudah banyak diteliti mempunyai potensi sebagai bioinsektisida (Adrianto, 2014). Senyawa flavonoid pada tanaman citrus memiliki aktivitas farmakologi lain seperti antioksidan, antikanker dan antitumor, hepatroprotektif, antiinflamasi, antidiabetes, antiviral, antibakteri dan antifungal (Xiao *et al.*, 2016).

#### **2.1.4. Tinjauan Farmasetika Tanaman Jeruk Purut**

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Putu, N., *et al.*,(2021), telah dibuat formulasi sediaan salep dari ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) terhadap jamur *Candida albicans* dengan konsentrasi 7%. Ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) dibuat dalam bentuk sediaan *hand soap* dengan konsentrasi 2,5–7,5 % dan mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Crispy, S., & Pandapotan, M. 2023). Kandungan minyak atsiri pada jeruk purut telah dibuat sediaan krim dengan konsentrasi ekstrak 5-15% dan diuji efektivitasnya terhadap bakteri *Staphylococcus*

*aureus* (Kurniangsih, D. 2020).

Bagian daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) yang memiliki kandungan minyak atsiri dibuat sediaan aromaterapi dengan konsentrasi 1-3% (Nurchahyo, H. 2016). Ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) telah dibuat formulasi *foot spray* dengan konsentrasi 20-30 % sebagai penghilang bau kaki dan mempunyai aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri (Marwani, R. 2022). Ekstrak daun jeruk purut telah dibuat sediaan balsam (*Citrus hystrix* D.C.) dengan variasi cera alba sebagai stabilizing agent dengan konsentrasi 3 % (Dewi, R. 2021).

Ekstrak kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) telah dibuat dalam bentuk sediaan sampo antiketombe dengan konsentrasi 5-15% (Auliah, N. 2020). Ekstrak kulit jeruk purut dibuat sediaan *hand sanitizer* dengan konsentrasi 25% (Dewi, I. & Yuniyanto. 2016). Perasaan jeruk purut telah dibuat sediaan sampo antiketombe dengan konsentrasi 10-20% dan diuji terhadap pertumbuhan jamur *candida albicans* (Etika, A. 2019). Telah dibuat sediaan sabun mandi cair dari ekstrak daunjeruk purut serta uji cemaran mikroba dengan konsentrasi 2% dan 4% (Rosmaniar, L. 2021). Kandungan minyak atsiri jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) dibuat sediaan masker *peel of* dengan basis polivinil alkohol dengan konsentrasi 10%-14% (Fitriana, 2021).

## **2.2 Antioksidan**

### **2.2.1 Mekanisme Kerja Antioksidan**

Antioksidan adalah molekul yang dapat menstabilkan atau menonaktifkan radikal bebas sebelum menyerang sel dengan menghambat atau menunda terjadinya oksidasi dari substrat (Zalukhu, Phyma and Pinzon, 2016). Tubuh secara alamiahnya dapat menghasilkan antioksidan sendiri, tetapi dengan seiring bertambahnya usia

mengakibatkan kemampuan tubuh untuk memproduksi antioksidan berkurang (Sayuti dan Yenrina, 2015)

Mekanisme kerja antioksidan terbagi menjadi tiga, yaitu: (Sayuti dan Yenrina, 2015)

1. Antioksidan primer

Antioksidan ini bekerja dengan mencegah radikal bebas membentuk senyawa baru dengan mengganti radikal bebas yang ada menjadi molekul yang dampak negatifnya kurang sebelum bereaksinya senyawa radikal bebas. Antioksidan primer memutus rantai reaksi radikal pada lipid yang radikal dengan cara mendonorkan atom hidrogen secara cepat, sehingga menghasilkan senyawa yang stabil daripada produk awal.

2. Antioksidan sekunder

Mekanisme kerja antioksidan sekunder ini yaitu pengkelatan logam yang berperan sebagai antioksidan sekunder, penangkapan radikal dan mencegah reaksiberantai. Peran antioksidan ini sebagai pengikat ion logam, penangkap oksigen, mengubah senyawa menjadi non radikal dengan menguraikan hiperperoksida, menyerap radiasi UV atau dengan deaktivasi singlet oksigen.

3. Antioksidan tersier

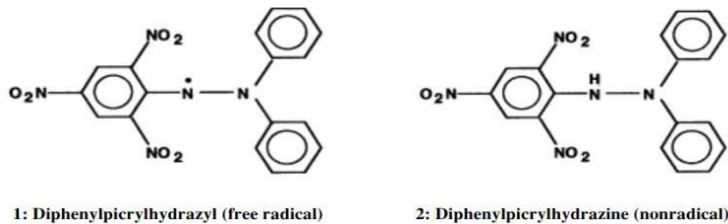
Antioksidan tersier kerjanya yaitu dengan memperbaiki rusaknya biomolekul yang dikarenakan radikal bebas. Contohnya metionin sulfida reduktase.

### **2.2.2 Metode Pengujian Antioksidan**

Metode yang digunakan untuk pengujian aktivitas antioksidan yaitu:

1. Metode penangkapan radikal bebas DPPH (1,1 difenil-2-pikrihidrazil)

Senyawa DPPH merupakan radikal bebas yang pada suhu kamar stabil dikarenakan delokalisasi elektron pada keseluruhan molekul. Peristiwa delokalisasi elektron tersebut mengakibatkan perubahan warna pada DPPH menjadi ungu tua, yang mana dalam larutan etanol memberikan serapan pada panjang gelombang 400-800 nm. Saat larutan DPPH dicampurkan dengan zat yang dapat memberikan atom hidrogen (zat antioksidan) mengakibatkan tereduksinya DPPH yang ditandai dengan hilangnya warna ungu dan berubah menjadi warna kuning (Molyneux P, 2004).



**Gambar 2. Struktur DPPH (Molyneux P, 2004)**

Pengujian antioksidan dengan metode DPPH dianalisis dengan mengamati perubahan warna sampel setelah di inkubasi dengan DPPH. Saat keseluruhan dari elektron DPPH berpasangan dengan elektron pada sampel mengakibatkan perubahan warna sampel dari ungu tua menjadi kuning terang. Setelah itu diukur nilai absorbansi dari sampel menggunakan spektrofotometer Uv-vis pada panjang gelombang 517 nm (Tristantini *et al.*, 2016). Aktivitas antioksidan dinyatakan sebagai konsentrasi inhibisi (*Inhibition Concentration*) atau IC<sub>50</sub> yaitu konsentrasi yang dapat meredam aktivitas dari radikal bebas sebesar 50% (Widyasanti, Rohdiana and Ekatama, 2016).

**Tabel 1. Tingkat kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH (Molyneux, 2004)**

<b>Intensitas</b>	<b>Nilai IC<sub>50</sub></b>
Sangat kuat	<50 µg/ml
Kuat	50-100 µg/ml
Sedang	101-200 µg/ml
Lemah	>200 µg/ml

Metode DPPH merupakan metode pengujian antioksidan yang pengerjaannya sederhana, cepat, dan mudah untuk penapisan aktivitas penangkapan radikal bebas pada beberapa senyawa, akurat, efektif dan juga praktis (Molyneux P, 2004).

### 2. Metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* / FRAP

Pengujian antioksidan dengan metode FRAP merupakan metode yang diujikan untuk tumbuh-tumbuhan. Keuntungan metode FRAP yaitu metodenya murah, mudah dalam penyediaan reagen, cukup sederhana dan juga cepat. Mekanisme metode ini yaitu penentuan kandungan antioksidan dari suatu senyawa berdasarkan kemampuannya untuk mereduksi ion  $Fe^{3+}$  menjadi ion  $Fe^{2+}$ . Lalu kekuatan senyawa antioksidan dianalogikan berdasarkan kemampuan senyawa tersebut untuk mereduksi (Maryam, Baits and Nadia, 2016).

### 3. Metode *Cupric Reducing Antioxidant Capacity* / CUPRAC

Metode CUPRAC menggunakan reagen Cu(II)-neokuproin ( $Cu(II)-NC)_2$ ) yang berfungsi sebagai agen pengoksidasi kromogenik dikarenakan reduksi ion

Cu(II) bisa diukur. Pereaksi CUPRAC termasuk pereaksi selektif dikarenakan potensial reduksinya memiliki nilai yang rendah. Keuntungan metode CUPRAC ini yaitu reagen CUPRAC cepat mengoksidasi tiap antioksidan, pereaksinya selektif karena rendahnya potensi redoks, stabil dan mudah diakses daripada reagen kromogenik lainnya. Pada metode CUPRAC ini dapat mengukur hidrofilik dan lipofilik dari antioksidan (Maryam *et al.*, 2016).

#### 4. Metode *Oxygen Radical Absorbance Capacity* / ORAC

Metode ORAC ini merupakan salah satu pengukuran aktivitas antioksidan dengan menggunakan 2,2-Azobis (2-amidino-propana) dihidroklorida (zAAPH) sebagai sumber radikal peroksil yang dihasilkan sebagai hasil dekomposisi spontan AAPH pada suhu 37<sup>0</sup>C. Pada metode ORAC ini memberikan penilaian yang unik karena saat reaksi selesai, waktu penghambatan dan tingkatan penghambatan antioksidan diukur (Ou *et al.*, 2013).

### 2.3 Emulgel

Emulgel adalah bentuk sediaan topical yang menggabungkan sifat-sifat gel dan emulsi dalam satu produk. Ketika gel dan emulsi digunakan dalam bentuk gabungan sediaan maka akan menjadi emulgel. Emulgel telah muncul sebagai salah satu sediaan topical yang paling menarik dalam system penghambatan obat karena memiliki control rilis system ganda yaitu gel dan emulsi. (Vikas Sigla, et.al. 2012).

Emulsi minyak dalam air (O/W) biasanya digunakan untuk mengantarkan obat- obatan yang bersifat lipofilik, sedangkan obat-obatan yang bersifat hidrofilik dikemas dalam bentuk emulsi air dalam minyak (W/O). emulsi O/W ataupun W/O dapat dilakukan pencampuran emulsi

kedalam basis gel sehingga dapat berubah bentuk

menjadi gel atau disebut sebagai emulgel. Proses ini memungkinkan emulgel memiliki keunggulan dari kedua bentuk sediaan tersebut, yaitu kemampuan mengantarkan obat secara efektif serta kemampuan memberikan tekstur gel yang nyaman saat digunakan (Mohammed dkk., 2013).

### **2.3.1 Evaluasi Sediaan Emulgel**

#### **1. Uji Organoleptik**

Uji organoleptis sediaan gel dilakukan dengan pengamatan secara langsung terhadap bentuk, warna, dan bau dari sediaan gel. Gel biasanya jernih dengan konsistensi setengah padat ( Ansel, 1989)

#### **2. Uji Homogenitas**

Uji homogenitas dilakukan dengan menggunakan objek gelas. Sejumlah tertentu sediaan jika dioleskan pada sekeping kaca atau bahan transparan lain yang cocok, sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979).

#### **3. Uji pH**

Penentuan pH sediaan dilakukan dengan menggunakan stik pH universal yang dicelupkan ke dalam sampel gel yang telah diencerkan. Setelah tercelup dengan sempurna, pH universal tersebut dilihat perubahan warnanya dan dicocokkan dengan standar pH universal. pH sediaan gel harus sesuai dengan pH kulit yaitu 4,5 – 6,5 (Trenggono, 2007).



#### 4. Pemeriksaan Tipe Emulsi

Dilakukan dengan 0,5 g sediaan diletakkan diatas kaca objek kemudian diteteskan 1 tetes *metilen blue* kemudian aduk dan lihat penyebaran warnanya. Jika sediaan merupakan tipe minyak dalam air maka warna *metilen blue* akan larut didalamnya dan berdifusi keseluruhan bagian dari air. Jika sediaan merupakan tipe air dalam minyak maka globul-globul zat warna biru akan bergerombol pada permukaannya.

#### 5. Uji Viskositas

Pengujian viskositas dilakukan pada sediaan gel menggunakan alat Viscometer Brookfield. Pengujian ini dilakukan dengan cara spindle dimasukkan ke dalam sediaan gel, setelah itu dilihat viskositasnya (Voight,1995).

#### 6. Uji daya sebar

Sebanyak 0,5 g sediaan diletakkan dengan hati-hati di atas plastik transparan yang dialasi kertas grafik, dibiarkan 15 detik dan hitung luas daerah, lalu ditutup dengan plastik transparan. Kemudian diberi beban di atasnya (1g, 3g, 5g, 10g, dan 20g) dibiarkan selama 60 detik. Lalu hitung ppertambahan perluasan yang diberikan oleh sediaan (Voight, 1994).

#### 7. Uji daya lekat

Letakkan sediaan sebanyak 0,5 g pada objek glass dan diberikan beban 1 kg selama 3 menit. Penentuan daya lekat berupa waktu yang diperlukan sampai kedua kaca objek terlepas (Swastika *et al.* 2013).

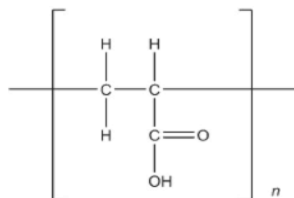
## 8. Uji iritasi

Pengujian untuk iritasi dilakukan dengan cara temple tertutup. Sebanyak 0,1 g sediaan dioleskan pada pangkal lengan bagian dalam dengan diameter 3 cm, kemudian tutup dengan plaster, dibiarkan selama 48 jam. Diamati gejala berupa eritema dan edema (Wasitaadmaja, 1997).

## 9. Uji Stabilitas

Pengujian stabilitas sediaan emulgel yang meliputi organoleptis, homogenitas, viskositas, daya sebar, daya lekat, dan pH dilakukan sebanyak 6 siklus. Perubahan fisik gel serbuk perasan jeruk nipis diamati pada awal dan akhir siklus. Satu siklus gel dilakukan pada suhu 4°C selama 48 jam dan dilanjutkan pada suhu 27°C selama 48 jam (Forestryana and Rahman, 2020).

## 2.4 Tinjauan Monografi Sediaan



### 2.4.1 Carbopol 940

**Gambar 3.** Struktur carbopol 940 (Rowe et al., 2009)

Carbopol 940 mempunyai rumus molekul  $(C_3H_4O_2)_n$  dan berat molekul monomer sekitar 72 gr/mol dan carbopol terdiri dari 1450 monomer. Carbopol 940 berwarna putih berbentuk serbuk halus, bersifat asam higroskopik, dengan sedikit karakteristik bau (Rowe et al., 2009). Carbopol 940 digunakan untuk meningkatkan kekentalan (Lee et al. 2011). Carbomer digunakan untuk formulasi farmasi sediaan cair atau setengah

padat sebagai pengubah reologi. Sediaan yang termasuk adalah

krim, gel, lotio dan salep digunakan dalam oftal mikusrektal, sediaan topical dan vagina (Green *et al.*, 1998).

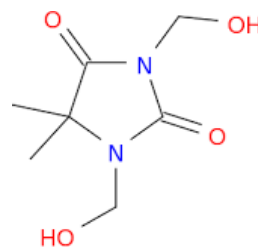
Carbopol 940 dapat larut di dalam air, di dalam etanol (95%) dan gliserin, dapat terdispersi di dalam air untuk membentuk larutan koloidal bersifat asam, sifat merekatnya rendah. Carbopol bersifat stabil dan higroskopik, penambahan temperatur berlebih dapat mengakibatkan kekentalan menurun sehingga mengurangi stabilitas. Carbopol mempunyai viskositas antara 40.000 – 60.000 cP digunakan sebagai bahan pengental yang baik memiliki viscositasnya tinggi, menghasilkan gel yang jernih. 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). Penelitian yang dilakukan oleh Rahman *et al.*, (2013) menggunakan triethanolamine dengan konsentrasi 0,4%- 0,5% untuk menghasilkan sediaan yang baik. Penelitian yang menggunakan triethanolamine dengan konsentrasi 0,56% untuk menghasilkan gel yang baik dilakukan (Aeni *et al.*, 2012). Carbopol 940 digunakan untuk bahan pengemulsi pada konsentrasi 0,1- 0,5%B, bahan pembentuk gel pada konsentrasi 0,5-2,0% (Niazi, 2009)

#### **2.4.2 Kitosan**

Sumber utama pembuatan serbuk kitosan adalah kitin, nama kitin (*chitin*) berasal dari bahasa Yunani yang artinya jubah atau amplop, kitin

diisolasi dari eksoskeleton berbagai crustacean, terutama kepiting dan udang. Kitin merupakan komponen utama dari struktur tubuh hewan golongan Crustacea, Artropoda, Annelida, Mollusca dan Nematoda (Neely, 1969). Secara struktur kimia, kitosan adalah kitin yang telah mengalami deasetilasi (kehilangan gugus asetil), Adanya gugus amina ini menjadikan kitosan bermuatan parsial positif kuat. Hal ini menyebabkan kitosan dapat larut dalam larutan asam sampai netral. Selain itu, muatan positif tersebut menyebabkan kitosan dapat menarik molekul-molekul yang bermuatan parsial negatif seperti minyak, lemak, dan protein. (Ronaldo *et al.*, 2006). Kitosan dalam perkembangannya telah dimanfaatkan dalam bidang industri, pangan, farmasi dan pertanian, dan lain-lain, dalam berbagai bentuk dan tujuan, dalam bidang farmasi, diantaranya sebagai obat luka, obat pelangsing tubuh, antibakteri, antitumor, antikolesterol, antioksidan, sebagai pengemulsi, dan dapat membentuk gel (Toharisman,2007).

### 2.4.3 DMDM Hydantoin

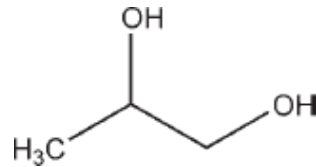


**Gambar 6.** Struktur DMDM Hydantoin (Kim et al., 2004)

Pemerian DMDM hydantoin yaitu bentuk cairan jernih yang dapat larut dalam air. Karena hal itu DMDM cocok digunakan untuk pembuatan sediaan gel yang berbasah dasar air. Berat molekul 188.183 g/mol. Batas konsentrasi untuk sediaan semi solid yaitu 0,6% an dan diharapkan sampai batas waktu

yang telah ditentukan tidak terjadi pertumbuhan mikroorganisme (Depkes RI, 1979).

#### 2.4.4 Propilenglikol



**Gambar 7.** Struktur Propilen glikol (Rowe et al., 2009)

Nama lain 1,2-Dihydroxypropane, E1520, 2-hydroxypropanol, methyl ethylene Glycol, methyl glycol, propane-1,2-diol, propylenglycolum. Berat molekul 76.09. berfungsi sebagai pengawet, antimikroba, desinfektan, humektan, pemlastis, pelarut, zat penstabil, cosolvent yang larut dalam air. Aplikasi dalam formulasi farmasi juga digunakan dalam kosmetik sebagai pembawa untuk pengemulsi karena kurangnya volatilitas memberikan lebih banyak rasa.

Pemeriaannya 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. Kadang dinyatakan sebagai magma (misalnya Magma Bentonit). Baik gel maupun magma dapat berupa tiksotropik, membentuk semipadat jika dibiarkan dan dapat menjadi

cair pada saat pengocokan.

## **BAB III. METODE PENELITIAN**

### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Universitas Perintis Indonesia (UPERTIS), Laboratorium LLDIKTI Wilayah X Padang, dan Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Andalas (UNAND) Padang.

### **3.2 Alat dan Bahan**

#### **3.2.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu timbangan analitik, botol maserasi, kertas saring, gunting, wadah berwarna gelap, *rotary evaporator*, cawan penguap, corong, gegap, erlemeyer, beaker glass, gelas ukur, gelas arloji, tabung reaksi, pipet tetes, spatel, kertas perkamen, objek glass, cover glass, lumpang, stamper, pH meter, krus porselens, tang krus, oven, furnes, desikator, *viscometer Brookfield*, pinset, plat tetes, plat well, dan vial.

#### **3.2.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ekstrak dan fraksi kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.), carbopol 940, gliserin, trietanolamin, metil paraben, aquades, etanol, n-heksan, etil asetat, pereaksi Dragendroff, pereaksi Meyer, HCl, toluen, kloroform, CHCl<sub>3</sub>, ammonia, metanol, FeCl<sub>3</sub>, Serbuk Mg, alkohol – HCl (1:1), , NaOH, benzene, eter-kloroform (2:1), Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat, asam asetat, eter, asam sulfat pekat, metanol p.a.

### **3.3. Prosedur Penelitian**

#### **3.3.1 Identifikasi Jeruk Purut**

Identifikasi sampel (*Citrus hystrix* D.C.) akan dilakukan di Herbarium Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA).

Universitas Andalas Padang, Sumatera Barat.

### 3.3.2 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) sebanyak 1 kg yang diambil didaerah Batusangkar, Sumatera Barat.

### 3.3.3 Ekstraksi Kulit Jeruk Purut

#### 1. Preparasi Ekstrak Kulit Jeruk Purut

Kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) yang segar dibersihkan dari kotoran yang menempel, lalu dirajang kecil-kecil dan ditimbang kemudian dimasukkan dalam botol gelap dan direndam dengan pelarut (pelarut etil asetat, pelarut n-heksana). Setelah itu, dipisahkan maseratnya dengan cara filtrasi dengan menggunakan kertas saring lalu diulangi proses penyarian sampai cairan penyari tampak bening. Masing-masing maserat dipisahkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental, dan disimpan dalam wadah berwarna gelap terlindung dari paparan sinar matahari.

#### 2. Pemeriksaan Rendemen

Perhitungan rendemen ekstrak dihitung dengan cara membandingkan berat ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) dari berbagai pelarut yang didapat dengan berat sampel awal.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat serbuk simplisia kering}} \times 100\%$$

### 3.3.4 Pembuatan Subfraksi Ekstrak Etil Asetat Kulit Jeruk Purut

Hasil ekstrak diuapkan sehingga didapatlah ekstrak kental etil asetat. Setelah itu dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi kolom untuk didapatkan subfraksi kental ekstrak etil asetat kulit jeruk purut. Silica gel sebagai fase diam, sedangkan



fase gerak yang digunakan adalah heksan dan etil asetat dengan perbandingan (2:1) Hasil kromatografi kolom yang dapat dikelompokkan berdasarkan pemantauan pola bercak noda dan nilai Rf, pemantauan dilakukan menggunakan plat KLT yang dielusi menggunakan fase gerak N-heksan : etil asetat (4:1).

### **3.3.5 Pemeriksaan Parameter Spesifik Subfraksi Ekstrak Etil Asetat Pada Kulit Jeruk Purut**

#### 1. Organoleptis

Pemeriksaan yang dilakukan dengan mengamati masing-masing ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan kulit jeruk purut menggunakan panca indra terhadap bentuk, bau, rasa, dan warna (Depkes RI, 1979).

#### 2. Penentuan Rendemen Fraksi Etil Asetat

Pemeriksaan rendemen pada ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan dilakukan dengan membandingkan berat ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang didapat dengan berat sampel awal lalu dihitung hasilnya (Depkes RI, 1979).

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat fraksi yang diperoleh}}{\text{berat ekstrak kulit jeruk purut}} \times 100\%$$

#### 3. Kelarutan

Pada pemeriksaan kelarutan pengerjaannya dilakukan di dalam pelarut aqua dest dan etanol 96%. Timbang 10 mg ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan kulit jeruk purut lalu dilarutkan masing-masingnya ke dalam aquadest dan dalam etanol 96% (Depkes RI, 1979).

#### 4. pH

Pada pemeriksaan pH terhadap ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksan dilakukan dengan langkah awal yaitu mengkalibrasi alat pH meter menggunakan dapar pH 4

dan pH 7. Selanjutnya, ditimbang 1 g sediaan, lalu diencerkan dengan 10 mL aquadest dan diaduk sampai homogen. Dichelupkan elektroda pH kedalam wadah yang berisi sediaan yang dilarutkan tadi dan dibiarkan hingga angka bergerak sampai posisi konstan. Hal tersebut menunjukkan hasil pengukuran pH sediaan, yang mana rentang pH pada kulit sekitar 4,5 sampai 6,5 ( Naibaho, 2013).

### 3.3.6 Pemeriksaan Parameter Non Spesifik Subfraksi Ekstrak Kulit Jeruk Purut

#### 1. Penetapan Susut Pengerinan

Ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan kulit jeruk purut (*Citrus hystrix*)

ditimbang masing-masing sebanyak 1 g, selanjutnya dimasukkan ke dalam krus yang telah ditara, dan dipanaskan dalam oven suhu 105<sup>0</sup>C selama 60 menit. Setelah itu ditimbang krus porselen yang didalamnya terdapat sampel yang telah dipanaskan. Selanjutnya dihitung susut pengeringan yang ditentukan dalam persen terhadap bobot sampel yang dipakai (Departeme 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 etil asetat kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) ditimbang 1 g, lalu dimasukkan kedalam krus porselen yang telah ditara, lalu dipijarkan perlahan-lahan dalam furnes, setelah itu secara bertahap dinaikkan hingga 600 ± 25<sup>0</sup>C

hingga bebas karbon sekitar 4 jam, selanjutnya dinginkan didalam desikator dan ditimbang berat abunya (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Penentuan kadar abu dilakukan :

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{(C - A)}{(B - A)} 100\%$$

Keterangan :

A = Berat Krus Kosong (g)

B = Berat Krus + Sampel Sebelum Pemijaran (g)

C = Berat Krus + Sampel Setelah Pemijaran (g)

### **3.3.7 Skrining Fitokimia Subfraksi Ekstrak Etil Asetat Kulit Jeruk Purut**

Analisis fitokimia dari ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix*) dilakukan meliputi uji alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, steroid dan terpenoid. Ditimbang sebanyak 10 mg ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan kulit jeruk purut ditambah 5 mL aquadest dan 5 mL kloroform asetat didalam tabung reaksi. Selanjutnya dipisahkan menggunakan corong pisah, dibiarkan hingga terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan air dan lapisan kloroform. Lapisan kloroform terdapat di bagian bawah yang dipakai untuk memeriksa senyawa alkaloid, terpenoid, serta steroid. Pada lapisan air yang terdapat pada bagian bawah dipakai untuk memeriksa senyawa fenolat, flavonoid, serta saponin (Harbone, 1987).

#### **1. Uji Flavonoid (Metode-Sianin Test)**

Sebanyak 1-2 tetes lapisan air pada setiap ekstrak kulit jeruk purut diteteskan ke plat tetes, selanjutnya ditambahkan 1-2 butir logam Mg serta 2-3 tetes HCl(p). Tanda sampel mengandung flavonoid yaitu dengan terbentuknya warna merah pada hasil pengujian.

## 2. Uji Fenolik

Sebanyak 1-2 tetes lapisan air dari setiap ekstrak kulit jeruk purut diteteskan ke plat tetes, selanjutnya ditambahkan  $\text{FeCl}_3$ . Sampel yang mengandung fenolik ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman pada hasil pengujian.

## 3. Uji Saponin

Sebanyak 1-2 tetes lapisan air dari setiap ekstrak kulit jeruk purut dimasukkan ke dalam tabung reaksi, selanjutnya tabung reaksi tersebut dikocok kuat – kuat. Sampel yang mengandung saponin ditunjukkan saat busa yang terbentuk tetap stabil selama  $\pm 15$  menit.

## 4. Uji Terpenoid dan Steroid (Metode Liebermen Burchad)

Pada pengujian ini menggunakan sedikit lapisan kloroform pada setiap ekstrak kulit jeruk purut, selanjutnya ditambahkan norit serta disaring. Hasil saringan yang didapat diteteskan ke plat tetes sampai kering, ditambahkan asam asetat anhidrat serta  $\text{H}_2\text{SO}_{4(p)}$ . Sampel yang mengandung steroid ditunjukkan dengan pembentukan warna biru atau hijau. Sedangkan sampel yang mengandung terpenoid ditunjukkan dengan pembentukan warna merah pada hasil pengujian.

## 5. Uji Alkaloid (Metode Culvenore- Fitzgerald)

Diambil sedikit lapisan kloroform pada setiap ekstrak kulit jeruk purut kemudian ditambahkan 10 mL kloroform amoniak 0,05 N, lalu perlahan diaduk dan ditambahkan beberapa tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 N. Selanjutnya dikocok perlahan dan dibiarkan memisah. Pada lapisan asam ditambahkan beberapa tetes pereaksi Mayer. Sampel yang mengandung alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya warna putih pada hasil pengujian.

### 3.3.8 Uji Aktivitas Antioksidan Subfraksi Ekstrak Etil Asetat Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.)

#### 1. Pembuatan Larutan Uji Subfraksi Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.)

- a. Hasil subfraksi etil asetat kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C.) ditimbang 2,5 mg dilarutkan dengan metanol PA hingga 2 mL. Sehingga didapatkan konsentrasi larutan induk 1,25 µg/µL. Kemudian dibuat seri konsentrasi 50, 125, 250, 500 dan 1000 µg/mL.
- b. Vitamin C ditimbang 0,5 mg ditambahkan pelarut metanol PA ad 2 mL dengan konsentrasi larutan induk 0,25 µg/µL. Kemudian dibuat seri konsentrasi 5, 10, 15, dan 20 µg/mL.
- c. DPPH dengan konsentrasi 0,077 mM, ditimbang 0,759 mg dilarutkan dengan methanol ad 25 mL.

#### 2. Cara Kerja

- a. Sebanyak 50 µL dari masing-masing larutan uji dengan berbagai konsentrasi dimasukkan ke dalam masing-masing well. Tambahkan 200µL larutan DPPH ke dalam masing-masing well, simpan pada suhu kamar di tempat gelap selama 30 menit.
- b. Sebagai blanko gunakan larutan DPPH sebanyak 250 µL.
- c. Ukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum 400-800 nm.
- d. Persentase inhibisi dihitung dengan cara:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{Abs larutan blanko} - \text{Abs larutan uji})}{\text{Abs larutan blanko}} \times 100\%$$

- e. Buat grafik konsentrasi dengan persentase inhibisi, hitung nilai IC<sub>50</sub> dari sampel.

### 3.4 Formulasi Sediaan Emulgel Subfraksi Kulit Buah Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C)

#### 3.4.1 Pemeriksaan Bahan Baku

Kitosan, minyak alpukat, DMDM Hydantoin diperiksa sesuai menurut *Handbook of Pharmaceutical Exioient* organoleptis dan CoA (Certificate of Analysis); tween 80, dan propilenglikol diperiksa sesuai dengan *Farmakope Indonesia* edisi III.

#### 3.4.2 Formulasi Sediaan

**Table 2. formula basis gel subfraksi kulit jeruk purut**

Bahan	Jumlah (% b/b)			
	F01	F02	F1	F2
Subfraksi Ekstrak	-	-	0,1	0,1
Minyak alpukat	-	-	6	6
Tween 80	-	-	15	15
PEG 400	-	-	10	10
Carbopol 940	1	-	1	-
TEA	0,5	-	0,5	-
Kitosan	-	3	-	3
Asam asetat 1%	-	40	-	40
NaOH 0,5 N	-	5	-	5
Propilenglikol	10	10	10	10
DMDM Hydantoin	0,5	0,5	0,5	0,5
Aquadest ad	100	100	100	100

#### 3.4.3 Pembuatan Emulgel Ekstrak Kulit Jeruk Purut

Timbang masing-masing bahan. Buat emulgel dengan cara fase minyak (minyak alpukat, tween 80 dan ekstrak subfraksi kulit jeruk purut) dalam beaker

glass, kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dengan suhu 70°C kecepatan 1400 rpm ( $\pm$  90 menit). Untuk fase air (PEG 400, propilenglikol dan aquadest) ditambahkan sedikit demi sedikit kedalam fase minyak sambil dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dengan suhu 70°C kecepatan 750 rpm.

Kemudian buat sediaan gel dengan melarutkan kitosan dengan asam asetat 1% menggunakan magnetic stirrer. Kitosan yang telah mengembang ditambahkan NaOH sedikit demi sedikit. Lalu DMDM hydantoin dilarutkan dengan propilenglikol. Dan campurkan ke dalam kitosan yang telah mengembang hingga homogen. Setelah itu,

tambahkan emulgel kedalam gel sedikit demi sedikit hingga terbentuk emulgel menggunakan magnetic stirrer dengan suhu 70°C kecepatan 1400 rpm selama  $\pm$  90 menit hingga homogen.

#### **3.4.4 Evaluasi Sediaan Emulgel Subfraksi kulit jeruk purut**

##### **1. Uji Organoleptis**

Uji organoleptis yaitu pengujian yang dilakukan terhadap bentuk fisik dari sediaan gel meliputi bentuk, bau dan warna (Departemen Kesehatan RI, 2000).

##### **2. Uji Homogenitas**

Uji homogenitas yaitu pengujian yang dilakukan dengan cara sediaan gel ditimbang sebanyak 0,1 gram, kemudian dioleskan secara merata dan tipis pada kaca objek, sediaan dikatakan homogeny apabila tidak menunjukkan adanya butiran kasar (Kumesan, *dkk*, 2013).

##### **3. Uji pH**

Uji pH yaitu pengujian yang dilakukan dengan cara mengkalibrasi alat pH

meter dengan menggunakan dapar pH 4 dan pH 7. Kemudian sebanyak 10 mg sediaan di encerkan dengan aquadest hingga 10 ml, lalu di aduk hingga homogen, elektroda pH dicelupkan kedalam wadah tersebut dan dibiarkan angka bergerak sampai posisi konstan, angka yang ditunjukkan pH meter adalah pH sediaan, target pH kulit yaitu pada rentang 4,5 - 6,5 (Naibaho, 2013).

4. Pemeriksaan tipe emulsi

Dilakukan dengan 0,5 g sediaan diletakkan di atas kaca objek kemudian ditetskan 1-2 tetes *metilen blue* kemudian aduk dan lihat penyebaran warnanya. Jika sediaan merupakan tipe minyak dalam air (m/a) maka warna metilen blue tersebar merata. Jika sediaan merupakan tipe air dalam minyak (a/m) maka globul-globul zat warna biru akan bergerombol pada permukaanya.

5. Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan dengan cara diambil sediaan sebanyak 100 g kemudian dimasukkan kedalam wadah. Lalu dilakukan pengamatan pada angka stabil yang ditunjukkan pada viscometer kemudian hasilnya dicatat. Pengukuran sediaan tersebut dilakukan pada minggu ke-1, minggu ke-3 dan minggu ke-6 (Zulkarnain, 2013).

6. Pemeriksaan daya tercuci

Sediaan ditimbang 0,5 g dioleskan pada punggung tangan dengan diameter 5 cm kemudian dicuci dengan sejumlah volume air sambil membilas tangan. Air dilewatkan dari buret, di amati secara kasatmata sampai tidak ada sisa pada punggung tangan, dan dicatat volume air yang terpakai.



## 7. Uji Stabilitas

Uji stabilitas dilakukan dengan menggunakan metode *Freeze and Thaw* dengan cara sediaan gel ditimbang sebanyak 10 g kemudian dimasukkan kedalam vial yang ditutup rapat pada suhu 4<sup>0</sup>C selama 24 jam, kemudian dikeluarkan dan ditempatkan pada suhu 40<sup>0</sup>C selama 24 jam, proses ini dihitung 1 siklus. Dilakukan pengamatan perubahan organoleptisnya, kemudian lakukan untuk 6 siklus dan amati perubahan organoleptisnya sediaan tiap siklus, sediaan dikatakan stabil saat telah melewati 12 hari, tidak terjadi perubahan organoleptis (Departemen kesehatan RI,2000).

## 8. Uji daya sebar

Sediaan ditimbang 0,5 gram dan diletakkan pada bagian tengah kaca millimeter block dan kaca penutup diletakkan di atas kaca pertama sebagai beban awal selama 1 menit. Diukur diameter penyebaran gel. Diulang pengukuran daya sebar dengan penambahan 50 gram tiap 1 menit sampai beban yang diberikan sebesar 150 gram.

## 9. Uji sentrifugasi

Sebanyak 5 g sediaan dimasukkan kedalam tabung sentrifugasi kemudian lakukan sentrifugasi dengan kecepatan 1200 rpm selama 15 menit dan lakukan pengamatan. Bandingkan dengan sediaan sebelum disentrifugasi, jika tidak mengalami pemisahan fase maka sediaan yang terbentuk stabil.

## 10. Ukuran dan distribusi partikel

Ukuran partikel diukur dengan menggunakan alat particle size analyzer (PSA). Jika adanya hamburan cahaya yang terjadi akibat penembakan sinar laser yang mengenai partikel dalam sampel. Cahaya akan dihamburkan akan dibaca

oleh detector foton pada sudut tertentu sehingga dapat menentukan ukuran partikel.

### 3.5 Analisis Data

#### 3.5.1 Penentuan Nilai % Inhibisi

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan dari besaran hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan:

Absorban kontrol : Serapan larutan radikal DPPH 35 ppm

Absorban sampel : Serapan larutan sampel ditambah larutan DPPH 35 ppM

#### 3.5.2 Penentuan *Inhibition Concentration* 50 %

Nilai IC<sub>50</sub> dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier. IC<sub>50</sub> yaitu bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak yang mampu menghambat aktivitas suatu radikal sebesar 50%. Untuk menentukan IC<sub>50</sub> diperlukan persamaan kurva standar dari persen inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi ekstrak antioksidan sebagai sumbu x. IC<sub>50</sub> dihitung dengan cara memasukkan nilai 50 ke dalam persamaan kurva standar sebagai sumbu y kemudian dihitung nilai x sebagai konsentrasi IC<sub>50</sub>. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> menunjukkan semakin kuat aktivitas antioksidannya.

**Tabel 3. Tingkat Kekuatan Antioksidan**

Nilai IC <sub>50</sub>	Intensitas antioksidan
< 50 ppm	Sangat kuat
50-100 ppm	Kuat
100-150 ppm	Sedang
> 200ppm	Lemah

**(Sumber : Mardawati, dkk., 2008.)**

## DAFTAR PUSTAKA

- Abd Ghafar, M.F. *et al.* (2010). Flavonoid, hesperidine, total phenolic contents and antioxidant activities from Citrus species. *African Journal of Biotechnology* ; 9(3): 326–330.
- Adrianto, Hebert .2014. *Efektivitas Ekstrak Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix), Jeruk limau (Citrus amblycarpa), Dan Jeruk Bali (Citrus maxima) Terhadap Larva Aedes aegypti.* Jurnal Aspirator. Vol 6(1):1-6.
- Allen, L. V. 2002. *The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding, Second Edition*, 170-173, 183, 187, American Pharmaceutical Association, Washington D.C.
- Amrillah, M.S., Rusli, R., Fadraersada, J. 2015. Aktivitas Tabir Surya Daun Miana (*Coleus atropurpureus* L. Benth) secara In Vitro. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 1(4): 168-174.
- Bauman L, Allemann IB. Antioxidants. In: Weisberg, E. editor. *Cosmetic 48 Rosi Andarina: Antioksidan dalam dermatologi Dermatology Principles and Practice*. 2 nd ed. New York: Mc GrawHill; 2009. p. 292-311.
- Balsam, M.S., Sagarin, E. 1972. *Cosmetic Science and Technology*. Edisi Kedua, New York: John Willy and Son Inc.
- Cahyati, S., Kurniasih, Y. and Khery, Y., 2016. *Efisiensi Isolasi Minyak Atsiri Dari Kulit Jeruk Dengan Metode Destilasi Air-Uap Ditinjau Dari Perbandingan Bahan Baku Dan Pelarut Yang Digunakan*, Hydrogen: Jurnal Kependidikan Kimia, 4(2), p. 103.
- Cahyonugroho, O. H. 2010. *Pengaruh Intensitas Sinar Ultraviolet dan Pengadukan Terhadap Reduksi Jumlah Bakteri E.Coli*, 2(1), 18–23.
- Crispy, S., Pandapotan, M. 2023. *Uji Antibakteri Formulasi Sediaan Hand Soap Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (Citrus Hystrix D.C.) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus*. Universitas Muslim Nusantara Al-Washiyah Medan. Indonesia.
- Cumpelik, Boris. 1972. *Analitycal Producers and evaluation of sunscreen*.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia, Edisi III*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Farmakope Indonesia (Edisi IV)*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.

- Devy, N., F. Y., & Andrini. 2010. *Kandungan Flavonoid Dan Limonoid Pada Berbagai Fase Pertumbuhan Tanaman Jeruk Kalamondin (Citrus Mitis Blanco) Dan Purut (Citrus Hystrix D.C)*. Jawa Timur: Balai Penelitian Tanaman Jeruk Dan Buah Subtropika.
- Dewi, I. K., & Yuniato, B. 2016. *Uji Efektivitas Sediaan Hand Sanitizer Kombinasi Ekstrak Daun Kemangi (Ocimum Sanctum L) Dan Ekstrak Kulit Jeruk Purut (Citrus Hystrix)*. *Jurnal Kebidanan Dan Kesehatan Tradisional*, 1(2), 130–135
- Dewi, R. 2021. *Formulasi dan Evaluasi Balsam Aromaterapi Ekstrak Daun Jeruk Purut (Citrus Hystrix D.C.) Dengan Variasi Cera Alba sebagai Stabilizing Agent*. Jurusan Farmasi. Poltekkes Kemenkes Palembang.
- Etika, Amalia. 2019. *Formulasi dan Uji Aktivitas Sediaan Sampo Anti Ketombe Perasaan Jeruk Purut terhadap Pertumbuhan Jamur Candida Albicans secara In Vitro*. [Skripsi] Program Studi Farmasi. Institut Kesehatan Helvetia. Medan.
- Fidrianny, I., Amaliah, A., & Sukrasno. 2016. *Antioxidant activities evaluation of citrus leaves extracts from west Java-Indonesia using DPPH and FRAP assays*.
- Fitriana, F., Warsinah., Pudyastuti., 2021. *Formulasi Dan Aktivitas Antioksidan Masker Peel Of Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Purut (Citrus Hystrix D.C.) Dengan Basis Polivinil Alkohol*. Jurusan farmasi Fikes. Universitas jenderal soedirman.
- Hakim, R. J. et al., 2019. *Pemilihan Bagian Tanaman Jeruk Purut (Citrus Hystrix D.C.) Potensial Sebagai Minyak Essensial Aromaterapi Hasil Proses Maserasi Dengan Metode Analytical Hierarkhi Process (AHP)*. Seminar Nasional Sains dan Teknologi, pp. 1–7.
- Harry, R.G., 1982., *Harry's Cosmeticology : The pricinples and practice of modern cosmetics*, Ed 7<sup>th</sup>. London : Leonard Hill Book, hal 238-245.
- Hasanah, S., Ahmad, I., Rijai, L. 2015. *Profil Tabir Surya Ekstrak dan Fraksi Daun Pidada Merah (Sonneratia caseolaris L.)*. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1(4), 175–180.
- Hombing Y. 2015. *Efek antibakteri ekstrak kulit jeruk purut (Citrus hystrix D.C.) terhadap pertumbuhan bakteri Porphyromonas gingivalis secara in vitro* [Skripsi]. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Irianti, T. T., Sugiyanto, Nuranto, S., dan Kuswandi. 2017. *Antioksidant*. Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada.
- Isfardiyana, S. H., & Safitri, S. R. 2014. *Pentingnya melindungi kulit dari sinar ultraviolet dan cara melindungi kulit dengan sunblock buatan sendiri*. *Jurnal*

Inovasi Dan Kewirausahaan, 3(2), 126– 133.

- Jamaluddin N, Pulungan MH, Warsito. 2017. *Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Jeruk Purut (Citrus hystrix D.C) terhadap Klebsiella pneumoniae ATCC*. *Industria: Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri* Vol 6 No 2: 61-66.
- Kanani, N. Rochmat, A. Pahlevi, R. Rohani, F.Y. 2017. *Pengaruh Temperatur terhadap Nilai Sun Protecting Factor (SPF) pada Ekstrak Kunyit sebagai Bahan Pembuat Tabir Surya menggunakan Pelarut Etil Asetat dan Metanol*. Teknik Kimia Universitas Sultan Ageng Tirtayasa. Cilegon: Banten.
- Kurnianingsih, D., Setyabudi, L., Tajudin, T. 2020. *Uji Efektifitas Sediaan Krim Kombinasi Ekstrak Daun Bakau Hitam (Rhizopa Mucronata) dan Jeruk Purut (Citrus Hystrix) terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus*. Prodi S1 Farmasi, STIKES Al-Irsyad Al-Islamiah. Jawa Tengah: Indonesia.
- Labola, Y.A. and Puspita, D. 2018. Peran Antioksidan Karotenoid Penangkal Radikal Bebas Penyebab Berbagai Penyakit. *Farmasetika*. 2(5): 12–17.
- Lewie, S. 2014. *Yes or No In Management Of Acute Photodamage*. National Simposium Skin Photodamage Up Date: Jakarta.
- Marwani, R. 2022. *Formulasi foot spray Ekstrak Daun Jeruk Purut sebagai Penghilang Bau Kaki serta Uji Aktivitas Antibakteri*. Prodi S1 Farmasi. Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah. Medan.
- Maryam, S. *et al.* 2016. Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Daun Yodium (*Jatropha multifida* L.) Dengan Metode Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2(1): 90–93.
- Maryam, S., Baits, M. and Nadia, A. 2016. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Keluarga (*Moringa oleifera* Lam.) Menggunakan Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2(2): 115–118.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-Hydrazyl (DPPH) for Estimating Anti-Oxidant Activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*. 26(2):211–219.
- Neely, M. 1969. *Chitin and Its Derivates in Industrial*. Gums Kelco Company : California.
- Murti, M.T. 2018. *Efektivitas Penambahan Ekstrak Nigella sativa pada Krim Tabir Surya Terhadap Respons Akut Radiasi Sinar Ultraviolet*. Skirpsi. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.

- Naibaho, Olivia, H., Paulina, V.Y., Yamlean, & Weny, W., 2013. Pengaruh Basis Salep Terhadap Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum* L.) Pada Kulit Punggung Kelinci Yang Dibuat Infeksi *Sthaphylococcus Aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. UNSRAT. 2(2) : 2302-2493.
- Naziha, A., Qonitah F., Ariastuti R. 2022. *Nilai Sun Protection Factor (SPF) Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix D.C.)*. Prodi S1 Farmasi, Fakultas Sains Teknologi Dan Kesehatan. Universitas Sahid: Surakarta.
- Nogata, Y., Sakamoto, K., Shiratsuchi, H., Ishii, T., Yano, M., dan Ohta, M. 2006. *Flavonoid Composition of Fruit Tissues of Citrus Species*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 70(1), 178-192.
- Nurchahyo, Heru. 2016. *Formulasi Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (Citrus Hystrix D.C.) Sebagai Sediaan Aromaterapi*. Politeknik Harapan Bersama. Jawa tengah.
- Ou, B. *et al.* 2013. Determination of total antioxidant capacity by oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using fluorescein as the fluorescence probe: First action. *Journal of AOAC International*. 96(6): 1372–1376.
- Putu, Ni. D. S., Ayu Gusti R. S., Marcellia. S. 2021. *Formulasi sediaan salep ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (Citrus hystrix D.C) terhadap jamur Candida albicans*. Prodi Farmasi. Fakultas kedokteran. Universitas Malahayati.
- Qonitah, F., Ahwan., Safitri. F., & Purbowati.R. 2020. *Penentuan Kandungan Fenolik Total, Flavonoid Total Dan Aktivitas Antioksidan Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix D.C)*. Prosiding Pertemuan Ilmiah Daerah IAI. Jawa Tengah.
- Rahman, A. G., Astuti, I. Y., & Dhiani, B. A. 2013. *Formulasi Ekstrak Rimpang Bangle (Zingiber purpurenum roxb) Dengan Variasi Konsentrasi Triethanolamin Sebagai Emulgator Dan Uji Iritasinya*. *Pharmacy*.
- Ronaldo,R dkk. 2006. *Bio – Filter Nikotin Asap Rokok Dari Kitin – Kitosan*. Laporan Penelitian. Bogor : FPIK IPB
- Rosmaniar, L. 2021. *Formulasi dan evaluasi sediaan sabun cair dari ekstrak daun jeruk purut (Citrus hystrix D.C.) dan kopi robusta (Coffea canephora) serta uji cemaran mikroba*. Prodi Kimia FMIPA. Universitas Palangkaraya. *Jurnal* Vol 6. No (1).

- Rowe, R., Sheskey, P.J., dan Quinn, M.E., 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients Sixth Edition*, 6 th edition, London: Pharmaceutical Press.
- Sartika, S.W., Max R.J.R., dan Defny S.W., 2017. *Aktivitas Perlindungan Tabir Surya Secara In Vitro Dan In Vivo Dari Krim Ektrak Etanol Daun Soyogik (Saurauia bracteosa DC)*. Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT: Manado.
- Sayuti, K & Yenrina, R. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Universitas Andalas Press: Padang.
- Swastika, A., Mufrod & Purwanto. 2013. *Aktivitas Antioksidan Krim Ekstrak Sari Tomat (Solanum lycopersium L.)*. Trad Med. J. 18 (September). 132-140.
- Swingle, W.T., Reece, P.C. 1967. *The botany of citrus and its wild relatives, in Reuther W, Webber H J and Batchelor L D (eds), The Citrus Industry*. University of California Press, Berkeley, CA, page 190–430.
- Syarif, M. Wasitaatmadja. 2011. *Dermatologi Kosmetik, Edisi ke-2*. FKUI: Jakarta.
- Theresia L. 2014. *Molecular and Cellular Effect of UV Radiation*. National Simposium Skin Photodamage Up Date. Jakarta.
- Tristantini, D. *et al.* 2016. *Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung ( Mimusops elengi L )*. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia*. Univeritas Indonesia.
- Toharisman,A . 2007. *Peluang Pemanfaatan Enzim Kitinase Di Industri Gula*. Pusat Penelitian Perkebunan Gula.
- Verawati V, Afdhil A, Rucita A ( 2016). *Pengaruh perbedaan metode ekstraksi terhadap kandungan fenolat total ekstrak daun piladang (Solenostemon scutellarioides (L.) Codd)*. 6(2): 79-83.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi V*. Diterjemahkan oleh Noerono, S.. UGM press: Yogyakarta.
- Wang, S.Q., Stanfield, M.S., Osterwalder, U., 2008, *In Vitro Assessment of UV A Protection by Populer Sunscreen Available in the United States*, J Am Dermatol 59: 934-42.
- Widyasanti, A., Rohdiana, D. & Ekatama, N. 2016. *Aktivitas Antioksidan EkstrakTeh Putih (Camellia sinensis) dengan Metode DPPH (2,2 Difenil-1-*



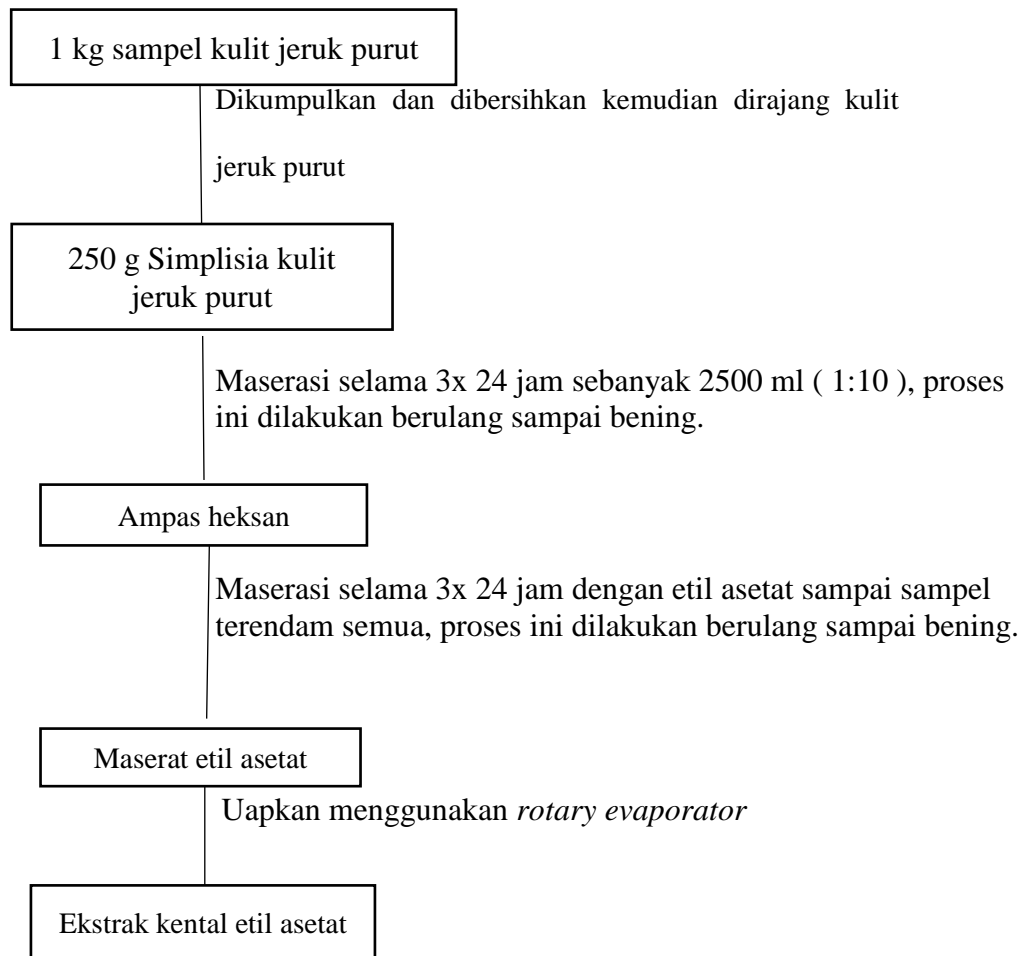
*Pikrilhidrazil*). *Journal Fortech*. 1(1): 1–9.

Wasitaatmadja, S.M. 1997. *Penentuan Ilmu Kosmetik Medik*. Jakarta: UIPRESS. Xiao, J., Capanoqlu, E., Jassbi, A. R., Miorn, A., 2015, *Advance on the FlavonoidC-glycosides and Health Benefits, Dietary Phytochemicals: Nutrition and Health*, 29(56): S29-S45.

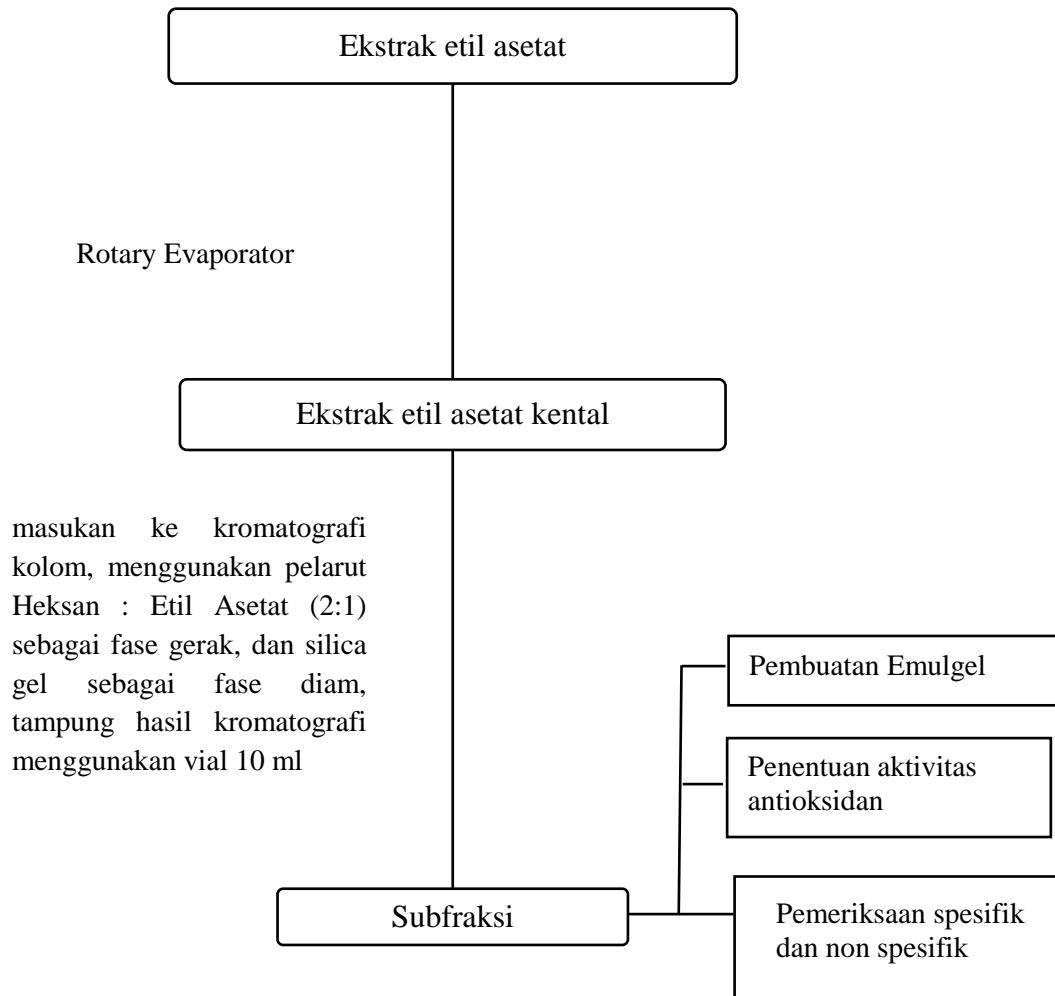
Yuliani R, P. 2011. *Aktivitas Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix) Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherchiacoli*. Jurnal Farmasi Indonesia. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah: Surakarta.

## Lampiran

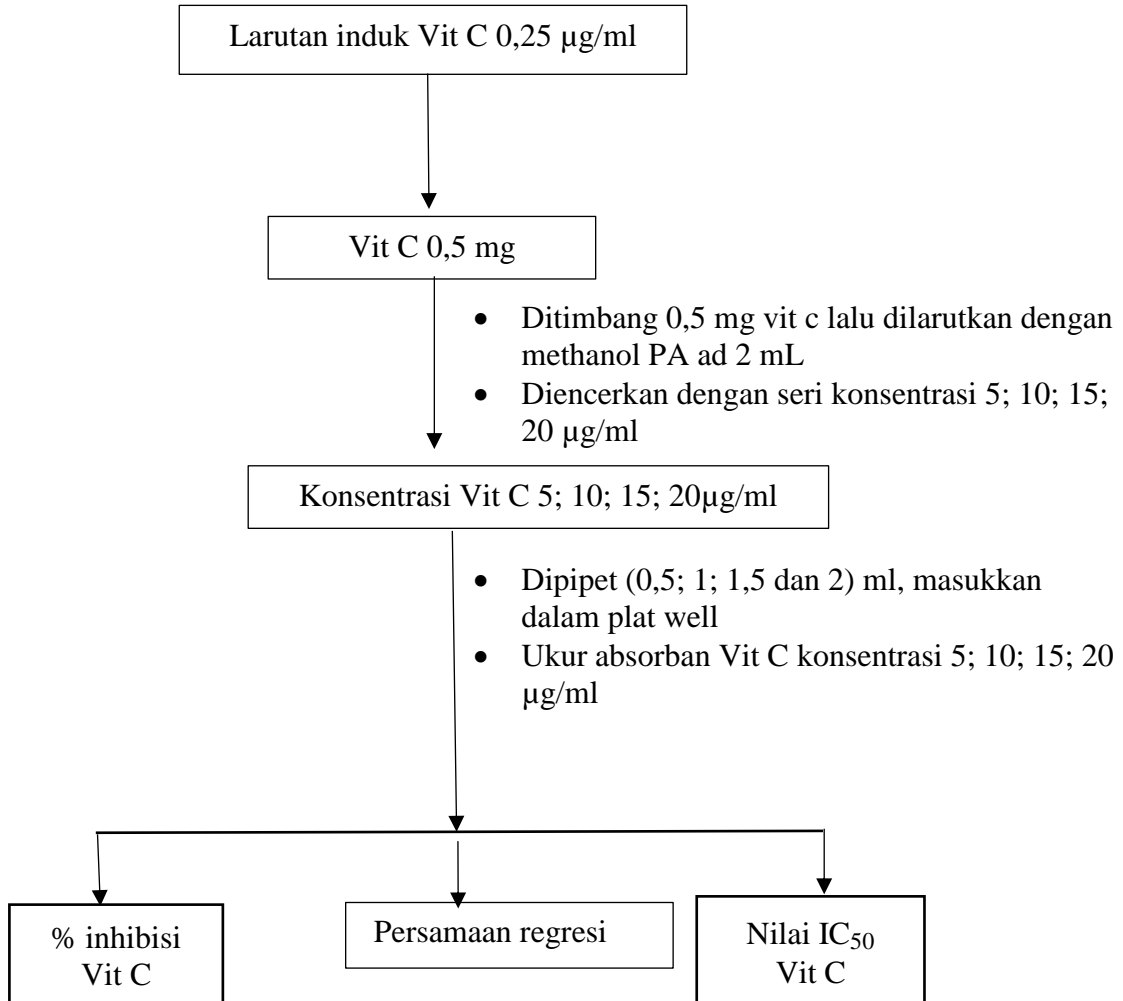
### Lampiran 1. Ekstraksi kulit jeruk purut



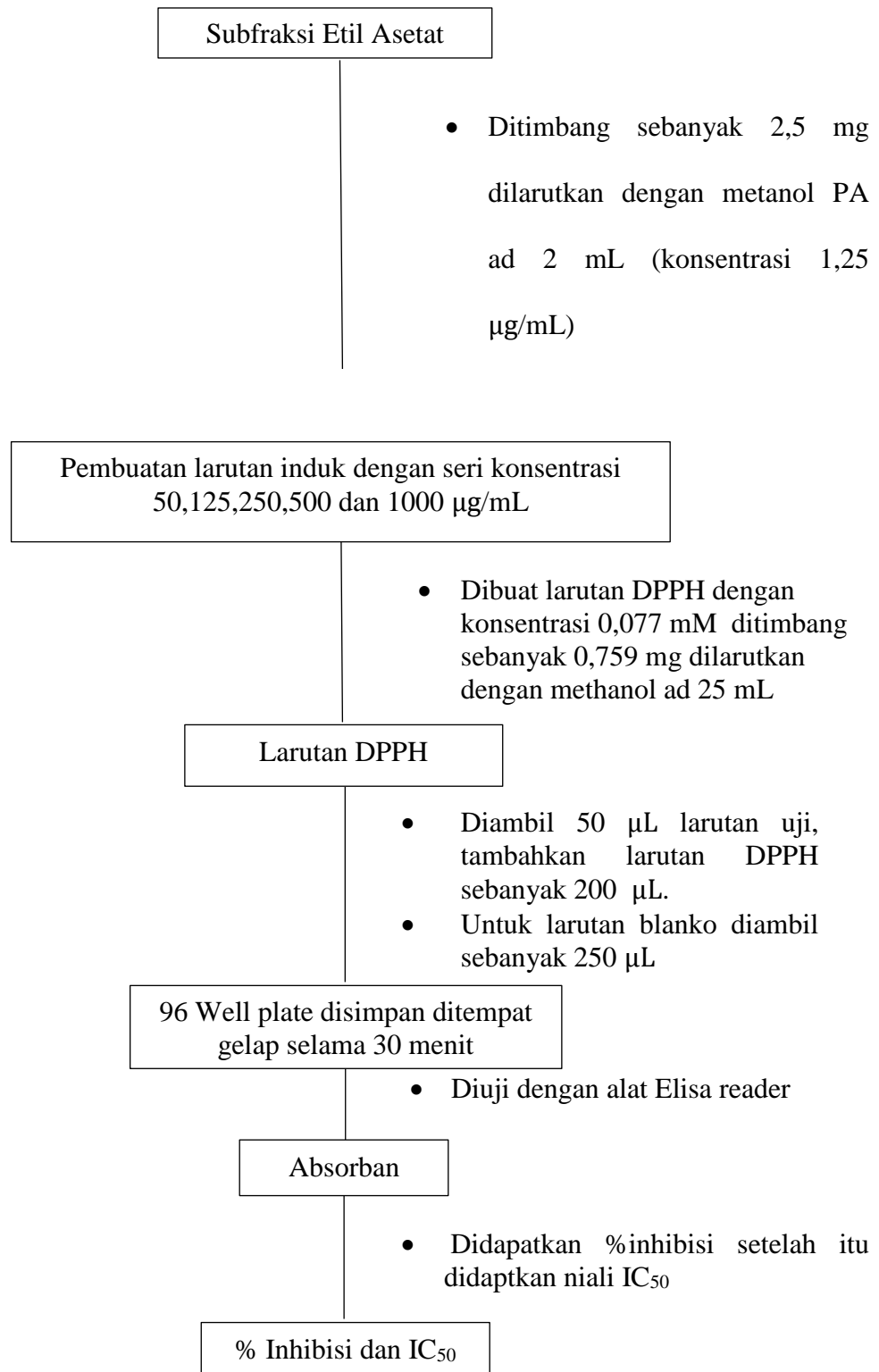
Lampiran 1 : (Lanjutan)



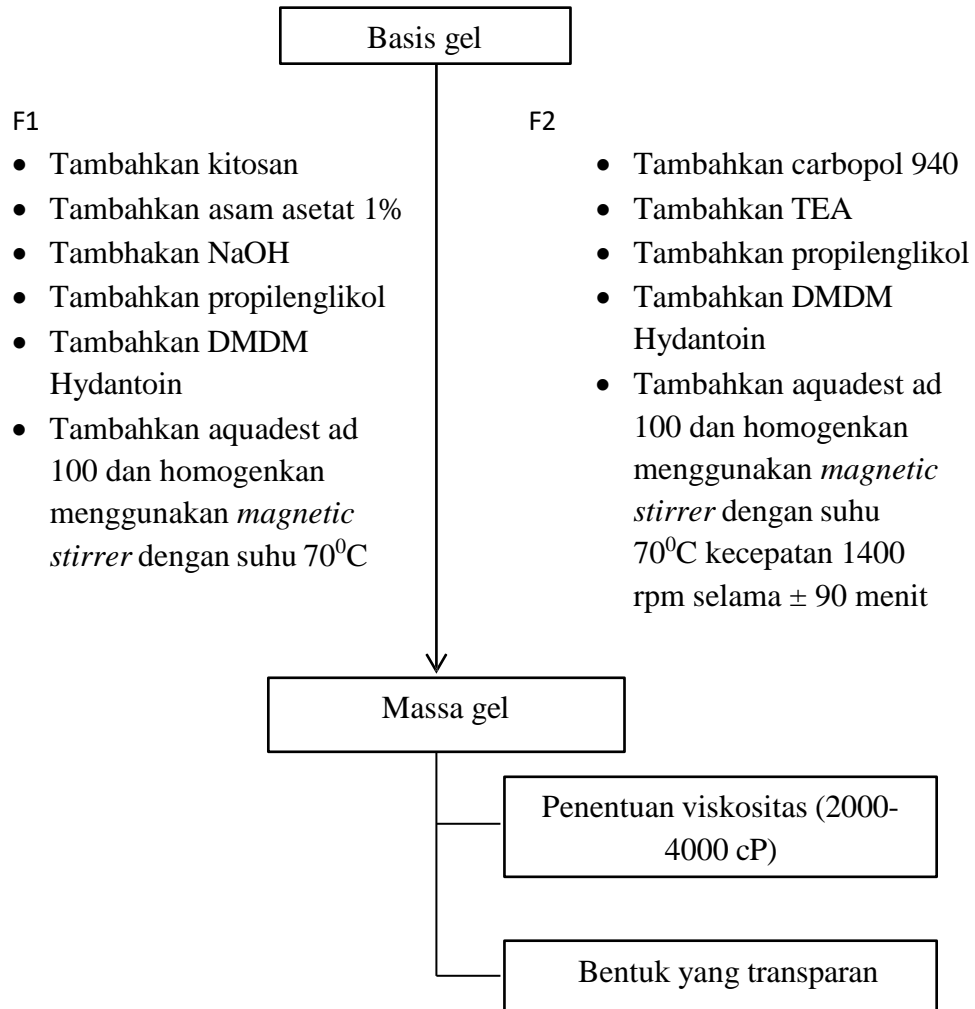
**Lampiran 2. Skema Kerja Penentuan Aktivitas Antioksidan Larutan Pembanding Vit C dengan Larutan induk Vit C 0,25 µg/ml**



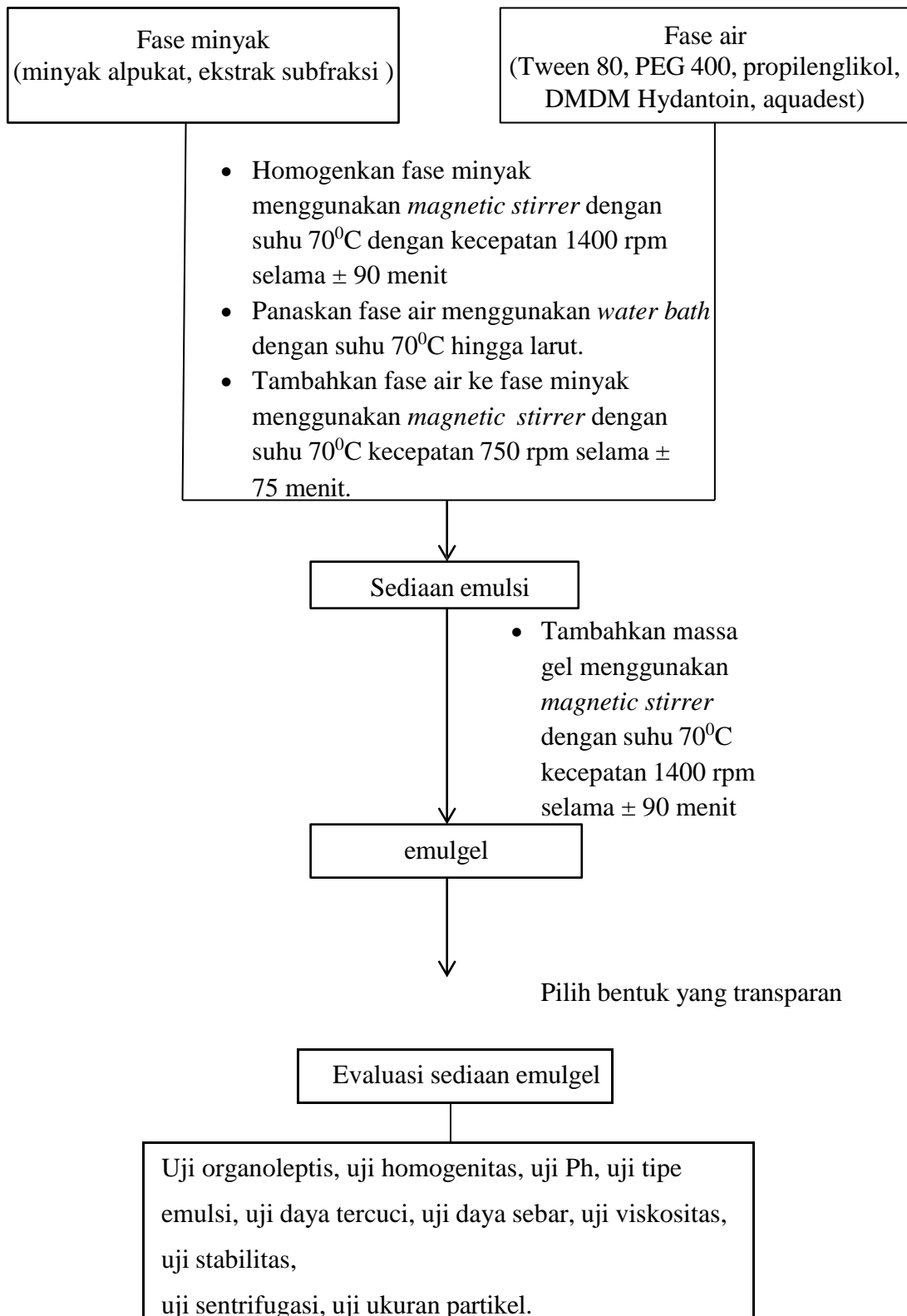
### Lampiran 3. Skema Kerja Penentuan Aktivitas Antioksidan Subfraksi Etil Asetat Kulit Jeruk Purut



#### Lampiran 4. Skema Kerja Pembuatan Basis Gel



**Lampiran 5. Skema Kerja Formulasi Sediaan Emulgel Subfraksi Kulit Jeruk Purut (*Citrus Hystrix D.C*)**



**Lampiran 6. Skema Kerja Formulasi Sediaan Emulgel Subfraksi Kulit Jeruk Purut  
(*Citrus Hystrix D.C*)**

