



UNIVERSITAS PADJADJARAN
PROGRAM MAGISTER ILMU KEFARMASIAN

TESIS

EVALUASI KANDUNGAN MINYAK LINGKUAS
(*Alpinia galanga* Linn) DAN KEAMANKATNYA SEBAGAI
PENCEGAH IRITASI PADA KULIT MARRISIA

Oleh:

Yayan Siti Djuhariah, S.si. Apt

NPM : 5409220024

Diusun sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Magister Farmasi

Universitas Padjadjaran

JAKARTA

2014



UNIVERSITAS PANCASILA
PROGRAM MAGISTER ILMU KEFARMASIAN

PROPOSAL TESIS

EVALUASI KANDUNGAN MINYAK LENGKUAS
(*Alpinia galanga*Linn) DAN MANFAATNYA SEBAGAI PENCEGAH
IRITASI PADA KULIT MANUSIA

Oleh

Yayah Siti Djuhariah. S.si. Apt

NPM : 5409220024

Disusun sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Magister Farmasi
Universitas Pancasila

JAKARTA

2014

UNIVERSITAS PANCASILA
PROGRAM MAGISTER ILMU KEFARMASIAN

PERSETUJUAN TESIS
MAGISTER FARMASI

NAMA : Yayah Siti Djuhariah, S.Si, Apt
NPM : 5409220024
JUDUL : EVALUASI KANDUNGAN MINYAK LENGKUAS
(*Alpinia galanga* Linn) DAN MANFAATNYA TERHADAP
IRITASI KULIT PADA MANUSIA

DISETUJUI OLEH :

Pembimbing



(Prof (ris) L Broto S. Kardono, M.Sc,PhD, Apt)

Pembimbing



(Dr.Rer.nat Anna S. Ranti, Apt)

**UNIVERSITAS PANCASILA
PROGRAM MAGISTER ILMU KEFARMASIAN**

**PERSETUJUAN TESIS
MAGISTER FARMASI
PEMINATAN : KOSMETIK BAHAN ALAM**

**EVALUASI KANDUNGAN MINYAK LENGKUAS
(*Alpinia galanga* Linn) DAN MANFAATNYA SEBAGAI
PENCEGAHAN IRITASI PADA KULIT MANUSIA**

Oleh :

Yayah Siti Djuhariah. S.Si, Apt

NPM : 5409220024

**Dipertahankan dihadapan Penguji Tesis Program Magister Ilmu Kefarmasian Universitas
Pancasila**

Pada Tanggal : 21 Februari 2014

**Mengesahkan,
Ketua Program Magister Ilmu Kefarmasian**



Prof. Shirly Kumala, M.Biomed., Apt.

Penguji Tesis

1. Prof.(ris). Swasono R. Tamat, M.Sc., Phd., Apt

1

2. Dr. Bambang Mursito, M.Si., Apt

2.

3. Prof. (ris). L. Broto S. Kardono, MSc, Phd, Apt

3

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur dipanjatkan ke hadirat Allah SWT ,yang senantiasa mencurahkan segala berkah, rahmat serta hidayah-Nya penelitian dan penyusunan tesis ini dapat diselesaikan.

Penelitian dan penyusunan tesis yang berjudul “ Evaluasi Kandungan Minyak Lengkuas (*Alpinia galanga* Linn) dan manfaatnya sebagai pencegah iritasi pada kulit manusia”. Tesis ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Master Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta.

Disadari bahwa dalam penyusunan penelitian tesis ini banyak memperoleh bantuan dan motivasi dari berbagai pihak baik berupa bimbingan maupun saran. Penghargaan dan ucapan terima kasih yang tulus saya sampaikan kepada yang terhormat :

1. Ibu Prof, Dr, Sherly Kumala. M. Biomed,Apt, selaku Ketua Program Magister Farmasi Universitas Pancasila yang telah memberikan bimbingan dan saran.
2. Bapak Prof (ris) L. Broto S. Kardono, M.Sc. PhD, Apt selaku pembimbing yang telah senantiasa meluangkan waktu, tenaga serta pikiran untuk memberikan petunjuk dan saran serta motivasi selama penyusunan penelitian tesis ini sehingga dapat diselesaikan dengan baik.
3. Ibu Dr.Ret. nat Anna S. Ranti, Apt selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan dan pengarahan kepada penulis.
4. Bapak Prof (ris) . Swasono R. Tamat .MSc.PhD . Apt, yang telah senantiasa meluangkan waktu, tenaga serta memberikan motivasi kepada penulis.
5. Bapak Prof (ris), Dr Muhammad Hanafi, M.Sc dan ibu Teni Ernawati, M,Sc yang telah banyak membantu dalam penelitian tesis ini.
6. Ayah , Ibu , suami dan putraku yang telah memberikan motivasi untuk menyelesaikan tesis ini.
7. Seluruh civitas akademika program Magister Ilmu Kefarmasian, Fakultas Farmasi Universitas Pancasila yang telah memberikan bantuan kepada penulis.
8. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan dukungan kepada penulis.

Akhir kata dengan kerendahan hati diharapkan semoga tesis ini dapat memberikan manfaat bagi ilmu pengetahuan khususnya di bidang pengembangan obat tradisional Indonesia.

Jakarta, Februari 2014

Penulis

PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS

Tesis Magister Farmasi tidak dipublikasikan, namun terdaftar dan tersedia di perpustakaan Universitas Pancasila Jakarta, dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk memperhatikan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh isi tesis haruslah seizin Ketua Program Pascasarjana Universitas Pancasila.

Perpustakaan yang meminjam tesis ini untuk keperluan anggotanya harus mengisi nama dan tandatangan peminjam dan tanggal peminjaman.

ABSTRAK

Minyak lengkuas (*Alpinia galanga* Linn) mengandung metil sinamat yang telah diteliti penggunaannya dalam dunia pengobatan sebagai inflamasi dan mencegah iritasi pada kulit dengan mekanisme kerja melepaskan asam arakidonat oleh enzim fosfolifase sehingga memicu enzim siklooksigenase membentuk endoperoksida yang menyebabkan gejala kemerahan, terasa sakit dan iritasi pada kulit.. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kandungan minyak lengkuas (*Alpinia galanga* Linn) dan manfaatnya dalam mencegah iritasi kulit setelah diinduksi larutan natrium lauril sulfat 1,0%. Kadar metil sinamat hasil pemeriksaan dengan GC-MS menghasilkan 78,68%. Produk tersebut akan dipergunakan untuk uji klinik dengan menggunakan Uji Tempel Tertutup Tunggal dengan rancangan studi buta tunggal, konsentrasi minyak lengkuas dan metil sinamat masing-masing 0,1% dengan bahan iritan larutan natrium lauril sulfat dengan konsentrasi 1,0%.

Hasil pengujian pada kulit manusia menyimpulkan bahwa minyak lengkuas (*Alpinia galanga* Linn) yang mengandung metil sinamat 78,68% memiliki potensi sama dengan baku pembandingan larutan metil sinamat yaitu dapat mencegah dari iritasi kulit yang diinduksi larutan sodium lauryl sulfat.

Kata kunci : Minyak lengkuas, metyl sinamat, iritasi, natrium lauril sulfat, uji tempel tertutup tunggal

ABSTRACT

Oil galangal (*Alpinia galanga* Linn) containing methyl cinnamic who have studied its use in medicine as an anti-inflammatory and irritation protected skin mechanism of action by which the release of inflammatory arachidonic acid by the enzyme cyclooxygenase enzyme fosfolifase triggering endoperoksida form that causes the symptoms of redness , irritation . This study aimed to evaluate the oil content galangal (*Alpinia galanga* Linn) and its benefits in preventing skin irritation after induced sodium lauryl sulfate 1.0 % . Levels of methyl cinnamic examination by GC - MS yield 78.68 % . The product will be used for clinical trial using the Test Paste Single Closed with a single blind study design . The concentration of galangal oil and methyl cinnamic 0.1 % respectively with irritants sodium lauryl sulfate at a concentration of 1.0 % .

The test results concluded that human skin oil galangal (*Alpinia galanga* Linn) containing methyl cinnamic 78.68 % has the same potential with the reference standard solution of methyl cinnamic which can prevent skin irritation induced sodium lauryl sulfate .

Keywords : Oil galangal , metyl cinnamic , irritant , sodium lauryl sulfate , Test Patch
Single closed

DAFTAR ISI

	Halaman
PERSETUJUAN TESIS.....	i
KATA PENGANTAR	ii
PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACK	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II .TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Tanaman lengkuas (<i>Alpinia galanga</i> Linn).....	6
1 Deskripsi tanaman lengkuas.....	6
2. Klasifikasi tanaman lengkuas.....	7
3. Nama sinonim tanaman lengkuas	7
4. Nama daerah tanaman lengkuas	7
5. Ekologi dan penyebaran	7
6. Kandungan kimia	8
7. Aktivitas biologi.....	10
8 Toksisitas rizoma lengkuas.....	12
B. Destilasi atau penyulingan	12
C. Metode analisis komponen produk	12

1. Kromatografi gas dan spectrometri massa (GS-MS)	12
2. Spektrofotometri ultra violet – cahaya tampak (UV-VIS).....	17
3. Spektrofotometri inframerah fourier transform (FT-IT)	18
D Kulit.....	20
1. Struktur dan fungsi barrier pada kulit.....	20
2. Fungsi barrier pada kulit	21
3. Mekanisme iritasi dan respon inflamasi	21
E. Mekanisme Kerja anti-iritan	24
F. Human testing.....	26
1. Uji Tempel tertutup.....	26
2. Uji Tempel terbuka.....	27
3. Uji Tempel dengan sinar.....	27
G. Landasan teori	27
H. Hipotesa	28
BAB III. RANCANGAN PENELITIAN	29
A. Prinsip penelitian	29
B. Kerangka konsep.....	29
C. Definisi operasional	30
D. Populasi dan sampel	30
E. Analisis Data	33
BAB IV. BAHAN, ALAT DAN METODE PENELITIAN	34
A. Bahan	34
B. Alat	34
C. Metode penelitian	34
1. Penyiapan minyak rimpang lengkuas (<i>Alpinia galanga</i> Linn)	34
2. Persiapan larutan untuk penelitian	35
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
A. Bahan serbuk metyl sinamat dan minyak lengkuas	38

B. Hasil Identifikasi minyak lengkuas (<i>Alpinia galanga</i> Linn).....	39
C. Hasil evaluasi kandungan minyak lengkuas (<i>Alpinia galanga</i> Linn) untuk Mensegah iritasi pada kulit manusia	46
D. Hasil pengujian manfaat dermoproteksi	47
E. Hasil pengujian manfaat minyak lengkuas sebagai pencegah iritasi Pada kulit manusia	51
F. Hasil pengamatan potensi perlindungan produk pada kulit yang diinduksi Dengan iritan yaitu larutan sodium lauryl sulfat 0,1%	52
BAB VI.KESIMPULAN DAN SARAN	53
A. Kesimpulan	53
B. Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN	58

DAFTAR TABEL

Tabel

2.1. Pita serapan spectrum inframerah	20
3.1. Parameter penilaian eritema	32
4.1. Produk uji yang diaplikasikan	36
4.2. Daftar penilaian secara klinik pada reaksi iritasi akut yang disebabkan Sodium lauryl sulfat (ESCL)	37
5.1. Hasil analisa minyak lengkuas secara gas kromatografi – massa Spectrofotometric (GC-MS)	40
5.2. Hasil analisa metil sinamat secara GC-MS	40
5.3. Hasil analisa spectrum inframerah dari minyak lengkuas dan metil sinamat .	42
5.4. Hasil analisa panjang gelombang serapan maximum minyak lengkuas dan metil sinamat secara spektrofotometri UV-VIS	45
5.5. Informasi subjek dalam penelitian awal	47
5.6. Reaksi kulit sebelum dan setelah pengangkatan pita tempel tertutup 24 jam pada produk minyak lengkuas	48
5.7. Reaksi kulit sebelum dan setelah pengangkatan pita tempel tertutup 24 jam pada produk minyak kelapa	49
5.8. Reaksi kulit sebelum dan setelah pengangkatan pita tempel tertutup 24 jam pada produk metal sinamat	50
5.9. Hasil pengamatan terhadap subjek yang diaplikasikan produk uji di darah punggung	49
5.10. Hasil pengamatan potensi perlindungan produk pada kulit yang diinduksi dengan iritan yaitu lautan sodium lauryl sulfat 0,1%	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar

2.1. Bagian tanaman lengkuas (<i>Alpinia galanga</i> Linn).....	8
2.2. Struktur metil sinamat	8
2.3. Skema spectrophotometer ultraviolet – cahaya tampak	17
2.4. Skema spectrophotometer inframerah	18
2.5. Skema diagram epidermis dan stratum corneum	21
5.1. Metil sinamat dan minyak lengkuas	38
5.2. Spektrum metyl sinamat secara GC-MS	39
5.3. Spektrum minyak lengkuas (<i>Alpinia galanga</i> Linn) secara GC-MS	39
5.4. Spektrum inframerah minyak lengkuas (<i>Alpinia galanga</i> Linn).....	41
5.5. Spektrum inframerah metyl sinamat	42
5.6. Spektrum metyl sinamat dalam pelarut methanol	44
5.7. Spektrum minyak lengkuas dalam pelarut methanol	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran :

1. Hasil pemeriksaan metil sinamat.....	58
2. Foto-Foto	59
3. Spektrum resapan minyaklengkuas dan metal sinamat secaraGC-MS	64
4. Spektrum minyak lengkuas dan metal sinamat secara FT-IR	67
5. Spektrum minyak lengkuas dan metal sinamat secara UV/VIS	71

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Kulit merupakan organ yang menutupi seluruh permukaan tubuh dan memiliki fungsi utama sebagai pelindung dari berbagai gangguan dan rangsangan dari luar, baik rangsangan mekanis, kimia, maupun radiasi. Fungsi perlindungan ini terjadi melalui sejumlah mekanisme biologis seperti pembentukan lapisan tanduk secara terus menerus dengan keratinisasi dan pelepasan sel-sel yang mati, respirasi dan pengaturan suhu tubuh, produksi sebum dan keringat, dan pembentukan pigmen melanin, serta pertahanan terhadap tekanan dan infeksi dari luar.⁽³¹⁾

Berbagai jenis efek dapat terjadi akibat pajanan kulit pada lapisan epidermis dan dermis diantaranya terjadi reaksi iritasi. Iritasi merupakan suatu reaksi kulit yang terjadi akibat pajanan dengan bahan iritan atau zat kimia yang merusak epidermis dan atau dermis. Pada umumnya iritasi akan segera menimbulkan reaksi kulit sesaat setelah pelekatan atau penyentuhannya pada kulit, iritasi demikian disebut iritasi primer. Tetapi jika reaksi tersebut timbul beberapa jam setelah pelekatan pada kulit disebut iritasi sekunder.⁽¹⁰⁾

Kelainan kulit pada iritasi terjadi akibat kerusakan sel yang disebabkan oleh bahan iritan melalui kerja kimiawi maupun fisik. Dimana bahan iritan tersebut dapat merusak lapisan tanduk, terjadi denaturasi keratin, dan menghilangkan lemak lapisan tanduk serta mengubah daya ikat air kulit. Keadaan ini akan merusak sel epidermis. Intensitas kerusakan tergantung pada jenis bahan, konsentrasi, lama kontak, lokalisasi dan umur.⁽²⁾

Bahan iritan ini dapat merusak kulit dengan cara menghabiskan lapisan tanduk secara bertahap melalui denaturasi keratin sehingga mengubah kemampuan kulit untuk menahan air. Umumnya yang paling sering terjadi iritasi pada tangan dan pada wajah yang disebabkan reaksi negatif akibat pemakaian kosmetik.⁽²⁾

Keratinosit pada epidermis berperan dalam proses peradangan pada iritasi kulit dengan menghasilkan sitokin. Sitokin yang berperan dalam proses inflamasi adalah Interleukin -1 (IL-1) dan TNF-IL-8 dan IP -10 yang bertindak sebagai chemotaxin. Mekanisme inflamasi adalah terlepasnya asam arakidonat oleh enzim posfolifase sehingga memicu enzim

siklooksigenase membentuk endoperoksida dan beberapa senyawa kimia yang menyebabkan gangguan fungsi tubuh dengan gejala kemerahan, terasa sakit, dan iritasi.

Reaksi iritasi umum terjadi pada individu yang rentan dan paling sering terjadi pada wajah yang diidentifikasi sebagai "sengatan". Beberapa bahan yang menyebabkan reaksi ini umumnya tidak dianggap sebagai iritasi khas, dan tidak akan menyebabkan respon abnormal pada individu tertentu. Dalam sebuah studi oleh Broeckx et al., 5,9% dari populasi uji 5202 pasien mengalami gangguan ringan dalam bentuk dermatitis kontak yang bersifat iritasi yang disebabkan reaksi negatif dari pemakaian kosmetik. Reaksi yang disebabkan oleh kosmetik, juga diteliti oleh Eiermann dkk. dari 8.093 pasien diuji untuk kontak dermatitis, 487 kasus (6%) didiagnosis sebagai dermatitis kontak berupa iritasi yang disebabkan oleh kosmetik⁽²⁸⁾

Kerusakan penghalang lipid dari stratum corneum dikaitkan dengan hilangnya kohesi corneocytes dan deskuamasi dengan peningkatan kehilangan air transepidermal (TEWL). Ini adalah salah satu yang memicu stimulus untuk sintesis lipid dan pemulihan penghalang. Namun, studi terbaru menunjukkan bahwa konsep peningkatan TEWL setelah natrium lauryl sulfat secara langsung terkait dengan efek delipidizing surfaktan pada stratum corneum tidak dapat terus meningkat. Fartasch et al. menunjukkan bahwa sodium lauryl sulfat pada paparan selama 24 jam menyebabkan kerusakan dalam sel-sel epidermis,⁽²⁸⁾

Terjadinya reaksi iritasi dapat diatasi dengan mengurangi jumlah bahan aktif dalam formulasinya, atau dengan cara mengurangi penetrasi bahan aktif tersebut ke dalam kulit. Kekurangan dari dua pendekatan tersebut adalah bahwa keampuhannya jadi berkurang atau dengan mempergunakan bahan anti-iritan⁽²⁸⁾

Anti iritan didefinisikan sebagai bahan yang jika digunakan bersama dengan iritan kulit atau mata, dapat mengurangi potensi iritasinya sehingga dapat ditoleransi efeknya ketika dibubuhkan pada tubuh. Bahan anti-iritan dapat ditambahkan langsung dalam formulasi yang mengiritasi, sehingga membuat dampak iritasinya berkurang. Anti-iritan biasanya memiliki aktivitas cukup spesifik. Beberapa anti-iritan bekerja melalui reaksi kimia dengan iritan. Anti-iritan seperti teh hijau dan ekstrak alami mengurangi pelepasan sitokin dan prostaglandin dan enzim pelindung mitokondria.⁽²⁸⁾

Hal ini dibuktikan dengan data klinis tentang efek teh hijau dan ekstrak alami terhadap iritasi sodium lauryl sulfat dan asam laktat, serta didukung oleh uji in vitro. Anti-iritan

lainnya bekerja dengan cara “membuat kompleks”, di mana iritan bisa jadi tidak dinetralkan secara kimiawi, namun iritan tersebut kehilangan potensi iritasinya yaitu pada penambahan polyvinyl pyrrolidone dalam formulasi kosmetika⁽²⁸⁾.

Mekanisme iritasi kulit dan inflamasi adalah kompleks dan tergantung pada banyak faktor. Tidak ada satu jalur yang dapat dianggap sepenuhnya bertanggung jawab atas eritema, gatal pada kulit. Tidak seperti obat modern yang merupakan komponen aktif tunggal dan menargetkan satu jalur tertentu, obat-obatan herbal bekerja dengan cara yang tergantung pada banyak molekul yang berbeda yang bertindak sinergis pada elemen yang ditargetkan dari jalur selular kompleks. Mekanisme peradangan dapat ditunjukkan dari beberapa tanaman lain yang paling umum dikenal untuk mengobati peradangan dan eritema yaitu Chamomile Jerman (*Matricaria recutita*) dan Roman Camomile (*Anthemis nobilis*) yang mengandung berbagai bahan aktif seperti bisabolol, turunan azulene dan berbagai flavonoid (terutama apigenin). Bahan herbal lainnya terkenal karena aktivitas anti-inflamasi tergantung pada gugus kimianya yaitu golongan flavonoid dan glikosida, apigenin, luteolin, quercetin, rutin, kaempferol dan antioksidan dapat digunakan sebagai pelindung, dan aktivitas anti-inflamasi⁽²⁸⁾

Berdasarkan berbagai informasi tersebut di atas dan dalam rangka mengembangkan daya guna minyak lengkuas (*Alpinia galanga* Linn) maka dilakukan penelitian dengan cara mengevaluasi kandungan zat aktif metal sinamat sebagai antiiritasi. Minyak atsiri yang dipergunakan dalam penelitian ini berasal dari minyak rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* Linn) yang mengandung 1,0 % minyak atsiri terdiri dari kamfer, sineol dan metil sinamat, acetoxychavicol acetat, acetoxyeugenol acetat, chavicol, chavicol acetat, metyleugenol, pinen, galangin, kuersetin, trans kumarin diacetat. Sesquiterpenoids, p-hydroxynamaldehyde,^(5,9)

Kegunaan rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* Linn) sebagai bahan obat semakin luas dengan ditemukannya berbagai aktivitas biologis yang bermanfaat antara lain sebagai anti inflamasi, karminatif, antioksidan, analgetik, anti jamur serta zat aktif *acetoxychavicol acetat* yang diisolasi dari rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* Linn), mempunyai aktivitas sebagai anti tumor, kemo-pencegahan terhadap kanker antiseptik dan bakterisid, hipotensor ringan, spasmolitik dan antiinflamasi⁽²³⁾,

Pada penelitian ini mempergunakan metode Uji Tempel Tertutup Tunggal .dilakukan dengan cara bahan uji diaplikasikan pada daerah kulit punggung sebanyak lima kali setiap hari dua kali. Pada hari ke-3 dioleskan produk uji lalu 20 menit kemudian dilakukan Uji Tempel Tertutup Tunggal dengan mengaplikasikan larutan sodium lauryl sulfat dengan konsentrasi 1,0 % dengan pita tempel oklusif selama 24 jam . Dievaluasi secara visual pada 30 menit dan 24 jam setelah pengangkatan pita tempel. Respon dinilai dengan skala reaksi kulit (eritema dan edem) serta perubahan struktur kulit.

B. Perumusan Masalah

Apakah minyak lengkuas(*Alpinia galanga* Linn) dengan konsentrasi 0,1 % setelah diinduksi oleh larutan natrium lauril sulfat dengan konsentrasi 1,0 % dapat bermanfaat untuk mencegah atau melindungi iritasi pada kulit

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

Memanfaatkan zat aktif metil sinamat yang terkandung dalam minyak lengkuas (*Alpinia galanga* Linn) untuk melindungi kulit dari iritasi kulit setelah diinduksi oleh larutan natrium lauril sulfat 1,0%

2. Tujuan khusus

- a. Mengidentifikasi metil sinamat pada minyak lengkuas (*Alpinia galangal* Linn) dengan menggunakan alat Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa, Infra Merah dan Spektrometer UV/VIS
- b. Mengevaluasi manfaat minyak lengkuas (*Alpinia galanga* Linn) dalam melindungi terjadinya iritasi yang disebabkan oleh larutan Natrium Lauril Sulfat 1,0%

D. Manfaat Penelitian

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai aktivitas minyaklengkuas ((*Alpinia galanga* Linn yang dapat dipergunakan untuk mencegah atau melindungi terjadinya iritasi

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman lengkuas (*Alpinia galanga* Linn)

1. Deskripsi⁽⁹⁾

Lengkuas (*Alpinia galanga* Linn) merupakan terna tahunan ,berbatang semu, tumbuh tegak, tinggi 1 m sampai 3 m, Batang muda keluar sebagai tunas dari pangkal batang tua. Daun berbentuk lanset, bundar memanjang, ujung tajam ,berambut sangat halus kadang-kadang tidak berambut, bagian tepi berwarna putih bening, warna permukaan daun bagian atas hijau tua, buram dan bagian bawah hijau muda; urat daun menyirip sejajar, panjang 24 cm sampai 47 cm dan lebar 3,5 cm sampai 11,5 cm,; tangkai daun pendek, panjangnya 1 sampai 1,5 cm, bagian dasar tangkai daun terdapat lidah berwarna kecoklat-coklatan dan berambut halus . Perbungaan terbentuk di ujung batang, berbentuk tandan ,tegak, gagang panjang,ramping, jumlah bunga di bagian bawah lebih banyak daripada bunga dibagian atas, (bagian bawah terdapat 3 sampai 6 bunga, bagian atas 1 sampai 2 bunga); sehingga tandan bentuk piramida, memanjang, kelopak bunga berbentuk lonceng atau corong, agak lebar ,panjang, 12 mm,berwarna putih atau putih kehijauan, tidak berambut; di bawah kelopakbunga terdapat daun pelindung tambahan, ,bentuk lanset,tajam,tipis,hampir tidak berambut, daun pelindung semakin keatas semakin kecil; mahkota bunga yang masih kuncuppada bagian ujung berwarna putih, panjang 2 cm, bibir bunga dangkal, berbentuk jorong, panjang 2,5 cm, bergigi tidak beraturan sepanjang tepinya, tidak berambut, di bagian bawah berwarna hijau dan di bagiaan atas berwarna putih bergaris merah jambu. Rimpang menjalar, berdaging, berkulit mengkilap, berwarna merah atau kuning pucat ,berserat kasar, berbau harum dan rasa pedas.

2. Klasifikasi tanaman lengkuas

Divisi : Magnoliopyta

Klasis: Liliaopsida

Ordo : Zingiberalis

Klas : Zingiberaceae

Genus: *Alpinia*

Spesies : *Alpinia galanga*Linn

3. **Sinonim** : *Alpinia galanga* .Linn. *Alpinia pyramida* ⁽⁹⁾

4. **Nama daerah**

Aceh : *Langkueueh* (Aceh), *Leungkues* (Gayo), *kelawas*, *halawas* (Batak), *lakuwe*(Nias), *lengkuas* (Melayu), *langkuweh* (Minang), *lawas*(Lampung),

Jawa : *laja* (Sunda), *laos*(Jawa), *laos* (Madura)

Kalimantan : *langkuas* (Banjar),

Nusatenggara : *kalawasan*, *laja*, *lahwas*, *isem* (Bali), *langkuas* (Roti)

Sulawesi: *laja*, *langkuwasa*, (Makasar), *aliku* (Bugis), *lingkuas* (Menado), *likui*(Gorontalo)

Maluku : *lawase*, *lakwase* (Seram), *kourola* (Amahai), *laawasi* (Alfuru), *galias* (Halmahera), *Lauwasel* (Saparua), *galiasa* (Ternate), *logoase*(Buru)

5. **Ekologi dan penyebarannya** ⁽⁹⁾

Tumbuh diseluruh Indonesia, Asia Tenggara, di bawah kaki pegunungan Himalaya sebelah Timur hingga laut Cina dan India barat daya diantara Chats dan Lautan Indonesia. Di Jawa tumbuh liar di hutan, semak belukar umumnya di tanam ditempat yang terbuka sampai di tempat yang agak kenaungan. Tumbuh pada ketinggian tempat sampai 1.200 m diatas permukaan laut

Lengkuas diperbanyak dengan potongan rimpang yang telah bertunas atau dengan sobekan rimpang anaknya, Syarat tanah dan iklim umumnya sama seperti tanaman jahe yakni menghendaki tanah yang gembur mudah diolah, cukup subur dan mengandung banyak humus. Umumnya tidak tahan terhadap keadaan tanah yang banyak mengandung air atau tergenang. Tanaman memerlukan tempat yang terbuka yang banyak mengandung sinar matahari . Pada tempat yang sedikit terlindung tumbuh masih cukup baik pertumbuhannya. Iklim yang dikehendaki adalah iklim panas dengan curah hujan yang cukup tinggi yaitu antara 1.500 mm sampai 4000 mm setahun.

Pengolahan tanah dilakukan dengan cara mencangkul sekali sampai dua kali , membersihkan gulma dan membuat alur atau lubang tanam sedalam 7,5 cm sampai 10 cm untuk meletakkan stek rimpang. Jarak tanam antar barisan 60 cm sampai 90 cm, dalam

barisan 30 cm sampai 60 cm. Stek rimpang ditanam atau dialur atau lubang tanam. Waktu tanam dilakukan pada musim hujan Setelah satu atau dua minggu tunas tumbuh. Setelah berumur 1 bulan tanaman disiang sambil ditimbun sedikit, penyiapan diulang kembali pada umur 2 bulan. Panenan dilakukan pada umur 2,5 bulan sampai 4 bulan, agar diperoleh rimpang muda yang belum banyak berserat. Cara panen dilakukan dengan mencabut tanaman. Rimpang dipisahkan dari batang, kemudian dicuci dan dikeringkan, hama dan penyakit ulat pemakan daun yaitu *kerana diocles* dan *Udaspes* merupakan hama yang sering menimbulkan kerusakan.⁽⁹⁾

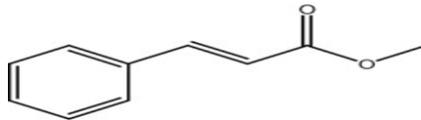


Gambar :Bagian tanaman Lengkuas⁽⁵⁾

6. Kandungan kimia

Rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* Linn) mengandung minyak atsiri yang terdiri dari:

- a. Metil sinamat (metil-3-fenil-2- propenoat) merupakan senyawa volatile berupa Kristal putih yang memiliki aroma khas. Senyawa ini memiliki berat molekul 162,19 g/mol ($C_{10}H_{10}O_2$), mempunyai titik leleh 34-38⁰C, dan kelarutan dalam air 387,1 mg/mL pada suhu 25⁰ C.⁽²⁴⁾



Gambar: Struktur metil sinamat.⁽²⁴⁾

- b. Kaempferol, $C_{15}H_{10}O_6$ berbentuk jarum warna kuning, jarak lebur $276-278^{\circ}C$. Sukar larut dalam air, larut dalam alkohol panas, eter atau basa. Dengan pereaksi feri klorida akan memberi warna hijau, dengan pereaksi feri ammonium sulfat memberi warna purple. Senyawa ini bersifat mereduksi larutan Fehling dan perak ammoniakal.⁽³⁵⁾
- c. Gingerol $C_{17}H_{26}O_4$ juga terkandung dalam rimpang jahe (*Zingiber officinale* Roscoe.) berupa minyak berwarna kuning, rasa pedas, indeks bias 1,5212. Larut dalam alkohol, eter, kloroform, benzena dan sedikit larut dalam petroleum eter panas.⁽³⁵⁾
- d. Kaempferitrin (kaempferol ramnosida, $C_{27}H_{30}O_{14}$) merupakan jarum warna putih dengan jarak lebur $190-192^{\circ}C$, sangat sukar larut dalam air dan alkohol mendidih. Apabila mengalami hidrolisis maka senyawa ini akan terurai menjadi kaempferol dan 2 molekul ramnosa.⁽³⁵⁾
- e. Quersetin, $C_{15}H_{10}O_7$ adalah bentuk aglikon dari glikosida quercitrin (yang telah melepas molekul L-ramnosa) merupakan jarum kuning yang larut dalam asam asetat glasial. Satu gram larut dalam 299 ml alkohol dingin, dan larut dalam 23 ml alkohol mendidih. Apabila bercampur dengan larutan basa akan memberi warna kuning kehijauan. Praktis tidak larut dalam air. Dengan pereaksi feri klorida memberi warna coklat kemerahan setelah dipanaskan. Kegunaan dalam pengobatan adalah untuk mengobati kerapuhan. LD50 per oral pada mencit adalah 160 mg/kgBB⁽³⁵⁾
- f. Minyak atsiri lainnya terdiri dari: Galangin, Acetoxychavicolacetat, P-simene, 1,8-sineole, dan a-terpinene, a-fellandren.⁽¹⁾

Sifat-sifat minyak lengkuas : (menurut Schimmel & Co)⁽¹³⁾.

Berat jenis 15o	: 0,9847
Rotasi optik	: + 4o 20'
Indeks bias 20o	: 1,5164
Bilangan asam	: 1,8
Bilangan ester	: 145,6
Kandungan eugenol	: 3 - 4%

Kelarutan: Campur dengan alkohol absolut.

8. Aktivitas biologi rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* Linn)

a. Efek fungisida dan fungistatis^(15, 34, 37)

Efek fungisida dan fungistatis dari *Alpinia galanga* Linn terhadap *Trichophyton mentagophytes* dan *Trichophyton Ruburm* menunjukkan bahwa keberadaan 34% ekstrak *Alpinia galanga* Linn menghambat *Trichophytonmentagophyte* dan 35% membunuh parasit . Ekstrak *Alpinia galanga* Linn dilaporkan juga aktif melawan *Microsporum gypseum*, dan *Epidermophyton floccosum*,⁽⁴⁾

Terpinen-4-ol dalam minyak rhizoma *Alpinia galanga* Linn segar dan kering dinyatakan sebagai antifungi paling aktif. Ekstrak n-pentana atau eter dari rizoma kering aktif melawan *Trichophytomentagrophytes*. 1'-acetoxychavicol acetate, 1'-acetoxyeugenol acetate, dan 1'-hydroxychavicol acetate ditemukan dalam fraksi-fraksi aktif antifungal. 1'-acetoxychavicol acetate aktif melawan 7 jamur yang diteskan dan konsentrasi penghambat minimumnya terhadap *dermatophytes* memiliki rentang 50-250µg/mL. Irisan rizoma yang dikeringkan mengandung 1.5% 1'-acetoxychavicol acetate^(17.)

b. Aktifitas antibakteri

Ekstrak air dan alkohol *Alpinia galanga*Linn menunjukkan penghambatan nyata terhadap *Staphylococcus aureus* 6538, *Staphylococcus.aureus* 25923, *Streptococcus Gram A*, β -*streptococcus B*, *Staphylococcus lutea*, *Bacilus .subtilis*, *M.smegmatis*, *Pseudomonas auruginosa* dan *A.hydrophilia*⁽⁶⁾

Dalam daging giling, penambahan ekstrak *Alpinia .galanga*Linn meningkatkan sterilitas oksidatif. Ekstrak *Alpinia galanga*Linn pada konsentrasi lebih tinggi 0,05% dan 0,01% juga diketahui dapat memperpanjang waktu simpan daging giling. Ekstrak *Alpinia galanga*Linn mungkin berguna dalam penghambatan oksidasi lemak dan meningkatkan stabilitas microbial pada daging giling.⁽⁷⁾

c. Aktivitas antitumor¹⁾

1'-acetoxychavicol acetate dan acetoxyeugenol acetate, yang diisolasi dari *Alpinia galanga* Linn , menunjukkan aktivitas antitumor terhadap *sarcoma* 180 (ascites –

akumulasi cairan pada peritoneal cavity, tanda-tanda penyakit liver) pada mencit. Pengujian menggunakan tikus besar (English: rat) menunjukkan bahwa 1'-acetoxychavicol acetate (ACA) dari *Alpinia galanga* Linn dapat menghambat perkembangan azoxymethane (AOM)-induced colonic aberrant crypt foci (ACF) melalui penekanan proliferasi sel dalam *colonic mucosa* dan 1- acetoxychavicol acetate (ACA) mungkin menjadi zat kemoterapi terhadap *colon tumorigenesis*^(29, 30).

1'-acetoxychavicol acetate (ACA) diisolasi sebagai penghambat aktivasi EBV yang baik. Melalui tes *in vivo* pada kulit tikus, 1- acetoxychavicol acetate (ACA) juga terbukti sebagai pemicu anti tumor yang sangat aktif. Ekstrak etanol dari *Alpinia galanga* Linn pada perawatan mencit tidak mempengaruhi jumlah *micronucleated polychromatic erythrocytes* (PCE) dalam sel sumsum tulang, mengubah protein dan asam nukleat dalam hati dan testis, atau menyebabkan mitodepression sumsum tulang. Cyclophosphamide (CP) menginduksi *micronucleated 1- acetoxychavicol acetate erythrocytes (PCE)*, dan perawatan *Alpinia galanga* Linn secara signifikan mengurangi efek tersebut tanpa mengubah cytotoxicity dengan minimum ED 125mg/kg berat tubuh⁽²⁵⁾

d. *Cancer chemopreventive* (kemo-pencegahan terhadap kanker)^(15, 18)

Dikendalikan oleh *glutathione S-transferase* (GST), fraksionasi minyak akar *Alpinia galanga* Linn berakhir pada pengisolasian ethyl trans-cinnamate dan ethyl 4-metoxy-trans-cinnamate dari minyak akar *Alpinia galanga* Linn. ethyl trans-cinnamate dan ethyl 4-metoxy-trans-cinnamate menunjukkan aktifitas yang signifikan dalam liver dan usus mencit. Induksi aktifitas *glutathione S-transferase*(GST) yang telah ditingkatkan, dipercaya sebagai mekanisme utama untuk detoksifikasi bahan kimia karsinogen, telah dikenali sebagai salah satu ciri cara kerja zat anti-karsinogen. Oleh karena itu, senyawa-senyawa tersebut menunjukkan kemungkinan sebagai zat kemo-preventif⁽³⁴⁾

Minyak atsiri yang terkandung dalam rhizome *Alpinia galanga* Linn mengandung metil cinamat, p- methane-1,8-epoksi-acetatxy chavicol acetat, acetocyeugenol acetat yang dapat menghambat terjadinya inflamasi atau peradangan dengan menghambat sintesis prostaglandin),

9. Toksisitas rizoma lengkuas (*Alpinia galanga* Linn)

.Ekstrak *Alpinia galanga* Linn dalam alkohol 50% diberikan secara oral (10g/kg) atau disuntikkan secara intraperitoneal (10g/kg) pada mencit. Tidak menyebabkan keracunan..

Pada penelitian toksisitas ekstrak etanol rizoma *Alpinia galanga* Linn yang dilakukan pada mencit dengan dosis akutnya adalah 0.5, 1.0, dan 3g/kg berat tubuh selama 24 sementara dosis kronisnya adalah 100 mg//kg/hari selama 90 hari. akut

Tidak menimbulkan kematian jika dibandingkan dengan grup terkontrolnya. Berat badan pada hewan-hewan yang diuji terlihat perubahan jika dibandingkan grup terkontrolnya.

Penelitian hematological menunjukkan peningkatan tingkat RBC yang tinggi pada hewan-hewan uji jika dibandingkan dengan kelompok terkontrolnya.^{(15, 1)8}

Hasil uji toksisitas secara in vivo berdasarkan pengukuran LD50 terhadap mencit strain C3H yaitu sebesar 765 mg/kg BB. Pada konsentrasi 765 mg/kg BB merupakan batas konsentrasi tertinggi karena mematikan 50% mencit percobaan.⁽²⁷⁾

B. Teknologi ekstraksi minyak atsiri

Minyak atsiri pertama kali diisolasi pada tahun 1300 oleh Ardold de Villanova, Akan tetapi produksi secara modern dilakukan oleh Lavoisier (Prancis) sekitar tahun 1760-1770. Secara konvensional ada beberapa metode yang dapat diterapkan untuk memperoleh minyak atsiri dari tumbuhan asal yaitu dengan metode penyulingan, ekstraksi dengan pelarut yang mudah menguap, pengikatan dengan lemak padat dan lain sebagainya. Secara modern dapat memperoleh minyak atsiri dengan metode penyulingan molekuler, penyulingan uap ekstraksi pelarut berkelanjutan, ekstraksi fluida super kritik, dan ekstraksi penyerapan dengan resin berongga besar.⁽³⁾

Destilasi atau penyulingan^(10, 11)

Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa kandungan menguap (minyak atsiri) dari bahan segar ataupun simplisia dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial senyawa kandungan menguap dengan fase uap dari ketel secara *continue* sampai sempurna dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran menjadi destilat air bersama senyawa

kandungan yang memisah sempurna atau sebagian. Atau proses pemisahan komponen cairan atau padatan dari berbagai macam campuran berdasarkan titik uap atau perbedaan kecepatan menguap bahan.⁽¹²⁾

C. Metode analisis komponen produk

1. Kromatografi Gas dan Spektrometri Massa (GC- MS)⁽³⁾,

Sedikit sekali minyak atsiri yang memiliki komponen tunggal dengan porsi yang sangat besar, kebanyakan mengandung campuran senyawa dengan berbagai tipe. Karena itu , analisis dan karakterisasi komponen minyak atsiri merupakan masalah yang cukup rumit, ditambah dengan sifatnya yang mudah menguap pada suhu kamar. Jadi, untuk menganalisa minyak atsiri perlu diseleksi metode yang akan diterapkan. Kendala yang lazim pada saat menganalisa komponen penyusun minyak atsiri adalah hilangnya sebagian komponen selama proses prefarasi dan selama berlangsungnya proses analisis.

Namun sejak ditemukanya kromatografi gas (GC), kendala dalam analisis komponen minyak atsiri mulai dapat diatasi walaupun terbatas hanya pada analisa kualitatif dan penentuan kuantitatif komponen minyak atsiri saja. Pada penggunaan kromatografi gas ini efek penguapan dapat dihindari bahkan dihilangkan sama sekali. Perkembangan teknologi instrumental yang sangat pesat akhirnya dapat menghasilkan alat yang merupakan gabungan dua system kromatografi gas dan spektrometri massa (GC- MS)

Pada alat system kromatografi gas dan spektrometri massa (GC- MS) ini, kedua alat dihubungkan dengan suatu interfase . Kromatografi gas ini berfungsi sebagai pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel, sedangkan spektrometri massa berfungsi untuk mendeteksi masing-masing molekul komponen yang telah dipisahkan pada system Kromatografi Gas. Analisis dengan Kromatografi Gas dan Spektrofotometri massa (GC- MS) merupakan metode yang cepat dan akurat untuk memisahkan campuran yang rumit, mampu menganalisa cuplikan dalam jumlah sangat kecil dan menghasilkan data mengenai struktur serta identitas senyawa organik.

Komponen dan unsur dalam system GC-MS terdiri dari:

1. Gas Pembawa).

Faktor yang menyebabkan suatu senyawa bergerak melalui kolom kromatografi gas adalah keatsirianya, aliran gas yang melalui kolom yang diukur dalam satuan ml/menit,

serta penurunan tekanan antara pangkal dan ujung kolom. Gas pembawa yang sering dipakai adalah helium, argon, nitrogen, hydrogen dan karbon dioksida. Pemilihan gas pembawa tergantung pada detector yang dipakai. Gas pembawa penting harus memenuhi persyaratan antara lain harus *inert* (tidak bereaksi dengan sampel, pelarut, material dalam kolom), murni dan mudah diperoleh.

2. Kolom

Keberhasilan suatu proses pemisahan terutama ditentukan oleh kolom. Kolom dapat terbuat dari tembaga, baja tahan karat, aluminium atau gelas. Kolom dapat berbentuk lurus, melengkung ataupun gulungan spiral sehingga lebih menghemat ruang. Ada dua macam kolom yaitu:

a. Kolom Kemas

Kolom kemas dalam pipa yang terbuat dari logam, kaca atau plastik yang berisi penyangga padat yang inert. Fase iam berwujud padat maupun cair, diserap atau terikat secara kimia pada permukaan penyangga padat tersebut. Diameter kolom biasanya 2 – 4 mm dengan panjang 0,5 – 6 m

b. Kolom Kapiler

Kolom kapiler pertama kali diperkenalkan oleh M.J.E Golay pada tahun 1956. Jenis kolom ini berbeda dengan kolom kemas, dalam hal adanya rongga dalam pada bagian dalam kolom yang menyerupai pipa sehingga disebut juga kolom pipa terbuka.

Bahan kolom biasanya terbuat dari gelas, baja tahan karat, atau silika dengan panjang 10- 100 m dan diameter 0,2 – 0,5 mm. Fase cair berupa lapisan film dilapiskan pada dinding kolom bagian dalam. Secara umum keuntungan penggunaan kolom kapiler adalah jumlah sampel dan gas yang dibutuhkan hanya sedikit, tetapi pemisahannya lebih sempurna.

c. Fase Kolom

Fase diam disapukan pada permukaan dalam medium, seperti tanah diatom dalam kolom atau dilapiskan pada dinding kapiler. Berdasarkan bentuk fisiknya, fase diam yang umum digunakan adalah fase diam padat dan fase diam cair. Akan tetapi untuk kolom kapiler lebih banyak digunakan fase cair yang disebut *filmthickness*. Ketebalan fase diam

ini berbeda untuk masing-masing tipe kolom. Kolom tipe *narrow bore* memiliki *film thickness* setebal 0,1 μ m. Tipe *middle bore* 0,25 – 0,5 μ m, tipe *semi-wide bore* 0,5 – 1,0 μ m, dan tipe *wide bore* 1,0 – 5,0 μ m

2. Suhu

Suhu merupakan salah satu factor utama yang menentukan hasil analisis kromatografi gas dan spektrometri massa. Umumnya yang sangat menentukan adalah pengaturan suhu injector dan kolom.

Kondisi analisis minyak atsiri tertentu tidak selalu dapat member hasil yang memuaskan jika diterapkan pada minyak atsiri lainnya. Minyak atsiri yang didominasi oleh senyawa monoterpena dan fenol sederhana biasanya dapat memberikan hasil yang memuaskan jika suhu kolom diprogram mulai dari 40^o atau 50^o C sampai 150 – atau 200^oC dengan kecepatan kenaikan suhu 2 – 4^o C/menit, sedangkan suhu injector dapat diprogram antara 150^oC sampai 200^oC.

3. Sistem Injeksi

Gas Kromatografi – Spektrometri Massa (GC-MS) memiliki dua system pemasukan sampel(*Injection*) yaitu secara langsung (direct inlet) dan melalui kromatografi gas (*indirect inlet*).

4. Detektor

Detektor yang digunakan pada system GC-MS harus stabil dan tidak merusak senyawa yang dideteksi. Pada system GC-MS ini, yang berfungsi sebagai detector adalah spektrometri massa itu sendiri yang terdiri atas system ionisasi dan system analisis.

5. Sistem Ionisasi

Metode ionisasi yang umum dipergunakan yaitu Elektron Impact Ionization (EI) dimana sampel diuapkan pada kondisi hampa udara pada tekanan 10⁻⁴ sampai 10⁻⁶ mmHg pada suhu tertentu. Sampel yang berupa uap akan diteruskan ke dalam ruang pengion. Di dalam ruang pengion ini, sampel dibombardir dengan arus electron dengan energi sekitar 70 eV sehingga terbentuk ion molekul. Kemudian ion molekul tersebut akan terpecah lagi menjadi ion-ion yang lebih kecil. Namun harus diperhatikan jika energi

yang digunakan untuk ruang pengion terlalu besar, maka fragmen molekul yang terbentuk kecil sekali sehingga susah sekali untuk disusun kembali ke bentuk struktur awalnya. Sebaliknya jika energi yang digunakan terlalu rendah, maka akan diperoleh fragmen ion yang relative besarsehingga sulit ditafsirkan.

Ion yang terbentuk dalam ruang pengion akan dipercepat oleh suatu lempeng pemercepat ke dalam suatu medan magnet. Di dalam medan magnet ion tersebut dibelokkan sesuai dengan besarnya ion (berdasarkan perbandingan massa/muatan). Masing-masing komponen ion akan melewati celah pengumpul dan akan menumbuk lempengan pengumpul. Arus yang timbul pada system pengumpul atau pendeteksi akan diperkuat danterekam pada alat perekam. Rekaman kelimpahan ion terhadap massa (m/z) merupakan grafik spectrum massa yang terdiri atas sederetan garis yang intensitasnya berbeda-beda pada satuan massa berlainan.

6. Sistem Analisis

Sistem analisis yang dipergunakan adalah system kuadropol dengan batang (empat buah) yang mempunyai empat kutub dan terletak antara sumber ion dan detector. Sistem pengolahan data dan identitas senyawa⁽¹⁶⁾.

11. Komputer

Komputer untuk pengolahan data akan sangat membantu penafsiran hasil analisis. Dari analisis GC-MS akan diperoleh dua informasi dasar, yaitu hasil analisis kromatografi gas yang ditampilkan dalam bentuk kromatogram, dan hasil analisis spektrometri massa yang ditampilkan dalam bentuk spectrum massa. Dari kromatogram dapat diperoleh informasi mengenai jumlah komponen kimia yang terdapat dalam campuran yang dianalisis (jika sampel berbentuk campuran) yang ditunjukkan oleh jumlah puncak yang terbentuk pada kromatogram. Pembentukan kromatogram ini didasarkan pada jumlah total ion yang terbentuk dari masing-masing komponen kimia tersebut. Artinya jika suatu komponen berada dalam prosentase tinggi dalam campuran yang dianalisis, maka jumlah ion yang terbentuk dari molekul komponen tersebut akan tinggi juga, sehingga puncak yang tampil pada kromatogram juga memiliki luas areayang besar. Sebaliknya, jika suatu komponen kimia dalam campuran tersebut terdapat dalam prosentase kecil, maka puncak yang tampil

pada kromatogramnya otomatis akan kecil. Kromatogram yang berdasarkan pada perhitungan ini sering disebut dengan Total Ion Chromatogram (TIC).

Spektrum massa hasil analisis system spektroskopi massa merupakan gambaran mengenai jenis dan jumlah fragmen molekul yang terbentuk dari suatu komponen kimia(masing-masing puncak pada kromatogram). Pola pemecahan (fragmentasi) molekul yang terbentuk untuk setiap komponen kimia sangat spesifik sehingga dapat dijadikan sebagai patokan untuk menentukan struktur molekul suatu komponen kimia. Selanjutnya spectrum massa komponen kimia yang diperoleh dari hasil analisis diidentifikasi dengan cara dibandingkan dengan spectrum massa yang terdapat dalam suatu bank data⁽¹⁶⁾.

2. Spektrofotometri Ultra violet – Cahaya Tampak^(11,22)

Spektrofotometri Ultraviolet – cahaya tampak adalah metode analisis berdasarkan pengukuran serapan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang tertentu yang sempit, mendekati monokromatik yang diserap oleh zat. Molekul dapat menyerap cahaya elektromagnetik jika level energi cahaya sama dengan molekul tersebut. Spektrum absorpsi daerah ini sekitar 190 – 780 nm. Daerah panjang gelombang untuk pengukuran pada daerah ultraviolet adalah 190 – 380 nm sedangkan pada daerah cahaya tampak adalah 380 – 780 nm.

Alat spektrometri pada dasarnya terdiri dari sumber cahaya, monokromator, tempat kuvet untuk zat yang diperiksa, detector, amplifier dan alat pengukur (display)

Gambar, skema spektrofotometer ultraviolet – cahaya tampak ⁽¹¹⁾

Bagian- bagian utama dari spektrofotometri terdiri dari:

a. Sumber cahaya

Sumber cahaya harus stabil, untuk daerah cahaya digunakan lampu wolfram, dan untuk daerah ultraviolet digunakan lampu deuterium (D₂) atau lampu hydrogen.

b. Monokromator

Alat untuk mengubah cahaya polikromatis menjadi cahaya monokromatis

c. Kuvet atau sel

Kuvet tidak boleh berflouresensi dan tidak boleh tergores. Kuvet yang digunakan untuk pengukuran pada daerah ultraviolet terbuat dari silica atau kwarsa sedangkan untuk pengukuran pada daerah cahaya tampak dibuat dari kaca , plastic, silica.

d. Detektor

Detektor merupakan suatu alat yang mengubah energi radiasi menjadi sinyal listrik. Detektor yang biasa digunakan adalah fotomultiplier tube atau thermocouple.

e. Amplifier

Amplifier membuat sinyal listrik lemah menjadi kuat sehingga cocok untuk diamati

f. Pencatat atau display

Sistem pencatat yang dapat menunjukkan besarnya sinyal listrik.

3. Spektrofotometri Inframerah Fourier Transform (FT – IT)

Spektrofotometri Inframerah merupakan salah satu metode analisis spektrofotometri yang dapat digunakan untuk penentuan gugus fungsional suatu senyawa. Dalam daerah Infra merah umumnya bilangan gelombang diberikan sebagai kebalikan dari panjang gelombang . Radiasi inframerah yang sering digunakan dalam analisa berkisar 4000 cm^{-1} sampai 650 cm^{-1} (22. 32)

Energi elektromagnetik radiasi inframerah mampu menyebabkan atom- atom atau gugus-gugus atom bervibrasi. Keadaan vibrasi ini sifatnya karakteristik dan terkuantisasi dimana vibrasi hanya akan terjadi bila molekul mengabsorpsi energi yang sesuai, oleh karena itu absorbs energi tidak terjadi secara kontinu⁽¹⁸⁾

Gambar. Skema spektrofotometer Inframerah

Bagian- bagian utama dari spektrofotometer Inframerah

1. Sumber radiasi
 - a. Koil
 - b. Nerst glower
 - c. Globar
2. Sampling

Sampling area dapat digunakan untuk berbagai bentuk sel.
3. Fotometer

Bagian ini terdiri dari cermin- cermin yang berfungsi menyamakan intensitas sebelum masuk monokromator
4. Monokromator

Monokromator mempunyai tiga fungsi:
Mendispersikan radiasi inframerah yang diteruskan oleh sample atau reference atas bagian-bagian panjang gelombang tertentu untuk diteruskan ke detector.
Untuk menjaga agar energi yang sampai pada detector tetap konstan untuk semua panjang gelombang bila tidak ada sampel pada instrument. Pada spektrofotometer inframerah dapat digunakan prisma NaCl atau grating sedangkan spektrofotometer inframerah fourier transform menggunakan interferometer yang dikontrol secara otomatis dengan computer.
5. Detektor

Fungsi detector adalah untuk mengubah radiasi inframerah menjadi arus listrik. Ada dua jenis detector inframerah yaitu fotodetektor dan termaldetektor
6. Pencatat atau display

Secara garis besar, mekanisme untuk menghasilkan spectrum spektrofotometer inframerah fourier transform kunci utama pada interferometer. Sinar dari sumber inframerah dipecah oleh pemecah sinar (*beam splitter*), keadaan tersebut akan menghasilkan sinyal pada detector yang dikenal sebagai interferogram yang akan diubah oleh computer sehingga menghasilkan spectrum ^(18,19)

Tabel 1. Pita serapan Spectrum Inframerah

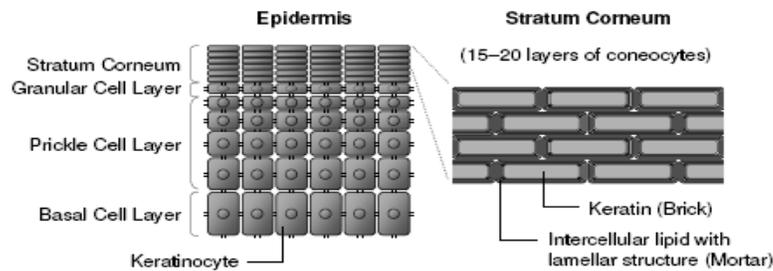
Bilangan gelombang ($\nu = \text{cm}^{-1}$)	Ikatan yang menyebabkan absorpsi
3750 – 300	Regang O-H, N-H
3300 – 2900	-C \equiv C-H, C=C-H, Ar-H, regang C-H
3000 – 2700	CH ₃ , CH ₂ , C-H, H-C=O (regang C-H)
2400 – 2100	Regang C \equiv C, C \equiv N
1900 – 1650	Regang C=O, (asam, aldehid, keton, amida, ester, anhidrat)
1675 – 1500	Regang C=C 9 alifatik dan aromatic), C=N
1475 – 1300	Lentur C-H
1000 - 650	Lentur C=CH, Ar-H (luar bidang)

D. KULIT

1. Struktur dan fungsi barier kulit

a. Struktur kulit^(31,34)

Kulit adalah organ terbesar pada manusia dan terdiri dari dua lapisan utama: epidermis dan dermis. Salah satu tugas utama kulit adalah untuk melindungi organisme dari kehilangan air (*water loss*) dan pengaruh mekanik, kimia, mikroba, dan fisik. Sifat pelindungnya itu diberikan oleh lapisan kulit terluar, yaitu epidermis. Epidermis memiliki ketebalan kira-kira 100 hingga 150 mikrometer, tidak memiliki aliran darah dan mencakup lapisan superfisial yang dikenal sebagai *stratum corneum*. *Stratum corneum* terdiri dari lempengan sel mati yang datar pipih yang disebut korneosit. Korneosit tersebut, yang merupakan sel tanpa nukleus yang berasal dari keratinosit, tidak memiliki fungsi praktis dan disebut sel “mati”. Sel ini dilepas terus menerus dan kemudiandigantikan dalam siklus 3 hingga 4 minggu. Sel tersebut didorong dari lapisan hidup di bawahnya. Korneosit tertanam pada matriks jaringan lemak antar sel, sehingga struktur *stratum corneum* secara kasar dapat dideskripsikan dengan model “batu bata dan semen”⁽³⁴⁾



Gambar 2. Skema diagram epidermis dan *stratum corneum* berdasarkan model “batu bata dan semen”⁽³⁴⁾

2. Fungsi barrier pada kulit

Faktor utama yang menjaga kulit tetap lembab dan lentur adalah keberadaan jaringan lemak antar sel. Jaringan lemak tersebut membentuk struktur lamellar (dua lapisan bertumpuk) yang mengelilingi korneosit dan memasukkan air ke dalam *stratum corneum*. Jaringan lemak tersebut berasal dari granula lamellar, yang dilepas ke ruang ekstraseluler dari sel yang terurai dalam lapisan sel granular; dan membran sel ini pun melepaskan lemak, termasuk kolesterol, asam lemak bebas dan *sphingolipid*. Seramid, suatu jenis *sphingolipid*, berperan terutama dalam menghasilkan struktur tumpukan lemak yang memerangkap molekul air dalam area hidrofiliknya. Lemak lamellar ini mengelilingi korneosit dan membentuk penghalang semi-permeabel yang mencegah air dan faktor pelembab alami / *natural moisturizing factors* (NMF) agar tidak berpindah dari lapisan permukaan kulit.⁽³⁴⁾

3. Mekanisme iritasi pada kulit

Iritasi merupakan suatu reaksi kulit yang terjadi akibat pelekatan dengan bahan iritan atau zat kimia yang menyebabkan reaksi iritasi dan merusak epidermis dan atau dermis. Umumnya iritasi akan segera menimbulkan iritasi kulit sesaat setelah pelekatan pada kulit yang disebut iritasi primer. Iritasi kulit akan menyebabkan kelainan kulit yang mengakibatkan kerusakan sel yang disebabkan oleh bahan iritan melalui kerja kimiawi maupun fisik dimana reaksi tersebut tergantung pada jenis iritan, lamanya kontak lokasi, umur dan kadar iritannya. Bahan iritan tersebut dapat merusak lapisan tanduk, terjadi denaturasi keratin, dan menghilangkan lemak lapisan tanduk serta mengubah daya ikat air kulit. Bahan iritan ini dapat merusak kulit dengan cara menghabiskan lapisan tanduk

secara bertahap melalui denaturasi keratin sehingga mengubah kemampuan kulit untuk menahan air.. Umumnya yang paling sering terjadi iritasi pada tangan dan pada wajah yang disebabkan reaksi negative akibat pemakaian kosmetik (2.)

Iritasi dapat terjadi melalui dua jalur yaitu efek langsung iritan terhadap keratinosit dan kerusakan sawar kulit. Efek langsung iritan pada keratinosit terjadi pada iritasi akut maka penetrasi iritan melewati sawar kulit akan merusak keratinosit dan merangsang pengeluaran mediator inflamasi diikuti dengan aktivasi sel T. Selanjutnya terjadi akumulasi sel T dengan aktivasi tidak lagi bergantung pada penyebab. Hal tersebut dapat menerangkan kesamaan jenis infiltrat dan sitokin. Peradangan hanya merupakan salah satu aspek sindrom iritasi. Apabila terjadi pajanan dengan konsentrasi tinggi maka reaksi yang terjadi langsung kronik.⁽¹⁵⁾

Stratum korneum atau kulit ari merupakan sawar kulit yang sangat efektif terhadap berbagai bahan iritan karena pembaharuan sel terjadi secara berkesinambungan dan proses penyembuhan berlangsung cepat. Apabila waktu pajanan lebih pendek daripada waktu penyembuhan, menyebabkan sel-sel keratinosit tidak sempat sembuh, maka akan terjadi gejala klinis iritasi kumulatif. Kerusakan sawar lipid berhubungan dengan kehilangan daya kohesi antar korneosit dan deskuamasi diikuti dengan peningkatan trans-epidermal water loss (TEWL). Hal tersebut merupakan rangsangan untuk memacu sintesis lipid, proliferasi keratinosit dan hiperkeratosis sewaktu transient sehingga dapat terbentuk sawar kulit dalam keadaan baru⁽³⁴⁾

Keratinosit pada epidermis berperan dalam proses peradangan pada iritasi kulit dengan menghasilkan sitokin. Sitokin yang berperan dalam proses inflamasi adalah Interleukin -1 (IL-1) dan TNF-IL-8 dan IP -10 yang bertindak sebagai chemotaxin. Mekanisme inflamasi adalah terlepasnya asam arakidonat oleh enzim posfolifase sehingga memicu enzim siklooksigenase membentuk endoperoksida dan beberapa senyawa kimia yang menyebabkan gangguan fungsi tubuh dengan gejala kemerahan, terasa sakit, dan iritasi (2.)

a. Mekanisme kerja bahan iritan⁽²⁾

Kebanyakan bahan iritan (toksin) merusak membran lemak (lipid membrane) keratinosit,tetapi sebagian dapat menembus membran sel dan merusak lisosom mitokondria atau komponen inti. Kerusakan membran mengaktifkan fosfolifase dan melepaskan asam arakidonat (AA), diasilgliserida (DAG), *platelet activatingfactor* (PAF)

dan inositida (IP3) . Asam Arakidonat (AA) dirubah menjadi prostaglandin (PG) dan leukotrien (LT), Prostaglandin (PG) dan leukotrien (LT) menginduksi vasodilatasi, dan meningkatkan permeabilitas vascular sehingga mempermudah transudasi komplemen dan kinin. Prostaglandin (PG) dan leukotrien (LT) juga bertindak sebagai kemoatraktan untuk limfosit dan neutrofil, serta mengaktifasi sel mast melepaskan histamin, leukotrien(LT) dan Prostaglandin (PG) lain, dan Platelet Activating Factor (PAF), sehingga memperkuat perubahan vascular.)

Diasilgliserida (DAG) dan *second messengers* lain menstimulasi ekspresi gen dan sintesis protein, misalnya interleukin-1 (IL-1), dan *granulocyte-macrophage colony stimulatunnf factor* (GMCSF), *Interleukin-1 (IL-1)* mengaktifkan sel T-penolong mengeluarkan interleukin-2 (IL-2) dan mengekspresi reseptor interleukin-2 (IL-2), yang menimbulkan stimulasi autokrin dan proliferasi sel tersebut. Keratinosis juga membuat molekul permukaan HLA-DR dan adesi-intrasel-1 (ICAM-1) . Pada kontak dengan iritan, keratinosis juga melepaskan $TNF\alpha$, suatu sitokin proinflamasi yang dapat mengaktifasi sel T, makrofag dan granulosit, menginduksi ekspresi molekul adesi sel dan pelepasan sitokin⁽⁴⁾.

Rentetan kejadian tersebut menimbulkan gejala peradangan klasik didaerah terjadinya kontak di kulit berupa eritema, edem, panas, nyeri bila iritan kuat. Bahan iritan lemah akan menimbulkan kelainan kulit setelah berulang kali kontak, dimulai dengan kerusakan stratum korneum oleh karena delipidasi yang menyebabkan desikasi dan kehilangan fungsi sawarnya, sehingga mempermudah kerusakan sel dibawahnya oleh iritan. ⁽³⁾

b. Histopatologi

Gambaran histopatologi dermatitis kontak iritan tidak karakteristik. Pada iritan primer, dalam dermis terjadi vasodilatasi sel mononuclear di sekitar pembuluh darah dermis bagian atas. Eksositosi di epidermis diikuti spongiosis dan edema intrasel, dan akhirnya terjadi nekrosis epidermal. Pada keadaan berat kerusakan epidermis dapat menimbulkan vesikel atau bula. Di dalam vesikel atau bula ditemukan limfosit dan netrofil.⁽³⁾

1. Mekanisme kerja antiiritan ⁽²⁸⁾

Anti-iritan adalah agen yang ketika digunakan bersama dengan iritan kulit atau mata, akan cukup mengurangi potensi iritasi sehingga efeknya dapat ditoleransi ketika dibubuhkan ke badan.

Dalam suatu gambaran klasik penggunaan suatu *wetting agent* (dalam pengeriting rambut permanen) secara tidak langsung menyebabkan peningkatan iritasi mata karena para pemakai yang matanya tak sengaja terkena produk tersebut tidak merasa sakit, maka mereka tidak berusaha membilasnya.

Oklusi kulit dengan bahan lipofilik dapat mencegah iritasi yang disebabkan iritan encer jika dicegah agar tidak saling kontak. Namun, menggabungkan keduanya tidak selalu bermanfaat. Pembentuk lapisan lipofilik dapat meningkatkan iritasi jika terbentuk lapisan oklusif di atas iritan dan menyebabkannya bersentuhan dengan kulit.

Pengecualian ini hanya menunjukkan kenyataan bahwa aktivitas anti-iritan biasanya cukup spesifik. Agen yang bekerja baik dengan suatu iritan bisa jadi kinerjanya buruk atau bahkan tidak bekerja sama sekali dengan iritan lain. Pembentukan *barrier* fisik dan kimia untuk mencegah iritan bersentuhan dengan kulit hanyalah salah satu cara anti-iritan memberi perlindungan. Mekanisme perlindungan spesifik bergantung pada sifat iritan dan anti-iritan yang digunakan.

Terdapat tiga cara kerja anti-iritan untuk memberikan proteksi. Tidak satupun dari ketiga jalur ini sesuai dengan gambaran “intuitif” suatu anti-iritan sebagai “bahan menyejukkan yang menyembuhkan kulit dan memperbaiki atau mengurangi kerusakan yang disebabkan oleh iritan”.

Tiga mekanisme yang dipostulasikan adalah:

- a. Dengan membuat iritan menjadi “kompleks”

Molekul kompleks diketahui dapat terbentuk antara banyak bahan. Ikatannya seringkali renggang; terkadang terbentuk molekul kompleks, kadang tidak. Sifatnya juga membingungkan. Senyawa kompleks iodine PVP (*polyvinyl pyrrolidone*) adalah contoh klasik: Penambahan PVP ke dalam iodine elemental menghasilkan suatu produk yang tidak menyebabkan noda iodine pada umumnya, tidak terdeteksi tekanan uapnya, dan sama sekali tidak mengiritasi membran mukus dan kulit, dan toksisitas akutnya hanya sepersepuluh

dari iodin; namun aktivitas antikumannya lebih tinggi dari iodin. Maka, untuk tujuan praktis, senyawa kompleks itu disebut iodin yang terdetoksifikasi (1). Iodin kompleks yang serupa dapat dibentuk dengan surfaktan nonionik (5) dan kationik (6). Ditunjukkan juga bahwa urushiol, bahan iritan pada daun *poison ivy* (*Toxicodendron radicans*) dapat didetoksifikasi dengan membuatnya menjadi senyawa kompleks dengan zirconia (7), garam perak dan resin tertentu yang mendukung pertukaran ion (8).

b. Dengan mencegah kontak menyeluruh dengan kulit

Banyak agen pengental yang dapat mengurangi iritasi, khususnya iritasi mata yang disebabkan oleh produk seperti shampoo. Bahkan dilaporkan bahwa metil selulosa membuat mata dapat bertahan dari larutan encer natrium hidroksida. Dipostulasikan bahwa penyebabnya adalah karena agen pengental menyebabkan iritan tidak mudah menyebar; sehingga larutan tidak benar-benar kontak dengan kornea.

Apabila iritan dalam bentuk bongkahan diletakkan pada kulit, hanya bagian yang kontak langsung dengan kulit yang menyebabkan iritasi; dan konsentrasi iritan pada bagian tersebut segera berkurang karena bereaksi dengan kulit. Semakin kecil ukuran iritan, semakin baik kontak awalnya dengan kulit dan lebih besar kemungkinan iritan dapat berdifusi. Karena konsentrasi lokal berkurang akibat reaksi dengan kulit, semakin banyak iritan berdifusi hingga kontak dengan kulit. Maka material apapun yang dapat menahan difusi akan dapat mengurangi iritasi kulit dengan cara mengurangi jumlah iritan yang bersentuhan dengan kulit. Pergerakan iritan dapat dikurangi dengan mengentalkan atau bahkan dengan membuatnya menjadi kompleks dengan cara mengurangi kelarutannya dalam media perantara.

Cara lain untuk mengurangi kontak antara kulit dan iritan adalah dengan menggunakan emulsi dengan iritan dalam fasa terdispersi. Contohnya, penggunaan emulsi W/O sebagai media perantara untuk iritan terlarut menyebabkan kulit "terbasahi" oleh fasa minyak. Lapisan minyak pada kulit tersebut kemudian dapat berperan sebagai penghalang fisik terhadap kontak dengan iritan hidrofilik.

c. Dengan menghalangi daerah reaksi pada kulit

Ada berbagai cara untuk itu, salah satunya adalah dengan memanfaatkan fenomena yang pada dasarnya merupakan fenomena fisik, seperti adsorpsi minyak pada keratin (lihat ii). Banyak bahan lemak nonpolar (seperti minyak mineral) dapat teradsorb dengan kuat pada keratin (10-11). Sejumlah kecil minyak ini terdapat dalam shampoo dan teradsorb pada rambut dan membuat tampilan berkilau, meskipun bahan aktif shampoo merupakan *emulsifier* yang baik untuk minyak tersebut saja. Dalam emulsi *antiperspirant*, penambahan minyak mineral dan lilin dapat mengurangi iritasi akibat garam aluminium melalui adsorpsi selektif ini.

Secara kimiawi, keratin juga bersifat sangat reaktif. Keratin bersifat amfoter, dapat bereaksi dengan asam maupun basa. Bagian sistein dari keratin yang lebih ringan segera bereaksi dengan logam berat, membentuk *mercaptide*. Keratin juga rentan terhadap oksidasi dan reduksi, dan terhadap bahan seperti fenol atau urea yang mempengaruhi ikatan hidrogennya. Semua ini adalah cara-cara yang memungkinkan iritan menyerang kulit secara kimiawi, sehingga anti-iritan juga dapat bereaksi dengan kulit dengan cara menghalangi reaksi lebih lanjut dengan iritan. Ketika anti-iritan menunjukkan aktivitas protektif secara khusus, hal tersebut mungkin disebabkan oleh reaksi kimianya dengan iritan. Ketika terjadi proteksi lebih luas, mekanisme yang mungkin terjadi adalah melalui suatu reaksi dengan keratin pada tubuh

F. Human testing^(9, 21,)

Human testing atau pengujian pada manusia secara umum merupakan tahap ketiga dalam komponen evaluasi untuk memastikan keselamatan pada manusia.

Metode Patch Test atau uji tempel

Patch testing adalah uji iritasi dan kepekaan kulit dengan mengoleskan sediaan uji pada kulit normal atau subjek manusia dengan maksud untuk mengetahui apakah sediaan uji dapat menimbulkan reaksi atau kepekaan kulit atau tidak. Secara umum, zat yang sesuai untuk patch testing dipilih dari patch test tray atau diformulasi secara individu dan digunakan pada lempengan kertas saring yang ditempel pada lembaran aluminium foil berlapis polietilen (A1-test) atau diletakkan pada chamber aluminium berukuran 8 mm

(Finn chamber) yang ditempelkan pada perekat tekstil nonwoven (Scanpor tape). Dapat dipilih kulit yang sehat pada bagian atas punggung dan ditandai untuk penempatan lembaran perekat, yang akan dikenakan selama 48 jam. Selama periode tersebut, subjek yang diuji tidak boleh membiarkan patch basah atau melakukan aktivitas yang menyebabkan banyak berkeringat. Pengujian ini dievaluasi awal pada waktu 20 menit setelah perekat dilepas, dan diuji kembali 2 hingga 7 hari

Uji tempel atau Patch Test dapat dilakukan dengan tiga cara :

1. Uji tempel tertutup

Uji tempel ini biasanya dilakukan dipunggung dengan menempelkan bahan uji yang telah dioleskan pada unit uji tempel. Unit tersebut dibiarkan menempel selama 48 jam, kemudian dibuka dan ditandai daerah tertempelnya. Pembacaan dilakukan 15- 30 menit setelah pembukaan untuk menghindari positif semu. Pembacaan uji tempel diulangi pada 72 jam dan 92 jam.

2. Uji tempel terbuka

Uji tempel ini dilakukan dengan mengoleskan bahan tanpa dilakukan penutupan . Biasanya dilakukan di belakang telinga karena daerah tersebut tidak mudah terhapus .

3. Uji tempel dengan sinar

Uji tempel ini dilakukan pada reaksi fotodermatitis .pada dasarnya teknik pelaksanaan sama dengan uji tempel tertutup , hanya dikerjakan secara duplo dan ditutup dengan bahan yang tidak tembus cahaya . Setelah 24 jam tes dibuka dan dibaca , setelah itu disinari dengan sumber cahaya . pembacaan dilakukan setelah 24 jam kemudian dengan membandingkan terhadap kontrol .Dalam hal belum diketahui jenis dan kadar bahan yang hendak diuji selalu dimulai dari kadar sekecil mungkin biasanya 0,1%. Jika tak menimbulkan reaksi pada kulit kadarnya dapat ditingkatkan hingga 1,0 % .⁽¹¹⁾

G. Landasan teori

Kulit utuh atau sehat merupakan penghalang yang baik terhadap sebagian besar zat yang terdapat dalam produk perawatan kulit dan kosmetik. Jika kulit kering dan terluka maka ,

gangguan pada stratum corneum akan membuat fungsi pelindung pada penghalang tersebut berkurang. Kebanyakan bahan kosmetik penggunaan tidak menghasilkan iritasi akut karena paparan sangat ringan dan akibatnya sulit untuk dideteksi. Tetapi akan menghasilkan peradangan setelah aplikasi berulang pada daerah yang sama dari kulit yang disebut sebagai iritasi kumulatif. Dengan gejala iritasi kulit berupa eritema, kekeringan, gatal, rasa terbakar. Iritasi umum terjadi pada individu yang rentan, terjadi paling sering pada wajah yang diidentifikasi sebagai "sengatan". Biasanya sekitar 10 sampai 20% dari subjek terkena 5% bahan kosmetik yang mengandung asam laktat menimbulkan respon menyengat ketika dioleskan ke wajah. Kerusakan penghalang lipid dari stratum corneum dikaitkan dengan hilangnya kohesi corneocytes dan deskuamasi dengan peningkatan kehilangan air transepidermal. Studi terbaru menunjukkan bahwa konsep peningkatan TEWL setelah natrium lauril sulfat secara langsung terkait dengan efek delipidizing surfaktan pada stratum korneum tidak dapat terus meningkat. Dengan sodium lauryl sulfat pada paparan selama 24 jam menyebabkan kerusakan dalam sel-sel epidermis, iritasi dapat diatasi dengan mengurangi jumlah bahan aktif dalam formulasinya, atau dengan cara mengurangi penetrasi bahan aktif tersebut ke dalam kulit. Atau menggunakan bahan anti-iritan. Anti-iritan mengacu pada bahan yang dapat ditambahkan langsung dalam formulasi yang mengiritasi, sehingga membuat dampak iritasinya berkurang. Anti-iritan biasanya memiliki aktivitas cukup spesifik obat-obatan herbal bekerja dengan cara yang tergantung pada banyak molekul yang berbeda yang bertindak sinergis pada elemen yang ditargetkan dari jalur selular kompleks. Mekanisme peradangan dapat ditunjukkan dari beberapa tanaman yang paling umum dikenal untuk mengobati peradangan dan eritema obat-obatan herbal bekerja dengan cara yang tergantung pada banyak molekul yang berbeda yang bertindak sinergis pada elemen yang ditargetkan dari jalur selular kompleks. Mekanisme peradangan dapat ditunjukkan dari beberapa tanaman yang paling umum dikenal untuk mengobati peradangan dan eritema. Pada penelitian ini digunakan minyak dari tanaman lengkuas (*Alpinia galanga* Linn)

H . Hipotesa

Evaluasi minyak lengkuas (*Alpinia galanga* Linn) yang bermanfaat dalam mencegah atau melindungi terjadinya iritasi pada kulit

BAB III

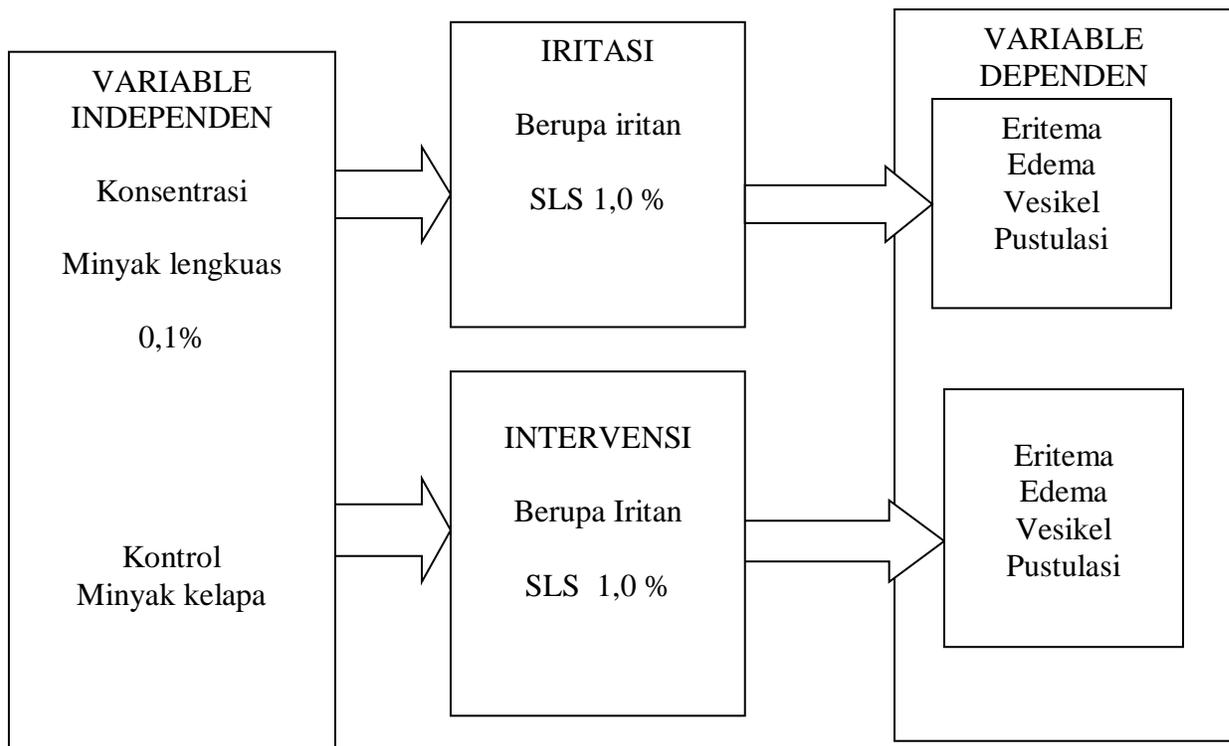
RANCANGAN PENELITIAN

A. Prinsip penelitian

Teknik Uji Tempel Tertutup Tunggal , dilakukan dengan cara bahan uji diaplikasikan pada daerah kulit punggung sebanyak lima kali setiap hari dua kali. Pada hari ke-3 dioleskan produk uji lalu 20 menit kemudian dilakukan Uji Tempel Tertutup Tunggal dengan mengaplikasikan larutan sodium lauryl sulfat dengan konsentrasi 1,0 % dengan pita tempel oklusif selama 24 jam . Dievaluasi secara visual pada 30 menit dan 24 jam setelah pengangkatan pita tempel. Respon dinilai dengan skala reaksi kulit (eritema dan edem) serta perubahan struktur kulit.

B. Kerangka konsep

Dalam penelitian ini variable independenya adalah minyak essensial sedangkan variable dependenya adalah terjadinya iritasi pada subjek adapun skema kerangka konsep penelitian ini adalah sebagai berikut:



C. Definisi operational

1. Minyak essensial adalah minyak atsiri atau minyak terbang yaitu ekstrak zat yang mengandung inti dalam bentuk yang paling pekat , bersifat aromatik dan mudah menguap (*volatile*) pada suhu kamar dan merupakan komponen cairan yang sangat harum dari tanaman aromatic yang diambil dari bagian-bagian tanaman atau seluruh tanaman.
2. Minyak pembawa adalah minyak yang digunakan untuk melarutkan minyak essensial
3. Natrium Lauryl Sulfat adalah campuran dari natrium alkil sulfat , sebagian besar mengandung Natrium Lauryl Sulfat, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{Na}$.
Kandungan campuran Natrium Klorida dan natrium sulfat tidak lebih dari 8,0 %.
4. Eritema adalah warna merah pada kulit

D. Populasi dan sampel penelitian

1. Populasi

Populasi penelitian adalah belum pernah menderita penyakit yang berkaitan dengan alergi

2. Sampel

Sampel adalah bagian dari populasi yang dipilih untuk bisa mewakili populasi

Sampel pada penelitian ini dengan kriteria belum pernah menderita penyakit yang berkaitan dengan alergi. Kriteria sampel dibedakan menjadi dua, yaitu inklusi dan eksklusi.

3. Kriteria Inklusi

- a. Wanita atau pria berusia 20 - 50 tahun sebanyak 20 orang atau lebih⁽²³⁾
- b. Berbadan sehat jasmani dan rohani
- c. Tidak meminum obat golongan antihistamin, immunomodulator, kortikoid atau sitostatik
- d. Belum pernah menderita penyakit yang berkaitan dengan alergi
- e. Menyatakan kesediaan dijadikan panel uji
- f. Tidak sedang hamil atau menyusui

4. Kriteria Eklusi
 - a. Wanita hamil atau menyusui
 - b. Mempunyai riwayat penyakit alergi
 - c. Meminum obat golongan antihistamin, immunomodulator, kortikoid atau sitotastik

5. Drop out ⁽⁹⁾
 - a. Sukarelawan terpilih akan dikeluarkan dari penelitian jika selama penelitian berjalan :
 - b. Diketahui hamil
 - c. Tidak meminum obat golongan antihistamin, immunomodulator, kortikoid atau sitotastik
 - d. Tidak mengikuti protokol pemakaian produk uji
 - e. Tidak datang pada saat pengamatan ulang
 - f. Timbul efek samping yang serius

6. Jumlah sampel
 Besar sampel dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$n = \frac{\sigma [Z_{1-\alpha} + Z_{1-\beta}]}{[\mu_1 - \mu_2]}$$

Keterangan:

- n : Jumlah sampel
 σ : Standar deviasi dari beda dua rata-rata
 $Z_{1-\alpha}$: Nilai Z pada derajat kemaknaan
 $Z_{1-\beta}$: Nilai Z pada kekuatan uji
 μ_1 : Rata-rata pada keadaan sebelum intervensi
 μ_2 : Rata-rata pada keadaan setelah intervensi

7. Analisis Data

Analisa data digunakan dengan tenaga professional yaitu dengan mengamati pengaruh konsentrasi sampel terhadap daerah kulit yang mengalami iritasi dengan penambahan sodium lauril sulfat 1,0 % . Menggunakan penilaian perubahan pada gejala eritema yang terjadi pada relawan atau subjek uji

BAB. IV

BAHAN, ALAT DAN METODE PENELITIAN

A. BAHAN

1. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah
2. Minyak essensial rimpang lengkuas (*Alpinia galanga* Linn) yang diperoleh dari diperoleh dan didestilasi dari laboratorium Kimia Bahan Alam , Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Serpong.
3. Minyak kelapa sebagai pembawa
4. Aqua demineralisata,
5. Sodium lauryl sulfat sebagai agen iritan
6. Metil sinamat sebagai baku pembanding

B. ALAT

1. Alat yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah:
2. Kromatografi Gas Spektrofotometri Massa (GC-MS)
3. Spektrofotometer UV/VIS
4. Spektrofotometri Inframerah Fourier Transform (FT – IR)
5. Pita tempel oklusif
6. Labu takar 100,0 ml
7. Gelas ukur 100 ml
8. Pipet volume

C. METODE PENELITIAN

1. Penyiapan minyak essensial

Perolehan minyak rimpang lengkuas(*Alpinia galanga* Linn) diperoleh dan didestilasi dari laboratorium Kimia Bahan Alam , Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Serpong.

9. Minyak lengkuas (*Alpinia galanga* Linn) diidentifikasi dengan menggunakan Gas Kromatografi Spektrofotometri Massa (GC-MS). Spektrofotometri Inframerah Fourier Transform (FT – IR) dan Spektrofotometer UV/VIS

D. Persiapan larutan untuk penelitian yang meliputi:

1. Pembuatan minyak lengkuas
Pipet minyak lengkuas 0,1 ml dalam labu takar 100,0 ml tambahkan minyak kelapa sampai 100,0 ml. Aduk sampai homogen. Simpan dalam wadah tertutup rapat.
Kocok apabila akan dipergunakan.
2. Pembuatan larutan Natrium Lauril Sulfat
Timbang 1,0 gram Natrium Lauryl Sulfat larutkan dalam aquades sampai 100,0 ml. Aduk sampai homogen. Simpan dalam wadah tertutup rapat
3. Pembuatan larutan baku pembanding
Timbang 100,0 mg metil sinamat campurkan dengan minyak kelapa sampai 100,0 ml , aduk sampai homogen. Simpan dalam wadah tertutup rapat
4. Ethical clearance
Bukti persetujuan dari lembaga kode etik yang menyatakan bahwa penelitian dapat dilakukan karena aman. Etik Penelitian (ethical clearance) diajukan kepada Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo Jakarta.
5. Penyiapan penelitian
Informed Consent
Persetujuan tertulis dari sukarelawan untuk mengikuti penelitian. Sukarelawan dalam penelitian harus diberi semua informasi tentang tujuan penelitian , resiko dan manfaat partisipasi dan hak mereka untuk menolak atau menghentikan partisipasi dalam penelitian yang mungkin mempengaruhi keputusan mereka apakah akan berpartisipasi. Sukarelawan yang setuju wajib mengisi dan mendatangi lembar persetujuan.

6. Metode Penelitian :

Fase proteksi

Minyak lengkuas 0.1 % yang telah dicampurkan dalam minyak kelapa diaplikasikan pada daerah kulit punggung secara berulang sebanyak lima kali setiap hari dua kali.

Selanjutnya pada hari ke-3 dioleskan produk uji lalu 20 menit kemudian dilakukan Uji Tempel Tertutup Tunggal (UTTT) dengan mengaplikasikan Natrium lauryl Sulfat dengan konsentrasi 1.0 % dengan sejenis pita tempel oklusif (kurang lebih 20 μ L) pada kulit utuh daerah kulit punggung selama periode 24 jam.

Reaksi kulit dievaluasi secara visual pada 30 menit dan 24 jam setelah pengangkatan pita tempel. Respons akan dinilai dengan skala angka berdasarkan derajat reaksi (eritema dan edem) serta perubahan struktur kulit.

7. Pengamatan:

Reaksi kulit diamati pada 30 menit , 24 jam setelah pengangkatan pita tempel. Reaksi ini selanjutnya akan dinilai dengan skala angka berdasarkan derajat eritema dan edem mengikuti International Contact Dermatitis Research Group (ICDRG)

Tingkat iritasi pada area uji kulit yang mendapat produk uji dilakukan dengan membandingkan terhadap control negative.

Juga dilakukan penilaian terhadap perubahan dalam struktur kulit seperti kekeringan, kekasaran, ketebalan dan mengkilap.

8. Interpretasi hasil

Interpretasi dilakukan menurut hasil yang diperoleh dari kondisi kulit pada setiap pembacaan atau pengamatan.

Selanjutnya hasil ini dikategorikan melalui perhitungan iritasi primer (P.1.1) pada tiap pembacaan.

STUDI KLINIK :
UJI MANFAT DERMOPROTEKTIF
BAHAN BAKU KOSMETIK PADA SUBJEK
DEWASA
dengan
Uji reaksi iritasi kulit yang diinduksi oleh Sodium
Lauryl Sulfat secara dermatologi

DOKUMEN RAHASIA

**STUDI KLINIK :
UJI MANFAT DERMOPROTEKTIF
BAHAN BAKU KOSMETIK PADA SUBJEK DEWASA
dengan
Uji reaksi iritasi kulit yang diinduksi oleh
Sodium Lauryl Sulfat secara dermatologi**

Sponsor : **YAYAH SITI DJUHANIAH S,Si, Apt.**
Bahan Uji : **MINYAK LENGKUAS 0,1% DALAM OIL COCOS
OIL COCOS
METIL SINAMAT 0,1% DALAM OIL COCOS**
Kode Nomor Produk : YSA0,1 ; YSA 02 ; YSA 03
Dertmatologist : dr. Teti Loho spKK
Peneliti Utama : Pebruanty Sipahutar, S.Farm, Apt.

DOKUMEN RAHASIA

**RINGKASAN LAPORAN STUDI KLINIK
 UJI MANFAAT DERMOPROTEKSI
 BAHAN BAKU KOSMETIK PADA SUBJEK DEWASA
 dengan
 Uji reaksi iritasi kulit yang diinduksi oleh
 Sodium Lauryl Sulfat secara dermatologi**

REFERENSI STUDI	:	MAYS 25801
PRODUK	:	MINYAK LENGKUAS 0,1% DALAM OIL COCOS OIL COCOS METIL SINAMAT 0,1% DALAM OIL COCOS
DERMATOLOGIST	:	dr. Teti Loho SpKK
PENELITI UTAMA	:	Pebruanty Sipahutar, S.Farm, Apt.
PENELITI	:	Niken Nur Kusmawati, S.Farm. Lisnawati Gusti Ad Situngkir, A.Md.
JENIS STUDI	:	Uji manfaat dermoproteksi terhadap reaksikulit yang diinduksi oleh Sodium Lauryl Sulfat
TUJUAN	:	Menentukan potensi mencegah timbulnya Iritasi akut yang diinduksi oleh Natrium Lauril Sulfat oleh bahan uji pads aplikasi secaraberulang menggunakan uji tempel tertutup.
SUBJEK	:	22 subjek sehat yang diseleksi berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi
AWAL STUDI	:	9 Oktober 2013
AKHIR OBSERVASI	:	12 Oktober 2013
AKHIR STUDI	:	27 November 2013
RANCANGAN STUDI	:	Studi buta ganda

KRITERIA EVALUASI

- **P.1.1. (Indeks Iritasi Primer)**
- **$P.I.I = \frac{1 \times \text{nilai } E_r + 2 \text{ nilai } E_d}{\text{Jumlah Subjek}}$**
- **Analisis**

Tabel kesimpulan

P.I.I	Kategori Iritasi
0 – 0,4	Dapat diabaikan
0,5 – 1,9	Iritasi ringan
2,0 – 4,9	Iritasi sedang

Refr : Kamkean (2007)

Hasil : diolah berdasarkan hasil studi terhadap 22 subjek yang menyelesaikan studi

Bahan uji	P.I.I Pada 30 Menit	P.I.I Pada 24 Jam	P.I.I Global
MINYAK LENGKUAS 0,1% DALAM OIL COCOS (YSA 01)	0,273	0,477	0,375
METIL SINAMAT 0,1% DALAM OIL COCOS (YSA 03)	0,182	0,545	0,363
OIL COCOS (YSA 02)	0,50	0,613	0,556
AIR (YSA 00)	0,591	0,818	0,704

Induksi iritasi dengan Sodium Lauryl Sulfat teknis dalam air
Pemakaian bahan uji : aplikasi sehari 2 kali, sebanyak 5 x

Potensi dermoproteksi dari bahan uji kulit yang diinduksi iritasi dengan Sodium Lauryl Sulfat

Bahan Uji	P.I.I Global	Kategori Iritasi
MINYAK LENGKUAS 0,1% DALAM OIL COCOS (YSA 01)	0,375	Dapat diabaikan
METIL SINAMAT 0,1% DALAM OIL COCOS (YSA 03)	0,363	Dapat diabaikan
OIL COCOS (YSA 02)	0,565	Iritasi ringan
AIR (YSA 00)	0,074	Iritasi ringan

Induksi iritasi dengan Sodium Lauryl Sulfat teknis dalam air
Pemakaian bahan uji : aplikasi sehari 2 kali, sebanyak 5 x

KESIMPULAN :

Pada kondisi studi ini, dapat disimpulkan bahwa produk :

MINYAK LENGKUAS 0,1 % DALAM OIL CUCUS

Memiliki potensi dermoproteksi (melindungi kulit) yang hampir sama dengan potensi pembandingannya yaitu Metil sinamat 0,1% dalam Oil Cocos.

LAPORAN STUDI KLINIK
UJI MANFAAT DERMOPROTEKSI
BAHAN BAKU KOSMETIK PADA SUBJEK DEWASA
dengan
Uji reaksi iritasi kulit yang diinduksi oleh
Sodium Lauryl Sulfat secara dermatologi

TUJUAN :

Menentukan potensi mencegah timbulnya iritasi akut (manfaat dermoproteksi) yang diinduksi oleh Natrium Lauril Sulfat oleh bahan uji pada aplikasi secara berulang menggunakan uji tempel tertutup.

LATAR BELAKANG STUDI

Bahan yang bersifat dermoproteksi adalah bahan yang dapat melindungi kulit terhadap reaksi iritasi kulit sehingga mengurangi terjadi reaksi kulit yang mungkin ditimbulkan oleh bahan lain yang mengiritasi.

Evaluasi potensi suatu bahan untuk melindungi kulit dapat dilakukan dengan metode Uji Tempel pada manusia.

Sebelum dilakukan Uji tempel tertutup, kulit telah diaplikasi dengan bahan uji yang diduga memiliki manfaat dermoproteksi secara berulang. Selanjutnya Uji Tempel Tertutup dilakukan dengan menempelkan pita khusus dari bahan yang menginduksi iritasi pada kulit utuh di daerah punggung selama periode 24 jam pada sebanyak paling sedikit 20 subjek uji. Respons kulit dievaluasi secara visual pada 30 menit dan 24 jam setelah pengangkatan pita tempel. Respons kulit akan diberi nilai menurut skala angka berdasarkan derajat reaksi kulit, terutama pemerahan (eritema) sampai edema kulit yang terjadi.

METODE:

Fase proteksi :

Bahan Uji diaplikasi pada area uji secara berulang sebanyak 5 kali setiap hari dua kali.

Selanjutnya pada hari ke-3 dioleskan produk uji lalu 20 menit kemudian dilakukan Uji Tempel Tertutup Tunggal (UTTT) dengan mengaplikasi Natrium Lauryl Sulfat dengan konsentrasi tertentu 1 % dengan sejenis pita tempel oklusif (kurang lebih 20 pL) pada kulit utuh daerah kulit punggung selama periode 24 jam. Reaksi kulit dievaluasi secara visual pada 30 menit dan 24 jam setelah pengangkatan pita tempel. Respons akan dinilai dengan skala angka berdasarkan derajat reaksi kulit (eritema dan edema).

RANCANGAN PENGUJIAN

Rancangan pengujian adalah studi buta ganda (subjek dan peneliti tidak mengetahui lokasi produk).

SUBJEK UJI :

Subjek yang mengikuti uji ini diseleksi menurut kriteria inklusi dan kriteria eksklusi serta mereka menandatangani penjelasan pengujian (*informed consent*) Jumlah: 20 (+2) orang subjek.

Kriteria inklusif :

- Subjek sehat, wanita dengan kulit normal
- Umur : antara 18-55 tahun
- Orang Indonesia
- Subjek memiliki warna kulit yang merata pada daerah uji
- Semua subjek harus menandatangani surat penjelasan (*informed consent*)

Kriteria eksklusif :

- Wanita hamil atau menyusui
- Menderita penyakit kulit pada daerah uji (mis. *atopic dermatitis/eczema*, psoriasis, *vitifigo*)
- Menggunakan obat yang dapat mempengaruhi data atau hasil uji, 1 minggu sebelum mulainya pengujian dan selama pengujian
- Subjek yang menderita penyakit serius atau progresif

Terminasi sebelum waktunya

Subjek berhak untuk tidak melanjutkan pengujian ini dengan alasan sbb

- Tidak memenuhi jadwal kunjungan,
- Tidak memenuhi protokol uji
- Adanya efek yang merugikan (termasuk penyakit)
- Mengundurkan diri dari persetujuan subjek

PRODUK UJI :

Bahan

Pita Tempel : Finn Chambers on Scanpor

Bagan intan : Sodium Lauryl Sulfat

Produk Kontrol : Air steril

Produk Uji

YSA 01 (Bahan Uji) : **MINYAK LENGKUAS 0,1% DALAM OIL COCOS**

YSA 02 (Pembawa) : OIL COCOS

YSA 03 (Pembanding) : **METIL SINAMAT 0,1% DALAM OIL COCOS**

YSA 00 (Kontrol) : Air stern

Kategori : Cairan

Pemerian produk : Tidak Berwarna

Kode produk dalam studi : YSA 01; YSA 02; YSA 03; YSA 00

Aplikasi Produk :

Produk uji diaplikasikan dengan kondisi sebagai berikut:

Produk :	MINYAK LENGKUAS 0,1% DALAM OIL COCOS OIL COCOS METIL SINAMAT 0,1% DALAM OIL COCOS
Area :	Bagian Scapular dari Punggung
Dosis :	20 µl
Kondisi Aplikasi :	Produk uji : tanpa pengenceran, sesuai yang di suplai sponsor

Lama aplikasi :	Berulang sebanyak 5 kali
Cara aplikasi :	Sehari 2x aplikasi
Kontrol :	Pita tempel dengan air steril

PENGAMATAN :

Reaksi kulit diamati pada 30 menit, 24 jam setelah pengangkatan pita tempel. Reaksi ini selanjutnya akan dinilai dengan skala angka berdasarkan derajat eritema dan edema sebagai berikut:

Score	Erythema	Edema
0	Tak ada eritema	Tak ada edema
1	Eritema sangat ringan (hampir tak terlihat)	Edema sangat ringan (hampir tak terlihat)
2	Eritema terlihat jelas	Edema terlihat jelas

Tingkat iritasi pada tiap area uji kulit yang mendapatkan produk uji dilakukan dengan membandingkannya terhadap kontrol negatif.

Juga dilakukan penilaian terhadap gejala lain yang mungkin terjadi.

HASIL : diolah berdasarkan hasil studi terhadap subjek yang menyelesaikan studi

Bahan uji	P.I.I Pada 30 Menit	P.I.I Pada 24 Jam	P.I.I Global
MINYAK LENGKUAS 0,1% DALAM OIL COCOS (YSA 01)	0,273	0,477	0,375
METIL SINAMAT 0,1% DALAM OIL COCOS (YSA 03)	0,182	0,545	0,363
OIL COCOS (YSA 02)	0,50	0,613	0,565
AIR (YSA 00)	0,591	0,818	0,704

Induksi iritasi dengan Sodium Lauryl Sulfat teknis dalam air

Pemakaian bahan uji : aplikasi sehari 2 kali, sebanyak 5 x

HASIL : Potensi dermoproteksi dari bahan uji pada kulit yang diinduksi iritasi

dengan Sodium Lauryl Sulfat

Bahan Uji	P.I.I Global	Kategori Iritasi
MINYAK LENGKUAS 0,1% DALAM OIL COCOS (YSA 01)	0,375	Dapat diabaikan
METIL SINAMAT 0,1% DALAM OIL COCOS (YSA 03)	0,363	Dapat diabaikan
OIL COCOS (YSA 02)	0,565	Iritasi ringan
AIR (YSA 00)	0,074	Iritasi ringan

Induksi iritasi dengan Sodium Lauryl Sulfat teknis dalam air
Pemakaian bahan uji : aplikasi sehari 2 kali, sebanyak 5 x

KESIMPULAN:

Pada Kondisi studi ini, dapat disimpulkan bahwa produk :

MINYAK LENGKUAS 0,1 DALAM OIL COCOS

Memiliki potensi dermoproteksi (melindungi kulit) yang hampir sama dengan potensi pembandingnya yaitu **Metil sinamat 0,1% dalam Oil Cocos**.

INTERPRETASI HASIL

Interpretasi dilakukan menurut hasil yang diperoleh dari kondisi kulit pada setiap pembacaan/ pengamatan. Selanjutnya hasil ini dikategorikan melalui perhitungan indeks iritasi primer (P.11.) pada pembacaan menurut rumus berikut :

$$P.I.I = \frac{1 \times \text{nilai } Er + 2 \text{ nilai } Ed}{\text{Jumlah Subjek}}$$

HASIL STUDI

Subjek Uji

Subjek direkrut dan diseleksi menurut kriteria inklusi dan eksklusi serta persyaratan dan batasan seperti yang tercantum dalam protokol uji.

Sebanyak 22 orang subjek terseleksi oleh peneliti dan mereka menandatangani

pernyataan penjelasan pengujian (informed consent). Dua puluh dua (22 subjek) uji dapat menyelesaikan studi ini sehingga analisis hasil dibuat berdasarkan hasil studi terhadap 22 orang subjek tersebut.

Data subjek uji yang terlibat dalam studi ini dapat dilihat pada Appendix 1.

Umur subjek berkisar diantara 18-47 tahun dengan rata-rata usia 32,7 tahun.

PENGUJIAN

Reaksi kulit diamati pada 30 menit dan 24 jam setelah pengangkatan pita tempel.

Reaksi ini selanjutnya akan dinilai dengan skala angka berdasarkan derajat eritema dan edema.

Tingkat iritasi pada tiap area uji kulit yang mendapatkan bahan uji ataupun bahan pembawa dilakukan dengan membandingkannya terhadap kontrol negatif.

Hasil pembacaan pada setiap waktu pengamatan dari produk uji dapat dilihat pada Appendix 2.

Pengamatan pada 30 menit dan 24 jam setelah pengangkatan pita tempel memberikan angka P.I.I. sbb:

HASIL PENGUJIAN MANFAAT DERMOPROTEKSI

Hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 1 - tabel 4.

Tabel 1 mencantumkan informasi subjek uji , Tabel 2 : manfaat terhadap YSA 01, Tabel 3 : manfaat terhadap YSA 02 dan Tabel 4 : manfaat terhadap YSA 03.

Hasil pengamatan pada kontrol dicantumkan pada setiap tabel manfaat dari bahan uji.

Iritasi yang ditimbulkan oleh sodium laurel sulfat dengan PII sebesar 0,704 hanya dapat dilindungi dengan sangat sedikit oleh Oleum Cocos (PII = 0,556, sedangkan oleh Minyak Lengkuas dalam Oil Cocos mengalami perlindungan lebih besar (PII = 0,375) dan hampir sama dengan pembandingnya yaitu Metil sinamat (PII = 0,363)

Hasil pengujian diolah berdasarkan hasil studi terhadap 22 subjek yang menyelesaikan studi dan diperoleh sebagai berikut:

Bahan uji	P.I.I Pada 30 Menit	P.I.I Pada 24 Jam	P.I.I Global
MINYAK LENGKUAS 0,1% DALAM OIL COCOS	0,273	0,477	0,375

(YSA 01)			
METIL SINAMAT 0,1% DALAM OIL COCOS (YSA 03)	0,182	0,545	0,363
OIL COCOS (YSA 02)	0,50	0,613	0,565
AIR (YSA 00)	0,591	0,818	0,704

Induksi iritasi dengan Sodium Lauryl Sulfat teknis dalam air
Pemakaian bahan uji : aplikasi sehari 2 kali, sebanyak 5 x

Potensi dermoproteksi dari bahan uji pada kulit yang diinduksi iritasi dengan Sodium Lauryl Sulfat

Bahan Uji	P.I.I Global	Kategori Iritasi
MINYAK LENGKUAS 0,1% DALAM OIL COCOS (YSA 01)	0,375	Dapat diabaikan
METIL SINAMAT 0,1% DALAM OIL COCOS (YSA 03)	0,363	Dapat diabaikan
OIL COCOS (YSA 02)	0,565	Iritasi ringan
AIR (YSA 00)	0,074	Iritasi ringan

Induksi iritasi dengan Sodium Lauryl Sulfat teknis dalam air
Pemakaian bahan uji : aplikasi sehari 2 kali, sebanyak 5 x

KESIMPULAN:

Pada Kondisi studi ini, dapat disimpulkan bahwa produk :

MINYAK LENGKUAS 0,1 DALAM OIL COCOS

Memiliki potensi dermoproteksi (melindungi kulit) yang hampir sama dengan potensi pembandingnya yaitu **Metil sinamat 0,1% dalam Oil Cocos**.

Bekasi, 27 November 2013
Peneliti,

Pebruanty Sipahutar, S.Farm., Apt.

LAMPIRAN

TABEL 1
INFORMASI SUBJEK

No.	Kode	Kelamin	Umur	Keterangan
1	SWAM	Wanita	33	-
2	DLOM	Wanita	27	-
3	SAYM	Wanita	37	-
4	CANM	Wanita	18	-
5	MTIM	Wanita	37	-
6	EJAM	Wanita	21	-
7	MELM	Wanita	44	-
8	JLAM	Wanita	38	-
9	RAMM	Wanita	18	-
10	MARM	Wanita	36	-
11	LNUM	Wanita	27	-
12	IROM	Wanita	33	-
13	RSIM	Wanita	47	-
14	ANTM	Wanita	40	-
15	ROKM	Wanita	31	-
16	JAMM	Wanita	44	-
17	MHLM	Wanita	35	-
18	KATM	Wanita	27	-
19	KDFEM	Wanita	40	-
20	LGUM	Wanita	21	-
21	DKUM	Wanita	36	-
22	LRAM	Wanita	30	-
Mean			32,7	
Median			34,0	
Max			47,0	
Min			18,0	
Standar deviasi			8,4	
Standar error of mean			1,8	

Tabel 2
Reaksi Kulit Sebelum dan Setelah pengangkatan Pita Tempel Tertutup 24 jam pada
Produk YSA 01

No. Subjek	Sebelum				Waktu setelah pengangkatan Pita Tempel							
					30 menit				24 jam			
	Er		Ed		Er		Ed		ER		ED	
	P	K	P	K	P	K	P	K	P	K	P	K
1	0	0	0	0	1	1	0	0	0,5	0,5	0	0
2	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
3	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
4	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0,5	0	0
5	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0,5	0	0
6	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0,5	1	0	0
7	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
8	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0,5	0	0
9	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0,5	0	0
10	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	1	1	0	0
11	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
12	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
13	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	0,5	1	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0,5	1	0	0	1	1	0	0
16	0	0	0	0	0	0,5	0	0	1	1	0	0
17	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	0,5	1	0	1
18	0	0	0	0	0	1	0	0	0,5	1	0	0
19	0	0	0	0	0,5	1	0	0	1	1	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	1	0	0
21	0	0	0	0	5	1	0	0	1	1	0	0
22	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	1	0	0
Jumlah	0	0	0	0	6	13	0	0	10,5	16	0	1

KETERANGAN

Er : Eritema P : Produk Uji
Ed : Edema K : Kontrol

Tabel 3
Reaksi Kulit Sebelum dan Setelah pengangkatan Pita Tempel Tertutup 24 jam pada Produk YSA 02

No. Subjek	Sebelum				Waktu setelah pengangkatan Pita Tempel							
					30 menit				24 jam			
	Er		Ed		Er		Ed		ER		ED	
	P	K	P	K	P	K	P	K	0,5	K	P	K
1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0,5	0	0
2	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
3	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
4	0	0	0	0	0,5	1	0	0	0,5	0,5	0	0
5	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
6	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0,5	1	0	0
7	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
8	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
9	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	0,5	0	0
10	0	0	0	0	1	0,5	0	0	1	1	0	0
11	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	1	0,5	0	0
12	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
13	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	0,5	1	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0
16	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	0,5	1	0	0
17	0	0	0	0	1	0,5	0	0	1	1	0	1
18	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0
19	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
21	0	0	0	0	0,5	1	0	0	0,5	1	0	0
22	0	0	0	0	1	0,5	0	0	1	1	0	0
Jumlah	0	0	0	0	11	13	0	0	13,5	16	0	1

KETERANGAN

Er : Eritema P : Produk Uji
Ed : Edema K : Kontrol

Tabel 4
Reaksi Kulit Sebelum dan Setelah pengangkatan Pita Tempel Tertutup 24 jam pada Produk YSA 03

No. Subjek	Sebelum				Waktu setelah pengangkatan Pita Tempel							
					30 menit				24 jam			
	Er		Ed		Er		Ed		ER		ED	
	P	K	P	K	P	K	P	K	0,5	K	P	K
1	0	0	0	0	0,5	1	0	0	0	0,5	0	0
2	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
3	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
4	0	0	0	0	0	1	0	0	0,5	0,5	0	0
5	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
6	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0,5	1	0	0
7	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
8	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
9	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
10	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	1	1	0	0
11	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
12	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0,5	0,5	0	0
13	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0,5	1	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0
15	0	0	0	0	1	1	0	0	0,5	1	0	0
16	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	1	1	0	0
17	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	0,5	1	0	1
18	0	0	0	0	0	1	0	0	0,5	1	0	0
19	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0
20	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
21	0	0	0	0	0,5	1	0	0	0,5	1	0	0
22	0	0	0	0	0	0,5	0	0	0	1	0	0
Jumlah	0	0	0	0	4	13	0	0	12	16	0	1

KETERANGAN

Er : Eritema P : Produk Uji
Ed : Edema K : Kontrol

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim, *Standard of ASEAN Herbal Medicine.*, Vol. I., Published by ASEAN Countries., Jakarta, Indonesia. 1993, P.244-255
2. Adi S dan Djuanda, S” Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin, ed ^{5th}. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Cetakan ke - 4, 2009, hal 129-133, 136-138
3. Agusta A. Minyak atsiri tumbuhan tropika Indonesia , 2000 penerbit ITB hal 29-36
4. Amir A. “*Study of antifungal activity of laos (Alpinia galanga Willd)juice againt Microsporum gypsum, Trichophyton rubrun, Epidermophyton floccosum by cylinder method*, BSc. Tesis Fakultas Farmasi , Universitas Tujuh Belas Agustus , Surabaya, Indonesia ,1990
5. .Farnsworth B, Nuntavan B, “Thai Medicinal Plants, Recommended for primary Health Care System, page 44-47, 16)
6. Chutiyasantayanon S, Buntaweekul,S and Temrattanasirikul.” A Medicinal plant used for skin diseases,B,Sc,Theseis, Thailand, Mahidol University 1985
7. Cheah P,B and Gan ,S.P ‘ Antioxidative/antimicrobial effects of galangal and α -toxoferol in minced beef. J Food Prot .2000 page .63 (3) : 1565-1571
8. Cronin E. “ Contact Dermatitis.” Edinburg: Churchill Livingstone,1980.2. Fisher AA. Contact Dermatitis, 2nd ed. Philadelphi: Lea & Febiger,1975.
9. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan“Materia Medika Indonesia,” edisi II , Jakarta , 1998 . Hal, 48,49,50,51
10. Departemen Kesehatan Republik Indonesia,Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan“ Formularium Kosmetika Indonesia “ , Jakarta. 1985 . Hal, 83
11. Departemen Kesehatan Republic Indonesia,Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan Farmakope Indonesia. Edisi IV. Jakarta; 1995, hal 1002, 1012 –13,10161061 – 8
12. Departemen Kesehatan Direktorat BPOM “ Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat “ Jakarta, Cetakan Pertama ,2000. Hal, 5,
13. Gunawan D, Sri Mulyani, CJ. Sugihardjo., Koensumardiyah “Empon-empon dan Tanaman Lain dalam Zingiberaceae., Perhimpunan Peneliti Obat Alami (PERHIBA) Komisariat Yogyakarta bekerja sama dengan IKIP Semarang Press., Semarang. 1989
14. Flemming A, Katrhryn H, “Anti-irritants I: Dose-response in acute irritation”, Contact Dermatitis . University of Southern Dermark. 2006, h. 148.149,

15. Flemming A, Kathryn H, “Anti-irritants II: *Efficacy against cumulative irritation*”, Contact Dermatitis Industrieparken 55 Ballerup, Denmark. 2006, h. 155-157
16. Frosch P. J F and Beate Pilz. Irritans Patch Test Techniques. Departement of dermatology StadtischeKliniken Dortmund Universtity of Witten Herdeke Dormund, Germany 1992 : 587-591
17. Jansen,A.M and Scheffer, J.JC Acetoxychavicolacetat, an antifungal component ofAlpinia galangal Planta Med (6);507-511 (1985)
18. Hajian HG, Pecsok RL. Modern chemical technology. 2 nd ed. New Jersey: Pretice Hall. 1989. Hal 24 – 35
19. Khopkar SM. Konsep dasar kimia analitik, Diterjemahkan oleh A Saptorahardjo. Jakarta: UI – Press; 1990 hal/ 163 - 5
20. Maibach H, Marachi S.” Sodium Lauryl Sulfate-Induced Irritation in the HumanFace”Departement of Dermatology , San Francisco, USA.Thirt Ed, h.499
21. Malten KE, Nater JP, Van Ketel WG .”Patch testing Guidelines. Nijmegen” : Dekker & Van de Vegt, 1976.
22. Munson J, Analisis Farmasi metode modern, Michigan : The Upjhon Company; 1993. Hal 334 - 43,
23. N, Nuntavan, B, Thai Medicinal Plants, Recommended for primary Health Care System, page 44-47,
24. Norazah Ma, Sam ,y Mailina J dan Chua LSL , (E) methyl Cinnamat: The major Component of Essential Oil of Alpinia Malaccensis Var Nobilis, Journalof Tropical florest Science Vol 17 (4) ,2005, h 631-633
25. Qureshi,S Shah,A..H Ageel, A.M Toxicity studies on Alpinia galanga and Curcuma longa plant Med.58 (2) 1992 page;124-127
26. Randazzo SD, Muscardin LM.,” Adverse Reaction to Cosmetics in Dermatology. ”J. Appl Cometol 1983; 1:43-57
27. Rosmarilin H. Anti-cancer activity of local alpinia galangal L(SW) rhizome extracts on cancer cell linee of human and mice transplanted with primary tumor cell. USU reporitary 2006 (cited 2007 feb 14). Available from:
<http://library.usu.ac.id/download/fp/D0300608.pdf>

28. Robert L Goldemberg B.S “*Use of Anti Irritants in Cosmetic Formulating*”, J Soc. Cosmetic Chemist, New York City. h. 317-322
29. Someya, Y Kobayasi, A and Kubota K” *Isolation and identification of trans-2-and tras-3-hydroxy-1,8-cineola glucosides from Alpinia galangal*. Biosci, biotechnol. Biochem, 2001. 65 (4): 950-953
30. Tanaka. T Makita, H, Kawamori, T, Kawabata, K. and Koshimizu K, A *xanthine oxidase inhibitor 1-acetoxychavicol acetat inhibits azoxymethane-induced colonic aberrant crypt foci in rats, Carcinogenesis* 18(5).1997; 1113-1118
31. Tranggono. Fatma . L,” *Buku pegangan ilmu pengetahuan kosmetik*” Penerbit PT. Gramedia Utama, Jakarta 2007 hal 11-13, 166, 167, 17,
32. Wilard HH. Merrit LL, Dean JA, Settle FA.” *Instrument methods of analysis*, 7 th ed. Belmen, California: Wadsworth publishing Company; 1988. Hal 118 –n 34, 287 – 318
33. Yamamoto M. “ *Skin Irritation Caused by Alcohol-Based Hand Rubs* “ Tokyo 2007 h 140-144
34. Zheng, G, Q, Kenney, P. M, lam L. K. T Potential anticarcinogenic natural products isolated from lemongrass oil and galangal root oil J, Agric. Food Chem. 41(2): 153-6 (1993)



**Komite Etik Penelitian Kesehatan
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo**



Health Research Ethics Committee
Faculty of Medicine Universitas Indonesia
Cipto Mangunkusumo Hospital

Jalan Salemba Raya No. 6, Jakarta Pusat 10430. Telp. 021-3157008. E-mail: ec_fkui@yahoo.com

Nomor : 122 /H2.F1/ETIK/2014

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul:

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, University of Indonesia, with regards of the Protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the research protocol entitled:

"Evaluasi Kandungan Minyak Lengkuas (*Alpinia Galanga Linn*) dan Manfaatnya Sebagai Pencegah Iritasi pada Kulit Manusia".

Peneliti Utama : **Yayah Siti Djuhariah, S.Si, Apt**
Principal Investigators

Nama Institusi : **Program Magister Ilmu Kefarmasian**
Name of the Institution **Universitas Pancasila**

dan telah menyetujui protokol tersebut di atas.
and approved the above-mentioned protocol.

28 FEB 2014.....
Ketua
Chairman

Prof. Dr. dr. Rianto Setiabudy, SpFK

*Ethical approval berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan

**Peneliti berkewajiban

1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian
2. Memberitahukan status penelitian apabila
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical clearance* harus diperpanjang
 - b. Penelitian berhenti di tengah jalan
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*)
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan *informed consent*