



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI ANTIBAKTERI JERAWAT SECARA *IN VITRO*,
STABILITAS FISIK DAN *PATCH TEST* KRIM YANG
MENGANDUNG ETIL P-METOKSI SINAMAT DARI
RIMPANG KENCUR (*Kaempferia galanga* L.)**

TESIS

**IKA MARUYA KUSUMA
1206306666**

**FAKULTAS FARMASI
PROGRAM STUDI MAGISTER HERBAL
DEPOK
JULI 2014**



UNIVERSITAS INDONESIA

**UJI ANTIBAKTERI JERAWAT SECARA *IN VITRO*,
STABILITAS FISIK DAN *PATCH TEST* KRIM YANG
MENGANDUNG ETIL P-METOKSI SINAMAT DARI
RIMPANG KENCUR (*Kaempferia galanga* L.)**

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar magister sains

**IKA MARUYA KUSUMA
1206306666**

**FAKULTAS FARMASI
PROGRAM STUDI MAGISTER HERBAL
DEPOK
JULI 2014**

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :

Nama : Ika Maruya Kusuma
NPM : 1206306666
Program Studi : Program Magister Herbal
Judul Tesis : Uji Antibakteri Jerawat secara *In Vitro*, Stabilitas Fisik dan *Patch Test* Krim yang Mengandung Etil P-Metoksi Sinamat dari Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.)

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Magister Herbal Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Berna Elya, M.Si., Apt



Pembimbing II: Dr. Mahdi Jufri, M.Si., Apt



Ketua Sidang : Prof. Dr. Effionora Anwar, M.S., Apt



Penguji I: Pharm. Dr. Joshita Djajadisastra, M.S., Ph.D., Apt



Penguji II : Dr. Herman Suryadi, M.S., Apt



Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 4 Juli 2014

PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Ika Maruya Kusuma

NPM : 1206306666

Tanda Tangan : 

Tanggal : 4 Juli 2014

KATA PENGANTAR/ UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, saya dapat menyelesaikan tesis ini. Penulisan tesis ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Sains pada Fakultas Farmasi Universitas Indonesia, Depok.

Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan tesis ini, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan tesis ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terimakasih kepada :

- 1) **Dr. Berna Elya, M.Si., Apt**, selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan tesis ini;
- 2) **Dr. Mahdi Jufri, M.Si., Apt**, selaku dosen pembimbing, sekaligus Dekan Fakultas Farmasi Universitas Indonesia yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam penyusunan tesis ini;
- 3) **Prof. Dr. Effionora Anwar, M.S., Apt**, selaku Ketua sidang dan Ketua Program Pascasarjana Universitas Indonesia yang telah memberikan dukungan dan pengarahannya;
- 4) **Pharm. Dr. Joshita Djajadisastra, M.S.Ph.D.Apt**, selaku dosen penguji yang telah memberikan dukungan dan pengarahannya;
- 5) **Dr. Herman Suryadi, M.S., Apt**, selaku dosen penguji yang telah memberikan dukungan dan pengarahannya;
- 6) Seluruh dosen Fakultas Farmasi UI atas motivasi dan bimbingan selama masa perkuliahan dan penelitian;
- 7) **dr. Yenni Bahar dan dr. Ismiralda Oke, Sp.KK.**, selaku dokter pengawas yang telah memberikan waktu, dan pengarahannya;
- 8) Karyawan dan petugas Laboratorium Fakultas Farmasi UI, atas bantuan selama perkuliahan dan penelitian;
- 9) **Mas Dian**, dari Lababoratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UNSOED;

- 10) **Pak Siswanto** dan **Mas Luis** dari Laboratorium Mikrobiologi dan Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas YARSI;
- 11) Orang tua ku : Bapak **M. Betek** dan Ibu **Sudarsiah** yang selalu memberikan semangat untuk menuntut ilmu;
- 12) Suamiku **Yana, S.Pd** atas dukungan, perhatian dan doanya selama perkuliahan;
- 13) Teman-teman seperjuangan di Magister Herbal UI atas dukungan dan kebersamaanya yang banyak membantu menyelesaikan tesis ini.
- 14) Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah memberikan dukungan dan bimbinganya.

Akhir kata, saya berharap Allah SWT, berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga tesis ini memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu.

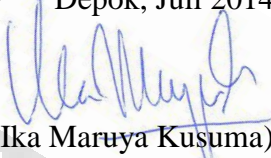
Penulis
2014

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

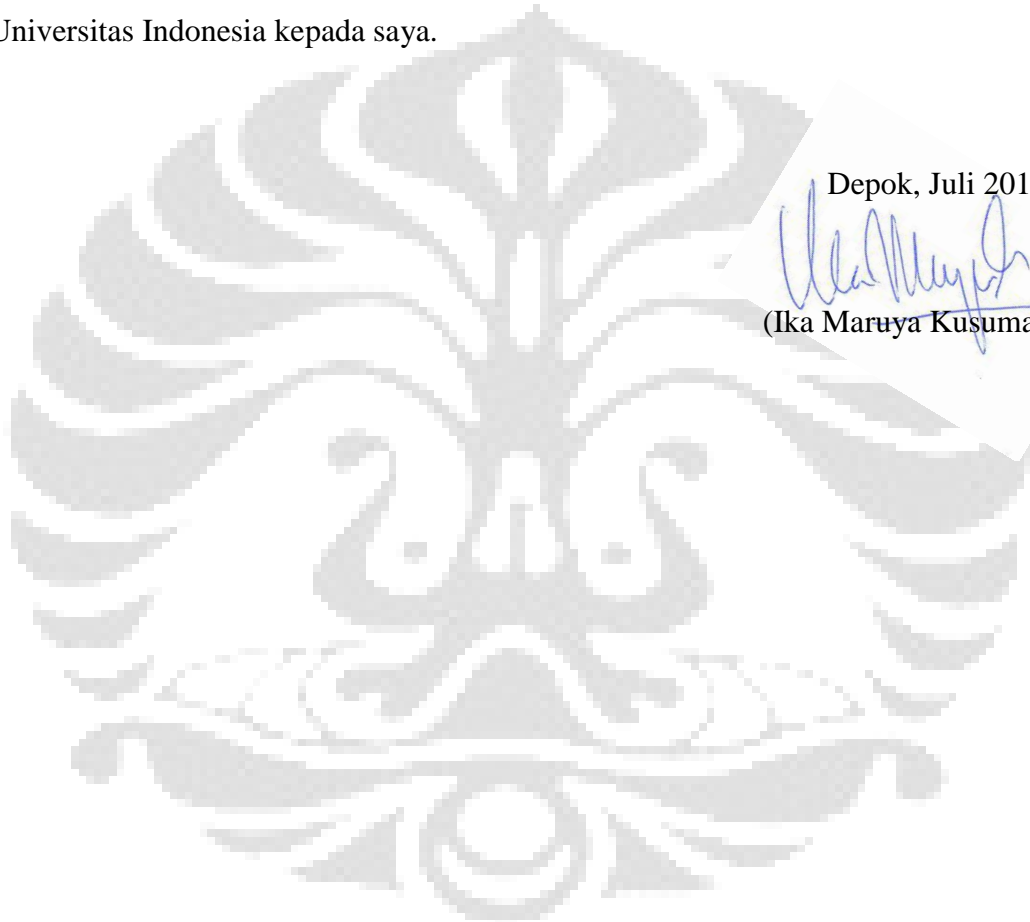
Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa tesis ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika dikemudian hari ternyata saya melakukan tindakan plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, Juli 2014



(Ika Maruya Kusuma)



**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ika Maruya Kusuma
NPM : 1206306666
Program Studi : Program Magister Herbal
Fakultas : Farmasi
Jenis Karya : Tesis

demi pengembangan ilmu pengetahuan, meyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Uji Antibakteri Jerawat secara *In Vitro*, Stabilitas Fisik dan *Patch Test* Krim yang Mengandung Etil P-Metoksi Sinamat dari Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga L.*)

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan).

Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/ format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/ pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pertanyaan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 4 Juli 2014

Yang menyatakan,



(Ika Maruya Kusuma)

ABSTRAK

Nama : Ika Maruya Kusuma
Program Studi : Magister Herbal
Judul : Uji Antibakteri Jerawat secara *In Vitro*, Stabilitas Fisik dan *Patch Test* Krim yang Mengandung Etil P-Metoksi Sinamat dari Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.).
Pembimbing : Dr. Berna Elya, M.Si., Apt
Dr. Mahdi Jufri, M.Si., Apt

Aktivitas bakteri merupakan salah satu penyebab jerawat. Rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) memiliki aktivitas antibakteri yang berasal dari senyawa etil p-metoksi sinamat (EPMS). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari EPMS ekstrak rimpang kencur terhadap *P.acne*, *S.aureus* dan *S.epidermidis* serta stabilitas fisik krim dan keamanan krim anti jerawat. Kristal EPMS diperoleh melalui proses maserasi dengan pelarut heksan, lalu pemurnian dan identifikasi karakteristik kristal EPMS. Uji aktivitas antibakteri dan konsentrasi hambat minimum (KHM) pada konsentrasi EPMS 0,3; 0,6; 1,2 dan 2,4% dengan metode difusi cakram dan dilusi cair. Hasil menunjukkan semua konsentrasi EPMS memiliki aktivitas antibakteri secara signifikan ($p < 0,01$) dengan zona jernih secara berturut-turut terhadap *P.acne* (9,00; 11,50; 14,50; 16,00 mm), *S.aureus* (9,00; 11,50; 16,50; 22,00 mm) dan *S.epidermidis* (10,50; 12,50; 20,50; 27,00 mm). Senyawa EPMS dengan konsentrasi 0,6; 1,2 dan 2,4 % terbukti memiliki konsentrasi hambat minimum (KHM) terhadap bakteri *P.acne*, sedangkan pada *S.aureus* dan *S.epidermidis* pada konsentrasi 1,2 dan 2,4%. Berdasarkan hasil evaluasi stabilitas fisik, krim EPMS 1,2% memiliki stabilitas fisik baik hingga akhir penelitian. Dari hasil uji keamanan (*patch test*) pada 12 subjek tidak terjadi iritasi alergi, sehingga krim EPMS 1,2% aman digunakan dalam sediaan topikal.

Kata kunci : Etil p-metoksi sinamat, *Kaempferia galanga*, aktivitas antibakteri, stabilitas krim.

ABSTRACT

Name : Ika Maruya Kusuma
Study Programme : Magister Herbal
Title : Antibacterial Tests against Acne *In Vitro*,
The Physical Stability and *Patch Test* using cream
containing Ethyl P-Methoxy Cinnamate extracted
from Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.).

Lecturers : Dr. Berna Elya, M.Si., Apt
Dr. Mahdi Jufri, M.Si., Apt

An activity of certain bacterias is one of the causes of acne. Rimpang kencur (*Kaempferiagalanga* L.) has an antibacterial agent from compound ethyl p-methoxy cinnamate (EPMC). The purpose of this research is to find out the activities of antibacterias using EPMC rimpang kencur extracts against *P.acne*, *S.aureus* and *S.epidermidis* with the physical stability of the cream and its safety use as an anti acne cream. The EPMC crystals are obtained through the process of maceration using hexane solvent, purification and identification of the characteristic of EPMC crystals. The activity test of the antibacterial and the minimum inhibitory concentration (MIC) of EPMC are 0,3; 0,6; 1,2 and 2,4% was done using disk diffusion method and broth dilution test. The result shows that all EPMC concentration has significant antibacterial activity ($p < 0,01$) respectively gaining clear zone against *P.acne* (9,00; 11,50; 14,50; 16,00 mm), *S.aureus* (9,00; 11,50; 16,50; 22,00 mm) and *S.epidermidis* (10,50; 12,50; 20,50; 27,00 mm). EPMC compound with the 0,6; 1,2 dan 2,4 % concentration is proven to have minimum inhibitory concentration (MIC) against *P.acne* bacterias, while on the *S.aureus* dan *S.epidermidis* reaches up to 1,2 dan 2,4% concentration. Based on the results of the evaluation on the physical stability, EPMC 1,2% cream has a good physical stability until the final research. From the results of safety use (*patch test*) on 12 subjects there were no evidence of allergic irritation, therefore cream EPMC 1,2% is safe to be used in topical preparation.

Keywords : Ethyl p-methoxy cinnamate, *Kaempferia galanga*, antibacterial activity, cream stability.

DAFTAR ISI

	Hal
Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Halaman Orisinalitas	iii
Kata Pengantar	iv
Surat Pernyataan Bebas Plagiarisme	vi
Pernyataan Persetujuan Publikasi	vii
Abstrak	viii
Daftar Isi	x
Daftar Gambar	xiii
Daftar Tabel	xiv
Daftar Lampiran	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	2
1.3. Hipotesis Penelitian	3
1.4. Tujuan Penelitian	3
1.4.1. Tujuan Umum	3
1.4.2. Tujuan Khusus	3
1.5. Manfaat Penelitian	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Jerawat	5
2.1.1. Penyebab Jerawat	5
2.1.2. Macam-macam Jerawat	6
2.1.3. Penanggulangan Jerawat	6
2.1.4. Bakteri Penyebab Jerawat	7
2.2. Kencur	9
2.2.1. Taksonomi Kencur dan Sinonim	9
2.2.2. Diskripsi Tanaman	10
2.2.3. Kandungan Kimia	11
2.3. Etil P-Metoksi Sinamat	11
2.3.1. Efek Farmakologi	12
2.3.2. Efek Antimikroba	13
2.4. Uji <i>In Vitro</i> Antibakteri	13
2.4.1. Metode Difusi	14
2.4.2. Metode Dilusi	14
2.5. Uji Fitokimia	15
2.5.1. Uji Alkaloid	15
2.5.2. Uji Steroid	15
2.5.3. Uji Saponin dan Flavonoid	15
2.5.4. Uji Tanin	16
2.5.5. Uji Antrakuinon	16
2.6. Sediaan Krim	16

2.6.1.	Asam Stearat	17
2.6.2.	Setil Alkohol	18
2.6.3.	Isopropil Miristat	18
2.6.4.	Trietanolamin (TEA)	18
2.6.5.	Giseril Monostearat	18
2.6.6.	Metilparaben	19
2.6.7.	Propilparaben	19
2.6.8.	Propilen Glikol	20
2.6.9.	Butilhidroksitoluen (BHT)	20
2.7.	Uji Stabilitas Krim	21
2.8.	Uji <i>Patch Test</i>	23
BAB 3 METODE PENELITIAN		24
3.1.	Waktu dan Tempat Penelitian	24
3.2.	Bahan Penelitian	24
3.3.	Alat Penelitian	25
3.4.	Cara Kerja	25
3.4.1.	Determinasi dan Penyiapan Simplisia Rimpang Kencur	25
3.4.2.	Ekstraksi Rimpang Kencur	25
3.4.3.	Pemurnian Kristal	26
3.4.4.	Karakterisasi EPMS	26
3.4.5.	Karakterisasi Ekstrak	27
3.4.6.	Uji Fitokimia	28
3.4.7.	Sterilisasi Alat	29
3.4.8.	Pembuatan Media Agar	29
3.4.9.	Penapisan Bakteri	30
3.4.10.	Peremajaan Bakteri	30
3.4.11.	Pembuatan Suspensi Bakteri	31
3.4.12.	Penentuan Aktivitas Antibakteri	31
3.4.13.	Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)	32
3.4.14.	Formulasi dan Pembuatan Krim	32
3.4.15.	Evaluasi Fisik Sediaan Krim	35
3.4.16.	Uji Stabilitas Fisik	36
3.5.	Subjek Penelitian	37
3.5.1.	Populasi dan Sampel	37
3.5.1.1.	Kriteria sampel	37
3.5.1.2.	Teknik penentuan sampel	37
3.5.1.3.	Prosedur dan pengambilan data	38
3.5.2.	Alur Penelitian	40
3.6.	Prosedur Pengumpulan Data	41
3.7.	Pengolahan dan Analisis Data	42
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN		43
4.1.	Ekstraksi Rimpang Kencur (<i>Kaempferia galangal</i> L.)	43
4.1.1.	Uji Karakterisasi Kristal	45
4.2.	Identifikasi Fitokimia	49
4.3.	Penapisan dan Pewarnaan Gram terhadap Bakteri Penyebab Jerawat	49

4.4.	Respon Aktivitas Antibakteri	52
4.4.1.	Metode Difusi Cakram	52
4.4.2.	Metode Dilusi Cair	57
4.5.	Formulasi dan Evaluasi Stabilitas Fisik Krim	60
4.5.1.	Pengamatan Organoleptik	61
4.5.2.	Pemeriksaan pH	61
4.5.3.	Diameter Globul	63
4.5.4.	Pengukuran Viskositas dan Sifat Alir	63
4.5.5.	Uji Stabilitas Krim pada Suhu $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$, suhu $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ dan $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$	65
4.5.6.	Homogenitas	65
4.5.7.	Pengukuran Konsistensi	66
4.5.8.	Uji Mekanik	67
4.5.9.	<i>Cycling Test</i>	68
4.6.	Uji Keamanan Krim	69
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN		71
5.1.	Kesimpulan	71
5.2.	Saran	71
DAFTAR ACUAN		72

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Daun, Bunga dan Rimpang Kencur	9
Gambar 2.2	Struktur Etil P-Metoksi Sinamat	12
Gambar 2.3	Struktur Asam Stearat	17
Gambar 2.4	Struktur Setil Alkohol	18
Gambar 2.5	Struktur Nipagin	19
Gambar 2.6	Struktur Nipasol	20
Gambar 2.7	Struktur Propilen Glikol	20
Gambar 2.8	Struktur Butilhidroksiltoluen	21
Gambar 3.1	Alur Penelitian	40
Gambar 4.1	Maserat Rimpang Kencur	43
Gambar 4.2	Kristal EPMS	44
Gambar 4.3	Profil Kromatografi	45
Gambar 4.4	Hasil Pengukuran Kristal EPMS dengan Menggunakan FT-IR	47
Gambar 4.5	Termogram dari DSC Kristal EPMS Sampel	48
Gambar 4.6	Bakteri <i>P.acne</i> secara Mikroskopis	50
Gambar 4.7	Bakteri <i>S.aureus</i> secara Mikroskopis	50
Gambar 4.8	Bakteri <i>S.epidermidis</i> secara Mikroskopis	51
Gambar 4.9	Hasil Uji Antibakteri <i>P. acne</i> terhadap Kristal Etil P-metoksi Sinamat Ekstrak Rimpang Kencur	52
Gambar 4.10	Hasil Uji Antibakteri <i>S.aureus</i> terhadap Kristal Etil P-metoksi Sinamat Rimpang Kencur	54
Gambar 4.11	Hasil Uji Antibakteri <i>S.epidermidis</i> terhadap Kristal Etil P-metoksi Sinamat Ekstrak Rimpang Kencur	56
Gambar 4.12	Hasil Uji Metode Dilusi pada Bakteri <i>S.aureus</i>	58
Gambar 4.13	Hasil Uji Metode Dilusi pada Bakteri <i>S.epidermidis</i>	58
Gambar 4.14	Hasil Uji Metode Dilusi pada Bakteri <i>P.acne</i>	59
Gambar 4.15	Kurva Perubahan pH pada Suhu 4°C	62
Gambar 4.16	Kurva Perubahan pH pada Suhu 25°C	62
Gambar 4.17	Kurva Perubahan pH pada Suhu 40°C	63
Gambar 4.18	Hasil Rheogram Krim Basis	64
Gambar 4.19	Hasil Rheogram Krim EPMS 1,2%	65
Gambar 4.20	Hasil Uji Homogenitas Krim EPMS 1,2% dan Krim Basis	66
Gambar 4.21	Diagram Pengukuran Konsistensi Krim	67
Gambar 4.22	(a) Krim Sebelum Uji Mekanik; (b) Krim Setelah Uji Mekanik	68
Gambar 4.23	(a) <i>Cycling test</i> pada suhu 4°C; (b) <i>Cycling test</i> pada suhu 40°C	68

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Formula Krim Ekstrak Kencur	34
Tabel 3.2	Kategori Eritema dan Edema	38
Tabel 3.3	Kategori Respon dan Iritasi	39
Tabel 4.1	Interpretasi Data Spektrum IR antara EPMS Sampel dan EPMS Standar	47
Tabel 4.2	Rerataan Zona Hambat dari Kristal EPMS Ekstrak Rimpang Kencur terhadap Bakteri <i>P.acne</i>	53
Tabel 4.3	Rerataan Zona Hambat dari Kristal EPMS Ekstrak Rimpang Kencur terhadap Bakteri <i>S.aureus</i>	55
Tabel 4.4	Rerataan Zona Hambat dari Kristal EPMS Ekstrak Rimpang Kencur terhadap Bakteri <i>S.epidermidis</i>	57
Tabel 4.5	Hasil Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) EPMS dari Ekstrak Heksan Rimpang Kencur terhadap Bakteri	59
Tabel 4.6	Hasil Pengukuran pH pada Suhu yang Berbeda	61
Tabel 4.7	Hasil Pengukuran Konsistensi Krim	67
Tabel 4.8	Hasil Uji Keamanan terhadap 12 Subjek	70

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Gambar Rimpang Kencur (<i>Kaempferia galanga</i> L.) yang diperoleh dari Perkebunan Kencur	77
Lampiran 2.	Proses Ekstraksi dan Pencucian Kristal EPMS	77
Lampiran 3.	Alat <i>Differential Scanning Calorimetry</i> (DSC)	78
Lampiran 4.	Peralatan yang Digunakan pada Uji Bakteri	78
Lampiran 5.	Gambar Peralatan yang Digunakan pada Uji Stabilitas Krim	79
Lampiran 6.	Gambar Alat dan Bahan Penapisan Bakteri Uji	79
Lampiran 7.	Gambar Alat dan Bahan Uji Keamanan Patch Test	79
Lampiran 8.	Gambar Hasil Penapisan Fitokimia	80
Lampiran 9.	Tabel Hasil Analisis SPSS Uji Bakteri <i>P.acne</i>	81
Lampiran 10.	Tabel Hasil Analisis SPSS Uji Bakteri <i>S.aureus</i>	83
Lampiran 11.	Tabel Hasil Analisis SPSS Uji Bakteri <i>S.epidermidis</i>	85
Lampiran 12.	Panton Warna pada Uji Organoleptik	87
Lampiran 13.	Hasil Pengamatan Organoleptik Krim Basis dan Krim EPMS 1,2% pada Suhu Rendah, Suhu Ruang dan Suhu Tinggi Selama 12 Minggu	88
Lampiran 14.	Gambar Hasil Pengamatan Uji Patch Test Krim Basis dan Krim EPMS 1,2% Punggung Atas pada 12 Subjek	89
Lampiran 15.	Gambar Hasil Uji Pengamatan Diameter Globul Krim pada Akhir Pengamatan	90
Lampiran 16.	Hasil Pengukuran PSA Diameter Globul Krim Basis pada Suhu 4°C	90
Lampiran 17.	Hasil Pengukuran PSA Diameter Globul Krim Basis pada Suhu 25°C	91
Lampiran 18.	Hasil Pengukuran PSA Diameter Globul Krim Basis pada Suhu 40°C	91
Lampiran 19.	Hasil Pengukuran PSA Diameter Globul Krim EPMS 1,2% pada Suhu 4°C	91
Lampiran 20.	Hasil Pengukuran PSA Diameter Globul Krim EPMS 1,2% pada Suhu 25°C	92
Lampiran 21.	Hasil Pengukuran PSA Diameter Globul Krim EPMS 1,2% pada Suhu 40°C	92
Lampiran 22.	Tabel Pengukuran Viskositas Krim Basis pada Minggu Ke-0 dan Minggu Ke-12	93
Lampiran 23.	Tabel Pengukuran Viskositas Krim EPMS 1,2% pada Minggu Ke-0 dan Minggu Ke-12	94
Lampiran 24.	Hasil Pengamatan Krim Basis pada Suhu Rendah, Suhu Ruang dan Suhu Tinggi Selama 12 Minggu	95
Lampiran 25.	Hasil Pengamatan Krim EPMS 1,2% pada Suhu Rendah, Suhu Ruang dan Suhu Tinggi Selama 12 Minggu	96
Lampiran 26.	Sertifikat Pengujian Serbuk Kencur	97
Lampiran 27.	Sertifikat Identifikasi dan Determinasi Rimpang Kencur	98
Lampiran 28.	Keterangan Lolos Uji Etik	99

Lampiran 29.	Sertifikat Hasil Pengujian Sisa Pelarut dalam EPMS	100
Lampiran 30.	Sertifikat Klindamisin HCl	101
Lampiran 31.	Surat Ijin Penggunaan Laboratorium Fitokimia	102
Lampiran 32.	Surat Ijin Penggunaan Laboratorium Farmasetika	103
Lampiran 33.	Surat Ijin Penggunaan Alat FT-IR	104
Lampiran 34.	Tabel Penapisan Fitokimia	105
Lampiran 35.	<i>Informed Concern</i>	106



BAB 1

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Jerawat merupakan salah satu gangguan estetika pada kulit yang disebabkan oleh pori kulit terbuka dan tersumbat oleh minyak, sel kulit mati, aktivitas bakteri, kosmetik, faktor makanan dan bahan kimia (Wasitaatmaja, 1997). Gangguan jerawat umumnya terjadi pada remaja, dimana kulit mengalami peradangan kronik folikel polisebasea dengan gambaran klinis berupa komedo, papul, pustul dan nodul. Jerawat tersebar pada daerah yang mengandung kelenjar sebacea yang terdapat di muka, dada, dan punggung (Harper, 2007).

Aktivitas bakteri yang memicu peradangan jerawat adalah bakteri *Propionibacterium acne*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus*. Untuk mengatasi gangguan jerawat perlu adanya bahan yang memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri, seperti pengobatan jerawat yang dilakukan di klinik kulit dengan menggunakan antibiotik (Djajadisastra, Mun'im & Dessy, 2009).

Bahan alam yang telah banyak diteliti memiliki kemampuan antibakteri berasal dari rimpang Famili *Zingiberaceae*, salah satunya adalah rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.). Aktivitas antibakteri dari rimpang kencur (*Kaempferia galanga*) diketahui berasal dari senyawa etil p-metoksi sinamat (EPMS) (Umar et al., 2011).

Senyawa etil p-metoksi sinamat (EPMS) dari rimpang kencur (*Kaempferia galanga*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis* dan *Candida albicans* (Umar et al., 2011). Ekstrak rimpang kencur sebagai antibakteri telah diujikan pada bakteri *S. aureus*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *M. tuberculosis*, *V. cholera*, *V. parahaemolyticus*, *K. pneumonia*, *P. aeruginosa* dan *S. typhi* (Mekseepralard et al., 2010). Ekstrak etanol rimpang kencur sebagai antibakteri *S. aureus* juga ditunjukkan pada penelitian Kochuthressia et al., (2012) dengan zona hambat tertinggi ($21,3 \pm 0,08$). Senyawa EPMS dari rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) sebagai antibakteri juga dilaporkan oleh Hertiani et al., (2010) pada bakteri *S. mutans* penyebab plak gigi.

Senyawa EPMS hasil isolasi dari rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) seberat 1,80%; sedangkan dalam ekstrak kental senyawa EPMS yang diperoleh seberat 4,30% (DepKes., 2008). Senyawa EPMS dalam rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) termasuk senyawa ester yang mengandung cincin benzena dan gugus metoksi yang bersifat nonpolar dan juga gugus karbonil yang mengikat etil yang bersifat polar. Sehingga dalam proses ekstraksi dapat menggunakan pelarut etanol, etil asetat, metanol, air dan heksana (Setyawan dkk., 2012).

Mengacu pada kandungan EPMS, dari hasil penelitian Taufikurohmah, Rusmini dan Nurhayati (2008), pelarut heksan dengan metode maserasi menghasilkan persentase isolasi kristal EPMS tertinggi yaitu 2,111% yang diikuti pelarut etanol 1,434% dan etil asetat 0,542%. Sedangkan pada pelarut aquades kristal EPMS tidak terbentuk. Sehingga pada penelitian ini untuk memperoleh kristal EPMS dari rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) dipilih pelarut nonpolar heksan melalui metode maserasi. Kemudian kristal EPMS yang diperoleh diuji karakteristiknya melalui beberapa tahap antara lain: Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan membandingkan kesamaan harga retensi (R_f) antara EPMS hasil isolasi dan EPMS standar, uji titik leleh dan kemurnian dengan *Differential Scanning Calorimetry* (DSC), dan analisis kesamaan struktur antara EPMS hasil isolasi dengan EPMS standar menggunakan Spektrometer IR.

Senyawa EPMS dalam penelitian ini dibuat dalam bentuk sediaan krim. Krim yang mengandung EPMS diketahui lebih stabil dan dapat mengurangi bau khas dari kencur yang dominan (Siswanto, Rahayu, Utami., 2010) dibandingkan pada krim dengan ekstrak kencur (Soeratri, Ifansyah, Fitrianingrum., 2005).

I.2 Perumusan Masalah

Senyawa EPMS hasil isolasi dari rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) seberat 1,80%; sedangkan dalam ekstrak kental senyawa EPMS yang diperoleh seberat 4,30% (DepKes., 2008). Aktivitas antibakteri ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) diketahui berasal dari etil p-metoksi sinamat (EPMS) (Rajendra et al., 2011). Dari hasil penelusuran kepustakaan belum ada penelitian uji antibakteri penyebab jerawat dari senyawa EPMS ekstrak heksan rimpang

kencur, sehingga pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antibakteri *P. acne*, *S. aureus* dan *S. epidermidis* terhadap senyawa EPMS dari rimpang kencur. Senyawa EPMS dibuat dalam bentuk sediaan krim agar stabil dan tidak menyebabkan alergi iritasi, serta untuk mengurangi bau dari ekstrak kencur yang dapat mengurangi kenyamanan bagi pemakai.

1.3 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah di atas, maka hipotesis dalam penelitian ini yaitu:

- a. Senyawa etil p-metoksi sinamat (EPMS) dari ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) memiliki aktivitas antibakteri *P. acnes*, *S. aureus* dan *S. epidermidis* secara *in vitro*.
- b. Sediaan krim yang mengandung etil p-metoksi sinamat (EPMS) dari ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) pada penelitian ini memiliki stabilitas fisik yang baik.
- c. Sediaan krim yang mengandung etil p-metoksi sinamat (EPMS) dari ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) tidak menyebabkan alergi dan iritasi pada kulit dengan uji *patch test*.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini yaitu menganalisis uji aktivitas antibakteri *P. acnes*, *S. aureus* dan *S. epidermidis* secara *in vitro*, memperoleh sediaan krim yang mengandung etil p-metoksi sinamat (EPMS) ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) stabil, dan tidak menyebabkan alergi iritasi.

1.4.2 Tujuan Khusus

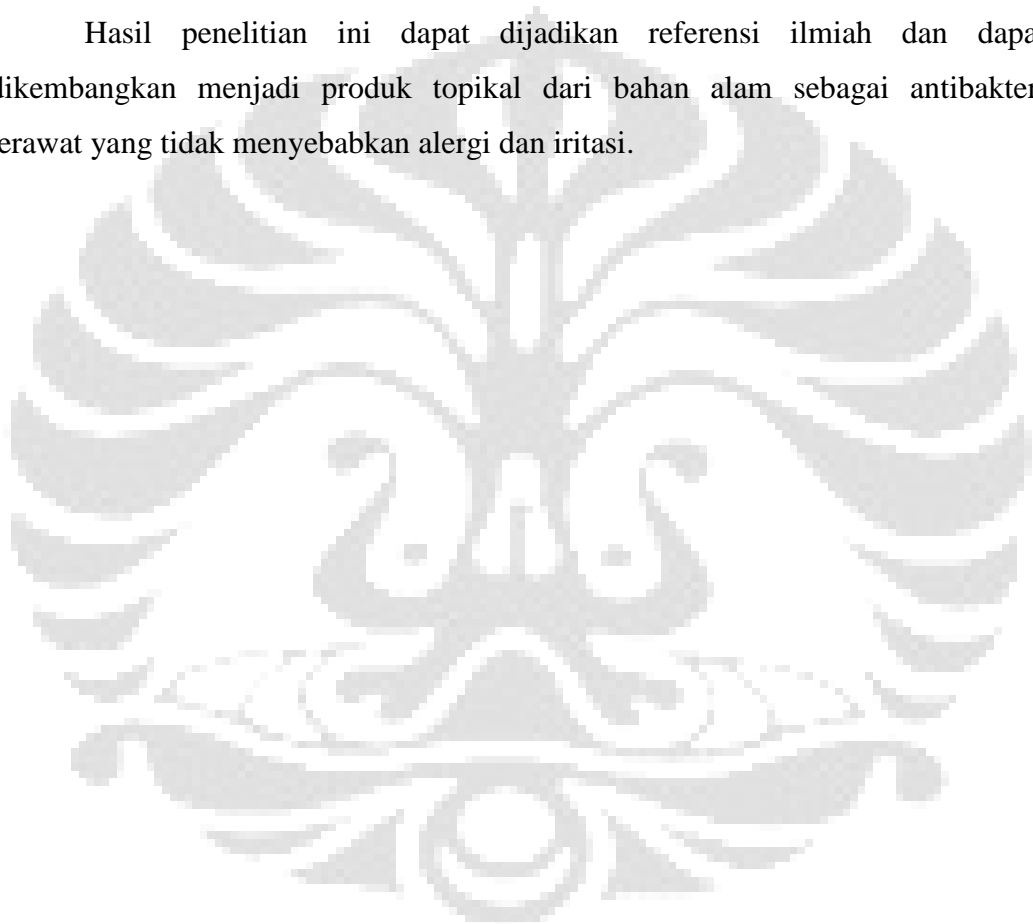
Tujuan khusus dari penelitian ini yaitu:

- a. Membuktikan adanya aktivitas senyawa etil p-metoksi sinamat (EPMS) dari ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) sebagai antibakteri *P. acnes*, *S. aureus* dan *S. epidermidis* secara *in vitro*.

- b. Memperoleh sediaan krim yang mengandung etil p-metoksi sinamat (EPMS) ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) yang memiliki stabilitas fisik yang baik.
- c. Menguji sediaan krim yang mengandung etil p-metoksi sinamat (EPMS) ekstrak rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) terhadap reaksi alergi maupun reaksi iritasi pada kulit dengan uji *patch test*.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini dapat dijadikan referensi ilmiah dan dapat dikembangkan menjadi produk topikal dari bahan alam sebagai antibakteri jerawat yang tidak menyebabkan alergi dan iritasi.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jerawat

Jerawat (*Acne vulgaris*) merupakan gangguan estetika pada kulit yang diakibatkan peradangan folikel polisebasea, yang umumnya terjadi pada masa remaja dan dapat sembuh sendiri. Tipe jerawat yang sering terjadi adalah jerawat ringan yang dialami remaja akibat faktor fisiologis, dan jerawat berat yang membuat orang harus pergi ke dokter. Gambaran klinis dari jerawat berupa komedo, papul, dan nodus pada daerah muka, bahu, leher, dada, punggung bagian atas dan lengan bagian atas (Wasitaatmaja, 1997). Jerawat menyerang hampir pada semua remaja yang berusia 16-19 tahun, bahkan dapat berlanjut hingga usia 30 tahun (Suardi, 2008).

2.1.1 Penyebab Jerawat

Jerawat dapat terjadi karena pori-pori kulit terbuka dan tersumbat dengan minyak berlebih akibat produksi sebum berlebih ditempat dengan glandula sebacea yang banyak (Yuindartanto, 2009). Penyumbatan pori-pori kulit juga dapat disebabkan sel-sel kulit mati, infeksi bakteri, faktor makanan, kosmetik, dan bahan kimia lain. Penyebab tersumbatnya kelenjar minyak juga dilaporkan oleh Wasitaatmadja, (1997) dikarenakan sebagai berikut:

- a. Terjadinya perubahan dari jumlah dan konsistensi pada kelenjar lemak yang dipengaruhi oleh faktor: hormonal, infeksi bakteri, makanan, penggunaan obat-obatan dan psikososial.
- b. Tertutupnya saluran dari kelenjar sebacea oleh massa eksternal, baik akibat kosmetik, bahan kimia, debu dan polusi.
- c. Penyempitan saluran kelenjar sebacea akibat radiasi sinar ultraviolet, sinar matahari, atau sinar radio aktif.

Faktor di atas masing-masing dapat mempengaruhi terjadinya jerawat secara terpisah, tetapi ketiganya juga dapat saling berinteraksi membentuk jerawat. Faktor lain yang dapat menyebabkan jerawat menjadi bertambah buruk adalah faktor genetik, rasial, kerja berlebih, dan cuaca (Wasitaatmadja, 1997).

2.1.2 Macam-Macam Jerawat

Macam-macam jerawat menurut Wasitaatmadja (1997) berdasarkan tingkatnya terbagi menjadi 3 yaitu:

- a. Jerawat ringan, diantaranya komedo: komedo tertutup dan komedo terbuka. Komedo tertutup merupakan kelainan berupa bintil kecil dengan lubang kecil atau tanpa lubang. Sedangkankomedo terbuka merupakan perkembangan tingkat lanjut dari komedo tertutup, terjadi ketika folikel terbuka di permukaan kulit sehingga sebum, yang mengandung pigmen kulit melanin, teroksidasi dan berubah menjadi coklat atau hitam.
- b. Jerawat sedang, diantaranya *papule*, *pustule* dan *nodule*. *Papule* terjadi ketika dinding folikel rambut rusak atau pecah sehingga sel darah putih keluar dan terjadi inflamasi di lapisan dalam kulit. *Pustule* terjadi beberapa hari kemudian ketika sel darah putih keluar ke permukaan kulit. *Nodule* terjadi saat folikel pecah dibagian dasar dan terjadi benjolan radang yang besar yang sakit bila disentuh.
- c. Jerawat berat, diantaranya *abses* dan *sinus* (akne kongloblata). *Abses* terjadi pada beberapa papul atau pustul mengalami pengelompokan dengan membentuk abses yang berwarna kemerahan, rasa nyeri dan cenderung mengeluarkan bahan berupa campuran darah, nanah dan sebum. Dalam proses penyembuhan kelainan ini meninggalkan pada jaring parut.

2.1.3 Penanggulangan Jerawat

Penanggulangan jerawat meliputi usaha untuk mencegah terjadinya jerawat dan usaha untuk mengobati atau menghilangkan jerawat. Usaha pencegahan dapat dilakukan dengan cara: hidup teratur dan sehat, tetap menjaga kebersihan kulit dari kelebihan minyak, jasad renik, kosmetik, debu, kotoran dan polusi lainnya yang dapat menghambat folikel sebagai pemicu timbulnya jerawat. Usaha pengobatan jerawat menurut Wasitaatmadja, (1997) dapat dilakukan dengan 3 cara:

- a. Pengobatan topikal

Prinsip pengobatan topikal adalah mencegah komedo (jerawat ringan), untuk mengatasi menekan peradangan dan kolonisasi bakteri, serta penyembuhan lesi jerawat. Misalnya pemberian bahan iritan dan antibakteri topikal serta

kortikosteroid topikal seperti; sulfur, resorsinol, asam salisilat, benzoil peroksida, asam azelat, tetrasiklin, eritromisin dan klindamisin.

b. Pengobatan sistemik

Pengobatan sistemik ditujukan untuk penderita jerawat sedang sampai berat, dengan prinsip menekan aktivitas jasad renik, menekan reaksi radang, menekan produksi sebum dan mempengaruhi keseimbangan hormonal. Golongan obat sistemik misalnya: pemberian antibiotik (tetrasiklin, eritromisin dan klindamisin), obat hormonal (etinil estradiol, antiandrogen siproteron asetat), penggunaan retinoid untuk menekan hiperkeratinisasi dan atas dasar serta tujuan berbeda dapat digunakan berupa antiinflamasi nonsteroid, dapson atau seng sulfat.

c. Bedah kulit

Bedah kulit ditujukan untuk memperbaiki jaringan parut yang terjadi akibat jerawat. Tindakan dapat dilaksanakan setelah jerawat sembuh baik dengan cara bedah listrik, bedah kimia, bedah beku, bedah pisau, dermabrasi atau bedah laser.

Secara sederhana, jerawat timbul karena pergantian sel kulit yang disebut keratin. Pergantian sel kulit yang tidak sesuai akan menyebabkan sel-sel menyumbat kelenjar minyak dan pori yang akan menangkap protein dan sebum (minyak alami kulit) di bawah kulit. Protein dan minyak menjadi makanan untuk *P.acnes*, bakteri penyebab jerawat.

2.1.4 Bakteri Penyebab Jerawat

Bakteri berasal dari kata "*bacterion*" (bahasa Yunani) yang berarti tongkat atau batang. Sekarang nama itu dipakai untuk menyebut sekelompok mikroorganisme yang bersel satu, berkembang biak dengan membelah diri, serta demikian kecilnya sehingga hanya tampak dengan mikroskop. Bakteri penyebab jerawat umumnya adalah *Propionibacterium acne*, *S. aureus* dan *S. epidermidis* (Wasitaatmadja, 1997).

a. Bakteri *Propionibacterium acne*

Propionibacterium acne merupakan flora normal pada kulit bersifat anaerob yang dapat menyebabkan jerawat. Pada penelitian ini salah satu bakteri

yang digunakan adalah *Propionibacterium acnes*, organisme utama yang pada umumnya memberi kontribusi terhadap terjadinya jerawat. Adapun sistematika bakteri *Propionibacterium acne* adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Bacteria
 Filum : Actinobacteria
 Suku : Actinomycetales
 Marga : *Propionibacterium*
 Jenis : *Propionibacterium acnes*

Propionibacterium acnes termasuk gram-positif berbentuk batang, tidak berspora, tangkai anaerob ditemukan dalam spesimen-spesimen klinis. *Propionibacterium acnes* tumbuh secara anaerob obligat, dan beberapa strain aerotoleran, tetapi tumbuh baik sebagai anaerob. Bakteri ini merupakan flora normal pada kulit dan dapat menimbulkan inflamasi pada jerawat (Strauss et al., 2007).

b. Bakteri *S. aureus*

Sistematika bakteri *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Bacteria
 Divisi : Eukariota
 Suku : Micrococcaceae
 Marga : *Staphylococcus*
 Jenis : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif, aerob atau anaerob fakultatif berbentuk bola atau kokus berkelompok tidak teratur, seperti anggur, diameter 1 – 1,3 µm. Bakteri ini tidak membentuk spora dan tidak bergerak, koloni berwarna kuning bakteri ini tumbuh cepat pada suhu 35-37°C dengan pH optimal 7,0-7,5. Koloni pada pembenihan padat berbentuk bulat halus, menonjol, berkilau. Bakteri ini terdapat pada kulit, selaput lender, bisul dan luka. Dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan.

c. Bakteri *S. epidermidis*

Sistematika bakteri *Staphylococcus epidermidis* adalah:

Kerajaan	: Bacteria
Divisi	: Eukariota
Suku	: Micrococcaceae
Marga	: Staphylococcus
Jenis	: <i>Staphylococcus epidermidis</i>

Staphylococcus epidermidis merupakan bakteri gram positif, aerob atau anaerob fakultatif berbentuk bola atau kokus berkelompok tidak teratur, diameter 0,8 - 1,0 μm tidak membentuk spora dan tidak bergerak, koloni berwarna putih bakteri ini tumbuh cepat pada suhu 37°C. Koloni pada pembenihan padat berbentuk bulat halus, menonjol, berkilau, tidak menghasilkan pigmen, berwarna putih porselen sehingga *Staphylococcus epidermidis* disebut *Staphylococcus albus*, koagulasi-negatif dan tidak meragi manitol. *Staphylococcus epidermidis* terdapat pada flora normal kulit, saluran pernafasan dan saluran pencernaan. Dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan (Simatupang, 2013).

2.2 Kencur

Rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L) sebagai salah satu tanaman obat dari familia Zingiberaceae.

2.2.1 Taksonomi Kencur dan Sinonim



(Sumber: google image)

Gambar 2.1. Daun, Bunga dan Rimpang Kencur

Taksonomi dari kencur (*Kaempferia galanga* L.) adalah :

Kerajaan	: Plantae (Tumbuhan)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Liliopsida (berkeping satu / monokotil)
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae (suku jahe-jahean)
Marga	: <i>Kaempferia</i>
Jenis	: <i>Kaempferia galanga</i> L.

Di Indonesia kencur di kenal dengan nama yang berbeda diantaranya : Sumatera : ceuku (Aceh), tekur (Gayo), kaciwer (Karo), cakue (Minangkabau) Cokur (lampung). Jawa : kencur (jawa), cikur (Sunda), kencor (Madura). Sulawesi : batako (Manado), watan (Minahasa), (Gorontalo), cakuru (Makasar), ceku (Bugis). Nusa Tenggara: cekuh (Bali), cekur (Sasak), cekir (Sumba), sokus (Roti) Sukung (Timor). Maluku : suha (Seram), assuli (Ambon), onegai (Buru) dan Irian : ukap (Irian) (Tilaar., 2010).

2.2.2 Diskripsi Tanaman

Kencur (*Kaempferia galanga* L) merupakan tanaman terna kecil di iklim tropis yang banyak tumbuh diberbagai daerah di Indonesia sebagai tanaman yang dipelihara. Tanaman ini banyak digunakan sebagai ramuan obat tradisional dan sebagai bumbu dalam masakan sehingga para petani banyak yang membudidayakan tanaman kencur sebagai hasil pertanian yang diperdagangkan dalam jumlah yang besar. Bagian dari tanaman kencur yang diperdagangkan adalah akar yang tinggal di dalam tanah yang disebut dengan rimpang kencur atau rizoma.

Daun kencur berbentuk bulat lebar tidak lebih dari 2-3 lembar, tumbuh mendatar diatas permukaan tanah. Permukaan daun sebelah atas berwarna hijau sedangkan sebelah bawah berwarna hijau pucat. Panjang daun berukuran 10 – 12 cm dengan lebar 8 – 10 cm mempunyai sirip daun yang tipis dari pangkal daun tanpa tulang tulang induk daun yang nyata. Rimpang kencur terdapat didalam tanah bergerombol dan bercabang cabang dengan induk rimpang ditengah. Kulit

ari berwarna coklat dan bagian dalam putih berair dengan aroma yang spesifik (Tilaar, 2010). Rimpang yang masih muda berwarna putih kekuningan dengan kandungan air yang lebih banyak dan rimpang yang lebih tua ditumbuhi akar pada ruas ruas rimpang berwarna putih kekuningan.

Bunga kencur tersusun setengah duduk, mahkota bunga berjumlah 4-12 buah dan berwarna lembayung (Tilaar., 2010). Tangkai bunga berdaun kecil sepanjang 2 – 3 cm, tidak bercabang, dapat tumbuh lebih dari satu tangkai, panjang tangkai 5 – 7 cm berbentuk bulat dan beruas ruas. Putik menonjol keatas berukuran 1 – 1,5 cm, tangkai sari berbentuk corong pendek.

2.2.3 Kandungan Kimia

Kandungan kimia dari ekstrak rimpang kencur adalah steroid dan triterpenoid, flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, karbohidrat, resin, dan protein (Rajendra et al., 2011). Senyawa kimia yang terkandung dalam rimpang kencur antara lain: etil sinamat, 1,8 sineol, delta 3 karen, (+) alfa pinen, (-) alfa pinen, kamfen, borneol, simen, alfa terpineol, alfa gurjunen, germakren, kadinen, beta kariopillen, etil p-metoksi sinamat, kaempferol, kaempferida, sinamaldehyd (Umar et al., 2011).

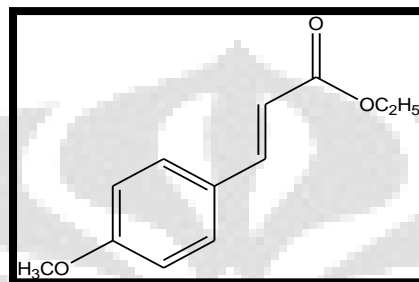
Tanaman kencur mempunyai kandungan minyak atsiri 2,4% v/b dan senyawa etil p-metoksi sinamat tidak kurang dari 1,80% (DepKes., 2008). Etil p-metoksisinamat pada kencur merupakan komponen utama dari kencur yang mudah diisolasi dan dimurnikan (Golib., 2009).

2.3 Etil P-Metoksi Sinamat

Senyawa etil p-metoksi sinamat dalam simplisia rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L) memiliki kadar tidak kurang dari 1,80%, dan kadar etil p-metoksi sinamat dalam ekstrak tidak kurang dari 4,30% (DepKes., 2008).

Nama IUPAC dari etil p-metoksi sinamat (EPMS) adalah etil 3-(4-metoksifenil) akrilat. Berat molekul dari EPMS adalah 206,24 dengan rumus molekul $C_{12}H_{14}O_3$. Titik leleh EPMS menurut Setyawan dkk., (2012) bekisar antara 48-50°C. Penyimpanan yang baik untuk senyawa EPMS pada suhu 2-8°C, terlindung dari udara dan cahaya serta disimpan pada pendingin.

Senyawa EPMS termasuk senyawa ester yang mengandung cincin benzen dan gugus metoksi yang bersifat nonpolar dan gugus karbonil yang mengikat etil bersifat polar. EPMS dapat ditemukan dalam pelarut heksan, dan metanol (Umar et al., 2011). Dari hasil penelitian Taufikurohmah, Rusmini dan Nurhayati (2008), Isolasi kristal EPMS dengan pelarut heksan menghasilkan persentase sebesar 2,111%, etanol 1,434% dan etil asetat 0,542%.



(Sumber Barus., 2009)

Gambar 2.2 Etil-p-metoksi Sinamat (telah diolah kembali)

Kandungan EPMS yang ada dalam rimpang kencur, adalah salah satu senyawa turunan asam sinamat (Nugraha, Siadi & Sudarmin., 2012). Senyawa EPMS berbentuk kristal putih dan seperti jarum (Siswanto, Rahayu & Utami., 2010).

2.3.1 Efek Farmakologi

Kencur secara empiris dapat mengobati radang lambung, radang telinga, influenza, masuk angin, sakit kepala, batuk, diare, dan memperlancar haid (Tilaar, 2010). Berdasarkan penelitian kencur merupakan tanaman yang mempunyai kandungan kimia etil p-metoksi sinamat (EPMS), salah satu senyawa turunan sinamat yang dapat berfungsi sebagai antibakteri, anestetik, antiinflamasi, antispasmodik, antimutagenik, fungisida, herbsida, serta penghambat enzim tirosinase (Rudyanto dan Hartanti., 2008).

2.3.2 Efek Antimikroba

Rimpang kencur dengan kandungan EPMS memiliki aktivitas antiinflamasi (Hasanah et al., 2011) dan efektivitas antibakteri penyebab plak gigi (Hertiani et al., 2010).

Senyawa EPMS ekstrak kencur memiliki kemampuan menghambat terhadap *S. aureus*, *S. pyogenes*, *C. albicans*, *E.coli*, *K. pneumonia*, *S. typhi*, *S. marcescens*, *V. cholera*, *V. parahaemolyticus*, *E. faecalis*, dan *P. aeruginosa* dengan nilai MIC secara berturut 0,81; 3,25; 25; >6,5; >6,5; >6,5; >6,5; >6,5; 1,625; dan >6,5 µg/ mL (Mekseepralard et al., 2010, Umar et al., 2011)

Pada penelitian Kochuthressia et al., (2012) ekstrak kencur dengan pelarut etanol, metanol, petroleum eter, kloroform dan air memiliki kemampuan antibakteri dan antifungi yang diujikan pada *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae* dan jamur *Aspergillus niger*, *A . flavus*, *A.fumigatus*, *Candida albicans*.

Efek antimikroba lain dari ekstrak etanol kencur diantaranya memiliki aktifitas anti jamur yang telah diuji secara *in vitro* pada Jamur *Trichophyton verrucosum*, yang menyebabkan penyakit *ringworm* pada hewan (Gholib., 2011).

2.4 Uji In Vitro Antibakteri

Aktivitas antibakteri diukur secara *in vitro* untuk menentukan potensi zat antibakteri dalam larutan, konsentrasi dalam cairan tubuh dan jaringan, dan kepekaan mikroorganisme terhadap obat pada konsentrasi tertentu. Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri secara *in vitro* harus diperhatikan, karena secara nyata mempengaruhi hasil-hasil tes yaitu, pH lingkungan, komponen-komponen pembenihan, stabilitas obat, besarnya inokulum, masa inkubasi, dan aktivitas metabolik mikroorganisme.

Aktivitas antibakteri dapat ditunjukkan pada kondisi yang sesuai dengan efek daya hambatnya terhadap bakteri. Ada dua metode umum yang dapat digunakan yaitu penetapan dengan lempeng silinder atau "lempeng" dan penetapan dengan cara "tabung" atau turbidimetri.

Metode lempeng pengukuran berdasarkan metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi diantaranya *disk diffusion*, *E-test*, *ditch-plate technique*, *cup plate technique*. Sedangkan pada metode dilusi terdiri dari dilusi cair dan padat.

2.4.1 Metode Difusi

Metode difusi diantaranya :

a. *Disk diffusion*

Kertas cakram yang berisi bahan antimikroba diletakkan pada agar yang telah ditanami mikroba. Kemudian biarkan bahan antimikroba tersebut berdifusi pada media agar tersebut. Zona jernih yang terbentuk merupakan bukti bahwa bahan antimikroba bekerja menghambat pertumbuhan mikroba (Pratiwi ST., 2008).

b. *E-test*

Metode ini untuk menentukan konsentrasi minimum dari bahan antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Strip plastik ditempel pada media agar sebagai bahan antimikroba. Zona jernih yang terbentuk menunjukkan antimikroba bekerja menghambat mikroba (Pratiwi ST., 2008).

c. *Ditch-plate technique*

Antibakteri yang diletakkan pada media agar dibuat parit-parit dengan cara memotong agar dan bakteri secara membujur maksimal 6. Kemudian digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba tersebut (Pratiwi ST., 2008).

d. *Cup plate technique*

Metode ini serupa dengan *disk diffusion*, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba (Pratiwi ST., 2008).

2.4.2 Metode Dilusi

Metode dilusi diantaranya:

a. Metode dilusi cair (*serial dilution*)

Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair dengan ditambah mikroba uji. Larutan uji dengan kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba ditetapkan

sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM kemudian dikultur kembali tanpa penambahan mikroba, jika larutan tetap jernih setelah diinkubasi selama 18-24 jam maka ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi ST., 2008).

b. Metode dilusi padat (*solit dilution test*)

Pada metode dilusi padat tidak jauh berbeda pada metode dilusi cair. Hanya saja media yang digunakan padat. Kelebihan metode ini bahan antimikroba yang digunakan dapat dipakai untuk uji bakteri lain (Pratiwi ST., 2008).

2.5 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui secara kualitatif adanya senyawa kimia spesifik seperti alkaloid, steroid, flavonoid, saponin, tanin, antrakuinon (Rajendra et al., 2011).

2.5.1 Uji Alkaloid

Serbuk kencur sebanyak 0,5 g dilarutkan dalam 10 mL kloroform dan beberapa tetes NH_4OH kemudian disaring dalam tabung reaksi tertutup. Ekstrak kloroform dikocok dengan 10 tetes H_2SO_4 2 M, kemudian lapisan asam dipisahkan. Lapisan asam ini diteteskan pada lempeng tetes dan ditambah 3 tetes pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorf sehingga timbul endapan secara berturut-turut berwarna putih, coklat dan merah jingga.

2.5.2 Uji Steroid

Serbuk kencur 0,1 g dilarutkan dengan 25 mL etanol panas pada suhu 50°C , kemudian disaring ke dalam porselin dan diuapkan hingga kering. Residu yang tersisa ditambahkan eter, lalu dipindahkan ke dalam lempeng lalu ditambahkan 3 tetes anhidrida asam asetat dan 1 tetes H_2SO_4 pekat. Warna merah hijau atau violet biru menunjukkan adanya steroid.

2.5.3 Uji Saponin dan Flavonoid

Serbuk kencur sebanyak 1 g, dimasukan ke dalam gelas piala, kemudian ditambahkan 100 mL air panas dan dididihkan selama 5 menit, setelah itu disaring dan filtratnya digunakan untuk pengujian. Uji saponin dilakukan dengan

pengocokan 10 mL filtrat dalam tabung reaksi tertutup selama 10 menit. Adanya saponin ditunjukkan dengan tetap terbentuknya buih setelah penambahan HCl 2 N.

Sebanyak 10 mL filtrat ditambahkan 0,5 g serbuk magnesium, 2 mL alkohol klorhidrat dan 20 mL amil alkohol kemudian dikocok. Terbentuknya warna merah sampai jingga dihasilkan oleh senyawa flavon, warna merah tua dihasilkan oleh flavonol atau flavonon, warna hijau sampai biru dihasilkan oleh aglikon atau glikosida.

2.5.4 Uji Tanin

Serbuk kencur sebanyak 1 g, ditambahkan 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat yang terbentuk ditambah larutan besi (III) klorida, gelatin dan penambahan gelatin serta NaCl 10%. Adanya tanin ditunjukkan jika terjadi warna hitam kehijauan.

2.5.5 Uji Antrakuinon

Serbuk kencur sebanyak 0,1 g dilarutkan dengan 5 mL asam sulfat 2N, dipanaskan sebentar lalu didinginkan. Ditambahkan 10 mL wash benzen P, dikocok dan didiamkan. Lapisan benzen dipisahkan dan disaring. Filtrat berwarna kuning menunjukkan adanya antrakuinon.

2.6 Sediaan Krim

Usaha untuk mengatasi jerawat menurut Wasitaatmadja (1997), dapat dilakukan dengan pengobatan topikal, pengobatan sistemik dan bedah kulit. Pengobatan topikal umumnya digunakan untuk menekan kolonisasi dari bakteri. Penggunaan obat topikal akan lebih aman dari pada penggunaan oral, sehingga pembuatan sediaan topikal anti jerawat umumnya dibuat dalam bentuk sediaan krim.

Krim adalah sediaan setengah padat yang mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi berupa minyak dalam emulsi air atau air dalam minyak. Sedangkan "*vanishing creams*" adalah krim dengan minyak dalam emulsi air yang mengandung persentase terbesar adalah air dan asam stearat. Setelah

pengaplikasian krim pada kulit, air akan menguap dan meninggalkan residu berupa lapisan tipis dari asam stearat (Ansel, Loyd, Nicholas., 1999).

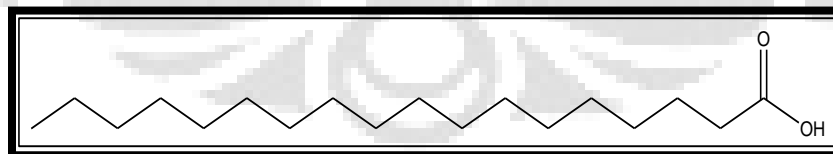
Krim biasanya digunakan sebagai emolien atau pemakaian obat pada kulit. Ada beberapa tipe krim seperti emulsi, air terdispersi dalam minyak (A/M) dan emulsi minyak terdispersi dalam air (M/A). Krim lebih ringan dibandingkan salep. Krim lebih memiliki nilai estetik yang lebih besar karena sifatnya tidak berminyak dan memiliki kemampuan meresap ke dalam kulit dengan penggosokan (Ansel., 1989).

Pembuatan krim diperlukan suatu bahan dasar. Bahan dasar yang digunakan harus memenuhi kriteria-kriteria tertentu. Kualitas dasar krim yang diharapkan adalah sebagai berikut: stabil, baik secara kimia maupun fisika, serta efektif dan aman dipakai (Soeratri, Ifansyah, Fitrianingrum., 2005).

Sediaan krim yang mengandung EPMS dari ekstrak kencur (*Kaempferia galanga* L.) pada penelitian ini dibuat dengan bahan-bahan sebagai berikut:

2.6.1 Asam Stearat

Pada sediaan topikal umumnya asam stearat digunakan sebagai pengemulsi. Asam stearat mudah larut dalam kloroform, eter, karbon tetraklorida, benzene, etanol, heksan, propilen glikol dan tidak larut air. Dalam sediaan topikal asam stearat tidak bersifat iritasi dan toksik (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009).

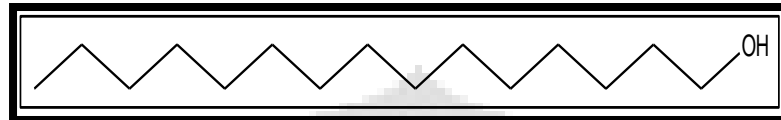


(Sumber: Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009)

Gambar 2.3 Struktur Asam Stearat (telah diolah kembali)

2.6.2 Setil Alkohol

Penggunaan setil alkohol dalam sediaan krim digunakan sebagai pengeras dan pengemulsi. Bahan ini dapat meningkatkan kestabilan dan viskositas dari sediaan krim. Kelarutan setil alkohol akan meningkat jika suhu dinaikkan dan larut dalam etanol 95% serta eter (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009).



(Sumber: Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009)

Gambar 2.4 Struktur Setil Alkohol (telah diolah kembali)

2.6.3 Isopropil Miristat

Isopropil miristat merupakan salah satu bahan emolien digunakan sebagai emolien, yang dapat membuat rasa halus dan nyaman pada kulit ketika dipakai. Isopropil miristat tidak larut dalam gliserin, propilen glikol, dan air. Titik bekunya 3°C dan titik didihnya 140,2°C pada tekanan 2 mmHg. Penggunaan Isopropil miristat dalam sediaan umumnya 1-10% (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009).

2.6.4 Trietanolamin (TEA)

TEA digunakan secara luas pada sediaan topikal sebagai pengemulsi anionik. Bahan ini memiliki titik lebur antara suhu 20-21°C. Bahan ini mudah larut dalam aseton, air dan metanol. Pada sediaan topikal bahan ini umumnya digunakan sebagai pengemulsi berkisar antara 2-4% (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009).

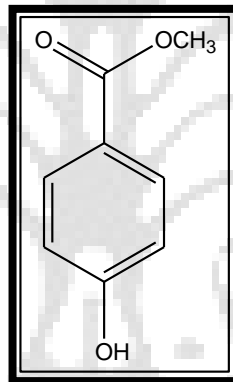
2.6.5 Gliseril Monostearat

Gliseril monostearat merupakan surfaktan nonionik yang dapat digunakan sebagai pengemulsi. Bahan ini juga dapat sebagai emolien, penstabil, pelarut dan *plasticizer* dalam makanan, farmasetik dan kosmetik. Titik leleh bahan ini antara

50-60°C. Kelarutan bahan ini pada etanol panas, eter, klorofom dan aseton panas, tetapi bahan ini tidak larut dalam air. Bahan ini tidak menyebabkan iritasi dan toksik. Umumnya bahan ini digunakan dalam sediaan topikal basis krim sebagai pengemulsi berkisar antara 5-20% (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009).

2.6.6 Metilparaben (Nipagin)

Nipagin adalah pengawet yang umum digunakan untuk sediaan topikal. Pengawet ini dapat digunakan dengan baik digunakan sendiri atau dengan paraben lain. Nipagin bekerja efektif pada pH 4-8, larut dalam etanol 95%, methanol, air panas dan eter. Bahan ini umumnya digunakan dalam sediaan topikal berkisar antara 0,02-0,3% (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009).

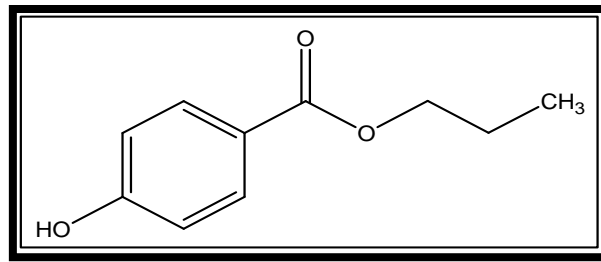


(Sumber: Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009)

Gambar 2.5 Struktur Nipagin (telah diolah kembali)

2.6.7 Propilparaben (Nipasol)

Nipasol atau propil paraben adalah serbuk putih, tidak berbau yang digunakan sebagai pengawet. Konsentrasi yang biasa digunakan secara topikal yaitu sekitar 0,01-0,6% dalam sediaan. Efektifitas propil paraben yaitu pada pH 4-8. Peningkatan pH akan mempengaruhi penurunan aktifitas antimikroba (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009).

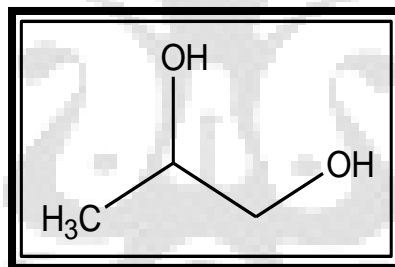


(Sumber: Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009)

Gambar 2.6 Struktur Nipasol (telah diolah kembali)

2.6.8 Propilen Glikol

Bahan ini berbentuk cairan, tidak berbau, tidak berwarna dan rasa agak manis. Propilen glikol dapat digunakan sebagai humektan, dapat bercampur dengan air, etanol 95%, aseton, klorofrom, tetapi tidak dapat bercampur dengan minyak lemak (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009).

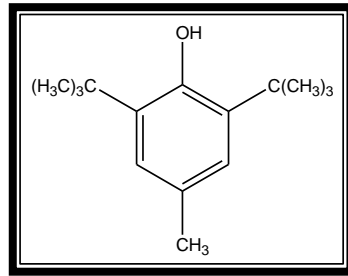


(Sumber: Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009)

Gambar 2.7 Struktur Propilen Glikol (telah diolah kembali)

2.6.9 Butilhidroksitoluen (BHT)

BHT berbentuk serbuk padatan berwarna putih atau kuning pucat. Senyawa ini banyak digunakan sebagai antioksidan, untuk mencegah oksidasi dari fase lemak dan minyak (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009).



(Sumber: Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009)

Gambar 2.8 Struktur Butilhidroksiltoluen (telah diolah kembali)

2.7 Uji Stabilitas Krim

Stabilitas suatu sediaan dapat diartikan sebagai kemampuan produk obat atau kosmetik bertahan dalam batas spesifikasi selama periode penyimpanan dan penggunaan untuk menjamin identitas, kekuatan, kualitas dan kemurnian produk. Dan kosmetik yang stabil adalah suatu sediaan yang masih dalam batas dapat di terima selama priode waktu penyimpanan dan penggunaan, dimana sifat dan karakternya sama dengan saat dibuat (Djajadisastra., 2003).

Untuk memperoleh kestabilan sediaan farmasetik atau kosmetik dalam waktu singkat dapat dilakukan uji stabilitas dipercepat. Pengujian dimaksudkan untuk untuk memperoleh informasi yang diinginkan dlam waktu singkat dengan cara menyimpan sampel pada kondisi yang dirancang mempercepat terjadinya perubahan yang biasanya terjadi pada suhu normal. Jika pengujian diperoleh hasil yang stabil selama 3 bulan, hal ini menunjukkan sediaan tersebut stabil pada penyimpanan suhu kamar selama setahun (Djajadisastra., 2003).

Gejala yang menjadi indikator dari terjadinya kerusakan emulsi adalah proses pada emulsi yang kurang rapat cenderung ke permukaan sehingga terjadi pemisahan dua emulsi (*creaming*), penggabungan globul yang bergantung pada gaya tolak menolak elektostatis (flokulasi), penggumpalan (koalesens), dan peristiwa dimana fase eksternal menjadi fase internal dan sebaliknya (inversi) (Djajadisastra., 2003).

Pengujian yang dilakukan pada uji dipercepat antara lain:

a. *Cycling test*

Uji ini sebagai simulasi adanya perubahan suhu setiap tahun bahkan tiap harinya. Oleh karena itu pada uji ini dilakukan perubahan suhu atau kelembaban pada interval waktu tertentu, sehingga produk dalam kemasan akan mengalami stress bervariasi dari pada stress statis. *Cycling test* dilakukan pada krim disimpan pada suhu $4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam, kemudian dipindahkan ke oven bersuhu $40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam (satu siklus). Uji dilakukan sebanyak 6 siklus, kemudian diamati adanya pemisahan fase (Djajadisastra., 2003).

b. Uji mekanik

Uji mekanik bertujuan untuk mengetahui adanya pemisahan fase dari emulsi. Sampel disentrifugasi pada kecepatan 3750 rpm selama 5 jam atau 5000-10.000 rpm selama 30 menit (Lieberman, Rieger & Banker., 1988). Hal ini dilakukan karena perlakuan tersebut sama dengan besarnya pengaruh gaya gravitasi terhadap penyimpanan krim selama setahun. Proses sentrifugasi pada kecepatan tinggi biasanya cenderung dapat mengubah bentuk globul fase internal yang terdispersi dan memicu terjadinya koalesens.

c. *Elevanted temperature*

Setiap kenaikan suhu 10°C akan mempercepat reaksi 2 sampai 3 kalinya, namun cara ini agak terbatas karena suhu yang jauh diatas normal kenyataannya akan menyebabkan perubahan yang tidak pernah terjadi pada suhu normal (Djajadisastra., 2003).

Parameter-parameter yang digunakan dalam uji kestabilan fisik diantaranya:

a. Organoleptik

Tujuan pemeriksaan ini adalah mengamati adanya perubahan atau pemisahan emulsi, timbulnya bau atau tidak dan perubahan warna (Djajadisastra., 2003).

b. Sifat alir (Viskositas)

Secara umum kenaikan viskositas dapat meningkatkan kestabilan sediaan, namun kenaikan viskositas yang terlalu tinggi menyebabkan krim sulit untuk diaplikasikan (Martin, Swarbrick and Cammarata., 1993).

c. Ukuran partikel

Perubahan ukuran partikel rata-rata atau distribusi ukuran globul merupakan tolak ukur untuk mengevaluasi emulsi. Dimana emulsi keruh diameter globul berukuran antara 10-50 μm (Martin, Swarbrick and Cammarata., 1993). Ukuran partikel merupakan indikator terjadinya *creaming* atau *breaking*.

d. Pemeriksaan pH

Kisaran pH krim sebaiknya sesuai dengan pH kulit yaitu 4,5-6,5. Krim dengan pH yang terlalu basa maka dapat menyebabkan kulit menjadi bersisik, sedangkan pH yang terlalu asam dapat menyebabkan iritasi kulit. Produk kosmetik sebaiknya memiliki pH 5,5 (Wasitaatmadja.,1997).

2.8 Uji Patch Test

Uji *patch test* merupakan uji keamanan yang dilakukan untuk menguji bahan baku atau produk kosmetik, misalnya: potensi iritasi pada kulit atau mata, fototoksisitasnya pada kulit, komedogenitasnya. Uji ini juga dapat digunakan untuk mengantisipasi seluruh kemungkinan efek samping dan efek toksik yang mungkin terjadi. Cara pelaksanaan *patch test* adalah sebagai berikut (Sulakmono M., 2010) :

- a. Bahan yang akan diujikan ditempelkan pada kulit normal, kemudian ditutup.
- b. Uji dapat dilakukan selama 2 hari (minimal 24 jam).
- c. Kemudian bahan yang diujikan dilepas dari kulit, pada tempat penempelan diamati perubahan atau kelainan yang terjadi pada kulit berupa eritema, papul, oedema atau fesikel, dan bahkan kadang-kadang bisa terjadi nekrosis.

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni 2013-April 2014, dengan beberapa tahap meliputi: studi literatur, persiapan simplisia, pembuatan ekstrak, pemurnian kristal EPMS, uji karakteristik EPMS, uji fitokimia, uji stabilitas fisik, dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Indonesia. Uji mikrobiologi di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Yarsi, dan uji alergi iritasi (*patch test*) di Lembaga Bimbingan Belajar Depok, Jawa Barat.

3.2 Bahan Penelitian

Bahan penelitian terdiri dari rimpang kencur, yang diperoleh dari kebun tanaman obat, Bogor dan dideterminasi di *Herbarium Bogoriense* LIPI Bogor. Heksan digunakan sebagai pelarut dalam proses maserasi dan uji fitokimia menggunakan bahan FeCl₃, HCl 2N, kloroform, NH₄OH, H₂SO₄, pereaksi Dragendrof, Buchardat, alkohol klorhidrat, amil alkohol, serbuk magnesium, anhidrat asam asetat.

Bakteri penyebab jerawat yang digunakan dalam penelitian adalah bakteri *P. acnes*, *S. epidermidis* dan *S. aureus* ATCC 33862 diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Universitas Jenderal Soedirman. Media pembiakan bakteri yang digunakan Media Agar darah *Brucella*, *Nutrien Broth* (NB), *Brain Heart Infusion* (BHI) dan Agar *Mueller-Hinto*. Antibakteri pembanding yang digunakan adalah cakram klindamisin (Oxoid). Pelarut kristal EPMS yang digunakan pada uji bakteri yaitu DMSO 30% dan aquades.

Bahan pembuat krim yang digunakan yaitu: aquades, asam stearat, setil alkohol, isopropil miristat, gliseril monostearat, propilparaben, metilparaben, TEA, BHT, propilen glikol.

3.3 Alat Penelitian

Alat yang digunakan diantaranya: pisau, blender (Cosmos), serbet kain, erlemeyer, labu ukur, pipet tetes, mikropipet, vial, pot plastik, oven, pH meter, sudip, aluminium foil, bunsen, perangkat alat ekstraksi, penguap vakum berputar (IKA), penetrometer (HERZ009), viscometer (Brookfield RV), kertas cakram, generating kit (Oxoid), *shaker*, timbangan analitik (Adam AFA 210LC), anaerobjar (Merck), otoklaf (Hiramaya, Japan), inkubator 37°C (Memmert), pipa kapiler, lempeng KLT G₆₀F₂₅₄, *chamber*, *Differential Scanning Calorimetry* (DSC-60Shimadzu), spektrofotometer IR (Shimadzu), *particle size analysis* (PSA), lemari pendingin, homogenizer (Omni-Multimix Inc., Malaysia), penangas air, timbangan, sentrifugator (Kubota 5100, Jepang), ose, alat-alat gelas, kamera digital, mortar, mistar (Oxoid).

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Determinasi dan Penyiapan Simplisia Rimpang Kencur

Rimpang kencur (umur 10-12 bulan) diperoleh dari kebun tanaman obat, Bogor dideterminasi di *Herbarium Bogoriense* LIPI Bogor. Kemudian rimpang kencur dicuci, dikering anginkan sampai kulit tidak basah. Kemudian dihilangkan kulit arinya, diiris dengan irisan melintang ketebalan 2-5 mm, dikeringkan selama 4 hari dan diserbuk serta diayak dengan ayakan no. 40 (Siswanto, Rahayu, & Utami., 2010).

3.4.2 Ekstraksi Rimpang Kencur

Ekstrak rimpang kencur diperoleh dari hasil metode maserasi dengan pelarut heksan. Pada penelitian ini 2000 g serbuk rimpang kencur kering dimaserasi dengan 2500 mL pelarut heksan. Proses remaserasi dilakukan sebanyak 6 kali. Kemudian maserat yang terkumpul disaring dengan kertas saring dan dievaporasi pada suhu 48°C. Hasil evaporasi kemudian didiamkan pada suhu ruang, di dalam vial-vial hingga terbentuk kristal yang masih berwarna kekuningan dan pelarutnya habis menguap.

3.4.3 Pemurnian Kristal

Kristal yang berwarna kekuningan, kemudian direkristalisasi dengan sedikit heksan sebanyak 4 kali. Filtrat kemudian didiamkan pada suhu kamar hingga pelarutnya habis menguap. Proses rekristalisasi dilakukan hingga kristal yang diperoleh murni.

3.4.4 Karakterisasi EPMS

Uji karakterisasi kristal EPMS dilakukan melalui beberapa tahapan antara lain: kromatografi lapis tipis (KLT) dengan tujuan untuk memisahkan senyawa yang terkandung dalam ekstrak dan dibandingkan antara senyawa EPMS sampel dengan EPMS standar berdasarkan kesamaan harga retensi (R_f), uji titik leleh dan kemurnian dengan alat *Differential Scanning Calorimetry* (DSC) untuk dibandingkan antara EPMS sampel dengan titik leleh EPMS standar, dan analisis struktur digunakan spektrofotometer IR untuk dibandingkan antara EPMS sampel dengan struktur EPMS standar.

a. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Penentuan senyawa yang terkandung, secara kualitatif digunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Ekstrak heksan, kristal EPMS sampel yang diperoleh dari ekstrak heksan, dan EPMS standar dilarutkan dalam pelarut heksan. Kemudian ekstrak heksan, EPMS sampel dan EPMS standar ditotol pada lempeng KLT G₆₀F₂₅₄ menggunakan pipa kapiler, dengan perbandingan eluen heksan dan etil asetat yaitu 8:2. Selanjutnya dianalisis secara visual, di bawah lampu UV λ 254 nm dan setelah disemprot dengan H₂SO₄ 10% secara visual.

b. Uji analisis struktur dengan spektrofotometer IR

Analisis struktur dengan spektrofotometer IR digunakan untuk membandingkan kesamaan antara struktur yang didapat dari EPMS sampel dan EPMS standar literatur. Kesamaan struktur dari kedua senyawa menunjukkan bahwa senyawa tersebut adalah senyawa yang sama.

c. Uji titik leleh dengan DSC

Uji titik leleh dengan DSC dilakukan untuk memperkuat dugaan bahwa kristal tersebut adalah senyawa EPMS. Nilai titik leleh yang diperoleh dari alat DSC kemudian dibandingkan dengan titik leleh kristal EPMS standar dari

literatur. Titik leleh EPMS berkisar antara 48-50°C (Setyawan et al., 2012). Nilai titik leleh yang sama antara EPMS sampel dan EPMS standar literatur menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut adalah senyawa yang sama.

3.4.5 Karakterisasi Ekstrak

Karakterisasi ekstrak dapat ditentukan melalui penetapan kadar air, kadar abu, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut dalam air dan kadar sari larut dalam alkohol.

a. Penetapan kadar air

Serbuk kencur ditimbang sebanyak 10 g dan wadah yang telah ditara. Kemudian dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam, dan ditimbang. Dilanjuttkan dengan pengeringan dan penimbangan pada jarak 1 jam sampai jarak antara hasil penimbangan 1 dan 2 secara berturut tidak lebih dari 0,25%.

b. Penetapan kadar abu

Serbuk kencur ditimbang sebanyak 2 g, yang telah dihaluskan dan dimasukkan ke dalam cawan porselen yang telah dipijar dan ditara, dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, dinginkan dan ditimbang. Jika dengan cara ini arang tidak dapat dihilangkan, ditambahkan air panas, diaduk, disaring melalui kertas saring bebas abu. Dipijarkan sisa penyaringan dalam cawan porselen yang sama. Dimasukkan filtrat ke dalam cawan porselen, diuapkan dan dipijarkan hingga bobot tetap. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b (DepKes., 2008).

c. Penetapan kadar abu tak larut asam

Abu yang diperoleh dari penetapan kadar abu total dididihkan dengan 25 mL asam klorida encer selama 5 menit. Dikumpulkan bagian yang tidak larut dalam asam, disaring dengan kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas, dipijarkan hingga bobot tetap. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b (DepKes., 2008).

d. Kadar sari larut dalam air

Serbuk kencur ditimbang sebanyak 5 g yang telah dikeringkan di udara. Dimasukkan ke dalam labu bersumbat, ditambahkan 100 mL air jenuh kloroform, dikocok berkali-kali selama 6 jam pertama, dibiarkan selama 18 jam. Disaring,

diuapkan 20 mL filtrat hingga kering dalam cawan yang telah dipanaskan 105°C dan ditara, dipanaskan sisa pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Dihitung kadar dalam % sari larut air (DepKes., 2008).

e. Kadar sari larut dalam alkohol

Serbuk yang telah dikeringkan di udara diimbang sebanyak 5 g. Dimasukkan ke dalam labu bersumbat, ditambahkan 100 mL etanol 95%, dikocok berkali-kali hingga 6 jam pertama, dibiarkan selama 18 jam. Disaring cepat untuk menghindari penguapan etanol, diuapkan 20 mL filtrat hingga kering dalam cawan yang telah dipanaskan 105°C dan ditara, dipanaskan sisa pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Hitung kadar dalam % sari larut etanol (DepKes., 2008).

3.4.6 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk menguji secara kualitatif adanya senyawa kimia spesifik seperti alkaloid, steroid, flavonoid, antrakuinon, saponin, tannin (Rajendra et al., 2011).

a. Uji alkaloid

Serbuk kencur sebanyak 100mg, dilarutkan dalam 0,5 mL HCl 2N dan 4,5 mL air suling kemudian dipanaskan selama 2 menit pada suhu 70°C. Lalu, disaring dan 1 mL filtrat digunakan sebagai bahan percobaan yang selanjutnya direaksikan dengan 3 tetes pereaksi Dragendorf dan Buchardat sehingga timbul endapanjingga coklat. Uji alkaloid juga dilakukan pada ekstrak heksan rimpang kencur.

b. Uji steroid

Serbuk kencur 100 mg dilarutkan dalam eter, lalu diuapkan dalam cawan penguap, kedalam residu ditambahkan asam asetat anhidrat. Kemudian 1 tetes asam sulfat pekat akan terbentuk warna merah hijau atau violet biru. Uji steroid juga dilakukan pada ekstrak heksan rimpang kencur.

c. Uji saponin

Serbuk kencur sebanyak 0,1 g dimasukan ke dalam gelas piala, kemudian ditambahkan 10 mL air panas dan dididihkan selama 5 menit, setelah itu disaring dan filtratnya digunakan untuk pengujian. Uji saponin dilakukan dengan pengocokan 5 mL filtrat dalam tabung reaksi tertutup selama 10 menit. Adanya

saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih. Dan buih tidak hilang dengan penambahan HCl 2 N. Uji saponin dilakukan juga pada ekstrak heksan rimpang kencur.

d. Uji flavonoid

Serbuk kencur sebanyak 0,1 g dimasukkan ke dalam gelas piala, kemudian ditambahkan 10 mL air panas dan dididihkan selama 5 menit, setelah itu disaring dan filtratnya digunakan untuk pengujian. Sebanyak 2 mL filtrat ditambahkan 0,2 g serbuk magnesium dan 3 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna merah sampai jingga dihasilkan oleh senyawa flavon, warna merah tua dihasilkan oleh flavonol atau flavonon, warna hijau sampai biru dihasilkan oleh aglikon atau glikosida.

e. Uji tanin

Serbuk kencur sebanyak 0,1 g ditambahkan 10 mL air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat yang terbentuk ditambah larutan besi (III) klorida, adanya tanin ditunjukkan jika terjadi warna hitam kehijauan. Dengan penambahan NaCl 10% dan gelatin terbentuk gumpalan. Uji tanin juga dilakukan pada ekstrak heksan rimpang kencur.

f. Uji antrakuinon

Serbuk kencur sebanyak 0,1 g dilarutkan dengan 5 mL asam sulfat 2N, dipanaskan sebentar lalu didinginkan. Ditambahkan 10 mL wash benzen P, dikocok dan didiamkan. Lapisan benzen dipisahkan dan disaring. Filtrat berwarna kuning menunjukkan adanya antrakuinon.

3.4.7 Sterilisasi Alat

Semua alat yang digunakan dalam uji bakteri seperti: cawan petri, kertas cakram, erlenmeyer, tabung reaksi dan alat gelas lainnya disterilisasi terlebih dahulu pada suhu 180°C dalam oven selama 2 jam, setelah dicuci, dikeringkan dan dibungkus kertas.

3.4.8 Pembuatan Media Agar

a. Pembuatan media agar darah *Brucella*

Bubuk agar Brucella sebanyak 43g dilarutkan dalam 1 L aquades dan dipanaskan hingga larut. Kemudian disterilkan dalam autoklaf 121°C. Setelah steril didinginkan hingga suhu menjadi 40-50°C, lalu ditambahkan darah domba 5%, kemudian setelah homogen tuang ke dalam cawan petri dan didiamkan hingga memadat.

b. Pembuatan media *Muller Hinton* (MHA)

Bubuk agar MHA sebanyak 38 g dalam 1 L aquades, dipanaskan hingga larut. Kemudian ditutup dengan sumbat dan disterilkan dalam autoklaf 121°C. Setelah suhu 40-50°C, dituang ke dalam cawan petri dan didiamkan hingga memadat.

c. Pembuatan media *Nutrien Broth* (NB)

Ditimbang 13 g NB kemudian larutkan dalam 1 L aquades dan dipanaskan hingga tercampur. Kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C .

d. Pembuatan media *Brain Heart Infusion* (BHI)

Ditimbang 37 g BHI dalam 1 L aquades, kemudian dipanaskan hingga larut. Lalu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C.

3.4.9 Penapisan Bakteri

Larutan karbol kristal ungu 0,5 % (UKK) dituang pada gelas objek yang berisi preparat bakteri, setelah 5 menit didiamkan, preparat dicuci dengan aquades. Kemudian, cairan lugol dituangkan ke dalam preparat selama 45-60 detik lalu dicuci dengan air. Selanjutnya preparat dicelupkan ke dalam bejana yang berisi alkohol 96 % dan digoyang-goyangkan selama 30 detik atau sampai warna bersih lalu preparat dicuci dengan air. Kemudian, air fukhsin dituangkan ke dalam preparat dan dibiarkan selama 1-2 menit, lalu dicuci dengan air dan dikeringkan, lalu diamati dengan mikroskop.

3.4.10 Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan pada bakteri yang akan diuji aktivitasnya. Pada bakteri *S.epidermidis* dan *S.aureus* yang berumur 18-24 jam. Sedangkan pada *P. acne*, umur bakteri yang digunakan antara 24-48 jam. Peremajaan bakteri *S.epidermidis* dan *S.aureus* dilakukan pada media MHA dan *P. acne* dilakukan

pada media *Brucella* agar darah dengan cara menggores bakteri pada media agar dengan ose. Inkubasi dilakukan dalam kondisi aerob untuk *S.epidermidis* dan *S.aureus*. Sedangkan anaerob (anaerobjer) pada suhu 37°C untuk bakteri *P.acne*.

3.4.11 Pembuatan Suspensi Bakteri

Bakteri *P. acnes* yang digunakan adalah bakteri yang berumur 48 jam dan untuk bakteri *S. epidermidis* dan *S. aureus* berumur 24 jam. Bakteri diambil menggunakan jarum ose, kemudian disuspensikan dengan larutan NaCl 0,9%. Kekeruhan diukur menggunakan standar 0,5 Mc Farland dari oxoid ($1,5 \times 10^8$ sel bakteri/ ml).

3.4.12 Penentuan Aktivitas Antibakteri

Uji *in vitro* pada penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan penentuan aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi disk. Pada metode difusi disk nilai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. acnes*, *S. epidermidis* dan *S. aureus* ditentukan dengan mengamati zona bening disekitar kertas cakram. Kertas cakram yang digunakan berdiameter 6 mm.

Media yang digunakan untuk pembiakan bakteri *P. acnes* adalah *Brucella* agar darah dan media *Muller Hinton* digunakan untuk tumbuh bakteri *S. epidermidis* dan *S. aureus*. Kedua media dalam bentuk cair, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril ukuran 20 mL dan didinginkan hingga padat. Konsentrasi EPMS dari ekstrak kencur yang digunakan pada penelitian ini adalah 0,3; 0,6; 1,2 dan 2,4%. Cakram klindamisin (oxoid) digunakan sebagai kontrol positif dan aquades dengan 30% DMSO sebagai kontrol negatif.

Kertas cakram yang sudah disterilkan kemudian ditetesi larutan EPMS dari ekstrak kencur masing-masing dengan konsentrasi sesuai perlakuan sebanyak 20 μ L, dan didiamkan hingga pelarutnya menguap. Pelarutan kristal EPMS dilakukan dengan menambahkan aquades dan 30% DMSO. Untuk larutan kontrol positif menggunakan cakram klindamisin dan kontrol negatif ditetesi pelarut aquades dan 30% DMSO. Kemudian setelah pelarut masing-masing menguap, kertas cakram diletakkan diatas permukaan agar dan diinkubasi dalam keadaan posisi terbalik selama 48 jam pada suhu 37°C untuk *P. acnes* dengan kondisi anaerob (dalam anaerobjar). Sedangkan pada bakteri *S. epidermidis* dan *S. aureus*

selama 24 jam pada suhu 37°C dengan kondisi aerob. Aktivitas antibakteri diperhitungkan berdasarkan zona bening yang terbentuk dan tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri.

3.4.13 Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Penentuan KHM dilakukan dengan menggunakan metode dilusi cair. Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri *S. epidermidis* dan *S. aureus* adalah media *Nutrien Broth*, dan *Brain Heart Infusion* digunakan untuk pertumbuhan bakteri *P.acne*. Pada pengujian digunakan 3 kontrol negatif diantaranya; kontrol media (2 mL), kontrol bakteri (2 mL media + 10 µL bakteri) dan kontrol pelarut (1 mL media + 1 mL pelarut EPMS + 10 µL bakteri). Konsentrasi EPMS yang digunakan pada metode dilusi cair sama dengan metode difusi cakram yaitu : 0,3; 0,6; 1,2; dan 2,4%. Pada perlakuan, masing-masing tabung berisi konsentrasi EPMS yang telah dilarutkan sebanyak 0,5 mL + 1,5mL media + 10 µL bakteri.

Setelah diinkubasi 24 jam untuk bakteri *S. epidermidis* dan *S. aureus* serta 48 jam untuk bakteri *P.acne*, kemudian diamati tingkat kekeruhan dari tabung. Kekeruhan larutan uji dengan berbagai konsentrasi, kemudian dibandingkan dengan kekeruhan pada kontrol (bakteri dan pelarut). Jika konsentrasi larutan uji dengan kadar terendah terlihat lebih jernih dibandingkan dengan kontrol (bakteri dan pelarut) ditetapkan sebagai nilai KHM.

3.4.14 Formulasi dan Pembuatan Krim

Krim dibuat setelah uji bakteri penyebab jerawat secara *in vitro* dan sebelum dilakukan uji alergi dan iritasi. Pada penelitian ini akan dibuat 2 macam krim yang terdiri krim yang mengandung EPMS dan krim basis. Krim yang dibuat adalah tipe krim minyak dalam air dengan fase minyak meliputi: asam stearat, setil alkohol, propilparaben, gliseril monostearat, isopropil miristat dan BHT. Fase air dalam krim ini meliputi propilen glikol, metilparaben dan TEA. Formulasi krim berdasarkan perhitungan *Hidrophilic Lipophilic Balance* (HLB) dan cara pembuatan sebagai berikut:

a. Perhitungan HLB Krim Uji dan Kontrol

Fase minyak yang digunakan:

Asam stearat	(HLB 15,0)	=	5%	
Setil alkohol	(HLB 15,0)	=	3%	
Isopropil miristat	(HLB 11,5)	=	3%	+
			<u>11%</u>	

Konsentrasi fase minyak yang dibutuhkan:

Asam stearat	=	$5/11 \times 100\%$	=	45,45%
Setil alkohol	=	$3/11 \times 100\%$	=	27,27%
Isopropil miristat	=	$3/11 \times 100\%$	=	27,27%

HLB butuh fase minyak:

Asam stearat	=	$45,45\% \times 15,0$	=	6,82
Setil alkohol	=	$27,27\% \times 15,0$	=	4,10
Isopropil miristat	=	$27,27\% \times 11,5$	=	3,14
			<u>+</u>	14,06

Jumlah emulgator yang dibutuhkan:

TEA	HLB = 12		10,20
		14,06	
Gliseril monostearat	HLB = 3,86		2,06
			<u>+</u>
			12,26

Jumlah TEA yang digunakan = $2,06 / 12,26 \times 2,5\% = 0,42\%$

Jumlah Gliseril monostearat = $10,20 / 12,26 \times 2,5\% = 2,08\%$

Komposisi krim yang digunakan terdiri dari:

Tabel 3.1 Formula Krim Ekstrak Kencur

Bahan	Jumlah (%)		Fungsi
	X	P1 (Basis)	
EPMS	1,2	-	Senyawa antibakteri
Asam stearat	5	5	Fase Lemak
Setil alkohol	3	3	Fase Lemak
Isopropil miristat	3	3	Emollient
TEA	0,42	0,42	Emulgator anionik
Gliseril monostearat	2,08	2,08	Emulgator nonionik
Propilen glikol	10	10	Humektan
Metilparaben	0,18	0,18	Pengawet
Propilparaben	0,02	0,02	Pengawet
BHT	0,1	0,1	Antioksidan
Aquades sampai 100	Add 100	Add 100	Pelarut

Keterangan: X: krim uji

b. Pembuatan Krim

Pembuatan krim dilakukan setelah uji aktivits antibakteri dan uji konsentrasi hambat minimum (KHM) dari EPMS secara *in vitro*. Pada pembuatan krim semua bahan disiapkan sesuai dengan jumlah yang dibutuhkan. Bahan larut minyak berada pada fase minyak seperti asam stearat, setil alkohol, propilparaben, gliserin monosearat, isopropil miristat. Semua bahan pada fase minyak dipanaskan pada suhu 70°C hingga melebur, kemudian didiamkan hingga suhu 50°C. Selanjutnya, BHT ditambahkan dalam fase minyak dan diaduk hingga rata.

Bahan larut air berada pada fase air seperti propilen glikol, TEA, dan metilparaben. TEA dilarutkan terlebih dahulu dalam 10 mL aquades. Metilparaben dilarutkan dalam propilen glikol, kemudian TEA dicampurkan dan dimasukkan aquades lalu dihomogenkan. EPMS yang akan dibuat sediaan dilarutkan dengan sedikit etanol. Larutan EPMS di masukkan ke dalam fase air.

Lalu, fase minyak dicampur dengan fase air pada suhu yang sama hingga homogen dengan homogenizer pada kecepatan 3500 rpm. Krim yang dihasilkan disimpan dalam wadah tidak tembus cahaya.

3.4.15 Evaluasi Fisik Sediaan Krim

Evaluasi fisik terhadap suatu sediaan krim dilakukan untuk pengamatan organoleptis, pengukuran pH, viskositas dan sifat aliran, diameter globul, konsistensi dan homogenitas pada masing-masing krim.

a. Pengamatan organoleptis

Pengamatan organoleptis dilakukan untuk memeriksa bau, warna, dan adanya pemisahan fase pada krim yang dibuat. Pengamat dilakukan setiap 2 minggu selama 12 minggu penyimpanan.

b. Pengukuran pH

Penentuan nilai pH diukur dengan menggunakan pH meter yang terlebih dahulu dikalibrasi dengan larutan standar pH 4 dan 7. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam sediaan yang akan diukur dan nilai pH akan muncul di layar. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 ulangan. Pengamat dilakukan setiap 2 minggu selama 12 minggu penyimpanan.

c. Pengamatan diameter globul

Pengamatan diameter globul dilakukan dengan menggunakan alat *particle size analysis* (PSA). Diameter globul pada krim basis dan krim EPMS 1,2% diukur dengan mengamati d_{90} dari diameter globul pada masing-masing krim. Nilai d_{90} menunjukkan nilai ukuran 90% dari diameter globul pada krim.

d. Pengukuran viskositas dan sifat alir

Sifat alir dari sediaan krim ditentukan dengan mengukur viskositas menggunakan *Viscometer Brookfield RV*. Pengukuran dilakukan dengan dicelupkan spindel kedalam gelas beaker yang berisi krim. Kecepatan alat yang digunakan beragam yaitu 0,5; 2; 4; 10; 20 rpm kemudian dibalik menjadi 20; 10; 4; 2; dan 0,5 rpm. Sifat alir diperoleh dengan membuat kurva *shearing stress* berbanding dengan *rate of shear*. Pemeriksaan dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-12 pada suhu kamar.

e. Pemeriksaan konsistensi

Pemeriksaan konsistensi dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-12 pada suhu kamar. Sediaan yang akan diperiksa dimasukkan kedalam wadah, dan diletakkan pada meja penetrometer. Peralatan diatur hingga ujung pada kerucut menyentuh bayangan permukaan krim. Batang pendorong dilepas dengan mendorong tombol start. Kemudian angka penetrasi dibaca lima detik setelah kerucut menembus sediaan.

f. Pengamatan homogenitas

Penentuan homogenitas dilakukan dengan pengamatan sebaran partikel krim yang dijepit dengan dua kaca objek. Dari pengamatan tersebut dapat dilihat apakah krim yang dibuat homogen atau tidak.

3.4.16 Uji Stabilitas Fisik

Uji stabilitas fisik sediaan krim menurut Djajadisastra, (2003) meliputi:

a. Uji stabilitas pada suhu $4^{\circ} \pm 2^{\circ}$, $25^{\circ} \pm 2^{\circ}$ dan $40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$

Sediaan krim yang dibuat disimpan pada suhu $4^{\circ} \pm 2^{\circ}$, $25^{\circ} \pm 2^{\circ}$ dan $40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ untuk diukur kestabilannya yaitu berupa bau, warna, dan pH. Evaluasi krim dilakukan selama 12 minggu dengan pengamatan setiap 2 minggu.

b. *Cycling test*

Krim disimpan pada suhu $4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam, kemudian dipindahkan ke oven bersuhu $40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Proses tersebut terjadi dalam satu siklus. Pada *Cycling test* uji dilakukan sebanyak 6 siklus, dan diamati adanya pemisahan fase atau adanya kristalisasi.

c. Uji mekanik (*centrifugal test*)

Krim uji dimasukan ke dalam alat sentrifugator dan disentrifugasi pada kecepatan 5000-10.000 rpm selama 30 menit (Lieberman, Rieger & Banker., 1988). Pengamatan dilakukan untuk melihat apakah terjadi pemisahan antara fase minyak dengan fase air.

3.5 Subjek Penelitian

3.5.1 Populasi dan Sampel

Pengujian krim dengan *patch test* dilakukan terhadap 12 subjek. Krim di uji dengan cara dioleskan pada punggung bagian atas subjek. Krim yang di uji *patch test* adalah krim dengan konsentrasi yang mengandung EPMS 1,2% dan basis krim.

3.5.1.1 Kriteria sampel

Kriteria sampel dilakukan secara random yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi adalah sebagai berikut :

a. Kriteria inklusi

Subjek yang masuk kedalam kriteria berusia 12-17 tahun, sehat dengan jenis kulit normal atau kering. Bersedia menghentikan penggunaan produk lain dan mengikuti penelitian setelah memperoleh penjelasan dengan terlebih dahulu menandatangani pernyataan (*informed consent*).

b. Kriteria eksklusi

Subjek yang memiliki kelainan kulit seperti luka, penyakit kulit khususnya pada punggung atas, menderita sakit dan sedang minum obat, serta yang tidak bersedia mengikuti penelitian merupakan kriteria eksklusi.

c. Kriteria *drop out*

Apabila subjek yang sebagai sampel tidak datang ketempat penelitian, maka relawan tersebut dianggap *drop out*.

3.5.1.2 Teknik penentuan sampel

Berdasarkan kriteria inklusi dengan metode *patch test* dilakukan pada subjek berusia 12-17 tahun sehat dengan jenis kulit normal atau kering. Dari 15 subjek, 12 subjek yang memenuhi persyaratan. Kemudian dilakukan pengolesan krim pada daerah punggung bagian atas dengan mencuci terlebih dahulu sebelum pemakaian krim. Para relawan tidak mengetahui perbedaan krim karena krim dibuat semirip mungkin antara krim kontrol dan krim perlakuan.

3.5.1.3 Prosedur dan pengambilan data

Subjek berusia 12-17 tahun yang memenuhi kriteria pada uji *pacth test* dan sebagai sampel, diberikan penjelasan latar belakang penelitian, tujuan penelitian, pemeriksaan yang akan dilakukan, manfaat pemeriksaan dan penelitian serta efek samping pemeriksaan.

Subjek yang bersedia akan menandatangani *form* pernyataan dan subjek yang tidak bersedia maka dieksekusi dari penelitian. Selanjutnya subjek yang setuju dilakukan pemeriksaan fisik.

Prosedur pengujian sebagai berikut (Colipa Guidelines):

Jenis patch	: <i>Hypoallergenic tape</i>
Lokasi	: Punggung
Frekwensi	: 1 kali
Jumlah pengolesan	: \pm 80 mg
Waktu pengamatan	: setelah 30 menit, 24 jam dan 48 jam berikutnya
Parameter	: data yang diperoleh diolah untuk memperoleh indeks iritasi primer (<i>pII</i>)

$$pII = \frac{\text{Jumlah eritema dan edema jam ke 24 dan 48}}{\text{Jumlah relawan} \times \text{Jumlah waktu pengamatan}} \quad (3.1)$$

Tabel 3.2 Kategori Eritema dan Edema

ERITEMA		EDEMA	
Jenis	Nilai	Jenis	Nilai
Tidak ada eritema	0	Tidak ada edema	0
Sedikit eritema (hamper tidak tampak)	1	Edema sangat ringan	1
Eritema tampak jelas	2	Edema ringan (tepi dan pembesaran jelas)	2
Eritema sedang sampai kuat	3	Edema sedang (ketebalan kira-kira 1mm)	3
Eritema parah (ada luka)	4	Edema parah (ketebalan melebihi 1 mm)	4

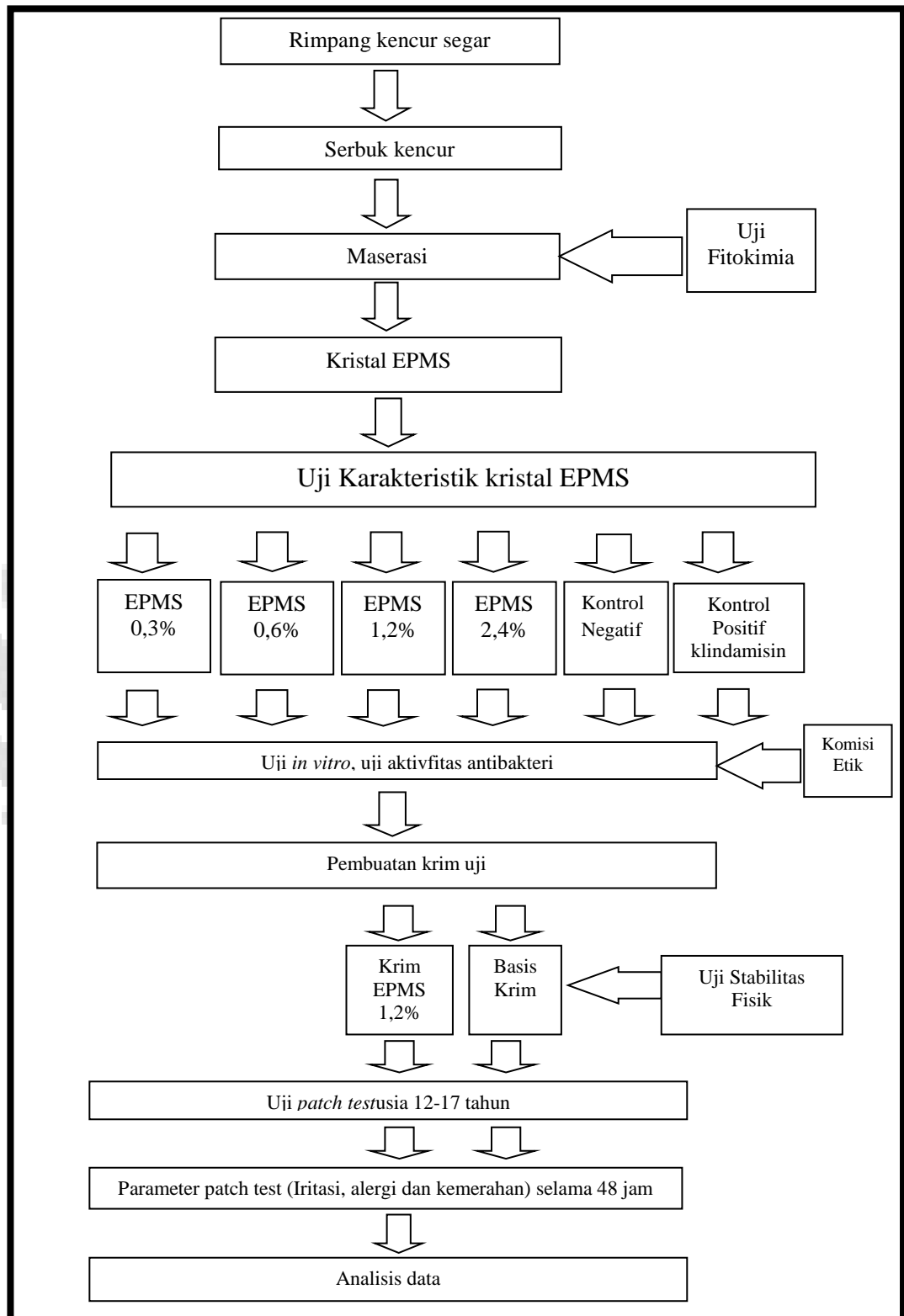
Tabel 3.3 Kategori Respon dan Iritasi

Kategori	Indeks Iritasi Primer (<i>pII</i>)
Tidak berarti	0-0,4
Iritasi ringan	0,5-1,9
Iritasi sedang	2,0-4,9
Iritasi berat	5,0-8,0

Keterangan:

- a. Eritema : kemerahan disebabkan pelebaran pembuluh darah kapiler yang reversible
- b. Papul : Penonjolan pada permukaan kulit, berukuran diameter lebih kecil dari 1/2 cm dan berisi zat padat
- c. Vesikel : gelembung berisi cairan, berukuran <1/2 cm garis tengah dan mempunyai dasar.
- d. Edema : pembengkakan akibat peningkatan permeabilitas dinding kapiler serta pengiriman cairan sel-sel dari sirkulasi darah ke jaringan.

3.5.2 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

3. 6 Prosedur Pengumpulan Data

Kristal EPMS yang diperoleh dari proses maserasi dengan pelarut heksan diuji karakteristik kristal EPMS dengan alat KLT berdasarkan harga retensi (Rf), alat DSC berdasarkan titik leleh dan alat spektrofotometer IR berdasarkan kesamaan struktur senyawa antara EPMS standar dengan EPMS sampel literatur. Senyawakristal EPMS diuji aktivitasnya dan KHM dengan metode difusi cakram dan dilusi cair terhadap bakteri *P.acne*, *S.aureus* dan *S.epidermidis*. Pada uji *in vitro* dilakukan uji 4 konsentrasi, kontrol positif dan kontrol negatif. Konsentrasi ekstrak kencur yang mengandung EPMS yang diujikan adalah: 0,3; 0,6; 1,2 dan 2,4%. Kontrol positif menggunakan cakram klindamisin dan kontrol negatif (aquades dan 30% DMSO). Aktivitas bakteri diukur dengan menggunakan mistar (Oxoid) dari diameter zona bening yang terbentuk di agar cawan. Kriteria aktivitas antibakteri mengacu pada literatur menurut Ambarwati, (2007) yaitu dimana: lemah (< 5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-19 mm) dan sangat kuat (> 20 mm). Konsentrasi hambat minimum (KHM) dari senyawa EPMS diuji dengan metode dilusi, berdasarkan pengukuran tingkat kekeruhan dari media cair di dalam tabung. Kekeruhan larutan uji dengan berbagai konsentrasi, kemudian dibandingkan dengan kekeruhan pada kontrol (bakteri dan pelarut) menggunakan standar oxoid ($1,5 \times 10^8$ sel bakteri/ ml). Jika konsentrasi larutan uji dengan kadar terendah terlihat lebih jernih dibandingkan dengan kontrol (bakteri dan pelarut) ditetapkan sebagai nilai KHM.

Pembuatan krim menggunakan senyawa EPMS dari ekstrak kencur hasil uji antibakteri secara *in vitro* dengan konsentrasi 1,2%; dan basis krim sebagai kontrol negatif. Krim yang mengandung EPMS dari ekstrak kencur di evaluasi fisik melalui pemeriksaan organoleptis meliputi: bentuk, warna dan bau. Pemeriksaan homogenitas dilakukan dengan mengamati sebaran partikel krim yang dijepit dengan dua kaca objek dari sebaran tersebut dapat dilihat apakah krim yang dibuat homogen atau tidak. Pemeriksaan pH sediaan dilakukan dengan menggunakan pH meter dengan terlebih dahulu dikalibrasi pada pH 4 dan 7. Pengukuran diameter globul dengan alat *particle size analysis* (PSA) berdasarkan nilai d_{90} . Pengukuran viskositas dan sifat alir dengan menggunakan viskometer.

Pemeriksaan konsistensi dengan cara memasukan sediaan ke dalam wadah khusus dan diletakan pada meja penetrometer.

Pemeriksaan stabilitas fisik (Djajadisastra, 2003) dilakukan dengan pengukuran uji stabilitas pada suhu $4^{\circ} \pm 2^{\circ}$, $25^{\circ} \pm 2^{\circ}$ dan $40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$, *Cycling test*, uji mekanik (*centrifugal test*). Dalam uji stabilitas pada suhu $4^{\circ} \pm 2^{\circ}$, $25^{\circ} \pm 2^{\circ}$ dan $40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ diukur parameter kesetabilan seperti bau, warna dan pH dievaluasi selama 12 minggu dengan pengamatan setiap 2 minggu. *Cycling test* krim disimpan pada suhu $4^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam, lalu krim dipindahkan kedalam oven yang bersuhu $40^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam dilakukan sebanyak 6 kali kemudian diamati adanya pemisahan fase atau kristalisasi. Pada uji mekanik, krim dimasukan ke dalam tabung sentrifugasi pada kecepatan 5000 -10.000 rpm selama 30 menit (Lieberman, Rieger & Banker., 1988). Kemudian krim diamati apakah terjadi pemisahan antara fase minyak dengan fase cair pada krim.

Sebelum dilakukan uji *patch test*, proposal diajukan terlebih dahulu ke komisi etik penelitian kedokteran, Fakultas Kedokteran UI Jakarta. Uji *patch test* dilakukan dengan cara mengoleskan $\pm 0,8$ mg krim, pada kulit punggung bagian atas kemudian ditutupi dengan alat *patch test*, setelah itu dilihat gejala yang ditimbulkan setelah 48 jam pemakaian.

3.7 Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan komputer dan disajikan dalam bentuk gambar, tabel dan grafik. Data hasil uji aktivitas bakteri secara *in vitro* diolah dengan menggunakan analisis diskriptif, serta menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan tingkat kepercayaan 99% ($p < 0,01$).

BAB 4

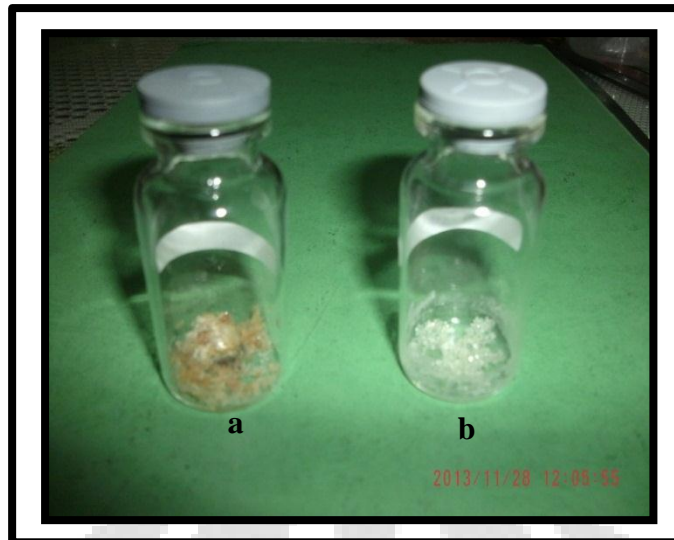
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Rimpang Kencur (*Kaempferia galangal* L.)

Rimpang kencur basah seberat 8 kg, yang telah dikering anginkan menghasilkan serbuk kencur seberat 2000 g atau rendemen yang diperoleh sebesar 25% dari berat basah. Hasil dari proses maserasi, divakum pada suhu 48°C agar senyawa tidak rusak, hingga tersisa sekitar 10 mL filtrat dalam labu. Ekstrak yang diperoleh dari pelarut heksan seberat 37,52 g atau rendemen sebesar 1,88% dari serbuk kering. Filtrat didiamkan pada vial dengan suhu kamar hingga terbentuk kristal. Kristal EPMS yang telah dimurnikan dengan cara rekristalisasi diperoleh seberat 11,04 g dengan rendemen sebesar 0,55% dari serbuk kering rimpang kencur. Hasil rendemen dengan pelarut heksan yang diperoleh lebih kecil jika dibandingkan dengan rendemen yang dihasilkan dari penelitian Taufikurohmah, Rusmini dan Nurhayati., (2008) yaitu sebesar 2,11%. Perbedaan rendemen dari kristal EPMS yang diperoleh dapat dipengaruhi oleh jenis, usia dan kondisi lingkungan dari rimpang kencur yang digunakan.



Gambar 4.1. Maserat Rimpang Kencur



Gambar 4.2. (a) Kristal EPMS Sebelum Pemurnian; (b) Kristal EPMS Setelah Pemurnian

Metode maserasi merupakan metode cara dingin, yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Senyawa etil p-metoksi sinamat merupakan komponen utama yang mudah untuk diisolasi dan dimurnikan (Golib., 2009). Metode maserasi dengan penyari heksan, digunakan berdasarkan sifat dari senyawa identitas rimpang kencur yaitu etil p-metoksi sinamat (EPMS). Gugus pada EPMS lebih mendekati nonpolar dengan gugus eter dan lingkaran benzen, dibandingkan dengan gugus polar yaitu adanya karbonil dalam gugus ester (Taufikurohmah, Rusmini dan Nurhayati., 2008).

Senyawa etil p-metoksi sinamat (EPMS) merupakan salah satu turunan asam sinamat, termasuk jenis senyawa yang tergolong dalam fenil propanoid, kelompok senyawa fenol yang berasal dari jalur sikimat (Nugraha, Siadi, dan Sudarmin., 2012). Senyawa fenol memiliki aktivitas antioksidan dan dapat sebagai antimikroba dan antiinflamasi (Umar et al., 2011). Aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh metabolit sekunder tanaman memiliki kemampuan untuk mempertahankan diri terhadap mikroorganisme dengan cara membentuk kompleks dengan protein yang larut dan protein ekstraseluler dan dengan

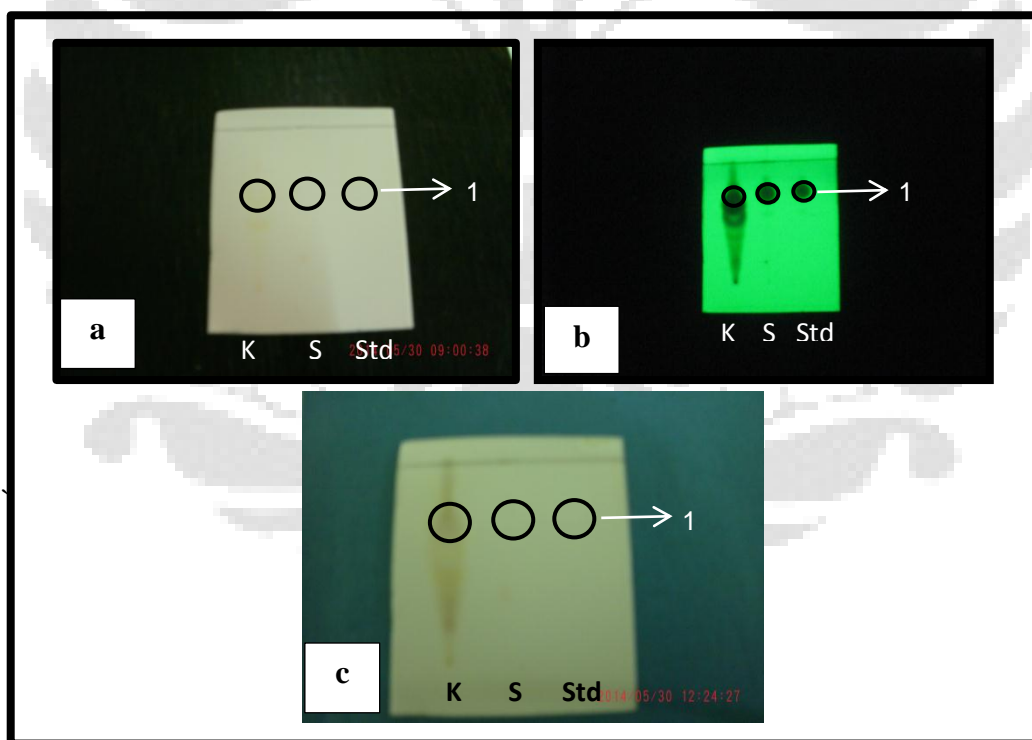
membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri sehingga berfungsi sebagai antibakteri (Kresnawati dan Zainudin., 2009).

4.1.1 Uji Karakterisasi Kristal

Karakteristik kristal EPMS diidentifikasi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT), spektrofotometer IR, dan titik leleh dengan menggunakan alat DSC.

a. Uji kromatografi lapis tipis (KLT)

Eluen yang digunakan dalam uji KLT pada fase gerak yaitu heksan-etil asetat dengan perbandingan 8:2 (Soeratri, Ifansyah, Fitrianingrum., 2005). Dari hasil pengamatan dibawah lampu UV λ 254 nm, spot penotolan tampak jelas dibandingkan dengan penampakan secara visual sebelum dan sesudah disemprot dengan H₂SO₄ 10% (Gambar 4.3).



Keterangan : K : Ekstrak Kencur; S : EPMS Sampel; Std : EPMS Standar

Gambar 4.3. Profil Kromatografi (a) Visual; (b) UV λ 254 nm; (c) H₂SO₄ 10%

Berdasarkan uji karakteristik EPMS dengan kromatografi lapis tipis (KLT) pengamatan dibawah lampu UV λ 254 nm, ketiga spot hasil penotolan pada lempeng KLT dengan fase diam silika $G_{60}F_{254}$ (Gambar 4.3.b) terlihat adanya kesamaan harga retensi (R_f) sebesar 0,54 dari spot nomor 1 pada ekstrak kencur (K), EPMS sampel (S) dengan EPMS standar (Std). Jika diamati berdasarkan spot yang tampak (Gambar 4.3.b) pada EPMS sampel (S) terbentuk spot tunggal yang sama dengan EPMS standar (Std). Ini berarti bahwa senyawa EPMS sampel (S) sudah murni dan diduga senyawa tersebut adalah etil p-metoksi sinamat (EPMS). Namun, pada ekstrak kencur (K) dari hasil KLT masih terlihat adanya beberapa spot yang terbentuk yang menunjukkan bahwa dalam ekstrak kencur (K) masih ada senyawa lain.

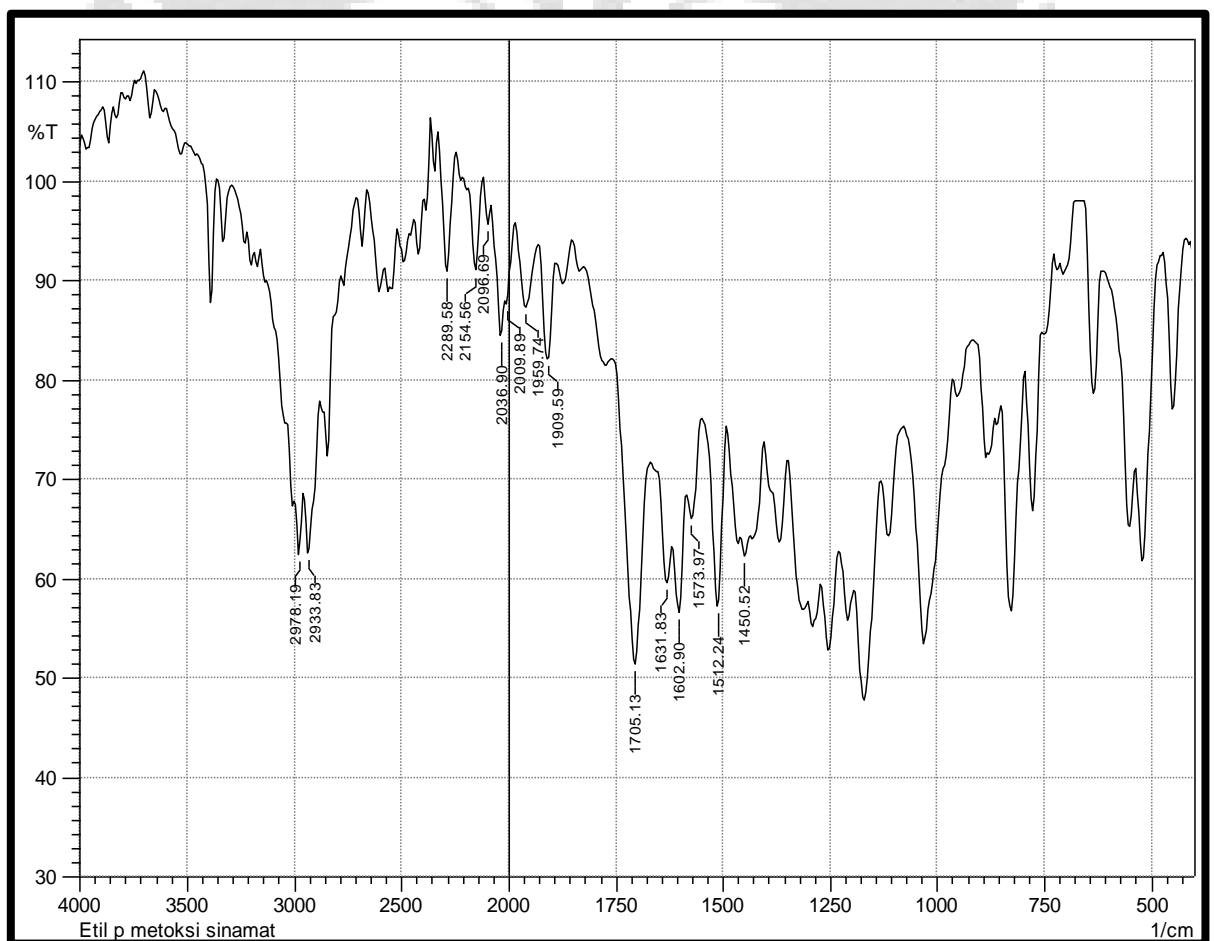
b. Analisis struktur menggunakan spektrofotometer IR.

Berdasarkan hasil pengukuran dan analisis struktur EPMS sampel menggunakan spektrofotometer IR, dibandingkan dengan EPMS standar dari literatur diperoleh hasil yang menunjukkan gugus yang sama. Dari hasil pengukuran spektrofotometer IR dengan membandingkan antara EPMS standar pada literatur dan EPMS sampel, kedua senyawa memiliki serapan gelombang daerah yang tidak jauh berbeda (Tabel 4.1).

Senyawa EPMS memiliki gugus penciri aromatik C-H, karbonil ester C=O dan gugus substitusi cincin 1,4 disubstitusi (para). Berdasarkan literatur ketiga gugus tersebut memiliki serapan panjang gelombang secara berturut 2978,09; 1705,07 dan 2036,83-1913,39 cm^{-1} yang tidak berbeda dengan serapan gelombang pada EPMS sampel 2978,19; 1705,13 dan 2036,90-1909,59 cm^{-1} . Selain itu masih ada kesamaan gugus lain dengan gugus yang ada pada EPMS standar literatur. Hal ini memperkuat dugaan bahwa senyawa pada sampel adalah senyawa etil p-metoksi sinamat (EPMS).

Tabel 4.1 Interpretasi Data Spektrum IR antara EPMS Sampel dan EPMS Standar

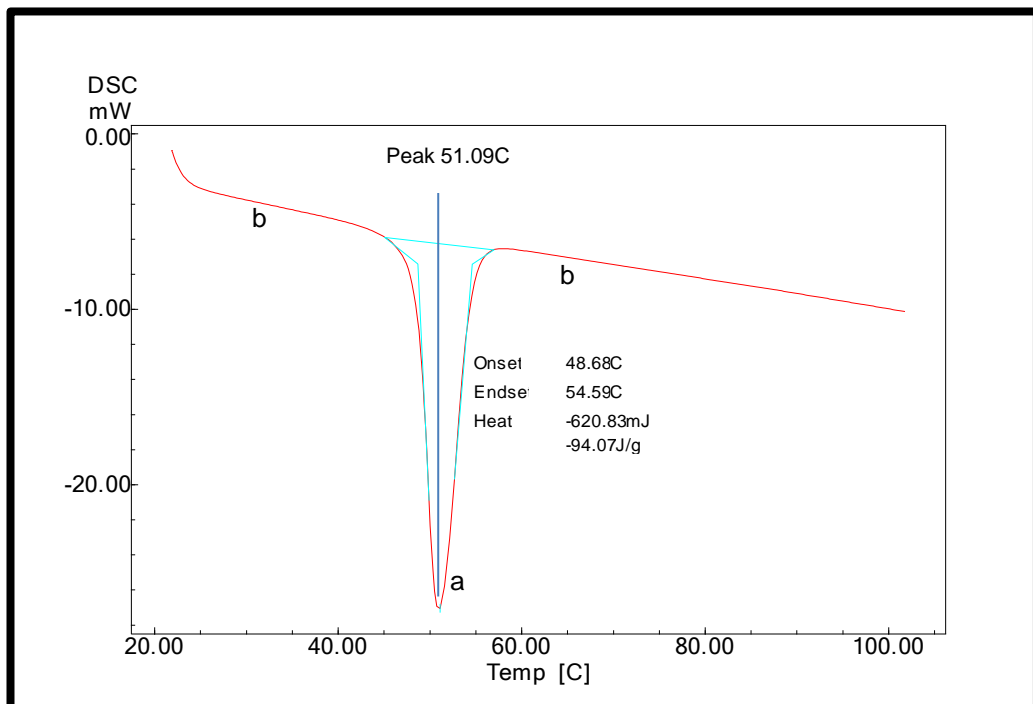
No.	Karakteristik	Panjang Gelombang (cm^{-1}) EPMS	
		Sampel	Standar Literatur (Nugraha, Siadi, Sudarmin., 2012)
1	Gugus = C-H aromatik	2978,19 cm^{-1}	2978,09 cm^{-1}
2	Gugus -C-H alifatik	2933,83 cm^{-1}	2931,80 cm^{-1}
3	Gugus substitusi cincin benzen 1,4 disbtitisi (para)	2036,90-1909,59 cm^{-1}	2036,83-1913,39 cm^{-1}
4	Gugus C=O karbonil ester	1705,13 cm^{-1}	1705,07 cm^{-1}
5	Gugus C=C alkena	1631,83 cm^{-1}	1627,92 cm^{-1}
6	Gugus C=C aromatik	1602,90 cm^{-1}	1604,77 cm^{-1}

**Gambar 4.4.** Hasil Pengukuran Kristal EPMS dengan Menggunakan FT-IR

c. Uji titik leleh dengan alat *Differential Scanning Calorimetry* (DSC)

Hasil uji titik leleh dengan menggunakan alat DSC menunjukkan bahwa puncak titik leleh dari kristal EPMS sampel 51°C. Jika dibandingkan dengan data literatur, titik leleh dari kristal EPMS standar 48-50°C (Setyawan dkk., 2012). Dari hasil pengukuran menunjukkan titik leleh dari EPMS sampel tidak jauh berbeda dengan EPMS data literatur.

Pengukuran titik leleh dengan menggunakan alat DSC, kristal EPMS sampel dibandingkan dengan standar α -alumina, sehingga membentuk garis lurus b pada termogram (Gambar 4.5). Terbentuknya satu cekungan dengan puncak a menghadap keatas pada garis lurus b, menunjukkan bahwa senyawa EPMS sampel merupakan senyawa murni dengan proses leleh tipe eksoterm pada suhu 51°C. Adanya pengotor pada sampel yang diuji dengan DSC dapat diketahui dengan terbentuknya beberapa puncak cekungan terhadap garis standar α -alumina dan cekungan yang terbentuk tidak runcing pada satu titik.



Gambar 4.5. Termogram dari DSC Kristal EPMS Sampel

4.2 Identifikasi Fitokimia

Identifikasi fitokimia dilakukan untuk mengetahui secara kualitatif adanya senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, steroid dan antakuinon. Berdasarkan hasil uji fitokimia pada ekstrak heksan dan serbuk simplisia menunjukkan bahwa rimpang kencur menunjukkan hasil positif dengan pereaksi Dragendorff dan Buchardat. Adanya senyawa kimia alkaloid ditunjukkan dengan terbentuk endapan jingga coklat dan hitam atau coklat, baik pada ekstrak heksan maupun pada serbuk simplisia rimpang kencur (Lampiran 8). Identifikasi flavonoid menunjukkan hasil negatif, karena tidak terjadi perubahan warna dari warna asal (Lampiran 8).

Pengamatan pada senyawa kimia saponin menunjukkan hasil yang positif dengan adanya buih yang terbentuk dari pengocokan, baik pada ekstrak heksan maupun pada serbuk simplisia rimpang kencur (Lampiran 8).

Hasil pengamatan terhadap uji tanin menunjukkan bahwa ekstrak heksan rimpang kencur memberikan hasil yang negatif pada penambahan gelatin dan NaCl 10%, sedangkan dengan FeCl_3 memberikan hasil yang positif karena terbentuk warna hijau atau biru kehitaman (Lampiran 8). Dari senyawa FeCl_3 akan terbentuk senyawa kompleks berwarna, karena inti fenolik yang terdapat pada tanin dan ion Fe^{3+} . Warna hijau kecoklatan menunjukkan tanin terkondensasi dan warna biru kehitaman menunjukkan tanin terhidrolisis (Trease and Evans., 1989).

Pengujian pada senyawa kimia antrakuinon memberikan hasil negatif karena tidak terjadi perubahan warna dari warna asal. Sedangkan pada uji steroid memberikan hasil positif dengan filtrat berwarna merah hijau dengan reagen *Libermann Burchardt*. Pada ekstrak heksan rimpang kencur, filtrat yang terbentuk lebih pekat dibandingkan dengan serbuk rimpang kencur. Namun keduanya tetap menunjukkan hasil yang positif terhadap senyawa kimia steroid (Lampiran 8).

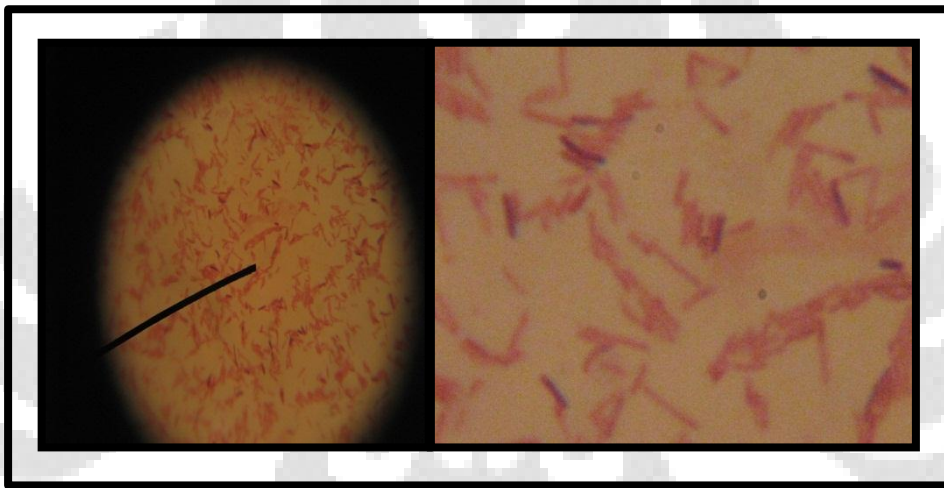
4.3 Penapisan dan Pewarnaan Gram terhadap Bakteri Penyebab Jerawat

a. *Propionibacterium acne*

Propionibacterium acne termasuk flora normal kulit yang masuk dalam kelompok bakteri *Corynebacteria*. Bakteri ini berperan dalam patogenesis jerawat dengan menghasilkan lipase yang dapat memecah asam lemak bebas dari lipid

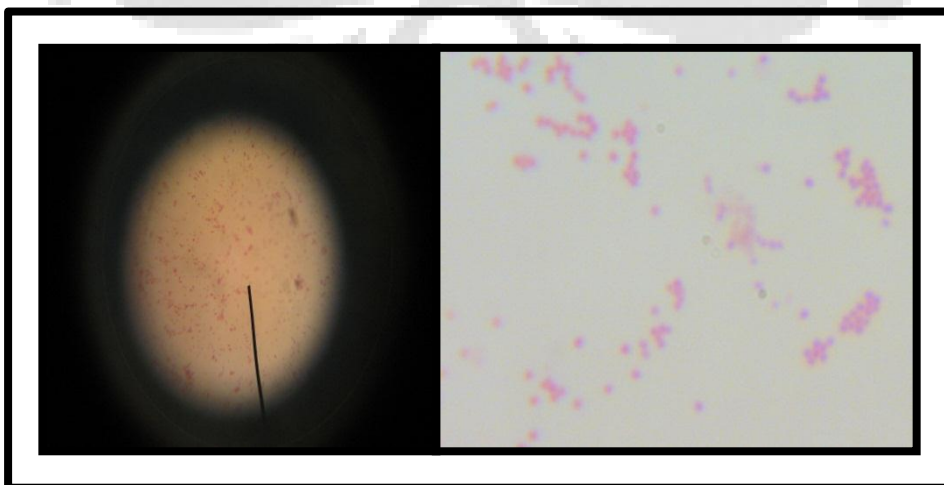
kulit. Asam lemak dapat mengakibatkan inflamasi jaringan ketika berhubungan dengan sistem imun dan menyebabkan terjadinya akne.

P.acne adalah bakteri yang tumbuh pada media *Brucella* agar darah, dengan waktu inkubasi 24-48 jam (2 hari) pada suhu 37°C. Bakteri *P.acne*, merupakan bakteri yang tumbuh lambat dengan ciri berbentuk batang tidak teratur, terlihat dalam pewarnaan gram positif, dapat berbentuk filamen bercabang atau campuran antara bentuk batang dan kokoid, bersifat anaerob fakultatif sampai mikroerofilik atau anaerob. Dan beberapa bakteri *P.acne* dapat bersifat patogen bagi hewan dan tanaman (Brook, Butel, dan Morse., 2005).



Gambar 4.6. Bakteri *P.acne* secara Mikroskopis (perbesaran 1000 x)

b. *Staphylococcus aureus*



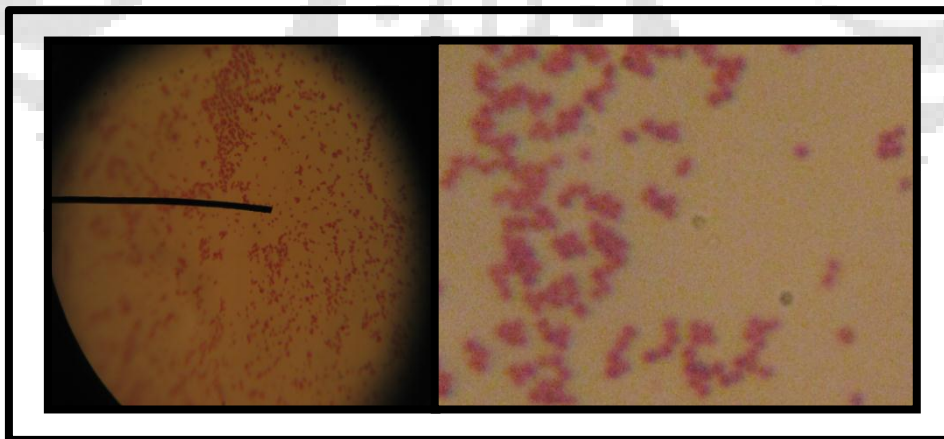
Gambar 4.7. Bakteri *S.aureus* secara Mikroskopis (perbesaran 1000 x)

Bakteri *S.aureus* adalah bakteri yang metabolismenya dapat dilakukan secara aerob dan anaerob. Media tumbuh *S.aureus* adalah *Mueller Hinton* (MHA) dengan waktu inkubasi 24 jam (1 hari), pada suhu 37°C. *Staphylococcus aureus* bakteri yang tidak bergerak, ditemukan satu-satu berpasangan, berantai pendek atau bergerombol, tidak membentuk spora, tidak berkapsul dan dinding selnya memiliki dua komponen utama yaitu; peptidoglikan dan asam teikhoat (Jawetz, E., Melnik, dan E., Adelberg., 1995).

Staphylococcus aureus bakteri gram positif yang berwarna ungu setelah ditetesi pewarna fukhsin. Warna ungu pada bakteri gram positif disebabkan karena komponen dasar dari dinding sel bakteri gram positif dapat mengikat larutan pewarna dasar, maka larutan pewarna fukhsin tidak lagi dapat diikat oleh dinding sel bakteri (Cappucino dan Sherman., 2011).

Staphylococcus aureus bakteri yang umum ditemukan pada kulit sebagai flora normal dan selaput lendir manusia. *S. aureus* hidup dalam pengeluaran lendir manusia dan dapat dikeluarkan sewaktu batuk atau bersin, melalui hidung, mulut dan tenggorokan.

c. *Staphylococcus epidermidis*



Gambar 4.8. Bakteri *S.epidermidis* secara Mikroskopis (perbesaran 1000 x)

Bakteri *Staphylococcus epidermidis* merupakan bakteri gram positif yang bersifat aerob dan anaerob fakultatif. Bentuk *S.epidermidis* tersusun dalam rangkaian tidak beraturan atau seperti anggur. Media tumbuh *S.epidermidis* adalah *Mueller Hinton* (MHA) dengan waktu inkubasi 24 jam (1 hari), pada suhu 37°C.

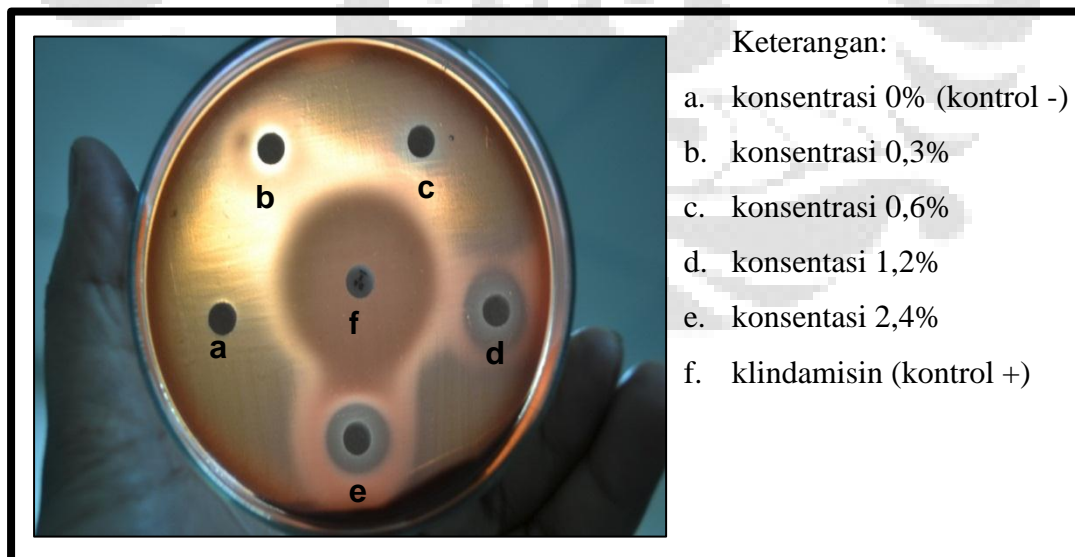
Staphylococcus epidermidis merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan dan saluran pencernaan. *S.epidermidis* mampu berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan sehingga dapat menimbulkan penyakit (Simatupang, 2013).

4.4 Respon Aktivitas Antibakteri

Penentuan respon aktivitas antibakteri terhadap ekstrak heksan yang mengandung senyawa etil p-metoksi sinamat (EPMS) dilakukan dengan menggunakan difusi cakram dan konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan menggunakan metode dilusi cair.

4.4.1 Metode Difusi Cakram

Aktivitas antibakteri pada kristal etil p-metoksi sinamat (EPMS) rimpang kencur yang diuji pada bakteri *P. acne*, *S. aureus* dan *S. Epidermidis* secara *in vitro* menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram. Besarnya zona bening yang terbentuk di sekitar cakram menunjukkan semakin besar aktivitas daya hambat dari bahan aktif.



Gambar 4.9. Hasil Uji Antibakteri *P. acne* terhadap Kristal Etil P-metoksi Sinamat Ekstrak Rimpang Kencur

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri kristal EPMS ekstrak rimpang kencur dengan konsentrasi 0,3; 0,6; 1,2; dan 2,4% secara *in vitro*, menunjukkan bahwa masing-masing konsentrasi dari senyawa EPMS memiliki aktivitas daya hambat terhadap bakteri *P.acne* (Gambar 4.9). Dari hasil uji ANOVA setiap konsentrasi yang diujikan terhadap bakteri *P.acne* dengan konsentrasi 0,3; 0,6; 1,2 dan 2,4% memperoleh hasil yang secara signifikan berbeda nyata ($p < 0,01$) (Lampiran 9).

Zona bening yang terbentuk pada konsentrasi 0,3; 0,6; 1,2; dan 2,4% secara berturut adalah 9,00; 11,50; 14,50; dan 16,00 mm. Jika dibandingkan dengan zona bening yang terbentuk pada kontrol positif (klindamisin), zona bening yang terbentuk pada klindamisin sebagai obat standar sebagai antibakteri jerawat tetap memiliki zona bening paling besar yaitu 33,00 mm.

Berdasarkan kriteria aktivitas antibakteri menurut kriteria Ambarwati., (2007) zona bening yang terbentuk pada konsentrasi 0,3% sedang; 0,6% kuat; 1,2% kuat; dan 2,4% kuat (Tabel 4.2). Dari kriteria tersebut menunjukkan bahwa kristal EPMS yang diperoleh dari ekstrak heksan dengan konsentrasi 0,3%; konsentrasi terendah masih membentuk zona bening yang menandakan adanya aktivitas antibakteri.

Tabel 4.2. Rerataan Zona Hambat dari Kristal EPMS Ekstrak Rimpang Kencur terhadap Bakteri *P.acne*

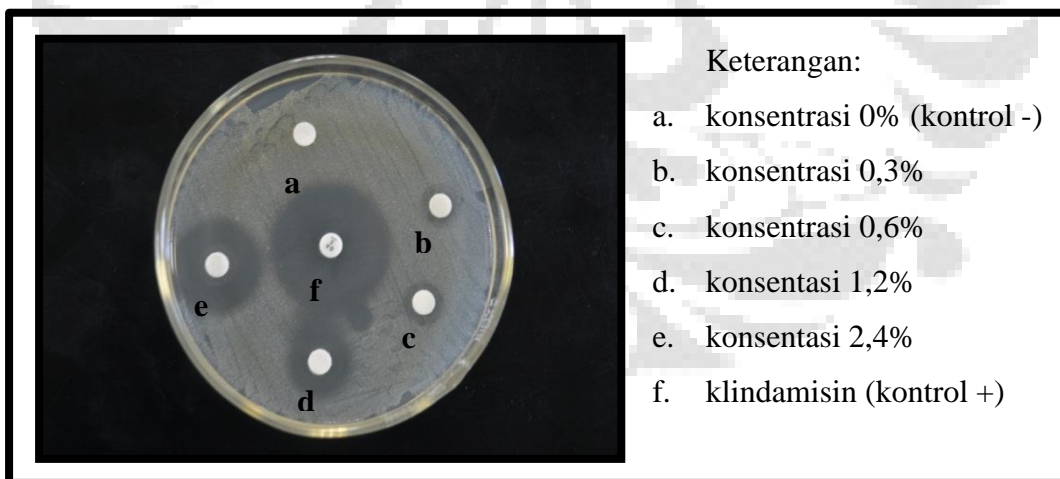
Jenis Perlakuan	Rerataan Zona Hambat (mm)	Kriteria Aktivitas Antibakteri (Ambarwati., 2007)
Konsentrasi 0% (kontrol -)	-	-
Konsentrasi 0,3%	9,00	Sedang
Konsentrasi 0,6%	11,50	Kuat
Konsentrasi 1,2%	14,50	Kuat
Konsentrasi 2,4%	16,00	Kuat
Klindamisin (kontrol +)	33,00	Sangat Kuat

Keterangan:

kriteria aktivitas antibakteri menurut Ambarwati, (2007) yaitu: lemah (< 5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-19 mm), sangat kuat (> 20 mm).

Uji antibakteri jerawat terhadap bakteri aerob, *S. aureus* dan *S. epidemidis* dengan senyawa EPMS dari rimpang kencur, menunjukkan bahwa dengan konsentrasi 0,3; 0,6; 1,2; dan 2,4% terhadap kedua bakteri tersebut memiliki aktivitas antibakteri penyebab jerawat (Gambar 4.10-4.11). Aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan masing-masing konsentrasi EPMS terhadap bakteri *S.aureus* dan *S.epidermidis* dari hasil uji ANOVA juga memberikan hasil secara signifikan berbeda nyata ($p < 0,01$) (Lampiran 10-11).

Hasil uji antibakteri penyebab jerawat terhadap bakteri *S.aureus* menunjukkan pada konsentrasi 0,3 dan 0,6% memiliki zona bening yang sama dengan zona bening yang terbentuk pada bakteri *P.acne* yaitu 9,00 dan 11,50 mm. Sedangkan pada konsentrasi 1,2 dan 2,4% menunjukkan zona hambat sebesar 16,50 dan 22,00 mm yang lebih besar jika dibandingkan dengan konsentrasi zona hambat yang dibentuk pada bakteri *P. acne* (Tabel 4.3). Namun zona hambat yang dibentuk pada kontrol positif (klindamisin) pada bakteri *S. aureus* sebesar 32,50 mm, sedikit lebih kecil jika dibandingkan dengan klindamisin pada uji bakteri *P.acne* sebesar 33,00 mm.



Gambar 4.10. Hasil Uji Antibakteri *S.aureus* terhadap Kristal Etil P-metoksi Sinamat Ekstrak Rimpang Kencur

Zona bening yang terbentuk dari hasil uji terhadap bakteri *S.aureus* menurut kriteria Ambarwati, (2007); menunjukkan aktivitas antibakteri dari konsentrasi 0,3% sedang; 0,6% kuat; 1,2% kuat; dan 2,4% sangat kuat (Tabel

4.3). Dari kriteria tersebut dengan konsentrasi terendah masih membentuk zona bening yang menandakan adanya aktivitas antibakteri.

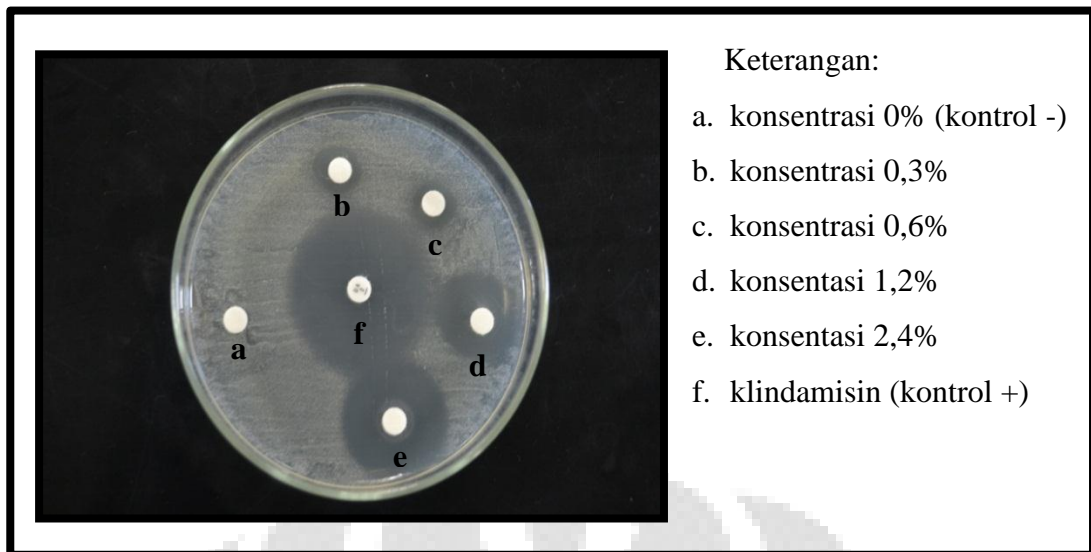
Tabel 4.3. Rerataan Zona Hambat dari Kristal EPMS Ekstrak Rimpang Kencur terhadap Bakteri *S.aureus*

Jenis Perlakuan	Rerataan Zona Hambat (mm)	Kriteria Aktivitas Antibakteri (Ambarwati., 2007)
Konsentrasi 0% (kontrol -)	-	-
Konsentrasi 0,3%	9,00	Sedang
Konsentrasi 0,6%	11,50	Kuat
Konsentrasi 1,2%	16,50	Kuat
Konsentrasi 2,4%	22,00	Sangat Kuat
Klindamisin (kontrol +)	32,50	Sangat Kuat

Keterangan:

kriteria aktivitas antibakteri menurut Ambarwati, (2007) yaitu: lemah (< 5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-19 mm), sangat kuat (> 20 mm).

Hasil pengamatan terhadap bakteri *S.epidermidis* menunjukkan bahwa pada konsentrasi 0,3; 0,6; 1,2; dan 2,4% masing-masing membentuk zona bening sebesar 10,50; 12,50; 20,50; dan 27,00 mm (Tabel 4.4). Semua konsentrasi yang diujikan pada bakteri *S.epidermidis* dari konsentrasi 0,3 hingga konsentrasi 2,4% senyawa EPMS memiliki daya hambat terhadap bakteri *S.epidermidis*. Hal ini terlihat dari zona bening yang terbentuk pada cakram disemua konsentrasi (Gambar 4.11).



Keterangan:

- a. konsentrasi 0% (kontrol -)
- b. konsentrasi 0,3%
- c. konsentrasi 0,6%
- d. konsentasi 1,2%
- e. konsentasi 2,4%
- f. klindamisin (kontrol +)

Gambar 4.11. Hasil Uji Antibakteri *S.epidermidis* terhadap Kristal Etil P-metoksi Sinamat Ekstrak Rimpang Kencur

Berdasarkan kriteria aktivitas antibakteri Ambarwati., (2007) dari konsentrasi 0,3 hingga 2,4% terhadap bakteri *S.epidermidis* menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat dan sangat kuat dengan besar zona 10-19 dan lebih dari 20 mm (10-19 dan > 20 mm) (Tabel 4.4). Namun, jika diamati aktivitas antibakteri zona bening yang terbentuk dari bakteri *S.epidermidis* pada konsentrasi 0,3 dan 0,6% memiliki nilai signifikan 0,045 ($p>0,01$) yang berarti tidak berbeda nyata, jika dibandingkan dengan konsentrasi 1,2 dan 2,4% (Lampiran 11).

Tabel 4.4. Rerataan Zona Hambat dari Kristal EPMS Ekstrak Rimpang Kencur terhadap Bakteri *S.epidermidis*

Jenis Perlakuan	Rerataan Zona Hambat (mm)	Kriteria Aktivitas Antibakteri (Ambarwati, 2007)
Konsentrasi 0% (kontrol -)	-	-
Konsentrasi 0,3%	10,50	Kuat
Konsentrasi 0,6%	12,50	Kuat
Konsentrasi 1,2%	20,50	Sangat Kuat
Konsentrasi 2,4%	27,00	Sangat Kuat
Klindamisin (kontrol +)	35,00	Sangat Kuat

Keterangan:

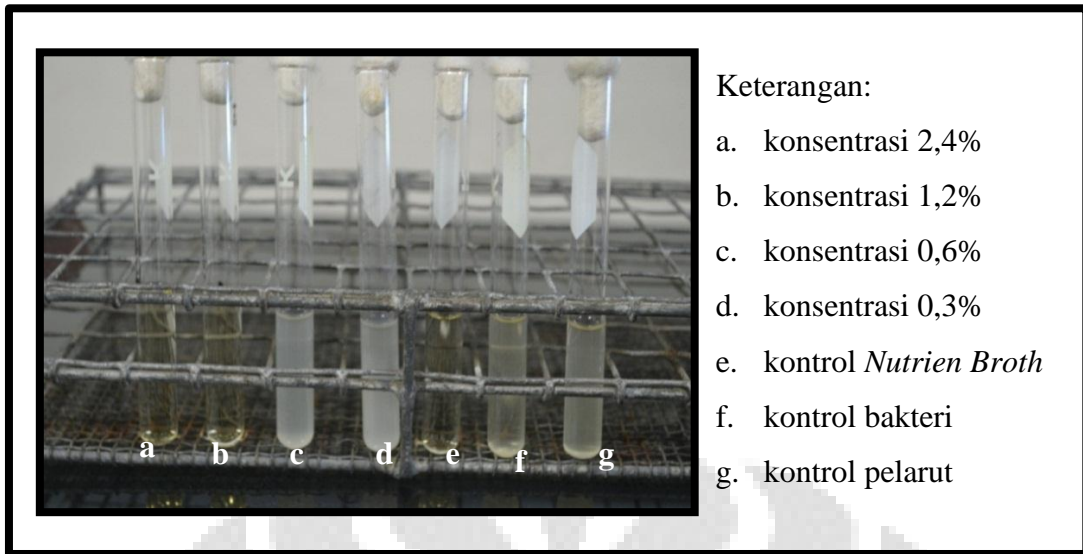
kriteria aktivitas antibakteri menurut Ambarwati, (2007) yaitu: lemah (< 5 mm), sedang (5-10 mm), kuat (10-19 mm), sangat kuat (> 20 mm).

Dari hasil pengukuran terhadap aktivitas antibakteri penyebab jerawat yaitu *P.acne*, *S.aureus* dan *S.epidermidis* dengan metode difusi menunjukkan semakin besar konsentrasi EPMS yang diujikan, maka semakin besar aktivitas antibakteri yang dihasilkan. Hal ini ditunjukkan dengan zona bening yang terbentuk disekitar cakram.

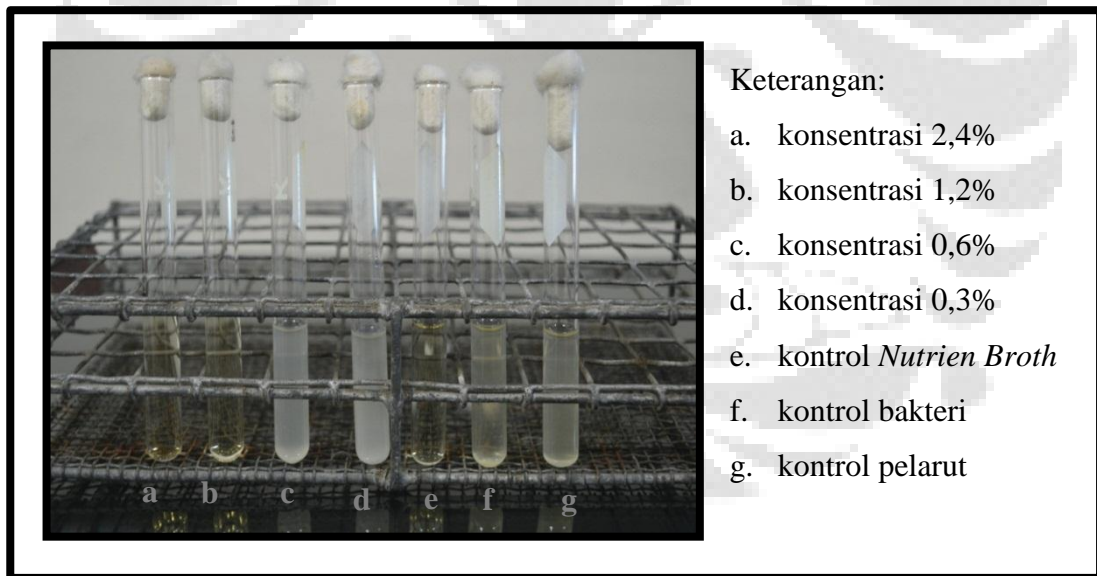
4.4.2 Metode Dilusi Cair

Pengujian dengan metode dilusi dilakukan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM), untuk memperkuat data aktivitas antibakteri. Pada metode dilusi cair, konsentrasi yang diujikan sama dengan pengujian difusi, yaitu konsentrasi 0,3; 0,6; 1,2; dan 2,4% kristal EPMS dibandingkan dengan 3 macam kontrol yaitu: media, bakteri, dan pelarut.

Dari hasil pengujian konsentrasi hambat minimum (KHM) dengan metode dilusi cair pada bakteri *S.aureus* dan *S.epidermidis* menunjukkan pada konsentrasi 1,2 dan 2,4% terlihat lebih jernih dibandingkan dengan konsentrasi 0,3 dan 0,6% (Gambar 4.12-4.13).



Gambar 4.12. Hasil Uji Metode Dilusi pada Bakteri *S.aureus*

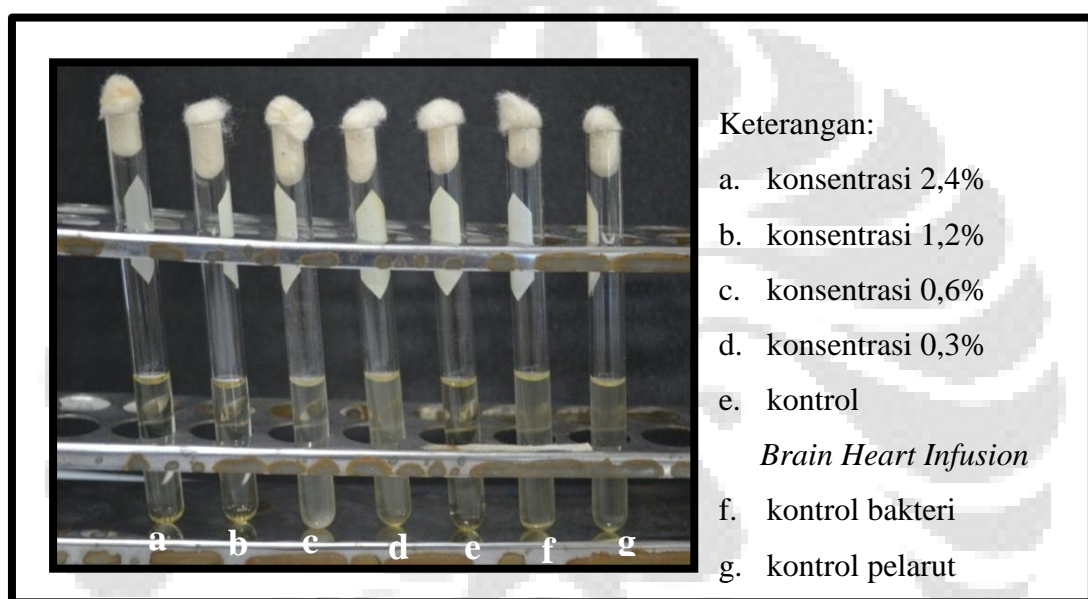


Gambar 4.13. Hasil Uji Metode Dilusi pada Bakteri *S.epidermidis*

Jika diamati berdasarkan hasil pengujian pada bakteri *P.acne*, tidak jauh berbeda dengan bakteri *S.aureus* dan *S.epidermidis*. Pada bakteri *P.acne*

konsentrasi 0,6; 1,2; dan 2,4% terlihat lebih jernih jika dibandingkan dengan konsentrasi 0,3% yang terlihat masih sedikit lebih keruh (Gambar 4.14).

Pengujian dengan metode dilusi menunjukkan bahwa semakin jernih konsentrasi uji dibandingkan dengan kontrol (bakteri dan pelarut), menandakan aktivitas antibakteri semakin besar. Namun dalam pengujian dengan metode dilusi agak sulit menentukan aktivitas antibakteri jika bahan aktif yang digunakan keruh, sehingga sulit dibedakan antara kekeruhan karena adanya aktivitas bakteri dan ekstrak.



Gambar 4.14. Hasil Uji Metode Dilusi pada Bakteri *P.acne*

Tabel 4.5. Hasil Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) EPMS dari Ekstrak Heksan Rimpang Kecur terhadap Bakteri

Jenis Perlakuan	Jenis Bakteri		
	<i>P.acne</i>	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermidis</i>
konsentrasi 0,3%	+	++	++
konsentrasi 0,6%	-	+	+
konsentrasi 1,2%	-	-	-
konsentrasi 2,4%	-	-	-

Keterangan: ++ : aktif (ada pertumbuhan), + : aktif (sedikit pertumbuhan),

- : tidak aktif (tidak ada pertumbuhan).

4.5 Formulasi dan Evaluasi Stabilitas Fisik Krim

Pembuatan formulasi krim anti jerawat dengan bahan aktif etil p-metoksi sinamat (EPMS), dipilih satu konsentrasi yaitu kadar EPMS 1,2%. Pemilihan konsentrasi EPMS 1,2% berdasarkan hasil uji aktivitas dari kriteria antibakteri Ambarwati., (2007) dan hasil analisis *ANOVA*, serta KHM dari uji metode dilusi cair. Bentuk sediaan krim yang mengandung EPMS dibuat karena lebih stabil dan dapat mengurangi bau dari kencur yang dominan (Siswanto, Rahayu, Utami., 2010).

Pada penelitian tidak dilakukan optimasi pada formulasi sediaan krim yang digunakan, karena pada penelitian ini hanya menggunakan satu konsentrasi yaitu 1,2% yang memiliki aktivitas antibakteri dan konsentrasi hambat minimum (KHM) secara signifikan berbeda nyata dari hasil analisis *ANOVA*.

Basis krim yang digunakan terdiri dari bahan-bahan pembuat krim, yaitu; asam stearat, setil alkohol, isopropil miristat, TEA, gliseril monostearat, propilen glikol, metilparaben, propilparaben, BHT dan aquades. Proses pembuatan krim dilakukan dengan melebur fase minyak dan dilanjutkan dengan memanaskan fase air. Fase minyak seperti asam stearat, setil alkohol, propilparaben, gliseril monosearat, isopropil miristat. Semua bahan pada fase minyak dipanaskan pada suhu 70°C hingga melebur, kemudian didiamkan hingga suhu 50°C. Selanjutnya, BHT ditambahkan dalam fase minyak dan diaduk hingga rata.

Bahan larut air berada pada fase air seperti propilen glikol, TEA, dan metilparaben. TEA dilarutkan terlebih dahulu dalam 10 mL aquades. Metilparaben dilarutkan dalam propilen glikol, kemudian TEA dicampurkan dan dimasukkan aquades lalu dihomogenkan. EPMS yang akan dibuat sediaan dilarutkan dengan sedikit etanol. Larutan EPMS dimasukkan ke dalam fase air. Lalu, fase minyak dicampur dengan fase air pada suhu yang sama hingga homogen dengan homogenizer pada kecepatan 3500 rpm. Krim yang dihasilkan disimpan dalam wadah tidak tembus cahaya. Kombinasi pengawet antara metilparaben dan propilparaben digunakan secara bersamaan untuk memperluas spektrum kedua pengawet tersebut (Rowe, Sheskey & Quinn., 2009).

4.5.1 Pengamatan Organoleptik

Berdasarkan hasil pengamatan organoleptik berupa bentuk dan warna kedua krim tersebut tidak jauh berbeda, tetapi sedikit perbedaan pada bau. Bentuk sediaan krim pada basis dan EPMS 1,2% termasuk dalam sediaan setengah padat. Jika diamati dari warna krim EPMS 1,2% memiliki warna sedikit keruh tipe 601 *White* pada panton warna, dibandingkan dengan krim basis yang terlihat lebih jernih tipe 604 *Brilliant White* (Lampiran 12). Bau yang dihasilkan dari krim EPMS 1,2% memiliki bau khas kencur, baik dari minggu 0-12 sedangkan pada krim basis berbau netral.

4.5.2 Pemeriksaan pH

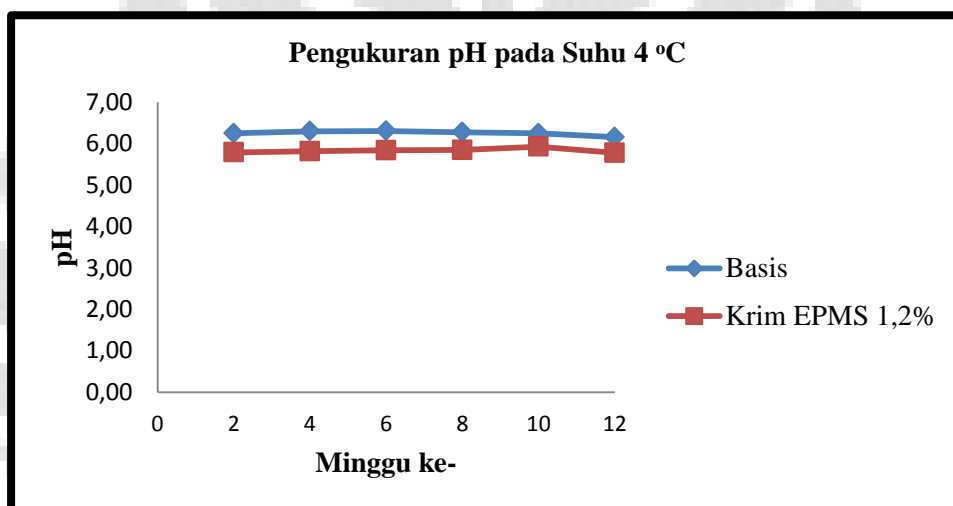
Penyimpanan krim dengan suhu berbeda mempengaruhi perubahan pH krim. Krim basis sebelum ditambahkan EPMS 1,2% memiliki nilai pH 6,46; setelah ditambahkan EPMS 1,2% pH krim menjadi 5,79. Penyimpanan krim pada suhu $4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 12 minggu pada krim basis memiliki nilai rata-rata pH mendekati netral yaitu 6,26 (Tabel 4.6). Jika dibandingkan dengan krim basis, krim yang mengandung EPMS 1,2% sedikit bersifat asam dengan nilai rata-rata pH 5,83 (Tabel 4.6). Begitu juga tidak jauh berbeda pH pada suhu $25^{\circ} \pm 2^{\circ}$ dan $40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama penyimpanan 12 minggu, rata-rata nilai pH krim basis mendekati netral (6,23 dan 5,91); dibandingkan dengan pH krim EPMS 1,2% yang sedikit bersifat asam (5,71 dan 5,50) (Tabel 4.6).

Tabel 4.6. Hasil Pengukuran pH pada Suhu yang Berbeda

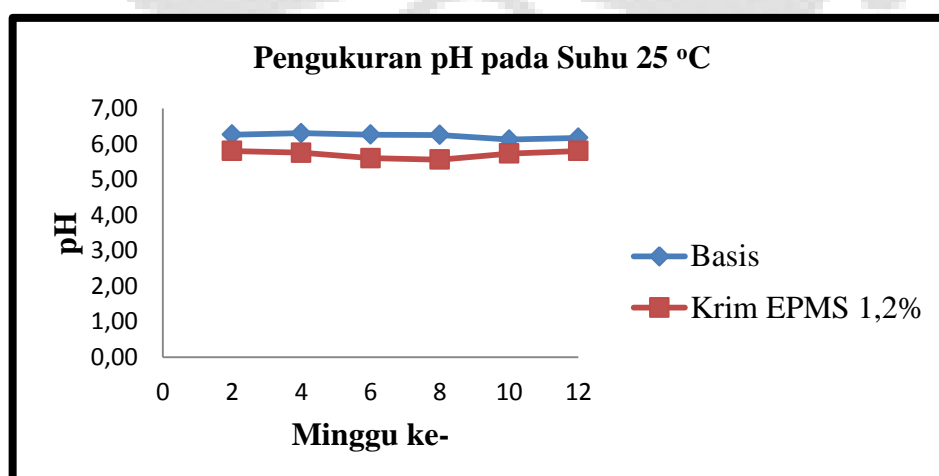
	pH pada suhu					
	4°C		25°C		40°C	
Minggu Ke	Basis	Krim 1,2%	Basis	Krim 1,2%	Basis	Krim 1,2%
0	-	-	6,46	5,79	-	-
2	6,25	5,79	6,26	5,80	6,07	5,55
4	6,30	5,82	6,30	5,75	6,18	5,58
6	6,31	5,84	6,26	5,60	5,84	5,43
8	6,28	5,85	6,25	5,56	5,79	5,43
10	6,25	5,93	6,12	5,73	5,77	5,52
12	6,16	5,78	6,17	5,80	5,79	5,50
Rata-rata	6,26	5,83	6,23	5,71	5,91	5,50

Penambahan konsentrasi EPMS 1,2% pada krim dapat mempengaruhi pH krim menjadi lebih asam jika dibandingkan dengan basis. Pada sediaan krim tipe minyak dalam air, sedikit penurunan pH pada krim dapat dipengaruhi oleh proses oksidasi pada krim selama penyimpanan 12 minggu. Pada krim tipe minyak dalam air, EPMS dalam krim terhidrolisis akibat kandungan air pada basis menjadi asam para metoksi sinamat (APMS) yang membuat krim EPMS 1,2% bersifat asam (Soeratri, Ifansyah, Fitrianingrum., 2005).

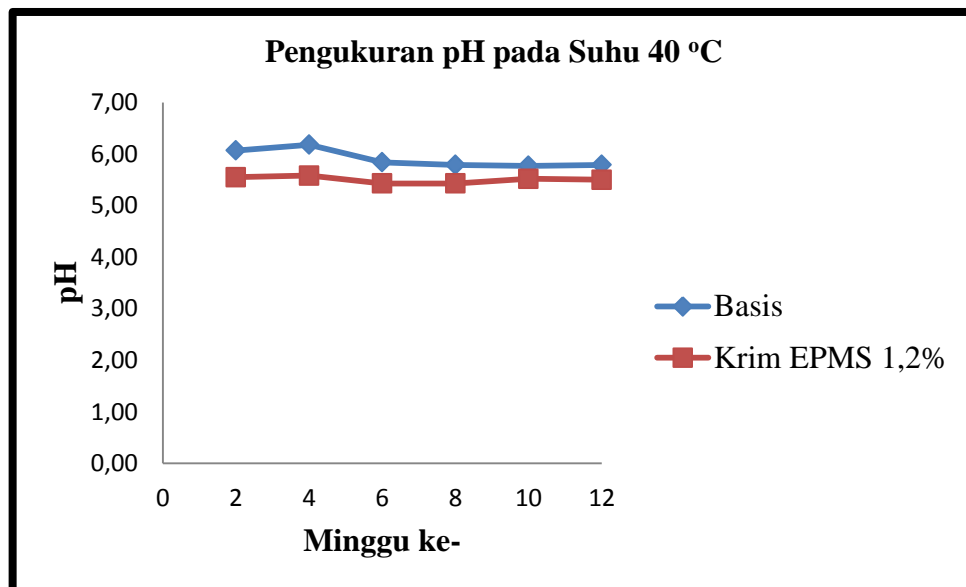
Perubahan sedikit pH yang terjadi pada krim yang mengandung EPMS 1,2% selama penyimpanan 12 minggu, dapat disimpulkan aman bagi kulit karena masih memiliki nilai pH yang sesuai dengan batas pH pada kulit yaitu 4,5-6,5.



Gambar 4.15. Kurva Perubahan pH pada Suhu 4°C



Gambar 4.16. Kurva Perubahan pH pada Suhu 25°C



Gambar 4.17. Kurva Perubahan pH pada Suhu 40°C

4.5.3 Diameter Globul

Berdasarkan pengamatan diameter globul, krim basis dan krim EPMS 1,2% selama penyimpanan 12 minggu terdapat perbedaan diameter globul pada suhu yang berbeda. Diameter globul berdasarkan nilai d_{90} dari data pengukuran PSA, menunjukkan penyimpanan basis krim disuhu 4, 25 dan 40°C adalah 30,58; 29,14 dan 42,48 μm . Sedangkan krim EPMS 1,2% disuhu 4, 25 dan 40°C adalah 37,92; 42,59 dan 42,43 μm . Nilai d_{90} dari hasil pengukuran PSA menunjukkan, 90% ukuran diameter globul dari krim. Penambahan EPMS 1,2% ke dalam krim menyebabkan diameter globul krim bertambah. Namun, penambahan diameter globul krim EPMS 1,2% dengan penyimpanan selama 12 minggu pada suhu yang berbeda masih termasuk dalam diameter dispersi kasar, yaitu 10-50 μm .

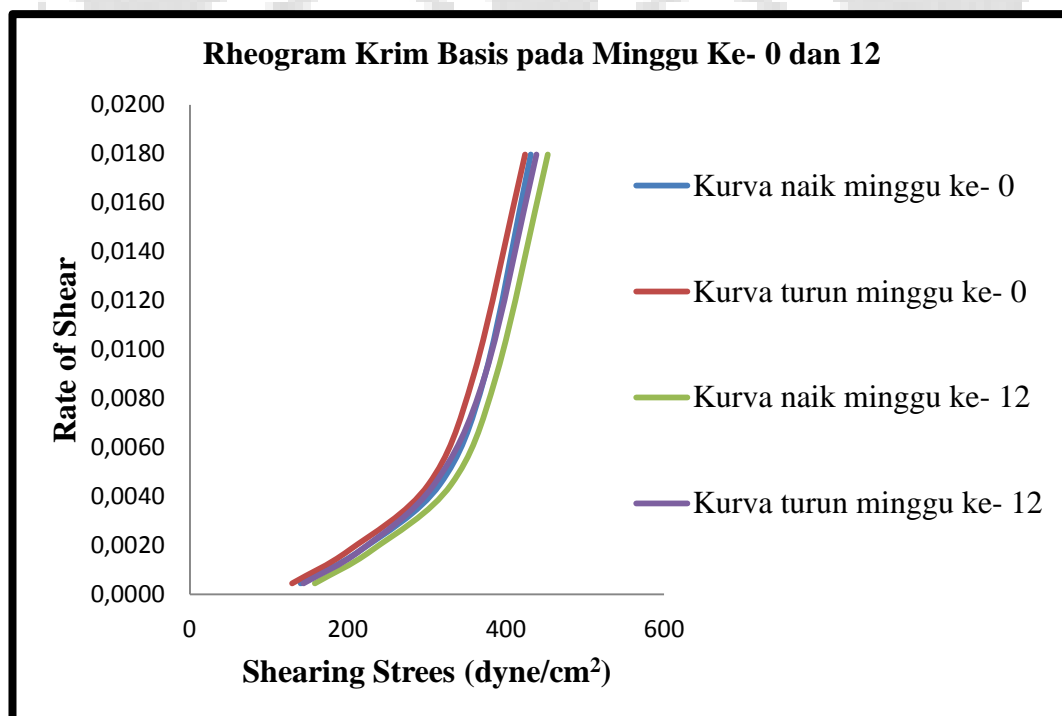
4.5.4 Pengukuran Viskositas dan Sifat Alir

Pengukuran viskositas (sifat alir) suatu sediaan krim dilakukan dengan menggunakan alat *Viskometer Brookfield* tipe *RV*. Krim basis dan krim yang mengandung EPMS 1,2% ekstrak heksan diuji dengan menggunakan spindel 5, pada kecepatan 0,5; 2; 4; 10 dan 20 rpm kemudian dilakukan dengan kecepatan

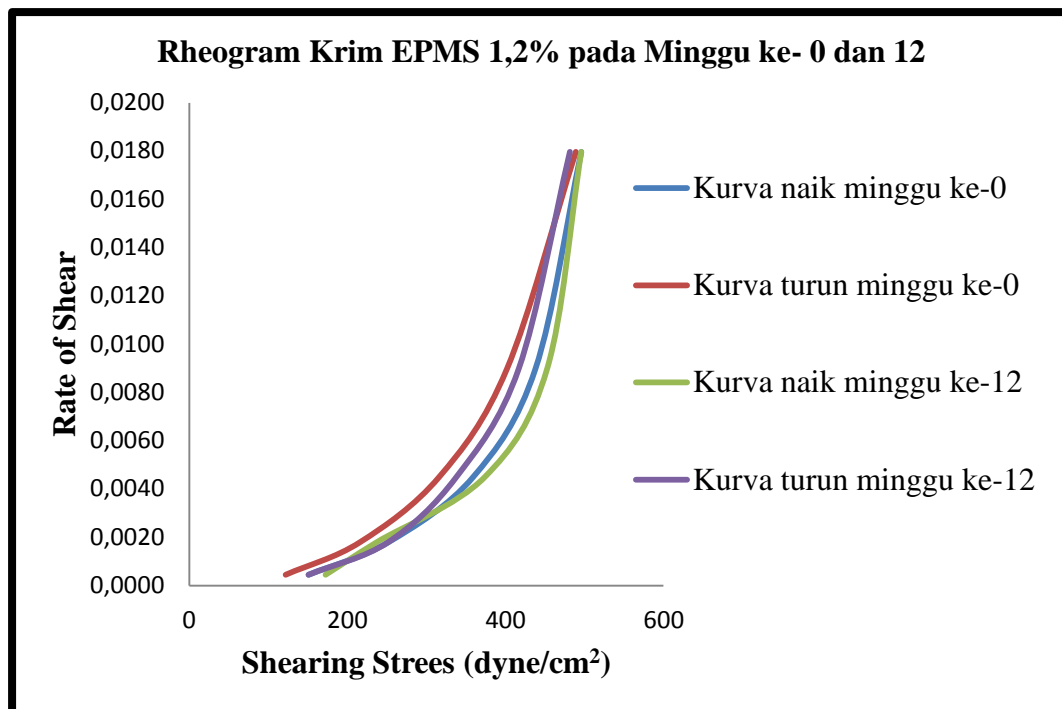
sebaliknya. Pengukuran dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-12 penyimpanan.

Berdasarkan pembacaan hasil rheogram sifat alir dari krim basis dan krim yang mengandung EPMS 1,2% dapat disimpulkan, bahwa kedua krim bersifat tiksotropik pseudoplastik. Ciri dari sifat alir ini, viskositas akan berkurang dengan meningkatnya kecepatan geser. Sediaan krim yang dihasilkan memiliki konsistensi tinggi dalam wadah, tetapi dengan mudah dituang dan dikeluarkan dari wadah serta jika digunakan akan lebih mudah menyebar (Martin, Swarbrick, Cammarata., 1993).

Rheogram yang dihasilkan pada krim basis dan krim yang mengandung EPMS 1,2% terlihat pada minggu ke-0 dan minggu ke-12 menandakan aliran tiksotropik dimana kurva mengalami kenaikan dan kurva turun berada di sebelah kiri kurva naik. Gejala ini dapat terjadi pada zat yang memiliki aliran pseudoplastik.



Gambar 4.18. Hasil Rheogram Krim Basis pada Minggu Ke-0 dan Minggu ke-12



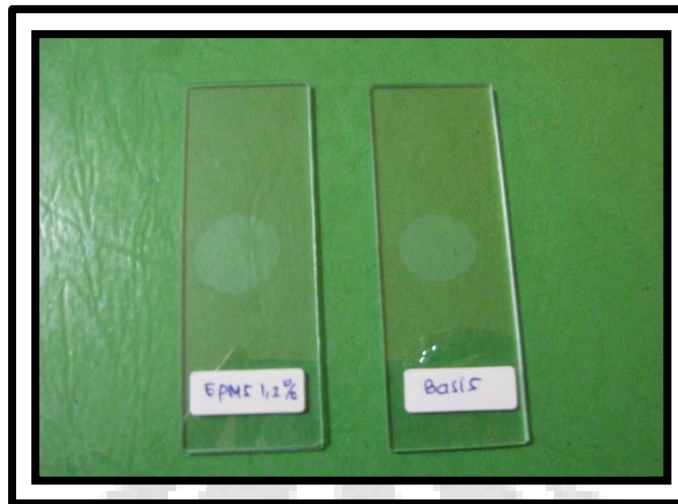
Gambar 4.19. Hasil Rheogram Krim EPMS 1,2% pada Minggu Ke-0 dan Minggu Ke-12

4.5.5 Uji Stabilitas Krim pada Suhu $4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$, suhu $25^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ dan $40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$

Berdasarkan hasil pengamatan pada krim basis dan krim yang mengandung EPMS 1,2% pada penyimpanan selama 12 minggu pada suhu $4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$, suhu $25^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ dan $40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ setelah diamati dari minggu ke-2 hingga minggu ke-12 tidak terjadi perubahan warna, bau dan bentuk (Lampiran 13).

4.5.6 Homogenitas

Hasil evaluasi secara fisik melalui uji homogenitas menunjukkan bahwa tidak terjadi perbedaan warna antara krim basis dan krim EPMS 1,2%. Namun pada konsentrasi 1,2% untuk bau, masih tercium sedikit bau kencur jika dibandingkan dengan krim basis. Dari hasil pemeriksaan homogenitas kedua krim tersebut menunjukkan hasil yang homogen secara fisik. Dalam formulasi krim dengan konsentrasi EPMS 1,2% dikatakan homogen secara fisik karena EPMS dari ekstrak heksan rimpang kencur telah tercampur dan terlarut secara sempurna dalam basis krim.

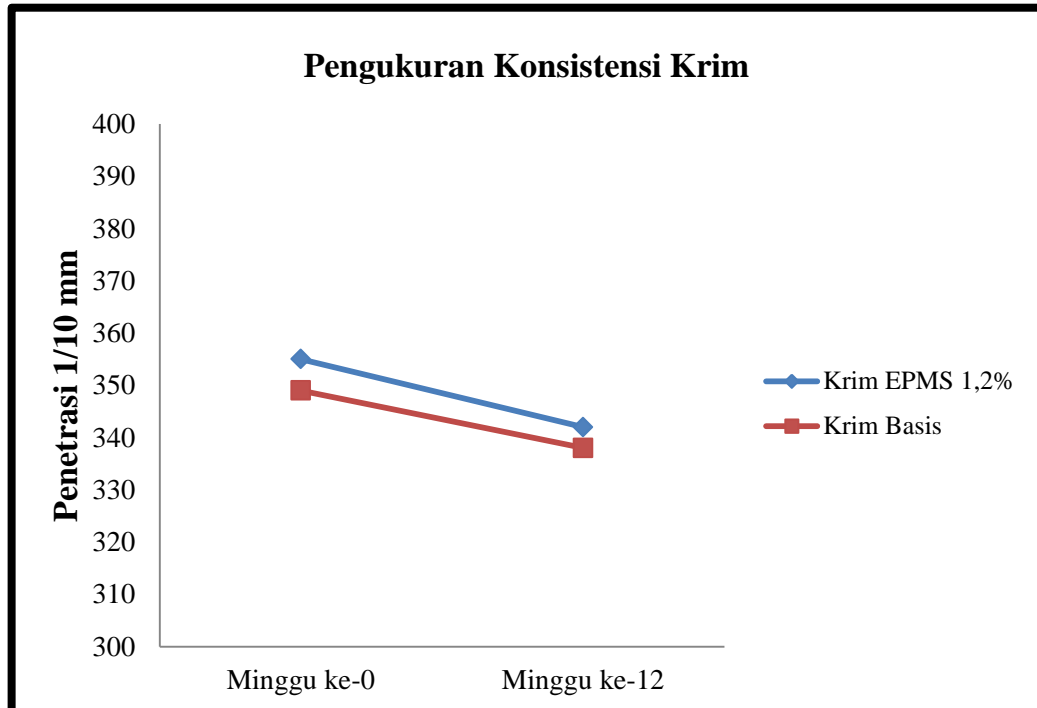


Gambar 4.20. Hasil Uji Homogenitas Krim EPMS 1,2% dan Krim Basis

4.5.7 Pengukuran Konsistensi

Konsistensi sediaan semisolid diukur dengan menggunakan alat penetrometer. Dari hasil pengukuran konsistensi pada krim basis dan krim EPMS 1,2% pada minggu ke-0 menunjukkan kedalaman penetrasi yaitu 349 1/10 mm pada krim basis dan 355 1/10 mm pada krim EPMS 1,2% (Tabel 4.7). Sedangkan pada minggu ke-12 terjadi penurunan dimana krim basis memiliki kedalaman penetrasi 338 1/10 mm dan krim EPMS 1,2% memiliki kedalaman penetrasi 342 1/10 mm. Berdasarkan pengukuran konsistensi menunjukkan kedua krim mengalami sedikit penurunan nilai konsistensi yang berarti menyebabkan sediaan krim menjadi lebih padat. Hal ini dapat dipengaruhi oleh krim tipe minyak dalam air, dimana kandungan air di dalam krim menguap.

Krim EPMS 1,2% jika dibandingkan dengan krim basis memiliki nilai kedalaman penetrasi yang lebih besar, sehingga dapat dikatakan penetrasi dari krim EPMS 1,2% lebih baik karena mudah tersebar ketika digunakan. Hal tersebut diduga dengan penambahan EPMS 1,2% pada krim dapat mempertahankan konsistensi krim. Selain itu dengan penggunaan bahan asam stearat pada emulsi minyak dalam air dapat meningkatkan stabilitas krim jika direaksikan dengan zat pengemulsi larut air. Pada pembuatan krim ini asam stearat direaksikan dengan TEA, sehingga meningkatkan stabilitas krim selama penyimpanan 12 minggu.



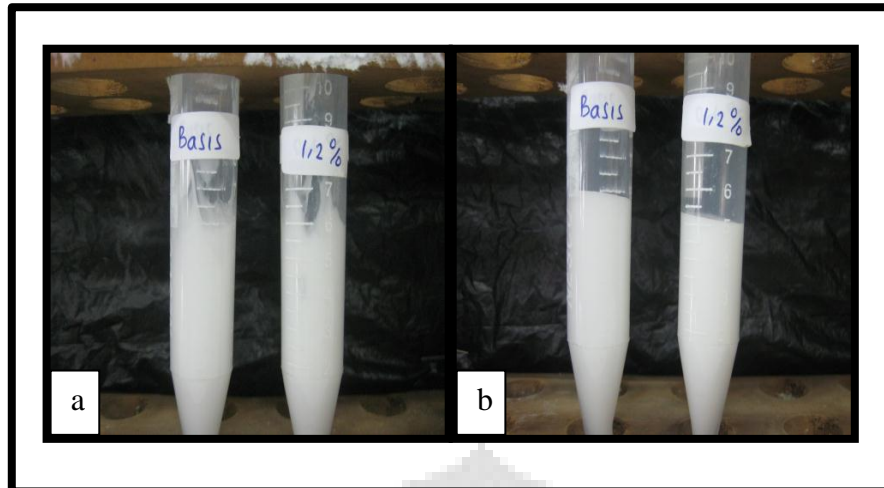
Gambar 4.21. Diagram Pengukuran Konsistensi Krim

Tabel 4.7. Hasil Pengukuran Konsistensi Krim

Konsentrasi	Minggu ke-0	Minggu ke-12
Krim EPMS 1,2%	355	342
Krim Basis	349	338

4.5.8 Uji Mekanik

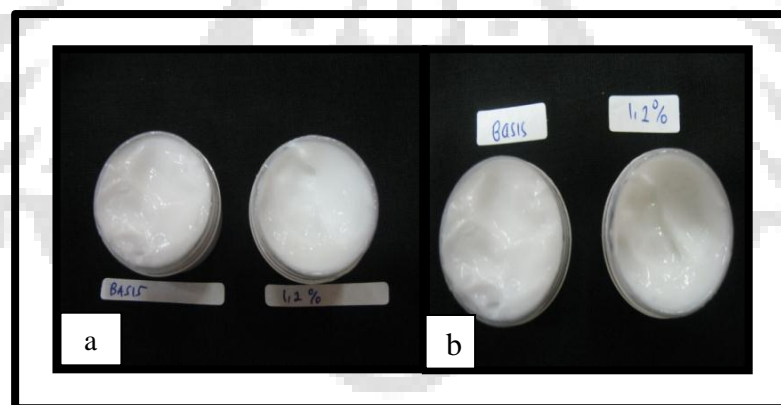
Berdasarkan hasil pengujian mekanik dengan kecepatan 5000-10.000 rpm yang dilakukan selama 30 menit, dari kedua krim tidak mengalami pemisahan fase (Gambar 4.22). Dengan demikian kedua fase dapat dikatakan memiliki stabilitas yang baik



Gambar 4.22. (a) Krim Sebelum Uji Mekanik; (b) Krim Setelah Uji Mekanik

4.5.9 *Cycling Test*

Cycling test merupakan uji yang dilakukan pada produk yang berupa emulsi sebagai indikator kestabilan emulsi, terhadap kemungkinan terbentuknya kristal atau pemisahan fase.



Gambar 4.23 (a) *Cycling test* pada suhu 4°C; (b) *Cycling test* pada suhu 40°C

Berdasarkan hasil pengamatan pada uji *cycling test*, kedua krim yaitu krim basis dan krim yang mengandung EPMS 1,2% memiliki stabilitas yang baik. Kedua sediaan krim setelah disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam, dan dilanjutkan disimpan pada suhu 40°C selama 24 jam (1 siklus), kemudian

dilakukan sebanyak 6 siklus kedua krim tidak mengalami pemisahan fase dan tidak terbentuk kristal .

4.6 Uji Keamanan Krim

Uji keamanan dilakukan dengan terlebih dahulu memberikan naskah dan penjelasan mengenai prosedur uji, efek samping dan hal tentang pengujian kepada subjek. Setelah mendapatkan persetujuan dari subjek yang memenuhi kriteria, kemudian subjek diminta untuk menandatangani *inform consent*.

Sebelum dilakukan uji keamanan (*Patch Test*) kristal EPMS yang didapat dari ekstrak heksan diuji terlebih dahulu apakah masih ada sisa pelarut heksan dikristal EPMS yang akan digunakan dalam sediaan. Dari hasil pengujian sisa pelarut, diketahui kandungan heksan dalam kristal dibawah 1 ppm (<0,0001%) atau tidak terdeteksi. Sehingga kristal EPMS yang digunakan aman dibuat sediaan topikal.

Uji keamanan (*patch test*) dilakukan selama 48 jam (2 hari), pada 15 subjek. Krim dioles pada area punggung bagian atas sebanyak ± 80 mg dengan 2 macam krim, yaitu krim basis dan krim EPMS 1,2%. Selanjutnya diamati pada 30 menit pertama, 24 jam berikutnya dan 48 jam, untuk mengetahui ada tidaknya reaksi iritasi alergi. Dari 15 subjek pada awal pengujian, hanya 12 subjek yang memenuhi kriteria inklusi hingga pengujian berakhir, 3 relawan dikatakan *drop out*, karena tidak datang ke tempat penelitian.

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap 12 subjek dengan didampingi dan dikonsultasikan oleh dokter, semua subjek dinyatakan aman karena tidak terjadi reaksi eritema dan edema (Lampiran 14).

Tabel 4.8. Hasil Uji Keamanan terhadap 12 Subjek

Subjek	Skor					
	30 menit		24 jam		48 jam	
	Basis	EPMS 1,2%	Basis	EPMS 1,2%	Basis	EPMS 1,2%
1	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0

$$pII = \frac{\text{Jumlah eritema dan edema jam ke 24 dan 48}}{\text{Jumlah relawan} \times \text{Jumlah waktu pengamatan}}$$

$$pII = 0$$

Dari hasil perhitungan pII menunjukkan bahwa krim basis dan krim yang mengandung EPMS 1,2% tidak menimbulkan eritema dan edema sehingga aman digunakan pada kulit sebagai sediaan topikal.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Etil p-metoksi sinamat (EPMS) dari ekstrak heksan rimpang kencur terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P.acne*, *S.aureus* dan *S.epidermidis* secara signifikan ($p < 0,01$) pada konsentrasi 0,3; 0,6; 1,2; dan 2,4 %. Senyawa EPMS dengan konsentrasi 0,6; 1,2 dan 2,4 % terbukti memiliki konsentrasi hambat minimum (KHM) terhadap bakteri *P.acne*, sedangkan pada *S.aureus* dan *S.epidermidis* pada konsentrasi 1,2 dan 2,4%.

Sediaan krim yang mengandung EPMS 1,2% berdasarkan hasil evaluasi dan uji stabilitas fisik, yang meliputi; pH, organoleptik, *cycling test*, viskositas, konsistensi, uji mekanik, homogenitas, dan stabilitas krim pada suhu 4 ± 2 ; 25 ± 2 dan $40 \pm 2^\circ\text{C}$ memiliki stabilitas fisik yang baik.

Hasil uji keamanan krim anti jerawat yang mengandung EPMS 1,2% terhadap 12 subjek melalui uji *patch test* dinyatakan aman bagi kulit dalam bentuk sediaan topikal.

5.2 Saran

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan uji stabilitas kimia krim yang mengandung kristal EPMS untuk mengetahui adanya perubahan sifat bahan aktif dari krim anti jerawat selama penyimpanan. Dan perlu adanya uji manfaat untuk membuktikan bahwa krim yang mengandung EPMS 1,2% terbukti secara klinis dapat mengatasi gangguan jerawat pada kulit.

DAFTAR ACUAN

- Ambarwati. (2007). Efektivitas Zat Antibakteri Biji Mimba (*Azadirachta indica*) untuk Menghambat Pertumbuhan *Salmonella thyposa* dan *Staphylococcus aureu*. *J. Biodiv*, 8, 320-325.
- Anggraini, dkk. (2010). Formulasi Krim Serbuk Getah Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) sebagai Anti Jerawat. *J. Far. Indo*, 42-47.
- Ansel. C. H. (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, Edisi ke 4*. Jakarta: UI Press.
- Ansel, Loyd, Nicholas. (1999). *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery System, Seventh Edition*. Philadelphia: A. Wolters Kluwer Company.
- Anwar, E. (2012). *Eksipien dalam Sediaan Farmasi Karakteristik dan Aplikasi*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Barus, R. (2009). Amidasi Etil P-Metoksi Sinamat yang Diisolasi dari Kencur (*Kaempferia galangal*). Tesis. Sekolah Pasca Sarjana Universitas Sumatra Utara.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. (2011). Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta.
- Brook, G.F., Butel, J.S., dan Morse, S.A. (2005). *Mikrobiologi Kedokteran*. (Mudihardi, Kuntaman et al, Penerjemah.). Jakarta: Salemba Medika.
- Cappucino dan Sherman. (2011). *Microbiology A. Laboratory Manual*. California: The Benjamin/ Cummings Publishing Company Inc. 16-19.
- Chan, et al. (2007). Antioxidant and Tyrosinase Inhibition Properties of Leaves and Rhizomes of Ginger Species. *J. Food Chem*, 109, 477–483.
- Colipa, the European Cosmetic, Toiletry and Perfumery Association. (1997). Product test guidelines for the assesment of human skin compatibility. European: Colipa.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2007). *Kebijakan Obat Tradisional Nasional*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hal: 54-58.
- Djajadisastra, J. (2003). *Cosmetic Stability*. Seminar Setengah Hari HIKI, Depok, Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.
- Djajadisastra, Mun'im, Dessy. (2009). Formulasi Gel Topikal dari Ekstrak *Nerri Folium* dalam Sediaan Anti Jerawat. *J. Far. Indo*, 4, 210 -216.
- Gholib, D. (2011). *Daya Antifungi Ekstrak Etanol Rimpang Kencur (Kaempferia galanga L.) terhadap Pertumbuhan Jamur Trichophyton verrucosum secara In Vitro*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor.
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia & Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. (K. Padmawinata & I. Sudiro, Penerjemah.) Bandung: Penerbit ITB.
- Harper, J.C. (2007). *Acne vulgaris*. Birmingham: Departement of dermatology, University of Alabama.
- Hasanah, dkk. (2011). Analisis Kandungan Minyak Atsiri dan Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia galangal L.*). *J. Mat & Sains*, 16, 147-152.
- Herbarium Bandungense (2013). Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati. Institut Teknologi Bandung. Oktober 4-10, 2013. <http://www.sith.itb.ac.id>.
- Hertiani, et al. (2010). *Kaempferia galanga L.* Rhizome As a Potential Dental Plaque Preventive Agent. *Indo. J. Cancer Chem*, 1, 19-25.
- Hidajati dan Suyatno. (2008). Sintesis Senyawa Tabir Matahari n-Oktil Para-Metoksi Sinamat Menggunakan Material Awal Etil Para-Metoksi Sinamat Hasil Isolasi dari Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga L.*). *J. Ilmu Dasar*, 9, 22-27.

- Jawetz, E., Melnik, E., Adelberg. (1995). *Mikrobiologi Kedokteran*. (E, Nugroho dan R.F Maulany, Penerjemah.) Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Karima, N. (2007). Profil Kromatogram Dan Aktivitas Antibakteri ekstrak etanol rimpang Lempuyang emprit terhadap *Escherichia coli* in vitro. Tesis. Fakultas Farmasi Universitas Diponegoro.
- Kresnawati dan Zainudin. (2009). Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri dari Derivat Metil Ekstrak Etanol Daun Gambir (*Uncaria gambir*). *J. Littri*, 15, 145-151.
- Kochuthressia, et al. (2012). In vitro antimicrobial evaluation of *Kaempferia galanga* L. rhizome extract. *J. Biotech. Mol. Sci.*, 2, 1-5.
- Lieberman, Rieger & Banker. (1988). *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Volume 1*. New York: Marcel Dekker.
- Martin, A, Swarbrick, Cammarata. (1993). *Farmasi Fisik (Dasar-Dasar Kimia Fisik dalam Ilmu Farmasetik)*, Edisi ke-3 (Joshita, Penerjemah.). Jakarta: UI-Press.
- Majeed, et al. (2004). *Fighting Acne and More: Effective Natural Approaches to Skin Care*. Cosmetics and Toiletries Manufacture Worldwide. USA: Sabinsa Corporation.
- Mangunwardoyo, et al. (2012). Antimicrobial and Identification of Active Compound *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *Inter. J. Basic & Applied Sci*, 12, 69-78.
- Mekseepralard, et al. (2010). Antimicrobial and Antioxidant Activities of Traditional Thai Herbal Remedies for Aphthous Ulcer. *J. Phytother. Res*, 24, 1514-1519.
- Miranti, L. (2009). Pengaruh Konsentrasi Minyak Atsiri Kencur (*Kaempferia galanga* L.) dengan Basis Salep Larut Air Terhadap Sifat Fisik Salep dan Daya Hambat Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara *In vitro*. Tesis. Fakultas Farmasi. Univertis Muhammadiyah Surakarta.
- Mitsui, T. (1997). *New Cosmetic Science*. Amsterdam: Elsevier Science.

- Noorhamdani, dkk. (2012). Uji Efektifitas Etanol Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* Linn) sebagai Antimikroba terhadap Bakteri *Salmonella typhi* secara *In vitro*. *J. Penel. Miro dan Fisio*.
- Nugraha, Siadi dan Sudarmin. (2012). Uji Antimikroba Etil p-Metoksi Sinamat dari Rimpang Kencur terhadap *Bacillus subtilis*. *Indo. J. Chem. Sci.* 1, 147-151.
- Nursal, dkk. (2006). Bioaktivitas Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale* Roxb.) dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri *E. coli* dan *B. subtilis*. *J. Biogenesis*, 2, 64-66.
- Oktaviani, R. (2007). Profil Kromatogram dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Lempuyang Gajah (*Zingiber zerumbet*, Sm) terhadap Bakteri *Escherichia coli* *In vitro*. Tesis. Universitas Diponegoro.
- Pratiwi, ST. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Purwanti, dkk. (2002). Potensi Penghambatan Minyak Atsiri dan Ekstrak Kasar Rimpang Lempuyang (*Zingiber* spp.) terhadap Pertumbuhan *Fusarium oxysporum* Schlecht f.sp. *cubense*. *J. Biofarm*, 1, 58-64.
- Rajendra, et al. (2011). Phytochemical Screening of The Rhizome of *Kaempferia galanga*. *Inter. J. Pharm and Phyto Res*, 3, 61-63.
- Rowe, Shesky, & Quinn. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients 6th Ed.* London : American Pharmaceutical Association.
- Rudyanto, M dan Hartanti, L. (2008). Sintesis Beberapa Turunan Asam Sinamat Pengaruh Gugus yang Terkait pada Cincin Aromatik terhadap Kereaktifan Benzaldehida. *Indo. J. Chem*, 8, 226-230.
- Sawarkar, et al. (2010). Development and Biological Evaluation of Herbal Anti-Acne Gel. *Inter. J. PharmTech Res*, 2, 2028-2031.
- Setyawan, dkk. (2012). Optimasi Yield Etil P-Metoksisinamat Pada Ekstraksi Oleoresin Kencur (*Kaempferia galanga*) Menggunakan Pelarut Etanol. *J. Bahan Alam Terbarukan*, 1, 31-38.
- Setyorini, A. (2002). Study Potensi Kebangkrutan Publik Di Bursa Efek Jakarta Tahun 1996-1998. *J. Keb. Obat Tradisional Nas*.

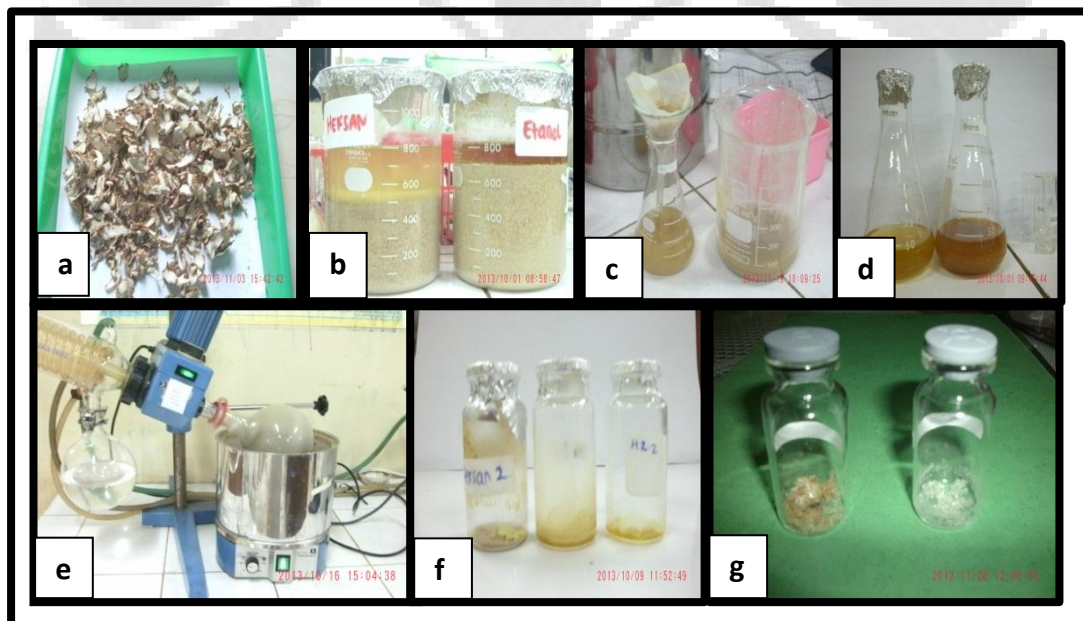
- Simatupang. (2013). *Pyogenicococi Mikrobiologi*. Sumatra Utara: Buku Kedokteran.
- Siswanto, Rahayu, Utami. (2010). Formulasi Krim Tabir Surya Ekstrak Etanol Rimpang Kencur (*Kaempferia galangal* L). *J. Ilmiah Far.*
- Soeratri, Ifansyah, Fitrianingrum. (2005). Penentuan Stabilitas Sediaan Krim Tabir Surya dari Bahan Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia galangal* L). *J. Berk. Penel. Hayati*, 10, 103–105.
- Strauss et al., (2007). Guidelines of care for acne vulgaris management. *J. Am. Acad. Dermatol*, 56, 651-663.
- Suardi, dkk. (2008). Formulasi dan Uji Klinik Gel Anti Jerawat Benzoin Peroksida-HPMC. *J. Far. Indo.*
- Suhariyanto, B. (2011). Antibiotik Topikal Untuk Penyakit Kulit Pada Wisatawan. Jember: Buku Kedokteran.
- Sulaksmono, M. (2000). Keuntungan dan Kerugian Patch Test (Uji Tempel) Dalam Upaya Menegakkan Diagnosa Penyakit Kulit Akibat Kerja (Occupational Dermatitis). *J. Kes. Masy*, 1-6.
- Sutono, T. (2013). Efektivitas Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Gracinia mangostana* L) Meredam Stres Oksidatif Penderita Jerawat (*Acne vulgaris*) Derajat Ringan dan Sedang pada Siswa Di Asrama Akademi Perawat Di Jakarta. Tesis. Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.
- Taufikurohmah, Rusmini dan Nurhayati. (2008). *Sintesis Etil P-Metoksisinamil P Metoksisinamat Hasil Isolasi Rimpang Kencur (Kaempferia galanga L.)*. Seminar Nasional Kimia Unesa. Surabaya.
- Tilaar. (2010). *The Green Science of Jamu*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Trease and Evans. (1989). *A Textbook of Pharmacognosy, 8th Edition*. London : Baillire, Tindal and Cox.
- Umar, et al. (2011). Phytochemistry and medicinal properties of *Kaempferia galanga* L. (*Zingiberaceae*) extracts. *Af. J. Phar and Pharm*, 5, 1638-1647.
- Wasitaatmadja, S.M. (1997). *Penuntun ilmu kosmetik medik*. Jakarta: UI- Press.
- Yuindartanto, A. (2009). *Acne vulgaris*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.

Lampiran 1. Gambar Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.) yang Diperoleh dari Perkebunan Kencur



Keterangan : (a) Tanaman Kencur; (b) Rimpang Kencur; (c) Rimpang Kencur dan Daun

Lampiran 2. Proses Ekstraksi dan Pencucian Kristal EPMS



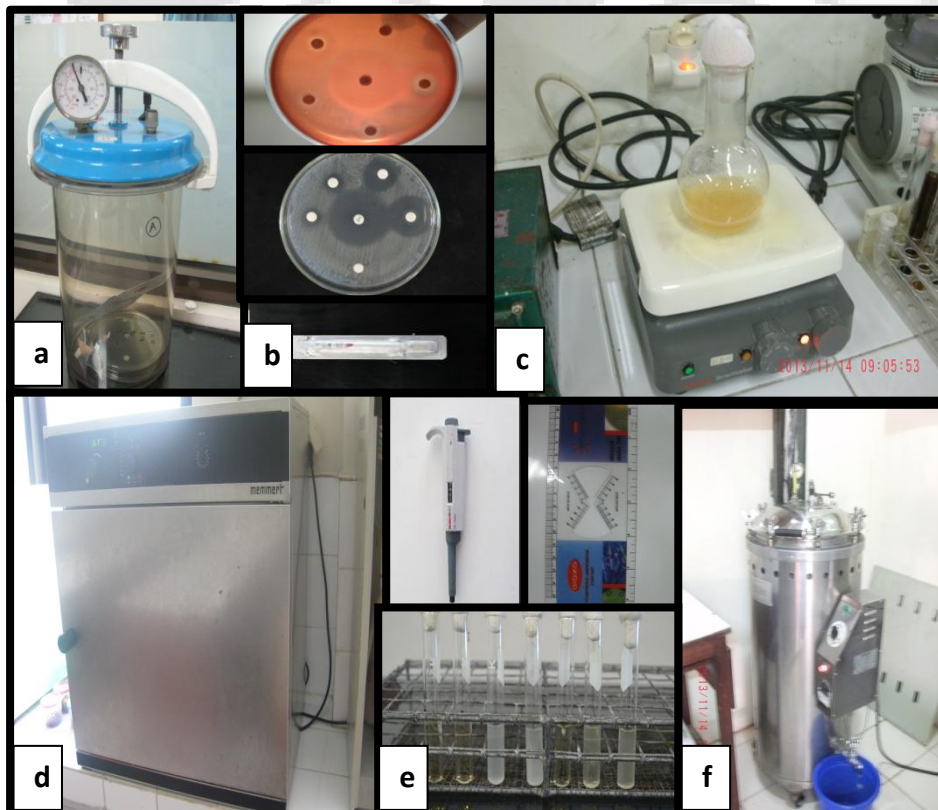
Keterangan : (a) Simplisia Rimpang Kencur; (b) Maserasi Serbuk Kencur; (c) Penyaringan Maserat; (d) Maserat setelah Disaring; (e) Proses Evaporasi; (f) Filtrat yang telah Diuapkan; (g) Kristal EPMS Sebelum dan Setelah Dicuci

Lampiran 3. Alat *Differential Scanning Calorimetry* (DSC)



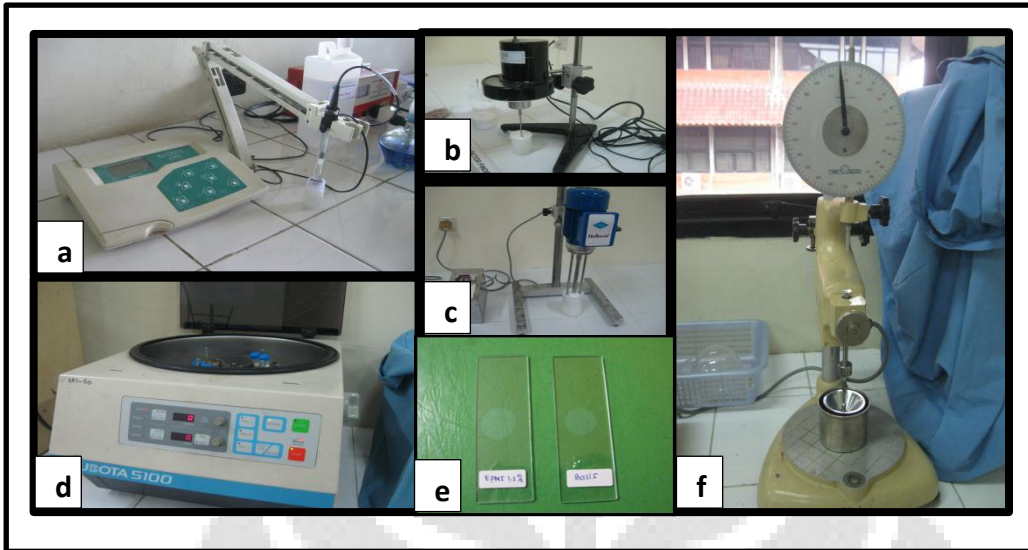
Keterangan : Mengukur Titik Leleh Senyawa

Lampiran 4. Peralatan yang Digunakan pada Uji Bakteri



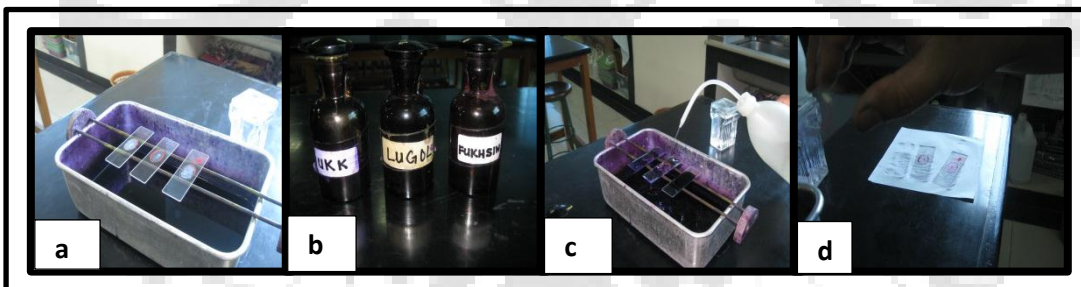
Keterangan : (a) Anaerob Jar; (b) Cawan Petri dan Klindamisin; (c) Pemanas dan Labu Duduk; (d) Inkubator; (e) Mikropipet, Penggaris dan Tabung Reaksi; (f) Autoklaf

Lampiran 5. Gambar Peralatan yang Digunakan pada Uji Stabilitas Krim



Keterangan : (a) pH Meter; (b) Viskometer; (c) Homogenizer; (d) Sentrifugator; (e) Kaca Objek; (f) Penetrometer

Lampiran 6. Gambar Alat dan Bahan Penapisan Bakteri Uji

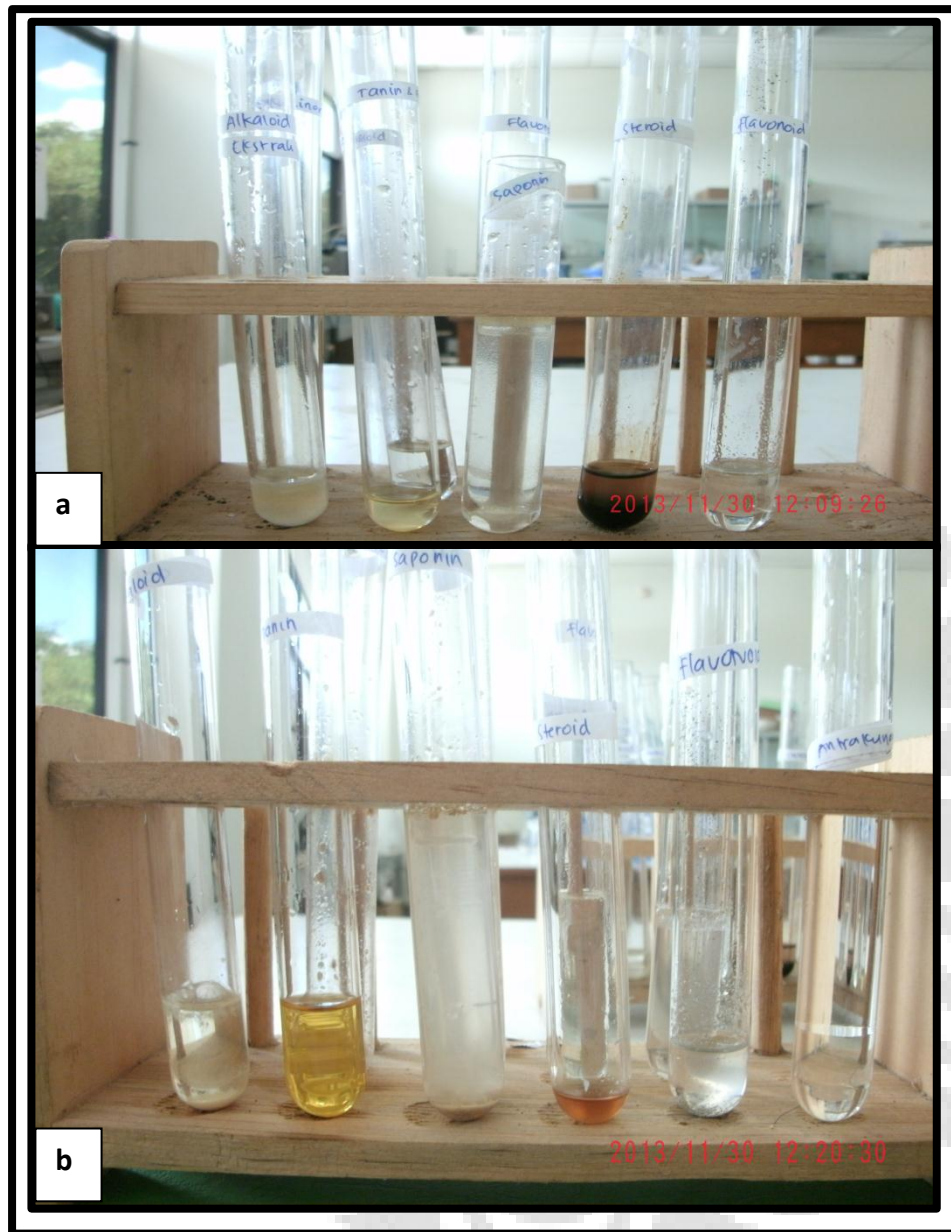


Keterangan : (a) Bakteri Uji yang akan Ditetesi Pewarna; (b) Pewarna Bakteri; (c) Pencucian; (d) Bakteri yang akan Diamati

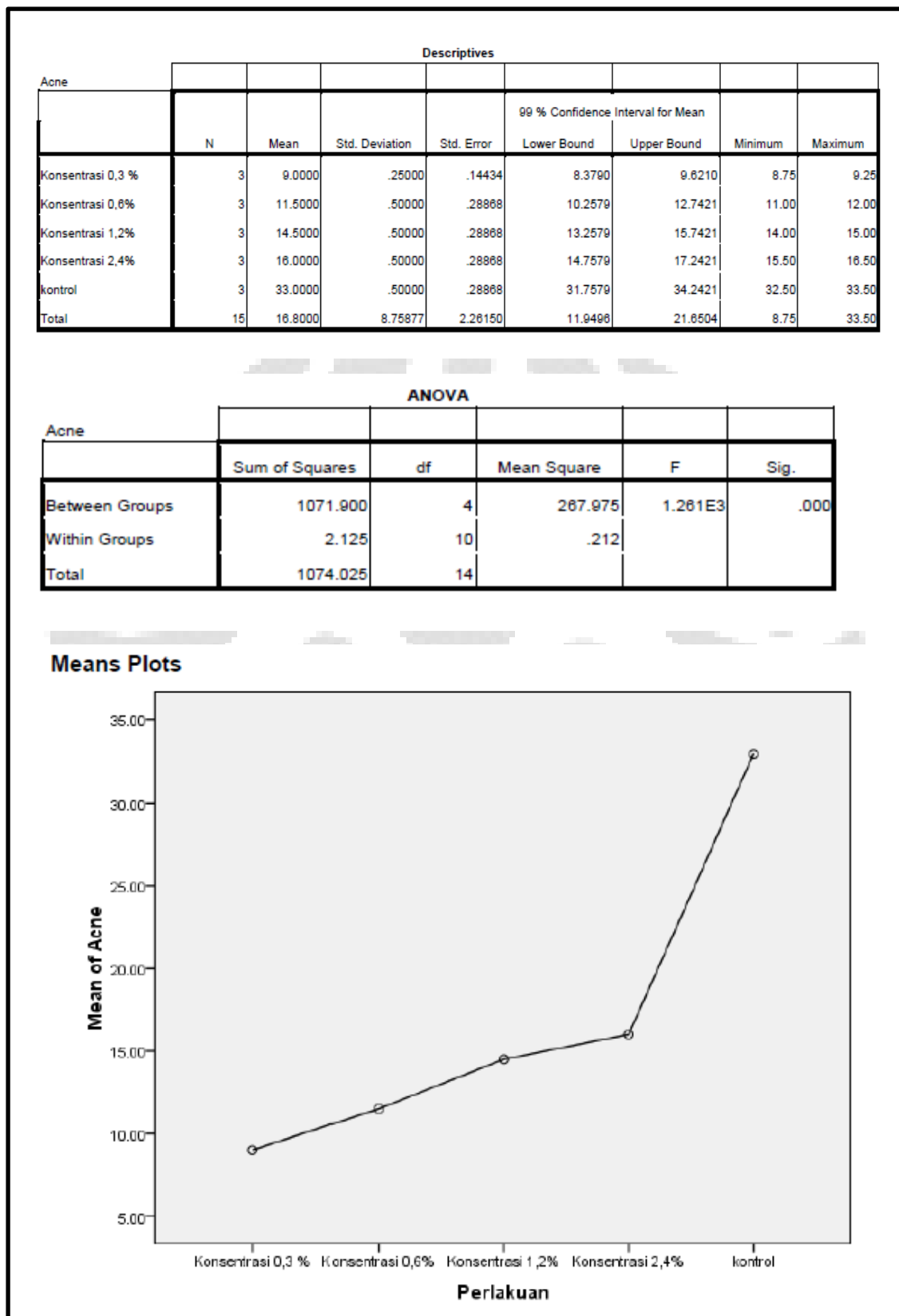
Lampiran 7. Gambar Alat dan Bahan Uji Keamanan Patch Test



Keterangan : (a) Alkohol, Gunting, Kapas dan Perban; (b) Krim Uji; (c) Plester Hipoalergenik

Lampiran 8. Gambar Hasil Penapisan Fitokimia

Keterangan : (a) Penapisan Fitokimia pada Ekstrak; (b) Penapisan Fitokimia pada Simplisia

Lampiran 9. Tabel Hasil Analisis SPSS Uji Bakteri *P.acne*

Lampiran 9. (Lanjutan)

Post Hoc Tests							
Multiple Comparisons							
Dependent Variable: Acne							
	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	Konsentrasi 0,3 %	Konsentrasi 0,6%	-2.50000 [*]	.37639	.000	-3.6929	-1.3071
		Konsentrasi 1,2%	-5.50000 [*]	.37639	.000	-6.6929	-4.3071
		Konsentrasi 2,4%	-7.00000 [*]	.37639	.000	-8.1929	-5.8071
		kontrol	-24.00000 [*]	.37639	.000	-25.1929	-22.8071
	Konsentrasi 0,6%	Konsentrasi 0,3 %	2.50000 [*]	.37639	.000	1.3071	3.6929
		Konsentrasi 1,2%	-3.00000 [*]	.37639	.000	-4.1929	-1.8071
		Konsentrasi 2,4%	-4.50000 [*]	.37639	.000	-5.6929	-3.3071
		kontrol	-21.50000 [*]	.37639	.000	-22.6929	-20.3071
	Konsentrasi 1,2%	Konsentrasi 0,3 %	5.50000 [*]	.37639	.000	4.3071	6.6929
		Konsentrasi 0,6%	3.00000 [*]	.37639	.000	1.8071	4.1929
		Konsentrasi 2,4%	-1.50000 [*]	.37639	.003	-2.6929	-.3071
		kontrol	-18.50000 [*]	.37639	.000	-19.6929	-17.3071
	Konsentrasi 2,4%	Konsentrasi 0,3 %	7.00000 [*]	.37639	.000	5.8071	8.1929
		Konsentrasi 0,6%	4.50000 [*]	.37639	.000	3.3071	5.6929
		Konsentrasi 1,2%	1.50000 [*]	.37639	.003	.3071	2.6929
	kontrol	kontrol	-17.00000 [*]	.37639	.000	-18.1929	-15.8071
Konsentrasi 0,3 %		24.00000 [*]	.37639	.000	22.8071	25.1929	
Konsentrasi 0,6%		21.50000 [*]	.37639	.000	20.3071	22.6929	
Konsentrasi 1,2%		18.50000 [*]	.37639	.000	17.3071	19.6929	
Konsentrasi 2,4%		17.00000 [*]	.37639	.000	15.8071	18.1929	

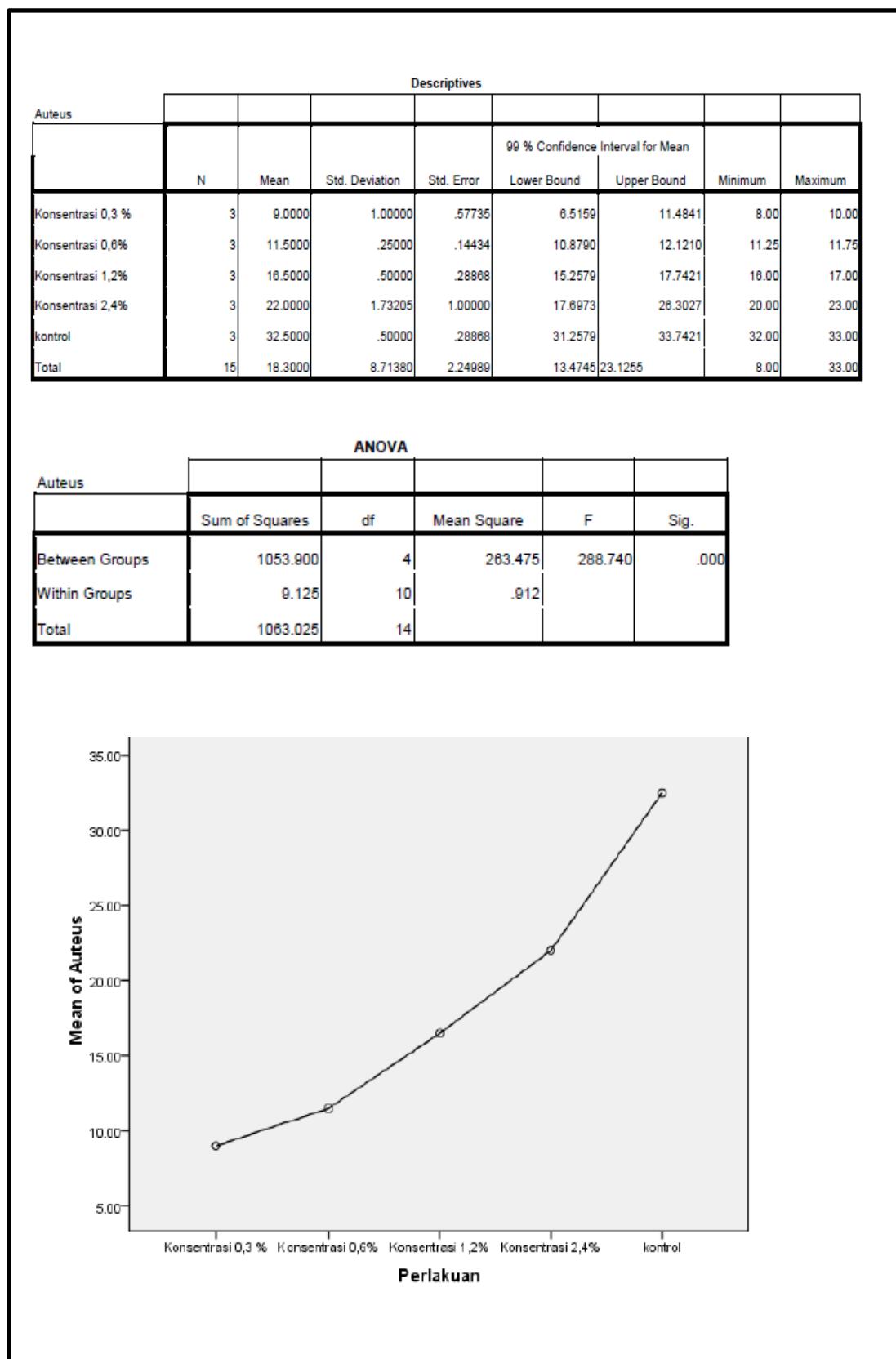
*. The mean difference is significant at the 0.01 level.

Homogeneous Subsets

Acne						
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.01				
		1	2	3	4	5
Duncan ^a						
Konsentrasi 0,3 %	3	9.0000				
Konsentrasi 0,6%	3		11.5000			
Konsentrasi 1,2%	3			14.5000		
Konsentrasi 2,4%	3				16.0000	
kontrol	3					33.0000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 10. Tabel Hasil Analisis SPSS Uji Bakteri *S.aureus*

Lampiran 10. (Lanjutan)

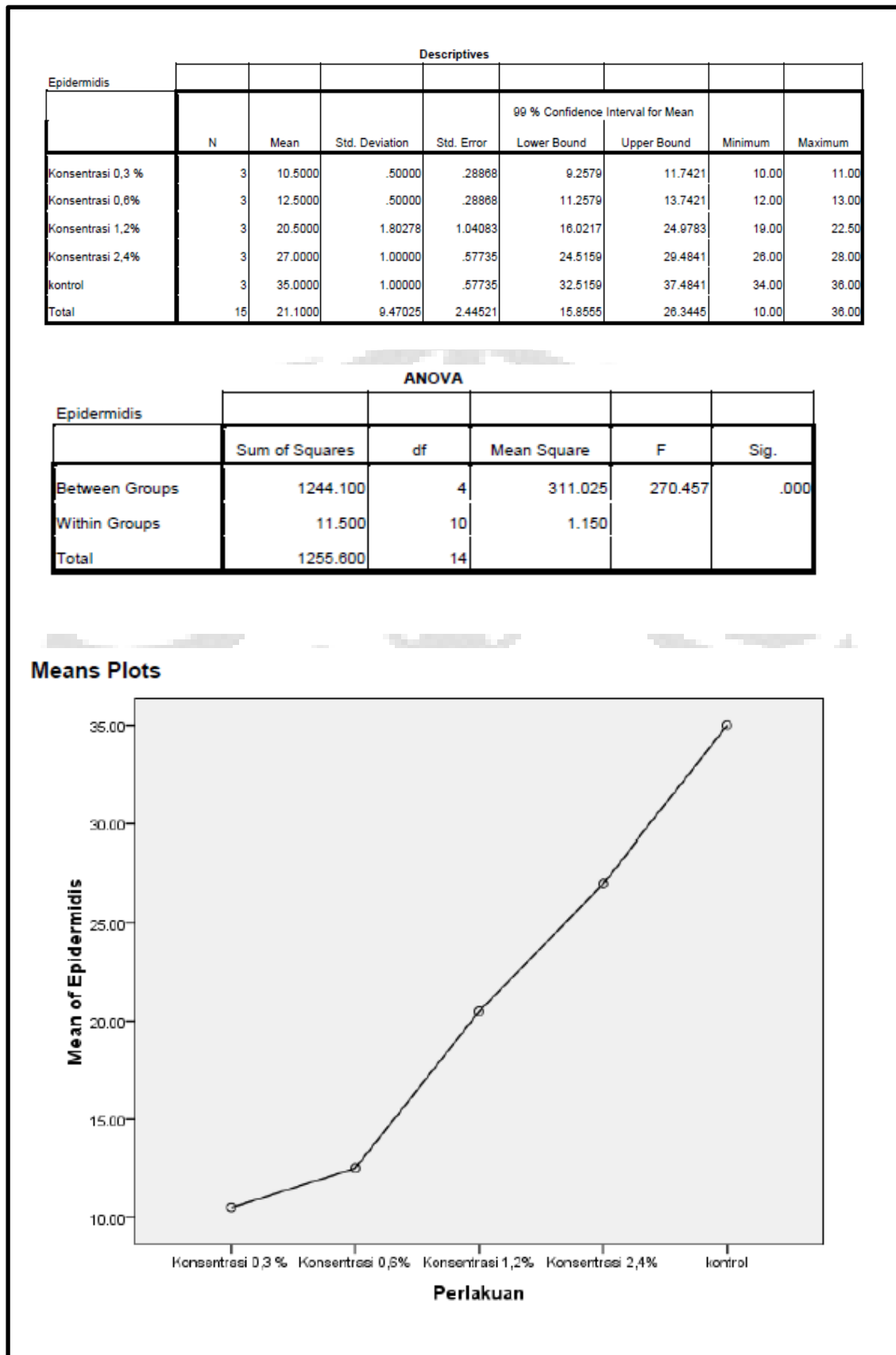
Post Hoc Tests							
Multiple Comparisons							
Dependent Variable: Aureus							
	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	Konsentrasi 0,3 %	Konsentrasi 0,6%	-2.50000	.77996	.009	-4.9719	-.0281
		Konsentrasi 1,2%	-7.50000	.77996	.000	-9.9719	-5.0281
		Konsentrasi 2,4%	-13.00000	.77996	.000	-15.4719	-10.5281
		kontrol	-23.50000	.77996	.000	-25.9719	-21.0281
	Konsentrasi 0,6%	Konsentrasi 0,3 %	2.50000	.77996	.009	.0281	4.9719
		Konsentrasi 1,2%	-5.00000	.77996	.000	-7.4719	-2.5281
		Konsentrasi 2,4%	-10.50000	.77996	.000	-12.9719	-8.0281
		kontrol	-21.00000	.77996	.000	-23.4719	-18.5281
	Konsentrasi 1,2%	Konsentrasi 0,3 %	7.50000	.77996	.000	5.0281	9.9719
		Konsentrasi 0,6%	5.00000	.77996	.000	2.5281	7.4719
		Konsentrasi 2,4%	-5.50000	.77996	.000	-7.9719	-3.0281
		kontrol	-16.00000	.77996	.000	-18.4719	-13.5281
	Konsentrasi 2,4%	Konsentrasi 0,3 %	13.00000	.77996	.000	10.5281	15.4719
		Konsentrasi 0,6%	10.50000	.77996	.000	8.0281	12.9719
		Konsentrasi 1,2%	5.50000	.77996	.000	3.0281	7.9719
		kontrol	23.50000	.77996	.000	21.0281	25.9719
kontrol	Konsentrasi 0,3 %	23.50000	.77996	.000	21.0281	25.9719	
	Konsentrasi 0,6%	21.00000	.77996	.000	18.5281	23.4719	
	Konsentrasi 1,2%	16.00000	.77996	.000	13.5281	18.4719	
	Konsentrasi 2,4%	10.50000	.77996	.000	8.0281	12.9719	

*. The mean difference is significant at the 0.01 level.

Homogeneous Subsets						
Aureus						
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.01				
		1	2	3	4	5
Duncan ^a						
Konsentrasi 0,3 %	3	9.0000				
Konsentrasi 0,6%	3		11.5000			
Konsentrasi 1,2%	3			16.5000		
Konsentrasi 2,4%	3				22.0000	
kontrol	3					32.5000
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Lampiran 11. Tabel Hasil Analisis SPSS Uji Bakteri *S.epidermidis*

Lampiran 11. (Lanjutan)

Post Hoc Tests								
Multiple Comparisons								
Dependent Variable: Epidemidis								
	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	99% Confidence Interval		
						Lower Bound	Upper Bound	
LSD	Konsentrasi 0,3 %	Konsentrasi 0,6%	-2.00000	.87500	.045	-4.7750	.7750	
		Konsentrasi 1,2%	-10.00000	.87500	.000	-12.7750	-7.2250	
		Konsentrasi 2,4%	-16.50000	.87500	.000	-19.2750	-13.7250	
		kontrol	-24.50000	.87500	.000	-27.2750	-21.7250	
	Konsentrasi 0,6%	Konsentrasi 0,3 %	2.00000	.87500	.045	-.7750	4.7750	
		Konsentrasi 1,2%	-8.00000	.87500	.000	-10.7750	-5.2250	
		Konsentrasi 2,4%	-14.50000	.87500	.000	-17.2750	-11.7250	
		kontrol	-22.50000	.87500	.000	-25.2750	-19.7250	
	Konsentrasi 1,2%	Konsentrasi 0,3 %	10.00000	.87500	.000	7.2250	12.7750	
		Konsentrasi 0,6%	8.00000	.87500	.000	5.2250	10.7750	
		Konsentrasi 2,4%	-6.50000	.87500	.000	-9.2750	-3.7250	
		kontrol	-14.50000	.87500	.000	-17.2750	-11.7250	
	Konsentrasi 2,4%	Konsentrasi 0,3 %	16.50000	.87500	.000	13.7250	19.2750	
		Konsentrasi 0,6%	14.50000	.87500	.000	11.7250	17.2750	
	kontrol	Konsentrasi 1,2%	Konsentrasi 0,3 %	6.50000	.87500	.000	3.7250	9.2750
			kontrol	-8.00000	.87500	.000	-10.7750	-5.2250
Konsentrasi 0,3 %		Konsentrasi 0,6%	24.50000	.87500	.000	21.7250	27.2750	
		Konsentrasi 1,2%	22.50000	.87500	.000	19.7250	25.2750	
Konsentrasi 0,6%		Konsentrasi 1,2%	14.50000	.87500	.000	11.7250	17.2750	
		Konsentrasi 2,4%	8.00000	.87500	.000	5.2250	10.7750	

*. The mean difference is significant at the 0.01 level.

Homogeneous Subsets

Epidemidis						
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.01				
		1	2	3	4	
Duncan ^a	Konsentrasi 0,3 %	3	10.5000			
	Konsentrasi 0,6%	3	12.5000			
	Konsentrasi 1,2%	3		20.5000		
	Konsentrasi 2,4%	3			27.0000	
	kontrol	3				35.0000
	Sig.		.045	1.000	1.000	1.000

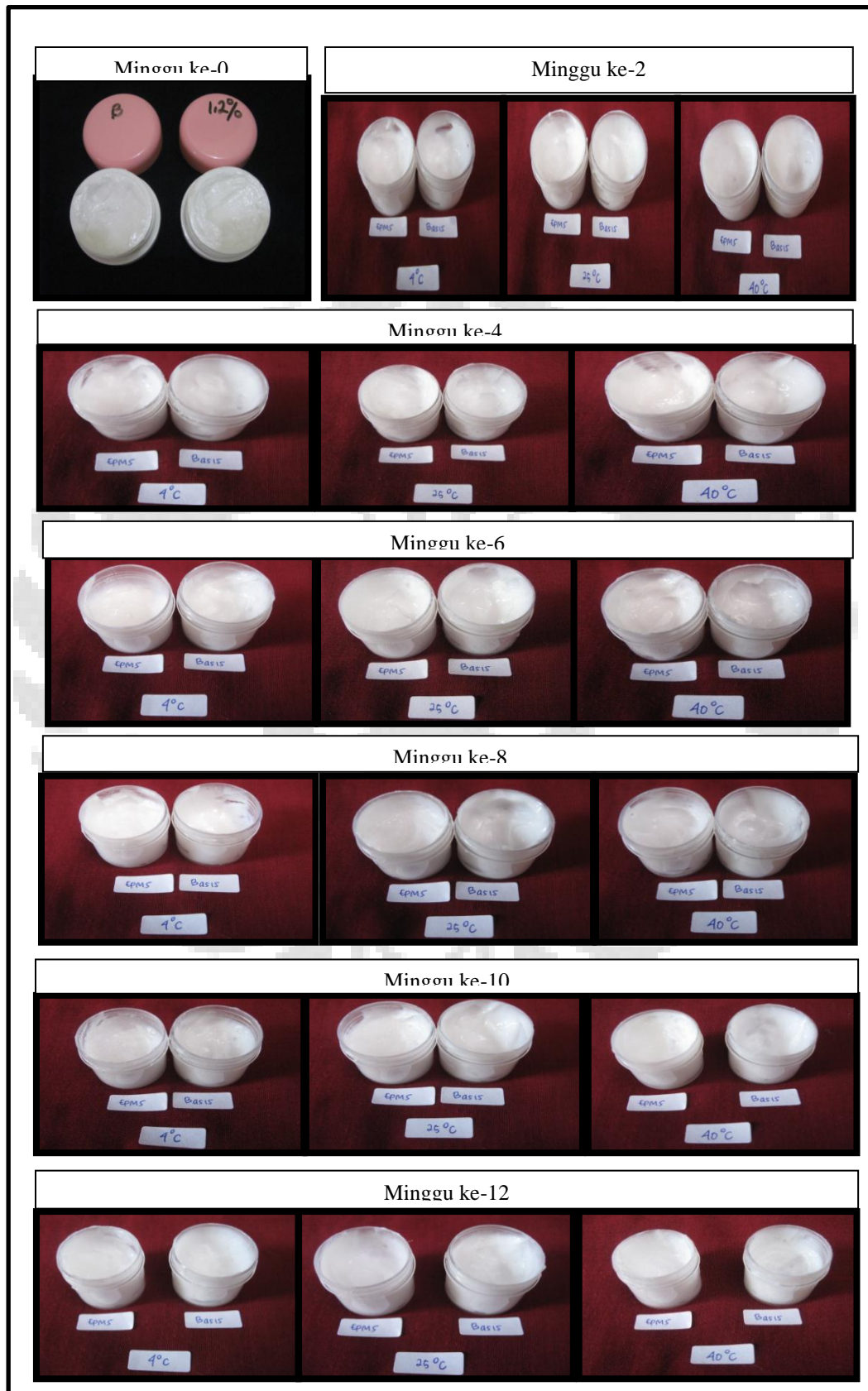
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

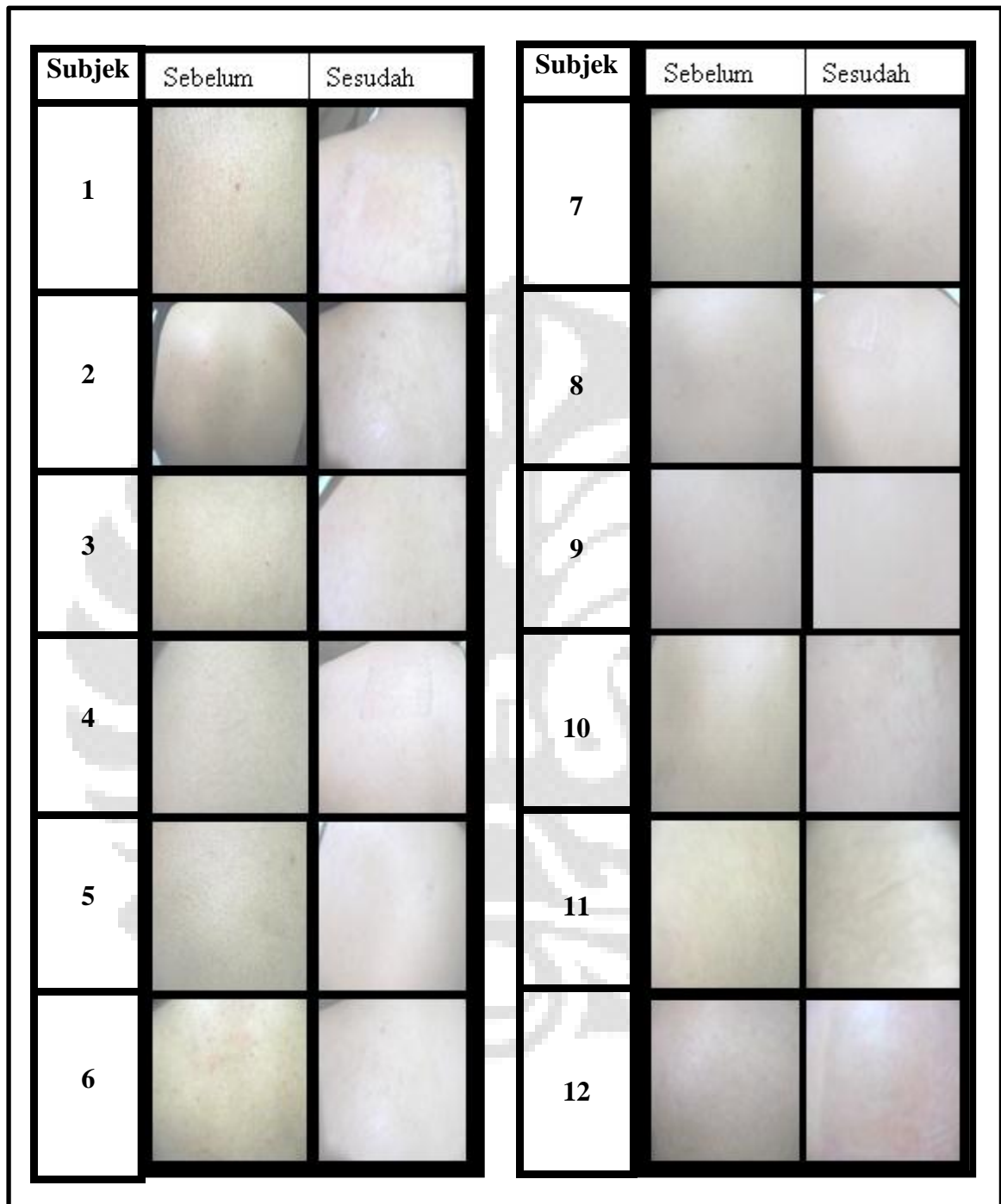
Lampiran 12. Pantone Warna pada Uji Organoleptik



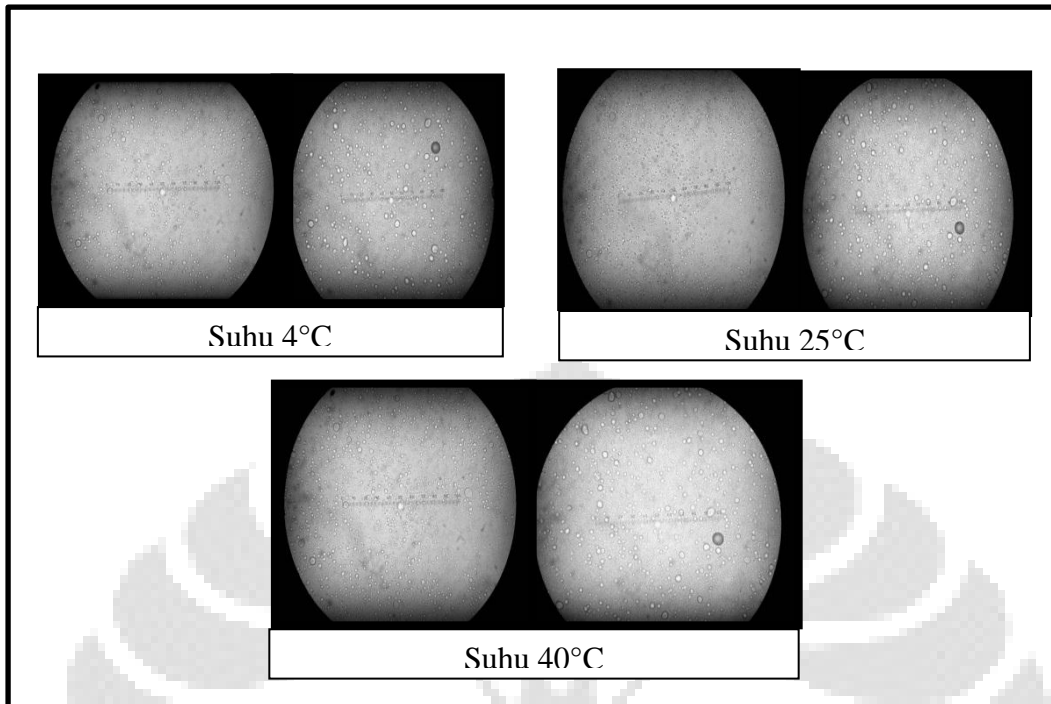
Lampiran 13. Hasil Pengamatan Organoleptik Krim Basis dan Krim EPMS 1,2% pada Suhu Rendah, Suhu Ruang dan Suhu Tinggi Selama 12 Minggu



Lampiran 14. Gambar Hasil Pengamatan Uji Patch Test Krim Basis dan Krim EPMS 1,2% Punggung Atas pada 12 Subjek



Lampiran 15. Gambar Hasil Uji Pengamatan Diameter Globul Krim pada Akhir Pengamatan



Keterangan : Diameter Globul pada Minggu Ke-12 (Kanan –Krim Basis; Kiri-Krim EPMS 1,2%)

Lampiran 16. Hasil Pengukuran PSA Diameter Globul Krim Basis pada Suhu 4°C

Volume Statistics (Arithmetic)				B4.\$fs			
Calculations from 0.375 μm to 948.3 μm							
Volume:	100%			S.D.:	10.52 μm		
Mean:	13.39 μm			Variance:	110.7 μm^2		
Median:	10.16 μm			Skewness:	0.827 Right skewed		
D(3,2):	6.021 μm			Kurtosis:	-0.433 Platykurtic		
Mode:	31.50 μm						
d_{10} :	2.525 μm	d_{50} :	10.16 μm	d_{90} :	30.58 μm		
<1 μm	<4 μm	<6 μm	<8 μm	<10 μm	<20 μm	<40 μm	<60 μm
0.24%	21.8%	33.7%	42.3%	49.5%	74.5%	99.4%	100%

Keterangan : Diameter Globul pada Minggu Ke-12

Lampiran 17. Hasil Pengukuran PSA Diameter Globul Krim Basis pada Suhu
25°C

Volume Statistics (Arithmetic)				B25.\$Is			
Calculations from 0.375 μm to 948.3 μm							
Volume:	100%			S.D.:	10.38 μm		
Mean:	12.28 μm		Variance:	107.7 μm^2			
Median:	7.943 μm		Skewness:	0.941 Right skewed			
D(3,2):	5.412 μm		Kurtosis:	-0.232 Platykurtic			
Mode:	19.76 μm						
d ₁₀ :	2.356 μm	d ₅₀ :	7.943 μm	d ₉₀ :	29.14 μm		
<1 μm	<4 μm	<6 μm	<8 μm	<10 μm	<20 μm	<40 μm	<60 μm
0.086%	27.3%	41.6%	50.2%	55.8%	76.4%	99.5%	100%

Keterangan : Diameter Globul pada Minggu Ke-12

Lampiran 18. Hasil Pengukuran PSA Diameter Globul Krim Basis pada Suhu
40°C

Volume Statistics (Arithmetic)				B40.\$Is			
Calculations from 0.375 μm to 948.3 μm							
Volume:	100%			S.D.:	13.23 μm		
Mean:	26.14 μm		Variance:	175.0 μm^2			
Median:	27.71 μm		Skewness:	-0.401 Left skewed			
D(3,2):	7.700 μm		Kurtosis:	-0.809 Platykurtic			
Mode:	41.68 μm						
d ₁₀ :	3.613 μm	d ₅₀ :	27.71 μm	d ₉₀ :	42.48 μm		
<1 μm	<4 μm	<6 μm	<8 μm	<10 μm	<20 μm	<40 μm	<60 μm
3.56%	10.4%	12.0%	13.7%	15.6%	30.0%	83.3%	100%

Keterangan : Diameter Globul pada Minggu Ke-12

Lampiran 19. Hasil Pengukuran PSA Diameter Globul Krim EPMS 1,2% pada
Suhu 4°C

Volume Statistics (Arithmetic)				E4.\$Is			
Calculations from 0.375 μm to 948.3 μm							
Volume:	100%			S.D.:	11.56 μm		
Mean:	22.72 μm		Variance:	133.7 μm^2			
Median:	23.87 μm		Skewness:	-0.180 Left skewed			
D(3,2):	11.57 μm		Kurtosis:	-0.968 Platykurtic			
Mode:	28.70 μm						
d ₁₀ :	5.116 μm	d ₅₀ :	23.87 μm	d ₉₀ :	37.92 μm		
<1 μm	<4 μm	<6 μm	<8 μm	<10 μm	<20 μm	<40 μm	<60 μm
0.093%	7.62%	11.6%	14.9%	18.3%	38.8%	94.5%	100%

Keterangan : Diameter Globul pada Minggu Ke-12

Lampiran 20. Hasil Pengukuran PSA Diameter Globul Krim EPMS 1,2% pada Suhu 25°C

Volume Statistics (Arithmetic)				E25.\$Is			
Calculations from 0.375 μm to 948.3 μm							
Volume:	100%			S.D.:	12.07 μm		
Mean:	27.62 μm			Variance:	145.8 μm^2		
Median:	29.24 μm			Skewness:	-0.484 Left skewed		
D(3,2):	12.39 μm			Kurtosis:	-0.582 Platykurtic		
Mode:	41.68 μm						
d ₁₀ :	9.255 μm	d ₅₀ :	29.24 μm	d ₉₀ :	42.59 μm		
<1 μm	<4 μm	<6 μm	<8 μm	<10 μm	<20 μm	<40 μm	<60 μm
1.20%	5.65%	7.85%	9.17%	10.6%	25.6%	82.9%	100%

Keterangan : Diameter Globul pada Minggu Ke-12

Lampiran 21. Hasil Pengukuran PSA Diameter Globul Krim EPMS 1,2% pada Suhu 40°C

Volume Statistics (Arithmetic)				E40.\$Is			
Calculations from 0.375 μm to 948.3 μm							
Volume:	100%			S.D.:	11.01 μm		
Mean:	28.60 μm			Variance:	121.2 μm^2		
Median:	29.72 μm			Skewness:	-0.540 Left skewed		
D(3,2):	13.34 μm			Kurtosis:	-0.180 Platykurtic		
Mode:	34.58 μm						
d ₁₀ :	13.78 μm	d ₅₀ :	29.72 μm	d ₉₀ :	42.43 μm		
<1 μm	<4 μm	<6 μm	<8 μm	<10 μm	<20 μm	<40 μm	<60 μm
1.45%	3.86%	4.79%	5.46%	6.50%	20.9%	83.5%	100%

Keterangan : Diameter Globul pada Minggu Ke-12

Lampiran 22. Tabel Pengukuran Viskositas Krim Basis pada Minggu Ke-0 dan Minggu Ke-12

Pengukuran Viskositas Krim Basis pada Minggu Ke-0								
Konsentrasi	Spindel	Kec	Dr	F	viskositas	Sk	Shearing	Rate of
		(rpm)				(RV)	stress	shear
Basis	5	0,5	19,5	16000	312000	7,187	140,15	0,0004
		2	30	4000	120000	7,187	215,61	0,0018
		4	44	1600	70400	7,187	316,23	0,0045
		10	52	800	41600	7,187	373,72	0,0090
		20	60	400	24000	7,187	431,22	0,0180
		20	59	400	23600	7,187	424,03	0,0180
		10	50	800	40000	7,187	359,35	0,0090
		4	42	1600	67200	7,187	301,85	0,0045
		2	28	4000	112000	7,187	201,24	0,0018
		0,5	18	16000	288000	7,187	129,37	0,0004
Pengukuran Viskositas Krim Basis pada Minggu Ke-12								
Konsentrasi	Spindel	Kec	Dr	F	viskositas	Sk	Shearing	Rate of
		(rpm)				(RV)	stress	Shear
Basis	5	0,5	22	16000	352000	7,187	158,11	0,0004
		2	32	4000	128000	7,187	229,98	0,0018
		4	46	1600	73600	7,187	330,60	0,0045
		10	54	800	43200	7,187	388,10	0,0090
		20	63	400	25200	7,187	452,78	0,0180
		20	61	400	24400	7,187	438,41	0,0180
		10	52	800	41600	7,187	373,72	0,0090
		4	43	1600	68800	7,187	309,04	0,0045
		2	30	4000	120000	7,187	215,61	0,0018
		0,5	20	16000	320000	7,187	143,74	0,0004

Lampiran 23. Tabel Pengukuran Viskositas Krim EPMS 1,2% pada Minggu Ke-0 dan Minggu Ke-12

Pengukuran Viskositas Krim EPMS 1,2% pada Minggu Ke-0								
Konsentrasi	Spindel	Kec	Dr	F	viskositas	Sk	Shearing	Rate of
		(rpm)				(RV)	stress	Shear
EPMS 1,2%	5	0,5	21	16000	336000	7,187	150,93	0,0004
		2	35	4000	140000	7,187	251,55	0,0018
		4	50	1600	80000	7,187	359,35	0,0045
		10	61	800	48800	7,187	438,41	0,0090
		20	69	400	27600	7,187	495,90	0,0180
		20	68	400	27200	7,187	488,72	0,0180
		10	56	800	44800	7,187	402,47	0,0090
		4	44	1600	70400	7,187	316,23	0,0045
		2	30	4000	120000	7,187	215,61	0,0018
		0,5	17	16000	272000	7,187	122,18	0,0004
Pengukuran Viskositas Krim EPMS 1,2% pada Minggu Ke-12								
Konsentrasi	Spindel	Kec	Dr	F	viskositas	Sk	Shearing	Rate of
		(rpm)				(RV)	stress	Shear
EPMS 1,2%	5	0,5	24	16000	384000	7,187	172,49	0,0004
		2	33	4000	132000	7,187	237,17	0,0018
		4	52	1600	83200	7,187	373,72	0,0045
		10	63	800	50400	7,187	452,78	0,0090
		20	69	400	27600	7,187	495,90	0,0180
		20	67	400	26800	7,187	481,53	0,0180
		10	58	800	46400	7,187	416,85	0,0090
		4	47	1600	75200	7,187	337,79	0,0045
		2	35	4000	140000	7,187	251,55	0,0018
		0,5	21	16000	336000	7,187	150,93	0,0004


Lampiran 24. Hasil Pengamatan Krim Basis pada Suhu Rendah, Suhu Ruang dan Suhu Tinggi Selama 12 Minggu

Pengamatan					
Suhu	Minggu	Warna	Bau	Homogenitas	Pemisahan fase
	ke-				
4±2°C	2	<i>Brilliant White</i>	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	4	<i>Brilliant White</i>	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	6	<i>Brilliant White</i>	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	8	<i>Brilliant White</i>	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	10	<i>Brilliant White</i>	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	12	<i>Brilliant White</i>	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
25±2°C	2	<i>Brilliant White</i>	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	4	<i>Brilliant White</i>	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	6	<i>Brilliant White</i>	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	8	<i>Brilliant White</i>	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	10	<i>Brilliant White</i>	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	12	<i>Brilliant White</i>	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
40±2°C	2	<i>Brilliant White</i>	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	4	<i>Brilliant White</i>	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	6	<i>Brilliant White</i>	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	8	<i>Brilliant White</i>	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	10	<i>Brilliant White</i>	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	12	<i>Brilliant White</i>	Netral	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase

Lampiran 25. Hasil Pengamatan Krim EPMS 1,2% pada Suhu Rendah, Suhu Ruang dan Suhu Tinggi Selama 12 Minggu

Pengamatan					
Suhu	Minggu ke-	Warna	Bau	Homogenitas	Pemisahan fase
4±2°C	2	<i>White</i>	Kencur	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	4	<i>White</i>	Kencur	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	6	<i>White</i>	Kencur	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	8	<i>White</i>	Kencur	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	10	<i>White</i>	Kencur	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	12	<i>White</i>	Kencur	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
25±2°C	2	<i>White</i>	Kencur	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	4	<i>White</i>	Kencur	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	6	<i>White</i>	Kencur	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	8	<i>White</i>	Kencur	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	10	<i>White</i>	Kencur	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	12	<i>White</i>	Kencur	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
40±2°C	2	<i>White</i>	Kencur	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	4	<i>White</i>	Kencur	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	6	<i>White</i>	Kencur	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	8	<i>White</i>	Kencur	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	10	<i>White</i>	Kencur	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase
	12	<i>White</i>	Kencur	Homogen	Tidak terjadi pemisahan fase

Lampiran 26. Sertifikat Pengujian Serbuk Kencur



Kementerian Pertanian
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Laboratorium Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
 Jalan Tentara Pelajar No. 3 Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu, Bogor 16111
 Telepon : (0251) 8321879 Faximile : (0251) 8327010 E-mail : balitro@telkom.net

SERTIFIKAT PENGUJIAN
CERTIFICATE OF ANALYSIS


No. Adm . : 05/T/LAB//14

DF 5.10.1.2.

Kepada Yth.
Ika Maruya Kusuma
 Ul- Depok

Kondisi/Identifikasi Contoh : Serbuk
 Tanggal Penerimaan : 15 Januari 2014
 Tanggal Pengujian : 28 Januari 2014

No	Jenis Contoh	Jenis Pengujian/Pemeriksaan	Hasil Pengujian/Pemeriksaan (No. contoh/kode)	Metode Pengujian
			R-K-IKA	
1.	Rimpang kencur	- Kadar air (%)	7,67	Destilasi
		- Kadar abu (%)	4,94	Gravimetri
		- Kadar abu tak larut asam (%)	1,67	Gravimetri
		- Kadar sari larut dalam air (%)	14,47	Gravimetri
		- Kadar sari larut dalam alkohol (%)	2,03	Gravimetri

Bogor, 28 Januari 2014
 Manajer Teknis

Ma'mun, S.Si

- Laporan hasil uji ini berlaku selama 90 hari sejak diterbitkan. Surat menyurat agar mencantumkan nomor administrasi.
 - Hasil pengujian di atas hanya berdasarkan contoh uji yang bersangkutan. Laporan ini dilarang diperbanyak kecuali atas persetujuan tertulis dari Laboratorium Pengujian Balitro.

Lembar kedua - disimpan oleh Manajer Administrasi

Lampiran 27. Sertifikat Identifikasi dan Determinasi Rimpang Kencur

	<p align="center">LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA (Indonesian Institute of Sciences) PUSAT PENELITIAN BIOLOGI (Research Center for Biology)</p>		
	<p align="center">Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612</p>		
			Cibinong, 23 Juli 2013
Nomor	: 1323/IPH.1.02/If.8/VII/2013		
Lampiran	: -		
Perihal	: Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan		
<p>Kepada Yth. Bpk./Ibu/Sdr(i). Ika Maruya Kusuma Mhs. Univ. Indonesia</p>			
<p>Dengan hormat,</p> <p>Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogof, adalah sebagai berikut :</p>			
No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Kencur	<i>Kaempferia galanga</i> L.	Zingiberaceae
<p>Demikian, semoga berguna bagi Saudara.</p>			
			<p>Kepala Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI, <u>Dr. Joeni Setijo Rahajoe</u> NIP. 196706241993032004</p>
<p>D:\Ident 2013\Ika Maruya Kusuma.doc\Dirman-Dg</p>			<p>Page 1 of 1</p>

Lampiran 28. Keterangan Lolos Uji Etik



**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 : 723 /H2.F1/ETIK/2013

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:

"Uji Antibakteri Jerawat, Stabilitas Fisik dan Kimia, Serta Patch Test Krim yang Mengandung Etil P-Metoksi Sinamat dari Kencur (*Kaempferia galanga*)".

Peneliti Utama : Ika Maruya Kusuma, S.P
Principal Investigators

Nama Institusi : Fakultas Farmasi Universitas Indonesia
Name of the Institution

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



Jakarta, 25 NOV 2013
Ketua
Chairman
Rianto

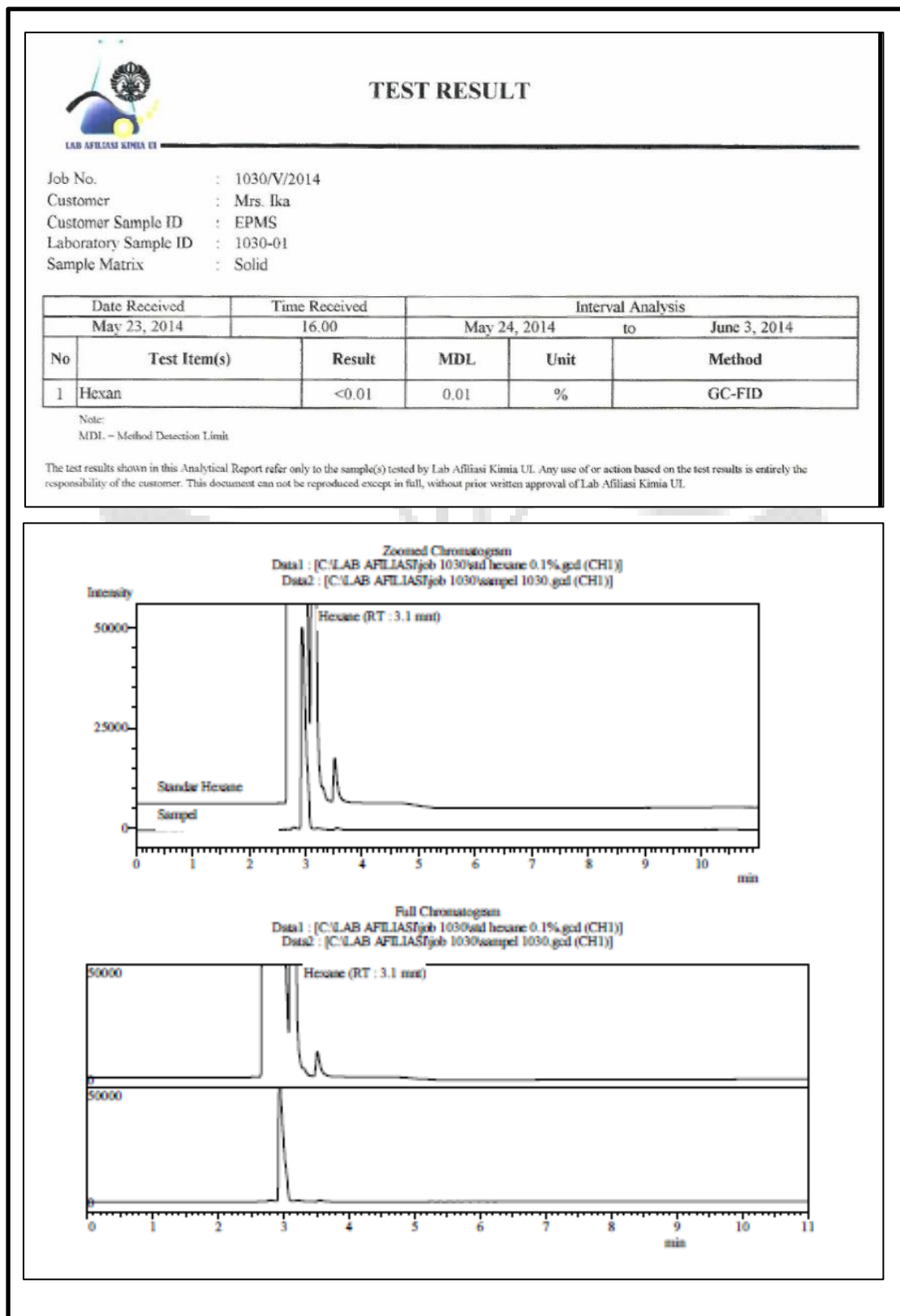
Prof. Dr. dr. Rianto Setiabudy, SpFK

*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*

Lampiran 29. Sertifikat Hasil Pengujian Sisa Pelarut dalam EPMS



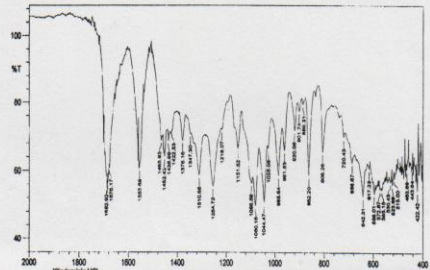
Lampiran 30. Sertifikat Klindamisin HCl

BADAN POM RI
SERTIFIKAT PENGUJIAN
KLINDAMISIN HIDROKLORIDA
No. Kontrol 212014

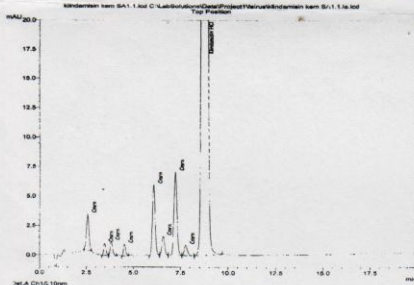
Tujuan penggunaan :
Klindamisin Hidroklorida Baku Pembanding Farmakope Indonesia no. kontrol 212014 dapat digunakan sebagai pembanding dalam identifikasi secara spektrofotometri inframerah dan kromatografi lapis tipis; uji senyawa sejenis secara kromatografi cair kinerja tinggi; serta penetapan kadar secara kromatografi cair kinerja tinggi.

Pemerian : Serbuk hablur, putih atau praktis putih; tidak berbau atau sedikit berbau merkaptan.

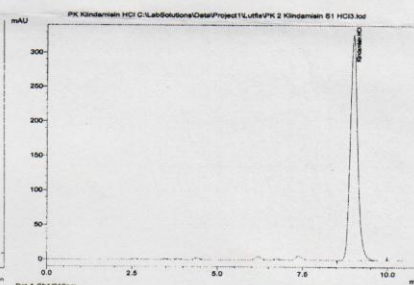
Identifikasi :
Spektrofotometri inframerah : Dispersi lebih kurang 2 mg zat dalam lebih kurang 200 mg kalium bromida menunjukkan spektrum inframerah seperti yang tercantum dalam gambar 1.
Kromatografi lapis tipis : Bercak pada kromatogram larutan uji sesuai posisi dan ukuran dengan bercak larutan baku *Clindamycin HCl* EPRS no. Lot n^o 1b.



Gambar 1. Spektrum inframerah *Klindamisin Hidroklorida*



Gambar 2. Kromatogram KCKT senyawa sejenis *Klindamisin Hidroklorida*



Gambar 3. Kromatogram KCKT penetapan kadar *Klindamisin Hidroklorida*

Kadar air : 4,23% (n = 3; SD = 0,05%)

Uji senyawa sejenis secara kromatografi cair kinerja tinggi : Memenuhi kriteria. Jumlah semua cemaran adalah 5,28%, dengan kromatogram seperti yang tercantum dalam gambar 2.

Penetapan kadar :
Kromatografi cair kinerja tinggi : $89,58 \pm 2,22\%$ $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$ (n = 18; RSDp = 1,43%) dihitung terhadap zat anhidrat, dengan kromatogram seperti yang tercantum dalam gambar 3.

Kesimpulan : *Klindamisin Hidroklorida* no. kontrol 212014 dapat dinyatakan sebagai Baku Pembanding Farmakope Indonesia sesuai dengan tujuan penggunaannya

Wadah dan penyimpanan : Dalam wadah tertutup rapat.

Kepala Pusat Pengujian Obat dan Makanan Nasional
u.d. Manajer Teknis Laboratorium Bahan Baku Pembanding
S.I.

Dra. Dini Prapti Karyani, M.Si
NIP. 19601223 199503 2 001

BADAN PENGAWAS OBAT DAN MAKANAN REPUBLIK INDONESIA

Lampiran 31. Surat Ijin Penggunaan Laboratorium Fitokimia

Depok, 14 Agustus 2013

Kepada Yth.
Ibu Dr. Katrin MS, Apt.
Kepala Laboratorium Fitokimia
Fakultas Farmasi UI
Di DepokTempat

**Hal : Permohonan Penggunaan Ruang dan Pemakaian Peralatan
Laboratorium Fitokimia**

Dengan Hormat,
Saya, mahasiswa Program S2 Herbal yang bertandatangan di bawah ini:

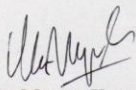
Nama : Ika Maruya Kusuma
NPM : 1206306666
Judul Tesis : Uji Efektivitas Anti Jerawat secara *In vitro*, Stabilitas Fisik dan Keamanan Sediaan Krim dari Bahan Ekstrak Etanol Kencur (*Kampferia galanga L.*)

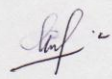
Dengan ini mengajukan permohonan penggunaan laboratorium fitokimia serta peminjaman alat di ruang Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi UI Lantai 2 pada bulan Agustus s/d Januari 2014.

Demikian permohonan ini saya ajukan, atas perhatian dan kebijaksanaan Ibu saya sampaikan terimakasih.

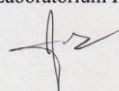
Hormat saya,
Mahasiswa

Mengetahui,
Pembimbing


Ika Maruya Kusuma


Dr. Berna Elya, MS, Apt

Menyetujui,
Kepala Laboratorium Fitokimia


Dr. Katrin, MS, Apt

Lampiran 32. Surat Ijin Penggunaan Laboratorium Farmasetika

Depok, 27 September 2013

Kepada Yth.
Bapak Sutriyo, M.Si, Apt.
Kepala Laboratorium Farmasetika
Fakultas Farmasi UI
Di Depok

Hal : Permohonan Penggunaan Ruang dan Pemakaian Peralatan Laboratorium Farmasetika

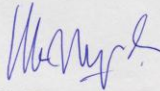
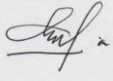

Dengan Hormat,

Saya, Mahasiswa Program S2 Herbal yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ika Maruya Kusuma
NPM : 1206306666
Judul Tesis : Uji Antibakteri Jerawat, Stabilitas Fisik dan Kimia serta Patch Test Krim yang mengandung Etil P-Metoksi Sinamat dari Kencur (*Kaempferialanga L.*)

Dengan ini mengajukan permohonan penggunaan laboratorium farmasetika Fakultas Farmasi UI pada bulan September 2013 s/d Januari 2014.

Demikian permohonan ini saya ajukan, atas perhatian dan kebijaksanaan Bapak, saya sampaikan terima kasih.

Hormat Saya, Mahasiswa	Mengetahui, Pembimbing
 Ika Maruya Kusuma	 Dr. Berna Elya, MS, Apt
Menyetujui, Kepala Laboratorium Farmasetika	
 Sutriyo, M.Si, Apt	

Lampiran 33. Surat Ijin Penggunaan Alat FT-IR

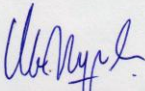

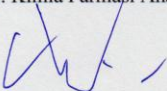
Depok, 5 Februari 2014

Kepada Yth.
Dr. Hayun, M.Si, Apt
Kepala Lab. Kimia Farmasi Analisis
Fakultas Farmasi UI
Depok

Hal : Permohonan Pemakaian Alat Laboratorium

Dengan Hormat,
Saya, Mahasiswa Program S2 Herbal yang bertanda tangan dibawah ini :
Nama : Ika Maruya Kusuma
NPM : 1206306666
Judul Tesis : Uji Antibakteri Jerawat, Stabilitas Fisik dan Kimia serta Patch Test
Krim yang Mengandung Etil P-Metoksi Sinamat dari Kencur (*Kaempferia galanga*)

Denga ini mengajukan permohonan penggunaan alat Spektro IR, pada bulan Februari 2014.
Demikian permohonan ini saya ajukan, atas perhatian dan kebijakan Bapak, saya sampaikan terima kasih.

Hormat Saya, Mahasiswa	Mengetahui, Pembimbing
 Ika Maruya Kusuma	 Dr. Berna Elya, MS, Apt
<p>Menyetujui Kepala Lab. Kimia Farmasi Analisis</p>  Dr. Hayun, M.Si, Apt	

Lampiran 34. Tabel Penapisan Fitokimia

Senyawa	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Dragendorf	+
	Buchardat	+
Saponin	HCl 2N	+
Flavonoid	Mg, HCl Pekat	-
Tanin	FeCl ₃	+
	Gelatin + NaCl	-
Antrakuinon	As. Sulfat 2N	-
Steroid	Liebermann Burchardt	+

Lampiran 35. *Informed Concern*

Naskah Penjelasan Untuk Mendapat Persetujuan Dari Subjek Penelitian

PENJELASAN tentang PENELITIAN

Penelitian yang akan dilakukan untuk menganalisa pengaruh Etil P-Metoksi Sinamat (EPMS) dari kencur (*Kaempferia galanga L.*) dalam bentuk sediaan krim, sebagai antibakteri jerawat dan uji iritasi serta alergi. Ekstrak rimpang kencur memiliki kandungan EPMS yang sudah diteliti sebagai antibakteri jerawat salah satunya yaitu *Staphylococcus aureus*. Sedangkan bakteri penyebab jerawat tidak hanya *S. aureus*, tetapi juga *P. acnes* dan *S. epidermidis*. Penelitian antibakteri pada *P. acnes*, *S. aureus* dan *S. epidermidis* dari EPMS yang terkandung dalam kencur (*Kaempferia galanga L.*) sampai saat ini belum diteliti, padahal kencur sangat banyak tumbuh di Indonesia.

Untuk membuktikan krim yang mengandung EPMS dari kencur tidak menyebabkan alergi dan iritasi kulit, dilakukan penelitian yang membutuhkan 15 orang relawan, berjenis kelamin pria dan wanita, berusia 12-17 tahun. Setiap relawan akan diberikan 2 macam krim, yaitu krim yang berisi basis dan krim ekstrak kencur yang mengandung kristal EPMS 1,2% (setara dengan 0,143% EPMS murni). Penelitian ini membutuhkan waktu selama 48 jam (2 hari). Anda adalah salah satu subyek yang diharapkan kesediaannya untuk ikut serta dalam penelitian ini. Kemudian kami akan mengambil foto di lokasi pengolesan krim (punggung atas) pada waktu sebelum pengolesan krim, 30 menit pertama, 24 jam dan 48 jam. Foto diambil dengan kamera digital, foto ini akan digunakan untuk menilai adanya alergi dan iritasi dari krim yang mengandung EPMS dari kencur (*Kaempferia galanga L.*).

Selama waktu 48 jam (2 hari) penelitian, hal-hal yang perlu anda perhatikan :

- a. Persiapan Penelitian
 - Sebelum penelitian dimulai, dr. Yenni Bahar akan memeriksa kesehatan kulit anda, yang memenuhi kriteria.
- b. Pelaksanaan Penelitian
 - Selama penelitian berlangsung anda dapat tetap tidak memakai obat kulit apapun, kecuali krim yang mengandung EPMS yang kami berikan.
 - Pada hari pertama anda diminta datang ke ruang untuk diperiksa kesehatan, pengambilan foto punggung atas.
 - Anda diminta menggunakan krim basis dan krim yang mengandung EPMS ekstrak heksan EPMS, dengan konsentrasi 1,2% yang diberikan pada punggung

Lampiran 35. (Lanjutan)

atas. Penggunaan krim dilakukan dan diawasi oleh dr. Yenni Bahar. Anda diminta mencatat keluhan yang anda rasakan (bila ada) setelah pemakaian krim. Lembar catatan disediakan dan anda hanya mencontreng saja.

- Pada 30 menit pertama setelah pemakaian krim basis dan krim yang mengandung EPMS pada punggung atas anda akan diperiksa dan kembali difoto. Anda juga diingatkan dan diberi lembar catatan seperti sebelumnya.
- Pada 24 jam (1 hari) punggung atas anda diperiksa oleh dr. Yenni Bahar dan difoto kembali. Anda juga diingatkan dan diberi lembar catatan seperti sebelumnya. Dan dioleskan krim kembali seperti pada awal, krim basis dan krim yang mengandung EPMS, jika tidak timbul reaksi kulit.
- Pada 48 jam (2 hari) punggung atas anda diperiksa oleh dr. Yenni Bahar dan difoto kembali seperti sebelumnya.
- Itulah akhir penelitian dimana reaksi alergi dan iritasi akan diamati. Jika terjadi alergi dan iritasi relawan dapat menghubungi dr. Yenni Bahar untuk pemeriksaan lebih lanjut.

c. Jadwal dan Cara Pemakaian Krim yang mengandung EPMS

Krim ini dipakai 2x pada lokasi punggung atas, pada awal penelitian dan 24 jam (1 hari) berikutnya. Sebelumnya punggung atas dibersihkan dengan alkohol yang disediakan. Kepada anda disediakan lembar catatan bila ada keluhan dan mencontreng kotak yang sesuai.

d. Apabila Terjadi Keluhan

Apabila ada keluhan alergi seperti gatal, merah, merasa panas, iritasi pada punggung atas yang diberikan krim basis dan krim yang mengandung EPMS, maka secepatnya anda melapor pada dr. Yenni Bahar (0815 8538 4878) atau dr. Ismiralda Oke 081386369779, Sp.KK. Karena dr. Yenni Bahar akan memeriksa dan memberikan penanganannya, serta dibebaskan dari biaya yang diperlukan.

Bila terjadi reaksi tersebut di atas, anda tidak usah cemas karena tidak membahayakan dan pada umumnya akan menghilang sendiri setelah diobati.

Lampiran 35. (Lanjutan)

berhak menolak ikut serta dalam penelitian ini. Bila anda memutuskan untuk ikut, anda juga bebas mengundurkan diri kapanpun anda inginkan. Semua data yang diperoleh semata-mata hanya akan dipergunakan untuk kepentingan penelitian, sehingga data diri anda tetap terjamin.

Sebagai wujud penghargaan peneliti terhadap maksud baik anda untuk ikut serta dalam penelitian ini, maka anda berhak memperoleh reward berupa mug cantik. Setelah anda menyelesaikan penelitian selama 48 jam (2 hari) dengan baik sesuai anjuran peneliti.

Kami mengucapkan terima kasih atas keikutsertaan anda dalam penelitian ini. Anda telah membantu upaya pengembangan tanaman obat asli Indonesia. Bila sewaktu-waktu membutuhkan penjelasan, anda dapat menghubungi peneliti yaitu Ika Maruya Kusuma di nomor telepon 085775012375.

Formulir Persetujuan

Semua penjelasan di atas telah disampaikan kepada saya dan semua pertanyaan saya telah dijawab oleh dokter. Saya mengerti bahwa bila masih memerlukan penjelasan, saya akan mendapat jawaban dari Dr. Yenni Bahar.

Dengan menandatangani formulir ini, saya setuju untuk ikut dalam penelitian ini.

Tandatangan pasien/ subjek:

(Nama)

Tanggal:

Tandatangan saksi:

(Nama)