

**PENGARUH KONSENTRASI MINYAK ATSIRI KULIT JERUK PURUT
(*Citrus hystrix* DC) DALAM SEDIAAN KRIM O/W TERHADAP
PENEBALAN KOLAGEN DAN EPIDERMIS KULIT KELINCI
(*Oryctolagus cuniculus*) YANG TERPAPAR SINAR UV B**

Skripsi

Untuk memenuhi sebagai persyaratan
mencapai gelar Sarjana Farmasi



Oleh :

Lina Anindita Putri Priyambodo

33101700031

**PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2022**

SKRIPSI

**Pengaruh Konsentrasi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC)
Dalam Sediaan Krim O/W Terhadap Penebalan Kolagen Dan Epidermis
Kulit Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*) Yang Terpapar Sinar UV B**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh:

Lina Anindita Putri Priyambodo

33101700031

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal 15 Agustus 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

Anggota Penguji

apt. Fadzil Latifah, M.Farm.

apt. Hudan Taufiq, M.Sc.

Pembimbing II

apt. Ika Buana Januarti, M.Sc.

apt. Chintiana Nindya Putri, M.Farm.

Semarang, 15 Agustus 2022
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran
Universitas Islam Sultan Agung
Dekan,



Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF., S.H

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Lina Anindita Putri Priyambodo

NIM : 33101700031

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

**“PENGARUH KONSENTRASI MINYAK ATSIRI KULIT JERUK PURUT
(*Citrus hystrix* DC) DALAM SEDIAAN KRIM O/W TERHADAP
PENEBALAN KOLAGEN DAN EPIDERMIS KULIT KELINCI
(*Oryctolagus cuniculus*) YANG TERPAPAR SINAR UV B”**

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Apabila di kemudian hari saya terbukti melakukan tindakan tersebut, saya bersedia menerima sanksi yang berlaku.

Semarang, 15 Agustus 2022

Yang Menyatakan



Lina Anindita Putri Privambodo

PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Lina Anindita Putri Priyambodo
NIM : 33101700031
Program Studi : Farmasi
Fakultas : Kedokteran
Alamat : Jl. Bayem VII No. 8, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah
No. Hp/Email : 088801907355 / linaaninditaa@gmail.com

Dengan ini menyatakan karya ilmiah skripsi yang berjudul :

**“PENGARUH KONSENTRASI MINYAK ATSIRI KULIT JERUK PURUT
(*Citrus hystrix* DC) DALAM SEDIAAN KRIM O/W TERHADAP
PENEBALAN KOLAGEN DAN EPIDERMIS KULIT KELINCI
(*Oryctolagus cuniculus*) YANG TERPAPAR SINAR UV B”**

Dan menyetujuinya menjadi hak milik Universitas Islam Sultan Agung Semarang serta memberikan hak bebas royalti non-eksklusif untuk disimpan, dialih mediakan, dikelola dalam pangkalan data dan dipublikasikan di internet atau media lain untuk kepentingan akademis selama tetap menyantumkan nama penulis sebagai hak cipta.

Pernyataan ini saya buat dengan sungguh-sungguh. Apabila dikemudian terbukti ada pelanggaran Hak Cipta/Plagiarisme dalam karya ilmiah ini, maka segala bentuk tuntutan hukum yang timbul akan saya tanggung secara pribadi tanpa melibatkan Universitas Islam Sultan Agung.

Semarang, 15 Agustus 2022

Yang Menyatakan



Lina Anindita Putri Priyambodo

PRAKATA



Assalamualaikum Wr. Wb.

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, karunia, dan hidayah-Nya . Sholawat serta salam tak lupa selalu tercurahkan kepada Nabi Besar Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat dan para pengikutnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul : **“Pengaruh Konsentrasi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) Dalam Sediaan Krim O/W Terhadap Penebalan Kolagen Dan Epidermis Kulit Kelinci (*Oryctolagus Cuniculus*) Yang Terpapar Sinar UV B”** sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi di Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Selama menyelesaikan penyusunan skripsi ini penulis telah banyak mendapatkan bantuan dari berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF., S.H. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Ibu apt. Rina Wijayanti, M.Sc. selaku Kepala Prodi Farmasi Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Ibu apt. Fadzil Latifah, M.Farm. selaku dosen pembimbing I dan Ibu apt. Ika Buana Juarti, M.Sc. selaku dosen pembimbing II yang dengan sabar memberikan semangat motivasi dan arahan kepada penulis dengan ikhlas sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

4. Bapak apt. Hudan Taufiq, M.Sc. selaku dosen penguji I dan Ibu apt. Chintiana Nindya Putri, M.Farm. selaku dosen penguji II yang telah meluangkan waktu untuk memberikan saran dan arahan kepada penulis sehingga penulisan skripsi ini dapat tersusun menjadi lebih baik.
5. Para dosen pengajar dan staf di Prodi Farmasi yang telah mendidik, memberikan bimbingan dan membagi ilmu kepada penulis selama berada di Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
6. Seluruh staf Laboratorium Farmasi FK UNISSULA, Laboratorium Pengembangan Hewan Uji FK UNISSULA yang telah bersedia membantu kelancaran penelitian.
7. Seluruh staff Laboratorium Biologi FMIPA UNNES, Laboratorium Farmasi Sekolah Tinggi Cendekia Utama Kudus yang telah bersedia membantu kelancaran penelitian.
8. Kedua orang tua tercinta Bapak Agung Priyambodo dan Ibu Sri Wahyu Andayani, kakek Kasiyo, nenek Suciati dan adik Irfan Nafi' Priyambodo yang selalu mendoakan dan memberikan dukungan, semangat, kasih sayang tiada henti sehingga dapat menyelesaikan penelitian ini sesuai dengan harapan.
9. Nurita Indriani dan Nur Maulida Fitriyana sebagai sahabat penulis sekaligus teman sekelompok yang tulus ikhlas berjuang bersama, mendukung dan membantu dengan sabar dalam menyelesaikan skripsi
10. Keluarga besar “Sedativa” Farmasi angkatan 2017 yang telah memberikan semangat, dukungan, dan doanya.

11. Sahabat-sahabat dekat saya Ilya, Rizkia, Febi, Rania, Sendi, Faiz, Untari, Nurmalila yang tulus ikhlas mendoakan, mendukung, memberikan semangat, serta selalu memberikan masukan dan saran dalam proses penyusunan skripsi.
12. Asisten Teknologi Farmasi angkatan 2017 Febi, Nurita, Nur Maulida, Rina, Galih, Yusril yang tulus ikhlas membantu, mendukung mendoakan dan memberi semangat dalam menyelesaikan penyusunan skripsi ini.
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah membantu dalam penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran dari berbagai pihak.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat menjadi informasi yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan di bidang farmasi.

Jazzakumullah khairan Katsira,

Wassalamualaikum Wr. Wb.

Semarang, Agustus 2022

Penulis

Lina Anindita Putri Priyambodo

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN	ii
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	iv
PRAKATA	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
INTISARI	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1. Tujuan Umum	3
1.3.2. Tujuan Khusus	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2. Manfaat Praktis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5

2.1.	Tanaman Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC)	5
2.1.1.	Klasifikasi Ilmiah	5
2.1.2.	Morfologi Tanaman Jeruk Purut	6
2.1.3.	Kandungan Kimia Kulit Jeruk Purut	6
2.1.4.	Aktivitas Farmakologi Sebagai Antioksidan	9
2.2.	Destilasi	9
2.2.1.	Definisi Destilasi	9
2.2.2.	Metode Destilasi Uap Air	10
2.3.	Krim	11
2.3.1.	Definisi Krim	11
2.3.2.	Formula Krim Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut	12
2.3.3.	Pemerian Bahan	12
2.4.	Azarine®	14
2.5.	Hewan Uji	15
2.6.	Kulit	16
2.6.1.	Definisi Kulit	16
2.6.2.	Struktur Kulit	16
2.6.3.	Kolagen	22
2.7.	Sinar Ultra Violet	23
2.8.	Radikal Bebas	25
2.9.	Antioksidan	26

2.10. Hubungan Pengaruh Konsentrasi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC) Dalam Sediaan Krim Terhadap Penebalan Kolagen dan Epidermis Kulit Kelinci	27
2.11. Kerangka Teori.....	29
2.12. Kerangka Konsep	30
2.13. Hipotesis	30
BAB III METODE PENELITIAN	31
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	31
3.2. Variabel.....	31
3.3. Definisi Operasional.....	31
3.4. Populasi dan Sampel.....	32
3.3.1. Populasi	32
3.3.2. Sampel Penelitian.....	32
3.5. Instrumen dan Bahan Penelitian.....	34
3.5.1. Instrumen Penelitian.....	34
3.5.2. Bahan.....	34
3.6. Cara Penelitian	35
3.6.1 Determinasi.....	35
3.6.2 Preparasi Sampel.....	35
3.6.3 Pembuatan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut	35
3.6.4 Pengujian DPPH	36
3.6.5 Pembuatan Sediaan Krim	38

3.6.6	Pengujian Evaluasi Fisik Sediaan Krim Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut.....	39
3.6.7	Pengambilan Sampel Kulit Kelinci.....	40
3.6.8	Pembuatan Preparat Histopatologi.....	42
3.6.9	Pewarnaan dengan <i>Haematoxylin-Eosin</i>	44
3.6.10	Pengamatan Kepadatan Kolagen dan Epidermis	44
3.6.11	Perhitungan Persentase Kepadatan Kolagen dan Epidermis	44
3.7.	Alur Penelitian	46
3.8.	Tempat dan Waktu	47
3.8.1.	Tempat.....	47
3.8.2.	Waktu.....	47
3.9.	Analisis Hasil.....	47
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		48
4.1	Hasil Penelitian	48
4.1.1	Hasil Determinasi Tanaman	48
4.1.2	Hasil Rendemen.....	48
4.1.3	Hasil Analisis DPPH Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut.....	48
4.1.4	Hasil Evaluasi Fisik Sediaan Krim	48
4.1.5	Hasil Pengamatan Preparat Histopatologi.....	50
4.1.6	Hasil Uji Kepadatan Kolagen Pada Kelinci <i>Oryctolagus cuniculus</i>	53
4.1.7	Hasil Uji Ketebalan Epidermis Pada Kelinci <i>Oryctolagus cuniculus</i>	54

4.1.8	Analisis Hasil.....	56
4.2	Pembahasan.....	59
4.2.1	Hasil Determinasi Tanaman	59
4.2.2	Hasil Uji DPPH Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut.....	60
4.2.3	Formula Sediaan Krim Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut	61
4.2.4	Hasil Uji Fisik Sediaan Krim.....	62
4.2.5	Hasil Analisis Kepadatan Kolagen Pada Kelinci <i>Oryctolagus</i> <i>cuniculus</i>	64
4.2.6	Hasil Analisis Ketebalan Epidermis Pada Kelinci <i>Oryctolagus</i> <i>cuniculus</i>	67
4.2.7	Keterbatasan Penelitian	71
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		72
5.1	Kesimpulan	72
5.2	Saran	73
DAFTAR PUSTAKA.....		74
LAMPIRAN		78

DAFTAR SINGKATAN

μg	: mikrogram
μm	: makrometer
AP-1	: <i>Activator Protein</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
DPPH	: <i>2,2-Diphenyl-1-Pikrilidrazil</i>
g	: gram
GAG	: Glikosaminoglikans
IC ₅₀	: <i>Inhibitory Concentration Of 50%</i>
LSD	: <i>Least Significant Difference</i>
mg	: miligram
ml	: mililiter
mm	: milimeter
MMP	: <i>Matrix Metalloproteinase</i>
nm	: nanometer
°C	: Celcius
PG	: Proteoglikans
Ppm	: <i>Part Per Million</i>
RNA	: <i>Ribonucleic Acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
TEA	: Trietanolamin
TGF- β	: <i>Transforming Growth Factor</i>
UV	: <i>Ultra Violet</i>

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 <i>Citrus hystrix</i> DC.....	5
Gambar 2. 2 Struktur Flavonoid.....	6
Gambar 2. 3 Struktur Terpenoid.....	8
Gambar 2. 4 Rangkaian Destilasi Uap Air.....	10
Gambar 2. 5 Struktur Kulit.....	17
Gambar 2. 6 Lapisan Epidermis Kulit.....	17
Gambar 2. 7 Lapisan Dermis Kulit.....	20
Gambar 2. 8 Histologi Kolagen Dermis Dengan Pewarnaan HE.....	22
Gambar 2. 9 Efek Sinar UV Terhadap Kulit.....	23
Gambar 2. 10 Tempat Pemaparan UV.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar 2. 11 Kerangka Teori.....	29
Gambar 2. 12 Kerangka Konsep.....	30
Gambar 3. 1 Rencana perlakuan pada kelinci.....	41
Gambar 3. 2 Alur Penelitian.....	46
Gambar 4. 1 Hasil Uji Kepadatan Kolagen Pada Kelinci <i>Oryctolagus cuniculus</i>	54
Gambar 4. 2 Hasil Uji Ketebalan Epidermis Pada Kelinci <i>Oryctolagus cuniculu</i>	55

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Formula Krim Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut.....	12
Tabel 3. 1 Parameter Skoring Kepadatan Kolagen.....	45
Tabel 4. 1 Hasil Uji Fisik Organoleptik.....	49
Tabel 4. 2 Hasil Uji Fisik Homogenitas	49
Tabel 4. 3 Hasil Uji Fisik pH	49
Tabel 4. 4 Hasil Uji Fisik Daya Sebar	50
Tabel 4. 5 Hasil Uji Fisik Viskositas	50
Tabel 4. 6. Hasil Uji Kepadatan Kolagen Pada Kelinci <i>Oryctolagus cuniculus</i> ...	53
Tabel 4. 7. Hasil Uji Ketebalan Epidermis Pada Kelinci <i>Oryctolagus cuniculus</i> .	55
Tabel 4. 8 Hasil Uji Normalitas Kepadatan Kolagen (<i>Shapiro wilk</i>)	56
Tabel 4. 9 Hasil Uji Homogenitas Kepadatan Kolagen (<i>Levene test</i>)	56
Tabel 4. 10 Hasil Uji <i>One Way Anova</i> Kepadatan Kolagen.....	57
Tabel 4. 11 Hasil Uji <i>Post Hoc</i> Kepadatan Kolagen	57
Tabel 4. 12 Hasil Uji Normalitas Ketebalan Epidermis (<i>Shapiro wilk</i>)	58
Tabel 4. 13 Hasil Uji Homogenitas Ketebalan Epidermis (<i>Levene test</i>)	58
Tabel 4. 14 Hasil Uji <i>One Way Anova</i> Ketebalan Epidermis.....	59
Tabel 4. 15 Hasil Uji <i>Post Hoc</i> Ketebalan Epidermis	59

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Determinasi.....	78
Lampiran 2 Hasil Perhitungan Rendemen	79
Lampiran 3 Data Perhitungan dan Penimbangan Uji DPPH.....	79
Lampiran 4 Hasil Uji DPPH Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut.....	81
Lampiran 5 Hasil Evaluasi Fisik Krim	83
Lampiran 6 Analisis Hasil Kepadatan Kolagen	85
Lampiran 7 Analisis Hasil Ketebalan Epidermis	88
Lampiran 8 Dokumentasi Penelitian.....	91
Lampiran 9 Ethical Clearence	93
Lampiran 10 Data Hasil Pembacaan Kolagen.....	94
Lampiran 11 Data Hasil Pembacaan Ketebalan Epidermis	95



INTISARI

Paparan sinar UVB merupakan salah satu faktor ekstrinsik pemicu kerusakan pada kulit karena dapat merangsang pembentukan ROS, sehingga memicu penipisan epidermis, munculnya kerutan, kulit kasar dan hilangnya elastisitas pada kulit. Minyak atsiri kulit jeruk purut mengandung terpenoid sehingga dapat meminimalisasi dari dampak negatif radikal bebas. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk purut dalam sediaan krim terhadap penebalan kolagen dan epidermis kulit kelinci yang terpapar sinar UVB.

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan *post test only control group design*. Pembuatan preparat histopatologi kulit kelinci yang terpapar sinar uv terbagi menjadi 6 kelompok meliputi kelompok I(kontrol normal) yang tidak diberi perlakuan, kelompok II(kontrol negatif) tidak diberi krim, kelompok III (kontrol positif) dioles krim Azarine, kelompok IV(formula krim dengan konsentrasi $1 \times IC_{50}$), kelompok V(formula krim dengan konsentrasi $20 \times IC_{50}$), kelompok VI (formula krim dengan konsentrasi $40 \times IC_{50}$) dengan pengambilan sampel pada hari ke 10. Hasil persentase kepadatan kolagen dan ketebalan epidermis dianalisis menggunakan uji *One-Way Anova* dan *Post Hoc LSD*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada uji kepadatan kolagen pada kelompok I, II, III, IV, V, VI secara berturut turut sebesar 36,612%; 28,215%; 50,916%; 41,071%; 44,313%; 45,580%. Hasil uji ketebalan epidermis kelompok I, II, III, IV, V, VI secara berturut turut 44,97 μ m; 28,64 μ m; 63,33 μ m; 53,99 μ m; 66,89 μ m; 66,42 μ m. Pada analisis hasil kepadatan kolagen dan ketebalan epidermis masing masing terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok IV, V, VI dengan kelompok I, II, dan III.

Berdasarkan hasil analisis dapat disimpulkan bahwa krim minyak atsiri kulit jeruk purut dengan konsentrasi $40 \times IC_{50}$ memberikan pengaruh terhadap ketebalan kolagen dan epidermis pada kelinci *Oryctolagus cuniculus* yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatif dan kontrol normal.

Kata kunci : Minyak atsiri kulit jeruk purut, sediaan krim, ketebalan kolagen dan epidermis

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kulit yang terkena paparan sinar ultraviolet dari matahari secara terus menerus akan mengalami perubahan struktur jaringan. Paparan sinar matahari (ultraviolet) telah terbukti sejak tahun 1969 sebagai faktor ekstrinsik utama pemicu penuaan kulit (Zhang, 2018). Delapan puluh persen penuaan dini di usia muda pada masyarakat Indonesia diakibatkan oleh paparan sinar ultraviolet dari matahari (Perdoski, 2016).

Paparan sinar UV B dengan panjang gelombang 290-310 nm merupakan salah satu faktor bahaya utama dari faktor ekstrinsik yang memicu kerusakan pada kulit, radiasi sinar UV B dapat merangsang pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) atau radikal bebas. Pembentukan ROS pada kulit melalui reaksi yang dikatalis oleh enzim oksidase dan produksi yang berlebih menimbulkan *stress oxidatif* pada kulit (Ahmad, 2018). Radikal bebas yang terbentuk akan menyebabkan penipisan epidermis dan ekspresi lesi yang memicu aktivitas keratosis. Selain itu munculnya kerutan, kulit kasar, dan kering disebabkan karena degradasi kolagen dengan menurunnya kinerja enzim untuk mempertahankan fungsi sel, merusak protein dan asam amino yang merupakan struktur utama kolagen dan elastin (Pratiwi, 2017; Setyowati, 2015). Kerusakan akibat radikal bebas dalam tubuh tersebut dapat diminimalisasi dengan antioksidan. Tubuh secara alami memproduksi zat antioksidan untuk

menetralkan radikal bebas baik eksogen maupun endogen, tetapi seiring dengan bertambahnya usia dan akumulasi ROS yang meningkat sehingga diperlukan antioksidan tambahan dari luar, salah satunya yaitu menggunakan krim antioksidan (Hardiningtyas dkk., 2014).

Salah satu antioksidan alami yang dapat dimanfaatkan yaitu kulit buah jeruk purut. Menurut penelitian Warsito (2017) minyak atsiri kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) memiliki aktivitas antioksidan dengan metode DPPH sebesar 6,43 μ g/mL. Aktivitas ini dikaitkan adanya kandungan monoterpenoid hidrokarbon yang tinggi sebesar 50,10% terutama pada komponen sabine, β -pinene, dan limonen (Warsito dkk., 2017). Penggunaan minyak atsiri kulit jeruk purut secara langsung dinilai kurang efektif untuk diaplikasikan pada kulit, sehingga untuk mempermudah penggunaannya maka dilakukan formulasi sediaan krim antioksidan dengan tipe krim o/w, hal ini dipilih karena krim tipe o/w memiliki sifat yang tidak berminyak dan mudah menyerap pada permukaan kulit selain itu sediaan krim bertujuan untuk memberikan efek pendinginan pada kulit (Juwita dkk., 2013). Namun sejauh ini belum ada penelitian tentang pengaruh krim minyak atsiri kulit jeruk purut dalam meningkatkan kepadatan serabut kolagen dan epidermis pada kulit kelinci yang terpapar sinar ultraviolet.

Berdasarkan permasalahan yang telah diuraikan maka peneliti bermaksud melakukan penelitian mengenai efektivitas konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk purut dalam sediaan krim yang dilihat dari kepadatan

kolagen dan ketebalan epidermis pada kulit kelinci jantan (*Oryctolagus cuniculus*) yang terpapar sinar ultraviolet.

1.2. Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dalam sediaan krim tipe o/w terhadap penebalan kolagen dan epidermis kulit kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang terpapar sinar ultraviolet B?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dalam sediaan krim tipe o/w terhadap penebalan kolagen dan epidermis pada kulit kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang terpapar sinar ultraviolet B?

1.3.2. Tujuan Khusus

Untuk mengetahui efektivitas krim sebagai antioksidan dilihat dari gambaran histopatologi ketebalan kolagen dan epidermis pada kulit kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) dengan pemberian krim minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) setelah dilakukan pemaparan sinar ultraviolet B.

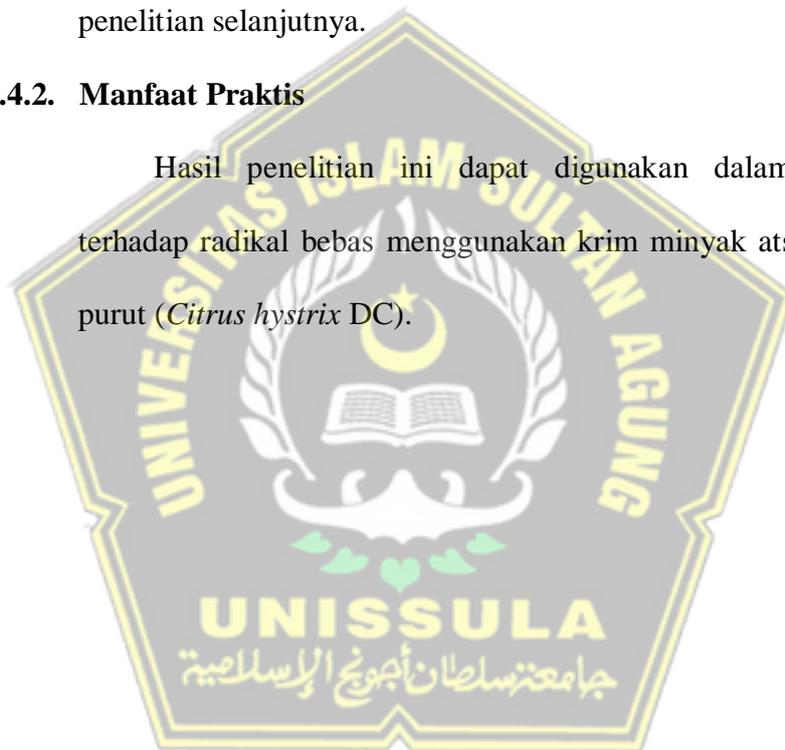
1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Memberikan informasi mengenai potensi penggunaan krim minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) sebagai antioksidan untuk memperlambat keriput yang dilihat dari ketebalan kolagen dan epidermis serta memberikan data untuk keperluan penelitian selanjutnya.

1.4.2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini dapat digunakan dalam pencegahan terhadap radikal bebas menggunakan krim minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC).



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

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



Gambar 2. 1 *Citrus hystrix* DC (a) Tumbuhan Jeruk Purut (b) Buah Jeruk Purut (Agouillal dkk., 2017)

2.1.1. Klasifikasi Ilmiah

Secara taksonomi, tanaman jeruk purut memiliki klasifikasi ilmiah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Sub kingdom : Tracheobionta

Super divisi : Spermatophyta

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnolipsida

Sub kelas : Rosidae

Ordo : Sapimdales

Famili : Rutaceae
 Genus : Citrus
 Spesies : *Citrus hystrix* DC (Hakim dkk., 2019)

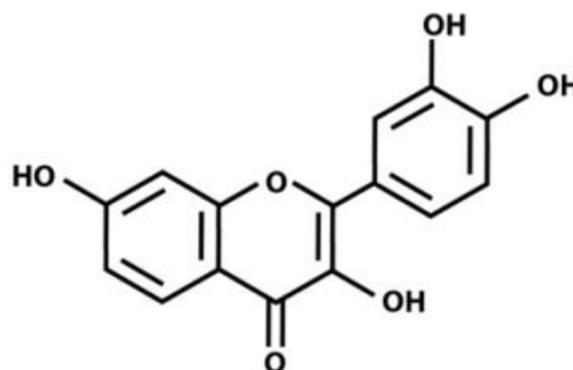
2.1.2. Morfologi Tanaman Jeruk Purut

Tanaman jeruk purut memiliki ciri fisik yang khas, pada bentuk daun maupun bentuk buahnya sehingga mudah dikenali oleh masyarakat. Jeruk purut memiliki aroma pada kulit buah dan daun yang menyengat. Ukuran buahnya kecil, berbentuk bulat dengan memiliki banyak tonjolan dan berkerut pada bagian kulitnya yang tebal dan berwarna hijau polos. Tanaman ini memiliki tinggi sekitar 3-5 m, buahnya memiliki ukuran diameter sekitar 5-7,5 cm atau lebih kecil dari kepalan tangan manusia dewasa (Nurlaila, 2018).

2.1.3. Kandungan Kimia Kulit Jeruk Purut

Berdasarkan penelitian Rahmi (2013) mengenai profil fitokimia pada kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) memiliki kandungan senyawa flavonoid, fenolat, terpenoid.

2.1.3.1. Flavonoid



Gambar 2. 2 Struktur Flavonoid (Zhao dkk., 2018)

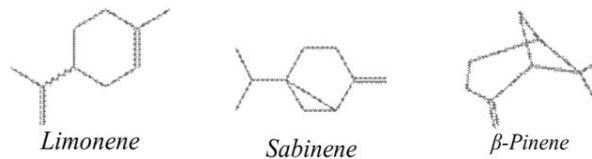
Flavonoid merupakan kelompok polifenol dan diklasifikasikan berdasarkan struktur kimia serta biosintesisnya. Struktur dasar flavonoid terdiri dari dua gugus aromatik yang digabungkan oleh jembatan karbon (C6-C3-C6) (Julianto, 2019).

Potensi antioksidan yang dimiliki flavonoid berasal dari kemampuan mendonorkan elektron ke senyawa radikal bebas. Mekanisme tersebut membuat flavonoid memiliki efek menekan kerusakan jaringan oleh radikal bebas. Flavonoid yang terdapat pada jeruk purut antara lain narirutin, naringenin, hesperidin, neohesperidin, nobiletin, dan tangeretin (Muzuka dkk., 2018).

2.1.3.2. Fenolat

Pada senyawa fenol, peran utama dalam aktivitas antioksidan terdapat pada struktur rantai samping cincin aromatisnya. Aktivitas peredaman radikal bebas senyawa fenol dipengaruhi jumlah dan posisi atom hidrogen (H^+). Senyawa fenol berpotensi sebagai antioksidan dengan menyumbangkan atom hidrogen, maka dapat menghasilkan reaksi netralisasi radikal bebas atau menghentikan reaksi radikal berantai yang terjadi (Muzuka dkk., 2018).

2.1.3.3. Terpenoid



Gambar 2. 3 Struktur Terpenoid (Agouillal dkk., 2017)

Senyawa terpena merupakan kelompok senyawa organik hidrokarbon yang melimpah dihasilkan oleh berbagai jenis tumbuhan. Terpenoid merupakan komponen utama dalam minyak atsiri yang digunakan untuk bahan dasar parfum, dan pengobatan (Julianto, 2019). Senyawa terpenoid memiliki ikatan rangkap terkonjugasi sehingga dapat mentransfer hidrogen (Muzuka dkk., 2018).

Terdapat tiga komponen utama monoterpenoid hidrokarbon yang terdapat pada minyak atsiri kulit jeruk purut meliputi sabinene (9,12%), β -pinene (21,44%), limonene (12,59%), komponen tersebut memiliki daya hambat terhadap radikal bebas paling baik. Menurut Wotjunik (2014) yang bertanggung jawab dengan radikal bebas dari DPPH adalah ikatan π dalam molekul monoterpen. Mekanisme interaksi radikal DPPH dengan molekul-molekul monoterpen tersebut diindikasikan dengan menurunnya aktivitas antioksidan dari monoterpen (Warsito dkk., 2017).

2.1.4. Aktivitas Farmakologi Sebagai Antioksidan

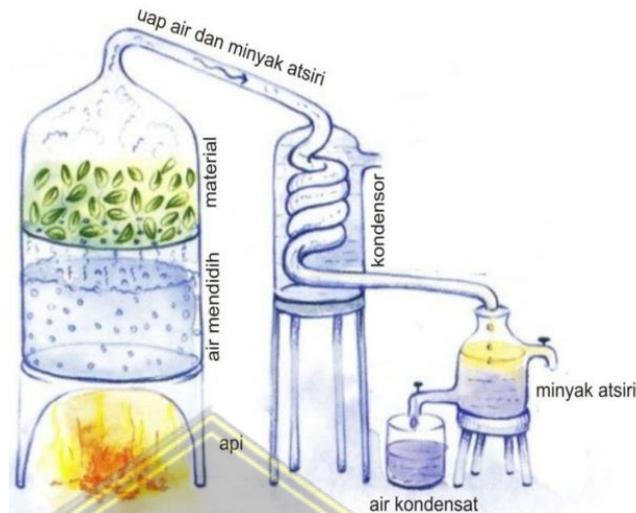
Senyawa aktif terpenoid yang terkandung dalam minyak atsiri kulit jeruk purut adalah limonen dan β -pinene. β -pinene yang didestilasi menggunakan metode destilasi uap memiliki kandungan senyawa yang paling tinggi dengan kadar sebesar 21,44% (Warsito dkk., 2017). Terpenoid yang terkandung dalam minyak atsiri kulit jeruk purut sebagai antioksidan bekerja dengan mengurangi pembentukan radikal bebas baru dengan memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Terpenoid berperan penting dalam meningkatkan kecepatan reepitelisasi pada jaringan. Peningkatan tersebut memacu proliferasi dan migrasi sel-sel endotel hingga membentuk pembuluh darah baru (Maulida dkk., 2016).

2.2. Destilasi

2.2.1. Definisi Destilasi

Metode destilasi atau penyulingan merupakan suatu metode pemisahan kima berdasarkan kecepatan dalam menguap (volatilitas) suatu bahan. Dalam metode ini, campuran zat dididihkan sehingga menguap dan uap ini kemudian di dinginkan kembali dalam bentuk cairan. Zat yang memiliki titik didih yang lebih rendah akan menguap lebih awal (Muhtadin dkk., 2013).

2.2.2. Metode Destilasi Uap Air



Gambar 2. 4 Rangkaian Destilasi Uap Air

Metode destilasi uap air atau disebut juga dengan sistem kukus. Pada metode ini bahan diletakkan di atas piringan atau plat besi berlubang seperti ayakan yang terletak beberapa sentimeter di atas permukaan air. Saat air direbus dan mendidih, uap yang terbentuk akan melalui sarangan melalui lubang-lubang kecil dan melewati celah-celah bahan. Minyak atsiri dalam bahan akan menguap bersama uap panas melalui pipa menuju ketel kondensator (pendingin). Selanjutnya, uap air dan minyak akan mengembun dan ditampung dalam tangki pemisah. Pemisahan air dan minyak dilakukan berdasarkan berat jenis. Keuntungan dari metode ini yaitu penetrasi uap terjadi secara merata ke dalam jaringan bahan dan suhu dapat dipertahankan hingga 100°C. Waktu penyulingan relatif lebih singkat, rendemen minyak lebih besar, hal ini karena destilasi uap air memiliki suhu dan tekanan proses yang relatif lebih tinggi, hasil

yang didapatkan relatif tidak ada minyak atsiri yang bercampur dalam air sehingga jumlah minyak yang tertinggal dalam air kecil, dan juga senyawa-senyawa yang terekstrak lebih lengkap (Yulianto dkk., 2012).

2.3. Krim

2.3.1. Definisi Krim

Krim merupakan suatu sediaan emulsi setengah padat dengan yang mengandung satu lebih bahan obat yang terlarut dan terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai serta dimaksudkan untuk pemakaian luar atau topikal. Sediaan topikal dengan bentuk krim lebih disukai karena banyak keuntungannya, diantaranya yaitu sederhana dalam pembuatan, mudah dalam penggunaan, mudah dicuci, bentuknya menarik serta menimbulkan rasa nyaman bagi pengguna. Dalam pembuatan krim bahan-bahan yang larut dalam fase minyak dilarutkan dalam minyak yang dipanaskan pada suhu 70°-80° C di atas tangas air. Bahan-bahan yang dapat larut air dilarutkan dalam fase air kemudian dipanaskan pada suhu 70°-80° C di atas tangas air. Pencampuran kedua fase ini dilakukan pada suhu yang sama. Kemudian diaduk hingga terbentuk krim. Bila terdapat bahan-bahan yang tidak tahan terhadap pemanasan maka bahan tersebut ditambahkan langsung pada masa krim yang telah jadi (Amaliah & Pratiwi, 2018).

2.3.2. Formula Krim Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut

Berikut merupakan formula optimum sediaan krim minyak atsiri kulit jeruk purut yang digunakan dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2. 1 Formula Krim Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut

Komposisi	Formulasi (%)		
	F1	F2	F3
Minyak atsiri kulit jeruk purut	1 x IC ₅₀ (0,01131)	20 x IC ₅₀ (0,2262)	40 x IC ₅₀ (0,4524)
Asam stearat	54,3	54,3	54,3
Triethanolamin	6,6	6,6	6,6
Gliserin	12	12	12
Propilenglikol	45	45	45
Methyl paraben	0,6	0,6	0,6
Propil paraben	0,06	0,06	0,06
Setil alkohol	1,5	1,5	1,5
Aquadest ad	300	300	300

2.3.3. Pemerian Bahan

2.3.3.1. Asam stearat

Asam stearat memiliki karakteristik berupa serbuk yang berwarna putih kekuningan, kristal, dan mengkilap.

Berfungsi sebagai basis krim, agen pengemulsi. Konsentrasi asam stearat antara 1-20% biasa digunakan dalam formulasi sediaan krim (Rowe dkk., 2009).

2.3.3.2. Triethanolamin

Triethanolamin memiliki karakteristik berupa cairan kental berwarna jernih, sedikit berbau amoniak dan biasa digunakan dalam pembuatan sediaan topikal khususnya

pada pembentukan emulsi dengan konsentrasi 1-4%. Trietanolamin memiliki karakteristik seperti sabun apabila dicampur dengan asam lemak konsentrasi tinggi. (Rowe dkk., 2009).

2.3.3.3. Gliserin

Gliserin memiliki karakteristik cairan yang tidak berwarna, tidak berbau, memilikirasa yang manis. Pada konsentrasi $\leq 30\%$ digunakan dalam formulasi sediaan topikal dan kosmetik sebagai humektan dan pelembut (Rowe dkk., 2009).

2.3.3.4. Propilenglikol

Propilenglikol memiliki karakteristik berupa cairan berwarna bening, tidak berbau, bertekstur kental, dan memiliki rasa yang manis seperti gliserin. Propilenglikol dapat menghambat jamur dan dalam formulasi zat ini bersifat sebagai pelarut. Zat ini biasa digunakan sebagai pelarut pada konsentrasi 5-10% (Rowe dkk., 2009).

2.3.3.5. Setil alkohol

Setil alkohol memiliki karakteristik seperti lilin, butira atau serpihan putih, memiliki rasa hambar dan bau khas namun tidak kuat. Pada konsentrasi 2-10% digunakan sebagai stiffening agent dan emolien pada formulasi sediaan (Rowe dkk., 2009).

2.3.3.6. Methyl paraben

Metil paraben atau nipagin memiliki karakteristik berupa kristal putih, hablur, tidak berbau dan mudah larut dalam etanol. Zat ini biasa digunakan dalam sediaan farmasi sebagai pengawet, penggunaan untuk sediaan topikal dengan konsentrasi 0,02-0,03% (Rowe dkk., 2009).

2.3.3.7. Propyl paraben

Propilparaben atau nipasol memiliki karakteristik berupa serbuk kristal putih, tidak beraroma, dan hambar. Zat ini biasa digunakan sebagai pengawet dalam produk farmasi sebagai pengawet, penggunaan untuk sediaan topikal dengan konsentrasi 0,01-0,6% (Rowe dkk., 2009).

2.4. Azarine®

Azarine C *Moisturizer* merupakan krim pelembab dengan komposisi utama yaitu ekstrak *Citrus limon*. Ekstrak *Citrus limon* memberikan nutrisi untuk regenerasi kulit dalam sintesis kolagen. Zat aktif lainnya yang terkandung dalam sediaan ini diantaranya *Collagen*, *Olive oil*, *Aloe barbadensis extract*, *Pachyrhizus erosus extract* yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antiaging, yang bekerja mengaktifasi sel fibroblas yang akan meningkatkan regenerasi kulit. Selain itu terdapat bahan eksipien diantaranya *stearic acid*, *cetyl alcohol*, *glycerine*, *glyceryl stearate*,

polyethylene glycol stearate yang berfungsi sebagai *enhancer* untuk meningkatkan penetrasi krim melalui topikal (Mimeault & Batra, 2010).

2.5. Hewan Uji

2.5.1 Klasifikasi Hewan Kelinci

Kingdom	: Animalia
Fillum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Lagorhapha
Familia	: Laporidae
Genus	: <i>Oryctolagus</i>
Spesies	: <i>Oryctolagus cuniculus</i>

2.5.2 Bobot Badan Dewasa

Jantan : 2-5 kg

Betina : 4-6,5 kg

2.5.3 Kriteria Hewan Uji

Kriteria hewan uji meliputi:

1. Hewan jantan
2. Hewan sehat yang dilihat dari fisiknya meliputi telinga tegak dan bersih, sepasang mata yang bulat dan bening, permukaan hidung yang kering, gigi kuat, dan feses tidak cair.
3. Hewan berumur 8-12 minggu dengan variasi berat badan tidak boleh melebihi 20% dari rata-rata berat badan. Hewan diseleksi

secara acak, diberi tanda untuk identifikasi tiap-tiap hewan, dan dilakukan aklimatisasi minimal 5 hari sebelum diberi perlakuan.

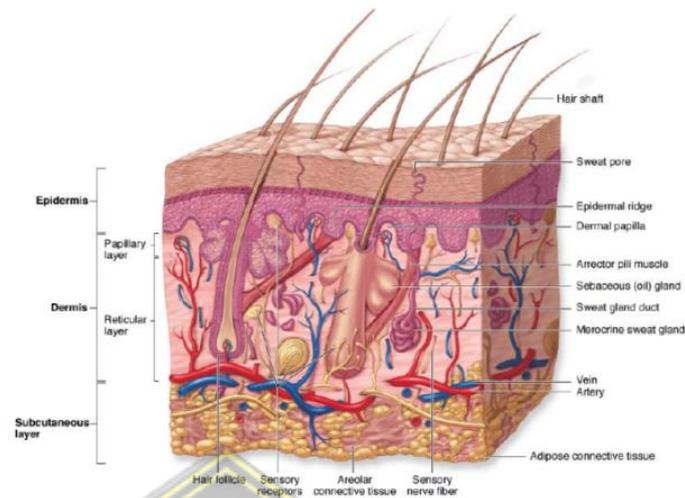
2.6. Kulit

2.6.1. Definisi Kulit

Kulit merupakan organ pada tubuh paling luar dan merupakan organ terbesar yang berfungsi sebagai proteksi atau melindungi bagian tubuh terhadap berbagai macam gangguan, baik pengaruh fisik maupun kimia sehingga kulit sangat rentan terhadap trauma dan terjadinya luka (Kalangi & Kaseke, 2015). Kulit memiliki berat sekitar 16% dari berat tubuh manusia, pada orang dewasa memiliki berat sekitar 2,7-3,6 kg dan luasnya sekitar 1,5-1,9 m². Fungsi kulit antara lain memantau lingkungan dan berbagai mekanoreseptor dengan lokasi khusus di kulit terhadap interaksi tubuh dengan objek fisis dan mekanik seperti paparan sinar matahari yang dapat terjadi secara akut yaitu timbulnya reaksi terbakar sunburn dan pigmentasi, maupun kronis yang dapat menyebabkan penuaan dini dan pertumbuhan tumor (Abeng dkk., 2016).

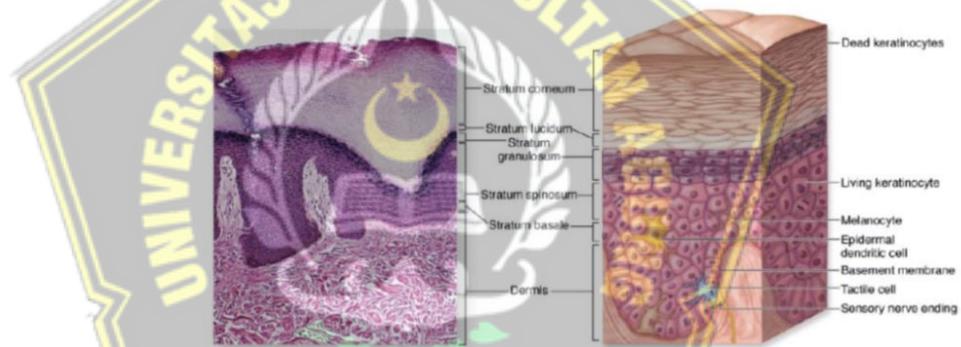
2.6.2. Struktur Kulit

Berikut ini disajikan gambar struktur kulit pada gambar 2.5 :



Gambar 2. 5 Struktur Kulit (Kalangi, 2014)

2.5.2.1. Epidermis



Gambar 2. 6 Lapisan Epidermis Kulit (Kalangi, 2014)

Epidermis merupakan lapisan terluar yang hanya terdiri atas jaringan epitel yang tidak memiliki pembuluh darah ataupun limfe, oleh karenanya nutrisi dan oksigen yang diperoleh berasal dari kapiler yang terdapat di lapisan dermis. Epitel tersusun atas banyak sel yang disebut dengan keratinosit. Pada epidermis terdapat lima lapisan mulai dari lapisan luar sampai lapisan dalam yaitu stratum

basal, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum, dan stratum korneum(Kalangi, 2014) .

a. Stratum Basal

Lapisan ini merupakan lapisan terdalam yang terdiri atas satu sel berderet yang tersusun di atas membran basal dan melekat pada dermis di bawahnya. Memiliki bentuk sel yang silindris dengan inti yang besar apabila dibandingkan dengan sitoplasma dan ukuran selnya. Sel yang berada di lapisan ini akan menuju ke permukaan dan menggantikan sel-sel pada lapisan yang terletak lebih superfisial. Luka akan mempercepat pergerakan sel tersebut dan meregenerasi kulit dalam keadaan normal (Kalangi, 2014).

b. Stratum Spinosum

Lapisan spinosum atau disebut lapis taju tersusun atas beberapa sel besar dengan bentuk poligonal dan memiliki inti yang berbentuk lonjong dan sitoplasma yang berwarna kebiruan. Jika dilakukan pengamatan histopatologi dengan pembesaran 40x, perbatasan antara dinding sel dengan sel di sebelahnya akan memperlihatkan taju-taju yang saling menghubungkan antar sel. Di dalam taju tersebut, terdapat desmosom yang melekatkan antar sel. Bentuk sel akan semakin

pipih apabila sel pada lapisan ini bergerak semakin ke atas (Kalangi, 2014).

c. Stratum Granulosum

Lapisan ini terdiri atas 2 sampai 4 lapis sel yang berbentuk gepeng dan mengandung banyak granula keratohial yang merupakan granula basofilik. Pada pengamatan histopatologi akan terlihat partikel amorf tanpa membran namun dikelilingi oleh ribosom. Pada permukaan granula terdapat mikrofilamen yang melekat (Kalangi, 2014).

d. Stratum Lusidum

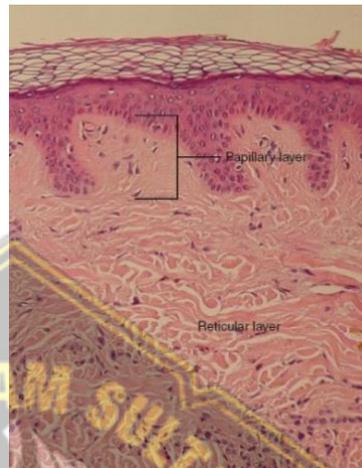
Lapisan ini tersusun dari 2 sampai 3 lapisan yang berbentuk gepeng, bersifat sedikit eosinofilik dan tidak memiliki organel maupun inti. Lapisan ini memiliki adhesi yang kurang meskipun terdapat sedikit desmosom, sehingga nampak adanya garis celah pemisah antara stratum korneum dan lapisan di bawahnya (Kalangi, 2014).

e. Stratum Korneum

Lapisan ini sering disebut dengan lapisan tanduk dan terdiri atas banyaknya sel mati, tidak memiliki inti, berbentuk pipih dan keratin menggantikan sitoplasmanya. Sel-sel yang mengelupas pada

permukaan kulit adalah sisik zat tanduk yang mengalami dehidrasi (Kalangi, 2014).

2.5.2.2. Dermis



Gambar 2. 7 Lapisan Dermis Kulit (Kalangi, 2014)

Dermis merupakan jaringan ikat yang mana sebagian besar terbentuk atas serabut kolagen dan serabut elastik yang bersifat elastis dan memberikan kekuatan pada kulit. Kedua serabut tersebut dibentuk oleh proteoglikans (PG) dan glikosaminoglikans (GAG) dan berada di dalam matriks. PG dan GAG ini memiliki peran dalam pengaturan cairan dengan mempertahankan kadar air pada kulit dalam jumlah besar (Kalangi, 2014).

Dermis tersusun atas 2 lapisan diantaranya stratum papilaris dan stratum retikularis (Kalangi, 2014).

a. Stratum Papilaris

Lapisan ini memiliki papila dermis dengan jumlah yang bervariasi dan ikatan pada lapisan ini lebih

longgar. Sebagian besar papilanya memiliki pembuluh kapiler yang akan memberikan nutrisi pada lapisan di atasnya.

b. Stratum Retikularis

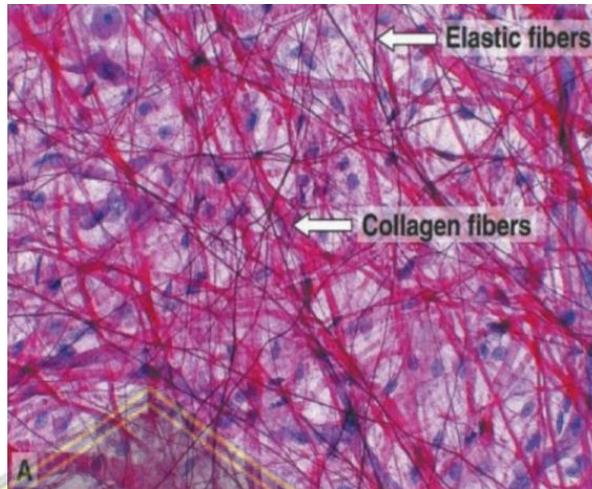
Lapisan ini tersusun dengan tebal dan dalam serta terdapat kolagen kasar dan sedikit serat elastin yang membentuk ikatan padat bersifat ireguler. Pada lapisan dibawahnya yang lebih dalam terdapat jaringan lemak, folikel rambut, kelenjar keringat dan sebacea.

Pada lapisan dermis terdapat beberapa sel yang relatif sedikit diantaranya sel fibroblas, sel mast dan makrofag.

2.5.2.3. Hipodermis

Hipodermis atau subcutis merupakan lapisan subkutan yang berada di bawah stratum retikularis dermis, mempunyai serabut kolagen halus dan sebagian di antaranya menyatu dengan serabut kolagen yang ada di dermis serta memiliki jaringan ikat lebih longgar. Sel-sel lemak yang ada pada lapisan ini berjumlah lebih banyak dibandingkan sel-sel lemak yang ada di dermis. Jumlahnya tergantung pada status gizi dan ukuran tubuh. Lapisan lemak tersebut merupakan pannikulus adiposus (Kalangi, 2014).

2.6.3. Kolagen



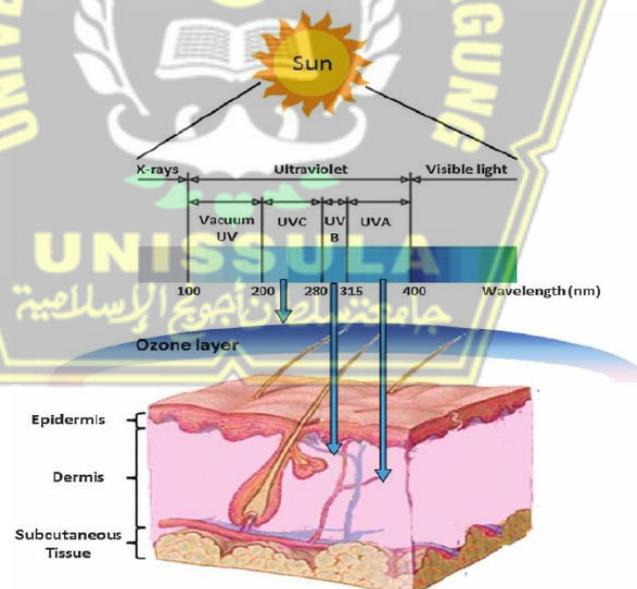
Gambar 2. 8 Histologi Kolagen Dengan Pewarnaan HE
(Soesilawati, 2020)

Kolagen merupakan salah satu kelompok protein yang tidak larut air, yang keberadaannya mencapai 30% dari seluruh protein penyusun tubuh manusia. Kolagen terletak di dermis pada bagian stratum retikularis. Pada stratum retikularis terdapat kolagen, elastin, fibrous, dan *ground substance* (terdiri dari mukopolisakarida, asam hyaluronat, kondroitin sulfat). Sel utama pada lapisan ini adalah sel fibroblas, elastin, dan proteoglikan. Sel fibroblas akan menghasilkan kolagen sekitar 70-80% yang bermanfaat sebagai kekenyalan pada kulit, elastin akan menghasilkan 1-3% yang bermanfaat untuk elastisitas, dan proteoglikan bermanfaat untuk menjaga kelembaban kulit. (Khazanchi dkk., 2007).

Kerusakan kolagen pada kulit dapat disebabkan oleh paparan radiasi UV A dan UV B dari sinar matahari, diperkirakan bahwa akan terjadi penurunan kolagen sekitar 1% pertahun perunit di area

kulit, akan tetapi pada kulit yang terpapar sinar UV terjadi penurunan sampai 59% seperti yang ditemukan pada kulit yang mengalami *photodamage*. Sinar UV mengaktifkan *matrix metalloprotease*, yaitu enzim yang mendegradasi kolagen. Akumulasi paparan sinar ultraviolet mengakibatkan penuaan kulit berupa kulit kendur dan kerutan wajah sebab akumulasi kerusakan kolagen. Sinar UV juga memicu pembentukan radikal bebas, yang dapat bereaksi dengan protein seperti kolagen sehingga terjadi kerusakan kolagen (Alhana dkk., 2015).

2.7. Sinar Ultra Violet



Gambar 2. 9 Efek Sinar UV Terhadap Kulit (Jacoeb dkk., 2020)

Sinar ultra violet (UV) yang dipancarkan oleh matahari terbagi menjadi tiga yaitu sinar UV A memiliki panjang gelombang 320-400 nm, sinar ini memiliki energi yang rendah dan sejumlah 95% dapat mencapai

permukaan bumi dan tidak dihambat oleh lapisan ozon, sinar ini dapat diserap oleh epidermis dan dermis. Selain itu sinar ini dapat menginduksi produksi *reactive oxygen species* (ROS), yang dapat merusak pembuluh darah, serat kolagen, serat elastin, dan menimbulkan penuaan kulit. Sinar UV B memiliki panjang gelombang 290-320 nm, sekitar 5-10% dapat mencapai permukaan bumi, sinar ini diserap paling banyak oleh epidermis dan menyebabkan kelainan seperti keratinosis. Sinar UV C memiliki panjang gelombang 10-290 nm, sinar ini tidak dapat diemisikan ke bumi karena diserap oleh lapisan ozon di atmosfer bumi. (Jacob dkk., 2020)

Secara umum sumber sinar ultraviolet dapat diperoleh secara alamiah dan buatan, sinar matahari merupakan sumber utama sinar ultraviolet di alam. Sumber ultraviolet buatan umumnya berasal dari lampu fluorescent khusus, seperti lampu merkuri tekanan rendah (*low pressure*) dan lampu tekanan sedang (*medium pressure*). Lampu merkuri *medium pressure* mampu menghasilkan output radiasi ultraviolet yang lebih besar daripada lampu merkuri *low pressure*. Radiasi lampu merkuri *medium pressure* diemisikan pada panjang gelombang 180-1370nm (Hendriyanto & Cahyonugroho, 2010). Lampu UV B dengan panjang gelombang 300 nm dipilih karena lebih kuat untuk terserap pada epidermis dibandingkan UV A. Selain itu paparan sinar UV B yang berulang dapat membentuk ROS sehingga menurunkan ekspresi enzim antioksidan dan meningkatkan protein oksidatif. ROS yang terbentuk selama paparan UV dapat menghambat TGF- β (*Transforming Growth Factor*) sehingga produksi produksi kolagen

terhambat, serta meningkatkan transkripsi AP-1 (*Activator Protein*) yang selanjutnya meningkatkan produksi MMP (*Matrix Metalloproteinase*) (Wahyuningsih, 2011).

2.8. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan oksidan yang sangat reaktif, karena radikal bebas merupakan suatu senyawa yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada bagian orbital luarnya. Senyawa tersebut berusaha untuk menyerang komponen seluler seperti lipid, lipoprotein, protein, karbohidrat, RNA, dan DNA. Tempat diproduksi radikal bebas adalah di dalam sel yang dilakukan oleh mitokondria, membran plasma, lisosom, peroksisom, retikulum endoplasma dan inti sel (Kesuma, 2015).

Radikal bebas yang berada dalam tubuh bersifat sangat reaktif dan akan berinteraksi melalui reaksi oksidasi dengan bagian tubuh maupun sel-sel tertentu yang tersusun lemak, protein, karbohidrat, DNA, dan RNA sehingga memicu berbagai penyakit seperti jantung koroner, penuaan dini dan kanker. Oleh karena itu dibutuhkan antioksidan untuk mengatasi radikal bebas. Antioksidan atau senyawa penangkap radikal bebas merupakan zat yang dapat menetralkan radikal bebas atau suatu bahan yang berfungsi mencegah sistem biologi tubuh dari efek yang merugikan yang timbul dari proses ataupun reaksi yang menyebabkan oksidasi yang berlebihan (Rosahdi dkk., 2013).

2.9. Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu senyawa pemberi elektron (elektron donor) dengan kadar atau jumlah tertentu yang dapat menghambat atau memperlambat kerusakan karena proses oksidasi. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan dapat dihambat. Antioksidan dibutuhkan tubuh untuk melindungi dari radikal bebas. (Winarti, 2010).

Uji aktivitas antioksidan yang dilakukan menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*). Metode DPPH merupakan salah satu metode pengukuran aktivitas antioksidan dalam menghambat radikal bebas melalui *hydrogen atom transfer*, yaitu dengan cara mendonorkan atom H untuk menetralkan radikal bebas. Prinsip dari metode ini dengan menghambat radikal bebas DPPH. Hal ini ditunjukkan dengan penurunan nilai absorbansi pada panjang gelombang maksimum, penurunan panjang gelombang ini terjadi karena pengurangan radikal oleh antioksidan. Nilai absorbansi yang rendah disebabkan radikal DPPH yang dihambat oleh senyawa antioksidan melalui proses donor atom hidrogen. Proses dononor atom hidrogen oleh antioksidan bertujuan untuk membentuk radikal yang stabil, yang ditunjukkan dengan perubahan warna ungu menjadi warna kuning (Pratiwi & Salimah, 2020).

2.10. Hubungan Pengaruh Konsentrasi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) Dalam Sediaan Krim Terhadap Penebalan Kolagen dan Epidermis Kulit Kelinci

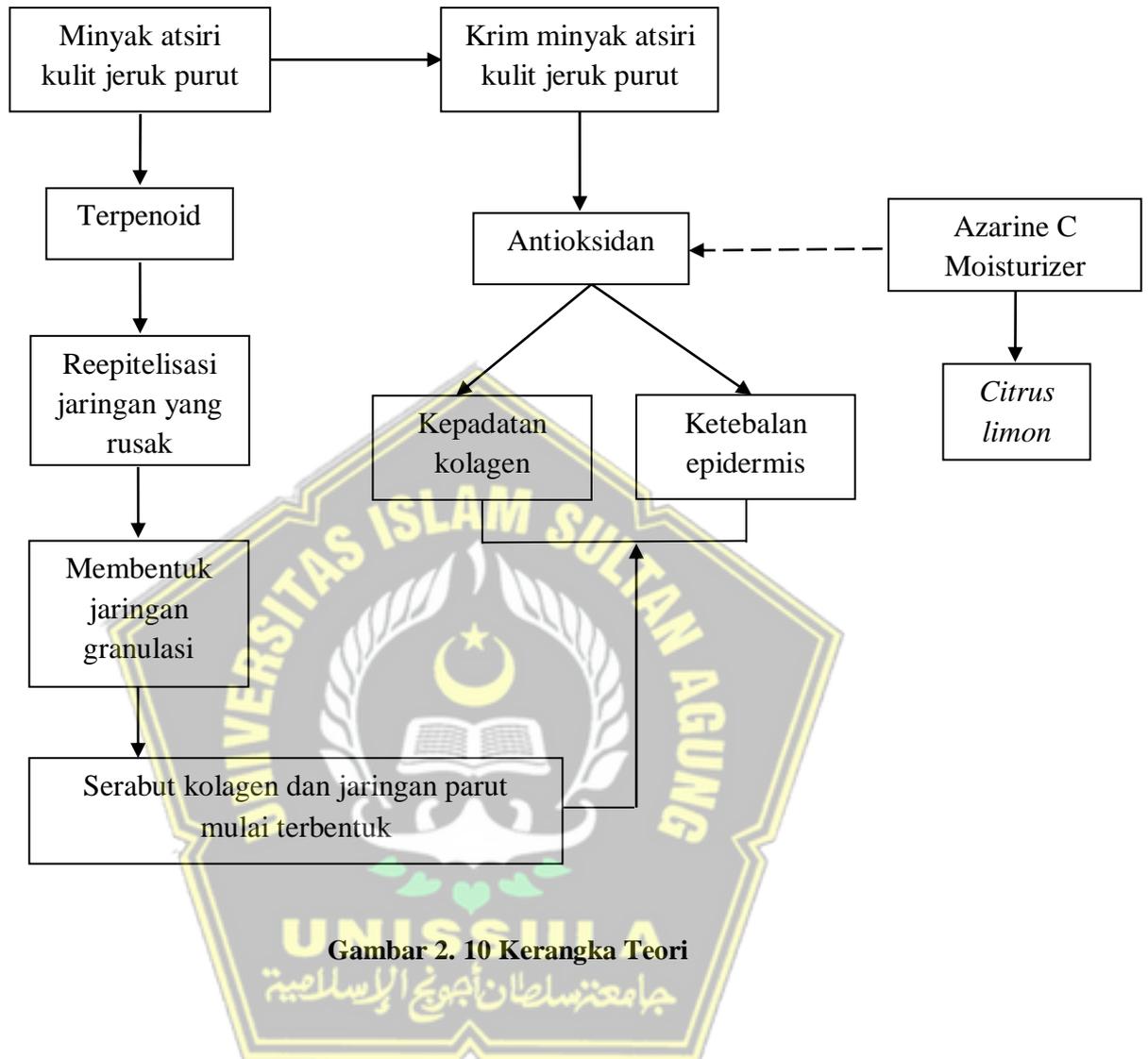
Kulit buah jeruk purut mengandung senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan yaitu terpenoid. Senyawa terpenoid merupakan senyawa aktif yang termasuk dalam jenis antioksidan lipofilik yang memiliki peranan sebagai antioksidan dengan memperlambat pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yaitu dengan menghambat kerja enzim *xantin oksidase* dan *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate* (NADPH) oksidase, serta mengkelat logam (Fe^{2+} dan Cu^{2+}) sehingga dapat mencegah reaksi redoks yang dapat menghasilkan radikal bebas (Jafar dkk., 2020). Radikal bebas yang terbentuk akan menyebabkan menurunnya kinerja enzim untuk mempertahankan fungsi sel, merusak protein dan asam amino yang merupakan struktur utama kolagen dan elastin (Setyowati, 2015). Selain itu terpenoid berperan penting dalam meningkatkan kecepatan reepitelisasi pada jaringan. Peningkatan tersebut memacu proliferasi dan migrasi sel-sel endotel (Maulida dkk., 2016).

Pada bidang kosmetik, kolagen digunakan untuk mengurangi keriput pada wajah atau dapat disuntikkan ke dalam kulit untuk menggantikan jaringan kulit yang telah rusak. Kolagen bekerja dengan mengaktifkan jaringan fibroblas dan menginisiasi biosintesis kolagen dari dalam sehingga meningkatkan elastisitas dan kelembaban kulit (Setyowati, 2015). Pada penggunaan minyak atsiri kulit jeruk purut secara langsung dinilai kurang

efektif dan efisien untuk diaplikasikan langsung pada kulit, sehingga untuk mempermudah penggunaannya maka dapat dilakukan formulasi sediaan krim. Pemilihan dalam bentuk krim memiliki sifat yang mampu melekat pada permukaan krim karena krim memiliki efek emolien yang cukup lama, dengan adanya peningkatan konsentrasi minyak atsiri pada sediaan krim dapat mendonorkan senyawa terpenoid yang lebih tinggi pada sediaan krim. Menurut Rachmanita et al.,(2019) peningkatan konsentrasi zat aktif dalam sediaan krim mampu meningkatkan kepadatan kolagen, sehingga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan endogen pada saat sediaan krim diaplikasikan.



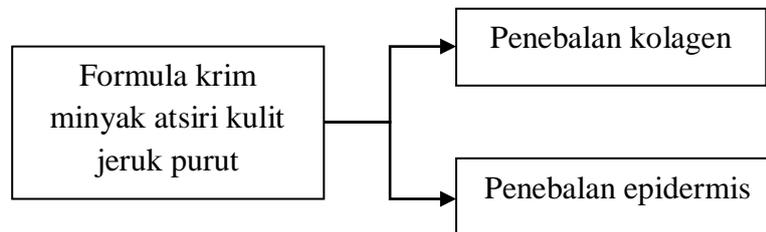
2.11. Kerangka Teori



Gambar 2. 10 Kerangka Teori

UNISSULA
جامعة سلطان أبوبوع الإسلامية

2.12. Kerangka Konsep



Gambar 2. 11 Kerangka Konsep

2.13. Hipotesis

Konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dalam sediaan krim memiliki pengaruh terhadap penebalan kolagen dan epidermis pada kulit kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang terpapar sinar UV B.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental yang dilakukan dengan pendekatan kuantitatif dengan desain *post-test only control design*.

3.2. Variabel

3.2.1. Variabel Bebas

Konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC).

3.2.2. Variabel Tergantung

Kepadatan kolagen dan ketebalan epidermis pada kulit kelinci.

3.2.3. Variabel Terkendali

Umur kelinci, jenis kelinci, paparan sinar UV B.

3.3. Definisi Operasional

3.3.1. Krim Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut

Minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) diambil dari kulit buah jeruk purut segar yang berasal dari Kecamatan Dukun, Kabupaten Magelang, Jawa Tengah yang di panen pada umur 4 bulan di petik di pagi hari pukul 05.30 WIB pada bulan Oktober tahun 2021. Pembuatan minyak atsiri kulit jeruk purut menggunakan metode destilasi uap air. Minyak atsiri yang didapatkan dibuat

sediaan krim dengan konsentrasi yang berbeda yaitu $1 \times IC_{50}$, $20 \times IC_{50}$, dan $40 \times IC_{50}$.

Skala data: skala rasio

3.3.2. Pengamatan Ketebalan Kolagen Dan Epidermis

Pengukuran ketebalan kolagen dan epidermis dengan pengambilan sampel yang dilakukan pada hari ke 10. Bulu kelinci yang diberi perlakuan dibersihkan dan diambil kulitnya dengan menggunting sedalam ± 3 mm sampai subcutan dan sepanjang 2,5 cm. Kemudian kulit kelinci dibiopsi dan dibuat preparat histopatologi untuk mengetahui ketebalan kolagen dan epidermis.

Skala data: skala rasio

3.4. Populasi dan Sampel

3.3.1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) berusia 12-16 minggu dengan berat badan rata-rata 1,5-2 kg. Hewan diseleksi secara acak, diberi tanda untuk identifikasi tiap-tiap hewan, dan dilakukan aklimatisasi sekurang-kurangnya 5 hari sebelum diberi perlakuan.

3.3.2. Sampel Penelitian

Hewan uji yang digunakan yaitu kelinci albino jantan (*Oryctolagus cuniculus*) yang terbagi menjadi 6 kelompok

(kelompok normal, kelompok negatif, kelompok positif, kelompok Formula 1, kelompok Formula 2, dan kelompok Formula 3).

Perhitungan besar sampel dihitung dengan rumus Federer sebagai berikut:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan :

t : Jumlah kelompok uji

n : Besar sampel per kelompok

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4 \text{ ekor}$$

Dari perhitungan tersebut, maka jumlah sampel minimal yang digunakan sebanyak 4 ekor kelinci albino. Kriteria inklusi dan eksklusi pada kelinci albino jantan (*Oryctolagus cuniculus*) yaitu:

3.4.2.1. Kriteria Inklusi

1. Kelinci jantan, dan dalam keadaan sehat
2. Berat badan 1-1,5 kg
3. Umur 12-16 minggu

3.4.2.2. Kriteria Eksklusi

1. Kelinci sakit sebelum perlakuan
2. Kelinci mati

3.5. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.5.1. Instrumen Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian terdiri dari: alat destilasi gelas (*Schott Duran*), neraca analitik (*Mettler Toledo ME204E*), timbangan elektrik (YHT-T6), alat gelas (*Pyrex*), spektrofotometer uv-vis (*Agilent Carry 60*), alumunium foil, vortex, penangas air (*Memmert*), viskometer (*Stromer NDJ-5S*), ph meter (*Mettler Toledo*), kotak penyinaran UV, lampu UV B (*Exoterra®*), mikroskop trinokuler (*Nikon eclipse E200*), kamera (*Optilab Viewer 2.2*), aplikasi *Image J*.

3.5.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: kulit jeruk purut (*Citrus hystrix DC*) yang didapat dari Kabupaten Magelang, asam stearat (teknis), setil alkohol (teknis), gliserin (teknis), metil paraben(teknis), propil paraben (teknis), parafin cair (teknis), TEA (teknis), propilengliko (teknis), aquadest (teknis), metanol pro analisis, serbuk DPPH (*Sigma aldrich*). Bahan-bahan yang digunakan untuk melihata ketebalan kolagen dan epidermis adalah neutral buffer formalin 10% (teknis) alkohol absolut (teknis), alkohol 70% (teknis), alkohol 80% (teknis), akohol 90% (teknis), alkohol 95% (teknis) , silol, haematoxylin monohydrate (*Merck C.I 7529*), eosin (*Merck Yellowish C.I 4538*), air amonia, kloroform (teknis),

formalin (teknis), hewan uji kelinci albino jantan (*Oryctolagus cuniculus*).

3.6. Cara Penelitian

3.6.1 Determinasi

Determinasi tanaman dilakukan dengan mengamati morfologi tanaman. Determinasi ini dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang.

3.6.2 Preparasi Sampel

Buah jeruk purut yang sudah tua dan masih segar dilakukan sortasi dan dicuci bersih sebanyak 3 kg, kemudian dilakukan pemisahan kulit buah dan daging buah kulit jeruk purut hal ini bertujuan untuk menghindari penguapan zat aktif dari kulit jeruk pada proses penyulingan.

3.6.3 Pembuatan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut

Pembuatan minyak atsiri dilakukan dengan metode destilasi uap air (water and steam distillation) yaitu 3 kg buah jeruk purut yang masih segar yang kemudian diambil kulitnya dimasukkan ke labu ekstraktor yang sebelumnya sudah diisi dengan aquadest, lalu letakkan kulit jeruk purut diatas penahan (angsan) sehingga bagian kulit jeruk dan air tidak bersentuhan, kemudian panaskan aquadest dengan menggunakan kompor, lalu nyalakan kran air yang disalurkan ke tabung bagian luar kondensor. Tunggu hingga uap air dan minyak atsiri keluar yang kemudian di alirkan menuju ke kondensor, lalu

hitung waktu mulai minyak atsiri tetes pertama keluar dari kondensor, dan ditampung ke erlemeyer. Fase minyak dan air dipisahkan menggunakan corong pisah, kemudian minyak atsiri ditambahkan dengan Na_2SO_4 untuk mengurangi kadar air dalam minyak atsiri, dan Na_2SO_4 dipisahkan dengan minyak atsiri dengan cara disaring (Kurniawan dkk., 2008).

3.6.4 Pengujian DPPH

3.6.6.1. Pembuatan Larutan DPPH 0,4 mM

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 15,7 mg kemudian dimasukkan dalam labu takar 100 mL dan diencerkan dengan metanol p.a sampai tanda batas kemudian dihomogenkan. Labu takar dilapisi dengan aluminium foil agar terindar dari cahaya dan disimpan di lemari pendingin.

3.6.6.2. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH 0.4 mM

Sebanyak 1 mL larutan DPPH 0,4 mM dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan metanol p.a sebanyak 4 mL lalu di vortex selama 20 detik dan di diamkan selama 30 menit pada ruang gelap pada suhu kamar. Kemudian diukur serapannya dengan panjang gelombang 400-600 nm menggunakan spektrofotometer UV-VIS.

3.6.6.3. Pembuatan Larutan Blanko

Sebanyak 1 mL larutan DPPH 0,4 mM dimasukkan dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan dengan metanol p.a sampai tanda batas, kemudian di homogenkan dan di diamkan selama 30 menit pada ruang gelap. Kemudian, diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS.

3.6.6.4. Uji Aktivitas Antioksidan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut

Timbang 100 mg minyak atsiri lalu dilarutkan dengan metanol p.a di labu ukur 100 mL, kemudian dibuat seri pengenceran dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100 ppm dengan larutan induk dipipet sebanyak 2 mL, 4 mL, 6 mL, 8 mL, dan 10 mL ke dalam labu ukur 100 mL yang dilarutkan dengan metanol p.a hingga tanda batas. Masing-masing konsentrasi diambil 1 ml ditambahkan 3 ml larutan metanol p.a dan 1 ml larutan DPPH ke dalam tabung reaksi. Kemudian dihomogenkan dengan cara divortex selama 30 detik, dan diinkubasi selama 30 menit pada ruang gelap dan dibaca serapannya pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.6.6.5. Penentuan Aktivitas Antioksidan (IC50 Sampel)

Tiap sampel diukur absorbansinya pada λ maks 517 nm (Islahana, 2017; Kholisah, 2017) dan sebagai blangko

digunakan metanol p.a. Hasil absorbansi dari sampel dibandingkan dengan kontrol yang terdiri dari 3,0 mL larutan DPPH 0,4 mM sehingga diperoleh % inhibisi.

$$\% \text{ Inhibisi} = \left(1 - \frac{\text{abs sampel}}{\text{abs kontrol}}\right) \times 100\%$$

Penentuan regresi linear diperoleh dari kurva antara konsentrasi sampel (X) vs % inhibisi DPPH (Y). Persamaan regresi linear ditentukan sebagai berikut:

$$Y = BX + A$$

Dimana B yaitu slope/kemiringan garis dan A yaitu intersep. Aktivitas antioksidan ditentukan dari konsentrasi sampel isolat pada inhibisi DPPH 50% (IC₅₀) dengan memasukan nilai Y=50 sehingga X sebagai konsentrasi sampel isolat dapat diketahui.

3.6.5 Pembuatan Sediaan Krim

Proses pembuatan krim diawali dengan penimbangan semua bahan yang akan digunakan untuk pembuatan sediaan krim. Bahan-bahan dalam pembuatan krim terdiri dari fase minyak dan fase air. Fase minyak yaitu asam stearat, setil alkohol yang berturut-urut dilebur diatas *waterbath* dengan suhu 70°C kemudian ditambahkan propil paraben dan diaduk hingga homogen. Kemudian fase air dibuat dengan cara melarutkan triethanolamin, gliserin, propilenglikol, metil paraben diatas *waterbath* pada suhu 50°C hingga homogen. Emulsi dibuat dengan cara menambahkan fase

minyak ke dalam fase air sambil diaduk dalam mortir hingga terbentuk emulsi yang stabil, kemudian masukkan minyak atsiri kulit jeruk purut dalam basis krim lalu homogenkan.

3.6.6 Pengujian Evaluasi Fisik Sediaan Krim Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut

3.6.7.1. Uji Organoleptik

Pengamatan organoleptik dilakukan secara visual yang bertujuan untuk melihat tampilan fisik dari sediaan dengan meliputi tekstur, warna, dan bau dari sediaan (Forestryana dkk., 2020)

3.6.7.2. Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan mengamati sejumlah krim pada kaca objek yang bersih dan kering sehingga akan membentuk suatu lapisan, kemudian ditutup dengan kaca preparat. Sediaan krim harus menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar (Forestryana dkk., 2020).

3.6.7.3. Uji pH

Uji pH bertujuan untuk mengetahui derajat keasaman sediaan krim yang bertujuan untuk menjamin sediaan krim tidak menyebabkan iritasi pada kulit. Uji pH sediaan krim diukur dengan menggunakan alat ph meter yang sudah dikalibrasi dengan larutan dapar standar, kemudian

dicelupkan pada sediaan krim lalu tunggu beberapa saat hingga keluar hasil dari alat pH meter. pH sediaan yang memenuhi kriteria pH kulit yaitu dalam interval 4,5-8 (Nealma & Nurkholis, 2020).

3.6.7.4. Uji Daya Sebar

Uji daya sebar bertujuan untuk menjamin pemerataan komposisi krim saat diaplikasikan pada kulit. Krim ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian diletakkan di tengah kaca berskala, kemudian diatas kaca lain atau bahan transparan sebagai penutupnya diberi beban 50, 100, 150 gram secara berurutan selama 1 menit, kemudian dicatat diameter penyebarannya. Daya sebar krim yang baik antara 5-7 cm (Forestryana dkk., 2020).

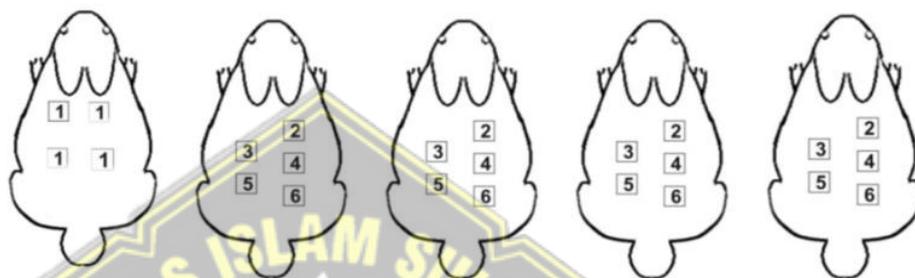
3.6.7.5. Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan menggunakan alat viskometer *stromer* NDJ-5S, dilakukan dengan cara krim dimasukkan kedalam wadah dan celupkan spindle no. 4 dengan kecepatan 12 rpm kedalam sediaan krim kemudian dihitung viskositasnya,, dan persyaratan viskositas krim yang baik antara 4.000-40.000 cPs (Forestryana dkk., 2020).

3.6.7 Pengambilan Sampel Kulit Kelinci

Sampel diambil dari kulit kelinci yang telah dicukur bulunya pada bagian punggung yang dibagi menjadi 5 bagian untuk

kelompok 2 sampai 6 sedangkan untuk kelompok 1 menggunakan kelinci secara terpisah, dengan luas masing-masing area $2 \times 3 \text{ cm}^2$ dan jarak per area sekitar 2 cm yang kemudian dipapar sinar uv dengan panjang gelombang 300 nm selama 15 menit, dengan lokasi pemaparan tersaji pada Gambar 3.1



Gambar 3. 1 Rencana perlakuan pada kelinci

3.6.6.1. Lokasi 1 (Kontrol Normal)

Kelinci kelompok kontrol normal tidak diberi perlakuan apapun hanya diberi pakan standar selama 10 hari.

3.6.6.2. Lokasi 2 (Kontrol Negatif)

Kelinci kelompok kontrol negatif hanya dipapar sinar UV selama 15 menit tanpa perlakuan apapun.

3.6.6.3. Lokasi 3 (Kontrol Positif)

Kelinci kelompok kontrol positif dan dipapar sinar UV selama 15 menit yang kemudian di oles krim azarine[®].

3.6.6.4. Lokasi 4 (Kontrol Formula 1)

Kelinci kelompok kontrol formula 1 dipapar sinar UV selama 15 menit yang kemudian di oles krim formula 1.

3.6.6.5. Lokasi 5 (Kontrol Formula 2)

Kelinci kelompok kontrol formula 2 dipapar sinar UV selama 15 menit yang kemudian di oles krim formula 2

3.6.6.6. Lokasi 6 (Kontrol Formula 3)

Kelinci kelompok kontrol formula 3 dipapar sinar UV selama 15 menit yang kemudian di oles krim formula 3.

3.6.8 Pembuatan Preparat Histopatologi

Pengambilan sampel kulit dilakukan pada hari ke 10 yang sebelumnya kelinci dikorbakan dengan di inhalasi menggunakan kloroform, daerah punggung yang akan diambil kulitnya dibersihkan dari bulu yang mulai tumbuh kembali, kulit digunting dengan ketebalan ± 3 mm sampai dengan *subcutan* dan sepanjang 2,5 cm (Nanda et al., 2017).

3.6.6.1. Fiksasi

Sampel jaringan kulit yang telah diperoleh difiksasi dengan larutan NBF 10% atau Neutral Buffer Formalin dimasukkan ke dalam *tissue basket* dan diberi label.

3.6.6.2. Dehidrasi

Sampel jaringan kulit didehidrasi dengan larutan alkohol bertingkat (konsentrasi 70%, 80%, 90%, dan 95%) kemudian dilanjutkan proses yang sama dengan larutan alkohol absolut selama 2 jam dan dilakukan pengulangan sebanyak 2 kali.

3.6.6.3. Clearing

Sampel jaringan kulit dimasukkan ke dalam silol selama 1 jam dengan pengulangan sebanyak tiga kali.

3.6.6.4. Infiltrasi

Infiltrasi dilakukan dengan larutan parafin pada oven yang bersuhu 60°C selama 1 jam dan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali.

3.6.6.5. Embedding

Sampel jaringan ditanam dalam blok parafin. Selanjutnya penyayatan blok dilakukan dengan mikrotom pada ketebalan 5 μ m dan diletakkan di gelas objek yang telah terlapisi bahan perekat.

3.6.6.6. Deparafinisasi

Sampel dimasukkan ke dalam larutan silol selama 2 menit dengan pengulangan sebanyak tiga kali agar menghilangkan kandungan parafin.

3.6.6.7. Rehidrasi

Sampel dimasukkan kedalam larutan alkohol dengan konsentrasi menurun (absolut, konsentrasi 95%, konsentrasi 90%, konsentrasi 80% dan konsentrasi 70%) selama 5 menit, selanjutnya sampel dibilas dengan air mengalir selama 10 menit untuk memasukkan air kembali ke dalam jaringan.

3.6.9 Pewarnaan dengan *Haematoxylin-Eosin*

Sampel jaringan diwarnai dengan pewarnaan *haematoxylin* selama 5 menit dan dibilas menggunakan air mengalir selama 10 menit. Kemudian sampel diwarnai dengan pewarnaan *eosin* selama 2 menit dan dilanjutkan dengan memasukkan sampel ke dalam larutan alkohol bertingkat, dilakukan clearing dengan silol dan diakhiri dengan penutupan slide jaringan dengan kaca penutup yang telah terlapisi bahan perekat.

3.6.10 Pengamatan Kepadatan Kolagen dan Epidermis

Pengamatan kepadatan kolagen dan epidermis dengan pewarnaan *Haematoxylin-Eosin* berwarna merah yang diamati dengan mikroskop cahaya yang terhubung dengan kamera digital dan menggunakan software *OptiLab Viewer 2.2*. Preparat diamati dengan perbesaran 400 kali pada 5 lapang pandang. Penyimpanan gambar dilakukan dengan menekan icon kamera pada taskbar software *OptiLab Viewer 2.2* (Chen dkk., 2017).

3.6.11 Perhitungan Persentase Kepadatan Kolagen dan Epidermis

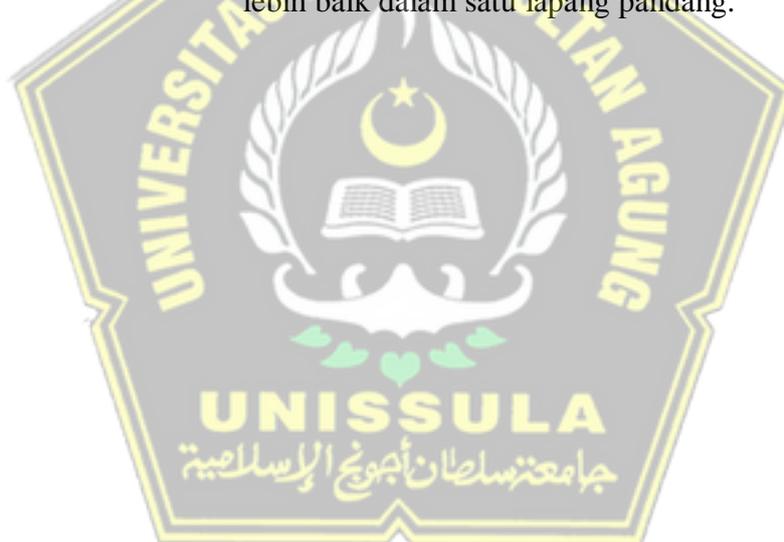
Gambar yang telah didapatkan kemudian disimpan dan diolah menggunakan software *ImageJ*. Ketebalan kolagen dihitung dengan melakukan selection pada area serabut yang berwarna merah sampai terpulas secara keseluruhan. Untuk persentase kepadatan kolagen dalam satu area dipilih menu *analyze particle*. Parameter yang

didapatkan dalam bentuk persentase luas area (%). Gambaran dan data hasil pengamatan dapat disimpan dalam file (Chen dkk., 2017).

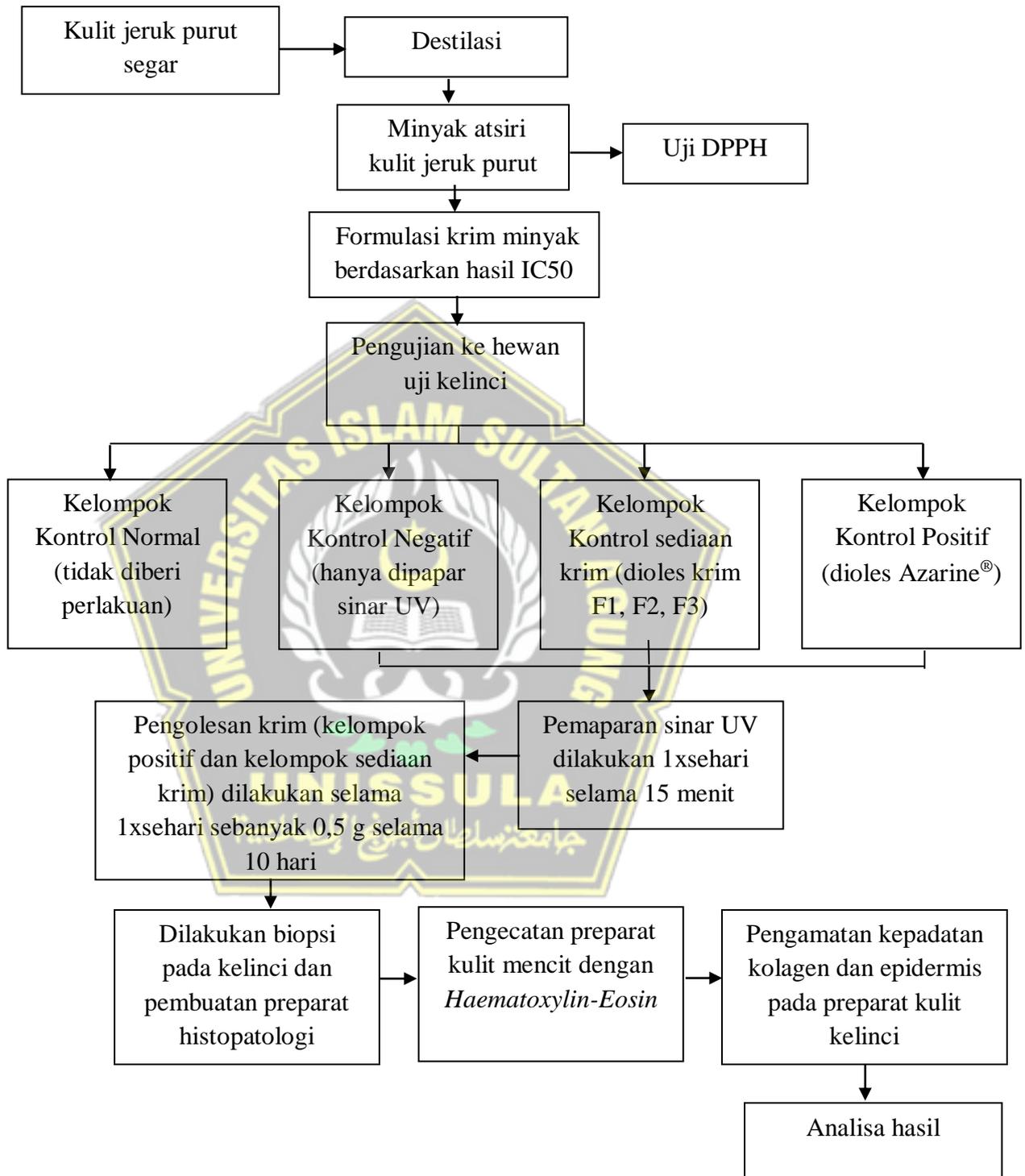
Tabel 3. 1 Parameter Skoring Kepadatan Kolagen (Nanda dkk., 2017)

Skor	Deskripsi
+0	Tidak ditemukan adanya serabut kolagen pada kulit kelinci
+1	Kepadatan serabut kolagen pada kulit kelinci rendah (kurang 10% per lapang pandang)
+2	Kepadatan serabut kolagen pada kulit kelinci sedang (10 - 50% per lapang pandang)
+3	Kepadatan serabut kolagen pada kulit kelinci rapat (50 - 90% per lapang pandang)
+4	Kepadatan kolagen pada kulit kelinci sangat rapat (90 - 100% per lapang pandang)

Keterangan: hasil skor yang tinggi menunjukkan persentase yang lebih baik dalam satu lapang pandang.



3.7. Alur Penelitian



Gambar 3. 2 Alur Penelitian

3.8. Tempat dan Waktu

3.8.1. Tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi FMIPA UNNES, Laboratorium Farmasi FK UNISSULA, Laboratorium Pengembangan Hewan Uji FK UNISSULA, Laboratorium Patologi RSI Sultan Agung Semarang.

3.8.2. Waktu

Pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2021 sampai bulan Februari 2022.

3.9. Analisis Hasil

Analisis data kepadatan kolagen dan ketebalan epidermis, di uji terlebih dahulu normalitasnya dengan *Shapiro wilk* dan homogenitas dengan uji *Levene's test* dengan signifikansi $p > 0,05$. Hasil uji menunjukkan normal dan homogen maka dilanjutkan uji parametrik *One Way Anova* dengan signifikansi $p < 0,05$, dan di lanjutkan dengan menggunakan *Post Hoc LSD* untuk melihat kelompok perlakuan yang menghasilkan nilai signifikan terhadap peningkatan kepadatan kolagen dan ketebalan epidermis.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Hasil Determinasi Tanaman

Tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) diidentifikasi di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang dengan hasil yang tertera pada Lampiran 1. Hasil determinasi yang diperoleh telah terbukti bahwa tanaman yang digunakan merupakan spesies *Citrus hystrix* DC.

4.1.2 Hasil Rendemen

Minyak atsiri kulit jeruk purut didapatkan dengan metode destilasi uap air. Bahan yang digunakan yaitu kulit buah jeruk purut segar sebanyak 1.670 gram, dan didapatkan rata-rata persen rendemen sebesar 1,8064% (Lampiran 2).

4.1.3 Hasil Analisis DPPH Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut

Hasil pengujian DPPH dilakukan pada minyak atsiri kulit jeruk purut dengan hasil IC50 sebesar 37,70 dan tergolong antioksidan sangat kuat (Lampiran 4).

4.1.4 Hasil Evaluasi Fisik Sediaan Krim

4.1.5.1 Uji Organoleptik

Hasil uji fisik organoleptik pada 3 formula tersaji pada

Tabel 4.1

Tabel 4. 1 Hasil Uji Fisik Organoleptik

Formula	Tekstur	Bau	Warna
F1	Kental	Khas Jeruk	Putih
F2	Kental	Khas Jeruk	Putih
F3	Kental	Khas Jeruk	Putih

Pada hasil uji organoleptik yang dilakukan terhadap 3 formula bahwa uji tekstur, uji bau, dan uji warna memiliki hasil yang sama berupa tekstur kental, memiliki bau khas jeruk dan berwarna putih.

4.1.5.2 Uji Homogenitas

Hasil uji homogenitas pada 3 formula sediaan krim krim menunjukkan hasil yang homogen. Hal ini ditandai dengan tidak adanya butiran kasar pada *object glass*. Hasil uji fisik homogenitas tersaji pada Tabel 4.2

Tabel 4. 2 Hasil Uji Fisik Homogenitas

Formula	Homogenitas
F1	Homogen
F2	Homogen
F3	Homogen

4.1.5.3 Uji pH

Hasil uji fisik pH menunjukkan hasil masing-masing formula memasuki rentang normal menurut standar SNI sebagai syarat standar pelembab kulit yaitu 4,5-8 (Saryanti dkk., 2019). Hasil uji fisik pH tersaji pada Tabel 4.5

Tabel 4. 3 Hasil Uji Fisik pH

Formula	pH
F1	7,37
F2	7,41

F3	7,56
----	------

4.1.5.4 Uji Daya Sebar

Hasil uji fisik daya sebar menunjukkan hasil masing-masing formula memasuki rentang rentang normal daya sebar yaitu sebesar 5-7 cm (Forestryana dkk., 2020). Hasil uji fisik daya sebar tersaji pada Tabel 4.4

Tabel 4. 4 Hasil Uji Fisik Daya Sebar

Formula	Daya Sebar (cm)
F1	6,3
F2	6
F3	6

4.1.5.5 Uji Viskositas

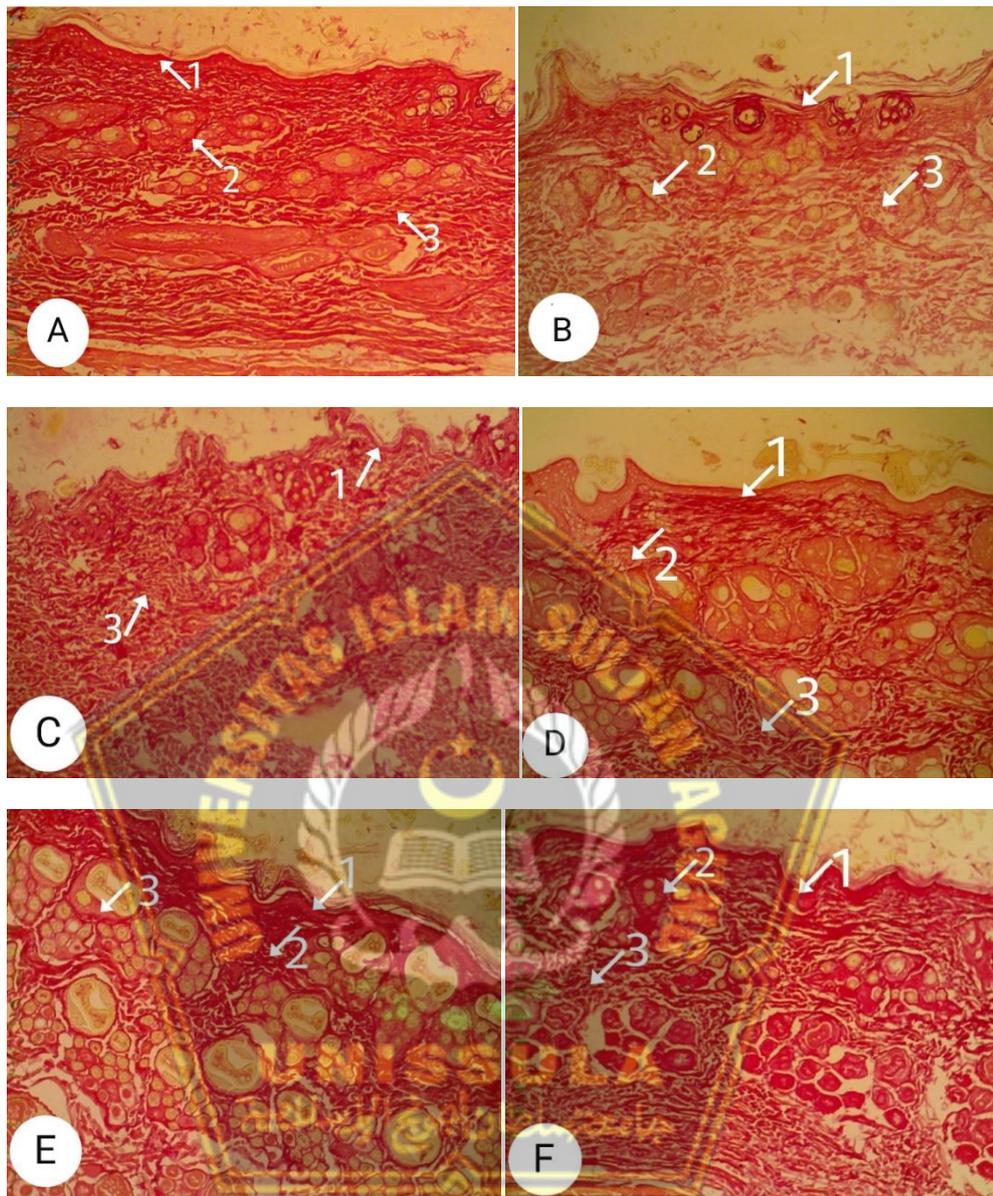
Hasil uji fisik viskositas menunjukkan hasil masing-masing formula memasuki rentang normal yaitu 4.000-40.000 cPs. Hasil uji fisik viskositas tersaji pada Tabel 4.3

Tabel 4. 5 Hasil Uji Fisik Viskositas

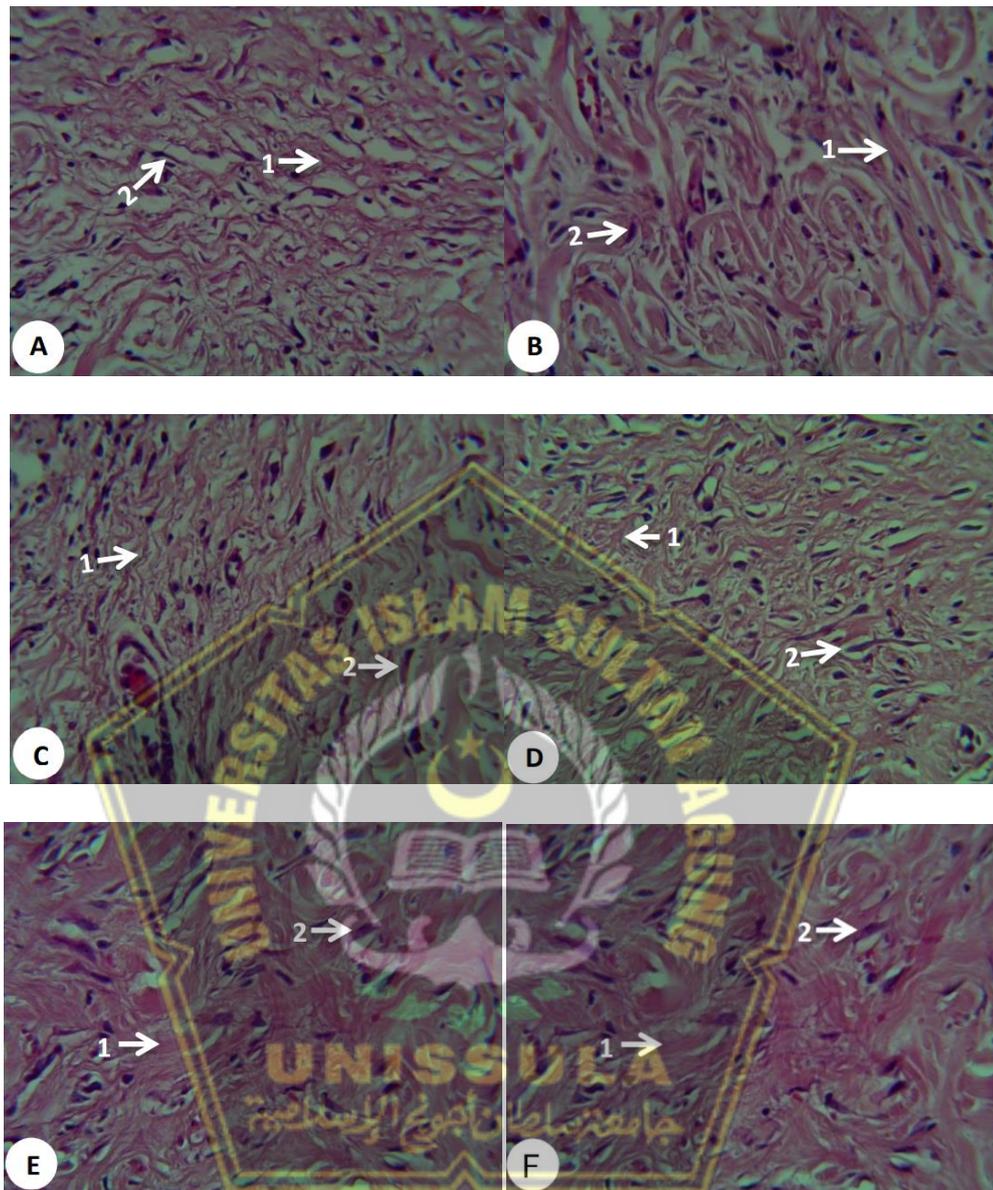
Formula	Viskositas (cPs)
F1	30783
F2	31462
F3	32248

4.1.5 Hasil Pengamatan Preparat Histopatologi

Hasil pengamatan kepadatan serabut kolagen pada kulit tikus dengan mikroskop pada perbesaran 40x dan 400x tersaji pada gambar berikut.



Gambar 4. 1 Histopatologi Ketebalan Epidermis Epidermis (A) Kontrol normal; (B) Kontrol negatif; (C) Kontrol positif; (D) Krim formula 1; (E) Krim formula 2; (F) Krim formula 3; (1) Epidermis; (2) Keratinosit; (3) Kolagen. Pewarnaan HE perbesaran 40x



Gambar 4. 2 Histopatologi Kepadatan Kolagen Epidermis (A) Kontrol normal; (B) Kontrol negatif; (C) Kontrol positif; (D) Krim formula 1; (E) Krim formula 2; (F) Krim formula 3; (1) Serabut Kolagen; (2) Fibroblas. Pewarnaan HE perbesaran 400x.

Hasil gambaran histopatologi kulit kelinci menunjukkan bahwa setiap kelompok perlakuan memiliki ketebalan epidermis dan kepadatan kolagen yang berbeda-beda, seperti terlihat pada Gambar 4.1 dan Gambar 4.2. gambaran histopatologi tersebut kemudian

dikuantifikasi menggunakan software image J. Hasil kepadatan kolagen dalam bentuk persentase sedangkan ketebalan epidermis dalam satuan μm sedangkan seperti yang tersaji dalam Tabel 4.6 dan Tabel 4.7. Kemudian data yang diperoleh menggunakan uji parametrik *One Way Anova* dan uji lanjutan *Post Hoc LSD*.

4.1.6 Hasil Uji Kepadatan Kolagen Pada Kelinci *Oryctolagus cuniculus*

Pengukuran kepadatan kolagen dilakukan menggunakan software image J dan tersaji dalam Tabel 4.10

Tabel 4. 6. Hasil Uji Kepadatan Kolagen Pada Kelinci *Oryctolagus cuniculus*

Pengulangan	Kepadatan Kolagen (%)					
	K I	K II	K III	K IV	K V	K VI
1	38,426	28,042	51,032	42,707	47,928	49,198
2	34,469	26,620	54,965	39,968	41,416	46,469
3	37,235	30,650	49,305	42,198	45,173	49,748
4	36,319	27,549	48,365	43,414	42,736	48,907
Mean (%) \pm	36,612	28,215	50,916	42,071	44,313	48,580
SD	$\pm 1,669$	$\pm 1,726$	$\pm 2,916$	$\pm 1,488$	$\pm 2,868$	$\pm 1,450$
Skor	+2	+1	+3	+2	+2	+2

Keterangan :

K I = kontrol normal (tanpa perlakuan)

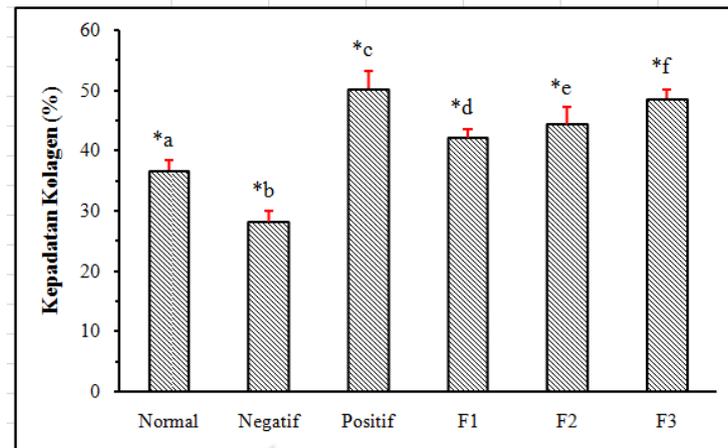
K II = kontrol negatif (tanpa pemberian krim)

K III = kotrol positif (pemberian krim Azarine)

K IV = pemberian formula krim 1 ($1 \times \text{IC}_{50}$)

K V = pemberian formula krim 2 ($20 \times \text{IC}_{50}$)

K VI = pemberian formula krim 3 ($40 \times \text{IC}_{50}$)



Gambar 4. 1 Hasil Uji Kepadatan Kolagen Pada Kelinci

Oryctolagus cuniculus

Keterangan:

- *a : kontrol normal berbeda signifikan dengan kontrol negatif, kontrol positif, formula 1, formula 2, dan formula 3.
- *b : kontrol negatif berbeda signifikan dengan kontrol normal, kontrol positif, formula 1, formula 2, dan formula 3.
- *c : kontrol positif berbeda signifikan dengan kontrol normal, kontrol negatif, formula 1, dan formula 2.
- *d : formula 1 berbeda signifikan dengan kontrol normal, kontrol negatif, kontrol positif, dan formula 3.
- *e : formula 2 berbeda signifikan dengan kontrol normal, kontrol negatif, kontrol positif, dan formula 3.
- *f : formula 3 berbeda signifikan dengan kontrol normal, kontrol negatif, dan formula 1.

4.1.7 Hasil Uji Ketebalan Epidermis Pada Kelinci *Oryctolagus cuniculus*

Pengukuran ketebalan epidermis dilakukan menggunakan software image J dan tersaji dalam Tabel 4.11

Tabel 4. 7. Hasil Uji Ketebalan Epidermis Pada Kelinci
Oryctolagus cuniculus

Pengulangan	Ketebalan Epidermis (μm)					
	K I	K II	K III	K IV	K V	K VI
1	41,22	31,48	77,81	50,57	67,74	68,62
2	44,40	27,17	60,21	53,19	70,27	75,56
3	47,85	25,10	56,38	54,28	63,81	54,04
4	46,43	29,82	58,93	57,95	65,75	67,48
Mean (%) \pm	44,97 \pm	28,64 \pm	63,33 \pm	53,99 \pm	66,89 \pm	66,42 \pm
SD	2,87	3,20	9,78	3,06	2,76	8,99

Keterangan :

K I = kontrol normal (tanpa perlakuan)

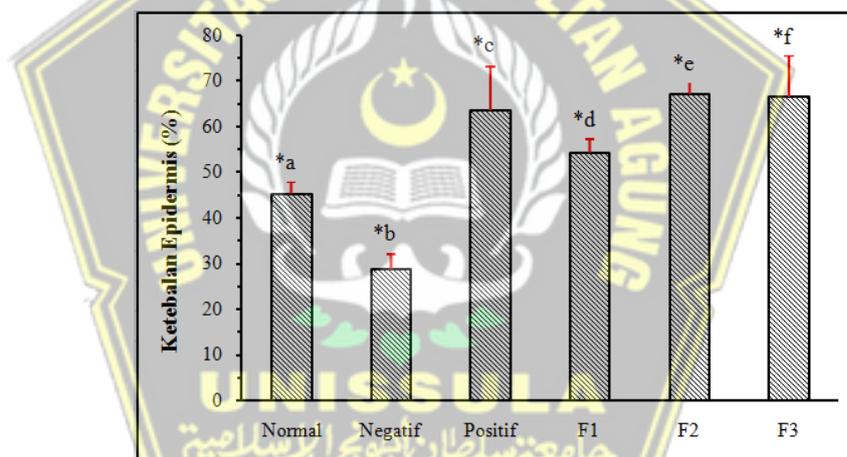
K II = kontrol negatif (tanpa pemberian krim)

K III = kontrol positif (pemberian krim Azarine)

K IV = pemberian formula krim 1 ($1 \times \text{IC}_{50}$)

K V = pemberian formula krim 2 ($20 \times \text{IC}_{50}$)

K VI = pemberian formula krim 3 ($40 \times \text{IC}_{50}$)



Gambar 4. 2 Hasil Uji Ketebalan Epidermis Pada Kelinci
Oryctolagus cuniculus

Keterangan:

*a : kontrol normal berbeda signifikan dengan kontrol negatif, kontrol positif, formula 1, formula 2, dan formula 3

*b : kontrol negatif berbeda signifikan dengan kontrol normal, kontrol positif, formula 1, formula 2, dan formula 3

*c : kontrol positif berbeda signifikan dengan kontrol normal, kontrol negatif, dan formula 1

*d : formula 1 berbeda signifikan dengan kontrol normal,

kontrol negatif, kontrol positif, formula 2 dan formula 3

*e : formula 2 berbeda signifikan dengan kontrol normal, kontrol negatif, formula 1, dan formula 3

*f : formula 3 berbeda signifikan dengan kontrol normal, kontrol negatif, dan formula 1

4.1.8 Analisis Hasil

Data kepatadan kolagen dianalisis dengan mengidentifikasi nilai normalitas (*shapiro wilk*) dan homogenitas (*levene test*). Kemudian uji beda parametrik menggunakan *one way anova*.

4.1.8.1 Analisis hasil uji kepatadan kolagen kelinci *Oryctolagus cuniculus*

Tabel 4. 8 Hasil Uji Normalitas Kepadatan Kolagen (*Shapiro wilk*)

Kelompok	Nilai p (signifikansi)	Keterangan
Kontrol normal	0,941	Normal
Kontrol negatif	0,477	Normal
Kontrol positif	0,493	Normal
Formula 1	0,458	Normal
Formula 2	0,810	Normal
Formula 3	0,195	Normal

Tabel 4. 9 Hasil Uji Homogenitas Kepadatan Kolagen (*Levene test*)

Kelompok	Nilai p (signifikansi)	Keterangan
Kontrol normal	0,487	Homogen
Kontrol negatif	0,487	Homogen
Kontrol positif	0,487	Homogen
Formula 1	0,487	Homogen
Formula 2	0,487	Homogen
Formula 3	0,487	Homogen

Uji normalitas dilakukan dengan *Shapiro wilk* karena jumlah sampel yang digunakan yaitu kurang dari 50, sedangkan untuk uji homogenitas dilakukan dengan uji

Levene test. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa sebaran sebaran data setiap kontrol normal homogen, yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi setiap kelompok $p > 0,005$ maka analisis statistik dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way Anova*.

Tabel 4. 10 Hasil Uji *One Way Anova* Kepadatan Kolagen

Kelompok	Nilai p (signifikansi)	Keterangan
Kontrol normal	0,000	Berbeda signifikan
Kontrol negatif	0,000	Berbeda signifikan
Kontrol positif	0,000	Berbeda signifikan
Formula 1	0,000	Berbeda signifikan
Formula 2	0,000	Berbeda signifikan
Formula 3	0,000	Berbeda signifikan

Pada uji parametrik *one way anova* di dapatkan hasil nilai signifikansi 0,000 hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dari beberapa kelompok yang ditunjukkan dengan hasil signifikansi $p < 0,005$ maka analisis statistik dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* (LSD).

Tabel 4. 11 Hasil Uji *Post Hoc* Kepadatan Kolagen

Kelompok	Kontrol normal	Kontrol negatif	Kontrol positif	Formula 1	Formula 2	Formula 3
K Normal	-	0,000*	0,000*	0,002*	0,000*	0,000*
K Negatif	0,000*	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K Positif	0,000*	0,000*	-	0,000*	0,000*	0,136
Formula 1	0,002*	0,000*	0,000*	-	0,151	0,000*
Formula 2	0,000*	0,000*	0,000*	0,151	-	0,011*
Formula 3	0,000*	0,000*	0,136	0,000*	0,011*	-

Keterangan :

$P < 0,05$ = adanya perbedaan yang signifikan

$P > 0,05$ = tidak adanya perbedaan yang signifikan

- (-) = tidak ada perlakuan perbandingan antar kelompok pada konsentrasi yang sama
 * = terdapat perbedaan signifikan, nilai $p \leq 0,05$

4.1.8.2 Analisis hasil uji ketebalan epidermis kelinci *Oryctolagus cuniculus*

Tabel 4. 12 Hasil Uji Normalitas Ketebalan Epidermis (*Shapiro wilk*)

Kelompok	Nilai p (signifikansi)	Keterangan
Kontrol normal	0,812	Normal
Kontrol negatif	0,935	Normal
Kontrol positif	0,068	Normal
Formula 1	0,914	Normal
Formula 2	0,970	Normal
Formula 3	0,561	Normal

Tabel 4. 13 Hasil Uji Homogenitas Ketebalan Epidermis (*Levene test*)

Kelompok	Nilai p (signifikansi)	Keterangan
Kontrol normal	0,120	Homogen
Kontrol negatif	0,120	Homogen
Kontrol positif	0,120	Homogen
Formula 1	0,120	Homogen
Formula 2	0,120	Homogen
Formula 3	0,120	Homogen

Uji normalitas dilakukan dengan *Shapiro wilk* karena jumlah sampel yang digunakan yaitu kurang dari 50, sedangkan untuk uji homogenitas dilakukan dengan uji *Levene test*. Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa sebaran sebaran data setiap kontrol normal homogen, yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi setiap kelompok $p > 0,005$ maka analisis statistik dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way Anova*.

Tabel 4. 14 Hasil Uji *One Way Anova* Ketebalan Epidermis

Kelompok	Nilai p (signifikansi)	Keterangan
Kontrol normal	0,000	Berbeda signifikan
Kontrol negatif	0,000	Berbeda signifikan
Kontrol positif	0,000	Berbeda signifikan
Formula 1	0,000	Berbeda signifikan
Formula 2	0,000	Berbeda signifikan
Formula 3	0,000	Berbeda signifikan

Pada uji parametrik *one way anova* di dapatkan hasil nilai signifikansi 0,000 hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan dari beberapa kelompok yang ditunjukkan dengan hasil signifikansi $p < 0,005$ maka analisis statistik dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* (LSD).

Tabel 4. 15 Hasil Uji *Post Hoc* Ketebalan Epidermis

Kelompok	K	K	K	Formula	Formula	Formula
	Normal	Negatif	Positif	1	2	3
K Normal	-	0,001*	0,000*	0,046*	0,000*	0,000*
K Negatif	0,001*	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
K Positif	0,000*	0,000*	-	0,039*	0,408	0,472
Formula 1	0,046*	0,000*	0,000*	-	0,039*	0,008*
Formula 2	0,000*	0,000*	0,408	0,007*	-	0,913
Formula 3	0,000*	0,000*	0,472	0,008*	0,913	-

Keterangan :

$P < 0,05$ = adanya perbedaan yang signifikan

$P > 0,05$ = tidak adanya perbedaan yang signifikan

(-) = tidak ada perlakuan perbandingan antar kelompok pada konsentrasi yang sama

* = terdapat perbedaan signifikan, nilai $p \leq 0,05$

4.2 Pembahasan

4.2.1 Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi dari suatu tumbuhan bertujuan untuk memastikan kebenaran identitas tumbuhan yang akan diteliti, sehingga dapat

menghindari kesalahan dalam penggunaan tanaman pada penelitian. Sampel tanaman yang digunakan dalam penelitian diambil dari daerah Kecamatan Dukun, Kabupaten Magelang, Jawa Tengah. Proses determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang. Berdasarkan hasil determinasi diperoleh kebenaran bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesies *Citrus hystrix* DC.

4.2.2 Hasil Uji DPPH Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut

Analisis aktivitas antioksidan minyak atsiri kulit jeruk purut dilakukan dengan metode DPPH bertujuan untuk mengetahui aktivitas penangkalan radikal bebas pada minyak atsiri kulit jeruk purut. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimal, yaitu panjang gelombang yang menunjukkan nilai absorbansi maksimal. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis dan dibaca pada panjang gelombang maksimal sehingga dapat menunjukkan nilai absorbansi yang maksimal, hasil penelitian didapatkan panjang gelombang DPPH sebesar 517 nm.

Sampel yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah minyak atsiri kulit jeruk purut. Sebelum sampel dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis dilakukan inkubasi selama 30 menit pada tempat gelap, hal ini karena selama jangka waktu tersebut diperkirakan terjadi reaksi antara sampel dan DPPH yang

ditandai dengan berubahnya warna ungu pekat ke ungu pucat hingga kekuningan hal ini terjadi karena adanya pendonoran atom hidrogen yang dilakukan sampel kepada cahaya yang bertujuan untuk melindungi DPPH dari kerusakan karena mudah teroksidasi (Saryanti dkk., 2019). Hasil pengujian aktivitas antioksidan minyak atsiri kulit jeruk purut menunjukkan konsentrasi sampel dan persentase inhibisi terdapat hubungan yang linier, yaitu semakin besar konsentrasi sampel maka nilai persen inhibisi juga semakin besar, sehingga absorbansi sampel yang dihasilkan semakin kecil. Hal ini terjadi karena adanya kemampuan suatu sampel untuk meredam radikal bebas. Hasil pengujian didapatkan nilai IC_{50} minyak atsiri kulit jeruk purut sebesar $37,70 \mu\text{g/mL}$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada minyak atsiri kulit jeruk purut tergolong antioksidan sangat kuat karena nilai $IC_{50} < 50$ ppm (Saryanti dkk., 2019).

4.2.3 Formula Sediaan Krim Minyak Atsiri Kulit Jeruk Purut

Konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk purut dalam sediaan krim yang digunakan adalah konsentrasi inhibisi 50% minyak atsiri terhadap radikal bebas yaitu $37,70 \mu\text{g/mL}$. Kemudian dilakukan peningkatan konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk purut sebesar $1 \times IC_{50}$ (0,011g), $20 \times IC_{50}$ (0,22g), dan $40 \times IC_{50}$ (0,44g), dengan adanya peningkatan konsentrasi minyak atsiri pada sediaan krim diharapkan dapat mendonorkan senyawa terpenoid yang lebih tinggi

pada sediaan krim. Menurut penelitian terdahulu peningkatan konsentrasi zat aktif dapat meningkatkan kepadatan kolagen yang ditandai dengan tidak munculnya kerutan pada epidermis, kulit lembab dan elastisitas kulit tetap terjaga, sehingga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan endogen pada saat sediaan krim diaplikasikan (Rachmanita dkk., 2019).

4.2.4 Hasil Uji Fisik Sediaan Krim

Uji organoleptik bertujuan untuk mengetahui sifat fisik sediaan dengan mengamati secara visual meliputi tekstur, bau, dan warna dari sediaan dengan persyaratan memiliki bau khas zat aktif dan warna sesuai dengan zat aktif (Rabima & Marshall, 2017). Berdasarkan hasil pengamatan pada ketiga formula didapatkan hasil bahwa memiliki bau yang sama berupa khas jeruk, memiliki warna yang sama yaitu berwarna putih, dan memiliki tekstur yang sama yaitu bertekstur kental.

Uji homogenitas bertujuan untuk melihat komposisi bahan tercampur dengan baik atau tidak. Berdasarkan hasil pengamatan pada uji homogenitas pada ketiga formula menunjukkan hasil yang homogen pada masing-masing formula, hal ini ditandai dengan tidak adanya partikel kasar pada *object glass* pada saat pengujian

Pengujian pH dilakukan untuk mengetahui krim yang dihasilkan bersifat asam atau basa yang dilihat dari nilai pH yang diperoleh. Dalam sediaan topikal, pH berkaitan dengan rasa ketika

dioleskan apabila nilai pH terlalu asam atau basa akan menimbulkan iritasi pada kulit sehingga perlu kesesuaian sediaan krim dengan pH kulit. Pada hasil pengujian pH sediaan krim minyak atsiri kulit jeruk purut pada ketiga formula memasuki nilai rentang pH yang aman yaitu 5-8 (Saryanti dkk., 2019). Pada hasil pengujian pH nilai uji F1 lebih rendah yaitu 7,37 dibandingkan nilai uji F2 dan F3 yang lebih tinggi yaitu 7,41 dan 7,56 hal ini terjadi karena pengaruh bahan yang memiliki sifat basa seperti TEA yang memiliki sifat basa kuat dengan nilai pH 10,5 (Rabima & Marshall, 2017).

Pengujian daya sebar krim bertujuan untuk melihat kemampuan krim saat diaplikasikan pada kulit, apabila daya sebar krim semakin besar maka zat aktifnya menyebar secara merata dan lebih efektif dalam menghasilkan efek terapinya. Hasil uji daya sebar sediaan krim minyak atsiri kulit jeruk purut pada ketiga formula memasuki nilai rentang daya yaitu 5-7 cm (Forestryana dkk., 2020). Pada hasil daya sebar nilai F1 memiliki nilai uji lebih tinggi yaitu 6,3cm sedangkan F2 dan F3 memiliki nilai uji yang sama yaitu 6 cm.

Uji viskositas dilakukan dengan viskometer stromer NDJ-5S dengan spindel no. 4 pada kecepatan 12 rpm. Uji viskositas bertujuan untuk melihat kekentalan dari sediaan krim, sehingga mudah untuk diaplikasikan pada kulit (Saryanti dkk., 2019). Persyaratan untuk nilai viskositas krim adalah 4.000-40.000 cps

(Forestryana dkk., 2020). Hasil pengukuran viskositas dari ketiga sediaan memasuki persyaratan yang ditentukan. Pada pengujian viskositas nilai F1 memiliki nilai uji paling rendah yaitu 30783 cps dan F3 memiliki nilai uji paling tinggi yaitu 32248 cps.

4.2.5 Hasil Analisis Kepadatan Kolagen Pada Kelinci *Oryctolagus cuniculus*

Hasil pengamatan preparat kepadatan kolagen menggunakan software image J dengan metode fraksi area dengan menggunakan 5 lapang pandang dengan perbesaran 400x dan dari hasil analisis hasil diatas bahwa uji normalitas dan homogenitas ditunjukkan nilai signifikansi pada uji *shapiro wilk* setiap kelompok memiliki nilai $p > 0,05$ maka uji analisis statistik dilanjutkan dengan uji parametrik *anova* dengan tingkat kepercayaan $p < 0,05$. Pada uji parametrik *anova* didapatkan hasil signifikansi 0.000 hal ini dapat dinyatakan bahwa nilai signifikansi ($p < 0,05$) dan terdapat perbedaan bermakna dari beberapa kelompok. Analisis statistik dilanjutkan menggunakan uji LSD.

Pada uji perbedaan post-hoc LSD, kelompok kontrol negatif menunjukkan persentase kepadatan kolagen yang paling rendah dibandingkan dengan kelompok lainnya. Pada kelompok kontrol negatif dengan kelompok F1, kelompok F2, kelompok F3, kelompok kontrol positif, dan kelompok kontrol normal terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$). Hasil skoring kepadatan kolagen pada kelompok

kontrol negatif menunjukkan skor +1 dan rata-rata kepadatan kolagen sebesar 28,215%, yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok F1, F2, F3, dan kontrol normal. Hal ini dikarenakan pada kelompok kontrol negatif tidak diberi perlakuan krim hanya diberi paparan sinar uv secara langsung, sehingga pembentukan kolagen pada kelompok kontrol negatif paling rendah dibandingkan kelompok lainnya.

Pada kelompok kontrol normal dengan kelompok kontrol negatif, kelompok F1, kelompok F2, kelompok F3 terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang bermakna ($p < 0,05$). Hasil skoring kepadatan kolagen pada kelompok kontrol positif lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol negatif yaitu dengan skor +2 dan rata-rata kepadatan kolagen sebesar 36,612%. Karena pada perlakuan kontrol normal tidak diberi paparan sinar uv seperti halnya kelompok lain, sehingga pembentukan kolagennya stabil dibandingkan kelompok lainnya.

Pada kelompok kontrol positif dengan kelompok F1, kelompok F2, kelompok F3, kelompok kontrol negatif, dan kelompok kontrol normal terdapat perbedaan kepadatan kolagen yang bermakna ($p < 0,05$). Hasil skoring kepadatan kolagen ditunjukkan dengan skor +3 dan rata-rata kepadatan kolagen sebesar 50,916 lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol lainnya, hal ini dikarenakan pada kandungan krim kontrol positif memiliki kandungan *citrus limon*

extract dan *collagen*, pada citrus limon memiliki mekanisme kerja yang sama dengan kulit jeruk purut yaitu sebagai antioksidan serta dapat meningkatkan kepadatan serat kolagen yang dibantu oleh *collagen* yang memiliki peran penting dalam penyusunan jaringan kulit (Setyowati & Setyani, 2015). Sehingga hasil skoring kelompok kontrol positif lebih tinggi dibandingkan kelompok lainnya.

Hasil rata-rata kepadatan kolagen pada kelompok F1, kelompok F2, dan kelompok F3 mendapatkan hasil yang signifikan dengan rata-rata kepadatan kolagen secara berurutan yaitu 42,071%, 44,313%, dan 45,580% lebih besar dibandingkan kelompok kontrol normal dan kontrol negatif. Pada hasil skor kepadatan kolagen pada kelompok F1, F2, dan F3 menunjukkan skor +2 dengan interpretasi ketiga kelompok formula tersebut memiliki kepadatan serabut kolagen yang sedang yang ditunjukkan dengan 10-50% per lapang pandang (Nanda dkk., 2017). Perbedaan hasil yang signifikan antara F1, F2, dan F3 dipengaruhi adanya peningkatan konsentrasi minyak atsiri pada sediaan krim yaitu pada kelompok F1 dengan konsentrasi $1 \times IC_{50}$ (0,01131 gram), pada kelompok F2 dengan konsentrasi $20 \times IC_{50}$ (0,2262 gram), dan pada kelompok F3 dengan konsentrasi $40 \times IC_{50}$ (0,4524 gram) sehingga semakin besar konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk purut dalam formulasi sediaan krim maka semakin terjadi peningkatan kepadatan serabut kolagen yang bermakna antara

F1, F2, dan F3. Pada minyak atsiri kulit jeruk purut terdapat kandungan senyawa terpenoid yang memiliki aktivitas antioksidan.

Hasil korelasi atau hubungan antara kepadatan kolagen pada kelompok F1, kelompok F2, kelompok F3 dengan konsentrasi minyak atsiri pada formula krim yang dilakukan secara statistik dengan metode korelasi *Pearson*. Diperoleh nilai signifikansi (sig (2-tailed)) sebesar 0,001, terdapat korelasi yang signifikan antara dua variabel yang diuji ($p > 0,05$). Diperoleh nilai korelasi 0,825, berdasarkan hasil tersebut terdapat hubungan korelasi yang sangat kuat (Budiwanto, 2017), hal ini dikarenakan pada formula krim minyak atsiri kulit jeruk purut memiliki kandungan senyawa yang paling tinggi yaitu terpenoid yang berpotensi sebagai antioksidan, dimana kandungan yang terdapat dalam kulit jeruk purut dapat memperbaiki sel-sel yang rusak. Berdasarkan (Maulida dkk., 2016) Terpenoid berperan penting dalam meningkatkan kecepatan reepitelisasi pada jaringan. Peningkatan tersebut memacu poliferasi dan migrasi sel-sel endotel sehingga membentuk pembuluh darah baru (Maulida dkk., 2016).

4.2.6 Hasil Analisis Ketebalan Epidermis Pada Kelinci *Oryctolagus cuniculus*

Keriput atau kerutan merupakan manifestasi klinis dari penuaan dini (*skin aging*) yang dipengaruhi oleh faktor intrinsik (hormon, genetik, dan metabolisme seluler) dan faktor ekstrinsik

(radikal bebas, paparan sinar matahari, polusi) yang merupakan kombinasi faktor yang menyebabkan akumulasi perubahan struktur dan fungsi kulit. Sel keriput dapat disebabkan oleh penipisan lapisan epidermis (Setyowati & Setyani, 2015).

Dari analisis hasil statistik diatas bahwa uji normalitas dan homogenitas menunjukkan bahwa sebaran data pada setiap kontrol normal dan homogen, ditunjukkan oleh nilai signifikansi pada uji *shapiro wilk* setiap kelompok $p > 0,05$ maka uji analisis statistik dilanjutkan dengan uji parametrik *anova* dengan tingkat kepercayaan $p < 0,05$. Pada uji parametrik *anova* didapatkan hasil nilai signifikansi 0.000 hal ini dapat dinyatakan bahwa nilai signifikansi ($p < 0,05$) dan terdapat perbedaan bermakna dari beberapa kelompok. Analisis statistik dilanjutkan dengan menggunakan uji LSD.

Pada kelompok kontrol negatif terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol normal, kelompok kontrol positif, kelompok F1, kelompok F2, dan kelompok F3. Kelompok kontrol negatif memiliki nilai rata-rata ketebalan epiderms yaitu 28,64 μ m. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol negatif memiliki hasil yang paling rendah dibandingkan kelompok lainnya, hal ini terjadi karena pada saat perlakuan kelompok kontrol negatif tidak diberi perlakuan krim dan hanya diberi paparan sinar uv, sehingga kulit menjadi keriput yang disebabkan oleh paparan

sinar uv dan terjadi penipisan lapisan epidermis yang ditandai dengan berkurangnya kolagen dan jaringan elastin (Setyowati & Setyani, 2015).

Pada kelompok kontrol normal terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dengan kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok F1, kelompok F2, dan kelompok F3. Kelompok kontrol normal memiliki rata-rata ketebalan epidermis sebesar $44,97\mu\text{m}$, karena pada perlakuan kontrol normal tidak diberi paparan sinar uv seperti halnya kelompok lain, sehingga pembentukan epidermis lebih stabil dibandingkan kelompok lainnya.

Pada kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol normal, kelompok kontrol negatif, dan kelompok F1 terdapat perbedaan ketebalan epidermis yang bermakna ($p < 0,05$). Pada kelompok kontrol positif memiliki hasil rata-rata ketebalan epidermis yaitu $63,33\mu\text{m}$, kontrol positif memiliki nilai rata-rata ketebalan epidermis paling tinggi dibandingkan kelompok perlakuan lainnya.

Hasil rata-rata ketebalan epidermis pada kelompok F1, kelompok F2, dan kelompok F3 mendapatkan hasil yang signifikan dengan rata-rata ketebalan epidermis secara berurutan yaitu $53,99\mu\text{m}$, $66,89\mu\text{m}$, $66,42\mu\text{m}$ lebih besar dibandingkan kontrol negatif dan kontrol normal, hal tersebut menunjukkan kelompok formula 1, formula 2, dan formula 3 mampu mempertahankan fungsi kulit seperti semula setelah di beri perlakuan selama 10 hari.

Karena pada formula krim minyak atsiri kulit jeruk purut memiliki kandungan senyawa yang paling tinggi yaitu senyawa terpenoid yang berpotensi sebagai antioksidan. Munculnya keriput pada kulit wajah dikarenakan produksi kolagen pada kulit berkurang karena paparan sinar uv sehingga kulit menjadi keriput dan elastisitas kulit menjadi berkurang. Senyawa terpenoid memiliki aktivitas antioksidan dalam pencegahan radikal bebas dengan memperlambat pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS), dengan menghambat kerja enzim *xantin oksidase* dan *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate* (NADPH) oksidase, sehingga proses penuaan dini pada kulit tidak terjadi dengan cepat (Ferdinan & Prasetya, 2018; Jafar dkk., 2020).

Hasil korelasi atau hubungan antara kepadatan kolagen pada kelompok F1, kelompok F2, kelompok F3 dengan konsentrasi minyak atsiri pada formula krim yang dilakukan secara statistik dengan metode korelasi *Pearson*. Diperoleh nilai signifikansi (sig (2-tailed)) sebesar 0,023, terdapat korelasi yang signifikan antara dua variabel yang diuji ($p > 0,05$). Diperoleh nilai korelasi 0,648, berdasarkan hasil tersebut terdapat hubungan korelasi yang sedang antara konsentrasi minyak atsiri dalam formula sediaan krim dengan ketebalan epidermis (Budiwanto, 2017).

4.2.7 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan dari penelitian ini adalah belum dilakukannya replikasi pada pembuatan sediaan krim untuk memastikan bahwa hasil yang dimunculkan memiliki pola yang konsisten, kurang optimalnya proses pewarnaan kolagen dan epidermis pada preparat kulit kelinci sehingga pada sebagian preparat kurang jelas dalam pembacaan kepadatan kolagen hal ini berkaitan dengan keterampilan pada preparasi sampel, perlu dilakukannya uji praklinik meliputi uji iritasi dan uji toksisitas sediaan krim minyak atsiri kulit jeruk purut, serta perlu dilakukannya uji lanjutan seperti uji klinik pada manusia.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

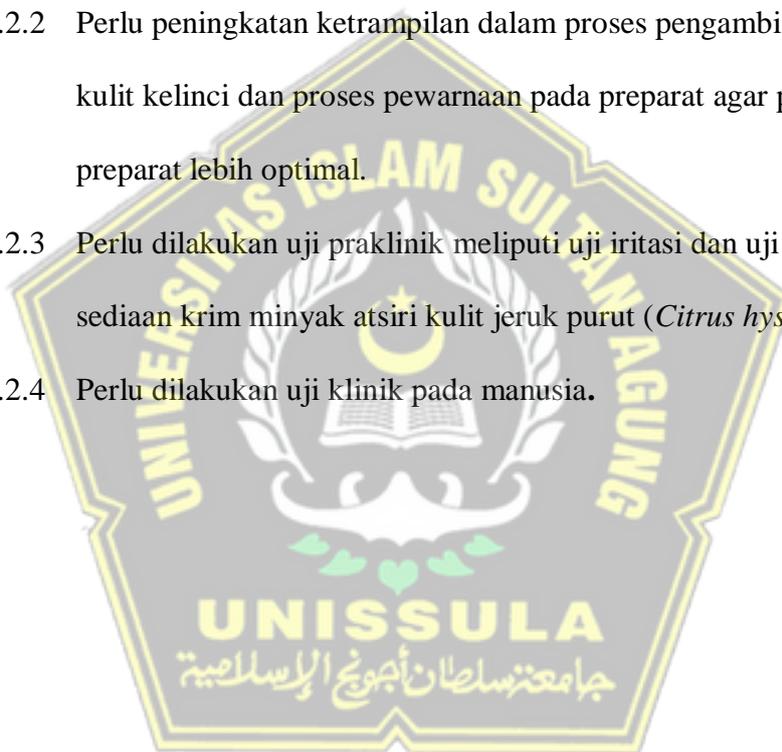
5.1 Kesimpulan

- 5.1.1 Minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) memiliki aktivitas antioksidan dengan metode DPPH sebesar 37,77 µg/mL.
- 5.1.2 Krim minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) terbukti memiliki pengaruh dalam meningkatkan kepadatan kolagen pada hewan uji kelinci *Oryctolagus cuniculus* yang terpapar sinar UVB. Pada kelompok perlakuan dengan pemberian krim minyak atsiri kulit jeruk purut 1xIC₅₀ (F1), 20xIC₅₀ (F2), 40xIC₅₀ (F3) dengan persentase kepadatan kolagen masing-masing sebesar 42,071%, 44,313%, 45,80% dan skor kepadatan kolagen +2
- 5.1.3 Krim minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) terbukti memiliki pengaruh dalam meningkatkan ketebalan epidermis pada hewan uji kelinci *Oryctolagus cuniculus* yang terpapar sinar UVB. Pada kelompok perlakuan dengan pemberian krim minyak atsiri kulit jeruk purut 1xIC₅₀ (F1), 20xIC₅₀ (F2), 40xIC₅₀ (F3) dengan persentase ketebalan epidermis masing-masing sebesar 53,99%, 66,89%, 66,42%.
- 5.1.4 Krim minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dengan konsentrasi 40xIC₅₀ (F3) menunjukkan adanya perbedaan rerata persentase kepadatan kolagen dan ketebalan epidermis yang

signifikan terhadap kelompok kontrol normal dan kelompok kontrol negatif.

5.2 Saran

- 5.2.1 Perlu dilakukan replikasi pembuatan sediaan krim minyak atsiri kulit jeruk purut.
- 5.2.2 Perlu peningkatan ketrampilan dalam proses pengambilan sampel kulit kelinci dan proses pewarnaan pada preparat agar pembacaan preparat lebih optimal.
- 5.2.3 Perlu dilakukan uji praklinik meliputi uji iritasi dan uji toksisitas sediaan krim minyak atsiri kulit jeruk purut (*Citrus hystix* DC).
- 5.2.4 Perlu dilakukan uji klinik pada manusia.



DAFTAR PUSTAKA

- Abeng, K. A., Kalangi, S. J. R., & Wangko, S. (2016). Gambaran struktur kulit hewan coba pada beberapa interval waktu postmortem. *Jurnal e-Biomedik*, 4(1), 7–10. <https://doi.org/10.35790/ebm.4.1.2016.10820>
- Agouillal, F., M. Taher, Z., Moghrani, H., Nasrallah, N., & El Enshasy, H. (2017). A Review of Genetic Taxonomy, Biomolecules Chemistry and Bioactivities of *Citrus hystrix* DC. *Biosciences, Biotechnology Research Asia*, 14(1), 285–305. <https://doi.org/10.13005/bbra/2446>
- Ahmad, Z., & Damayanti. (2018). Penuaan Kulit : Patofisiologi dan Manifestasi Klinis. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin – Periodical of Dermatology and Venereology*, 30(03), 208–215. [http://download.garuda.ristekdikti.go.id/article.php?article=850430&val=7405&title=Penuaan Kulit: Patofisiologi dan Manifestasi Klinis](http://download.garuda.ristekdikti.go.id/article.php?article=850430&val=7405&title=Penuaan%20Kulit:%20Patofisiologi%20dan%20Manifestasi%20Klinis)
- Alhana, A., Suptijah, P., & Tarman, K. (2015). Extraction and Characterization of Collagen from Sea Cucumber Flesh. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 18(2), 150–161. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2015.18.2.150>
- Amaliah, D. A., & Pratiwi, R. (2018). Studi Formulasi Dan Evaluasi Fisik Sediaan Krim Antiskabies Dari Minyak Mimba (*Azadirachta Indica* A.Juss). *Farmaka*, 15(2), 70–81.
- Budiwanto, S. (2017). Metode Statistika: Untuk Mengolah Data Keolahragaan. *Metode Statistika*, 1–233.
- Chen, Y., Yu, Q., & Xu, C. B. (2017). A convenient method for quantifying collagen fibers in atherosclerotic lesions by imagej software. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 10(10), 14904–14910.
- Ferdinan, A., & Prasetya, A. B. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Jantung Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.) Pontianak. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 3(1), 88–96.
- Forestryana, D., Yuliani, & Putri, A. N. (2020). OPTIMASI FORMULA SEDIAAN KRIM EKSTRAK ETANOL 95% DAUN PANDAN WANGI (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). *Borneo Journal of Pharmascientech*, 4(1), 22–31. <https://doi.org/10.51817/bjp.v4i1.274>
- Hakim, R. J., Mulyani, Y., & Hendrawati, T. Y. (2019). Pemilihan Bagian Tanaman Jeruk Purut (*CITRUS HYSTRIX* D . C) Potensial Sebagai Minyak Essensial Aromaterapi Hasil Proses Maserasi Dengan Metode Analytical Hierarkhi Process (AHP). 1–7.
- Hardiningtyas, S. D., Purwaningsih, S.-, & Handharyani, E.-. (2014). Aktivitas Antioksidan Dan Efek Hepatoprotektif Daun Bakau Api-Api Putih. *Jurnal*

Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia, 17(1), 80–91.
<https://doi.org/10.17844/jphpi.v17i1.8140>

- Hendriyanto, O., & Cahyonugroho. (2010). Pengaruh Intensitas Sinar Ultraviolet Dan Pengadukan Terhadap Reduksi Jumlah Bakteri E.coli. *Envirotek : Jurnal Ilmiah Teknik Lingkungan*, 2(1), 18–23.
- Jacob, T. N. A., Siswati, A. S., Budiyo, A., Triwahyudi, D., Sirait, S. A. P., Mawardi, P., Budianti, W. K., Dwiyoana, R. F., Widasmara, D., Maria, R., & Tanojo, H. (2020). Pengaruh Sinar Ultra Violet Terhadap Kesehatan Kajian Terhadap Berjemur (Sun Exposures). *Perhimpunan Dokter Spesialis Kulit & Kelamin Indonesia (PERDOSKI)*, 1–15.
- Jafar, W., Masriany, & E. Sukmawaty. (2020). Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Bunga Pohon Hujan (*Spathodea campanulata*) Secara In Vitro. *Prosiding Seminar Nasional Biotik, 2019*, 328–334.
- Julianto, T. S. (2019). Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Nomor 9). <http://library.uui.ac.id>; e-mail: perpustakaan@uui.ac.id
- Juwita, A. P., Yamlean, P. V. ., & Edy, H. J. (2013). FORMULASI KRIM EKSTRAK ETANOL DAUN LAMUN (*Syringodium isoetifolium*). *Jurnal ilmiah farmasi*, 2(02), 8–12.
- Kalangi, S. J. R. (2014). Histofisiologi Kulit. *Jurnal Biomedik (Jbm)*, 5(3), 12–20. <https://doi.org/10.35790/jbm.5.3.2013.4344>
- Kalangi, S. J. R., & Kaseke, M. M. (2015). *Gambaran Reaksi Radang Luka Postmortem*. 3(April), 393–397.
- Kesuma, Y. (2015). *Antioksidan Alami dan Sintetik* (1 ed.). Andalas University Press.
- Khazanchi, R., Aggarwal, A., & Johar, M. (2007). Anatomy of Aging Face. *Indian Journal of Plastic Surgery*, 40(2), 223–229. <https://doi.org/10.4103/0970-0358.37775>
- Kurniawan, A., Chandra, Indraswati, N., & Mudjijati. (2008). Ekstraksi Minyak Kulit Jeruk Dengan Metode Distilasi, Pengepresan dan Leaching. *Widya Teknik*, 7(1), 15–24.
- Maulida, W., Fadraersada, J., & Rijai, L. (2016). *Isolasi Senyawa Antioksidan Dari Daun Pila – Pila (Mallotus Paniculatus)* (hal. 384–390).
- Mimeault, M., & Batra, S. K. (2010). Recent advances on skin-resident stem/progenitor cell functions in skin regeneration, aging and cancers and novel anti-aging and cancer therapies. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(1–2), 116–134. <https://doi.org/10.1111/j.1582->

4934.2009.00885.x

- Muhtadin, A. F., Wijaya, R., & Prihatini, P. (2013). Pengambilan Minyak Atsiri dari Kulit Jeruk. *Jurnal Teknik Pomits*, 2(1), 98–101.
- Muzuka, M., Danimayostu, Adelsa, A., Iswarin, & Jazimah, S. (2018). Uji Antioksidan Etosom Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.) sebagai Anti Penuaan Kulit dengan Metode DPPH. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 3(2), 39–44. <https://doi.org/10.21776/ub.pji.2017.003.02.1>
- Nanda, Y., Salim, N. M., & I, C. D. (2017). Hispatologi Kulit Mencit (*Mus musculus*) Fase Remodeling Pada Penyembuhan Luka Sayat Dengan Salep Getah Jarak Pagar (*Jatropha curcas* Linn). *Jimvet*, 01(4), 13–16.
- Nealma, S., & Nurkholis. (2020). FORMULASI DAN EVALUASI FISIK KRIM KOSMETIK DENGAN VARIASI EKSTRAK KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan*) DAN BEESWAX SUMBAWA. *Jurnal TAMBORA*, 4(2), 8–15. <https://doi.org/10.36761/jt.v4i2.634>
- Nurlaila, Z. dan. (2018). Hubungan Kekeabatan Famili Rutaceae Berdasarkan Karakter Morfologi Di Kecamatan Bandar Baru. *Prosiding Seminar Nasional Biotik*, 3, 1–4.
- Perdoski. (2016). *Persatuan Dokter Spesialis Kulit Dan Kelamin Indonesia*.
- Pratiwi, A., & Salimah, I. (2020). Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Minyak Atsiri Kembang Leson. *Al-Kauniah: Jurnal Biologi*, 13(2), 139–146. <https://doi.org/10.15408/kauniah.v13i2.9966>
- Pratiwi, S., & Husni, P. (2017). Artikel Tinjauan: Potensi Penggunaan Fitokonstituen Tanaman Indonesia Sebagai Bahan Aktif Tabir Surya. *J. Farmaka*, 15(4), 18–25.
- Rabima, & Marshall. (2017). Uji Stabilitas Formulasi Sediaan Krim Antioksidan Ekstrak Etanol 70% dari Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L.). *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 2(1), 107–121.
- Rachmanita, R. T., Primarizky, H., Fikri, F., Setiawan, B., Agustono, B., & Saputro, A. L. (2019). Efektivitas Ekstrak Daun Afrika (*Vernonia amygdalina*) Secara Topikal Terhadap Kepadatan Kolagen dalam Penyembuhan Luka Insisi Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Medik Veteriner*, 2(1), 36. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol2.iss1.2019.36-41>
- Rahmi, U., Manjang, Y., & Santoni, A. (2013). Profil Fitokimia Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Antioksidan Tanaman Jeruk Purut (*Citrus histrix* DC) dan Jeruk Bali (*Citrus maxima* (Burm.f.) Merr). *Jurnal Kimia Unand*, 2(2), 109–114.
- Rosahdi, T. D., Kusmiyati, M., & Wijayanti, F. R. (2013). *Uji Aktivitas Daya*

Antioksidann Buah Rambutan rapih Dengan Metode DPPH. 24(3), 362–363. <https://doi.org/10.1089/jop.2007.0126>

- Rowe, C. R., Sheskey, J. P., & Quinn, E. M. (2009). Handbook of Pharmaceutical Excipients 6th edition. In *Washington DC: Pharmaceutical Press and American Pharmacist Association.: Vol. E.28.*
- Saryanti, D., Setiawan, I., & Safitri, R. A. (2019). OPTIMASI FORMULA SEDIAAN KRIM M / A DARI EKSTRAK KULIT PISANG KEPOK (*Musa acuminata L .*) OPTIMIZATION OF M / A CREAM FORMULA FROM KEPOK BANANA PEEL (*Musa acuminata L .*) EXTRACT. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia, 1(3).*
- Setyowati, H., & Setyani, W. (2015). Potensi Nanokolagen Limbah Sisik Ikan Sebagai Cosmeceutical. *Farmasi Sains Dan Komunitas, 12(1), 30–40.*
- Soesilawati, P. (2020). *Histologi Kedokteran Dasar. 15(2), 1–23.*
- Wahyuningsih, K. A. (2011). Astaxanthin memberikan efek proteksi terhadap photoaging. *Damianus Journal of Medicine;, 10(3), 149–160.*
- Warsito, Noorhamdani, Sukardi, & Suratmo. (2017). Aktivitas Antioksidan Dan Antimikroba Minyak Jeruk Purut. *Journal of Environmental Engineering & Sustainable Technology, 04(01), 13–18.*
- Winarti, S. (2010). Koleksi Buku 2010 Makanan fungsional / Sri Winarti. *Perpustakaan Digital Universitas Negeri Malang, 2010.*
- Yuliarto, F. T., Khasanah, L. U., & Anandito, R. B. K. (2012). Pengaruh Ukuran Bahan dan Metode Destilasi (Destilasi Airdan Destilasi Uap Air) Terhadap Kualitas Minyak Atsiri Kulit Kayu Manis (*cinnamomum burmannii*). *Jurnal Teknosains Pangan, 1(1), 12–23.*
- Zhang, S., & Duan, E. (2018). Fighting against Skin Aging: The Way from Bench to Bedside. *Cell Transplantation, 27(5), 729–738.*
<https://doi.org/10.1177/0963689717725755>
- Zhao, C., Wang, F., Lian, Y., Xiao, H., & Zheng, J. (2018). Biosynthesis Of Citrus Flavonoids And Their Health Effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 0(0), 1–18.*
<https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1544885>