



**FORMULASI *VANISHING CREAM* DAN LOTION EKSTRAK ETANOL  
TEMPE KEDELAI CAP “DUA PUTRI” SEBAGAI AGEN PEMUTIH KULIT  
ALAMI**

**SKRIPSI**

Oleh

**Defitri Trimardani  
NIM 112210101075**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**



**FORMULASI *VANISHING CREAM* DAN LOTION EKSTRAK ETANOL  
TEMPE KEDELAI CAP “DUA PUTRI” SEBAGAI AGEN PEMUTIH KULIT  
ALAMI**

**SKRIPSI**

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan program strata satu pada Fakultas Farmasi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh :

**Defitri Trimardani**  
**NIM 112210101075**

**FAKULTAS FARMASI**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2015**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW;
2. Orang tuaku tercinta, Ayahanda Sumargono dan Ibunda Sugiantina yang selalu mencurahkan doa, kasih sayang serta pengorbanan yang senantiasa mengiringi setiap langkahku. Senyum dan kebahagiaan keduanya merupakan kekuatan terbesar dalam hidupku;
3. Kakak-kakaku tersayang, Novpio Pratinasari dan Aquarahma Margasari yang selalu memberikan semangat, masukan, doa, dan keceriaan dalam hidupku;
4. Guru-guruku terhormat di TK Bhayangkari Jombang, SDN Kapanjen II Jombang, SMP Negeri 2 Jombang, SMA Negeri 2 Jombang, serta seluruh dosen dan segenap civitas akademika Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah menyalurkan ilmunya tanpa pamrih;
5. Teman-teman seperjuangan dan almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

## MOTTO

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.

(Q.S. Al-Mujadalah : 11)

Ketika kamu merasa lelah dan tak berdaya dari usaha yang sepertinya sia-sia, Allah tahu betapa kerasnya kamu sudah berusaha. Ketika kamu tengah menangis sekian lama dan hatimu merasa sedih, Allah tengah menghitung tetesan air matamu. Ketika kamu telah mencoba segalanya dan tak tau harus berbuat apa lagi, Allah memiliki

jawabannya.  
(Fuad Pribadi)

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Defitri Trimardani

NIM : 112210101075

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Formulasi *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai Cap “Dua Putri” sebagai Agen Pemutih Kulit Alami” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta bukan karya jiblanan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 20 Juni 2015

Yang menyatakan,

Defitri Trimardani

NIM 112210101075

**SKRIPSI**

**FORMULASI *VANISHING CREAM* DAN LOTION EKSTRAK ETANOL  
TEMPE KEDELAI  
CAP “DUA PUTRI” SEBAGAI AGEN PEMUTIH KULIT ALAMI**

Oleh :

Defitri Trimardani  
112210101075

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Budipratiwi Wisudyaningsih, S.Farm., M.Sc.,

Apt

Dosen Pembimbing Anggota : Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Formulasi *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai Cap “Dua Putri” sebagai Agen Pemutih Kulit Alami” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 29 Juli 2015

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

**Tim Pembimbing:**

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Budipratiwi Wisudyaningsih, S.Farm., M.Sc., Apt.

NIP 198112272006042003

Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt.

NIP 197305132005012001

**Tim Penguji:**

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Dwi Nurahmanto, S.Farm., M.Sc., Apt.

NIP 198401242008011001

Yuni Retnaningtyas, S.Si., M.Si., Apt.

NIP 197806092005012004

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.

NIP 197604142002122001

**RINGKASAN**

**Formulasi *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai Cap “Dua Putri” sebagai Agen Pemutih Kulit Alami:** Defitri Trimardani, 112210101075; 2011, 77 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Produk pemutih kulit yang saat ini banyak beredar di pasaran, sering menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan pada kulit sehingga perlu dicari alternatif penggunaan senyawa alam sebagai agen pemutih kulit alami yang aman. Salah satu senyawa alam yang berpotensi sebagai agen pemutih kulit alami adalah senyawa isoflavon. Isoflavon merupakan senyawa golongan flavonoid yang memiliki aktivitas hambatan tirosinase. Senyawa isoflavon aglikon meliputi genistein, daidzein, dan glisitein memiliki aktivitas hambatan enzim tirosinase yang lebih besar daripada glikosida. Berdasarkan penelitian sebelumnya, produk olahan kedelai yang memiliki kandungan isoflavon aglikon paling besar adalah tempe kedelai.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas hambatan enzim tirosinase ekstrak etanol tempe kedelai, mengetahui pengaruh formulasi terhadap kadar isoflavon genistein dalam sediaan *vanishing cream* dan lotion dan mengetahui respon kesukaan konsumen terhadap sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai sebagai agen pemutih kulit alami. Tahap awal yang dilakukan dalam penelitian ini adalah pembuatan ekstrak etanol tempe kedelai, kemudian dilakukan penetapan kadar genistein dalam ekstrak etanol tempe kedelai dengan metode KLT-Densitometri. Kemudian dilakukan uji aktivitas hambatan enzim tirosinase ekstrak etanol tempe kedelai secara *in-vitro* menggunakan *microplate reader*. Tahap selanjutnya dilakukan formulasi sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai dan ditetapkan kadar isoflavon genistein dalam sediaan dengan uji presisi dan uji akurasi. Kemudian dilakukan uji sifat fisika kimia sediaan dan uji kesukaan konsumen terhadap sediaan menggunakan metode kuisisioner, tahap terakhir dilakukan analisis statistik.



Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar rata-rata genistein dalam ekstrak etanol tempe kedelai  $\pm$  RSD adalah 0,244 % b/b  $\pm$  1,497%. Pada uji aktivitas hambatan tirosinase ekstrak etanol tempe kedelai menunjukkan bahwa ekstrak memiliki aktivitas hambatan tirosinase lebih besar yang ditunjukkan dengan nilai  $IC_{50}$  sampel ekstrak ( $IC_{50}$  ekstrak = 55,07 ppm) lebih kecil bila dibandingkan nilai  $IC_{50}$  rata-rata standar genistein ( $IC_{50}$  standar = 130,17 ppm). Pada penetapan kadar genistein dalam sediaan yang disertai uji presisi dan akurasi diperoleh hasil kadar rata-rata genistein dalam sediaan *vanishing cream*  $\pm$  RSD sebesar 0,0047738% b/b  $\pm$  1,114% dan kadar rata-rata genistein dalam sediaan lotion  $\pm$  RSD sebesar 0,0047869% b/b  $\pm$  0,290%. Pada uji akurasi diperoleh hasil *mean recovery* dan nilai RSD untuk *vanishing cream* sebesar 99,49 % dan 0,45% sedangkan untuk lotion sebesar 99,997% dan 0,62%. Nilai RSD dan *mean recovery* memenuhi persyaratan sehingga metode analisis yang digunakan dapat memberikan hasil yang presisi dan akurat. Berdasarkan hasil uji T tidak berpasangan, tidak terdapat perbedaan kadar genistein yang signifikan antara sampel *vanishing cream* dan lotion ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa formulasi tidak mempengaruhi kadar genistein dalam sediaan. Berdasarkan hasil uji sifat fisika kimia sediaan, *vanishing cream* dan lotion memenuhi spesifikasi yang diharapkan. Pada uji kesukaan konsumen, *vanishing cream* lebih disukai konsumen dari parameter tekstur dan warna sedangkan lotion lebih disukai konsumen dari parameter bau dan konsistensi sediaan.

Kesimpulan yang dapat diperoleh dari penelitian ini adalah ekstrak etanol tempe kedelai memiliki aktivitas hambatan tirosinase yang lebih baik dibandingkan dengan standar genistein sebagai kontrol positif. Formulasi sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai tidak mempengaruhi kadar isoflavon genistein dalam sediaan. Sediaan *vanishing cream* lebih disukai konsumen dari parameter tekstur dan warna sedangkan lotion lebih disukai konsumen dari parameter bau dan konsistensi sediaan.

## PRAKATA

Bismillahirrohmanirohim

Puji syukur ke hadirat ALLAH SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Formulasi *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai Cap “Dua Putri” sebagai Agen Pemutih Kulit Alami”. Sholawat dan salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya.

Dengan terselesaikannya skripsi ini, penulis menyadari dan mengakui bahwa upaya, doa, arahan, bimbingan dan dukungan dari keluarga maupun dosen pembimbing serta pihak-pihak lainnya sangat membantu dalam terselesaikannya skripsi ini. Oleh karena itu, pada kesempatan ini, dengan sepenuh hati penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember, Ibu Lestyo Wulandari S.Si., Apt., M.Farm atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;
2. Ibu Budipratiwi Wisudyaningsih, S.Farm., M.Farm., Apt selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt selaku dosen pembimbing anggota serta Bapak Moch. Amrun Hidayat S.Si., Apt., M.Farm yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam membantu dan membimbing penulis hingga akhir penyusunan skripsi ini;
3. Bapak Dwi Nurahmanto, S.Farm., Apt., M.Sc.dan Ibu Yuni Retnaningtyas, S.Si., M.Si., Apt. yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan mengevaluasi skripsi ini;
4. Ibu Ayik Rosita Puspaningtyas, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswi;

5. Bapak dan Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu, pengalaman, dan motivasi kepada penulis selama menempuh masa perkuliahan; staff dan karyawan atas segala bantuan yang diberikan selama penulis menjadi mahasiswi Fakultas Farmasi Universitas Jember;
6. Kedua orangtua tercinta, Bapak Sumargono dan Ibu Sugiantina , yang tak pernah lelah memberikan doa, dukungan, motivasi, semangat, kasih sayang dan pengorbanan yang tak terhingga selama ini;
7. Kakak tersayang, Novpio Pratinasari dan Aquarahma Margasari, terimakasih atas kasih sayang, dukungan, doa, semangat dan motivasi yang senantiasa diberikan dalam menyelesaikan skripsi ini;
8. Ibu Widi dan Mbak Anggra selaku teknisi Laboratorium Biologi Farmasi serta Ibu Itus selaku teknisi Laboratorium Farmasetika Farmasi Universitas Jember atas bantuannya selama penulis melakukan penelitian;
9. Taufiq Edi , yang selalu sabar dan tak pernah lelah memberikan semangat dan motivasi selama penulis menyelesaikan skripsi ini;
10. Sahabat seperjuangan Lintang, Alifia, Nurul Faridah, Iik, Rara, Risti, Pipit, Estika, Lily, Oktavia, Vita, Habibi yang telah memberikan bantuan, hiburan, semangat, motivasi, serta kebersamaan selama ini;
11. Teman-teman kost Mastrip 65 tercinta Mbak Banun, Mbak Sari, Windi, atas semangat, hiburan, dan keceriaannya selama ini;
12. Teman-teman seperjuangan sekaligus keluargaku Angkatan 2011 Fakultas Farmasi Universitas Jember yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu;
13. Serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, yang telah memberikan bantuan dan dukungan baik secara langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan skripsi ini;

Penulis juga menerima berbagai saran dan kritik yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca. Amin.

Jember, Juni 2015

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR RUMUS</b> .....	xvii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	4
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	4
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	5
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	6
<b>2.1 Tinjauan Tentang Kulit</b> .....	6

2.1.1 Anatomi Kulit.....	6
2.1.2 Fungsi Kulit.....	11
<b>2.2 Tinjauan Proses Pigmentasi Kulit.....</b>	<b>12</b>
<b>2.3 Tinjauan tentang Enzim Tirosinase.....</b>	<b>14</b>
<b>2.4 Tinjauan tentang Hambatan Tironase.....</b>	<b>15</b>
<b>2.5 Tinjauan tentang Tempe.....</b>	<b>16</b>
2.5.1 Isoflavon pada Tempe Kedelai.....	17
2.5.2 Aktivitas Farmakologi yang Sudah Diteliti.....	19
<b>2.6 Tinjauan Tentang Krim.....</b>	<b>20</b>
<b>2.7 Tinjauan Tentang Lotion.....</b>	<b>21</b>
<b>2.8 Tinjauan Bahan Tambahan Krim dan Lotion .....</b>	<b>22</b>
<b>2.9 Tinjauan Umum Tentang Kromatografi Lapis Tipis .....</b>	<b>28</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>30</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>30</b>
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>30</b>
<b>3.3 Variabel Penelitian.....</b>	<b>30</b>
3.3.1 Variabel Bebas.....	30
3.3.2 Variabel Terikat.....	30
<b>3.4 Rancangan Penelitian.....</b>	<b>30</b>
3.4.1 Rancangan Operasional.....	30
3.4.2 Definisi Operasional.....	31
<b>3.5 Alat dan Bahan.....</b>	<b>33</b>
3.5.1 Alat .....	33
3.5.2 Bahan .....	34
<b>3.6 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>34</b>
3.6.1 Preparasi Bahan.....	34
3.6.2 Penghilang Lemak ( <i>defatting</i> ) dari Tempe Kedelai .....	35
3.6.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Tempe Kedelai.....	35

3.6.4 Penetapan Kadar Genistein dalam Ekstrak Etanol Tempe Kedelai.....	36
3.6.5 Uji Aktivitas Hambatan Tirosinase.....	36
3.6.6 Formulasi Sediaan <i>Vanishing Cream</i> Dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai.....	38
3.6.7 Pembuatan Sediaan <i>Vanishing Cream</i> dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai.....	39
3.6.8 Penetapan Kadar Isoflavon Genistein dalam Sediaan <i>Vanishing Cream</i> dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai.....	40
3.6.9 Evaluasi <i>Vanishing Cream</i> dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai.....	41
3.6.10 Uji Kesukaan Konsumen terhadap Sediaan <i>Vanishing     Cream</i> dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai.....	43
3.6.11 Analisis Data .....	43
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>45</b>
<b>4.1 Hasil Ekstraksi Simplisia Tempe Kedelai.....</b>	<b>46</b>
<b>4.2 Hasil Penetapan Kadar Genistein dalam Ekstrak Etanol     Tempe Kedelai.....</b>	<b>48</b>
<b>4.3 Pengujian Aktivitas Hambatan Enzim Tirosinase Ekstrak     Etanol Tempe Kedelai.....</b>	<b>49</b>
<b>4.4 Hasil Formulasi Sediaan <i>Vanishing Cream</i> dan Lotion     Ekstrak Etanol Tempe Kedelai.....</b>	<b>51</b>
<b>4.5 Hasil Penetapan Kadar Isoflavon Genistein dalam     Sediaan <i>Vanishing Cream</i> dan Lotion Ekstrak Etanol     Tempe Kedelai.....</b>	<b>53</b>
<b>4.6 Hasil Pengujian Sifat Fisika Kimia Sediaan <i>Vanishing     Cream</i> dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai.....</b>	<b>56</b>

<b>4.7 Hasil Uji Kesukaan Sediaan <i>Vanishing Cream</i> dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai</b> .....	63
<b>BAB V. PENUTUP</b> .....	66
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	66
<b>5.2 Saran</b> .....	66
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	68
<b>DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN</b> .....	76
<b>LAMPIRAN</b> .....	78

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 2.1 Kandungan isoflavon aglikon berbagai produk kedelai.....	19
Tabel 3.1 Formula <i>vanishing cream</i> ekstrak etanol tempe kedelai.....	38
Tabel 3.2 Formula lotion ekstrak etanol tempe kedelai.....	39
Tabel 4.1 Kondisi optimum analisis genistein dengan KLT-Densitometri..	48
Tabel 4.2 Kadar genistein dalam ekstrak etanol tempe kedelai.....	49
Tabel 4.3 Komposisi blanko, larutan sampel, dan larutan kontrol positif dalam pengujian aktivitas hambatan rosinase.....	50
Tabel 4.4 Hasil uji presisi dan penetapan kadar isoflavon genistein dalam sediaan <i>vanishing cream</i> .....	54
Tabel 4.5 Hasil uji presisi dan penetapan kadar isoflavon genistein dalam sediaan lotion.....	54
Tabel 4.6 Hasil uji akurasi genistein dalam sediaan <i>vanishing cream</i> dan	

	lotion ekstrak etanol tempe kedelai.....	56
Tabel 4.7	Hasil pengujian organoleptis sediaan <i>vanishing cream</i> dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai.....	57
Tabel 4.8	Hasil pengujian viskositas sediaan <i>vanishing cream</i> dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai.....	58
Tabel 4.9	Hasil pengujian daya sebar <i>vanishing cream</i> dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai.....	59
Tabel 4.10	Hasil pengujian pH sediaan <i>vanishing cream</i> dan lotion.....	63
Tabel 4.11	Hasil Uji Kesukaan Konsumen terhadap Sediaan <i>Vanishing Cream</i> dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai.....	64

## DAFTAR GAMBAR

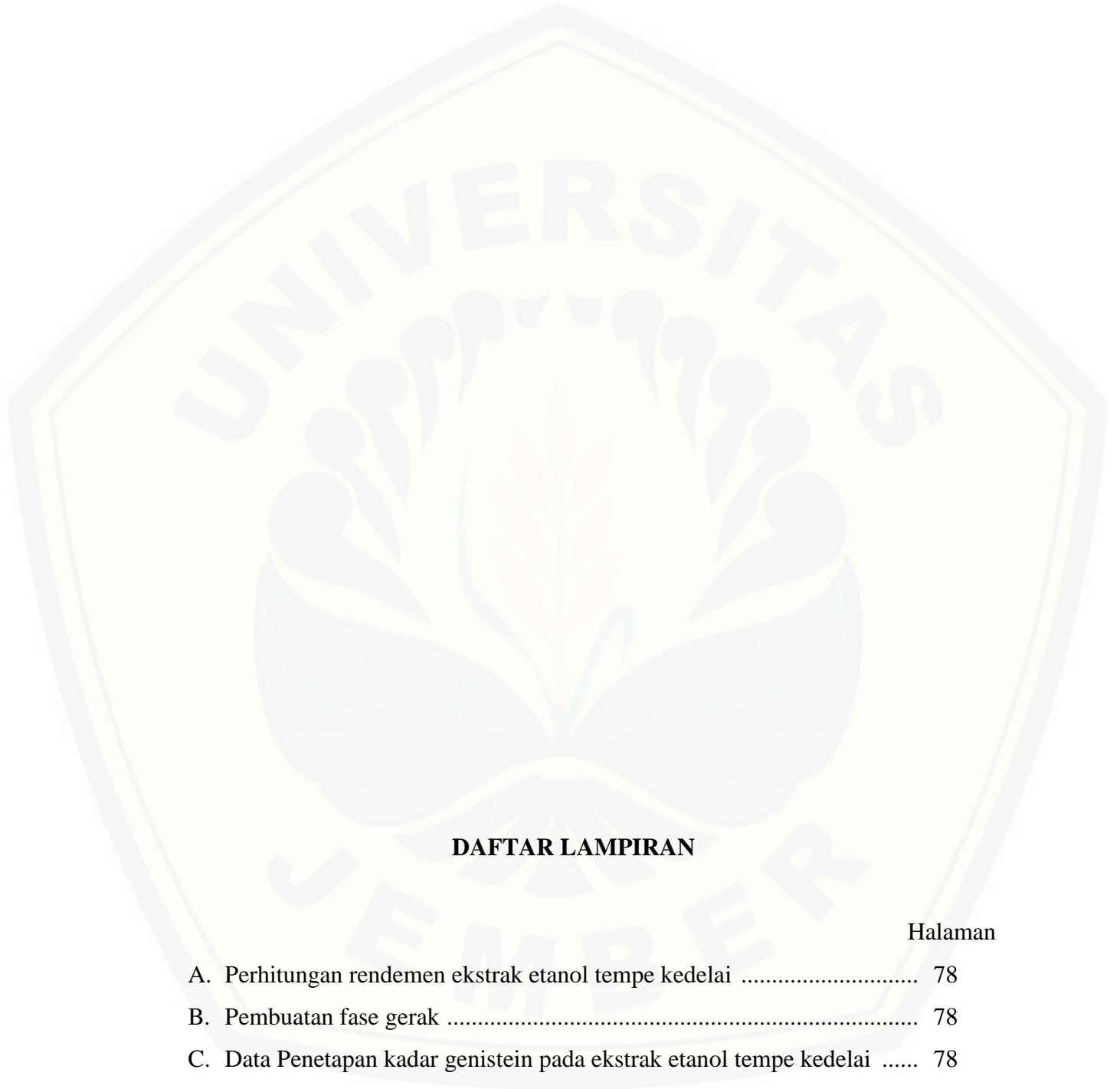
	Halaman
Gambar 2.1 Struktur Kulit.....	11
Gambar 2.2 Mekanisme Melanogenesis.....	14
Gambar 2.3 Biotransformasi Isoflavon Glikosida menjadi Isoflavon Aglikon.....	18
Gambar 2.4 Struktur Asam Stearat .....	22
Gambar 2.5 Struktur Setil Alkohol.....	22
Gambar 2.6 Struktur Stearil Alkohol.....	23
Gambar 2.7 Struktur Gliserin.....	23
Gambar 2.8 Struktur Trietanolamin.....	24



Gambar 2.9 Struktur Natriumkarboksimetilselulosa.....	25
Gambar 2.10 Struktur Tween 80.....	25
Gambar 2.11 Struktur Propilenglikol.....	26
Gambar 2.12 Struktur Nipagin.....	27
Gambar 2.13 Struktur Nipasol.....	27
Gambar 2.14 Struktur Simetikon.....	28
Gambar 3.1 Skema Langkah Kerja Penelitian.....	32
Gambar 4.1 Hasil Pembuatan Sediaan <i>Vanishing Cream</i> dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai.....	53
Gambar 4.2 Profil Daya Sebar <i>Vanishing Cream</i> dan Lotion.....	60
Gambar 4.3 Hasil Pengamatan Penentuan Tipe Emulsi secara Mikroskopis Sediaan <i>Vanishing Cream</i> dan Lotion.....	62

## DAFTAR RUMUS

	halaman
3.1 % hambatan tirosinase.....	38



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
A. Perhitungan rendemen ekstrak etanol tempe kedelai .....	78
B. Pembuatan fase gerak .....	78
C. Data Penetapan kadar genistein pada ekstrak etanol tempe kedelai .....	78
C.1 Standar genistein .....	78
C.2 Sampel ekstrak etanol tempe kedelai .....	79

C.3 Perhitungan kadar.....	79
D. Perhitungan pembuatan dapar fosfat pH 6,5 50 mM .....	79
E. Perhitungan Larutan Substar L-Tirosin 1mM.....	80
F. Perhitungan Preparasi Enzim Tirosinase 250 Unit/ml.....	81
G. Contoh Perhitungan Preparasi Standar Genistein dan Sampel .....	81
H. Data hasil uji aktivitas hambatan tirosinase .....	82
H.1 Absorbansi plate kosong .....	82
H.2 Absorbansi plate isi .....	82
H.3 Hasil pengurangan absorbansi plate isi dengan plate kosong .....	82
H.4 Perhitungan nilai IC <sub>50</sub> dan % inhibisi.....	83
I. Perhitungan dosis ekstrak etanol tempe kedelai untuk formula <i>vanishing cream</i> dan lotion ekstrak .....	91
J. Data penetapan kadar genistein dalam sediaan <i>vanishing cream</i> dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai .....	91
J.1 Data kadar isoflavon genistein dalam sediaan <i>vanishing cream</i> ekstrak etanol tempe kedelai .....	91
J.2 Data kadar isoflavon genistein dalam sediaan lotion ekstrak etanol tempe kedelai .....	92
K. Data akurasi sediaan <i>vanishing cream</i> dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai .....	93
L. Data evaluasi fisik dan kimia <i>vanishing cream</i> dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai .....	96
L.1 Data uji organoleptis <i>vanishing cream</i> dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai.....	96
L. 2 Data uji pH <i>vanishing cream</i> dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai .....	96
L.3 Data uji viskositas <i>vanishing cream</i> dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai.....	96

L.4 Data uji tipe emulsi <i>vanishing cream</i> dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai.....	97
L.5 Data uji daya sebar <i>vanishing cream</i> dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai.....	97
M. Data Hasil Uji Kesukaan <i>vanishing cream</i> dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai.....	98
N. Data hasil analisis dengan uji SPSS .....	101
N.1 Data hasil analisis $IC_{50}$ ekstrak etanol tempe kedelai dan standar genistein .....	101
N.2 Data hasil analisis pengaruh formulasi sediaan <i>vanishing cream</i> dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai terhadap kadar genistein ....	105
N.3 Data hasil analisis kesukaan konsumen terhadap sediaan <i>vanishing cream</i> dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai terhadap kadar genistein.....	108
O. Gambar hasil penelitian dan lembar kuisioner.....	112

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kulit merupakan organ terluar tubuh manusia yang memiliki fungsi sebagai pelindung dari berbagai macam gangguan dan rangsangan dari luar. Fungsi perlindungan terjadi melalui sejumlah mekanisme biologis, seperti pembentukan lapisan tanduk secara terus-menerus, respirasi dan pengaturan suhu tubuh, produksi sebum dan keringat, dan pembentukan melanin untuk melindungi kulit dari bahaya ultraviolet matahari, serta pertahanan terhadap tekanan dan infeksi dari luar (Tranggono dan Latifah, 2007). Salah satu fungsi utama kulit yaitu melindungi tubuh dari paparan sinar UV (Wasitaatmadja, 1997).

Paparan sinar UV dalam jangka waktu yang lama dapat menimbulkan efek buruk terhadap kulit, namun efek buruk sinar UV tersebut dapat dicegah melalui mekanisme perlindungan alami kulit yaitu pembentukan melanin. Melanin merupakan pigmen kulit manusia yang dibentuk oleh sel melanosit yang terletak di bagian epidermis kulit. Mekanisme pembentukan melanin diawali dengan adanya proses oksidasi asam amino tirosin dengan melibatkan tirosinase. Tirosinase merupakan enzim yang berperan penting dalam biosintesis melanin. Enzim ini mengkatalisis dua reaksi utama dalam biosintesis melanin, yaitu hidroksilasi L-tirosin menjadi L-3,4-dihidroksifenilalanin (L-DOPA) dan oksidasi L-dopa menjadi dopakuinon. Senyawa dopakuinon mempunyai kereaktifan yang sangat tinggi sehingga dapat mengalami polimerisasi secara spontan membentuk dopakrom yang kemudian menjadi melanin (Chang, 2005). Produksi melanin berlebih dapat menyebabkan hiperpigmentasi sehingga menyebabkan penggelapan warna kulit dan timbul noda hitam pada bagian tertentu dari kulit (Cayce *et al.*, 2004).

Proses produksi melanin yang berlebih pada kulit dapat direduksi dengan beberapa mekanisme yaitu menghambat aktivitas enzim tirosinase, mengganggu

transfer melanosom, meningkatkan pergantian lapisan epidermis, dan menghambat proses transkripsi dan translasi enzim melanogenik (Ebanks *et al.*, 2012). Hambatan aktivitas enzim tirosinase merupakan salah satu mekanisme depigmentasi yang sering digunakan, karena enzim tirosinase bersifat spesifik hanya diproduksi oleh sel melanosit (Chang, 2012).

Saat ini kosmetik pemutih kulit menjadi salah satu produk kosmetik yang populer di kalangan wanita karena kosmetik ini memiliki aktivitas hambatan terhadap enzim tirosinase sehingga dapat menjadikan kulit tampak lebih putih. Namun banyak kosmetik pemutih kulit yang beredar di pasaran mengandung zat-zat kimia berbahaya dan bila digunakan secara berlebihan dapat membahayakan tubuh. Adapun zat-zat kimia berbahaya tersebut antara lain asam kojat dan hidrokuinon. Asam kojat dapat menyebabkan reaksi dermatitis kontak (Nakagawa dan Kawai, 1995), sedangkan hidrokuinon dapat menyebabkan efek samping berupa iritasi kulit, reaksi dermatitis kontak, eritema, rasa terbakar, dan gangguan pigmentasi yang *irreversibel* (BPOM, 2007), sehingga kadar asam kojat dan hidrokuinon dalam sediaan tidak boleh lebih dari 1% (Nakagawa dan Kawai, 1995).

Berdasarkan fakta banyaknya efek samping akibat penggunaan kosmetik pemutih kulit, maka perlu dicari alternatif lain dengan memanfaatkan bahan alami sebagai kosmetik pemutih yang tidak memicu kerusakan kulit dan tidak berbahaya bagi tubuh. Kosmetik berbahan dasar bahan alami dinilai lebih aman, mempunyai efektivitas yang baik untuk kesehatan dan lebih ramah lingkungan (Vinayak dan Randive, 2007).

Saat ini telah dikembangkan senyawa alam sebagai agen pemutih kulit yang dapat menghambat aktivitas enzim tirosinase. Salah satu senyawa alam tersebut adalah senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid digolongkan menjadi beberapa kelompok, salah satunya adalah senyawa isoflavon yang telah dikenal luas memiliki aktivitas antimelanogenesis (Chang *et al.*, 2009). Isoflavon ditemukan pada produk fermentasi kedelai berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Chang dkk. (2005). Pada penelitian tersebut, Chang dkk. telah berhasil mengisolasi senyawa isoflavon dari kedelai Koji (Jepang) yang difermentasi

dengan *Aspergillus oryzae* BCRC32288, yakni 6,7,4'-trihidroksiisoflavon, daidzein, glisitein, dan genistein yang memiliki aktivitas penghambatan enzim tirosinase.

Tempe merupakan makanan tradisional Indonesia yang dihasilkan melalui proses fermentasi biji kedelai, oleh berbagai mikroorganisme khususnya oleh kapang *Rhizopus oligosporus* (Unitly, 2008). Tempe mengandung isoflavon aglikon yang lebih tinggi dari kedelai karena aksi enzim  $\beta$ -glukosidase dari mikroorganisme selama proses fermentasi kedelai. Enzim  $\beta$ -glukosidas akan menghidrolisis isoflavon glikosida menghasilkan isoflavon aglikon. Isoflavon aglikon daidzein dan genistein pada tempe lebih tinggi dari kedelai dan berpotensi sebagai agen pemutih kulit (Punjaisee, 2011; Pandit *et al.*, 2011; Haron *et al.*, 2009). Penelitian yang dilakukan oleh Chae dan Ha (2011) juga membuktikan bahwa aktivitas pemutih kulit pada kedelai berfermentasi lebih tinggi daripada non-fermentasi. Kedelai berfermentasi memiliki aktivitas penghambatan tirosinase sebesar 75,55% sedangkan kedelai non-fermentasi memiliki aktivitas penghambatan tirosinase sebesar 53,21%.

Ekstrak etanol tempe kedelai masih belum banyak digunakan sebagai kosmetik pemutih kulit sehingga pada penelitian ini akan dilakukan formulasi sediaan *vanishing cream* dan lotion pemutih kulit dari ekstrak etanol tempe kedelai. Penelitian ini diawali dengan pengukuran aktivitas hambatan enzim tirosinase ekstrak etanol tempe kedelai secara *in vitro*, kemudian dilakukan formulasi sediaan *vanishing cream* dan lotion pemutih kulit dari ekstrak etanol tempe kedelai. Bentuk sediaan kosmetik pemutih kulit badan yang sering digunakan adalah *vanishing cream* dan lotion. Basis *vanishing cream* memiliki kelebihan yaitu tidak lengket dan terasa ringan pada saat digunakan pada kulit, terdispersi dengan baik pada saat digunakan pada kulit, mempunyai efek *cooling* karena adanya penguapan dari air sebagai fase luar, dan tidak tampak setelah dioleskan, sedangkan sediaan lotion memungkinkan pemakaian yang merata dan cepat teradsorpsi pada permukaan kulit yang luas. Lotion yang berupa sediaan berbentuk emulsi mudah dicuci dengan air dan tidak lengket dibandingkan sediaan topikal lainnya (Ansel, 2008). Setelah dilakukan formulasi, kemudian

dilakukan penetapan kadar isoflavon genistein dalam sediaan untuk mengetahui pengaruh formulasi terhadap kadar isoflavon genistein dalam sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai. Tahap terakhir pada penelitian ini adalah uji kesukaan menggunakan metode kuisisioner untuk mengetahui respon kesukaan konsumen terhadap sediaan *vanishing cream* dan lotion pemutih kulit dari ekstrak etanol tempe kedelai. Parameter yang menunjukkan kesukaan konsumen pada metode kuisisioner ini antara lain tekstur, warna, bau, dan konsistensi sediaan ketika dioleskan pada kulit (Rimawi, 2014).

## 1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang yang telah dijabarkan, maka dapat dibuat rumusan masalah sebagai berikut.

- 1.2.1 Bagaimanakah aktivitas ekstrak etanol tempe kedelai sebagai inhibitor enzim tirosinase ?
- 1.2.2 Bagaimanakah pengaruh formulasi terhadap kadar isoflavon genistein dalam sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai ?
- 1.2.3 Bagaimanakah respon kesukaan konsumen terhadap sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai sebagai agen pemutih alami?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk menjawab rumusan masalah yang ada, yaitu sebagai berikut.

- 1.3.1 Mengetahui aktivitas ekstrak etanol tempe kedelai sebagai inhibitor enzim tirosinase.
- 1.3.2 Mengetahui pengaruh formulasi terhadap kadar isoflavon genistein dalam sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai.
- 1.3.2 Mengetahui respon kesukaan konsumen terhadap sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai sebagai agen pemutih alami.



#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat yang didapatkan dari penelitian ini yaitu memberikan informasi ilmiah mengenai pemanfaatan bahan alam sebagai alternatif utama dalam pengembangan formula obat maupun kosmetik sehingga dapat menjadi solusi bagi masyarakat untuk menggunakan kosmetik pemutih kulit dengan bahan aktif alami yang aman bagi kesehatan kulit dan tidak menimbulkan efek samping.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan tentang Kulit

Kulit merupakan organ terluar tubuh manusia yang memiliki fungsi utama sebagai pelindung dari berbagai macam gangguan dan rangsangan dari luar. Fungsi perlindungan terjadi melalui sejumlah mekanisme biologis, seperti pembentukan lapisan tanduk secara terus-menerus (keratinisasi dan pelepasan sel-sel yang sudah mati), respirasi dan pengaturan suhu tubuh, produksi sebum dan keringat, dan pembentukan melanin untuk melindungi kulit dari bahaya ultraviolet matahari, sebagai peraba dan perasa, serta pertahanan terhadap tekanan dan infeksi dari luar. Luas permukaan kulit sekitar 2 m<sup>2</sup> dengan berat 10 kg jika dengan lemak atau 4 kg jika tanpa lemak (Tranggono dan Latifah,2007).

#### 2.1.1 Anatomi Kulit

Kulit secara embriologis terbagi atas dua lapisan utama yaitu epidermis (kulit ari) sebagai lapisan epitel paling luar berasal dari ektoderm dan dermis (korium,kutis, kulit jangat) sebagai lapisan dalam yang berasal dari mesoderm. Di bawah dermis terdapat subkutis atau jaringan lemak bawah kulit (Tranggono dan Latifah, 2007; Perdanakusuma, 2007). Struktur kulit dapat dilihat pada gambar 2.1.

Pembagian kulit secara garis besar tersusun atas 3 lapisan yaitu :

##### 1. Lapisan epidermis atau kutikula

Struktur kimia sel-sel epidermis manusia terdiri dari protein 27 %, lemak 2%, garam mineral 0,5 %, air dan bahan-bahan larut air 70,5%. Protein terpenting adalah albumin, globulin, musin, elastin, kolagen dan keratin. Secara kasar 40% dari bahan-bahan yang larut air terdiri dari asam amino bebas (Tranggono dan Latifah,2007).

Epidermis merupakan lapisan epitel gepeng (skuamosa) berlapis yang terdiri dari dua jenis sel yaitu keratinosit dan dendritik. Epidermis terdiri dari sel epitel berlapis pipih bertanduk, keratinosit, mengandung sel melanosit, langerhans dan merkel (Perdanakusuma, 2007). Jenis sel yang utama yaitu keratinosit. Keratinosit merupakan hasil pembelahan sel pada lapisan epidermis yang paling dalam (stratum basal) tumbuh terus ke arah permukaan kulit, dan sewaktu bergerak ke atas, keratinosit mengalami proses yang disebut diferensiasi untuk membentuk sel-sel lapisan permukaan (stratum korneum) (Brown dan Burns, 2002).

Epidermis terdiri dari lima lapisan yaitu:

#### 1) Stratum Korneum

Stratum korneum adalah lapisan kulit yang paling luar dan terdiri atas beberapa lapis sel yang pipih/gepeng dengan ketebalannya 20-30 lapisan dan  $\frac{3}{4}$  dari ketebalan epidermis, sel mati, tidak memiliki inti, tidak mengalami proses metabolisme, protoplasma telah berubah menjadi protein, tidak berwarna, dan sangat sedikit mengandung air. Lapisan ini sebagian besar terdiri atas keratin yaitu protein yang tidak larut dalam air, dan sangat resisten terhadap bahan-bahan kimia. Hal ini berkaitan dengan fungsi kulit untuk memproteksi tubuh dari pengaruh luar. (Tranggono dan Latifah, 2007; Djuanda, 2003).

Sel-sel pada stratum korneum merupakan sel-sel gepeng, tanpa inti sel dan organel-organel sitoplasma. Sel-sel yang berdekatan saling tumpang tindih dan bersama-sama dengan lemak interseluler membentuk pertahanan yang efektif. Ketebalan stratum korneum bervariasi tergantung letaknya pada tubuh. Yang paling tebal adalah pada telapak tangan dan telapak kaki (Brown dan Burns, 2002).

Struktur lapisan stratum korneum terdiri dari sel-sel tanduk (korneosit) yang dilapisi oleh lapisan *cornified*, yang memberikan perlindungan mekanik untuk epidermis dan sebagai penghalang untuk mencegah hilangnya air dan masuknya zat asing dalam kulit. Korneosit mengandung banyak protein dan sedikit lemak yang dikelilingi oleh matriks lipid ekstraselular (Kolarsick *et al.*, 2011). Lapisan *cornified* merupakan lapisan protein tebal yang terdiri dari *loricrin*

dan *involucrin* yang merupakan  $\text{Ca}^{2+}$  dependent enzym. Lapisan *cornified* melingkupi korneosit untuk memberikan konsistensi pada korneosit. Bagian dalam lapisan *cornified* berikatan dengan bagian dalam korneosit yang bersifat hidrofил. Sedangkan bagian luar dari lapisan *cornified* bersifat lipofil yang akan berikatan dengan lamella lipid bilayer yang berisi asam lemak bebas, seramik, dan kolesterol. Lipid monolayer akan berikatan dengan *cornified* pada bagian lipofil sehingga antara satu korneosit dengan korneosit yang lainnya dapat membentuk struktur yang kompak seperti susunan batu bata (Kolarsick *et al.*, 2011).

Diantara korneosit satu dengan yang lain terdapat desmosom. Desmosom pada stratum korneum berfungsi untuk meningkatkan kekompakan kulit supaya kulit tidak meregang dan memipih, merekatkan antar lapisan bagian atas dan bawah. Pada saat mengalami deskuamasi atau pengelupasan kulit desmosom akan mengalami proses degradasi proteolitik sehingga hancur menyebabkan korneosit lepas (Kolarsick *et al.*, 2011).

## 2) Stratum Lusidum

Stratum lusidum merupakan struktur transisi dari stratum granulosum menuju stratum korneum. Stratum lusidum terletak tepat di bawah stratum korneum, merupakan lapisan tipis, jernih, mengandung eleidin, tampak jelas pada telapak tangan dan telapak kaki. Antara stratum lusidum dan stratum granulosum terdapat lapisan keratin tipis yang disebut rein's barrier yang tidak bisa ditembus (*impermeable*) (Tranggono dan Latifah, 2007).

## 3) Stratum Granulosum

Stratum granulosum terdiri dari 2 atau 3 lapis sel-sel gepeng dengan sitoplasma berbutir kasar dan terdapat inti diantaranya. Butir-butir kasar ini terdiri atas keratohialin. Stratum granulosum merupakan sel-sel pipih dan mengandung banyak partikel berwarna gelap yang disebut granula keratohialin. Dalam sitoplasma sel pada stratum granulosum juga terdapat organel yang disebut granula lamellar. Organel ini mengandung lemak dan enzim yang kemudian dilepaskan ke dalam ruang interselular di antara sel-sel stratum granulosum dan stratum korneum dan berfungsi sebagai pertahanan bagi epidermis. Pada lapisan granulosum terdapat sel Langerhans (Brown dan Burns, 2002; Djuanda, 2003).

#### 4) Stratum Spinosum

Stratum spinosum terdiri atas beberapa lapis sel yang berbentuk kubus dan seperti berduri, berinti besar dan oval. Protoplasmanya jernih dan inti terletak di tengah-tengah. Sel-sel ini makin dekat ke permukaan maka makin gepeng bentuknya. Setiap sel berisi filamen-filamen kecil yang terdiri atas serabut protein yang dinamakan tonofibril. Filamen-filamen ini dianggap memegang peranan penting untuk mempertahankan kohesi sel dan melindungi terhadap efek abrasi. Sel-sel langerhans yang memiliki peran penting terhadap sistem imun tubuh tersebar diantara stratum spinosum. Sel-sel ini merupakan pertahanan imunologis dalam melawan antigen dari luar (Djuanda, 2003; Brown dan Burns, 2002; Wasitaatmadja, 1997).

#### 5) Stratum Germinativum

Stratum germinativum merupakan lapisan terbawah epidermis. Di dalam stratum germinativum terdapat sel-sel melanosit, yaitu sel-sel yang tidak mengalami keratinisasi dan fungsinya hanya membentuk pigmen melanin dan melalui dendrit diberikan ke sel-sel keratinosit (Tranggono dan Latifah, 2007). Melanosit mengandung organel-organel sitoplasma yang disebut melanosom, tempat pembentukan melanin dan tirosin. Melanosom bermigrasi sepanjang dendrit dari melanosit dan ditransfer ke dalam keratinosit pada stratum spinosum (Brown dan Burns, 2002). Satu sel melanin untuk sekitar 36 sel keratinosit disebut unit melanin epidermal (Tranggono dan Latifah, 2007).

Keratinisasi adalah proses pendewasaan sel-sel keratinosit dari stratum germinativum yang akan memperbanyak diri, berdiferensiasi, terdesak menuju permukaan kulit hingga akhirnya menjadi sel-sel tanduk yang mati, kering dan pipih dalam stratum korneum (Tranggono dan Latifah, 2007). Sel basal kuboid bermitosis ke atas, bentuk menjadi lebih poligonal yaitu sel spinosum, terangkat ke atas lagi menjadi lebih pipih, dan bergranula menjadi sel granulosum. Kemudian sel tersebut terangkat ke bagian atas, lebih pipih, dan granula serta intinya hilang hingga akhirnya sampai di permukaan kulit menjadi sel tanduk yang mati, protoplasmanya mengering menjadi keras, pipih, tak berinti (Wasitaatmadja, 1997). Kandungan lemak dalam sel germinativum sekitar 13-

14% lalu turun menjadi 10% dalam stratum granulosum dan hanya tinggal 7% atau kurang dalam stratum korneum. Air yang terkandung dalam sel-sel stratum korneum hanya sekitar 25%, sedangkan dalam lapisan lainnya bisa sampai 70% (Tranggono dan Latifah, 2007).

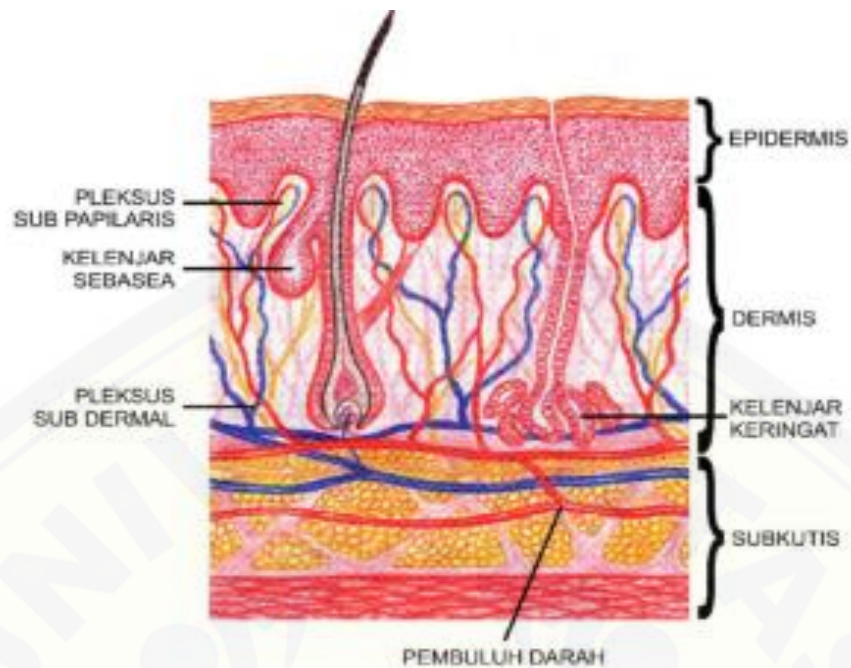
## 2. Lapisan dermis

Lapisan yang terletak dibawah lapisan epidermis adalah lapisan dermis yang jauh lebih tebal daripada epidermis. Secara garis besar dibagi menjadi dua bagian yakni para papilare, yaitu bagian yang menonjol ke epidermis, berisi ujung serabut saraf dan pembuluh darah dan pers retikulare, yaitu bagian di bawahnya yang menonjol ke arah subkutan, bagian ini terdiri atas serabut-serabut penunjang misalnya serabut kolagen, elastin dan retikulin. Dermis mempunyai banyak jaringan pembuluh darah, dan di dalam dermis terdapat adneksa kulit seperti folikel rambut, kelenjar keringat, saluran keringat, kelenjar sebacea (Djuanda, 2003; Tranggono dan Latifah, 2007).

## 3. Lapisan Subkutis (Hipodermis)

Lapisan subkutis adalah kelanjutan dermis yang terdiri atas jaringan ikat longgar berisi sel-sel lemak di dalamnya. Sel-sel lemak merupakan sel bulat, besar, dengan inti terdesak ke pinggir sitoplasma. Di lapisan ini terdapat ujung-ujung saraf tepi, pembuluh darah, dan getah bening. Tebal tipisnya jaringan lemak tidak sama bergantung pada lokasinya. Di abdomen dapat mencapai ketebalan 3 cm, di daerah kelopak mata sangat sedikit (Djuanda, 2003).

Hipodermis atau subkutis berfungsi untuk menunjang suplai darah ke dermis untuk regenerasi, melekat ke struktur dasar, mengisolasi panas, cadangan kalori, mengontrol bentuk tubuh dan mechanical shock absorber (Perdanakusuma, 2007).



Gambar 2.1 Struktur kulit (Perdanakusuma, 2007).

### 2.1.2 Fungsi Kulit

Kulit memiliki fungsi yang cukup vital bagi tubuh kita, beberapa fungsi kulit diantaranya (Wasitaatmadja, 1997) :

#### a. Fungsi proteksi

Kulit melindungi bagian dalam tubuh manusia terhadap gangguan fisik maupun mekanik, misalnya tekanan, gesekan, tarikan, gangguan kimiawi, seperti zat-zak kimia iritan (lisol, karbol, asam atau basa kuat lainnya), gangguan panas atau dingin, gangguan sinar radiasi atau sinar ultraviolet, gangguan kuman, jamur, bakteri, atau virus. Gangguan fisik dan mekanik ditanggulangi dengan adanya bantalan subkutis, tebalnya lapisan kulit, dan serabut penunjang yang berfungsi sebagai pelindung bagian luar tubuh.

#### b. Fungsi pengaturan suhu tubuh (termoregulasi)

Kulit melakukan peran ini dengan cara mengeluarkan keringat dan mengerutkan otot dinding pembuluh darah kulit. Pada suhu tubuh yang meningkat, kelenjar kulit mengeluarkan banyak keringat ke permukaan kulit dan dengan penguapan keringat tersebut terbuang pula panas tubuh. Mekanisme

termoregulasi ini diatur oleh sistem saraf simpatis yang mengeluarkan banyak keringat ke permukaan kulit dan dengan penguapan keringat tersebut terbuang pula panas tubuh. Mekanisme termoregulasi ini diatur oleh sistem saraf simpatis yang mengeluarkan zat perantara asetilkolin.

c. Fungsi pembentukan pigmen (melanogenesis)

Sel pembentuk pigmen kulit (melanosit) terletak di lapisan basal epidermis. Sel ini berasal dari rgi saraf, jumlah 1:10 dari sel basal. Jumlah melanosit serta jumlah dan besarnya melanin yang terbentuk menentukan warna kulit. Paparan sinar matahari mempengaruhi produksi melanin. Bila paparan bertambah, produksi melanin akan meningkat.

d. Fungsi keratinisasi

Keratinisasi dimulai dari sel basal yang kuboid, bermitosis ke atas berubah bentuk menjadi lebih poligonal yaitu sel spinosum, terangkat ke atas menjadi lebih gepeng, dan bergranula menjadi sel granulosum. Kemudian sel tersebut terangkat ke atas lebih gepeng, dan granula serta intinya hilang dan akhirnya sampai di permukaan kulit menjadi sel mati, protoplasmanya mengering menjadi keras, gepeng, tanpa inti yang disebut sel tanduk. Proses ini berlangsung terus-menerus dan berguna untuk fungsi rehabilitasi kulit agar dapat melaksanakan fungsinya dengan baik.

## 2.2 Tinjauan Proses Pigmentasi Kulit

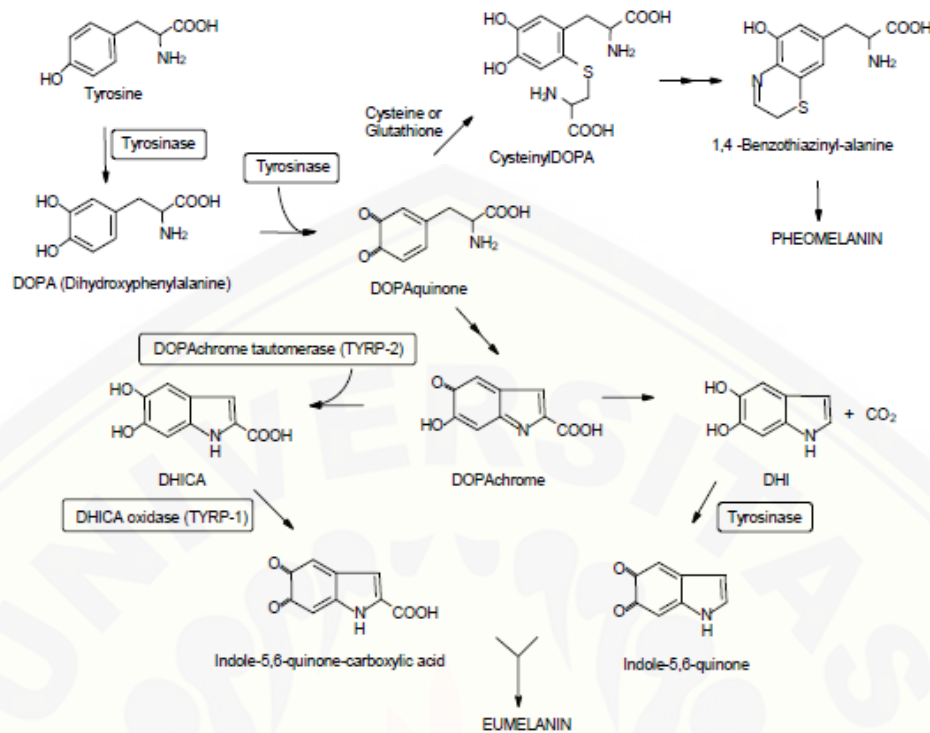
Warna kulit manusia ditentukan oleh jumlah dan sebaran melanin yang dihasilkan oleh melanosom pada melanosit yang memberikan warna coklat pada kulit (Tranggono dan Latifah, 2007). Melanin dari asam amino L-tirosin disintesis oleh organel melanosom dalam melanosit yang melibatkan beberapa tahap reaksi yang diawali oleh enzim tirosinase. Melanosit merupakan perkembangan dari melanoblast (Chang, 2009), di dalam melanosit berisi melanosom (Donsing dan Viyoch, 2008). Satu sel melanosit dikelilingi oleh sekitar 36 sel keratinosit, dan kesatuan ini dinamakan unit melanin epidermal (Tranggono dan Latifah, 2007).

Proses pembentukan pigmen melanin terjadi pada butir-butir melanosom yang dihasilkan oleh sel-sel melanosit yang terdapat diantara sel-sel basal



keratinosit dalam lapisan basal (*stratum germinativum*). Melalui juluran lengan yang dinamakan dendrit, melanosit memberikan melanosom kepada sejumlah sel-sel keratinosit. Dendrit adalah semacam tangan yang dapat mencapai keratinosit dalam jarak yang cukup jauh untuk mentransfer melanosom, yaitu organela yang berisi melanin. Melanosom yang terdapat di dalam keratinosit berbentuk partikel-partikel padat atau merupakan gabungan dari 3-4 buah partikel lebih kecil yang mempunyai membran, dinamakan melanosom kompleks (Tranggono dan Latifah, 2007).

Melanin terbentuk melalui rangkaian oksidasi dari asam amino tirosin dengan melibatkan tirosinase. Biosintesis melanin ditunjukkan dalam gambar 2.1. Dua jenis melanin yang disintesis di melanosom yang ada di dalam melanosit adalah eumelanin dan feomelanin. Eumelanin merupakan pigmen melanin hitam kecoklatan dan feomelanin merupakan pigmen melanin kuning kemerah-merahan. Menurut Ito dan Wakamatsu (2003) menyebutkan bahwa eumelanin merupakan pigmen melanin utama yang menentukan warna kulit. Proses melanogenesis terjadi melalui kombinasi reaksi katalis enzimatik dan reaksi kimia. Jalur biosintetik untuk pembentukan melanin diawali dengan enzim tirosinase mengkatalisis tirosin menjadi dihidroksi fenilalanin atau DOPA dan selanjutnya DOPA yang merupakan substrat tirosinase mengalami oksidasi yang menghasilkan dopakuinon. Dengan adanya sistein atau glutathion, dopakuinon diubah menjadi sisteinil dopa atau glutathionil dopa, reaksi ini membentuk feomelanin (pigmen berwarna kuning). Selanjutnya, dalam proses pembentukan eumelanin, DOPA yang tidak bereaksi dengan sistein akan membentuk dopakrom, yang kemudian dopakrom mengalami tautomerisasi oleh enzim TYRP-2 (*Tyrosinase related protein-2*) menjadi asam 5,6-dihidroksiindol-2-karboksilat (DHICA), selanjutnya mengalami oksidasi dengan TYRP-1 menjadi asam indol-5-6-kuinon-karboksilat. Sedangkan dopakrom mengalami pelepasan gugus asam karboksilat menjadi 5,6-dihidroksiindol (DHI). DHI dikatalisis oleh tirosinase membentuk indol-5,6-kuinon. Selanjutnya asam indol-5-6-kuinon-karboksilat dan indol-5,6-kuinon membentuk melanin (Chang, 2009; Ebanks *et al.*, 2009).



Gambar 2.2 Mekanisme Melanogenesis (Ebanks *et al.*, 2009)

### 2.3 Tinjauan tentang Enzim Tirosinase

Enzim adalah sekelompok protein katalitik yang menjalankan dan mengatur perubahan-perubahan kimia dalam sistem biologi. Suatu katalis adalah suatu agen kimiawi yang mempercepat laju reaksi tanpa harus dipergunakan oleh reaksi tersebut (Campbell *et al.*, 2002). Enzim mengkatalisis perubahan substrat menjadi produk dengan meningkatkan laju reaksi setidaknya  $10^6$  kali dibandingkan jika tidak dikatalisis (Murray *et al.*, 2006).

Pada mamalia, buah-buahan, dan juga di dalam proses pencoklatan fungi secara enzimatik banyak ditemukan enzim tirosinase. Enzim tirosinase yang juga dikenal sebagai polifenol oksidase merupakan suatu enzim mono-oksigenase yang memiliki gugus ion logam tembaga (Cu). Enzim tirosinase berasal dari *Streptomyces glaucescens*, jamur *Neurospora crassa* dan *Agricus bisporus*. Enzim ini mengkatalisis dua langkah pertama dalam melanogenesis mamalia yaitu hidroksilasi tirosin menjadi DOPA dan oksidasi DOPA menjadi dopakuinon.

Dopakuinon yang terbentuk akan bereaksi secara spontan membentuk dopakrom (Chang, 2009; Ramsden dan Patrick, 2010).

Tirosinase memiliki tembaga (Cu) yang merupakan sisi aktif dari enzim yang dapat berikatan dengan substrat pada proses melanogenesis dimana mengandung residu asam amino meliputi tiga histidin 7,23,24. Satu molekul tirosinase dapat mengandung dua atom tembaga (Cu), dan setiap gugus atom tembaga binuklear diikat oleh tiga histidin (Chang, 2009).

#### **2.4 Tinjauan tentang Hambatan Tirosinase**

Beberapa senyawa bahan alam seperti kelompok senyawa flavonoid, benzaldehida, turunan benzoate, lemak dan steroid rantai panjang, stilben, dan koumarin dilaporkan dapat menghambat enzim tirosinase. Inhibitor tirosinase yakni dapat menghambat proses melanogenesis, dapat mengganggu pembentukan melanin (Chang, 2009). Mekanisme tipe hambatan yang terjadi umumnya mengarah kepada inhibitor kompetitif dan non-kompetitif. Beberapa inhibitor menyerupai molekul substrat yang normal dan bersaing untuk dapat menempati tempat aktif enzim. Senyawa yang mirip seperti ini, yang disebut inhibitor kompetitif, mengurangi produktivitas enzim dengan cara mencegah substrat untuk memasuki tempat aktif. Inhibisi seperti ini sifatnya reversible. Sedangkan inhibitor nonkompetitif tidak secara langsung bersaing dengan substrat pada tempat aktif. Sebaliknya inhibitor ini menghambat reaksi enzimatik dengan cara berikatan dengan bagian lain enzim itu. Interaksi ini akan menyebabkan molekul enzim itu mengubah bentuknya, yang selanjutnya membuat tempat aktif menjadi tidak reseptif terhadap substrat, atau membuat enzim itu kurang efektif dalam mengkatalisis perubahan substrat menjadi produk (Campbell *et al.*, 2002).

Agen inhibitor tirosinase dapat dikelompokkan menjadi lima golongan berdasarkan struktur kimia atau mekanisme penghambatan menurut Chang (2009) yaitu senyawa polifenol, turunan benzaldehid dan benzoat, steroid dan lipid rantai panjang, hambatan alami atau sintetik, dan agen inaktivator ireversibel. Polifenol merupakan senyawa yang termasuk kelompok terbesar sebagai inhibitor tirosinase. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang paling banyak tersebar

di daun, biji, kayu, dan bunga pada tanaman. Flavonoid dapat dibagi ke dalam tujuh kelompok yaitu flavon, flavonol, flavanon, flavanol, isoflavon, kalkon dan katekin.

Senyawa flavonoid, termasuk isoflavon di dalamnya, memiliki mekanisme dalam menghambat dan mengkhelat logam tembaga (Cu) enzim tirosinase, karena adanya gugus hidroksil pada cincin A dan B pada senyawa flavonoid (gugus OH pada C6 – C8 dan C2' – C4') (Chang, 2009). Besarnya kekuatan flavonoid dalam menghambat aktivitas enzim tirosinase dipengaruhi oleh besarnya kekuatan mereduksi/derajat oksidasi dari gugus fungsi hidroksil (OH) dan karbonil (C=O) (Abdullah, 2011). Posisi gugus hidroksil dan jumlah gugus juga memiliki peranan penting dalam menghambat aktivitas enzim tirosinase. Semakin banyak jumlah gugus OH pada cincin benzen, maka semakin berfungsi dalam menghambat aktivitas enzim tirosinase. Sedangkan, adanya gugus metil dan konjugat gula pada cincin benzen, dapat menurunkan aktivitas penghambatan (Kim *et al.*, 2009).

Penelitian tentang senyawa bahan alam yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim tirosinase telah banyak dilaporkan, diantaranya adalah ekstrak metanol *Instia palembanica* memiliki IC<sub>50</sub> hambatan tirosinase sebesar 10,4 µg/mL (Batubara *et al.*, 2010); senyawa Glabren dan Isoliquiritigenin yang diisolasi dari akar *Glycyrrhiza glabra* memiliki aktivitas hambatan tirosinase dengan IC<sub>50</sub> sebesar 3,5 dan 8,1 µM (O Nerya *et al.*, 2003); Chang *et al.* (2005) telah mengisolasi senyawa dari kedelai koji (Jepang) yang difermentasi dengan *Aspergillus oryzae* BCRC 32288, senyawa tersebut yaitu 6,7,4'-trihidroksiisoflavon, daidzein, glisitein, dan genistein. Keempat senyawa tersebut memiliki aktivitas hambatan tirosinase dengan IC<sub>50</sub> sebesar 0,009; 0,237; 0,264; dan 0,822 mM.

## 2.5 Tinjauan tentang Tempe

Tempe merupakan makanan tradisional Indonesia yang dihasilkan melalui proses fermentasi biji kedelai. Tempe dibuat dari kedelai (*Glycine max* L.Merr) yang difermentasi oleh jamur *Rhizopus* sp seperti *R. oligosporus*, *R. Stolonifer* dan *R. Oryzae* dengan karakteristik berwarna putih, tekstur kompak, dan rasa khas dari

jamur dan kedelai. Warna putih disebabkan oleh miselia jamur yang tumbuh pada permukaan biji-bijian. Tekstur yang kompak disebabkan oleh miselia-miselia jamur yang menghubungkan antara biji-biji. Sedangkan rasa yang khas disebabkan oleh terjadinya degradasi komponen-komponen dalam kedelai selama proses fermentasi (Nurrahman *et al.*, 2013; Kasmidjo, 1990).

#### 2.5.1 Isoflavon pada Tempe Kedelai

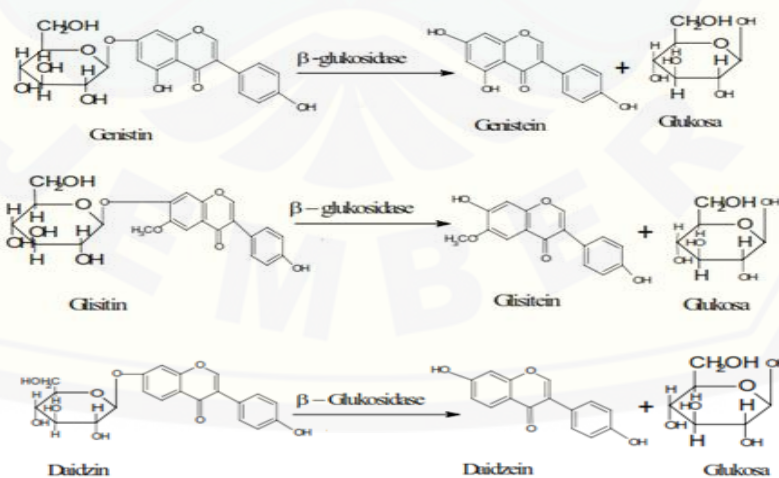
Isoflavon merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdiri atas struktur dasar C3-C6 yang secara alami disintesis oleh tanaman (Pawiroharsono, 2001). Isoflavon termasuk golongan senyawa flavonoid yang penyebarannya terbatas dan banyak terdapat pada tanaman kacang-kacangan (*Leguminosae*), terutama kedelai (Harborne, 1973). Menurut Song *et al.* (1998), sumber isoflavon terbanyak adalah pada kedelai, produk fermentasi dan produk olahan yang berbasis kedelai, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.1.

Keterlibatan mikroorganisme pada proses pembuatan tempe mengakibatkan perubahan-perubahan pada tempe, antara lain terbebasnya senyawa-senyawa isoflavon dalam bentuk bebas (aglikon), dan terbentuknya Faktor-II, yang terdapat pada tempe tetapi tidak terdapat pada kedelai (Gyorgy *et al.*, 1964). Selama proses pengolahan, melalui fermentasi kedelai menjadi tempe, dapat menyebabkan terjadinya proses biokonversi dimana senyawa isoflavon yang berupa senyawa kompleks atau senyawa konjugat dengan senyawa gula melalui ikatan -O- glikosidik yaitu bentuk isoflavon glikosida yang meliputi daidzin, genistin dan glisitin akan terdeglisosilasi oleh enzim  $\beta$ -glukosidase yang dihasilkan oleh mikroorganisme sehingga dapat membebaskan senyawa gula dan senyawa isoflavon bebas yaitu aglikon yang memiliki aktivitas biologis lebih tinggi (Pratt dan Hudson, 1985; Pawiroharsono, 2001; Chang, 2014). Senyawa isoflavon aglikon dan senyawa gula tersebut yaitu genistein (*5,7,4'-trihidroksi isoflavon*) dan glukosa, daidzein (*7,4'-trihidroksi isoflavon*) dan glukosa, serta glisitein (*6-metoksi-7,4'-dihidroksi isoflavon*) dan glukosa (Pratt dan Hudson, 1985).

Enzim  $\beta$ -glukosidase ( $\beta$ -glukosida glukohidrolase) merupakan enzim yang berperan dalam proses peningkatan jumlah isoflavon aglikon pada tempe (Punjaisee, 2011). Enzim  $\beta$ -glukosidase berperan utama dalam metabolisme karbohidrat yang berlangsung di bakteri. Enzim ini terdapat pada tanaman, bakteri dan jamur (Kuo dan Lee, 2008). Enzim ini memiliki peranan penting dalam proses biotransformasi, seperti degradasi selulosa (Khan dan Akhtar, 2010) dan perubahan flavonoid glikosida (Marotti *et al.*, 2009).

$\beta$ -glukosidase bekerja dengan cara deglikosilasi isoflavon glikosida menjadi isoflavon aglikon. Deglikosilasi merupakan proses penghilangan glikosil akibat aktivitas glikosil hidrolase. Enzim  $\beta$ -glukosidase menyerang glukosa yang berikatan pada flavonoid posisi C3 dan C7. Enzim ini memiliki kemampuan untuk menghidrolisis ikatan  $\beta$ -1,4-glikosilat pada aril dan alkil  $\beta$ -D-glukosida (Huynh *et al.*, 2014). Proses deglikosilasi isoflavon glikosida dengan adanya enzim  $\beta$ -glukosidase menghasilkan isoflavon aglikon dan glukosa disajikan dalam gambar 2.3.

Isoflavon aglikon merupakan senyawa isoflavon yang aktif secara biologis dan memiliki efek fisiologis pada tubuh (Pandit *et al.*, 2011). Senyawa isoflavon aglikon dapat mengalami transformasi menjadi bentuk glikosida dengan adanya enzim glikosil transferase menghasilkan genistin, daidzin dan glisitin (Dhaubhadel, 2011).



Gambar 2.3 Biotransformasi isoflavon glikosida menjadi isoflavon aglikon (Pandit *et al.*, 2011)

Tabel 2.1 Kandungan Isoflavon Aglikon Berbagai Produk Kedelai (Song *et al.*,1998)

Bahan/produk	Isoflavon aglikon ( $\mu\text{g/g}$ )			Total isoflavon ( $\mu\text{g/g}$ )
	Genistein	Daidzein	Glisitein	
Kedelai	44	77	58	179
Tofu	116	140	26	282
Miso	61	39	11	111
Soy milk	18	19	10	47
Tempe	318	518	31	867

### 2.5.2 Aktivitas Farmakologi yang Sudah Diteliti

Tempe mengandung aglikon isoflavon daidzein dan genistein yang lebih tinggi dari kedelai. Daidzein dan genistein adalah fitoestrogen yang berpotensi sebagai agen pemutih kulit, agen antioksidan, antikanker, antivirus, antijamur (Mazur, 1998 ; Haron *et al.*, 2009). Genistein dapat menghambat enzim tirosinase sehingga dapat menyebabkan terjadinya penghambatan proses melanogenesis (Chang, 2014).

Chang *et al.* (2005) telah mengisolasi senyawa dari kedelai koji (Jepang) yang difermentasi dengan *Aspergillus oryzae* BCRC 32288, senyawa tersebut yaitu 6,7,4'-trihidroksi isoflavon, daidzein, glisitein, dan genistein. Keempat senyawa tersebut memiliki aktivitas hambatan tirosinase dengan  $IC_{50}$  sebesar 0,009; 0,237; 0,264; dan 0,822 mM (Chang *et al.*,2005; Chang *et al.*,2007). Penelitian juga telah dilakukan Chae dan Ha (2011) bahwa ekstrak etanol kedelai berfermentasi dan non-fermentasi memiliki aktivitas antioksidan dan pemutih kulit. Uji antioksidan dilakukan dengan metode uji DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrasil), aktivitas radikal superoksida dan hidroksil, hambatan asam linoleat, dan hambatan tirosinase. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dan pemutih kulit pada kedelai berfermentasi lebih tinggi daripada non-fermentasi.

Senyawa 7,8,4'-trihidroksi isoflavon dan 7,3',4'-trihidroksi isoflavon memiliki aktivitas hambatan tirosinase dengan  $IC_{50}$  sebesar  $11,21 \pm 0,8$   $\mu\text{M}$  dan  $5,23 \pm 0,6$   $\mu\text{M}$ . Kedua senyawa ini merupakan senyawa turunan isoflavon dengan gugus hidroksil pada cincin aromatis. Senyawa tersebut diisolasi dari kedelai Korea yang difermentasi (*Doenjang*) (Park *et al.*, 2010).

## 2.6 Tinjauan tentang Krim

Krim adalah sediaan setengah padat berupa emulsi kental yang mengandung tidak kurang dari 60% air, dimaksudkan untuk pemakaian luar (Anief, 2000). Menurut (Ditjen POM, 1995) krim adalah bentuk sediaan setengah padat mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Krim merupakan sediaan setengah padat yang mempunyai konsistensi relatif cair diformulasi sebagai emulsi air dalam minyak atau minyak dalam air. Dalam pembuatan krim digunakan zat pengemulsi. Umumnya berupa surfaktan-surfaktan anionik, kationik, dan nonionik (Anief, 2000).

Krim lebih disukai dibandingkan dengan salep karena daya tarik estetikanya, mudah menyebar dengan rata, mudah diserap ke dalam kulit jika digosokkan, mampu melekat pada permukaan kulit dalam waktu yang cukup lama, dan mudah dicuci. Konsistensi dan sifat rheologis krim tergantung pada jenis emulsinya, apakah jenis air dalam minyak atau minyak dalam air, dan juga pada sifat zat padat dalam fase internal (Lachman *et al.*, 2008).

Basis krim digolongkan menjadi dua berdasarkan tipe emulsinya, yaitu basis krim tipe minyak dalam air (o/w) dimana fase minyak sebagai fase dalam (diskontinyu) sedangkan fase air sebagai fase luar (kontinyu) dan basis krim tipe air dalam minyak (w/o) dimana fase air sebagai fase dalam (diskontinyu) sedangkan fase minyak sebagai fase luar (kontinyu) (Kreps dan Goldemberg, 1972).

Pada penelitian ini dipilih basis krim tipe minyak dalam air (o/w) yaitu basis *vanishing cream*. *Vanishing cream* merupakan basis krim tipe minyak dalam air yang biasanya mengandung bahan pembasa seperti trietanolamin maupun kalium, amonium dan natrium hidroksida yang dicampurkan dengan asam stearat bebas untuk membentuk emulsi (Prमितasari, 2011). Basis yang dapat dicuci dengan air seperti *vanishing cream* akan membentuk suatu lapisan tipis yang semipermeabel setelah air menguap pada tempat yang digunakan (Lachman *et al.*, 2008). Adapun kelebihan dari basis *vanishing cream* yaitu tidak lengket dan terasa ringan pada saat digunakan pada kulit, terdispersi dengan baik



pada saat digunakan pada kulit, mempunyai efek *cooling* karena adanya penguapan dari air sebagai fase luar, dan tidak tampak setelah dioleskan (Ansel, 2008).

Sebagai bahan pembawa (basis), yang digunakan adalah kombinasi basis nonionik dan anionik, yaitu campuran antara trietanolamin (anionik) dengan asam stearat (nonionik). Pemilihan campuran basis nonionik dan anionik dilakukan agar diperoleh suatu basis yang bersifat stabil dan netral serta tidak menyebabkan iritasi.

## 2.7 Tinjauan tentang Lotion

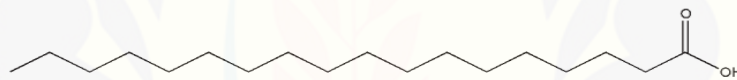
Lotion merupakan sediaan farmasi yang dapat digolongkan ke dalam dua sediaan, yaitu sediaan cair dan sediaan setengah padat baik berupa suspensi atau dispersi, dapat berbentuk suspensi zat padat dalam serbuk halus dengan pensuspensi yang cocok atau emulsi tipe minyak dalam air dengan surfaktan yang cocok (DepKes RI, 1979). Lotion merupakan sediaan setengah padat hampir sama dengan krim tetapi memiliki konsistensi yang lebih rendah (Faramayuda *et al.*, 2010). Lotion biasanya mengandung substansi tidak larut yang tersuspensi, dapat pula berupa larutan dan emulsi di mana mediumnya berupa air. Biasanya ditambah gliserin untuk mencegah efek pengeringan, sebaliknya diberi alkohol untuk cepat kering pada waktu dipakai dan memberi efek penyejuknya (Anief, 1984).

Lotion dimaksudkan untuk digunakan pada kulit sebagai pelindung atau untuk obat karena sifat bahan-bahannya. Kecairannya memungkinkan pemakaian yang merata dan cepat teradsorpsi pada permukaan kulit yang luas (Ansel, 2008). Lotion yang berupa sediaan berbentuk emulsi mudah dicuci dengan air dan tidak lengket dibandingkan sediaan topikal lainnya (Balsam, 1970). Lotion dimaksudkan segera kering pada kulit setelah pemakaian dan meninggalkan lapisan tipis dari komponen obat pada permukaan kulit (Ansel, 2008).

## 2.8 Tinjauan Bahan Tambahan Krim dan Lotion

### a. Asam stearat

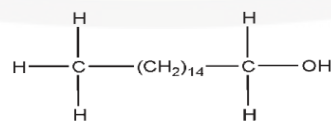
Asam stearat memiliki rumus empiris  $C_{18}H_{36}O_2$ . Asam stearat merupakan kristal padat atau serbuk, berwarna putih atau sedikit kuning, keras, berbau lemah dan memberikan kesan berlemak. Pada sediaan topikal, asam stearat digunakan sebagai *emulsifying agent* dan *solubilizing agent*. Asam stearat biasanya digunakan dalam pembuatan krim dengan netralisasi menggunakan bahan alkalis atau trietanolamin. Penggunaan asam stearat pada formulasi krim adalah 1 – 20% (Rowe *et al.*, 2009). Asam stearat sangat larut dalam benzena, karbon tetraklorida, kloroform, dan eter; larut dalam etanol (95%), heksana, dan propilenglikol; praktis tidak larut dalam air. Struktur kimia asam stearat ditunjukkan pada gambar 2.4.



Gambar 2.4 Struktur asam stearat (Rowe *et al.*,2009)

### b. Setil alkohol

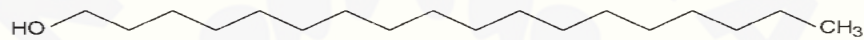
Setil alkohol memiliki rumus empiris  $C_{16}H_{34}O$ , berbentuk seperti lilin dan berupa serpihan putih, granul atau kubus. Setil alkohol sangat larut dalam etanol (95%) dan eter, kelarutan dapat meningkat dengan peningkatan temperature; praktis tidak larut dalam air. Pada sediaan topikal, setil alkohol berfungsi sebagai *emulsifying agent* (2-5%) dan *stiffening agent* (2-10%). Setil alkohol sering disebut sebagai peningkat konsistensi sediaan atau '*bodying agent*' (Rowe *et al.*, 2009). Struktur kimia setil alkohol ditunjukkan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur setil alkohol (Rowe *et al.*,2009)

### c. Stearil alkohol

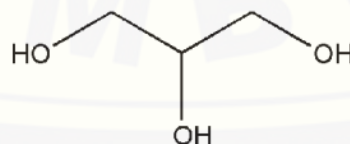
Stearil alkohol memiliki rumus empiris  $C_{18}H_{38}O$ , memiliki bentuk seperti kepingan lilin, serpihan, atau granul, berwarna putih, sedikit berbau, dan tidak berasa (Depkes RI, 1995). Stearil alkohol larut dalam kloroform, etanol 95%, eter, heksana, propilen glikol, aseton, minyak sayur, dan praktis tidak larut dalam air. Stearil alkohol digunakan dalam kosmetik dan sediaan topikal sebagai *stiffening agent*. Stearil alkohol mampu meningkatkan stabilitas emulsi dengan cara meningkatkan viskositas sediaan (Rowe *et al.*, 2009). Struktur kimia stearil alkohol tampak pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Struktur stearil alkohol (Rowe *et al.*, 2009)

### d. Gliserin

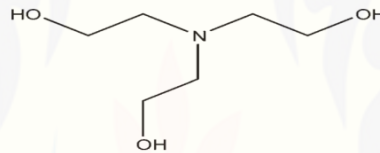
Gliserin memiliki rumus empiris  $C_3H_8O_3$ . Gliserin berupa cairan jernih, tidak berwarna, kental, higroskopis, memiliki rasa yang manis. Gliserin memiliki fungsi sebagai bahan pengawet, *emollient*, *plasticizer*, humektan, pelarut, pemanis dan agen tonisitas. Gliserin sering digunakan pada formulasi topikal atau kosmetik seperti krim dan emulsi sebagai humektan dan *emollient* dengan konsentrasi  $\leq 30\%$ . Gliserin bersifat sedikit larut dalam aseton, larut dalam etanol (95%) dan metanol, larut 1:500 dalam eter, larut 1:11 dalam etil asetat, serta praktis tidak larut dalam benzena, kloroform dan minyak (Rowe *et al.*, 2009). Struktur kimia gliserin ditunjukkan oleh Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Struktur gliserin (Rowe *et al.*, 2009)

e. Trietanolamin (TEA)

Trietanolamin (TEA) memiliki rumus empiris  $C_6H_{15}NO_3$ . TEA berupa cairan kental yang sangat higroskopis dengan bau amoniak ringan, jernih, tidak berwarna sampai kuning pucat. Kelarutan TEA pada  $20^{\circ}C$  yakni larut dalam etil eter 1 : 63, larut dalam benzena 1 : 24 dan dapat bercampur dengan air, aseton dan metanol. TEA telah digunakan secara luas dalam sediaan topikal sebagai *alkalizing agent* dan *emulsifying agent*. Konsentrasi TEA yang biasa digunakan untuk emulsifikasi adalah 2-4% v/v bersama dengan 2-5 kali volume asam lemak seperti asam stearat (Rowe *et al.*, 2009). Struktur kimia TEA ditunjukkan pada Gambar 2.8.



Gambar 2.8 Struktur trietanolamin (Rowe *et al.*, 2009)

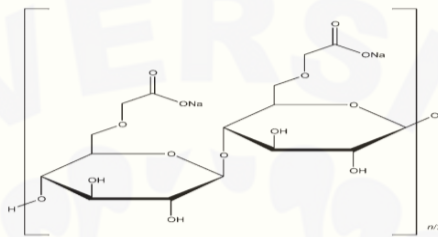
f. Parafin Cair

Parafin cair memiliki pemerian berupa cairan kental tidak berwarna, tembus cahaya, tidak berbau, tidak berasa, dan agak berminyak. Parafin cair tidak larut dalam air dan dalam etanol, mudah larut dalam kloroform, dalam eter, dalam minyak menguap, dalam hampir semua minyak lemak, dan sukar larut dalam etanol. Parafin cair sebagai *emollient* pada emulsi minyak dalam air, konsentrasi yang biasa digunakan pada sediaan emulsi topikal adalah 1-32% (DepKes RI, 1979).

g. Natriumkarboksimetilselulosa (CMC Na)

Natriumkarboksimetilselulosa (CMC Na) merupakan garam natrium dari asam selulosaglikol sehingga berkarakter ionik. CMC Na praktis tidak larut dalam aseton, etanol (95%), eter dan toluena. CMC Na mudah terdispersi dalam air pada semua temperatur. CMC Na digunakan secara luas untuk formulasi sediaan farmasi oral dan topikal, pada sediaan oral terutama digunakan sebagai

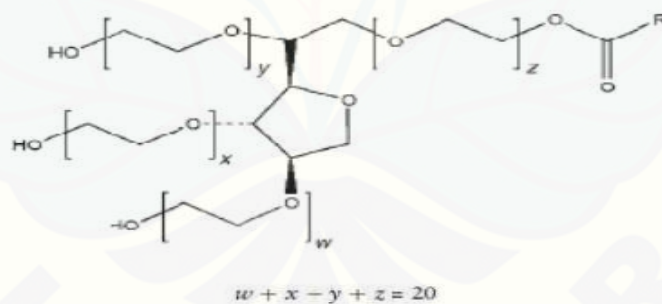
*suspending agent* dan *emulsifying agent*. Menurut Rowe *et al.* (2009) pada konsentrasi 0,25-1,0% CMC Na digunakan sebagai *emulsifying agent* sedangkan pada konsentrasi yang lebih tinggi yaitu 3,0-6,0% digunakan sebagai zat pembentuk gel. CMC Na stabil pada pH 2-10. Jika pH kurang dari 2 maka dapat terjadi presipitasi sedangkan bila pH lebih dari 10 dapat menyebabkan penurunan viskositas. Struktur kimia CMC Na ditunjukkan pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9 Struktur Natriumkarboksimetilselulosa (Rowe *et al.*, 2009)

#### h. Tween 80 (Polisorbat 80)

Tween 80 (Polisorbat 80) memiliki rumus molekul  $C_{64}H_{124}O_{26}$  dan memiliki rumus struktur seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.10.



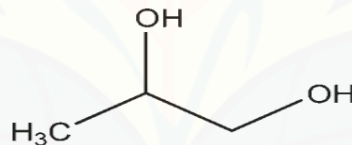
Gambar 2.10 Struktur Tween 80 (Rowe *et al.*, 2009)

Pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$ , tween 80 berwujud cair, berwarna kekuningan dan berminyak, memiliki aroma yang khas, dan berasa pahit. Larut dalam air dan etanol, tidak larut dalam minyak mineral. Kegunaan tween 80 antara lain sebagai *emulsifying agent*, *wetting agent*, dan *solubilizing agent*. Tween 80 digunakan sebagai *emulsifying agent* dengan konsentrasi 1-15% pada emulsi tipe minyak dalam air dan digunakan sebagai *emulsifying agent* dengan konsentrasi 1-10%

yang dikombinasikan dengan *emulsifier* hidrofilik pada emulsi minyak dalam air. Tween 80 merupakan surfaktan nonionik yang bersifat hidrofil (Rowe *et al.*,2009).

#### i. Propilenglikol

Propilenglikol memiliki pemerian jernih, tidak berwarna, kental, biasanya tidak berbau, dengan rasa manis, sedikit tajam seperti gliserol. Propilenglikol memiliki fungsi sebagai *antimicrobial preservative*, disinfektan, humektan, *plasticizer*, pelarut, agen stabilitas, dan *cosolvent*. Pada sediaan topikal, umumnya propilenglikol berfungsi sebagai humektan pada konsentrasi sekitar 15% dari formula. Propilenglikol dapat bercampur dengan aseton, kloroform, etanol (95%), gliserin, dan air, larut dalam eter (1 bagian dalam 6 bagian eter). Propilenglikol tidak dapat bercampur dengan minyak mineral, tetapi dapat terlarut dalam beberapa minyak esensial. Secara kimia, stabil ketika dicampur dengan air, etanol (95%), atau gliserin (Rowe *et al.*,2009). Struktur kimia propilenglikol ditunjukkan pada Gambar 2.11.

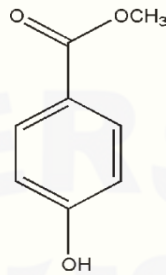


Gambar 2.11 Struktur Propilenglikol (Rowe *et al.*, 2009)

#### j. Nipagin (Metil Paraben)

Nipagin (Metil Paraben) memiliki rumus molekul  $C_8H_8O_3$ . Metil paraben umumnya digunakan sebagai pengawet antimikroba dalam kosmetik dan sediaan farmasi. Metil paraben dapat digunakan sendiri ataupun kombinasi dengan paraben lain dan antimikroba lainnya. Metil paraben efektif pada rentang pH yang luas dan memiliki spektrum aktivitas antimikroba yang luas. Efikasi dari metil paraben dapat ditingkatkan dengan penambahan propilenglikol (2%-5%). Metil paraben sukar larut dalam air, dalam benzena dan dalam tetraklorida, mudah larut dalam etanol, eter, dan propilenglikol. Kelarutan metil paraben dalam

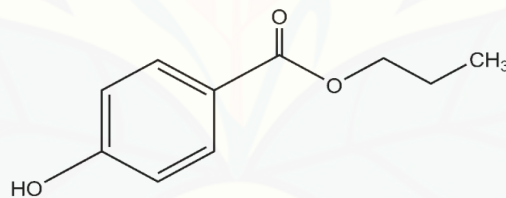
propilenglikol adalah 1 bagian metil paraben larut dalam 5 bagian propilenglikol. Penggunaan metil paraben untuk sediaan topikal adalah pada rentang konsentrasi 0,02%-0,3% (Rowe *et.al.*,2009). Struktur kimia nipagin ditunjukkan pada Gambar 2.12.



Gambar 2.12 Struktur Nipagin (Rowe *et al.*, 2009)

k. Nipasol (Propil Paraben)

Nipasol (Propil Paraben) memiliki pemerian serbuk hablur putih, tidak berbau dan tidak berasa. Nipasol memiliki rumus molekul C<sub>10</sub>H<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Nipasol sangat sukar



Gambar 2.13 Struktur Nipasol (Rowe *et al.*, 2009)

larut dalam air, larut dalam etanol (95%) (1:5,6), mudah larut dalam aseton, eter, larut dalam propilenglikol ( 1 bagian propil paraben larut dalam 3,9 bagian propilenglikol). Nipasol memiliki fungsi sebagai pengawet antimikroba. Penggunaan propil paraben untuk sediaan topikal adalah pada rentang konsentrasi 0,01%-0,6% (Rowe *et.al.*,2009). Struktur kimia nipasol ditunjukkan pada Gambar 2.13.





KLT dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif suatu analit dalam KLT dilakukan dengan cara membandingkan noda kromatogram analit tersebut dengan noda zat standar (reference standard) yang dikenal sebagai retardation factor (Rf). Rf adalah parameter yang digunakan untuk menggambarkan migrasi senyawa dalam KLT. Penentuan harga Rf analit dilakukan dengan cara membandingkan jarak migrasi noda analit dengan jarak migrasi fase gerak atau eluen. Nilai Rf berkisar antara 0 dan 1 dan nilai Rf terbaik antara 0,2-0,8 untuk deteksi UV dan 0,2-0,9 untuk deteksi visible. Dengan mengontrol kondisi kesetimbangan seperti kejenuhan chamber, komposisi campuran pelarut yang konstan, temperatur konstan dan lain-lain akan didapat nilai Rf yang reproduksibel (Wulandari, 2011). Analisis kuantitatif dapat dilakukan dengan penentuan langsung noda kromatogram yang dilakukan dengan cara membandingkan area noda sampel dengan area noda standar pada pelat KLT dengan menggunakan alat densitometri (Sherma dan Fried, 2003).

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini adalah penelitian *experimental laboratories* yang bertujuan untuk mengidentifikasi aktivitas penghambatan enzim tirosinase oleh ekstrak etanol tempe kedelai (*Glycyne max*) dan memformulasi sediaan *vanishing cream* dan lotion dari ekstrak etanol tempe kedelai sebagai sediaan pemutih alami.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi bagian Biologi Farmasi dan Laboratorium Teknologi Farmasi Bagian Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember mulai bulan September 2014 sampai selesai.

### 3.3 Variabel Penelitian

#### 3.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perbedaan bentuk sediaan yaitu *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai.

#### 3.3.2 Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar genistein, aktivitas hambatan tirosinase, dan keberterimaan responden terhadap sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai.

### 3.4 Rancangan Penelitian

#### 3.4.1 Rancangan Operasional

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap sebagai berikut :

- a. Pembuatan simplisia tempe kedelai.

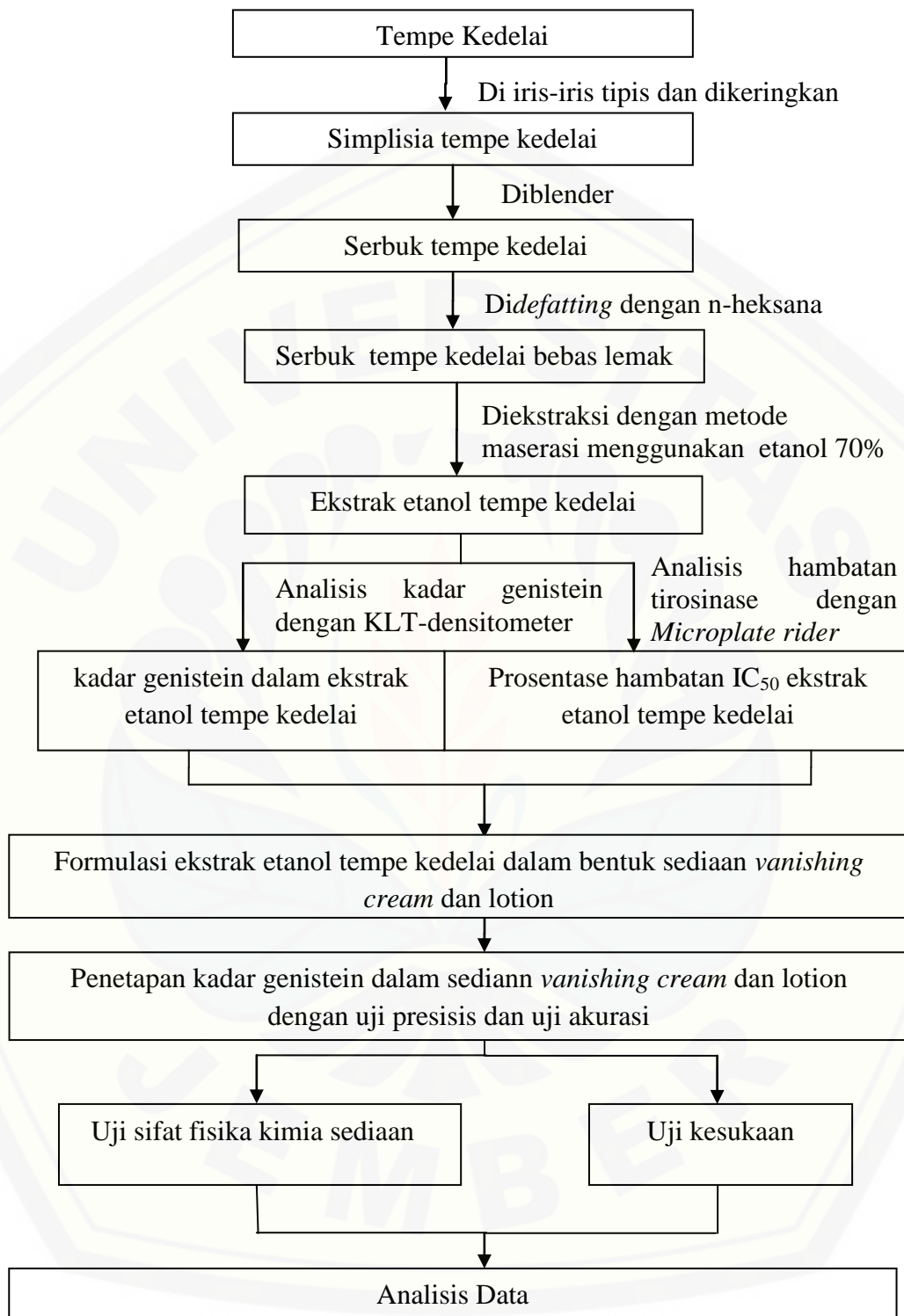
- b. Penghilangan lemak (*defatting*) dalam simplisia tempe kedelai menggunakan *n*-heksana dengan proses soxhletasi.
- c. Ekstraksi simplisia tempe kedelai menggunakan pelarut etanol 70%.
- d. Penetapan kadar isoflavon genistein dalam ekstrak etanol tempe kedelai menggunakan metode KLT-densitometri.
- e. Pengukuran aktivitas hambatan enzim tirosinase ekstrak etanol tempe kedelai secara *in vitro*.
- f. Formulasi sediaan pemutih kulit dari ekstrak etanol tempe kedelai.
- g. Penetapan kadar isoflavon genistein dalam sediaan pemutih kulit dari ekstrak etanol tempe kedelai menggunakan metode KLT-densitometri.
- h. Uji sifat fisika kimia sediaan pemutih kulit dari ekstrak etanol tempe kedelai.
- i. Uji kesukaan konsumen terhadap sediaan pemutih kulit dari ekstrak etanol tempe kedelai menggunakan metode kuisioner.
- j. Analisis data dengan menggunakan program SPSS versi 16.00.

Skema langkah kerja penelitian dapat dilihat pada Gambar 3.1.

#### 3.4.2 Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini yaitu :

- a. Tempe kedelai yang digunakan adalah tempe yang difermentasi selama 24 jam merek “Dua Putri” yang diproduksi di Pagah, Jember, Jawa Timur. Simplisia dibuat dengan cara mengeringkan tempe yang sudah diiris tipis-tipis dengan cara diangin-anginkan di bawah sinar matahari selama 24 jam hingga kering, kemudian diblender hingga halus.
- b. *Defatting*, merupakan proses menghilangkan lemak yang terkandung dalam tempe kedelai menggunakan pelarut *n*-heksana.
- c. Ekstraksi, merupakan proses pengambilan senyawa isoflavon dalam tempe kedelai menggunakan pelarut etanol 70%, menggunakan metode ekstraksi maserasi.
- d. Penetapan kadar isoflavon genistein dalam ekstrak etanol tempe kedelai menggunakan standar genistein yang dinyatakan dalam %b/b secara KLT-densitometri.



Gambar 3.1 Skema Langkah Kerja Penelitian

- e. Pengukuran aktivitas hambatan tirosinase ekstrak etanol tempe kedelai secara *in vitro* menggunakan *microplate reader*.
- f. Formulasi sediaan krim pemutih kulit dengan basis *vanishing cream* dan lotion dari ekstrak etanol tempe kedelai.
- g. Penetapan kadar isoflavon genistein dalam sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai menggunakan standar genistein secara KLT-densitometri. Penetapan kadar isoflavon genistein dalam sediaan disertai uji presisi dan uji akurasi.
- h. Uji sifat fisika kimia sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai, yang meliputi pengamatan organoleptis, uji viskositas, pH, daya sebar, dan tipe emulsi sediaan.
- i. Uji kesukaan konsumen terhadap sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai menggunakan metode kuisisioner, dengan parameter aroma, tekstur, bau, dan konsistensi sediaan.
- j. Analisis data hasil uji aktivitas penghambatan enzim tirosinase sampel ekstrak etanol tempe kedelai dan kontrol positif standar genistein dengan menggunakan uji T tidak berpasangan; analisis data hasil kuisisioner hubungan antara kesukaan konsumen terhadap sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai menggunakan uji *Chi-square*.

### 3.5 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.5.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *microplate reader* (EL x800), *microwell plate* (*Bio One Jerman*), KLT-Densitometer (*TLC-Scanner 3 Camag*), perangkat komputer dengan program winCATS (Intel), *sentrifuge* (*Hermle*), *rotary evaporator* (*Heildoph*), lempeng KLT silika GF<sub>254</sub>, *chamber* (*Camag*), mikropipet (*Soccorex*), *blue tip*, *white tip*, oven (*Memmert*), *blender*, timbangan analitik digital (*Fujitsu*), pipet volum (*Pyrex*), labu ukur (*Herma*), pipet ukur (*Pyrex*), erlenmeyer (*Pyrex*), pipa kapiler, *viskotester* (*Rion VT 04*), *pH meter* (*Denver*), ultrasonik (*Elmasonic E 30H*), mikroskop (*Olympus DP 12*), *eppendorf*,

*hot plate magnetic stirrer* (IKA C-MAG HS7), *waterbath* (Memmert), mortir, stamper, alat penguji daya sebar, dan alat-alat gelas (Pyrex).

### 3.5.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tempe kedelai yang telah difermentasi selama 24 jam merek “Dua Putri” yang diproduksi di Jalan Pb. Sudirman gang 8 nomor 113 RT 18, Pagah, Jember, metanol p.a (Fluka), n-hexana p.a (Cv Makmur Jaya), toluen p.a (PT Smartlab), etil asetat p.a (Fluka), aseton p.a (Fluka), asam format p.a (Merck), etanol teknis 70 % (Fluka), standar genistein (Tocris Bioscience), substrat L-tirosine (Sigma Aldrich), enzim tirosinase (Sigma Aldrich), aquades (Cv Makmur Jaya), buffer fosfat pH 6,5, asam stearat (PT Bratachem), setil alkohol (Cv Mulya Jaya), stearil alkohol (PT Bratachem), trietanolamin (PT Bratachem), gliserin (PT Bratachem), simetikon (PT Bratachem), parafin cair (PT Bratachem), natriumkarboksimetilselulosa (PT Bratachem), tween 80 (PT Bratachem), propilenglikol (PT Bratachem), metil paraben (PT Bratachem), propil paraben (PT Bratachem).

## 3.6 Prosedur Penelitian

### 3.6.1 Preparasi Tempe Kedelai

Tempe kedelai yang telah difermentasi selama 24 jam dengan ragi *Rhizopus sp.* merek “Raprima” diiris tipis-tipis untuk memperkecil ukuran agar penguapan air terjadi lebih cepat sehingga mempercepat proses pengeringan bahan dan kontak antara bahan dan pelarut penyari menjadi lebih besar karena luas permukaan bahan yang semakin besar pula (DepKes RI, 2000). Setelah tempe kedelai diiris tipis-tipis, kemudian tempe kedelai diangin-anginkan selama 24 jam di bawah sinar matahari. Tujuan dari proses pengeringan secara alamiah ini yaitu untuk mendapatkan simplisia tempe kedelai yang tidak mudah rusak, dengan mengurangi kadar air, sehingga simplisia dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama (DepKes RI, 2000). Setelah tempe kedelai diiris tipis dan dikeringkan, selanjutnya tempe kedelai diblender sampai halus hingga dihasilkan serbuk tempe

kedelai halus. Serbuk tempe kedelai yang telah halus ditimbang untuk mengetahui berat setelah dikeringkan.

### 3.6.2 Penghilangan Lemak (*defatting*) dari Tempe Kedelai

*Defatting* merupakan proses menghilangkan lemak yang terkandung dalam sampel menggunakan pelarut lemak. *Defatting* dilakukan menggunakan metode soxhletasi. Serbuk tempe kedelai halus ditimbang sebanyak 40 g, kemudian serbuk dibungkus dengan menggunakan kertas saring dan dimasukkan ke dalam tabung ekstraktor, lalu ditambahkan pelarut n-heksana dengan perbandingan 1 : 5, untuk setiap 40 g simplisia tempe kedelai halus digunakan 200 mL n-heksana untuk proses soxhletasi. Soxhletasi dilakukan selama 4 jam. Kemudian serbuk tempe kedelai diambil dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan untuk menguapkan n-heksana hingga serbuk kering sempurna, lalu ditimbang untuk proses selanjutnya (Hui *et al.*, 2005).

### 3.6.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Serbuk tempe kedelai bebas lemak diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1 : 7 selama 24 jam (Nurrahman *et al.*, 2013; Ling *et al.*, 2007). Serbuk yang telah ditimbang sebanyak 300 gram dimasukkan ke dalam toples maserator kemudian ditambahkan etanol 70% sebanyak 2100 mL ke dalam toples, kemudian diaduk-aduk hingga rata dan didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang. Pengadukan bertujuan agar kontak antara serbuk tempe kedelai dan pelarut meningkat sehingga bahan aktif dalam tempe kedelai lebih cepat tersari (Voigh, 1994). Setelah didiamkan selama 24 jam, serbuk tempe kedelai diperas hingga dihasilkan filtrat. Filtrat kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 60<sup>0</sup>C hingga diperoleh ekstrak kental.

#### 3.6.4 Penetapan Kadar Genistein dalam Ekstrak Etanol Tempe Kedelai (Permatasari, 2015)

Penetapan kadar genistein dalam ekstrak etanol tempe kedelai diawali dengan pembuatan kurva baku dengan rentang konsentrasi standar genistein sesuai dengan rentang konsentrasi standar genistein pada uji linieritas validasi metode KLT Densitometri dalam penetapan kadar genistein ekstrak etanol tempe kedelai yang telah dilakukan oleh Permatasari (2015). Selanjutnya larutan sampel dipreparasi dengan menimbang 50 mg sampel ekstrak etanol tempe kedelai (replikasi 3 kali) kemudian dilarutkan dalam metanol p.a dalam labu ukur ad 10 ml sehingga didapatkan konsentrasi sampel 5000 µg/ml.

Larutan sampel sebanyak 6 µL dan standar genistein sebanyak 2 µL ditotolkan dengan pipa kapiler pada lempeng KLT Silika GF<sub>254</sub> dan dianalisis dengan kondisi analisis fase gerak toluen – etil asetat – aseton – asam format (20:4:2:1). Noda yang terbentuk kemudian diamati dengan lampu UV 254 nm. Selanjutnya noda yang terbentuk *discanning* dengan densitometer pada panjang gelombang 266 nm yang merupakan panjang gelombang hasil optimasi oleh Permatasari (2015). Kemudian dilakukan perhitungan kadar genistein dalam % b/b.

#### 3.6.5 Uji Aktivitas Hambatan Tirosinase

Uji aktivitas hambatan tirosinase berdasarkan pada metode yang dilakukan oleh Batubara *et al.*, (2010) dengan sedikit modifikasi dari hasil optimasi yang telah dilakukan oleh Dewi (2015).

##### a. Pembuatan Larutan 2 mM L-Tirosin

L-tirosin sebanyak 4,53 mg dilarutkan dalam dapar fosfat pH 6,5 sampai volume 25 ml.

##### b. Pembuatan Larutan Dapar Fosfat 50 mM pH 6,5

Berdasarkan Farmakope Indonesia IV (1995), pembuatan larutan dapar fosfat dilakukan dengan cara KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ditimbang sebanyak 1,701125 gram dilarutkan dalam aquades sampai volume 250 ml, diperoleh larutan KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 50 mM. NaOH ditimbang sebanyak 100 mg dilarutkan dalam aquades hingga volume



50 ml, diperoleh larutan NaOH 50 mM. Larutan dapar fosfat pH 6,5 dibuat dengan menambahkan 75 ml  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  50mM dengan 18,9 ml NaOH 50mM lalu diencerkan dengan aquades hingga 300 ml. Cek pH dengan pH meter sampai diperoleh pH 6,5, jika perlu ditambahkan NaOH untuk menaikkan pH larutan.

c. Penyiapan Larutan Tirosinase 250 U

*Mushroom tyrosinase* 50 KU dilarutkan dengan larutan dapar fosfat pH 6,5 hingga 10 ml. Larutan dibagi menjadi 2 vial masing-masing 5 ml mengandung *mushroom tyrosinase* 25 KU. Satu vial *mushroom tyrosinase* 25 KU dilarutkan lagi dengan larutan dapar fosfat pH 6,5 hingga 10 ml. Larutan dibagi menjadi 10 vial masing-masing 1 ml mengandung *mushroom tyrosinase* 2,5 KU kemudian dilarutkan dengan larutan dapar fosfat pH 6,5 hingga 10ml kemudian disimpan di dalam *freezer* suhu  $-20^\circ\text{C}$ .

d. Preparasi Sampel Uji

Ekstrak etanol tempe kedelai ditimbang secara seksama sebanyak 20 mg dan 30 mg kemudian dilarutkan dalam aquades 2 mL, lalu ditambahkan dapar fosfat pH 6,5 hingga volume 10,0 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 2000  $\mu\text{g/ml}$  dan 3000  $\mu\text{g/ml}$ . Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga didapatkan larutan ekstrak dengan konsentrasi 10 - 100  $\mu\text{g/ml}$  sebagai variasi konsentrasi pada pengujian untuk mendapatkan nilai  $\text{IC}_{50}$ .

e. Pembuatan Standar Uji Genistein

Larutan standar genistein digunakan sebagai kontrol positif dibuat dengan cara menimbang 5 mg standar genistein dan dilarutkan dalam 10 ml metanol p.a sehingga diperoleh larutan induk 500  $\mu\text{g/ml}$ . Larutan induk diencerkan dengan larutan dapar fosfat 50 mM pH 6,5 hingga diperoleh konsentrasi 10 – 200  $\mu\text{g/ml}$ .

f. Pengujian Aktivitas Hambatan Tirosinase

Sebanyak 70  $\mu\text{l}$  dari masing-masing larutan dapar fosfat pH 6,5, sampel uji ekstrak etanol tempe kedelai yang telah dipreparasi pada rentang konsentrasi 10-100  $\mu\text{g/ml}$ , dan standar genistein yang telah dipreparasi pada rentang konsentrasi 10-200  $\mu\text{g/ml}$  ditambah dengan 30  $\mu\text{l}$  enzim tirosinase (250 unit/ml dalam buffer fosfat pH 6,5) pada tiap lubang *microwell plate*, setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu kamar selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 110  $\mu\text{l}$  substrat (1 mM

L-tirosin) ke dalam tiap lubang *microwell plate*, lalu campuran diinkubasi selama 80 menit pada suhu kamar. Campuran diukur dengan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 478 nm, hal ini bertujuan untuk menentukan % inhibisi dan nilai konsentrasi hambat 50% ( $IC_{50}$ ). Persentase inhibisi dihitung dengan cara membandingkan serapan sampel tanpa penambahan ekstrak dan sampel dengan penambahan ekstrak. Nilai  $IC_{50}$  dihitung menggunakan rumus persamaan regresi linier  $y = a + bx$ . Variabel  $x$  merupakan konsentrasi sampel dan variabel  $y$  merupakan persen inhibisi (Batubara *et al.*, 2010). Adapun rumus perhitungan persen hambatan tirosinase menggunakan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ hambatan} = \frac{A-B}{B} \times 100 \% \dots\dots(3.1)$$

A = absorbansi pada 492 nm tanpa ekstrak

B = absorbansi pada 492 nm dengan ekstrak (Chang, 2009).

### 3.6.6 Formulasi Sediaan *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Penelitian ini menggunakan dua formula yaitu *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai seperti yang ditampilkan pada tabel 3.1 dan tabel 3.2.

**Tabel 3.1** Formula *Vanishing Cream* Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Bahan	Fungsi	Jumlah (g)	Jumlah (%)
Ekstrak etanol tempe kedelai	Bahan aktif	A*	A%*
Asam stearat	<i>Emulsifying agent</i>	15	15%
Setil alkohol	<i>Bodying agent</i>	5	5%
Stearil alkohol	<i>Stiffening agent</i>	5	5%
Trietanolamin	<i>Emulsifying agent</i>	2	2%
Gliserin	Humektan	10	10%
Simetikon	<i>Antifoaming agent</i>	5	5%
Metil paraben	Pengawet	0,15	0,15%
Propil paraben	Pengawet	0,02	0,02%
Propilenglikol	<i>Cosolvent</i>	10	10%
Aquades	Pelarut	Ad 100	Ad 100%

Keterangan : A\* : Dosis bahan aktif yang digunakan dalam formula didasarkan pada nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol tempe kedelai

**Tabel 3.2** Formula Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Bahan	Fungsi	Jumlah (g)	Jumlah (%)
Ekstrak etanol tempe kedelai	Bahan aktif	A*	A%*
Stearil alkohol	<i>Stiffening agent</i>	2	2%
Setil alkohol	<i>Emulsifying agent</i>	2	2%
Parafin cair	Emolien	15	15%
CMC Na	<i>Thickening agent</i>	1,5	1,5%
Tween 80	<i>Emulsifying agent</i>	2	2%
Propilenglikol	<i>Cosolvent</i>	10	10%
Metil paraben	Pengawet	0,15	0,15%
Propil paraben	Pengawet	0,02	0,02%
Simetikon	<i>Antifoaming agent</i>	5	5%
Aquades	Pelarut	Ad 100	Ad 100%

Keterangan : A\* : Dosis bahan aktif yang digunakan dalam formula didasarkan pada nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol tempe kedelai

### 3.6.7 Pembuatan Sediaan *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

#### a. Pembuatan Sediaan *Vanishing Cream* Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Bahan-bahan fase minyak yaitu asam stearat, setil alkohol, dan stearil alkohol dan simetikon dilelehkan dalam cawan porselen di atas *waterbath* pada suhu  $70^{\circ}C$ . Bahan-bahan fase air yaitu trietanolamin dan gliserin dicampur di dalam *beaker glass* kemudian ditambahkan nipagin dan nipasol yang telah dilarutkan dalam propilenglikol kemudian ditambahkan ekstrak etanol tempe kedelai yang telah dilarutkan ke dalam air yang telah dipanaskan, kemudian campuran tersebut (fase air) dipanaskan pada suhu  $70^{\circ}C$  di atas *waterbath*. Metode pencampuran fase minyak dan fase air dilakukan ketika kedua fase sama-sama berada pada temperatur  $70^{\circ}C$  dengan cara fase air secara perlahan-lahan ditambahkan dengan pengadukan yang konstan ke dalam campuran fase minyak yang cair dalam mortir hangat, kemudian campuran perlahan-lahan didinginkan dengan pengadukan yang terus-menerus sampai campuran mengental. Pengadukan kembali dilanjutkan sampai sediaan dalam kondisi dingin.

#### b. Pembuatan Sediaan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Disiapkan mortir panas, kemudian aquades hangat sebanyak 20 kali bobot CMC Na (30 g aquades) dimasukkan ke dalam mortir, kemudian CMC Na ditaburkan pada aquades hangat, didiamkan selama 15 menit hingga CMC Na mengembang, lalu digerus sampai terbentuk *mucilago*. Bahan-bahan fase minyak yaitu setil alkohol, stearil alkohol, simetikon dan parafin cair dilebur dalam cawan porselen di atas *waterbath* pada suhu 70<sup>0</sup>C. Bahan-bahan fase air yaitu tween 80, metil paraben dan propil paraben yang telah dilarutkan dalam propilenglikol, dicampur di dalam *beaker glass* kemudian ditambahkan ekstrak etanol tempe kedelai yang telah dilarutkan ke dalam air yang telah dipanaskan, kemudian ditambahkan mucilago CMC Na yang telah dibuat sebelumnya, kemudian campuran tersebut (fase air) dipanaskan pada suhu 70<sup>0</sup>C di atas *waterbath*. Metode pencampuran fase minyak dan fase air dilakukan ketika kedua fase sama-sama berada pada temperatur 70<sup>0</sup> C dengan cara fase air secara perlahan-lahan ditambahkan dengan pengadukan yang konstan ke dalam campuran fase minyak yang cair dalam mortir hangat, kemudian campuran perlahan-lahan didinginkan dengan pengadukan yang terus-menerus sampai campuran mengental. Pengadukan kembali dilanjutkan sampai sediaan dalam kondisi dingin.

#### 3.6.8 Penetapan Kadar Isoflavon Genistein dalam Sediaan *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Kandungan isoflavon genistein yang terdapat dalam sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai dapat diketahui dengan menggunakan metode KLT-densitometri.

Masing-masing sampel *vanishing cream* dan lotion ditimbang sebanyak 0,3 gram, kemudian diekstraksi dengan penambahan 10 ml metanol p.a. Kemudian masing-masing sampel di sentrifuge kecepatan 3000 rpm selama 10 menit sehingga terbentuk 3 lapisan yaitu fase minyak, fase metanol-air dan endapan. Supernatan yang berupa fase minyak dibuang. Fase metanol-air kemudian dianalisis dengan KLT-Densitometri (Sugihartini *et al.*,2012; Luthria *et al.*, 2007). Prosedur penetapan kadar isoflavon genistein dalam sediaan dilakukan

sama dengan prosedur penetapan kadar isoflavon genistein dalam ekstrak etanol tempe kedelai pada subbab 3.6.4. Penetapan kadar isoflavon genistein dalam sediaan *vanishing cream* dan lotion disertai dengan uji presisi repeatabilitas dan uji akurasi sediaan.

### 3.6.9 Evaluasi *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Evaluasi *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai sebagai agen pemutih alami kulit meliputi pengujian sifat fisika kimia dan uji kesukaan konsumen. Pengujian sifat fisika kimia meliputi pengujian organoleptis, viskositas, daya sebar, tipe emulsi krim, dan pH sediaan. Uji kesukaan konsumen terhadap *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai dilakukan menggunakan metode kuisioner yang terdiri dari data personal dan data produk.

#### a. Pengujian Organoleptis

Pengamatan organoleptis dilakukan secara visual tanpa bantuan alat khusus terhadap bentuk, warna, tekstur dan bau sediaan. Prosedur uji organoleptis bentuk, warna, tekstur dan bau sediaan dilakukan dengan cara mengamati sediaan yang ditempatkan pada wadah terbuka. Bentuk sediaan *vanishing cream* yang diharapkan berupa massa krim, berwarna putih kekuningan, bertekstur lembut, dan berbau harum mawar, sedangkan bentuk sediaan lotion yang diharapkan berupa massa lotion, berwarna putih kekuningan, bertekstur lembut, dan berbau harum mawar. Pengujian organoleptis masing-masing sediaan dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

#### b. Pengujian Viskositas

Pada pengujian viskositas, digunakan alat *viscotester* VT-04. Langkah pertama pada pengujian ini yaitu merangkai alat *viscotester*, kemudian dipilih spindel yang sesuai. Sejumlah tertentu sediaan yang diuji dimasukkan ke dalam wadah. Viskotester dikaitkan pada statif, rotor dipasangkan ke viskotester dan ujungnya dicelupkan ke dalam sampel. Kemudian dinyalakan *power switch* pada posisi *on*. Ketika rotor mulai berputar, jarum indikator viskositas secara berkala bergerak ke kanan, dibiarkan beberapa saat hingga jarum penunjuk stabil. Nilai viskositas sediaan dibaca melalui skala pada rotor. Indeks angka yang dilihat

disesuaikan dengan spindel yang dipakai. *Vanishing cream* diharapkan memiliki viskositas dalam rentang 50-1000 dPa.s (Lachman *et al.*, 1989). Sedangkan sediaan lotion diharapkan memiliki viskositas antara 20-500 dPa.s. (SNI 16-4399 (1996)).

#### c. Pengujian Daya Sebar

Sediaan yang diuji ditimbang sebanyak 1 g kemudian diletakkan pada pusat antara dua lempeng gelas kaca bulat berskala dengan diameter 15 cm. Beban seberat 5 g diletakkan di atas kaca dan didiamkan selama 1 menit. Diameter sebaran sediaan *vanishing cream* maupun lotion diamati. Penambahan beban terus dilakukan setelah 1 menit dengan kelipatan berat 5 g hingga diperoleh diameter sebar yang konstan. Diameter permukaan yang dihasilkan dengan naiknya pembebanan menggambarkan karakteristik daya sebar. Garg *et al.* (2002) menyatakan daya sebar yang menunjukkan konsistensi semisolida dalam memberikan kenyamanan pada saat penggunaan adalah sebesar 5-7 cm.

#### d. Penentuan Tipe Emulsi Sediaan *Vanishing cream* dan Lotion

Penentuan tipe emulsi *vanishing cream* dan lotion ditetapkan dengan cara menambahkan reagen metilen biru kemudian dilakukan pengamatan secara makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan makroskopik dilakukan secara visual. Pengamatan mikroskopik dilakukan dengan cara mempreparasi sediaan *vanishing cream* dan lotion di atas *objek glass*, kemudian masing-masing tipe emulsi sediaan *vanishing cream* dan lotion diamati di bawah mikroskop. Metilen biru akan terlarut dalam fase air. Jika medium pendispers berwarna biru merata, maka emulsi bertipe minyak dalam air (Lachman *et al.*, 2008).

#### e. Pengujian pH

Sediaan yang diuji ditimbang sebanyak 1 g kemudian dimasukkan dalam *beaker glass* kemudian ditambahkan aquadestilata bebas CO<sub>2</sub> sampai 10 mL dan diaduk dengan batang pengaduk. pH meter dimasukkan ke dalam *beaker glass*. pH sediaan diketahui dari angka yang ditunjukkan oleh pH meter (Akhtar *et al.*, 2011). Rentang pH fisiologis kulit adalah 4-7 (Anief, 2007). pH sediaan yang diharapkan dalam rentang 6-7.

### 3.6.10 Uji Kesukaan Konsumen terhadap Sediaan *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Uji kesukaan sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai dilakukan dengan menggunakan metode kuisisioner, yang terdiri dari pertanyaan mengenai data personal dan data produk. Pada data personal, berisi pertanyaan yang meliputi nama dan usia responden. Sedangkan pada data produk berisi pertanyaan terhadap sifat fisik sediaan yang meliputi tekstur, warna, bau dan konsistensi sediaan. Lembar kuisisioner penelitian dapat dilihat pada lampiran. Uji kesukaan dilakukan dengan menggunakan 50 responden (Rimawi *et al.*, 2014). Selanjutnya masing masing parameter dalam kuisisioner diberi skor dengan cara sebagai berikut :

5 = sangat suka

4 = suka

3 = agak suka

2 = tidak suka

1= sangat tidak suka

### 3.6.11 Analisis Data

Data yang diperoleh akan diolah dengan menggunakan program SPSS. Data yang pertama yaitu data nilai *Inhibitor Concentration* ( $IC_{50}$ ) dari hasil uji aktivitas penghambatan enzim tirosinase sampel ekstrak etanol tempe kedelai dan kontrol positif standar genistein. Kemudian data yang kedua yaitu data hasil penetapan kadar genistein dalam sediaan *vanishing cream* dan lotion berupa %b/b. Masing– masing data diolah menggunakan uji T tidak berpasangan.. Suatu data dapat diolah menggunakan uji T tidak berpasangan apabila data tersebut memenuhi persyaratan yaitu memiliki sebaran data yang normal. Untuk mengetahui data tersebut memiliki sebaran data yang normal maka dilakukan uji normalitas (*Shapiro-Wilk*). Jika sebaran data tidak normal maka dilakukan transformasi data sehingga diperoleh variabel baru hasil transformasi dengan sebaran data normal, lalu diuji T tidak berpasangan. Hasil uji T tidak berpasangan signifikan bila didapatkan harga  $p < 0,05$  dengan tingkat kepercayaan 95 % ( $\alpha =$

0,05). Namun jika variabel baru hasil transformasi memiliki sebaran data yang tidak normal, maka dipilih uji *Mann-Whitney* (Dahlan, 2006).

Hubungan respon kesukaan konsumen terhadap sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai, dapat diketahui dari hasil pengisian kuisisioner berupa data frekuensi yang berbentuk nominal. Data frekuensi kemudian diolah menggunakan program SPSS dengan uji statistik *Chi-square* ( $X^2$ ). Jika hasil uji *Chi-square* memberikan nilai  $p < 0,05$  maka terdapat hubungan bermakna, tetapi jika nilai  $p > 0,05$  maka tidak ada hubungan yang bermakna. Bila syarat uji *Chi-square* tidak terpenuhi, dapat digunakan uji alternatif yaitu uji *Fisher* dan uji *Kolmogorov-Smirnov* (Dahlan, 2006).



## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini telah dilakukan formulasi sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai sebagai agen pemutih kulit alami. Dipilih tempe kedelai sebagai bahan aktif dalam sediaan pemutih alami kulit karena tempe kedelai mengandung isoflavon aglikon yang lebih tinggi daripada kedelai maupun produk olahan kedelai lainnya. Hal ini disebabkan karena adanya proses fermentasi selama pembuatan tempe yang mengakibatkan terjadinya biokonversi senyawa isoflavon glikosida menjadi isoflavon aglikon. Senyawa isoflavon glikosida yang meliputi daidzin, genistin, dan glisitin akan terdeglisosilasi oleh enzim  $\beta$ -glukosidase sehingga menghasilkan senyawa gula dan senyawa isoflavon aglikon yang meliputi genistein, daidzein, dan glisitein selama proses fermentasi tempe kedelai (Song et al., 1998; Huynh et al., 2014; Pandit et al., 2011; Chang, 2014). Senyawa isoflavon aglikon memiliki aktivitas penghambatan enzim tirosinase yang lebih tinggi dibandingkan isoflavon glikosida (Chang et al., 2005; Chang et al., 2007).

Pada penelitian ini, tempe kedelai yang digunakan adalah tempe kedelai cap “Dua Putri”. Tempe kedelai cap “Dua Putri” merupakan tempe berbahan dasar kedelai yang diimpor dari Amerika Serikat dan proses fermentasinya berlangsung selama 24 jam menggunakan ragi cap “Raprima”. Ragi ini diproduksi di Bandung dan merupakan biakan murni *Rhizopus* sp. Produsen tempe kedelai cap “Dua Putri” berada di Jalan Pb.Sudirman gang 8 nomor 113 RT 18, Pagah, Jember, Jawa Timur.

Penelitian ini diawali dengan pembuatan simplisia tempe kedelai dan penghilangan lemak (*defatting*) dalam simplisia tempe kedelai menggunakan *n*-heksana dengan proses soxhletasi. Tahap selanjutnya, dilakukan ekstraksi simplisia tempe kedelai menggunakan pelarut etanol 70%, penetapan kadar isoflavon dalam ekstrak etanol tempe kedelai menggunakan metode KLT-

densitometri, dan pengukuran aktivitas hambatan enzim tirosinase oleh ekstrak etanol tempe kedelai secara *in vitro* menggunakan *microplate reader*. Tahap selanjutnya, dilakukan formulasi sediaan *vanishing cream* dan lotion dengan bahan aktif ekstrak etanol tempe kedelai, penetapan kadar isoflavon dalam sediaan menggunakan metode KLT-densitometri, uji sifat fisika kimia sediaan *vanishing cream* dan lotion, serta uji kesukaan konsumen terhadap sediaan menggunakan metode kuisisioner. Tahap terakhir dilakukan analisis data menggunakan program SPSS.

#### 4.1 Hasil Ekstraksi Simplisia Tempe Kedelai

Pada penelitian ini, proses pembuatan simplisia tempe kedelai diawali dengan perajangan tempe kedelai untuk memperkecil ukuran agar penguapan air terjadi lebih cepat sehingga mempercepat proses pengeringan tempe kedelai dan kontak antara bahan dan pelarut penyari menjadi lebih besar karena luas permukaan bahan yang semakin besar pula sehingga proses ekstraksi menjadi lebih optimal (DepKes RI, 2000). Setelah tempe kedelai dirajang tipis-tipis, kemudian diangin-anginkan selama 24 jam di bawah sinar matahari. Tujuan proses pengeringan secara alamiah ini yaitu untuk mengurangi kadar air sehingga didapatkan simplisia tempe kedelai yang tidak mudah rusak dan dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama (DepKes RI, 2000). Setelah tempe kedelai dirajang tipis-tipis dan dikeringkan, selanjutnya tempe kedelai dihaluskan dengan menggunakan blender hingga dihasilkan serbuk tempe kedelai halus. Tujuan proses penggilingan ini untuk memperkecil ukuran sel pada simplisia sehingga dapat memudahkan proses ekstraksi. Pelarut penyari akan menembus ke dalam sel simplisia sehingga pelarut dapat menarik senyawa-senyawa yang terkandung di dalam simplisia.

Langkah selanjutnya, dilakukan *defatting* serbuk tempe kedelai. *Defatting* merupakan proses menghilangkan lemak yang terkandung dalam sampel menggunakan pelarut non polar. Pada penelitian ini, proses penghilangan lemak pada serbuk tempe kedelai dilakukan dengan metode soxhletasi menggunakan

pelarut *n*-heksana dengan perbandingan antara serbuk tempe kedelai dan pelarut sebesar 1:5 selama 4 jam (Hui *et al.*, 2005).

Serbuk tempe kedelai bebas lemak kemudian diekstraksi dengan metode ekstraksi maserasi. Sistem pelarut penyari dalam ekstraksi dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan semaksimal mungkin jumlah zat aktif dan seminimal mungkin bagi zat yang tidak diinginkan (Gamse, 2002). Larutan penyari yang baik harus memenuhi beberapa kriteria diantaranya, murah, mudah diperoleh, dan selektif yaitu hanya menarik senyawa yang diinginkan dan tidak mempengaruhi zat aktif (Ansel, 1989). Pada penelitian ini, dipilih etanol 70% sebagai larutan penyari dalam maserasi simplisia tempe kedelai karena berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Luthria *et al.* (2007), pelarut etanol 70% dapat mengekstraksi seluruh isoflavon yaitu, genistein, daidzein, glisitein, genistin, daidzin, glisitin, malonil glikosida dan asetil glikosida. Selain dapat mengekstraksi semaksimal mungkin jumlah zat berkhasiat yang diinginkan, etanol 70% juga memiliki toksisitas yang lebih rendah dan lebih murah daripada metanol, serta kompatibilitas terhadap lingkungan lebih tinggi bila dibandingkan dengan metanol (Rostagno *et al.*, 2004).

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1 : 7 selama 24 jam (Nurrahman *et al.*, 2013; Ling *et al.*, 2007). Hasil ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 70% diperoleh filtrat berwarna kuning jernih yang selanjutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga semua etanol teruapkan dan diperoleh ekstrak etanol tempe kedelai yang kental. Ekstrak etanol tempe kedelai kemudian diletakkan di dalam cawan di atas *hot plate* untuk menguapkan pelarut yang masih tersisa, kemudian ekstrak kental ditimbang sehingga diperoleh massa hasil ekstraksi dengan rendemen ekstrak etanol tempe kedelai sebesar 7,439 % b/b. Ekstrak kental tempe kedelai hasil maserasi memiliki organoleptis berwarna coklat dan berbau khas tempe kedelai. Data perhitungan rendemen ekstrak etanol tempe kedelai dapat dilihat pada Lampiran A.

#### 4.2 Hasil Penetapan Kadar Genistein dalam Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Pada penelitian ini telah dilakukan penetapan kadar genistein dalam sampel ekstrak etanol tempe kedelai. Penetapan kadar genistein dalam sampel ekstrak etanol tempe kedelai menggunakan metode KLT-Densitometri. Pada metode kromatografi dilakukan pemisahan analit dari campurannya dan perlu dilakukan optimasi kondisi analisis untuk dapat meningkatkan kualitas pemisahan analit dengan cara mengubah satu atau lebih parameter dari sistem kromatografi sehingga diperoleh kondisi analisis yang optimum (Kowalska dan Prus, 2003). Optimasi kondisi analisis telah dilakukan oleh Permatasari (2015) yang meliputi optimasi panjang gelombang maksimum dan optimasi konsentrasi uji. Kondisi optimum analisis isoflavon genistein dalam ekstrak etanol tempe kedelai dapat dilihat pada Tabel 4.1. Selain optimasi kondisi analisis, validasi metode analisis juga penting dilakukan untuk menentukan reliabilitas dan reproduibilitas suatu metode sehingga dapat diketahui apakah suatu metode bisa dilakukan pada suatu sistem tertentu (Indrayanto dan Yuwono, 2003). Prosedur dan metode penetapan kadar genistein dalam ekstrak etanol tempe kedelai secara KLT-Densitometri pada penelitian ini mengacu pada prosedur dan metode yang dilakukan oleh Permatasari (2015) yang telah divalidasi dan menunjukkan hasil yang valid. Validasi metode KLT-Densitometri untuk penetapan kadar genistein ini telah dilakukan oleh Permatasari (2015) melalui pengujian parameter linieritas, batas deteksi (BD) dan batas kuantitasi (BK), selektivitas/spesifisitas, presisi, dan akurasi.

Tabel 4.1 Kondisi optimum analisis genistein dengan KLT-Densitometri

No	Kondisi Analisis	Kondisi Optimum
1	Pelarut	Metanol p.a.
2	Fase diam	Silika Gel 60 F <sub>254</sub>
3	Eluen	Toluen: etil asetat : aseton : asam format (v/v/v/v) = 20: 4: 2: 1
4	Panjang gelombang	266 nm
5	Konsentrasi uji	40 ppm

Pada proses penetapan kadar ini, dipilih genistein sebagai *marker* karena jumlah isoflavon genistein dalam tempe kedelai lebih banyak dibanding isoflavon lainnya (Song *et al.*, 1998). Hasil penetapan kadar genistein pada ekstrak etanol tempe kedelai dapat dilihat pada Tabel 4.2. Data perhitungan penetapan kadar genistein pada ekstrak etanol kedelai dapat dilihat pada Lampiran C.3.

Tabel 4.2 Kadar genistein dalam ekstrak etanol tempe kedelai

Replikasi	Kadar genistein (b/b%)	RSD (%)
1	0,246	1,497
2	0,240	
3	0,246	
Rata-rata	0,244	

Berdasarkan Tabel 4.2, dapat diketahui bahwa kadar rata-rata genistein dalam ekstrak etanol tempe kedelai adalah 0,244%b/b dengan RSD 1,497%. Menurut AOAC (1998), kriteria presisi penerimaan uji presisi untuk konsentrasi analit 0,1%, RSD tidak boleh lebih dari 3,7%. Nilai RSD yang dihasilkan pada penetapan kadar genistein dalam sampel ekstrak etanol tempe kedelai ini telah memenuhi persyaratan yaitu kurang dari 3,7% (AOAC, 1998).

### 4.3 Pengujian Aktivitas Hambatan Enzim Tirosinase Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Pada penelitian ini pengujian aktivitas hambatan enzim tirosinase ekstrak etanol tempe kedelai menggunakan metode spektrofotometri yang merupakan salah satu metode untuk uji aktivitas hambatan enzim tirosinase secara *in-vitro*. Prinsip kerja metode uji hambatan enzim tirosinase secara *in-vitro* berdasarkan adanya penurunan jumlah dopakrom yang merupakan hasil oksidasi DOPA oleh enzim tirosinase. Dopakrom yang terbentuk akan berwarna jingga tua hingga merah. Jika aktivitas enzim tirosinase dihambat maka intensitas warna dopakrom akan menurun sehingga dapat diukur serapannya (absorbansi) dengan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang maksimum (Lintner dan Sederma, 2010). Serapan (absorbansi) yang diperoleh digunakan untuk

mengetahui seberapa besar aktivitas ekstrak etanol tempe kedelai dalam menghambat aktivitas enzim tirosinase.

Metode pengujian aktivitas hambatan tirosinase merujuk pada metode yang telah dilakukan oleh Batubara *et al.* (2010) dengan modifikasi. Modifikasi tersebut berdasarkan hasil optimasi yang telah dilakukan oleh Dewi (2015). Variabel yang dioptimasi meliputi tiga hal yaitu konsentrasi substrat, waktu inkubasi, dan panjang gelombang maksimum. Kondisi optimum yang digunakan dalam pengujian aktivitas yaitu menggunakan hasil yang optimal berupa konsentrasi substrat sebesar 1 mM, waktu inkubasi selama 80 menit dan *scanning* serapan (absorbansi) menggunakan alat *Elisa Reader* (EL x800) pada panjang gelombang 478 nm. Suhu inkubasi yang digunakan adalah suhu ruang  $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Suhu ini masih termasuk dalam suhu stabil aktivitas enzim tirosinase. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Majidi dan Aksoz (2013), aktivitas enzim tirosinase dapat dipertahankan pada suhu  $20\text{-}60^{\circ}\text{C}$  dan aktivitasnya optimum pada suhu  $25^{\circ}\text{C}\text{-}30^{\circ}\text{C}$ . pH dapar yang digunakan selalu diamati menggunakan pH meter. Larutan dapar yang digunakan adalah dapar fosfat pH 6,5 yang masih merupakan pH optimum aktivitas enzim tirosinase (Paranjpe *et al.*, 2003). Pengujian aktivitas hambatan enzim tirosinase dilakukan dengan pengukuran serapan (absorbansi) ekstrak etanol tempe kedelai dan standar genistein sebagai kontrol positif secara triplo. Terdapat tiga jenis larutan yang diuji, yaitu larutan sampel ekstrak, larutan standar genistein sebagai kontrol positif, dan larutan dapar fosfat sebagai blanko. Komposisi masing-masing larutan yang digunakan dalam pengujian ditampilkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Komposisi blanko, larutan sampel, dan larutan kontrol positif dalam pengujian aktivitas hambatan tirosinase

Bahan	Blanko	Sampel	Kontrol positif
Larutan dapar fosfat pH 6,5	70 $\mu$ l	-	-
L-tirosin 1 mM	110 $\mu$ l	110 $\mu$ l	110 $\mu$ l
Larutan sampel ekstrak dalam dapar fosfat pH 6,5	-	70 $\mu$ l	-
Larutan standar genistein			70 $\mu$ l
Enzim tirosinase (250 unit/ml)	30 $\mu$ l	30 $\mu$ l	30 $\mu$ l

Hasil penelitian pengujian hambatan tirosinase dinyatakan dalam  $IC_{50}$ .  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi efektif yang dapat menghambat 50 % tirosinase. Nilai  $IC_{50}$  rata-rata sampel ekstrak etanol tempe kedelai dari ketiga replikasi sebesar  $55,07 \pm 0,490$  ppm dan nilai  $IC_{50}$  rata-rata standar genistein dari ketiga replikasi sebesar  $130,17 \pm 0,340$  ppm. Data perhitungan % hambatan enzim tirosinase dan nilai  $IC_{50}$  dapat dilihat pada Lampiran H.1 sampai Lampiran H.4.

Berdasarkan hasil statistika menggunakan uji T tidak berpasangan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas hambatan tirosinase yang bermakna pada sampel ekstrak etanol tempe kedelai dan standar genistein ( $p < 0,05$ ). Hal ini ditunjukkan dengan nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol tempe kedelai yang lebih kecil dibanding standar genistein yang menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan enzim tirosinase ekstrak etanol tempe kedelai lebih tinggi jika dibandingkan dengan standar genistein. Sehingga ekstrak etanol tempe kedelai pada penelitian ini berpotensi sebagai inhibitor tirosinase yang dapat digunakan sebagai pemutih kulit. Ekstrak etanol tempe kedelai memiliki aktivitas hambatan enzim tirosinase yang lebih tinggi bila dibanding standar genistein karena ekstrak etanol tempe kedelai yang digunakan masih berbentuk *crude extract* yang tidak hanya mengandung genistein, tetapi juga mengandung isoflavon aglikon lainnya yaitu daidzein dan glisitein yang memiliki aktivitas hambatan tirosinase (Chang *et al.*, 2005; Chang *et al.*, 2007). Genistein, daidzein dan glisitein yang merupakan senyawa isoflavon aglikon berperan penting dalam aktivitas hambatan tirosinase karena aktivitasnya sebagai inhibitor tirosinase lebih besar bila dibandingkan isoflavon glikosida (Chang *et al.*, 2007). Hal ini disebabkan karena adanya gugus OH di cincin benzena pada isoflavon aglikon, sedangkan pada isoflavon glikosida terdapat gugus metal dan konjugat gula di cincin benzena yang dapat menurunkan aktivitas hambatan tirosinase (Donghyun *et al.*, 2006).

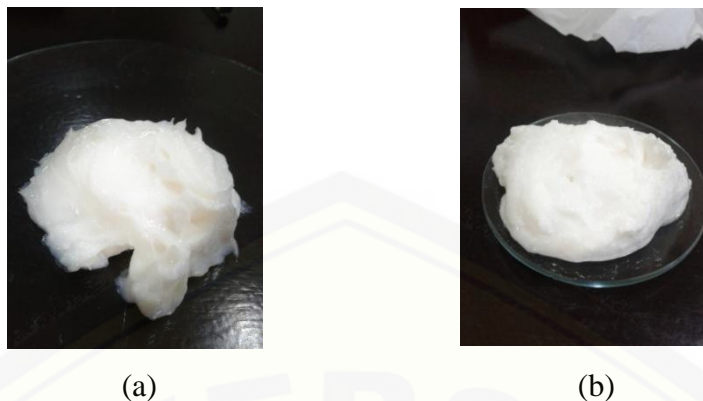
#### **4.4 Hasil Formulasi Sediaan *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai**

Sediaan *vanishing cream* dan lotion digunakan dalam penelitian ini karena pada penelitian ini ingin diperoleh suatu sediaan pemutih kulit alami dari ekstrak

etanol tempe kedelai yang memiliki daya sebar yang baik, tidak lengket, dan terasa ringan pada penggunaannya di kulit badan. Menurut Faramayuda *et al.* (2010) lotion merupakan sediaan setengah padat, hampir sama dengan krim tetapi memiliki viskositas yang lebih rendah sehingga memungkinkan pemakaian yang merata dan cepat teradsorpsi pada permukaan kulit yang luas (Ansel, 2008). Sedangkan sediaan *vanishing cream* dapat terdispersi dengan baik pada saat digunakan pada kulit dengan kandungan air yang tidak kurang dari 60%, tidak lengket dan terasa ringan pada saat digunakan, serta tidak tampak setelah dioleskan (Ansel, 2008). Dosis ekstrak yang digunakan dalam pembuatan *vanishing cream* maupun lotion didasarkan pada hasil uji aktivitas hambatan tirosinase yaitu nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol tempe kedelai. Peneliti menggunakan dosis ekstrak dalam masing-masing sediaan sebesar 100 kali  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  ekstrak sebesar 55,07 ppm sehingga dibutuhkan 0,5507 gram ekstrak etanol tempe kedelai untuk setiap 100 gram sediaan *vanishing cream* maupun lotion. Perhitungan dosis ekstrak yang digunakan dalam formula dapat dilihat pada Lampiran I.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol tempe kedelai dapat diformulasikan ke dalam bentuk sediaan *vanishing cream* dan lotion. Proses pembuatan dilakukan pada temperatur terkontrol menggunakan *waterbath* pada suhu  $70^{\circ}C$  dengan pengadukan konstan. Semua bahan dalam fase minyak meleleh sempurna pada saat proses peleburan. Ekstrak etanol tempe kedelai dan semua bahan fase air larut sempurna di dalam aquadest suhu  $70^{\circ}C$ . Metode pencampuran fase minyak dan fase air dilakukan ketika kedua fase sama-sama berada pada temperatur  $70^{\circ}C$  dengan cara fase air secara perlahan-lahan ditambahkan dengan pengadukan yang konstan ke dalam campuran fase minyak yang cair dalam mortir hangat, kemudian campuran perlahan-lahan didinginkan dengan pengadukan yang terus-menerus sampai campuran mengental. Pencampuran kedua fase menghasilkan sediaan *vanishing cream* dan lotion berwarna putih kekuningan, lembut dan homogen secara visual. Hasil pembuatan sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai dapat dilihat pada Gambar 4.1.





Gambar 4.1 Hasil pembuatan sediaan (a) *vanishing cream* ekstrak etanol tempe kedelai; (b) lotion ekstrak etanol tempe kedelai

#### 4.5 Hasil Penetapan Kadar Isoflavon Genistein dalam Sediaan *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai yang telah diformulasi, selanjutnya dilakukan penetapan kadar genistein dalam sediaan *vanishing cream* dan lotion dengan metode KLT-Densitometri. Penetapan kadar ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar isoflavon yang terkandung di dalam sediaan yang dinyatakan dalam kadar genistein dalam bentuk % b/b, kemudian kadar genistein antara sediaan *vanishing cream* dan lotion dibandingkan, sehingga dapat diketahui pengaruh formulasi terhadap kadar genistein dalam sediaan.

Pada penetapan kadar genistein dalam sediaan ini, preparasi sampel dilakukan dengan cara masing-masing sediaan diekstraksi dengan metanol p.a menggunakan *sentrifuge* pada kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Metanol p.a digunakan sebagai pelarut dalam ekstraksi karena solven terbaik untuk mengekstraksi genistein dalam jumlah besar adalah metanol 90% (Luthria *et al.*, 2007). Kondisi analisis penetapan kadar genistein dalam sediaan sama dengan kondisi analisis penetapan kadar genistein dalam ekstrak etanol tempe kedelai.

Pada penetapan kadar genistein dalam sampel *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai diperoleh data hasil rata-rata kadar genistein dari ketiga replikasi pada masing masing sediaan seperti yang ditampilkan pada Tabel 4.4 dan 4.5. Data perhitungan penetapan kadar isoflavon genistein pada sediaan *vanishing cream* dan lotion dapat dilihat pada Lampiran J.1 sampai Lampiran J.2.

Berdasarkan hasil analisis statistika menggunakan uji T tidak berpasangan, menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar genistein yang bermakna antara sampel *vanishing cream* dan lotion ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa formulasi tidak mempengaruhi kadar genistein dalam sediaan dan dapat disimpulkan bahwa kandungan genistein dalam *vanishing cream* dan lotion seragam dan homogen.

Tabel 4.4 Hasil uji presisi dan penetapan kadar isoflavon genistein dalam sediaan *vanishing cream*

Sediaan	Rata-rata kadar genistein (% b/b)*	RSD (%)
<i>Vanishing cream 1</i>	$0,471 \times 10^{-2} \pm 0,194 \times 10^{-4}$	0,412
<i>Vanishing cream 2</i>	$0,481 \times 10^{-2} \pm 0,310 \times 10^{-4}$	0,644
<i>Vanishing cream 3</i>	$0,479 \times 10^{-2} \pm 0,213 \times 10^{-3}$	4,443
Rata-rata	$0,477 \times 10^{-2} \pm 0,532 \times 10^{-4}$	1,114

\*Data disajikan sebagai rerata  $\pm$  simpangan baku (n=3)

Tabel 4.5 Hasil uji presisi dan penetapan kadar isoflavon genistein dalam sediaan lotion

Sediaan	Rata-rata kadar genistein (% b/b)*	RSD (%)
Lotion 1	$0,478 \times 10^{-2} \pm 0,563 \times 10^{-4}$	1,178
Lotion 2	$0,478 \times 10^{-2} \pm 0,251 \times 10^{-4}$	0,524
Lotion 3	$0,480 \times 10^{-2} \pm 0,356 \times 10^{-4}$	0,742
Rata-rata	$0,479 \times 10^{-2} \pm 0,139 \times 10^{-4}$	0,290

\*Data disajikan sebagai rerata  $\pm$  simpangan baku (n=3)

Penetapan kadar genistein dalam sediaan *vanishing cream* dan lotion disertai dengan uji presisi dan akurasi. Uji presisi dan akurasi dilakukan untuk mengetahui keseragaman kandungan genistein pada tiap sediaan dan untuk mengetahui pengaruh formulasi terhadap kadar genistein dalam sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai. Presisi atau keseksamaan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur diterapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Harmita, 2004). Pada penelitian ini, penentuan nilai presisi dilakukan dengan uji presisi repeatabilitas. Presisi repeatabilitas menunjukkan presisi di bawah kondisi percobaan yang sama meliputi laboratorium, analisis serta peralatan yang

dilakukan pada waktu yang singkat. Sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai dengan tiga kali pembuatan untuk masing-masing formula selanjutnya dilakukan tiga kali pengukuran pada setiap sediaan yang dihasilkan sehingga diperoleh 9 data untuk uji presisi repeatabilitas yang sekaligus penetapan kadar. Penetapan kadar genistein dalam masing-masing sediaan telah dilakukan, selanjutnya dihitung nilai parameter presisi dari data hasil scanning dengan melakukan perhitungan nilai RSD. Nilai RSD tidak boleh lebih dari kriteria penerimaan studi kepresisian pada konsentrasi yang digunakan (AOAC, 1998). Data perhitungan uji presisi kadar isoflavon pada sediaan *vanishing cream* dan lotion dapat dilihat pada Lampiran J.1 sampai Lampiran J.2 dan hasil uji presisi isoflavon genistein pada masing-masing sediaan dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan Tabel 4.5.

Berdasarkan Tabel 4.4 dan 4.5, dapat diketahui bahwa kadar genistein pada sediaan *vanishing cream* sebesar  $0,477 \times 10^{-2} \% \text{ b/b}$  dengan RSD 1,114 dan kadar genistein pada sediaan lotion sebesar  $0,479 \times 10^{-2} \% \text{ b/b}$  dengan RSD 0,290. Kadar rata-rata genistein pada masing-masing sediaan adalah lebih dari 0,001% sehingga kriteria penerimaan untuk uji presisi yaitu RSD harus kurang dari 5,3% (AOAC, 1998). Dari hasil penelitian, didapatkan nilai RSD pada uji presisi repeatabilitas adalah 1,114% untuk sediaan *vanishing cream* dan 0,290% untuk sediaan lotion. Berdasarkan hasil tersebut, nilai RSD yang didapatkan telah memenuhi kriteria penerimaan uji presisi. Sehingga dapat disimpulkan bahwa metode analisis yang digunakan dapat memberikan hasil yang presisi.

Akurasi atau kecermatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan (Harmita, 2004). Pada penelitian ini, akurasi ditentukan dengan metode penambahan standar. Metode ini dilakukan dengan cara menambahkan sejumlah tertentu analit dalam sampel yang telah dianalisis untuk selanjutnya dianalisis kembali. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya (hasil yang diharapkan). Uji akurasi yang dilakukan pada penelitian ini yaitu uji akurasi dengan metode penambahan standar (standar adisi) sebanyak 30% dari kadar

analit dalam sampel yang didapat dari hasil uji presisi. Nilai parameter akurasi dari data hasil *scanning* dengan melakukan perhitungan nilai *mean recovery* (%). Rentang nilai *mean recovery* (%) yang diijinkan pada setiap konsentrasi analit pada matriks tidak boleh lebih dari kriteria penerimaan studi keakurasian pada konsentrasi yang digunakan (AOAC, 1998). Hasil uji akurasi dapat dilihat pada Tabel 4.6. dan data perhitungan akurasi dapat dilihat pada Lampiran K.

Tabel 4.6 Hasil uji akurasi genistein dalam sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai

Adisi 30 %	<i>Mean Recovery</i> (%)*	RSD (%)
<i>Vanishing cream</i>	99,490	0,450
Lotion	99,997	0,620

\*Data disajikan sebagai rerata dan RSD (n=3)

Kriteria penerimaan untuk uji akurasi dengan kadar analit lebih dari 0,001% adalah *mean recovery* yang diperoleh berada pada rentang 90-107% dengan RSD kurang dari 5,3 % (AOAC, 1998). Berdasarkan tabel 4.6, *mean recovery* yang diperoleh dari penelitian ini adalah 99,490 %, dengan nilai RSD sebesar 0,450% untuk sediaan *vanishing cream*, dan *mean recovery* 99,997% dengan RSD 0,620% untuk sediaan lotion. Hasil yang diperoleh telah memenuhi kriteria penerimaan uji akurasi yang digunakan. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa metode analisis yang digunakan dapat memberikan hasil yang akurat.

#### 4.6 Hasil Pengujian Sifat Fisika Kimia Sediaan *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

##### a) Hasil pengujian organoleptis

Pengujian organoleptis bertujuan untuk mengetahui sediaan yang dihasilkan telah memenuhi persyaratan estetika. Hal ini diperlukan terkait dengan penerimaan konsumen terhadap sediaan *vanishing cream* dan lotion pemutih kulit alami yang akan digunakan untuk pemakaian sehari-hari. Masing-masing formula yang telah dibuat diletakkan pada kaca arloji kemudian dilakukan pengamatan

secara visual yang meliputi bentuk, warna, tekstur, dan bau sediaan. Hasil pengujian organoleptis dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan Tabel 4.7.

Tabel 4.7 Hasil pengujian organoleptis sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai

Pengamatan visual	<i>Vanishing cream</i>	Lotion
Warna	Putih kekuningan	Putih kekuningan
Bentuk	Massa krim	Massa lotion
Tekstur	Lembut	Lembut
Bau	Bau harum mawar	Bau harum mawar

Berdasarkan pengujian organoleptis sediaan yang telah dibuat, *vanishing cream* dan lotion dari tiap replikasi memiliki karakteristik organoleptis yang sama dan sesuai dengan kriteria yang diharapkan. Kedua sediaan berwarna putih kekuningan karena adanya ekstrak etanol tempe kedelai berwarna coklat yang ditambahkan ke dalam sediaan dalam pembuatannya. Namun *vanishing cream* memiliki warna putih yang lebih berkilau karena penggunaan asam stearat dalam formulasinya. Menurut Barnett (1972) semakin besar pemakaian asam stearat maka warna putih yang dihasilkan akan semakin berkilau. Kedua sediaan memiliki bau harum bunga mawar karena ditambahkan pewangi aroma mawar. Hal ini dilakukan untuk menutupi bau tempe yang khas dari sediaan sehingga dapat meningkatkan akseptabilitas konsumen. Pada *vanishing cream* mengandung gliserin dan propilenglikol sebagai humektan yang akan menahan penguapan air, mengikat air di sediaan agar tidak menguap sehingga memberikan tekstur krim yang lembut (Hendradi *et al.*, 2013 ). Berdasarkan hasil pengujian organoleptis yang memenuhi kriteria yang diharapkan, menunjukkan bahwa *vanishing cream* dan lotion dapat digunakan sebagai basis yang baik untuk formulasi ekstrak etanol tempe kedelai karena mampu membentuk sediaan yang homogen secara visual dan bertekstur lembut.

b) Hasil pengujian viskositas sediaan

Viskositas menyatakan besarnya tahanan yang dihasilkan sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai. Pengujian viskositas

bertujuan untuk memastikan tingkat kekentalan sediaan yang sesuai untuk penggunaan topikal. Secara fisik sediaan yang dihasilkan mempunyai kekentalan yang cukup untuk pemakaian topikal sehingga memudahkan penyebarannya di permukaan kulit. Jika viskositas sediaan tinggi (kental) maka sediaan tersebut akan semakin sulit menyebar pada kulit. Viskositas sediaan yang terlalu besar memberikan tahanan yang kuat pada bahan aktif untuk lepas dari basisnya (Berger *et al.*, 2001). Viskositas sediaan yang terlalu rendah (encer) menyebabkan pada saat diaplikasikan di kulit mudah hilang. Sehingga secara fisik sediaan harus mempunyai kekentalan yang cukup sehingga mudah dioleskan pada kulit, waktu kontak sediaan dengan kulit akan semakin lama sehingga aktivitas bahan aktif akan semakin optimal. Hasil pengujian viskositas sediaan dapat dilihat pada Tabel 4.8 dan selengkapnya pada Lampiran L.3.

Tabel 4.8 Hasil pengujian viskositas sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai

Sediaan	Viskositas*
<i>Vanishing cream</i>	150 dPa.s $\pm$ 0,00
Lotion	147 dPa.s $\pm$ 2,89

\* Data disajikan sebagai rerata  $\pm$  simpangan baku (n=3)

Lachman *et al.* (1989) menyatakan viskositas sediaan topikal yang dapat diterima adalah 50-1000 dPa.s dan optimalnya sebesar 200 dPa.s. Nilai tersebut dihubungkan dengan karakteristik sediaan topikal yang memenuhi persyaratan pengemasan dan mempermudah pemakaian pada kulit. Hasil pengujian viskositas *vanishing cream* didapatkan rata-rata viskositas dari ketiga replikasi memenuhi rentang yang dipersyaratkan namun belum memenuhi nilai viskositas optimal, yaitu 150 dPa.s. Menurut SNI 16-4399-1996, sediaan lotion diharapkan memiliki viskositas antara 20-500 dPa.s. Hasil pengujian viskositas lotion didapatkan rata-rata viskositas dari ketiga replikasi memenuhi rentang yang dipersyaratkan yaitu 147 dPa.s. Berdasarkan hasil uji viskositas, *vanishing cream* memiliki viskositas yang lebih tinggi daripada lotion. Hal ini disebabkan karena penggunaan asam stearat sebesar 15% dalam formula *vanishing cream* sedangkan pada formula lotion tidak menggunakan asam stearat. Asam stearat dapat meningkatkan

konsistensi sediaan sehingga viskositas sediaan akan meningkat pula (Ng, 2013). Formula *vanishing cream* selain memiliki asam stearat, juga memiliki setil alkohol sebesar 5%, sedangkan pada lotion penggunaan setil alkohol hanya 2%. Setil alkohol dapat meningkatkan viskositas sediaan (*stiffening agent*) dengan konsentrasi sebesar 2-10% (Rowe *et al.*, 2009). Semakin besar konsentrasi setil alkohol yang digunakan maka viskositas sediaan akan semakin besar pula.

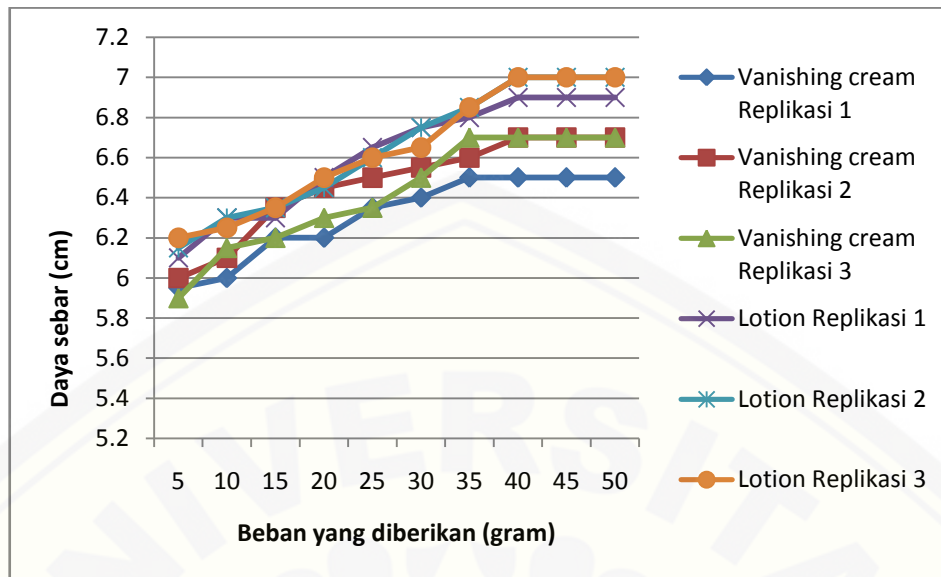
c) Hasil pengujian daya sebar sediaan

Pengujian daya sebar bertujuan untuk mengetahui kemampuan sediaan untuk dapat menyebar saat diaplikasikan di kulit. Selain itu juga untuk mengetahui kemudahan saat pemakaian sediaan di kulit. Daya sebar diperlihatkan oleh diameter sebar sediaan terhadap beban yang ditambahkan secara berkala. Menurut Garg *et al.* (2002), suatu sediaan memenuhi akseptabilitas dan efikasi klinis apabila sediaan tersebut memenuhi sifat mekanik yang optimal (mudah dikeluarkan dari wadah, daya sebar yang baik pada tempat aplikasi). Daya sebar sediaan *vanishing cream* maupun lotion dilihat dari diameter menyebarnya dengan penambahan beban. Hasil pengujian daya sebar sediaan *vanishing cream* dan lotion terdapat pada tabel 4.9 dan selengkapnya pada Lampiran L.5. Profil daya sebar dapat dilihat pada gambar 4.2.

Tabel 4.9 Hasil pengujian daya sebar *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai

Sediaan	Beban akhir yang diberikan (g)	Daya sebar* (cm)
<i>Vanishing cream</i>	50	6,63 ± 0,110
Lotion	50	6,97 ± 0,060

\*Data disajikan sebagai rerata ± simpangan baku (n=3)



Gambar 4.2 Profil daya sebar *vanishing cream* dan lotion

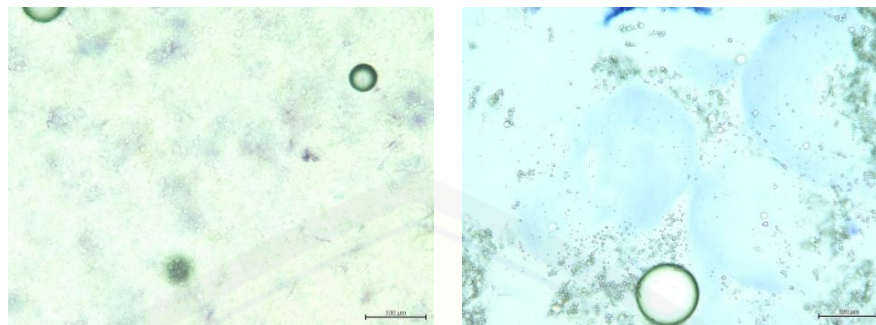
Hasil pengujian daya sebar menunjukkan rata-rata daya sebar kedua sediaan *vanishing cream* dan lotion memenuhi rentang yang dipersyaratkan yaitu 6,63 cm untuk sediaan *vanishing cream* dan 6,97 cm untuk sediaan lotion. Gambar profil daya sebar menunjukkan bahwa diameter sebar bertambah seiring dengan penambahan beban. Garg *et al.* (2002) menyatakan daya sebar yang menunjukkan konsistensi semisolid dalam memberikan kenyamanan pada saat penggunaan adalah sebesar 5-7 cm. Sediaan yang memiliki daya sebar pada rentang tersebut diperkirakan akan mudah dioleskan dan disebarkan pada kulit. Hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa daya sebar sediaan *vanishing cream* dan lotion memenuhi rentang yang diharapkan.

Daya sebar berbanding terbalik dengan viskositas. Viskositas merupakan tahanan yang dimiliki oleh sediaan untuk dapat menyebar atau mengalir (Martin *et al.*, 1993). Semakin besar viskositas maka tahanan sediaan untuk dapat menyebar juga semakin besar dan daya sebar menjadi lebih kecil. Sebaliknya lotion yang memiliki viskositas rendah maka tahanan sediaan untuk dapat menyebar menjadi lebih kecil sehingga daya sebar menjadi lebih besar. Pada penelitian ini, sediaan lotion memiliki daya sebar yang lebih besar karena lotion memiliki viskositas yang lebih rendah bila dibandingkan dengan *vanishing cream*.



d) Hasil pengujian tipe emulsi

Pengujian tipe emulsi sediaan dilakukan untuk mengetahui tipe emulsi pada sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai yang telah dibuat. Tipe emulsi yang diharapkan pada kedua formula sediaan adalah emulsi tipe M/A. Pengujian tipe emulsi dilakukan untuk mengetahui ada atau tidak adanya inversi atau perubahan tipe emulsi M/A menjadi tipe A/M yang disebabkan oleh penguapan air dalam jumlah yang besar dari sediaan dan banyaknya jumlah minyak pada fase minyak. Penentuan tipe emulsi dilakukan dengan cara menambahkan reagen *metilen blue* pada sediaan kemudian dilakukan pengamatan secara makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan makroskopik dilakukan secara visual. Pengamatan makroskopik menunjukkan bahwa sediaan *vanishing cream* dan lotion yang berwarna putih kekuningan akan berubah menjadi biru karena adanya *metilen blue* yang membasahi medium pendispers pada emulsi minyak dalam air. Kedua sediaan *vanishing cream* dan lotion merupakan sediaan setengah padat berupa emulsi tipe minyak dalam air sehingga *metilen blue* yang larut dalam air hanya akan membasahi medium pendispers pada emulsi tipe minyak dalam air. Selanjutnya, dilakukan pengamatan mikroskopik dengan menggunakan mikroskop perbesaran 400 kali untuk memastikan dispersi *metilen blue* dalam masing-masing sediaan. Hasil pengamatan mikroskopik menunjukkan bahwa *metilen blue* terdispersi merata hanya dalam fase air pada kedua sediaan, sedangkan bagian-bagian yang tidak terwarnai oleh *metilen blue* merupakan fase terdispers yakni fase minyak. Fase minyak tampak sebagai bentuk tetesan tidak berwarna. Pada kedua sediaan *vanishing cream* dan lotion tampak warna biru *metilen blue* menyebar secara merata mewarnai fase pendispers (fase air). Hasil pengamatan mikroskopis pada penentuan tipe emulsi ditunjukkan pada Gambar 4.3 dan selengkapnya pada Lampiran L.4.



(a)

(b)

Gambar 4.3 Hasil pengamatan penentuan tipe emulsi secara mikroskopis (a) *vanishing cream*; (b) lotion

e) Hasil pengujian pH

Pengujian pH dilakukan untuk mengetahui besarnya pH pada masing-masing sediaan yang telah dibuat sesuai dengan kriteria yang diinginkan. Kesesuaian nilai pH mempengaruhi penerimaan kulit terhadap sediaan topikal. pH sediaan yang terlalu asam akan menimbulkan iritasi kulit, sedangkan pH yang terlalu basa dapat menimbulkan efek kering pada kulit. pH sediaan yang diharapkan adalah sesuai dengan pH fisiologis kulit normal, yakni 4-7 (Anief, 2007). Hasil pengujian pH sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai dapat dilihat pada Tabel 4.10 dan selengkapnya pada Lampiran L.2. Berdasarkan Tabel 4.10, pH sediaan *vanishing cream* dan lotion memenuhi nilai pH yang diharapkan yaitu 6,69 untuk sediaan *vanishing cream*, dan 6,79 untuk sediaan lotion sehingga sediaan aman untuk penggunaan pada kulit. Sediaan *vanishing cream* memiliki pH lebih rendah daripada lotion karena dalam formula *vanishing cream* terdapat asam stearat sebesar 15%, asam stearat mengandung gugus asam sehingga semakin banyak asam stearat dalam formula menyebabkan pH sediaan menjadi lebih rendah (Ng, 2013), sedangkan pada formula lotion tidak mengandung asam stearat sehingga memiliki pH lebih tinggi daripada *vanishing cream*.

Tabel 4.10 Hasil pengujian pH sediaan *vanishing cream* dan lotion

Sediaan	pH*
<i>Vanishing cream</i>	6,69 ± 0,23
Lotion	6,79 ± 0,08

\*Data disajikan sebagai rerata ± simpangan baku (n=3)

#### 4.7 Hasil Uji Kesukaan Sediaan *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Penilaian dengan indera yang disebut juga dengan penilaian organoleptik atau penilaian sensorik merupakan suatu cara penilaian yang banyak digunakan. Penilaian atau pengujian organoleptik salah satunya dapat dilakukan dengan *preference test* atau uji kesukaan. Uji kesukaan banyak disenangi karena dapat dilaksanakan dengan cepat dan langsung (Soekarto, 1985). Uji kesukaan merupakan parameter yang penting untuk melihat tingkat kesukaan serta penerimaan konsumen terhadap produk yang dihasilkan. Uji kesukaan pada penelitian ini menggunakan prinsip uji sensori dengan cara melakukan identifikasi, pengukuran secara ilmiah, analisis dan interpretasi dari elemen-elemen pada suatu produk yang dapat dirasakan oleh panca indera (penglihatan, penciuman, dan sentuhan). Dalam pelaksanaannya, responden diminta memberikan penilaian terhadap sifat sensorik bahan yang dinilai dalam suatu skala yang menunjukkan tingkat dari sangat suka (skor 5) sampai sangat tidak suka (skor 1). Uji ini bersifat subyektif karena sepenuhnya bergantung pada kemampuan atau kepekaan inderawi responden. Responden yang digunakan adalah mahasiswa serta masyarakat di sekitar kampus Universitas Jember, berjenis kelamin perempuan, usia 17-25 tahun, sebanyak 50 orang. Uji kesukaan konsumen meliputi uji kesukaan terhadap warna, tekstur, bau, dan konsistensi sediaan *vanishing cream* dan lotion. Metode yang digunakan dalam uji kesukaan ini mengacu pada metode yang telah dilakukan oleh Rimawi *et al.* (2014) yaitu kuisisioner yang terdiri dari pertanyaan mengenai data personal dan data produk. Hasil uji kesukaan sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai dapat dilihat pada Tabel 4.11 dan selengkapnya pada Lampiran M.

Tabel 4.11 Hasil uji kesukaan konsumen terhadap sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai

Sediaan	Tekstur*	Warna*	Bau*	Konsistensi*
<i>Vanishing cream</i>	4,30	4,34	4,08	4,10
Lotion	4,24	4,32	4,40	4,24

\*Data yang disajikan berupa rerata (n=50)

Berdasarkan hasil analisis statistika menggunakan uji *chi-square*, data uji kesukaan konsumen terhadap sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai dari parameter tekstur, warna, bau, dan konsistensi tidak layak untuk diuji menggunakan uji *chi-square* karena terdapat sel yang memiliki nilai *expected* kurang dari 5 sebesar lebih dari 20% dari jumlah sel, sehingga digunakan uji alternatifnya yaitu uji kolmogorov-smirnov. Berdasarkan hasil analisis statistika menggunakan uji kolmogorov-smirnov, dapat diketahui bahwa tidak terdapat perbedaan kesukaan konsumen yang bermakna terhadap sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai yang ditunjukkan oleh nilai  $p > 0,05$  untuk parameter tekstur, warna, bau, dan konsistensi sediaan. Hal ini menunjukkan bahwa kedua sediaan sama-sama disukai oleh konsumen dari parameter tekstur, warna, bau, dan konsistensi sediaan. Kedua formula sama-sama disukai karena basis kedua formula sama-sama bertipe m/a sehingga dalam penggunaannya tidak berminyak di kulit.

Hasil uji kesukaan konsumen terhadap sediaan *vanishing cream* dan lotion berdasarkan Tabel 4.11 menunjukkan bahwa *vanishing cream* lebih disukai konsumen dari parameter tekstur dan warna sediaan. Hal ini dimungkinkan karena penggunaan asam stearat dan TEA pada formula *vanishing cream* yang menyebabkan tekstur sediaan menjadi lebih lembut. Menurut Rowe *et al.* (2009) kombinasi antara asam stearat dan trietanolamin akan membentuk suatu garam yaitu trietanolamin stearat yang akan menghasilkan butiran halus pada sediaan. Selain itu sediaan *vanishing cream* memiliki warna yang sedikit lebih putih berkilau bila dibandingkan sediaan lotion. Hal ini dimungkinkan sebagai pengaruh penggunaan setil alkohol dan asam stearat dalam *vanishing cream*. Pemakaian setil alkohol dalam formulasi menambahkan warna putih pada emulsi. Warna ini

juga dapat dihasilkan oleh penggunaan asam stearat, semakin besar penggunaan asam stearat maka warna putih akan semakin berkilau, sehingga sediaan *vanishing cream* menjadi lebih menarik dan lebih disukai konsumen dari parameter warna sediaan (Barnett, 1972). Sediaan lotion lebih disukai konsumen dari parameter bau dan konsistensi sediaan. Lotion memiliki viskositas yang lebih rendah bila dibandingkan *vanishing cream* sehingga kekentalan lotion lebih rendah dan daya sebaranya lebih tinggi. Karena daya sebar lotion lebih tinggi, diduga responden lebih menyukai karena lebih cepat merata pada kulit.



## BAB V. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

- a. Ekstrak etanol tempe kedelai memiliki aktivitas sebagai inhibitor tirosinase yang poten dilihat dari nilai  $IC_{50}$  ekstrak lebih kecil ( $IC_{50}$  ekstrak = 55,07  $\mu\text{g/ml}$ ) dibandingkan nilai  $IC_{50}$  standar genistein ( $IC_{50}$  standar genistein = 130,17  $\mu\text{g/ml}$ ) karena ekstrak etanol tempe kedelai yang digunakan masih berbentuk *crude extract* sehingga masih terdapat komponen yang berpengaruh selain genistein, seperti daidzein dan glisitein yang juga berperan dalam aktivitas penghambatan tirosinase.
- b. Formulasi tidak mempengaruhi kadar isoflavon genistein dalam sediaan *vanishing cream* dan lotion. Kadar genistein dalam sediaan *vanishing cream* ekstrak etanol tempe kedelai sebesar  $0,477 \times 10^{-2}$  % b/b sedangkan dalam lotion ekstrak etanol tempe kedelai sebesar  $0,479 \times 10^{-2}$  % b/b.
- c. Sediaan *vanishing cream* ekstrak etanol tempe kedelai lebih disukai konsumen dari parameter tekstur dan warna sediaan sedangkan sediaan lotion ekstrak etanol tempe kedelai lebih disukai konsumen dari parameter bau dan konsistensi sediaan.

### 5.2 Saran

Saran yang dapat disampaikan berdasarkan penelitian ini adalah:

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai validasi metode penetapan kadar isoflavon genistein dalam sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai secara KLT-Densitometri.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji hambatan enzim tirosinase sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai

secara *in-vivo* agar dapat diketahui besarnya efikasi sediaan jika digunakan pada kulit manusia.

- c. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji stabilitas sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai
- d. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji pelepasan sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai.



**DAFTAR PUSTAKA**

- Abdullah. 2011. "Potensi Bakau *Rhizophora apiculata* sebagai Inhibitor Tirosinase dan Antioksidan". Tidak Dipublikasikan. Tesis. Bandung : Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Akhtar, N., B. A. Khan., M. S. Khan., T. Mahmood., H. M. S. Khan. M. Iqbal dan S. Bashir. 2011. Formulation Development and Moisturising Effects of a Topical Cream of *Aloe vera Extract*. *World Academy of Science, Engineering and Technology*. 5(2011):1149-1157.
- Anief, M. 1984. *Ilmu Farmasi*. Jakarta: Ghalia Indonesia.
- Anief, M. 2000. *Ilmu Meracik Obat Teori dan Praktek*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Anief, M. 2007. *Farmasetika*, Cetakan Keempat. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Ansel H. C. 1989. *Introduction to Pharmaceutical Dosage Form*. New York: Lea and Febiger, Inc.
- Ansel, H.C. 2008. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Edisi Keempat. Jakarta : Universitas Indonesia Press.
- AOAC. 1998. *Peer-Verified Methods Program Manual on Policies and Procedures*. USA : Arlington, Virginia
- Balsam, M.S. 1970. *Cosmetic Science and Technology*. Sydney Toronto : John Wiley and Sons Inc.
- Barnet, G. 1972. Emollient Cream and Lotions. Di dalam *Cosmetics and Science Technology*. Volume I. New York : Willey-Interscience
- BPOM, 2007. Kenalilah Kosmetik Anda, Sebelum Menggunakannya. *Info POM*. 8(4) : 4 - 5. Edisi Juli 2007. Jakarta. Available from: [http://BPOM.org/index2.php?option=com\\_content&do=1&id=56](http://BPOM.org/index2.php?option=com_content&do=1&id=56) [29 Januari 2015].
- Brown, G. R. dan Burn, T. 2002. *Lecture Notes On: Dermatology 8<sup>th</sup> Edition*. India : Blackwell Publishing



- Batubara, I., Darusman, L.K., Mitsunaga, T., Rahminiwati, M., dan Djauhari E. 2010. Potency of Indonesian Medical Plants as Tyrosinase Inhibitor and Antioxidant Agent. *Journal of Biological Sciences*. 10(2): 138–144.
- Campbell, N.A., Reece, J.B., Mitchell, L.G. dan Taylor, M.R. 2002. *Biology 4<sup>th</sup> Edition*. San Fransisco: Addison Wesley World Student Series
- Cayce, K.A., Amy, J.M., dan Steven, R.F. 2004. Hyperpigmentation : An Overview of the Common Afflictions. *Dermatology Nursing Journal*. 16(5) : 401-416.
- Chae, G. Y. dan Ha, B. J. 2011. The Comparative Evaluation of Fermented and Non-fermented Soybean Extract on Antioxidation and Whitening. *Toxicology Research*. 27(40): 205–209.
- Chang, T. S. 2012. Natural Melanogenesis Inhibitors Acting Through the Down-Regulation of Tyrosinase Activity. *Materials*. 5: 1661–1685
- Chang, T.S. 2009. An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences*. 10: 2440-2475.
- Chang, T.S., Ding, H.Y., Tai, S.S.K. dan Wu, C.Y. 2007. Tyrosinase Inhibitors Isolated from Soygerm Koji Fermented with *Aspergillus oryzae* BCRC 32288. *Food Chemistry Journal*. 105: 1430-1438.
- Chang, T.S., Ding, H.Y. dan Lin, H.C. 2005. Identifying 6,7,4'-trihydroxyisoflavone as a Potent Tyrosinase Inhibitor. *Bioscience. Biotechnology. Biochemistry*. 69 (10): 1999-2001.
- Dahlan, S. 2006. *Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Garut : PT Arkans
- Deinstrop, E.H. 2007. *Applied Thin-Layer Chromatography : Best Practice and Avoidance of Mistakes Second, Revised and Enlarged Edition*. Weinheim : WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia, Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia

- Dewi, E. N. A. 2015. "Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi terhadap Kadar Genistein dan Aktivitas Hambatan Tirosinase Edamame (*Glycine max*) *In Vitro*. Tidak Dipublikasikan. Skripsi. Jember: Universitas Jember
- Djuanda, A. 2003. *Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI
- Dhaubhadel, S. 2011. *Regulation of Isoflavonoid Biosynthesis in Soybean Seeds. in Ng, T.-B. (ed.) - Soybean - Biochemistry, Chemistry and Physiology, InTech*. 15 : 243-258.
- Donsing, P. dan Viyoch, J. 2008. Thai Breadfruit Heartwood Extract: A New Approach to Skin Whitening. *Journal of SWU Sciences*. 24(1): 9-21.
- Ebanks, J. P., Wickett, R. R., dan Boissy, R. E. 2009. Mechanisms Regulating Skin Pigmentation: The Rise and Fall of Complexion Coloration. *International Journal of Molecular Sciences*. 10: 4066–4087.
- Faramayuda, F., Alatas, B. dan Desmiaty, Y. 2010. Formulasi Sediaan Losion Antioksidan Ekstrak Air Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.). *Majalah Obat Tradisional*.15(3): 105-111
- Garg, A., Aggarwal, D., Garg, S., dan Sigla, A.K. 2002. Spreading of Semisolid Formulation : An Update. *Pharmaceutical Tecnology*.. <http://pharmtech.com.September>. 2002. 84-102
- Gyorgy, P., Murata, K. dan Ikehata, H. 1964. Antioxidants Isolated from Fermented Soybeans Tempeh. *Nature*. 203: 872-875.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 1 (3) : 117 – 135.
- Haron, H., Ismail, A., Azlan A., Shahar, S., dan Peng, L. S. 2009. Daidzein and Genestein Contents in Tempeh and Selected Soy Products. *Food Chemistry*. 115(4): 1350–1356.
- Hendradi, E., Chasanah, U., Indriani, T., dan Fionnayuristy, F. 2013. Pengaruh Gliserin dan Propilenglikol terhadap Karakteristik Fisik, Kimia, dan SPF Sediaan Krim Tipe O/W Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.). *PharmaScientia*. 2(1) : 31-42
- Hui, M., Tiansheng, Q., dan Hai, Z. 2005. Methods for Extracting, Separating, Identifying and Quantifying Daidzein and Genistein. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*;2005-03

- Huynh, N.T., Camp, J.V., Smagghe, G., dan Raes, K. 2014. Improved Release and Metabolism of Flavonoids by Steered Fermentation Processes : A review. *International Journal of Molecular Sciences*. 15 : 19369-19388.
- Indrayanto, G. dan Yuwono, M. 2003. *Validation of TLC Analyses in Encyclopedia of Chromatography*. Surabaya: Airlangga University Indonesia.
- Ito, S., dan Wakamatsu, K. 2003. Quantitative Analysis of Eumelanin and Pheomelanin in Humans, Mice, and Other Animals: A Comparative Review. *Pigment Cell and Melanoma Research*. 16: 523–531.
- Jaganath, N. 2004. *The Application of Rheological Techniques in The Characterization of Semisolids in The Pharmaceutical Industry*. South Africa : Nelson Mandela Metropolitan University Press. Halaman : 9-10.
- Kasmidjo, R.B. 1990. *Tempe: Mikrobiologi dan Biokimia, Pengolahan Serta Pemanfaatannya*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. UGM Yogyakarta.
- Khan, I., dan Akhtar, M. W. 2010. The Biotechnological Perspective of Beta-glukosidases. *Nature precedings*. 4945(1): 1–8.
- Kim, D., Park, J., Kim, J., Han, C., Yoon, J., Kim, N., Seo, J. dan Lee C. 2009. Flavonoids as Mushroom Tyrosinase Inhibitors: a fluorescence quenching study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54 (3) : 935–941.
- Kolarsick, P.A.J., Maria, A.K., dan Goodwin, C. 2011. Anatomy and Physiology of the Skin. *Journal of the Dermatology Nurses Association*. 3(4): 203 – 213.
- Kowalska, T. dan Prus, W. 2003. *Optimization of Thin-Layer Chromatography in Encyclopedia of Chromatography*. New York : Marcel Dekker, Inc.
- Kreps, S. L. dan Goldemberg. 1972. Suntan Preparation. *In: Balsam, M.S., Sagarin, E. Cosmetic and Science Technology Second Edition*. Vol. 1. New York: John Wiley and Son, Inc.
- Kuo, L. C. dan Lee, K. T. 2008. Cloning, Expression, and Characterization of Two  $\beta$ -Glukosidases from Isoflavone Glycoside-Hydrolyzing *Bacillus subtilis natto*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56: 119–125.
- Lachman, L., Lieberman, H.A., dan Kanig, J. L. 1989. *Teori dan Praktek Farmasi Industri I*. Edisi ketiga. Jakarta : Universitas Indonesia Press.

- Lachman, L., Lieberman, H.A., dan Kanig, J.L. 2008. *Teori dan Praktek Farmasi Industri II*. Edisi ketiga. Jakarta : Universitas Indonesia Press.
- Ling, M.H., Juan, P., Shao-fa, S., Juan, H., dan Lian, O. 2007. Study on The Technology of Extracting Soybean Isoflavone. *Journal of Anhui Agricultural University* 2007-0.
- Lintner, K. Dan Sederma F. 2010. *Substantions of Skin Whitening Claims*. [www.incosmeticsasia.com/files/pres\\_wkshp1\\_substantion\\_of\\_skin\\_whiteni ng\\_claims.pdf](http://www.incosmeticsasia.com/files/pres_wkshp1_substantion_of_skin_whiteni ng_claims.pdf) (diakses pada 2 Juni 2015).
- Luthria, D. L., Biswas, R., dan Natarajan, S. 2007. Comparison of Extraction Solvents and Techniques Used for the Assay of Isolavones from Soybean. *Food Chemistry*. 105(2007): 325-333.
- Majidi, D., dan Aksoz, N. 2013. Stability of Tyrosinase Enzyme from *Funalia Trogii*. *American Journal of Microbiological Research*. 1 (1) : 1-3.
- Marotti, I., Bonetti, A., Biavati, B., Catizone, P., dan Dinelli, G. 2007. Biotransformation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flavonoid glycosides by bifidobacterium species from human intestinal origin. *Journal Agriculture of Food Chemistry*. 55(10): 3913–3919.
- Martin, A., Swarbrick, J., dan Cammarata, A. 1993. *Farmasi Fisik II*. Jakarta: UI-Press.
- Mazur, W. M., Duke, J. A., Wahala, K., Rasku, S., dan Adlercreutz, H. 1998. Isoflavonoids ang Lignans in Legume : Nutritional and Healt Aspects in Humans. *J Nutr Biochem* 9. 193-200.
- Murray, R.K., Granner, D.K., dan Rodwell, V.W. 2006. *Biokimia Harper*. Edisi 27. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Nakagawa, M., dan Kawai, K. 1995. Contact allergy to kojic acid in skin care products. *Contact Dermatitis*. 32(1): 9–13.
- Nerya, O., Vaya, J., Musa, R., Izrael S., Ben-Arie, R. dan Tamir, S. 2003. Glabrene and Isoliquiritigenin as Tyrosinase Inhibitors from Licorice Roots. *Journal Agriculture Food Chemsitry*. 51(5): 1201-1207.
- Ng, Engelina. 2013. “Optimasi Krim Sarang Burung Walet Putih (*Aerodramus fuciphagus*) Tipe M/A dengan Variasi Emulgator sebagai Pencerah Kulit Menggunakan *Simplex Lattice Design*”. Skripsi. Pontianak : Program Studi Farmasi Universitas Tanjungpura.

- Nurrahman, Astuti, M., Suparmo dan Soesatya, M.H.N.E. 2013. The Rule of Black Soybean Tempe in Increasing Antioxidant Enzyme Activity and Human Lymphocyte Proliferation in Vivo. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2(9): 316-327.
- Pandit, N. T., dan Patravale, V. B. 2011. Design and Optimization of a Novel Method for Extraction of Genistein. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 73(2): 184-192.
- Paranjpe, P.S., Karve, M.S., dan Padhye, S.B. 2003. Characterization of Tyrosinase and Accompanying Laccase form *Amorphophallus campanulatus*. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics* Vol.40, February 2003,pp. 40-45.
- Park, J. S., Kim, D. H., Lee, J. K., Lee, J. Y., Kim, D. H., Kim, H. K., Lee, H. J., dan Kim H. C. 2010. Natural ortho-dihydroxyisoflavone derivatives from aged Korean fermented soybean paste as potent tyrosinase and melanin formation inhibitors. *Bioorganic & Medical Chemistry Letters* . 20 : 1162–1164.
- Pawiroharsono, S. 2001. *Prospek dan Manfaat Isoflavon untuk Kesehatan*. Jakarta: Direktorat Teknologi Bioindustri, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi.  
<http://www.tempointeraktif.com/medika/arsip/042001/indexisi.asp?fi:epus> [25 Januari 2014].
- Perdanakusuma, D. 2007. Anatomi Fisiologi dan Penyembuhan Kulit. *Plastic Surgery Departement*. 5-7.
- Permatasari, L. A. 2015. “Formulasi Sediaan Krim Ekstrak Etanol Tempe Kedelai (*Glycine max.L*) sebagai Agen Pemutih Kulit Alami” Tidak Dipublikasikan. Skripsi. Jember: Universitas Jember.
- Pramitasari, M. 2011. “Formulasi dan Uji Aktivitas Antijamur Krim Minyak Sereh (*Cymbopogon citrates* (DC) Stapf.) dengan Basis Vanishing Cream terhadap *Candida albicans* dengan Metode Sumuran”. Tidak Dipublikasikan. Skripsi. Jember: Universitas Jember.
- Punjaisee, C., Visessanguan, W., Punjaisee, S., dan Chaiyasut, C. 2011. Screening of Potential *Aspergillus sp.* for Production of Fermented Soybean with High Antioxidative Activity. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*. 10(2): 197-212.
- Pratt, D. E dan Hudson, B. J. F. 1985. Natural Antioxidants Not Exploited Commercially. *Antioxidants* : 1971-1989.

- Ramsden, C.A dan Patrick, A.R. 2010. Mechanistic Studies of Tyrosinase Suicide Inactivation. *Special Issue Reviews and Accounts* : 260-274.
- Rimawi, F., Yateem, H., dan Afaneh, I. 2014. Formulation And Evaluation Of A Moisturizing Day Cream Containing Olive Leaves Extract. *International Journal of Development Research*. 4(10): 1996-2000.
- Rostagno, M. A., Palma, M., dan Barroso, C. G. 2004. Pressurized liquid extraction of isoflavones from soybeans. *Analytica Chimica Acta*. 522 (2004): 169 – 177.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., dan Owen, S.C. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipient. Online Database*. London: Pharmaceutical Press and American Pharmaceutical Association.
- Sherma, J., dan Fried, B. 2003. *Handbook of Thin Layer Chromatography 3<sup>rd</sup> Edition, Revised and Expanded*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Soekarto, S. T. 1985. *Penilaian Organoleptik*. Bogor: Pusbangtepa IPB
- Song, T., Barua, K., Buseman, G., dan Murphy, A.P. 1998. Soy Isoflavone: Quality Control and a New Internal Standard. *Am J Clin Nutr* 68(suppl):1474s-1479s.
- Standar Nasional Indonesia. 1996. *Sediaan Tabir Surya*. SNI 16-4399-1996. Bandar Standarisasi Nasional.
- Sugihartini, N., Fudholi, A., Pramono, S., dan Sismindari. 2012. Validasi Metode Analisa Penetapan Kadar Epigallocatekin Galat dengan KLT-Densitometri. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. Vol. 2(1) : 81 – 87.
- Tranggono, R. I., dan Latifah, F. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Unitly, A. J. A. 2008. *Efektivitas Pemberian Tepung Kedelai dan Tepung Tempe Terhadap Kinerja Uterus Tikus Ovariectomi*. Tidak Diterbitkan. Tesis. Bandung : Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Vinayak B., dan Randive. 2007. Natural Ingredients for Creating Food Textured Cosmetics. *Cosmetic Science Technology Journal*.pg : 33
- Voigt, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi V. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Wall, P.E. 2005. *Thin-Layer Chromatography :A Modern Practical Approach*. United Kingdom : RSC.

Wasitaatmadja, S.M. 1997. *Penuntun Ilmu Kosmetik Medik*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press)

Wulandari, L. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. Jember: PT. Taman Kampus Presindo.



**DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN**

**B**

b/b : berat/berat  
BM : Berat Molekul

**C**

C : celcius  
Cm : centimeter

**D**

dPa.s : *deciPascal.second*  
DOPA : dihidroksi fenilalanin

**I**

IC : *Inhibitor Concentration*

**K**

KLT : Kromatografi Lapis Tipis  
KU : Kilo Unit

**M**

M : molar  
mg : miligram  
ml : mililiter  
mM : milimolar

**N**

n : jumlah  
ng : nanogram  
nm : nanometer

**P**

p.a : *pro analysis*  
pH : *Power of hydrogen*  
ppm : *part per million*



**R**

r : *coefficient correlation*  
RSD : simpangan baku relatif

**S**

SD : standar deviasi

**T**

TYRP1 : *tyrosinase related protein 1*  
TYRP2 : *DOPAcrome tautomerase*

**U**

U : unit  
UV : ultraviolet

**V**

v/v : volume/volume

## LAMPIRAN

### A. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Bobot serbuk kering = 442,268 gram

Ekstrak kental = 32,9 gram

Rendemen yang diperoleh yaitu =  $\frac{32,9 \text{ gram}}{442,268 \text{ gram}} \times 100 \% = 7,439\% \text{ b/b}$

### B. Pembuatan Fase Gerak

a. Fase gerak = Toluena : Etil asetat : Aseton : Asam format (20 : 4 : 2 : 1)

(Permatasari, 2015) dibuat sebanyak 20 ml

b. Perhitungan masing-masing komposisi fase gerak

$$\text{Toluena} = \frac{20}{27} \times 20 \text{ ml} = 15 \text{ ml}$$

$$\text{Etil asetat} = \frac{4}{27} \times 20 \text{ ml} = 3 \text{ ml}$$

$$\text{Aseton} = \frac{2}{27} \times 20 \text{ ml} = 1,5 \text{ ml}$$

$$\text{Asam format} = \frac{1}{27} \times 20 \text{ ml} = 0,74 \text{ ml}$$

### C. Data Penetapan Kadar Genistein pada Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

#### C.1 Standar Genistein

	Massa (ng)	Area
Standar 10 µg/ml	20	728,56
Standar 15 µg/ml	30	913,38
Standar 20 µg/ml	40	1225,33
Standar 30 µg/ml	60	1759,37
Standar 40 µg/ml	80	2017,50
Standar 60 µg/ml	120	2935,99
Standar 75 µg/ml	150	3571,84

Persamaan regresi :  $Y = 21,77X + 324$

$r = 0,99811$

## C.2 Sampel Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Replikasi	Penimbangan (mg)	Massa Hasil Percobaan (mg)	Kadar b/b (%)	RSD (%)
1	50,6	0,1244	0,246	1,497
2	50,5	0,120683	0,24	
3	50,6	0,1246	0,246	
		Rata-rata	0,244	

## C.3 Perhitungan Kadar

Misal : Area sampel replikasi 1 sebesar 1948,67

$$Y = 21,77 X + 324$$

$$1948,67 = 21,77X + 324$$

$$X = 74,64 \text{ ng}/6 \mu\text{l}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa genistein dalam 10 ml} &= \frac{74,64 \text{ ng}}{6 \mu\text{l}} \times 10000 \mu\text{l} = 124400 \text{ ng} \\ &= 0,1244 \text{ mg} \end{aligned}$$

Penimbangan ekstrak = 50,6 mg

$$\% \text{b/b} = \frac{\text{massa genistein}}{\text{massa ekstrak}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,1244 \text{ mg}}{50,6 \text{ mg}} \times 100\% = 0,246\% \frac{\text{b}}{\text{b}}$$

## D. Perhitungan Pembuatan Dapar Fosfat pH 6,5 50 Mm

a.  $\text{KH}_2\text{PO}_4$

BM  $\text{KH}_2\text{PO}_4 = 136,09$

$$M = \frac{\text{massa}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{V(\text{ml})}$$

$$50 \text{ mM} = \frac{X}{136,09} \times \frac{1000}{250 \text{ ml}}$$

$$6804,5 \text{ mg} = 4X$$

$$X = 1,701125 \text{ gram } \text{KH}_2\text{PO}_4$$

$$\text{Untuk 300 ml, maka } \text{KH}_2\text{PO}_4 \text{ yang diambil} = \frac{50\text{ml } \text{KH}_2\text{PO}_4}{x} = \frac{200\text{ml}}{300\text{ml}}$$

$$= 75\text{ml diambil}$$

b. NaOH

$$\text{BM NaOH} = 40$$

$$M = \frac{\text{massa}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{V(\text{ml})}$$

$$50\text{mM} = \frac{X}{40} \times \frac{1000}{50\text{ml}}$$

$$2000 \text{ mg} = 20X$$

$$X = 100 \text{ mg NaOH}$$

$$\text{Untuk 300ml, maka NaOH yang diambil} = \frac{12,6\text{ml NaOH}}{x} = \frac{200\text{ml}}{300\text{ml}}$$

$$= 18,9\text{ml diambil}$$

Jadi, untuk membuat dapar fosfat pH 6,5 50 mM maka  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ditimbang sebanyak 1,701125 gram dilarutkan dalam akuades hingga volume 250 ml, sehingga diperoleh larutan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  50 mM. Kemudian NaOH ditimbang sebanyak 100 mg dilarutkan dalam akuades hingga volume 50 ml, sehingga diperoleh larutan NaOH 50 mM. Larutan dapar fosfat pH 6,5 dibuat dengan cara menambahkan 75 ml  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  50mM dengan 18,9 ml NaOH 50mM lalu diencerkan dengan akuades hingga volume 300 ml. Lalu dilakukan pengukuran pH dengan pH meter sampai diperoleh pH 6,5, jika perlu ditambahkan NaOH untuk meningkatkan pH larutan.

#### E. Perhitungan Larutan Substrat L-Tirosin 1mM

$$\text{BM L-tirosin} = 181,19$$

$$M = \frac{\text{Massa}}{\text{BM}} \times \frac{1000}{V(\text{ml})}$$

$$0,001 \text{ M} = \frac{X}{181,19} \times \frac{1000}{25\text{ml}}$$

$$X = 0,0045298 \text{ gram}$$

$$= 0,00453 \text{ gram}$$

= 4,53 mg dilarutkan dalam 25 ml buffer fosfat 50mM pH 6,5

#### F. Perhitungan Preparasi Enzim Tirosinase 250 Unit/ml

Enzim *mushroom tyrosinase* yang tersedia dalam kemasan adalah 50 KU. Pembuatan larutan stok enzim tirosinase dilakukan dengan cara melarutkan enzim tirosinase 50 KU dalam larutan dapar fosfat pH 6,5 hingga 10 ml. Sediaan 10 ml yang dihasilkan, dibagi menjadi 2 bagian sehingga tiap 5 ml mengandung enzim *mushroom tyrosinase* 25000 Unit. Kemudian sediaan 5 ml *mushroom tyrosinase* 25000 Unit di *adjust* dengan larutan dapar fosfat pH 6,5 hingga 10 ml. Sediaan 10 ml *mushroom tyrosinase* 25000 Unit dibagi menjadi 10 bagian sehingga tiap 1 ml mengandung *mushroom tyrosinase* 2500 Unit. Sediaan 1 ml *mushroom tyrosinase* 2500 Unit di *adjust* dengan larutan dapar fosfat pH 6,5 hingga 10ml dan disimpan di dalam *freezer* suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ . Tiap 1 ml sediaan mengandung *mushroom tyrosinase* 250 Unit.

#### G. Contoh Perhitungan Preparasi Standar Genistein dan Sampel

##### a. Standar genistein

Ditimbang 5,785 mg standar induk genistein kemudian dilarutkan dalam 10 ml metanol p.a.

$$\frac{5,785 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 578,5 \mu\text{g/ml}$$

Jadi diperoleh larutan baku induk 578,5  $\mu\text{g/ml}$

Untuk larutan baku konsentrasi 80,99  $\mu\text{g/ml}$ , maka dilakukan pengenceran larutan baku induk dengan dapar fosfat 50 mM pH 6,5.

$$\frac{0,14 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 578,5 \mu\text{g/ml} = 80,99 \mu\text{g/ml}$$

##### b. Sampel ekstrak etanol tempe kedelai

Ekstrak etanol tempe kedelai ditimbang 20,14 mg kemudian dilarutkan dalam 2 ml aquades, lalu di *adjust* dengan dapar fosfat pH 6,5 ad 10 ml.

$$\frac{20,14 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 2014 \mu\text{g/ml}$$

Untuk mendapatkan larutan sampel 20,14 µg/ml, maka dilakukan pengenceran sampel dan dilarutkan dengan dapar fosfat 50 mM pH 6,5 ad 10 ml.

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 2014 \text{ µg/ml} = 201,4 \text{ µg/ml}$$

$$\text{Dipipet} = \frac{0,5 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} \times 201,4 \text{ µg/ml} = 20,14 \text{ µg/ml}$$

## H. Data Hasil Uji Aktivitas Hambatan Tirosinase

### H.1 Absorbansi Plate Kosong

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	0,050	0,047	0,050	0,049	0,049	0,050	0,050	0,051	0,049
B	0,048	0,048	0,050	0,049	0,049	0,050	0,051	0,050	0,048
C	0,048	0,048	0,049	0,050	0,052	0,050	0,048	0,049	0,049
D	0,047	0,048	0,049	0,057	0,051	0,048	0,047	0,051	0,046
E	0,047	0,049	0,050	0,048	0,051	0,052	0,050	0,048	0,049
F	0,047	0,047	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,049
G	0,049	0,048	0,049	0,049	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050

### H.2 Absorbansi Plate Isi

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	0,393	0,394	0,294	0,274	0,249	0,206	0,182	0,154	0,177
B	0,399	0,397	0,295	0,279	0,247	0,200	0,188	0,153	0,181
C	0,391	0,392	0,292	0,278	0,248	0,198	0,183	0,153	0,170
D	0,312	0,287	0,264	0,246	0,229	0,204	0,182	0,164	0,147
E	0,307	0,291	0,269	0,248	0,234	0,212	0,182	0,159	0,143
F	0,307	0,287	0,270	0,249	0,236	0,209	0,182	0,165	0,146

### H.3 Hasil Pengurangan Absorbansi Plate Isi dengan Plate Kosong

#### a) Sampel Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Dapar	10,07 ppm	15,32 ppm	20,14 ppm	40,28 ppm	60,42 ppm	80,56 ppm	100,7 ppm	122,5 6 ppm	
A	0,343	0,347	0,244	0,225	0,200	0,156	0,132	0,103	0,128
B	0,351	0,349	0,245	0,230	0,198	0,150	0,137	0,103	0,133
C	0,343	0,344	0,243	0,228	0,196	0,148	0,135	0,104	0,121

b) Standar Genistein

	80,99 ppm	92,56 ppm	104,1 3ppm	115,7 ppm	127,27 ppm	138,84 ppm	150,41 ppm	161,98 ppm	173,55 ppm
D	0,263	0,240	0,216	0,198	0,181	0,155	0,134	0,115	0,098
E	0,260	0,242	0,219	0,200	0,183	0,160	0,132	0,111	0,094
F	0,260	0,240	0,220	0,199	0,186	0,159	0,132	0,115	0,097

H.4 Perhitungan nilai IC<sub>50</sub> dan %inhibisi

Masing-masing replikasi dihitung % inhibisi dan nilai IC<sub>50</sub>

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A \text{ hit kontrol negatif} - A \text{ hit sampel/standar}}{A \text{ hit kontrol negatif}} \times 100 \%$$

Contoh Perhitungan :

Kontrol negatif

A <sub>k</sub> *	A <sub>478</sub> *	A <sub>hit</sub> *	SD	CV
0,050	0,393	0,343	0,0046188	1,336201%
0,048	0,399	0,351		
0,048	0,391	0,343		
Rata-rata		0,346		

Sampel/Standar

Konsentrasi (ppm)	A <sub>k</sub> *	A <sub>478</sub> *	A <sub>hit</sub> *	% hambatan
Sampel 15,32 ppm replikasi 1	0,050	0,294	0,244	29,47

\*) : A<sub>k</sub> = absorbansi plate kosong

A<sub>478</sub> = absorbansi sampel/standar pada 478 nm

A<sub>hit</sub> = A<sub>478</sub> - A<sub>k</sub>

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A \text{ hit kontrol negatif} - A \text{ hit sampel/standar}}{A \text{ hit kontrol negatif}} \times 100 \%$$

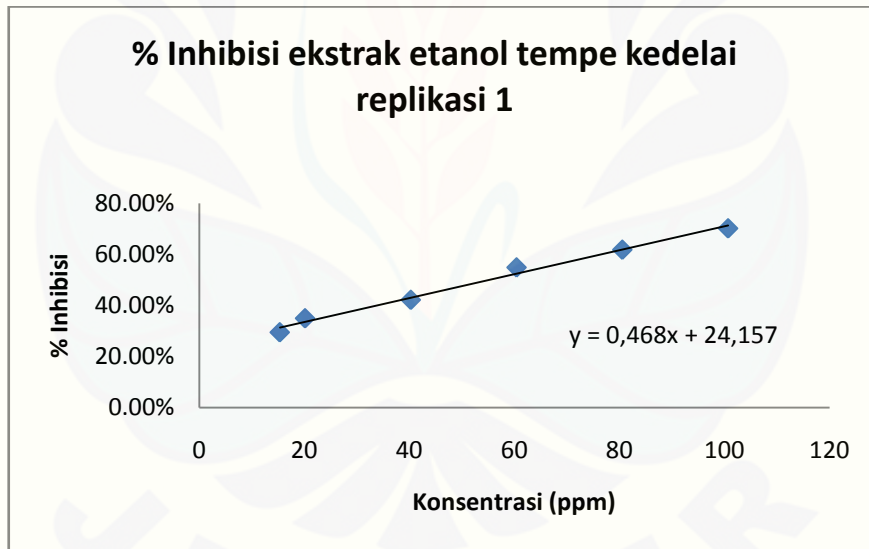
$$= \frac{0,346 - 0,244}{0,346} \times 100 \% = 29,47\%$$

a) % Inhibisi Ekstrak Etanol Tempe Kedelai Replikasi 1

Konsentrasi (ppm)	dapar	10,07 ppm	15,32 ppm	20,14 ppm	40,28 ppm	60,42 ppm	80,56 ppm	100,7 ppm	122,56 ppm
Absorbansi	0,343	0,347	0,244	0,225	0,200	0,156	0,132	0,103	0,128

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi
15,32	$\frac{0,346-0,244}{0,346} \times 100 \% = 29,47\%$
20,14	$\frac{0,346-0,225}{0,346} \times 100 \% = 34,97\%$
40,28	$\frac{0,346-0,2}{0,346} \times 100 \% = 42,20\%$
60,42	$\frac{0,346-0,156}{0,346} \times 100 \% = 54,91\%$
80,56	$\frac{0,346-0,132}{0,346} \times 100 \% = 61,85\%$
100,7	$\frac{0,346-0,103}{0,346} \times 100 \% = 70,23\%$

$y = 0,468 x + 24,157$   
 $r = 0,99478$   
 $IC_{50} = 0,468 x + 24,157$   
 $50 = 0,468 x + 24,157$   
 $= 55,22 \text{ ppm}$



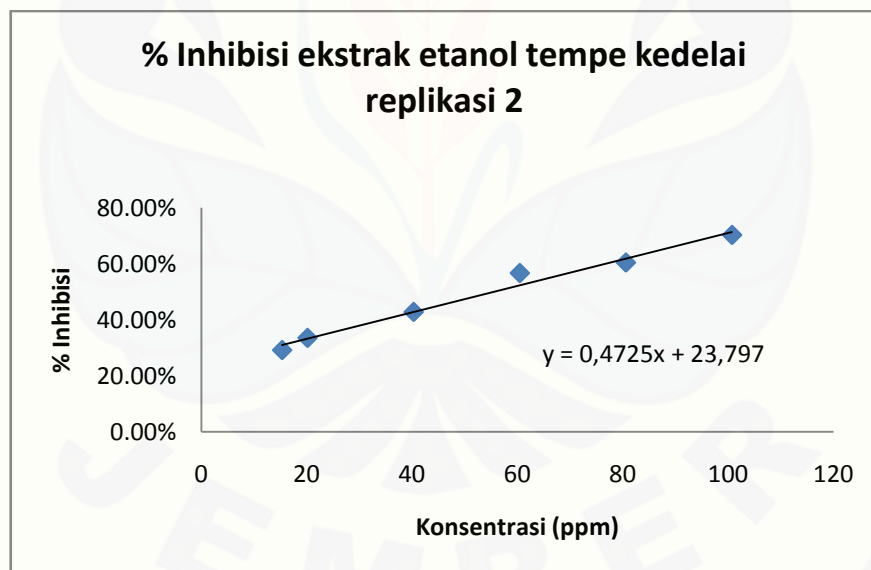
b) % Inhibisi Ekstrak Etanol Tempe Kedelai Replikasi 2

Konsentrasi (ppm)	dapar	10,07 ppm	15,32 ppm	20,14 ppm	40,28 ppm	60,42 ppm	80,56 ppm	100,7 ppm	122,56 ppm
absorbansi		0,351	0,349	0,245	0,230	0,198	0,150	0,137	0,103



Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi
15,32	$\frac{0,346-0,245}{0,346} \times 100 \% = 29,19\%$
20,14	$\frac{0,346-0,23}{0,346} \times 100 \% = 33,53\%$
40,28	$\frac{0,346-0,198}{0,346} \times 100 \% = 42,77\%$
60,42	$\frac{0,346-0,15}{0,346} \times 100 \% = 56,65\%$
80,56	$\frac{0,346-0,137}{0,346} \times 100 \% = 60,40\%$
100,7	$\frac{0,346-0,103}{0,346} \times 100 \% = 70,23\%$

$y = 0,4725x + 23,797$   
 $r = 0,9902$   
 $IC_{50} = 0,4725x + 23,797$   
 $50 = 0,4725x + 23,797$   
 $= 55,46 \text{ ppm}$

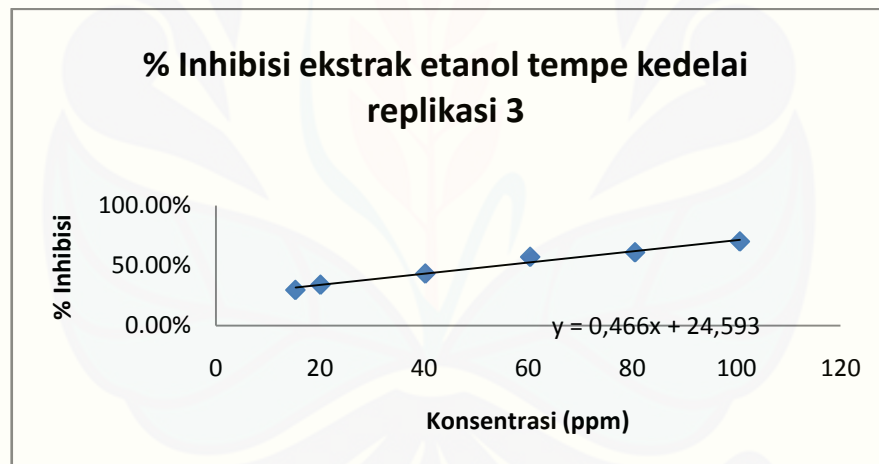


c) % Inhibisi Ekstrak Etanol Tempe Kedelai Replikasi 3

Konsentrasi (ppm)	dapar	10,07 ppm	15,32 ppm	20,14 ppm	40,28 ppm	60,42 ppm	80,56 ppm	100,7 ppm	122,56 ppm
Absorbansi	0,343	0,344	0,243	0,228	0,960	0,148	0,135	0,104	0,12

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi
15,32	$\frac{0,346-0,243}{0,346} \times 100 \% = 29,77\%$
20,14	$\frac{0,346-0,228}{0,346} \times 100 \% = 34,10\%$
40,28	$\frac{0,346-0,196}{0,346} \times 100 \% = 43,35\%$
60,42	$\frac{0,346-0,148}{0,346} \times 100 \% = 57,22\%$
80,56	$\frac{0,346-0,135}{0,346} \times 100 \% = 60,98\%$
100,7	$\frac{0,346-0,104}{0,346} \times 100 \% = 70\%$

$y = 0,466x + 24,593$   
 $r = 0,99$   
 $IC_{50} = 0,466x + 24,593$   
 $50 = 0,466x + 24,593$   
 $= 54,52 \text{ ppm}$



d) Rata-Rata % Inhibisi per Replikasi

Konsentrasi (ppm)	Rata-rata	SD	CV (%)
15,32	29,48%	0,29	0,98
20,14	34,20%	0,73	2,12
40,28	42,77%	0,58	1,34
60,42	56,26%	1,20	2,14
80,56	61,08%	0,73	1,19
100,7	70,23%	0,00	0,00

e) IC<sub>50</sub> Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

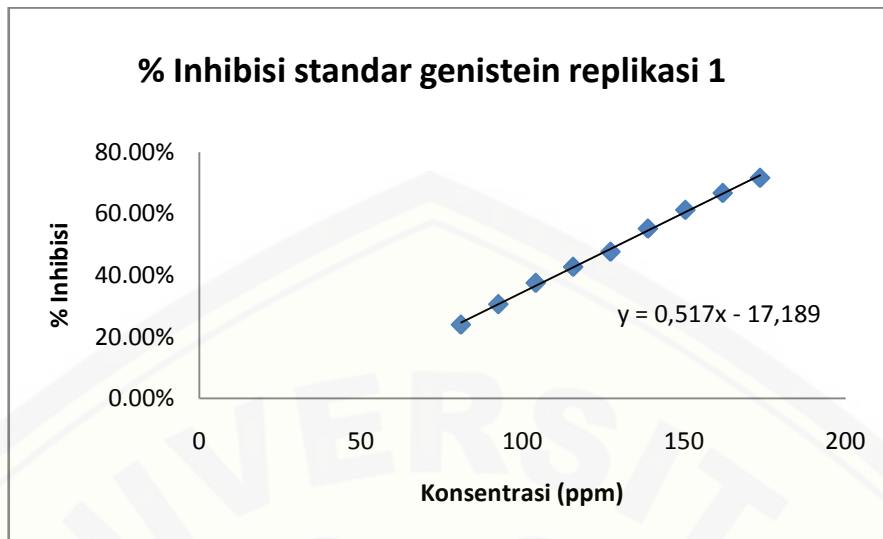
Replikasi	IC <sub>50</sub>	SD	CV(%)
1	55,22 ppm	0,49	0,89
2	55,46 ppm		
3	54,52 ppm		
Rata-rata	55,07 ppm		

## f) % Inhibisi Standar Genistein Replikasi 1

Konsentrasi (ppm)	80,99 ppm	92,56 ppm	104,1 ppm	115,7 ppm	127,3 ppm	138,8 ppm	150,4 ppm	161,9 ppm	173,6 ppm
Absorbansi	0,263	0,240	0,216	0,198	0,181	0,155	0,134	0,115	0,098

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi
80,99	$\frac{0,346-0,263}{0,346} \times 100 \% = 23,99\%$
92,56	$\frac{0,346-0,24}{0,346} \times 100 \% = 30,64\%$
104,13	$\frac{0,346-0,216}{0,346} \times 100 \% = 37,57\%$
115,7	$\frac{0,346-0,198}{0,346} \times 100 \% = 42,77\%$
127,27	$\frac{0,346-0,181}{0,346} \times 100 \% = 47,69\%$
138,84	$\frac{0,346-0,155}{0,346} \times 100 \% = 55,20\%$
150,41	$\frac{0,346-0,134}{0,346} \times 100 \% = 61,27\%$
161,98	$\frac{0,346-0,115}{0,346} \times 100 \% = 66,76\%$
173,55	$\frac{0,346-0,098}{0,346} \times 100 \% = 71,68\%$

$y = 0,517x - 17,189$   
 $r = 0,999$   
 $IC_{50} = 0,517x - 17,189$   
 $50 = 0,517x - 17,189$   
 $= 129,96 \text{ ppm}$

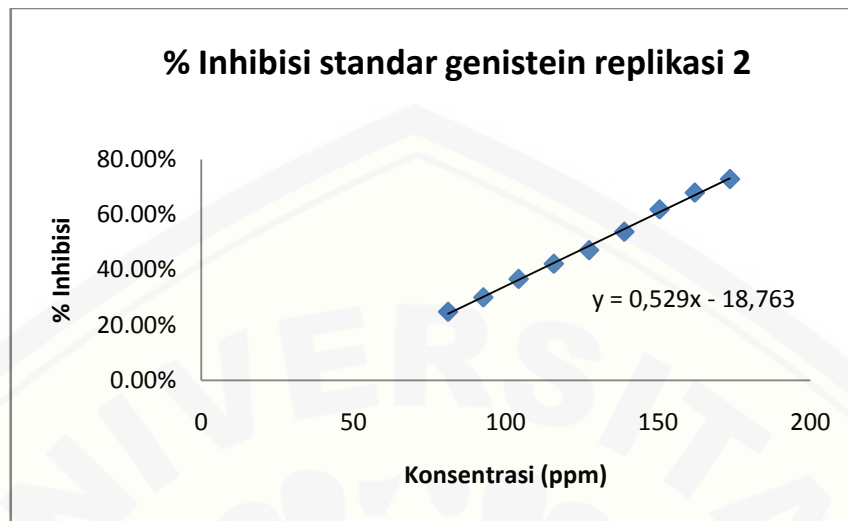


g) % Inhibisi Standar Genistein Replikasi 2

Konsentrasi (ppm)	80,99 ppm	92,56 ppm	104,1 ppm	115,7 ppm	127,3 ppm	138,8 ppm	150,4 ppm	161,9 8 ppm	173,6 ppm
Absorbansi	0,260	0,242	0,219	0,200	0,183	0,160	0,132	0,111	0,094

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi
80,99	$\frac{0,346-0,26}{0,346} \times 100 \% = 24,85\%$
92,56	$\frac{0,346-0,242}{0,346} \times 100 \% = 30,06\%$
104,13	$\frac{0,346-0,219}{0,346} \times 100 \% = 36,70\%$
115,7	$\frac{0,346-0,2}{0,346} \times 100 \% = 42,20\%$
127,27	$\frac{0,346-0,183}{0,346} \times 100 \% = 47,11\%$
138,84	$\frac{0,346-0,16}{0,346} \times 100 \% = 53,76\%$
150,41	$\frac{0,346-0,132}{0,346} \times 100 \% = 61,85\%$
161,98	$\frac{0,346-0,111}{0,346} \times 100 \% = 67,92\%$
173,55	$\frac{0,346-0,094}{0,346} \times 100 \% = 72,83\%$

$y = 0,529x - 18,763$   
 $r = 0,99869$   
 $IC_{50} = 0,529x - 18,763$   
 $50 = 0,529x - 18,763$   
 $= 129,99 \text{ ppm}$

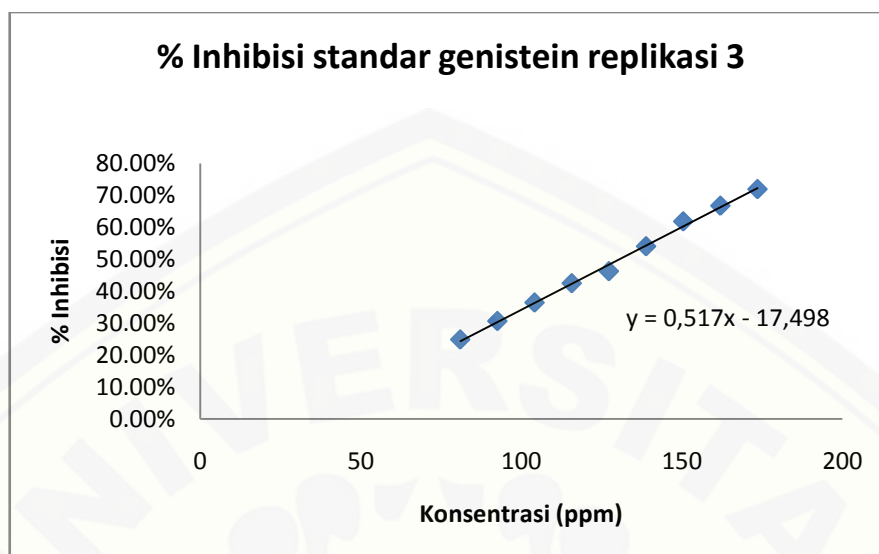


h) % Inhibisi Standar Genistein Replikasi 3

Konsentrasi (ppm)	80,99 ppm	92,56 ppm	104,1 ppm	115,7 ppm	127,3 ppm	138,8 ppm	150,4 ppm	161,9 ppm	173,6 ppm
Absorbansi	0,260	0,240	0,220	0,199	0,186	0,159	0,132	0,115	0,097

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi
80,99	$\frac{0,346-0,26}{0,346} \times 100 \% = 24,85\%$
92,56	$\frac{0,346-0,24}{0,346} \times 100 \% = 30,64\%$
104,13	$\frac{0,346-0,22}{0,346} \times 100 \% = 36,42\%$
115,7	$\frac{0,346-0,199}{0,346} \times 100 \% = 42,48\%$
127,27	$\frac{0,346-0,186}{0,346} \times 100 \% = 46,24\%$
138,84	$\frac{0,346-0,159}{0,346} \times 100 \% = 54,05\%$
150,41	$\frac{0,346-0,132}{0,346} \times 100 \% = 61,85\%$
161,98	$\frac{0,346-0,115}{0,346} \times 100 \% = 66,76\%$
173,55	$\frac{0,346-0,097}{0,346} \times 100 \% = 71,96\%$

$y = 0,517x - 17,498$   
 $r = 0,99827$   
 $IC_{50} = 0,517x - 17,498$   
 $50 = 0,517x - 17,498$   
 $= 130,56 \text{ ppm}$



i) Rata-Rata % Inhibisi per Replikasi

Konsentrasi (ppm)	Rata-rata	SD	CV (%)
80,99	24,56%	0,50	2,02
92,56	30,45%	0,33	1,10
104,13	36,90%	0,60	1,62
115,7	42,48%	0,28	0,67
127,27	47,01%	0,73	1,55
138,84	54,34%	0,76	1,40
150,41	61,66%	0,33	0,54
161,98	67,15%	0,67	0,997
173,55	72,16%	0,60	0,83

j) IC<sub>50</sub> Standar Genistein

Replikasi	IC <sub>50</sub>	SD	CV(%)
1	129,96ppm	0,34	0,26
2	129,99ppm		
3	130,56ppm		
Rata-rata	130,17 ppm		

### I. Perhitungan Dosis Ekstrak Etanol Tempe Kedelai untuk Formula *Vanishing Cream* dan Lotion

IC<sub>50</sub> ekstrak etanol tempe kedelai : 55,07 µg/ml

$$: 55,07 \times 10^{-6} \text{ g/ml}$$

Berat jenis sediaan dianggap 1 gram/ml, sehingga dalam 1 gram sediaan mengandung  $5,507 \times 10^{-5}$  gram ekstrak.

Untuk 100 gram sediaan maka dibutuhkan ekstrak sebanyak  $5,507 \times 10^{-3}$  gram.

$$\% \text{ b/b} = 0,005507/100 \text{ gram} \times 100\% = 5,507 \times 10^{-3} \% \text{ b/b}$$

Dosis ekstrak etanol tempe kedelai dalam 100 gram sediaan sebesar  $5,507 \times 10^{-3} \% \text{ b/b}$  terlalu kecil sehingga dikalikan 100, jadi :

Dosis ekstrak etanol tempe kedelai dalam masing-masing sediaan =

$$100 \times \text{IC}_{50} = 100 \times 5,507 \times 10^{-5} \text{ g/ml} \\ = 5,507 \times 10^{-3} \text{ g/ml}$$

Sehingga dalam 1 gram sediaan dibutuhkan ekstrak sebanyak  $5,507 \times 10^{-3}$  gram.

Dalam 100 gram sediaan dibutuhkan ekstrak sebanyak 0,5507 gram.

### J. Data Penetapan Kadar Isoflavon Genistein dalam Sediaan *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

J.1 Data Kadar Isoflavon Genistein dalam Sediaan *Vanishing Cream* Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Sediaan		Penimbangan (mg)	Massa Hasil Percobaan (mg)	Kadar b/b (%)	Rata-rata (%)	RSD (%)
<i>Vanishing cream 1</i>	Rep 1	300,6	0,014103	0,0046916	0,0047140	0,412
	Rep 2	300,8	0,014218	0,0047236		
	Rep 3	300,9	0,014218	0,0047267		
<i>Vanishing cream 2</i>	Rep 1	300,4	0,014443	0,0048080	0,0048156	0,644
	Rep 2	300,6	0,014578	0,0048497		
	Rep 3	300,3	0,014382	0,0047891		
<i>Vanishing cream 3</i>	Rep 1	300,5	0,013711	0,0045629	0,0047919	4,443
	Rep 2	300,9	0,014997	0,0049839		
	Rep 3	300,8	0,014525	0,0048288		
Rata -rata					0,0047738	1,114

## J.2 Data Kadar Isoflavon Genistein dalam Sediaan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Sediaan		Penimbangan (mg)	Massa Hasil Percobaan (mg)	Kadar b/b (%)	Rata-rata (%)	RSD (%)
Lotion 1	Rep 1	300	0,014285	0,0047617	0,0047770	1,178
	Rep 2	300	0,014190	0,00473		
	Rep 3	302	0,014615	0,0048394		
Lotion 2	Rep 1	301	0,014402	0,0047847	0,0047810	0,524
	Rep 2	300	0,014263	0,0047543		
	Rep 3	302	0,014508	0,0048040		
Lotion 3	Rep 1	302	0,014603	0,0048354	0,0048028	0,742
	Rep 2	301	0,014473	0,0048083		
	Rep 3	301	0,014342	0,0047648		
Rata-rata					0,0047869	0,290

Perhitungan penetapan kadar isoflavon genistein pada sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai dilakukan dengan cara sebagai berikut :

Misal perhitungan kadar isoflavon genistein pada sediaan *vanishing cream* ekstrak etanol tempe kedelai.

*Vanishing cream 1*

$$\text{➤ Replikasi 1} = 420,99 = 29,47x + 171,6$$

$$X = 8,462 \text{ ng} / 6 \mu\text{l}$$

$$\frac{8,462 \text{ ng}}{6 \mu\text{l}} \times 10000 \mu\text{l} = 14103,333 \text{ ng}$$

$$= 0,014103 \text{ mg}$$

$$\% \frac{b}{b} = \frac{0,014103 \text{ mg}}{300,6 \text{ mg}} \times 100\% = 0,0046916 \% \frac{b}{b}$$

$$\text{➤ Replikasi 2} = 423,03 = 29,47x + 171,6$$

$$X = 8,531 \text{ ng} / 6 \mu\text{l}$$

$$\frac{8,531 \text{ ng}}{6 \mu\text{l}} \times 10000 \mu\text{l} = 14218,333 \text{ ng}$$

$$= 0,014218333 \text{ mg}$$

$$\% \frac{b}{b} = \frac{0,014218 \text{ mg}}{300,8 \text{ mg}} \times 100\% = 0,0047267 \% \frac{b}{b}$$



$$\text{➤ Replikasi 3} = 423,04 = 29,47x + 171,6$$

$$X = 8,531 \text{ ng} / 6 \text{ ml}$$

$$\frac{8,531 \text{ ng}}{6 \mu\text{l}} \times 10000 \mu\text{l} = 14218,333 \text{ ng}$$

$$= 0,014218333 \text{ mg}$$

$$\% \frac{b}{b} = \frac{0,014218 \text{ mg}}{300,9 \text{ mg}} \times 100\% = 0,0047252 \text{ } \frac{b}{b}$$

Rata-rata kadar genistein dalam sediaan *vanishing cream* 1=

$$\frac{0,014103 \text{ mg} + 0,014218 \text{ mg} + 0,014218 \text{ mg}}{3} = 0,014180 \text{ mg genistein}$$

Rata-rata % genistein =

$$\frac{0,0046916 \% + 0,0047236 \% + 0,0047267 \%}{3} = 0,0047140 \text{ } \frac{b}{b}$$

$$SD = \sqrt{\frac{(0,0046916 \text{ mg} - 0,0047140 \text{ mg})^2 + (0,0047236 \text{ mg} - 0,0047140 \text{ mg})^2 + (0,0047267 \text{ mg} - 0,0047140 \text{ mg})^2}{3-1}} =$$

$$0,0000194$$

$$RSD = \frac{SD}{\text{Rata-rata genistein}} \times 100\% = \frac{0,0000194}{0,0047140} \times 100\% = 0,412 \%$$

#### K. Data Akurasi Sediaan *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Adisi 30 %	Penimbang an Sampel (mg)	Penambah an Standar Adisi (mg)	Massa Teoritis (ng)	Massa Hasil Percoba an (ng)	Recove ry (%)	Rata- rata (%)	RSD (%)
<i>Vanishing cream</i>	300	0,00430	11,17	11,12	99,55	99,49	0,45
	300	0,00430	11,17	11,06	99,01		
	301	0,00430	11,20	11,19	99,91		
Lotion	301	0,00430	11,22	11,22	100	99,997	0,62
	300	0,00430	11,20	11,13	99,37		
	301	0,00430	11,22	11,29	100,62		

Perhitungan sampel *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai pada uji akurasi dengan metode standar adisi dilakukan dengan cara sebagai berikut :

Kadar genistein pada sampel *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai yang dipakai pada perhitungan uji akurasi adalah 0,0047738% untuk sampel *vanishing cream* dan 0,0047869% untuk sampel lotion (rata-rata kadar genistein dari hasil uji penetapan kadar sediaan).

a) Pembuatan sampel adisi 30% (Sampel *Vanishing Cream*)

Jika sampel ditimbang 300 mg, maka standar genistein yang ditambahkan dalam sampel sebesar:

$$\frac{300 \text{ mg sampel} \times 0,0047738 \text{ gram} \times 0,3}{100 \text{ gram}} = 0,00430 \text{ mg standar genistein}$$

Menimbang standar genistein 4,3 mg, dimasukkan labu ukur 10 ml dan ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas.

$$\frac{4,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 430 \text{ ppm}$$

Lalu standar genistein diencerkan,

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 430 \text{ } \mu\text{g/ml} = 43 \text{ ppm}$$

$$\text{Diencerkan, } \frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 43 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4,3 \text{ ppm}$$

Cara kerja :

- a) Menimbang 300 mg sampel *vanishing cream* ekstrak etanol tempe kedelai dan dilarutkan dengan metanol p.a, kemudian dimasukkan labu ukur 10 ml
- b) Memipet 1 ml larutan standar 4,3 ppm, memasukkan ke labu ukur 10 ml yang berisi larutan sampel, sehingga telah dilakukan adisi sebanyak 0,00430 mg kedalam 300 mg sampel

$$1 \text{ ml dari } 4,3 \text{ ppm} = \frac{4,3 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} \times 1 \text{ ml} = 0,00430 \text{ mg}$$

- c) Menambahkan metanol sampai tanda batas

## b) Pembuatan sampel adisi 30% (Sampel Lotion)

Jika sampel ditimbang 300 mg, maka standar genistein yang ditambahkan dalam sampel sebesar:

$$\frac{300 \text{ mg sampel} \times 0,0047869 \text{ gram} \times 0,3}{100 \text{ gram}} = 0,00431 \text{ mg standar genistein}$$

Menimbang standar genistein 4,3 mg, dimasukkan labu ukur 10 ml dan ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas.

$$\frac{4,3 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/ml} = 430 \text{ ppm}$$

Lalu standar genistein diencerkan,

$$\frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 430 \text{ } \mu\text{g/ml} = 43 \text{ ppm}$$

$$\text{Diencerkan, } \frac{1 \text{ ml}}{10 \text{ ml}} \times 43 \text{ } \mu\text{g/ml} = 4,3 \text{ ppm}$$

Cara kerja :

- a) Menimbang 300 mg sampel lotion ekstrak etanol tempe kedelai dan dilarutkan dengan metanol p.a, kemudian dimasukkan labu ukur 10 ml
- b) Memipet 1 ml larutan standar 4,3 ppm, memasukkan ke labu ukur 10 ml yang berisi larutan sampel, sehingga telah dilakukan adisi sebanyak 0,00430 mg kedalam 300 mg sampel

$$1 \text{ ml dari } 4,3 \text{ ppm} = \frac{4,3 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} \times 1 \text{ ml} = 0,00430 \text{ mg}$$

- c) Menambahkan metanol sampai tanda batas

c) Perhitungan % *recovery*

Misal: pada replikasi 1 dari sediaan *vanishing cream* ekstrak etanol tempe kedelai dengan penimbangan 300 mg

Konsentrasi teoritis

$$\frac{0,0047738 \text{ gram}}{100 \text{ gram}} \times 300 \text{ mg sampel} = 0,0143214 \text{ mg} + 0,00430 \text{ mg}$$

$$= 0,0186214 \text{ mg}$$

(jumlah genistein dalam sampel adisi 30%)

$$\frac{0,0186214 \text{ mg}}{10\text{ml}} \times 1000 \mu\text{g/ml} = 1,86214 \text{ ng}/\mu\text{l} \times 6 \mu\text{l} = 11,17 \text{ ng genistein/ } 6 \mu\text{l}$$

Hasil percobaan : 11,12 ng

$$\% \text{ recovery} = \frac{11,12 \text{ ng}}{11,17 \text{ ng}} \times 100\% = 99,55 \%$$

## L. Data Evaluasi Fisik Dan Kimia *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

### L.1 Data Hasil Pengujian Organoleptis *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Pengamatan visual	<i>Vanishing Cream</i>	Lotion
warna	Rep 1 = putih kekuningan	Rep 1 = putih kekuningan
	Rep 2 = putih kekuningan	Rep 2 = putih kekuningan
	Rep 3 = putih kekuningan	Rep 3 = putih kekuningan
bentuk	Rep 1 = massa krim	Rep 1 = massa lotion
	Rep 2 = massa krim	Rep 2 = massa lotion
	Rep 3 = massa krim	Rep 3 = massa lotion
tekstur	Rep 1 = lembut	Rep 1 = lembut
	Rep 2 = lembut	Rep 2 = lembut
	Rep 3 = lembut	Rep 3 = lembut
bau	Rep 1 = bau harum mawar	Rep 1 = bau harum mawar
	Rep 2 = bau harum mawar	Rep 2 = bau harum mawar
	Rep 3 = bau harum mawar	Rep 3 = bau harum mawar

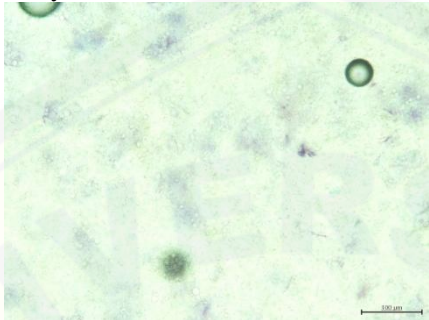
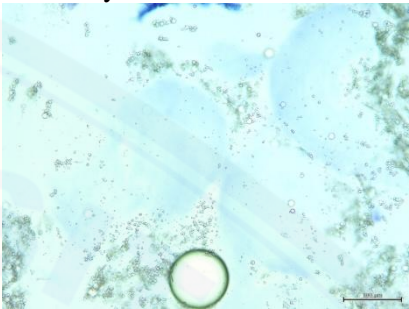
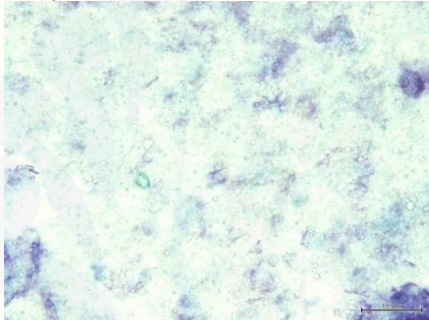
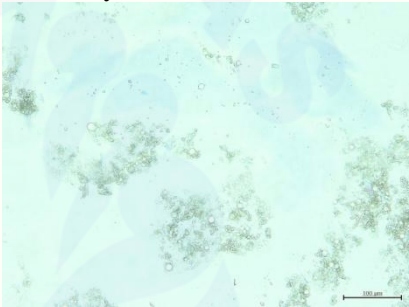
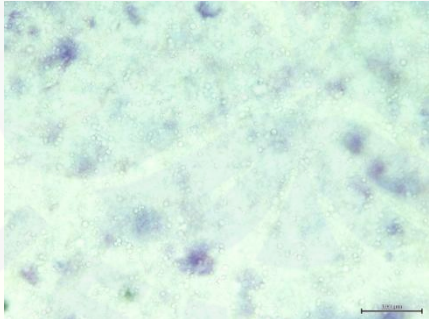
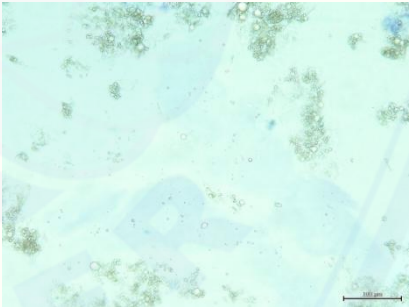
### L.2 Data Hasil Pengujian pH *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Replikasi	<i>Vanishing Cream</i>	Lotion
1	6,69	6,8
2	6,67	6,79
3	6,7	6,79
Rata-rata	6,69 ± 0,23	6,79 ± 0,08

### L.3 Data Hasil Pengujian Viskositas *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Replikasi	<i>Vanishing Cream</i>	Lotion
1	150 Dpas	150 Dpas
2	150 Dpas	145 Dpas
3	150 Dpas	145 Dpas
Rata-rata	150 Dpas	147 ± 2,89 Dpas

L.4 Data Hasil Pengujian Tipe Emulsi *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

Replikasi	<i>Vanishing cream</i>	Lotion
1	Warna biru dari metilen biru menyebar secara merata 	Warna biru muda dari metilen biru menyebar secara merata 
2	Warna biru dari metilen biru menyebar secara merata 	Warna biru muda dari metilen biru menyebar secara merata 
3	Warna biru dari metilen biru menyebar secara merata 	Warna biru muda dari metilen biru menyebar secara merata 

L.5 Data Uji Daya Sebar *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

- a. Tabulasi hasil diameter sebar krim pada pengujian daya sebar *vanishing cream* ekstrak etanol tempe kedelai

Beban yang diberikan (gram)	Daya sebar (cm)		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
5	5,95	6,00	5,90
10	6,00	6,10	6,15
15	6,20	6,35	6,20
20	6,20	6,45	6,30
25	6,35	6,50	6,35
30	6,40	6,55	6,50
35	6,50	6,60	6,70
40	6,50	6,70	6,70
45	6,50	6,70	6,70
50	6,50	6,70	6,70
Rata-rata $\pm$ SD = $\frac{6,50+6,70 +6,70}{3} = 6,63 \text{ cm} \pm 0,11$			

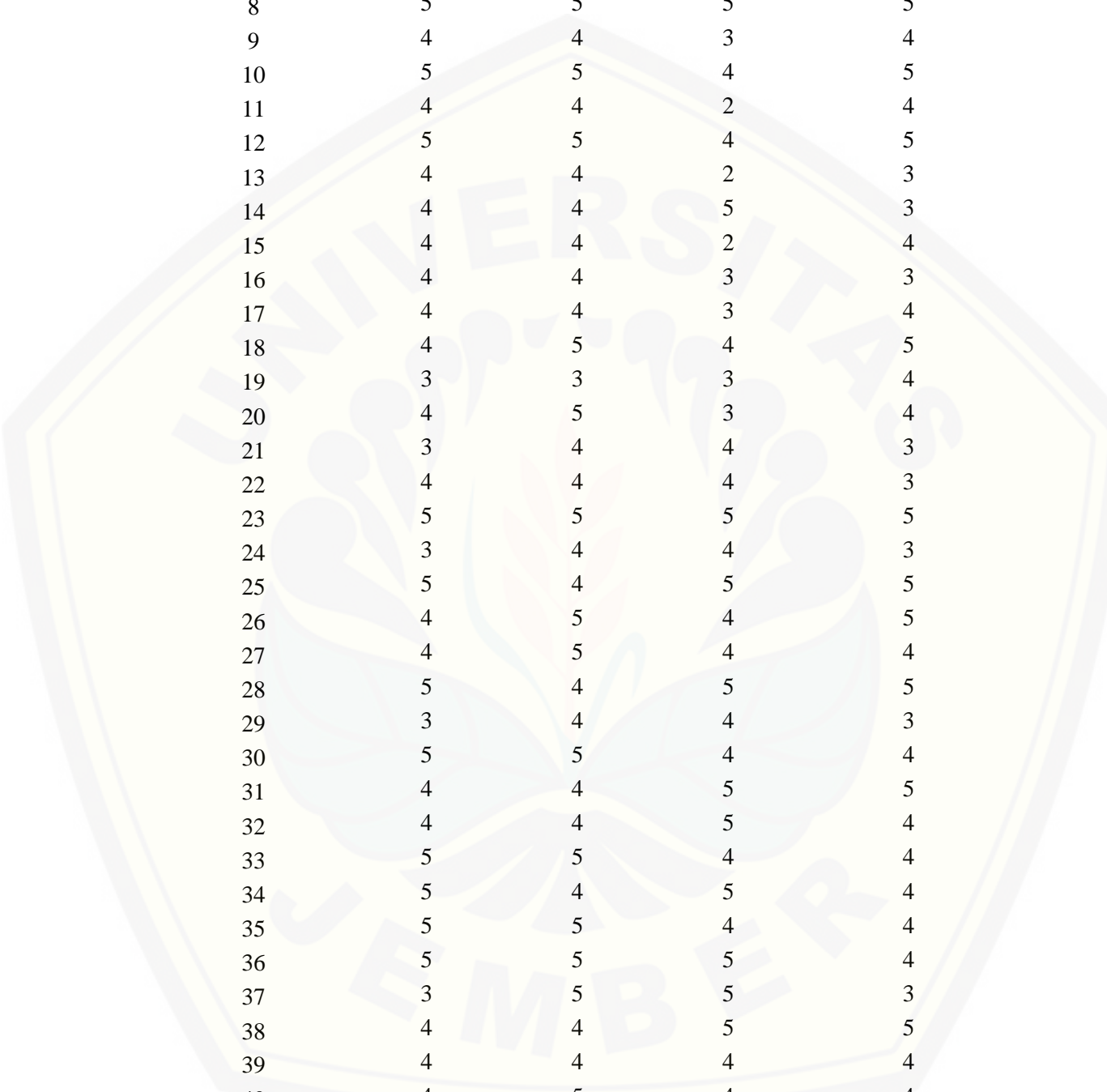
- b. Tabulasi hasil diameter sebar sediaan pada pengujian daya sebar lotion ekstrak etanol tempe kedelai

Beban yang diberikan (gram)	Daya sebar (cm)		
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
5	6,10	6,15	6,20
10	6,30	6,30	6,25
15	6,30	6,35	6,35
20	6,50	6,45	6,50
25	6,65	6,60	6,60
30	6,75	6,75	6,65
35	6,80	6,85	6,85
40	6,90	7,00	7,00
45	6,90	7,00	7,00
50	6,90	7,00	7,00
Rata-rata $\pm$ SD = $\frac{6,90+7,00 +7,00}{3} = 6,97 \text{ cm} \pm 0,06$			

#### M. Data Hasil Uji Kesukaan *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

- a. Data hasil uji kesukaan *vanishing cream* ekstrak etanol tempe kedelai

Nomor responden	Tekstur	Warna	Bau	Konsistensi
1	4	4	5	5
2	5	5	5	4
3	5	4	5	5
4	5	5	5	5
5	5	4	2	2



Nomor responden	Tekstur	Warna	Bau	Konsistensi
6	4	5	4	5
7	5	4	4	4
8	5	5	5	5
9	4	4	3	4
10	5	5	4	5
11	4	4	2	4
12	5	5	4	5
13	4	4	2	3
14	4	4	5	3
15	4	4	2	4
16	4	4	3	3
17	4	4	3	4
18	4	5	4	5
19	3	3	3	4
20	4	5	3	4
21	3	4	4	3
22	4	4	4	3
23	5	5	5	5
24	3	4	4	3
25	5	4	5	5
26	4	5	4	5
27	4	5	4	4
28	5	4	5	5
29	3	4	4	3
30	5	5	4	4
31	4	4	5	5
32	4	4	5	4
33	5	5	4	4
34	5	4	5	4
35	5	5	4	4
36	5	5	5	4
37	3	5	5	3
38	4	4	5	5
39	4	4	4	4
40	4	5	4	4
41	5	5	5	5
42	4	5	5	4
43	5	4	5	4
44	4	4	3	4

Nomor responden	Tekstur	Warna	Bau	Konsistensi
45	4	5	4	5
46	5	4	5	4
47	5	4	5	4
48	4	4	4	3
49	4	3	3	4
50	4	3	3	4
Rata-rata	4,30	4,34	4,08	4,10

b. Data hasil uji kesukaan lotion ekstrak etanol tempe kedelai

Nomor responden	Tekstur	Warna	Bau	Konsistensi
1	5	5	4	5
2	5	5	5	4
3	4	5	4	5
4	5	4	5	5
5	3	4	4	2
6	4	4	5	5
7	2	4	2	4
8	5	5	5	5
9	3	4	4	3
10	4	5	4	5
11	5	4	5	4
12	4	5	5	5
13	4	4	4	3
14	4	4	5	5
15	5	4	5	4
16	5	5	5	4
17	3	4	4	4
18	5	4	5	4
19	4	5	4	4
20	4	4	5	3
21	5	4	5	4
22	4	4	3	4
23	5	5	4	5
24	4	4	5	4
25	4	4	5	4
26	5	4	5	4
27	5	4	5	5
28	4	4	5	4



Nomor responden	Tekstur	Warna	Bau	Konsistensi
29	4	5	5	4
30	4	4	5	5
31	5	4	5	5
32	5	4	4	5
33	5	5	3	3
34	4	5	4	5
35	4	5	5	5
36	4	4	4	4
37	5	5	4	5
38	3	5	4	4
39	4	4	4	4
40	5	5	5	4
41	4	4	4	4
42	4	5	4	5
43	4	4	5	5
44	4	4	3	4
45	5	4	5	4
46	4	5	5	4
47	4	4	4	5
48	4	4	4	4
49	4	3	4	4
50	4	3	4	3
Rata-rata	4,24	4,32	4,4	4,24

## N. Data Hasil Analisis dengan Uji SPSS

### N.1 Data Hasil Analisis $IC_{50}$ Ekstrak Etanol Tempe Kedelai dan Standar Genistein

#### a. Uji Normalitas

##### Tests of Normality

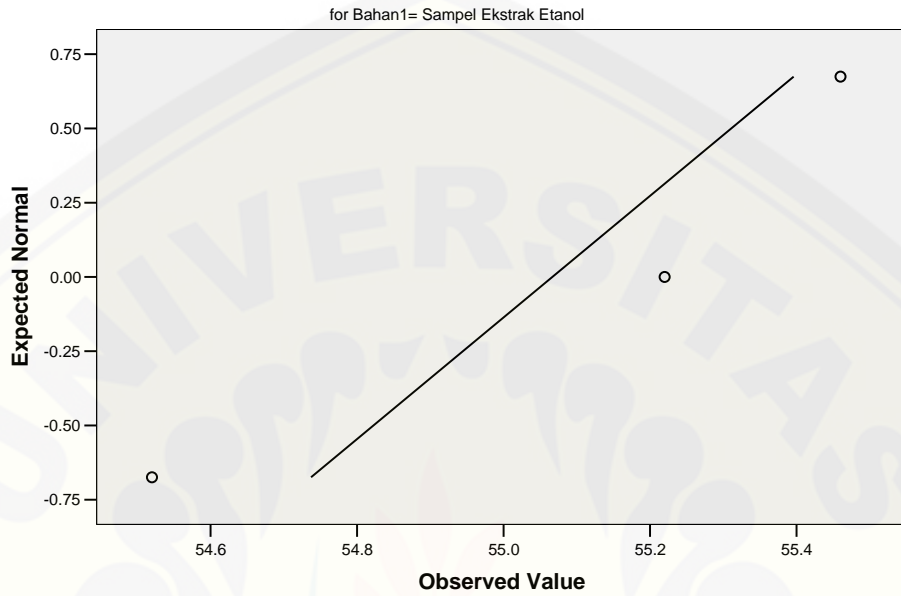
Bahan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50 Sampel Ekstrak Etanol	,290	3	.	,926	3	,474
Standar Genistein	,369	3	.	,787	3	,085

a. Lilliefors Significance Correction

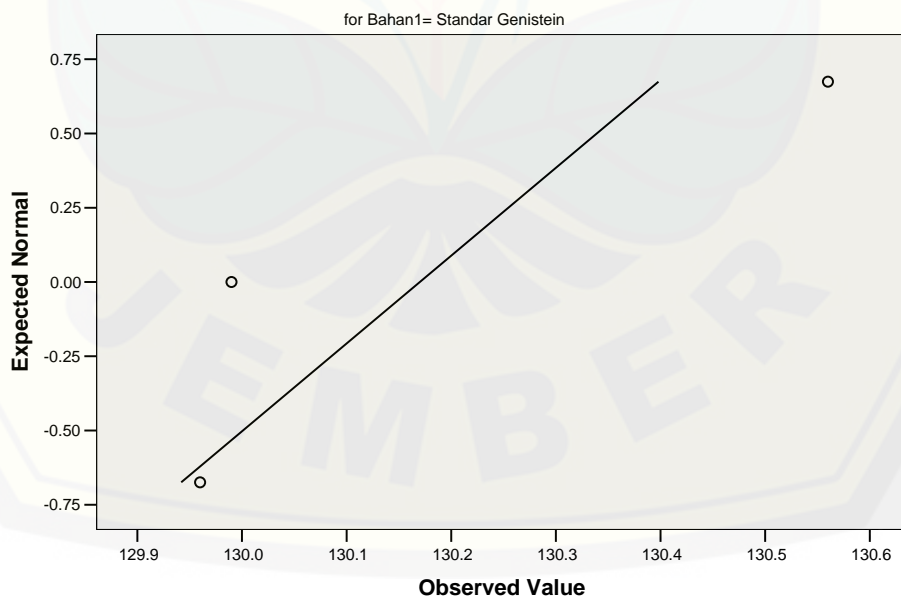
Data memiliki sebaran yang normal ( $p > 0,05$ )

**Normal Q-Q Plots**

**Normal Q-Q Plot of IC50**

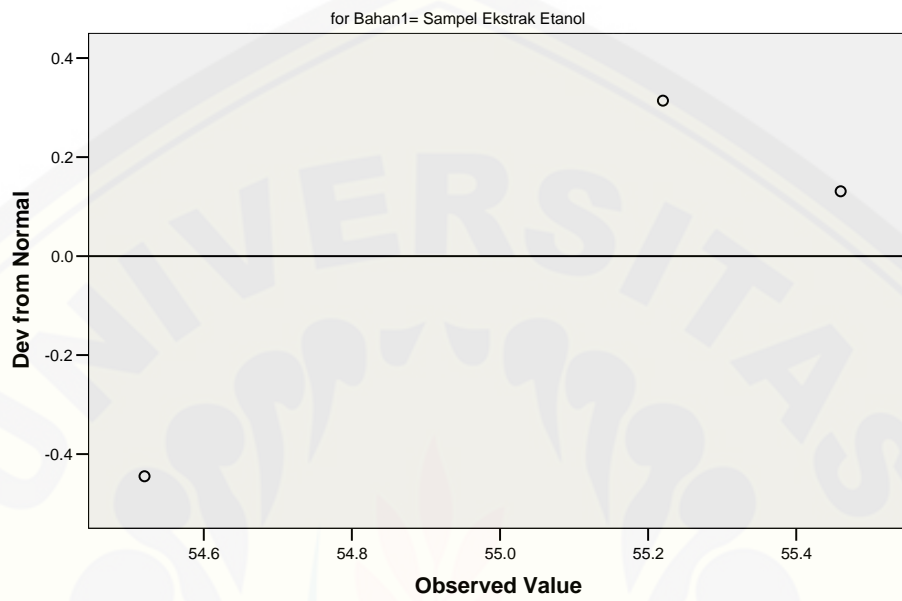


**Normal Q-Q Plot of IC50**

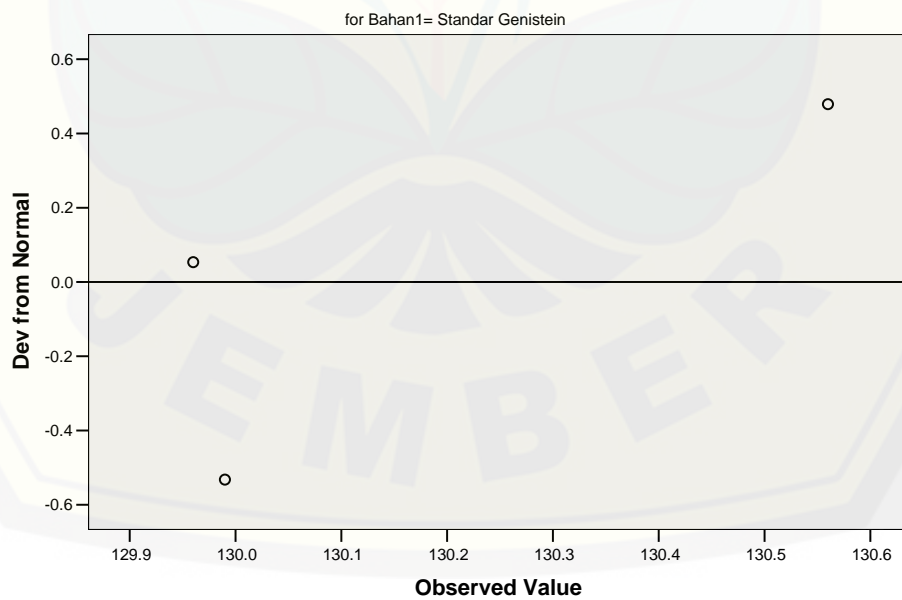


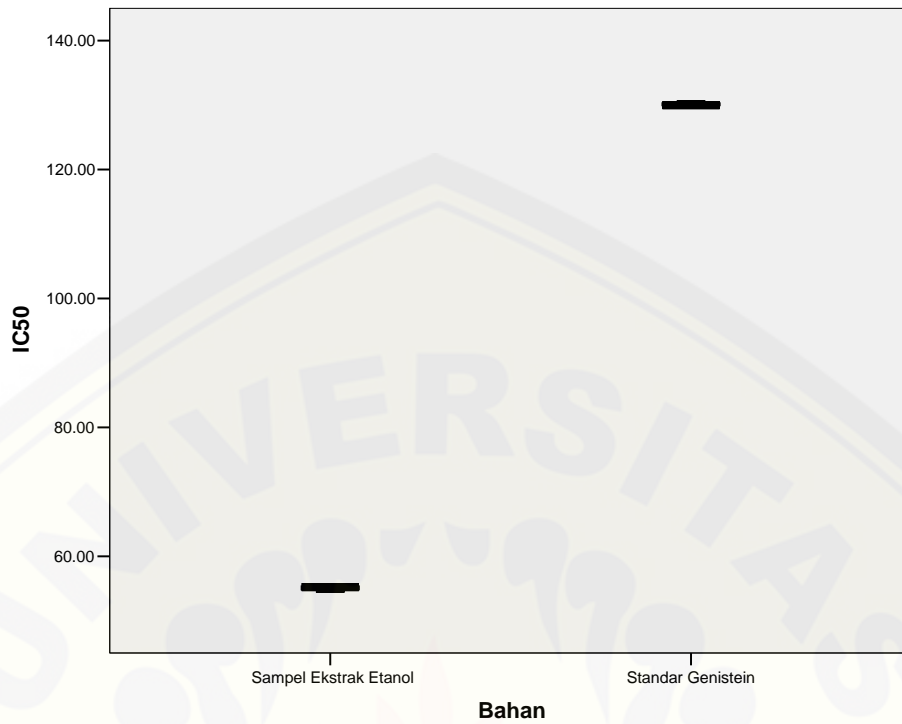
**Detrended Normal Q-Q Plots**

**Detrended Normal Q-Q Plot of IC50**



**Detrended Normal Q-Q Plot of IC50**





b. Uji T tidak berpasangan

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
								Lower	Upper
IC50									
Equal variances assumed	,627	,473	-218,995	4	,000	-75,10333	,34294	-76,05550	-74,15117
Equal variances not assumed			-218,995	3,559	,000	-75,10333	,34294	-76,10391	-74,10275

Hasil nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol tempe kedelai dan standar genistein memiliki perbedaan aktivitas hambatan tirosinase yang signifikan (  $p < 0,05$  ).

N.2 Data hasil analisis pengaruh formulasi sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai terhadap kadar genistein

a. Uji Normalitas

**Tests of Normality**

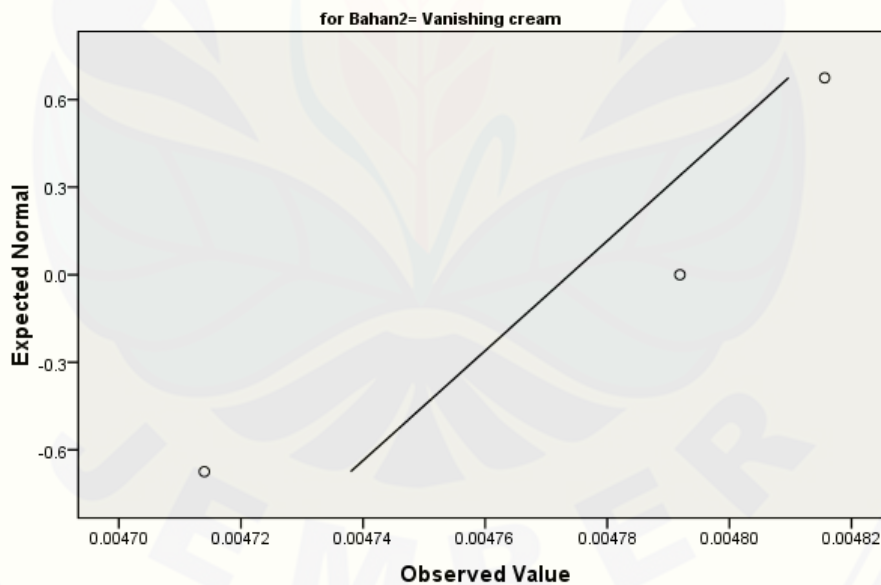
Bahan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar B/B Vanishing cream	.300	3	.	.913	3	.429
Lotion	.332	3	.	.863	3	.276

a. Lilliefors Significance Correction

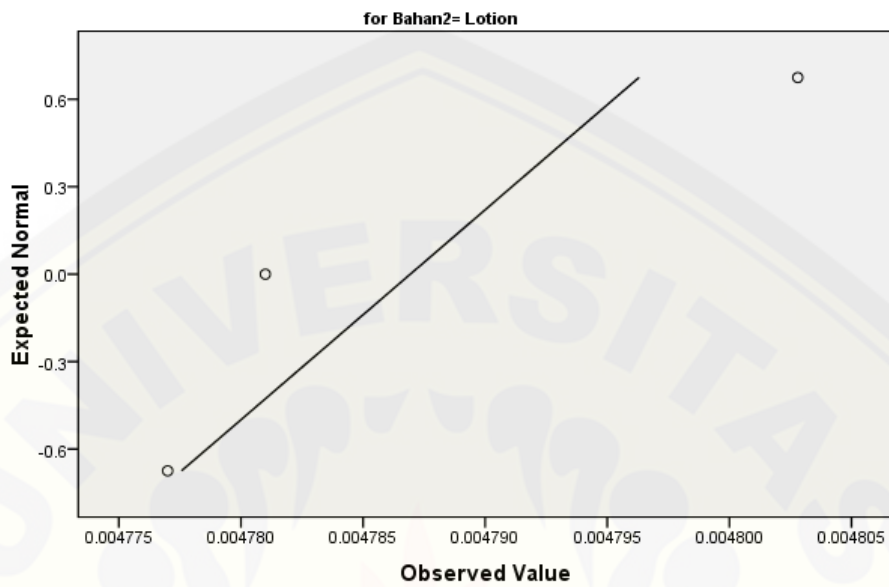
Data memiliki sebaran yang normal (  $p > 0,05$  )

**Normal Q-Q Plots**

**Normal Q-Q Plot of Kadar B/B**

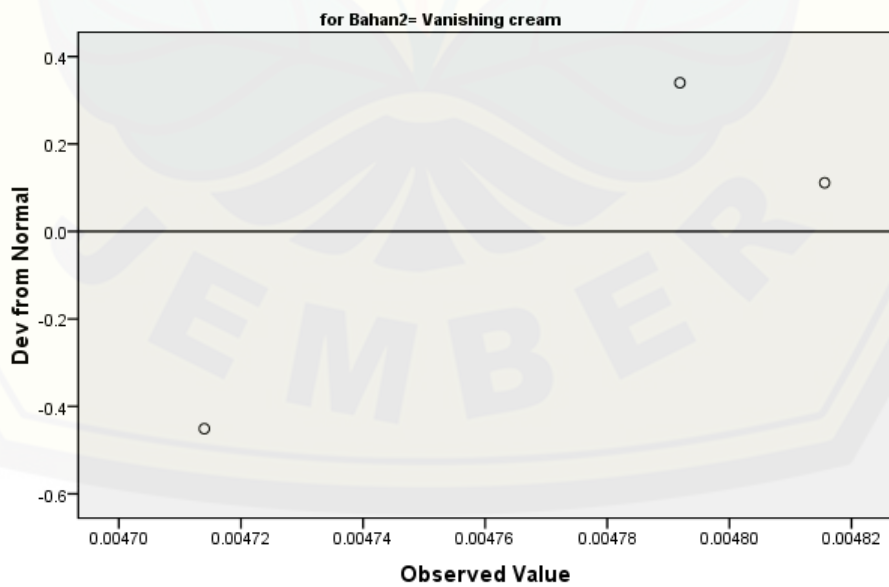


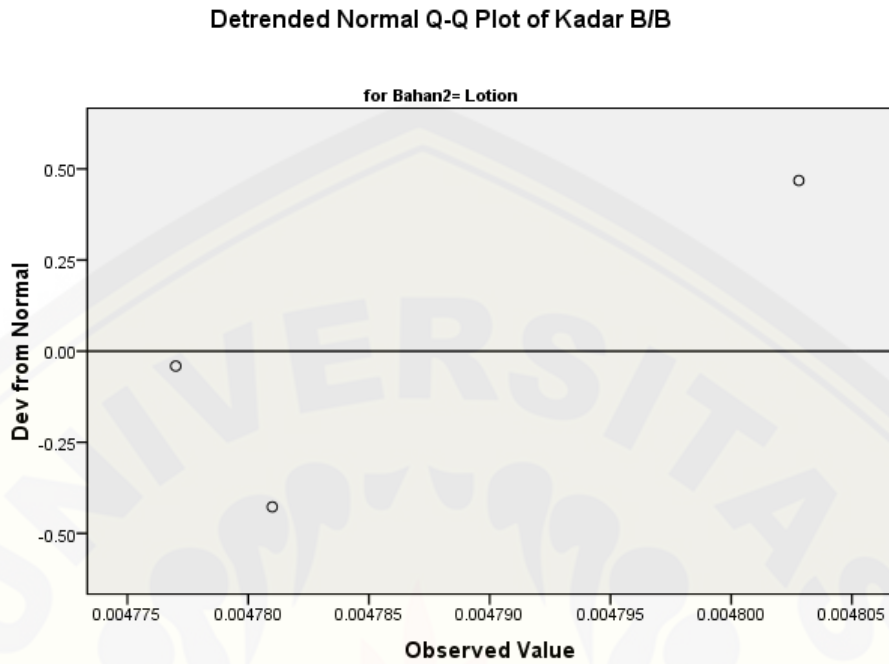
Normal Q-Q Plot of Kadar B/B



Detrended Normal Q-Q Plots

Detrended Normal Q-Q Plot of Kadar B/B





b. Uji T tidak berpasangan

**Independent Samples Test**

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	T	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Kadar B/B	Equal variances assumed	5.558	.078	-.413	4	.701	-.00001	.00003	-.00010	.00007
	Equal variances not assumed			-.413	2.272	.715	-.00001	.00003	-.00014	.00011

Sediaan *vanishing cream* dan lotion menunjukkan tidak ada perbedaan kadar genistein dalam sediaan yang signifikan ( $p > 0,05$ )

N.3 Data Hasil Analisis Kesukaan Konsumen terhadap Sediaan *Vanishing Cream* dan Lotion Ekstrak Etanol Tempe Kedelai

a. Tekstur sediaan

**Chi-Square Tests**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	1.293 <sup>a</sup>	3	.731
Likelihood Ratio	1.680	3	.641
Linear-by-Linear Association	.204	1	.652
N of Valid Cases	100		

a. 4 cells (50,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is ,50.

Tabel  $2 \times 4$  ini tidak layak untuk diuji dengan uji *chi-square* karena terdapat 4 sel yang memiliki nilai *expected* kurang dari 5 ada 50% jumlah sel.

**Two-Sample Kolmogorov-Smirnov Test (Tekstur Sediaan)**

**Test Statistics<sup>a</sup>**

		Tekstur
Most Extreme Differences	Absolute	,040
	Positive	,000
	Negative	-,040
Kolmogorov-Smirnov Z		,200
Asymp. Sig. (2-tailed)		1,000

a. Grouping Variable: Bahan

Respon kesukaan konsumen terhadap tekstur sediaan *vanishing cream* dan lotion menunjukkan nilai *significancy* sebesar 1,000 berarti nilai  $p > 0,05$  maka dapat disimpulkan bahwa tidak ada hubungan bermakna antara kesukaan konsumen dengan tekstur sediaan.



## b. Warna Sediaan

## Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	.463 <sup>a</sup>	2	.793
Likelihood Ratio	.465	2	.793
Linear-by-Linear Association	.031	1	.861
N of Valid Cases	100		

a. 2 cells (33,3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,50.

Tabel  $2 \times 4$  ini tidak layak untuk diuji dengan uji *chi-square* karena terdapat 2 sel yang memiliki nilai *expected* kurang dari 5 ada 33,3% jumlah sel.

## Two-Sample Kolmogorov-Smirnov Test (Warna Sediaan)

Test Statistics<sup>a</sup>

		Warna
Most Extreme Differences	Absolute	,040
	Positive	,020
	Negative	-,040
Kolmogorov-Smirnov Z		,200
Asymp. Sig. (2-tailed)		1,000

a. Grouping Variable: Bahan

Respon kesukaan konsumen terhadap warna sediaan *vanishing cream* dan lotion menunjukkan nilai *significancy* sebesar 1,000 berarti nilai  $p > 0,05$  maka dapat disimpulkan bahwa tidak ada hubungan bermakna antara kesukaan konsumen dengan warna sediaan.

## c. Bau Sediaan

## Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	4.859 <sup>a</sup>	3	.182
Likelihood Ratio	5.073	3	.166
Linear-by-Linear Association	3.608	1	.057
N of Valid Cases	100		

a. 2 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2,50.

Tabel  $2 \times 4$  ini tidak layak untuk diuji dengan uji *chi-square* karena terdapat 2 sel yang memiliki nilai *expected* kurang dari 5 ada 25,0 % jumlah sel.

## Two-Sample Kolmogorov-Smirnov Test (Bau Sediaan)

Test Statistics<sup>a</sup>

		Bau
Most Extreme Differences	Absolute	,160
	Positive	,160
	Negative	,000
Kolmogorov-Smirnov Z		,800
Asymp. Sig. (2-tailed)		,544

a. Grouping Variable: Bahan

Respon kesukaan konsumen terhadap bau sediaan *vanishing cream* dan lotion menunjukkan nilai *significancy* sebesar 0,544 berarti nilai  $p > 0,05$  maka dapat disimpulkan bahwa tidak ada hubungan bermakna antara kesukaan konsumen dengan bau sediaan.

## d. Konsistensi sediaan

## Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	1.420 <sup>a</sup>	3	.701
Likelihood Ratio	1.437	3	.697
Linear-by-Linear Association	.897	1	.344
N of Valid Cases	100		

a. 2 cells (25,0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1,00.

Tabel  $2 \times 4$  ini tidak layak untuk diuji dengan uji *chi-square* karena terdapat 2 sel yang memiliki nilai *expected* kurang dari 5 ada 25,0 % jumlah sel.

## Two-Sample Kolmogorov-Smirnov Test (Konsistensi Sediaan)

Test Statistics<sup>a</sup>

		Konsistensi
Most Extreme Differences	Absolute	,080
	Positive	,080
	Negative	,000
Kolmogorov-Smirnov Z		,400
Asymp. Sig. (2-tailed)		,997

a. Grouping Variable: Bahan

Respon kesukaan konsumen terhadap konsistensi sediaan *vanishing cream* dan lotion menunjukkan nilai *significancy* sebesar 0,997 berarti nilai  $p > 0,05$  maka dapat disimpulkan bahwa tidak ada hubungan bermakna antara kesukaan konsumen dengan konsistensi sediaan.

**O.GAMBAR HASIL PENELITIAN DAN LEMBAR KUISIONER**



Tempe cap "Dua Putri"



Tempe kedelai diiris tipis-tipis dan diangin-anginkan



Penggilingan tempe kedelai menggunakan blender



Serbuk tempe kedelai halus



Proses *defatting*



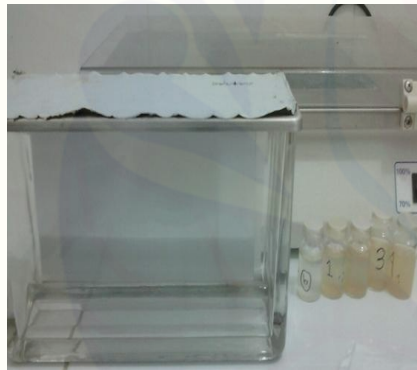
Proses ekstraksi maserasi



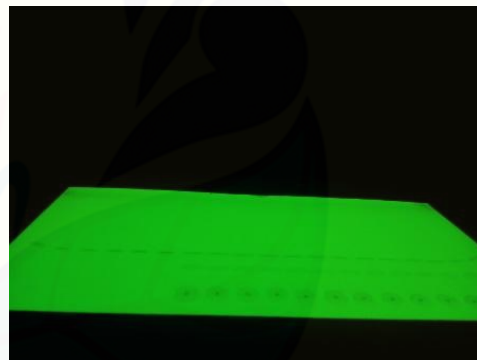
Proses Penguapan Ekstrak Cair Etanol Tempe Kedelai dengan *Rotary Evaporator*



Ekstrak Etanol Tempe Kedelai Kental



Preparasi sampel dan standar untuk penetapan kadar ekstrak dan proses eluasi



Proses pengamatan noda pada lempeng KLT dengan lampu UV 254 nm



Proses pembuatan dapar fosfat pH 6,5



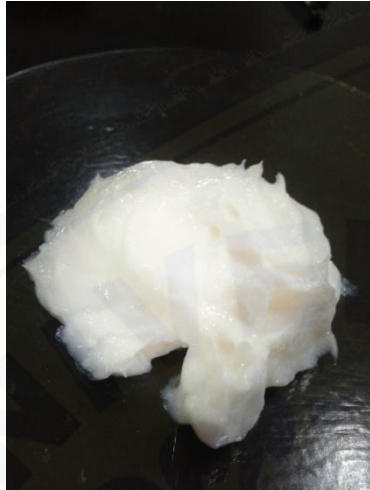
Proses pemindaian menggunakan *elisa reader*



Uji aktivitas hambatan tirosinase



Proses peleburan fase minyak dan fase air di atas *waterbath* pada pembuatan sediaan



Sediaan *vanishing cream* ekstrak etanol tempe kedelai



Sediaan lotion ekstrak etanol tempe kedelai



Preparasi sampel sediaan untuk penetapan kadar genistein



Proses sentrifugasi dalam preparasi sampel sediaan untuk penetapan kadar



Preparasi sampel *vanishing cream* dan lotion untuk penetapan kadar sediaan



Proses Eluasi

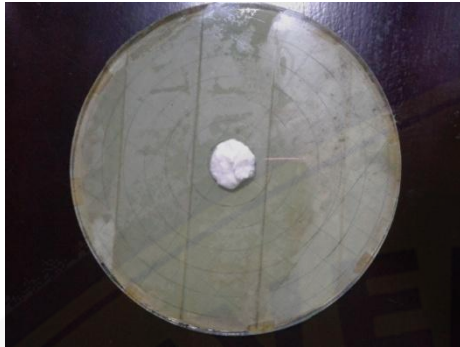


Pengujian viskositas sediaan

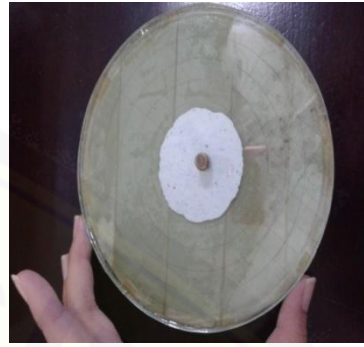


Pengujian pH sediaan

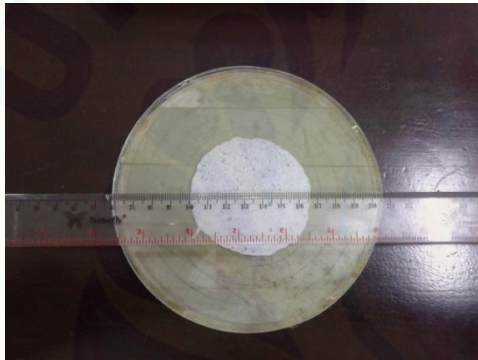




Pengujian daya sebar sediaan



Pengujian daya sebar sediaan



Pengujian daya sebar sediaan



Pengujian tipe emulsi sediaan secara makroskopis



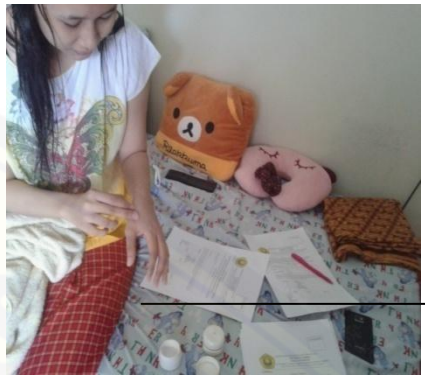
Sediaan *vanishing cream* dan lotion untuk uji kesukaan konsumen



Responden uji kesukaan *vanishing cream* dan lotion



Responden uji kesukaan *vanishing cream* dan lotion



Responden uji kesukaan *vanishing cream* dan lotion





KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**FAKULTAS FARMASI**

Jl. Kalimantan 37 Kampus Tegal Boto Kotak Pos 159 (68121)  
 JEMBER

Telp. (0331)-330224, 333147, 334267 Fax. (0331)-339029

## LAMPIRAN

Kuisioner Penelitian

### HUBUNGAN KESUKAAN KONSUMEN TERHADAP SEDIAAN *VANISHING CREAM* DAN LOTION EKSTRAK ETANOL TEMPE KEDELAI

Penilaian tingkat kesukaan responden terhadap sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai

Nama Responden :  
 Usia :  
 Tanda tangan :

Petunjuk pengisian, berilah penilaian pada tabel yang telah tersedia untuk memberikan nilai tentang kesukaan responden terhadap sediaan *vanishing cream* dan lotion ekstrak etanol tempe kedelai, dengan ketentuan sebagai berikut :

Penilaian	Kriteria
5	Sangat suka
4	Suka
3	Agak suka
2	Agak tidak suka
1	Sangat tidak suka

	Sediaan	Sediaan A	Sediaan B
Kriteria			
Tekstur			
Warna			
Bau			
Konsistensi			