

KARYA ILMIAH

**SUATU KOMPOSISI KRIM ANTIBAKTERI
YANG MENGANDUNG BIJI ALPUKAT**



Dwi Larasati

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Penelitian

Persea americana Mil. umumnya dikenal sebagai alpukat merupakan tanaman yang buahnya kaya akan nutrisi. Tanaman ini berasal dari Meksiko dan Amerika Tengah dan telah menyebar hampir ke seluruh Negara tropis termasuk Indonesia. Buah alpukat mengandung lemak, protein, serat yang baik, vitamin dan mineral-mineral seperti vitamin C, E, K, B₁, B₂, B₆ dan B₉, fosfor, sodium, magnesium, potassium, besi dan zink.

Biji alpukat (*Persea americana* Mill) merupakan produk sampingan dari pengolahan buah alpukat dan belum dimanfaatkan oleh masyarakat. Biji alpukat merupakan limbah dari buah alpukat dan belum dimanfaatkan, padahal biji alpukat mengandung 16% dari berat total buah alpukat dan mengandung banyak senyawa fitokimia yang memiliki aktivitas farmakologi sebagai anti inflamasi, antioksidan, antibakteri, anti cancer (Alkhalaf dkk., 2018; Athaydes dkk., 2019; Dabas dkk., 2013). Ekstrak biji alpukat mengandung senyawa aktif yang berperan sebagai anti-inflamasi, antioksidan dan antibakteri (Athaydes dkk., 2019; Giron-Vázquez dkk., (2019).

Salah satu permasalahan kulit yang disebabkan oleh adanya bakteri yaitu *acne vulgaris* yang lebih dikenal oleh masyarakat yaitu jerawat. Hampir setiap orang pernah mengalami jerawat dan biasanya dimulai ketika pubertas. Penyebab timbulnya jerawat ini sangat beragam, diantaranya adalah sebum, genetik, usia, jenis kelamin, kebersihan wajah, psikis, hormone endokrin, diet, iklim, kosmetika dan bakteri.

Jerawat lebih sering disebabkan oleh bakteri, hal ini dikarenakan apabila kulit tidak bersih, banyak pori-pori yang tersumbat dan produksi minyak pada kulit berlebihan maka akan memicu pertumbuhan bakteri yang menginflamasi kulit. Bakteri penyebab jerawat adalah *Propioni bacterium acnes*, *Staphylococcus epidermis* dan *Staphylococcus aureus*. *P. acnes* merupakan bakteri yang berperan dalam terjadinya inflamasi pada *acnes vulgaris*. Biasanya jika melakukan pengobatan jerawat di klinik kulit akan diberikan antibiotic yang dapat membunuh bakteri dan menghambat inflamasi, contohnya tetrasiklin, eritromisin, klindamisin dan doksisisiklin.

Pengobatan jerawat ini juga bisa diberikan benzoil peroksida, asam azelat dan retinoid. Namun obat-obat ini memiliki efek samping dalam penggunaan antara lain iritasi,

sementara penggunaan antibiotik jangka panjang selai dapat menimbulkan resistensi juga dapat menimbulkan kerusakan organ dan imunohipersensitivitas.

Sediaan krim merupakan bentuk sediaan kosmetik yang sering digunakan untuk perawatan kulit. Krim adalah sediaan setengah padat yang mengandung air tidak kurang dari 60% dan dimaksudkan untuk pemakaian luar. Selain itu, Krim merupakan bentuk sediaan topikal dengan bentuk setengah padat yang cocok untuk pengobatan jerawat. Penggunaan krim lebih disukai karena krim lebih mudah menyebar dengan rata dan lebih mudah dibersihkan dan dicuci. Berdasarkan latar belakang di atas diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri dari ekstrak biji alpukat tersebut terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dalam sediaan krim.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Apakah biji alpukat dapat diformulasikan dalam bentuk sediaan krim?
2. Apakah sediaan krim biji alpukat memenuhi persyaratan fisik sediaan krim yang baik diantaranya uji organoleptis, uji pH, uji daya sebar dan ujidaya lekat.

C. Tujuan Penelitian

1. Biji alpukat dapat diformulasikan krim.
2. Untuk mengetahui formulasi krim dari ekstrak biji alpukat yang dibuat telah memenuhi persyaratan sifat fisik krim.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

1. Alpukat / Avocado (*Persea americana* Mill)

1.1. Klasifikasi Alpukat

Tanaman alpukat (*Persea americana* Mill) merupakan tanaman yang berasal dari dari Meksiko dan Amerika Tengah dan telah menyebar hampir ke seluruh Negara tropis (Athaydes dkk., 2019) dan memiliki banyak varietas yang tersebar di seluruh dunia. Alpukat secara umum terbagi atas tiga tipe: tipe West Indian, tipe Guatemalan, dan tipe Mexican (Dabas dkk., 2013). Alpukat juga mengandung sejumlah besar senyawa sehat bermanfaat lainnya termasuk tokoferol (vitamin E), pigmen tumbuhan, sterol, serat, dan asam folat disajikan pada Tabel 1. Alpukat dikonsumsi sebagai buah segar, selain itu juga digunakan pada industry kosmetik, sabun, minyak dan shampo (Yahia, 2011).

Tabel 1. Komposisi kimiawi buah alpukat

Komponen	Jumlah
Air (%)	74,4
Lipid (%)	20,6
Protein (%)	1,8
Serat (%)	1,4
Gula (%)	
Glukosa	0,30
Fruktosa	0,10
Sukrosa	0,10
Vitamin (mg 100 g⁻¹)	
Asam askorbat	11,0
Thiamine	0,07
Riboflavin	0,12
Nicotinic acid	1,9
Vitamin B6	0,02
Asam folat	0,04
Mineral (mg 100 g⁻¹)	
Potassium	480
Phosphorus	27,0
Calcium	14,0
Sodium	2,0
Iron	0,7
Zinc	0,7

1.2. Komposisi Kimia pada Biji Alpukat

Biji buah alpukat merupakan limbah dari buah alpukat yang belum dimanfaatkan oleh masyarakat dan dapat menyebabkan pencemaran lingkungan. Biji alpukat memiliki banyak kandungan yang dapat dimanfaatkan. Penelitian menunjukkan biji alpukat mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, vitamin A, E, C dan mineral-mineral

seperti kalsium, iodium, potasium dan fosfor (Soldera-Silva dkk., 2018; Talabi dkk., 2016).

2. Anatomi Fisiologi Kulit

Kulit adalah jaringan pelindung yang lentur dan elastis, menutupi seluruh permukaan tubuh dan merupakan 5% berat tubuh. Secara anatomi, kulit terdiri dari banyak lapisan, pada umumnya dibagi menjadi tiga lapisan jaringan: epidermis, dermis, dan lapisan lemak di bawah kulit. Lapisan terluar kulit adalah stratum korneum atau lapisan tanduk yang terdiri dari sel-sel padat mati dan sel-sel keratin yang berlapis-lapis. Nilai koefisien difusinya dalam jaringan ini 1000 kali bahkan lebih kecil dari jaringan kulit lainnya, sehingga menghasilkan daya tahan yang lebih tinggi dan umumnya tidak dapat ditembus

Fungsi kulit antara lain sebagai berikut:

- mengeluarkan keringat
- pelindung tubuh
- menyimpan kelebihan lemak
- mengatur suhu tubuh, dan
- tempat pembuatan vitamin D dari pro vitamin D dengan bantuan sinar matahari yang mengandung ultraviolet

Kulit merupakan lapisan pelindung tubuh yang sempurna terhadap pengaruh luar, baik pengaruh fisik maupun pengaruh kimia . Kulit berfungsi sebagai system epitel pada tubuh untuk menjaga keluarnya substansi-substansi penting dari dalam tubuh dan masuknya substansi-substansi asing ke dalam tubuh. Meskipun kulit relative permeabel terhadap senyawa-senyawa kimia, namun dalam keadaan tertentu kulit dapat ditembus oleh senyawa-senyawa obat atau bahan yang berbahaya yang dapat menimbulkan efek terapeutik atau efek toksik baik yang bersifat setempat maupun sistemik Dari suatu penelitian diketahui bahwa pergerakan air melalui lapisan kulit yang tebal tergantung pada pertahanan lapisan stratum corneum yang berfungsi sebagai rate limiting barrier pada kulit. Secara mikroskopik, kulit tersusun dari berbagai lapisan yang berbeda-beda, berturut-turut dari luar ke dalam yaitu lapisan epidermis, lapisan dermis yang tersusun

atas pembuluh darah dan pembuluh getah bening dan lapisan jaringan di bawah kulit yang berlemak atau yang disebut lapisan hypodermis.

Kulit merupakan „selimut“ yang menutupi permukaan tubuh dan memiliki fungsi utama sebagai pelindung dari berbagai macam gangguan dan rangsangan luar. Fungsi perlindungan ini terjadi melalui sejumlah mekanisme biologis, seperti pembentukan lapisan tanduk secara terus-menerus (keratinasi dan pelepasan sel-sel yang sudah mati), respirasi dan pengaturan suhu tubuh, produksi sebum dan keringat, dan pembentukan pigmen melanin untuk melindungi kulit dari bahaya sinar ultraviolet matahari, sebagai peraba dan perasa, serta pertahanan terhadap tekanan dan infeksi dari luar. Selain itu, kulit merupakan suatu kelenjar holokrin yang besar. Luas kulit pada manusia rata-rata \pm 2 meter persegi, dengan berat 10 kg jika dengan lemaknya atau 4 kg jika tanpa lemak. Secara histopologis kulit tersusun atas 3 lapisan utama yaitu

a. Lapisan Epidermis

Lapisan Epidermis ini terdiri atas stratum korneum, stratum lusidum, stratum granulosum, stratum spinosum, dan stratum basalis.

Stratum korneum (lapisan tanduk) adalah lapisan kulit yang paling luar dan terdiri atas beberapa lapisan sel gepeng yang mati, tidak berinti dan protoplasmanya sudah berubah menjadi keratin (zat tanduk).

Stratum lusidum terdapat langsung dibawah stratum korneum, merupakan lapisan sel gepeng tanpa inti dengan protoplasma yang telah berubah menjadi protein eleidin. Lapisan ini terdapat jelas ditelapak tangan dan kaki. Stratum granulosum merupakan 2 atau 3 lapisan sel gepeng dengan sitoplasma berbutir kasar dan terdapat inti sel diantaranya. Butir-butir kasar ini terdiri atas keratohialin. Mukosa biasanya tidak mempunyai lapisan ini.

Stratum spinosum terdiri atas beberapa lapisan sel berbentuk polygonal dengan ukuran bermacam-macam akibat proses mitosis. Protoplasmanya jernih karena banyak mengandung glikogen dan inti sel terletak ditengah. Sel-sel ini makin dekat dikulit makin gepeng bentuknya. Stratum basalis terdiri atas sel-sel kubus yang tersusun vertikal dan pada taut dermoepidermal berbaris seperti pagar, lapisan ini merupakan dasar epidermis.

b. Lapisan Dermis

Lapisan ini jauh lebih tebal dari pada epidermis, terbentuk oleh jaringan elastis dan fibrosa padat dengan elemen seluler, kelenjar, dan rambut sebagai adneksa kulit. Lapisan ini terdiri atas:

- a) Pars papilaris, yaitu bagian yang menonjol ke dalam epidermis, berisi ujung serabut saraf dan pembuluh darah.
- b) Pars Retikularis, yaitu bagian bawah dermis yang berhubungan dengan subkutis, terdiri atas serabut penunjang kolagen, elastin dan retikulin. Dasar lapisan ini terdiri atas cairan kental asam hialuronat dan kondroitin sulfat dan sel-sel fibroblast. Kolagen muda bersifat lentur namun dengan bertambahnya umur menjadi stabil dan keras.

c. Lapisan Subkutis

Lapisan ini merupakan kelanjutan dermis, terdiri atas jaringan ikat longgar berisi sel-sel lemak di dalamnya. Sel lemak merupakan sel bulat, besar, dengan inti terdesak ke pinggir karena sitoplasma lemak yang bertambah. Sel-sel ini membentuk kelompok yang dipisahkan satu dengan lainnya oleh trabekula yang fibrosa. Lapisan ini berfungsi sebagai cadangan makan.

Lapisan ini adalah lapisan paling dalam mengandung banyak arteri, vena, kelenjar keringat dan kelenjar sebacea, serta reseptor tekanan. Baik ini banyak mengandung serabut kolagen dan serabut elastis. Di seluruh bagiannya mengandung fibroblast dan sel-sel adipose, berbagai jenis makrofag yang sangat penting pada pertahanan tubuh dan berbagai jenis sel lainnya. Selain itu banyak pula terdapat pembuluh darah yang memungkinkan berperan dalam melakukan regulasi suhu tubuh. Di lapisan ini juga kaya akan pembuluh limfe dan serabut-serabut saraf, banyak ujung saraf berakhir pada dermis berubah menjadi reseptor khusus, sehingga mampu mendeteksi perubahan-perubahan yang terjadi di lingkungan yang kemudian disampaikan ke otak.

3. Tinjauan Tentang Krim

3.1. Pengertian Krim

Krim adalah sediaan semi-solid berupa emulsi kental yang mengandung tidak kurang dari 60% air. Krim digunakan untuk pemakaian luar. Terdapat dua tipe krim, yaitu: krim tipe air dalam minyak (a/m) dan krim minyak dalam air (m/a). Pembuatan

krim membutuhkan zat pengemulsi yang umumnya berupa surfaktan anionik, kationik dan nonionik.

Secara umum, krim memiliki sifat mampu melekat pada permukaan tempat pemakaian dalam waktu yang cukup lama sebelum sediaan ini dicuci atau dihilangkan. Krim yang digunakan sebagai obat umumnya digunakan untuk mengatasi penyakit kulit seperti jamur, infeksi ataupun sebagai anti radang yang disebabkan oleh berbagai jenis penyakit. Beberapa persyaratan yang harus dimiliki oleh krim, yakni :

No.	Syarat	Keterangan
1	Stabil	Stabil selama masih dipakai untuk mengobati. Oleh karena itu, krim harus bebas dari inkompatibilitas dan stabil pada suhu kamar
2	Lunak	Semua zat harus dalam keadaan halus dan sseluruh produk yang dihasilkan menjadi lunak serta homogen
3	Mudah dipakai	Umumnya krim tipe emulsi adalah yang paling mudah dipakai dan dihilangkan dari kulit
4	pH kulit	Rentang pH kulit adalah antara 4,5 – 6,5
5	Terdistribusi secara merata	Obat harus terdispersi merata melalui dasar kulit padat atau cair pada penggunaan

2.2. Tipe Krim

Krim digolongkan menjadi dua tipe, yakni :

- a. Tipe a/m, yakni air terdispersi dalam minyak. Contohnya cold cream. Cold cream adalah sediaan kosmetika yang digunakan untuk memberi rasa dingin dan nyaman pada kulit.
- b. Tipe m/a, yakni minyak terdispersi dalam air. Contohnya, vanishing cream. Vanishing cream adalah sediaan kosmetik yang digunakan untuk membersihkan, melembabkan dan sebagai alas bedak.

2.3. Bahan-bahan Pembentuk Krim

Formula dasar krim, antara lain :

- a) Fase Minyak, yaitu bahan obat dalam minyak, bersifat asam. Contoh : asam asetat, paraffin liquid, octaceum, cera, vaselin, dll.
- b) Fase air, yaitu bahan obat yang larut dalam air, bersifat basa, Contoh : Tetraborat (borax, Na.Biborat), TEA, NaOH, KOH, gliserin, dll.

Bahan – bahan penyusun krim, antara lain :

- a) Zat berkhasiat
- b) Minyak
- c) Air
- d) Pengemulsi, bahan pengemulsi yang digunakan dalam sediaan krim disesuaikan dengan jenis dan sifat krim yang akan dibuat/dikehendaki. Sebagai bahan pengemulsi dapat digunakan emulgide, lemak bulu domba, setaseum, setil alcohol, stearil alcohol, trietanolamin stearat, polisorbit, PEG.

Bahan – bahan tambahan dalam sediaan krim, antara lain :

- a) Zat Pengawet, untuk meningkatkan stabilitas sediaan. Untuk meningkatkan stabilitas sediaan.
- b) Antioksidan, untuk mencegah ketengikan akibat oksidasi oleh cahaya pada minyak tak jenuh.
- c) Pendapar, untuk mempertahankan pH sediaan.
- d) Pelembab

2.4. Evaluasi Sediaan Krim

Berikut ini adalah beberapa evaluasi sediaan krim, yaitu:

a. Uji organoleptik

Pengujian organoleptik adalah pengujian yang didasarkan pada proses penginderaan, diartikan sebagai suatu proses fisio-psikologis, yaitu kesadaran atau pengenalan alat indra akan sifat-sifat benda karena adanya rangsangan yang diterima alat indra yang berasal dari benda tersebut. Penginderaan dapat juga berarti reaksi mental (sensation) jika alat indra mendapat rangsangan (stimulus). Pengukuran terhadap nilai terhadap nilai/tingkat kesan, kesadaran dan sikap disebut pengukuran subyektif atau penilaian subyektif. Disebut penilaian subyektif karena hasil penilaian atau pengukuran sangat ditentukan oleh pelaku atau yang melakukan pengukuran.

c. Homogenitas

Uji homogenitas bertujuan untuk melihat dan mengetahui tercampurnya bahan – bahan sediaan krim.

d. Viskositas

Viskositas merupakan pernyataan tahanan untuk mengalir dari suatu sistem dibawah stress yang digunakan. Semakin kental suatu cairan maka semakin besar kekuatan yang diperlukan untuk cairan tersebut dapat mengalir dengan laju

tertentu. Peningkatan viskositas akan meningkatkan waktu retensi pada tempat aplikasi, tetapi menurunkan daya sebar.

e. Pengukuran pH

Uji pH bertujuan mengetahui keamanan sediaan krim saat digunakan sehingga tidak mengiritasi kulit. pH tidak boleh terlalu asam karena dapat mengiritasi kulit dan tidak boleh terlalu basa karena dapat membuat kulit menjadi bersisik. Penurunan pH dapat dipengaruhi oleh suhu, kandungan zat lain dalam sediaan yang ikut bereaksi yang dapat mengganggu.

f. Uji Daya Sebar

Uji daya sebar krim berguna untuk mengetahui kemampuan menyebar krim saat di aplikasikan pada kulit adanya penambahan beban menyebabkan diameter penyebarannya juga semakin besar sehingga semakin besar luas penyebarannya.

3. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan teknik pemisahan senyawa didasarkan pada perbedaan distribusi zat terlarut antara dua pelarut yang bercampur. Umumnya, zat terlarut yang diekstraksi tidak larut atau sedikit larut dalam pelarut, tetapi mudah larut dalam pelarut lain. Metode ekstraksi yang tepat tergantung pada tekstur bahan yang akan diekstraksi dan kadar air dari senyawa yang akan dipisahkan

Senyawa aktif yang ditemukan dalam berbagai simplisia dapat dibagi menjadi alkaloid, flavonoid, minyak atsiri, dan lain-lain. Memahami senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia akan memudahkan pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang benar. Pelarut organik yang paling umum digunakan untuk mengekstraksi zat aktif dari sel tumbuhan adalah metanol, etanol, kloroform, aseton, hexan, benzena dan etil asetat

Cara ekstraksi untuk mendapatkan ekstrak menggunakan pelarut dibagi menjadi dua metode, yaitu metode panas dan metode dingin

2.1. Ekstraksi cara dingin

Ekstraksi dingin memiliki keuntungan dalam keseluruhan proses ekstraksi, yaitu dapat mengurangi kemungkinan rusaknya senyawa termolabil yang ada dalam sampel. Beberapa senyawa dapat diekstraksi dengan ekstraksi dingin, meskipun beberapa senyawa memiliki kelarutan terbatas dalam pelarut pada suhu kamar.

Penggunaan pelarut dengan polaritas bahan alam yang meningkat secara berurutan memungkinkan pemisahan bahan alami berdasarkan kelarutan dan polaritasnya dalam pelarut ekstraksi. Ini sangat memudahkan proses isolasi. Meskipun beberapa senyawa memiliki pelarut ekstraksi pada suhu kamar, ekstraksi dingin dapat mengekstraksi banyak senyawa.

a. Maserasi

Maserasi adalah proses mengekstraksi komponen sederhana dengan cara dikocok atau diaduk beberapa kali pada suhu kamar dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Dalam maserasi (digunakan untuk ekstrak cair), bubuk halus tumbuhan obat atau bubuk kasar yang bersentuhan dengan pelarut akan disimpan dalam wadah tertutup untuk jangka waktu tertentu, dan harus sering diaduk sampai beberapa zat larut. Metode ini paling cocok untuk senyawa termolabil.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang baru dan sempurna (Exhaustive extraction) yang biasanya dilakukan pada suhu kamar. Prinsip perkolasi adalah dengan meletakkan serbuk simplisia dalam wadah silinder dengan diberi sekat berpori di bagian bawah.

2.2. Ekstraksi cara panas

a. Soxhletasi

Soxhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut baru, biasanya dengan alat khusus untuk ekstraksi. Dengan adanya pendingin balik, serta menggunakan pelarut dalam jumlah yang relatif konstan dapat dilakukan ekstraksi yang berkelanjutan.

b. Refluks

Refluks adalah ekstraksi menggunakan pelarut pada suhu didihnya, dalam waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Biasanya proses ini diulangi hingga 3-5 kali untuk residu pertama sehingga menjadi proses ekstraksi yang lengkap.

c. Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada suhu tertentu, diatas penangas air (bejana infus direndam dalam penangas air mendidih, kemudian ukur suhu 96-98°C) dalam jangka waktu tertentu selama 15-20 menit.

d. Dekok

Dekok merupakan larutan infus dalam waktu lebih lama, dan suhunya mencapai titik didih air ($\geq 30^{\circ}\text{C}$).

e. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik yang dilakukan pada suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar, biasanya pada suhu $40\text{-}50^{\circ}\text{C}$.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah akuades, ekstrak, etanol 70%, trietanolamin (TEA), setil alkohol, asam stearat, gliserin, biji alpukat, nipagin, nipasol, nutrien agar (N/A), klindamisin (kontrol positif), bakteri *Propionibacterium acnes*

B. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah jangka sorong, autoklaf, alat-alat gelas, cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, cawan porselen, timbangan, mikropipet 1 ml, waterbath dan *magnetic stirrer*, wadah krim, pH meter.

C. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan ekstrak etanol simplisia daun alpukat

Biji alpukat yang telah dikumpulkan kemudian dicuci, disortasi basah dan ditimbang. Biji alpukat dipotong tipis-tipis dan dikeringkan dengan selama 3 hari. Simplisia yang telah kering ditimbang dan diblender sampai halus. Ekstraksi simplisia biji alpukat dilakukan dengan metode maserasi dengan cara menimbang simplisia kering biji alpukat sebanyak 100 g yang dimasukkan ke dalam toples kaca kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 1 L. Simplisia direndam selama 5 hari dan dilakukan pengadukan sesering mungkin dan hasil ekstrak cair yang disaring dengan menggunakan kertas saring serta ditampung dalam sebuah wadah kaca. Kemudian sisa ampasnya dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali dengan masing-masing pelarut sebanyak 1 L. Setelah semua ekstrak cair yang didapat kemudian diuapkan di atas *waterbath* dan diperoleh ekstrak kental.

2. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Biji Alpukat

Identifikasi golongan senyawa kimia dilakukan prosedur cara sebagai berikut:

a. Uji alkaloid

Ekstrak kental sebanyak 0,5 g dicampur dengan 1 mL HCl 2 N dan 9 mL aquadest panas. Larutan dipanaskan selama 2 menit, kemudian didinginkan dan disaring lalu filtratnya dibagi dua. Filtrat pertama diteteskan pada kertas saring kemudian disemprot dengan pereaksi Dragendorf, sisanya dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan pereaksi Dragendorf. Sampel positif terdapat alkaloid bila terbentuk warna merah atau jingga.

b. Uji Flavonoid

Ekstrak kental 0,5 g dilarutkan dalam etanol kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi. Serbuk Mg dan HCl pekat ditambahkan ke dalam tabung reaksi. Hasil tersebut ditambah amil alkohol, dikocok dengan kuat dan dibiarkan hingga memisah. Bila terdapat flavonoid maka akan terbentuk warna merah atau coklat pada lapisan amil alkohol.

c. Uji Tanin

Ekstrak kental 1 g dicampur dengan 10 mL aquadest panas dan dipanaskan kurang lebih 1 jam. Larutan kemudian didinginkan dan disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dibagi menjadi dua bagian. Filtrat pertama ditambahkan 5 mL larutan FeCl₃ 1%, jika terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman maka hal itu menunjukkan adanya senyawa golongan tanin..

d. Saponin

Ekstrak kental 0,5 g dicampur dengan 10 mL air panas kemudian didinginkan dan dikocok hingga muncul buih. Larutan didiamkan selama 2 menit, kemudian ditetaskan HCl 2 N. Bila terdapat senyawa saponin dalam ekstrak maka akan terbentuk buih mantap selama 10 menit.

(Sentat, T., dan Permatasari, R., 2015)

3. Formulasi Krim

Formulasi krim dibuat dengan berbagai variasi konsentrasi ekstrak etanol biji alpukat, yaitu 1,5%, 3% dan 6%. Bahan-bahan yang digunakan dalam formulasi krim dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Formulasi krim antibakteri

No	Nama Bahan	Formula (% b/b)			
		F0	F1	F2	F3
1.	Ekstrak Etanol Biji Alpukat	0	1,5	3	6
2.	Asam Stearat	6	6	6	6
3.	Setil Alkohol	2	2	2	2
4.	Gliserin	7,5	7,5	7,5	7,5
5.	TEA	1,5	1,5	1,5	1,5
6.	Nipagin	0,02	0,02	0,02	0,02
7.	Nipasol	0,15	0,15	0,15	0,15
8.	Akuades	ad 50	ad 50	ad 50	ad 50

Masing-masing bahan ditimbang sesuai dengan perhitungan bahan. Fase minyak dibuat dengan melebur asam stearat, tambahkan setil alkohol dan nipagin di atas *waterbath*, suhu dipertahankan pada suhu 70°C. Fase air dibuat dengan melebur TEA, gliserin dan nipasol di atas *waterbath* hingga meleleh tambahkan air panas diaduk hingga homogen, suhu dipertahankan 70°C. Krim dibuat dengan cara menambahkan fase minyak ke dalam fase air. Bila suhu krim sudah mencapai suhu $\pm 45^\circ\text{C}$, kemudian ditambahkan ekstrak etanol biji alpukat sambil terus diaduk sampai homogen.

4. Uji Sifat Fisik Krim

a. Uji Organoleptis

Pada penelitian ini uji organoleptis bertujuan untuk mengetahui perbedaan warna, bentuk, dan bau dari masing masing formula.

b. Uji Homogenitas

Uji homogenitas salep dapat dilakukan dengan cara : disiapkan sampel dan dua buah lempeng kaca yang bersih, kemudian ditempatkan disalah satu lempeng kaca sejumlah sampel sebanyak masing-masing kurang lebih 1 gram pada sisi yang bersebelahan, tutup lempeng kaca lain di atasnya dan ditekan, setelah itu krim diamati

c. Uji pH

pH diukur menggunakan pH meter

d. Uji Daya Lekat

Sebanyak 0,25 gram krim diletakkan di atas gelas obyek yang telah ditentukan luasnya. Gelas obyek yang lain diletakkan di atas krim tersebut. Setelah itu ditambahkan, beban 1 kg selama 5 menit pada gelas obyek dan dipasang pada alat tes. Beban seberat 80 gram dilepaskan, dicatat waktunya hingga kedua gelas obyek tersebut terlepas. Percobaan diulangi sebanyak 3 kali.

e. Uji Daya Sebar

Sediaan krim sebanyak 0,5 gram, diletakkan di tengah cawan petri yang dibalik, kemudian lapsi dengan plastik. Lalu tambahkan beban di atasnya seberat 125 gram. Diamkan selama 1 menit. Kemudian ukur diameter sebar krim menggunakan penggaris, catat diameter sebarannya, lakukan sebanyak 3 kali.

5. Uji Aktivitas Antibakteri

a. Pembuatan Medium

Membuat 100 ml NA, ditimbang 2 gram medium NA, kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer dilarutkan dengan akuades hingga 100 ml dicek pH nya sampai $7,0 \pm 0,2$. Setelah itu dipanaskan sampai mendidih dan larutkan sempurna. Setelah larut sempurna disumbat kapas lalu sterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121° dengan tekanan 1-1,5 atm.

b. Peremajaan Bakteri Uji

Biakan murni *Propionibacterium acnes* diambil 1 ose, lalu diinokulasikan dengan cara digoreskan pada media (NA) miring. Diinkubasikan selama 1 x 24 jam pada suhu 37°C .

c. Pembuatan Suspensi *Propionibacterium acnes*

Hasil biakan *Propionibacterium acnes* diambil sebanyak 1 ose lalu disuspensikan dengan NaCl 0,9% b/v sebanyak 10 ml dengan cara menyetarakan kekeruhannya dengan *Mc. Farland* 0,5 kemudian dikocok sampai homogen.

d. Pengujian Daya Hambat

Disiapkan medium NA steril, dituang secara aseptis ke dalam cawa petri steril sebanyak 20 ml dan dibiarkan memadat. Lalu diinokulasi suspense bakteri menggunakan swab steril pada media yang telah memadat dengan metode usap. Buat sumuran sebanyak yang dibutuhkan dengan ukuran 6 mm/sumuran. Kemudian ambil sampel dan kontrol yang diujikan dengan micropipette masing-masing sebanyak 50 μl . Inkubasi pada suhu 37°C yaitu suhu ruang selama 24 jam. Ukur diameter daerah hambat.

e. Pengamatan dan Pengukuran Diameter Hambatan

Dilakukan setelah diinkubasikan selama 1x24 jam dengan cara mengukur zona bening di sekitar sumuran menggunakan mistar/jangka sorong.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Ekstrak Biji Alpukat

Penelitian ini memanfaatkan biji alpukat. Penyiapan sampel dilakukan dengan cara biji alpukat yang telah diseleksi dikumpulkan kemudian dicuci, disortasi basah dan ditimbang. Untuk membantu agar simplisia cepat mengering, biji alpukat dipotong tipis-tipis, selanjutnya dikeringkan selama 3 hari. Simplisia yang sudah mengering ditimbang dan diblender sampai halus.

Pembuatan ekstrak biji alpukat dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Etanol dipilih sebagai pelarut karena dapat menyari dengan baik zat aktif yang terkandung di dalam biji alpukat. Ekstrak biji alpukat mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Adanya senyawa kimia pada biji alpukat sehingga dapat berperan sebagai anti inflamasi, anti oksidan, anti bakteri. Adanya senyawa kurkumin ini yang nantinya berperan sebagai antioksidan, anti inflamasi dan anti bakteri. Hasil uji menunjukkan ekstrak biji alpukat yang didapat memiliki konsistensi kental, warna coklat kemerahan, dan beraroma khas biji alpukat. Ekstrak etanol biji alpukat dapat dilihat pada gambar 1.

Gambar 1. Ekstrak etanol biji alpukat



Ekstrak biji alpukat yang diperoleh selanjutnya dilakukan skrining fitokimia di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Laboratorium Terpadu. Hasil skrining dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Biji Alpukat

Golongan Kimia	Jenis Test	Hasil	Kesimpulan
Flavonoid	Serbuk Mg (HCl)	Terjadi warna jingga	Positif
Tanin	FeCl ₃	Terbentuk warna biru kehitaman	Positif
Saponin	Lieberman Burchard	Terjadi busa stabil	Positif
Alkaloid	Dragendrof	Terbentuk warna jingga	Positif

2. Sediaan Krim

Setelah dilakukan skrining fitokimia dilanjutkan dengan pembuatan sediaan krim, dengan variasi konsentrasi dari ekstrak etanol biji alpukat sebesar 1,5, 3 dan 6%. Sediaan krim yang dibuat dapat dilihat pada gambar 2.

Gambar 2. Krim ekstrak etanol biji alpukat



Keterangan

F0 = Basis

F1= ekstrak etanol biji alpukat konsentrasi 1,5%

F2 = ekstrak etanol biji alpukat konsentrasi 3%

F3 = ekstrak etanol biji alpukat konsentrasi 6%

2.1.Uji Organoleptis

Pengamatan organoleptis dilakukan terhadap warna, dan bau sediaan krim. Hasil pengamatan organoleptis dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji organoleptis krim biji alpukat

Formula	Tekstur	Warna	Bau
F0	semi padat	putih	Khas basis
F1	semi padat	coklat kemerahan	Khas biji alpukat
F2	semi padat	coklat kemerahan	Khas biji alpukat
F3	semi padat	coklat kemerahan	Khas biji alpukat

Keterangan:

F0 = basis krim

F2 = krim dengan konsentrasi ekstrak 1,5%

F3 = krim dengan konsentrasi ekstrak 3%

F4 = krim dengan konsentrasi ekstrak 6%

Hasil uji organoleptis yang dilakukan setelah sediaan dibuat menunjukkan bahwa keempat formulasi memiliki bentuk semi padat. Pada formula yang hanya mengandung basis krim memiliki bau yang berbeda dengan ke tiga formula (F1, F2 dan F3) yaitu berbau khas basis krim. Pada salep formula F1, F2 dan F3 memiliki bau yang sama yaitu berbau khas biji alpukat, karena berisi zat aktif ekstrak etanol biji alpukat dengan konsentrasi yang sama. Pada pemeriksaan warna sediaan untuk ke tiga formula F1, F2 dan F3 memiliki warna coklat kemerahan karena ketiga formula mengandung ekstrak biji alpukat, sedangkan pada formula yang hanya terdiri dari basis krim tanpa ekstrak sehingga berwarna putih. Kualitas krim yang baik yaitu dalam bentuk sediaan setengah padat, berbau khas ekstrak atau sesuai bahan digunakan dan tidak tengik dan berwarna seperti ekstrak.

Uji pH

Uji pH bertujuan untuk memastikan keamanan dari sediaan yang dibuat sehingga produk yang dihasilkan tidak mengiritasi kulit (Naibaho, Yamlean and Wiyono, 2013). Hasil pengujian pH dari sediaan krim dari semua formula memiliki rentang nilai 7,37 - 8,01. Oleh karena itu, dari semua produk krim yang dibuat masih memenuhi syarat sediaan yang di aplikasikan di kulit yaitu pH 4,0 – 8,0 sesuai dengan pH normal kulit. Tabel hasil pengujian nilai pH dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji pH krim

Formula	pH±SD
F0	8,01±0,015
F1	7,78±0,031
F2	7,67±0,058
F3	7,37±0,045

Keterangan:

F0 = basis krim
 F1 = krim dengan konsentrasi ekstrak 1,5%
 F2 = krim dengan konsentrasi ekstrak 1,5%
 F3 = krim dengan konsentrasi ekstrak 3%
 F4 = krim dengan konsentrasi ekstrak 6%

Uji daya lekat

Pengujian daya lekat dapat dilihat pada tabel 5. Rentang waktu daya lekat krim yang baik yaitu tidak kurang dari 4 detik (Sandi and Musfirah, 2018). Dari ke empat formula menunjukkan daya lekat 1,43 – 5,64 detik.

Tabel 4. Hasil uji daya lekat krim ekstrak biji alpukat

Formulasi	Daya lekat (detik)
F0	5,64
F1	2,95
F2	1,81
F3	1,43

Keterangan:

F0 = basis krim

F2 = krim dengan konsentrasi ekstrak 1,5%

F3 = krim dengan konsentrasi ekstrak 3%

F4 = krim dengan konsentrasi ekstrak 6

Uji daya sebar

Pada penelitian ini untuk uji daya sebar pada ke empat formula sediaan krim dilakukan pengujian. Tujuan dari pengujian ini untuk mengetahui kemampuan sediaan dalam menyebar pada permukaan kulit (Tiara Misericordia Lasut1 *et al.*, 2019). Rentang nilai pengujian daya sebar dikatakan memiliki hasil yang baik yaitu 5-7 cm (Sandi and Musfirah, 2018). Hasil pengujian daya sebar dari ke empat formula yaitu 5,43 - 6,20 cm. Hasil pengujian menunjukkan bahwa semua sediaan krim memiliki daya sebar yang baik. Hasil pengujian daya sebar dapat dilihat pada Tabel 5.

Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui daya sebar yang dapat ditempuh sediaan krim yang dibuat. Daya sebar dipengaruhi oleh viskositas sediaan. Semakin tinggi viskositas krim maka tahanan yang dimiliki pun semakin besar sehingga krim semakin sukar untuk mengalir dan daya menyebarnya menjadi semakin kecil. Hal ini sesuai dengan hasil yang diperoleh bahwa, nilai viskositas berbanding terbalik dengan daya sebar.

Tabel 5. Hasil uji daya sebar krim ekstrak biji alpukat

Formulasi	Rata-rata nilai daya sebar \pm SD (cm)
F0	6,20 \pm 0,10
F1	5,67 \pm 0,15
F2	5,46 \pm 0,15
F3	5,43 \pm 0,35

Keterangan:

F0 = basis krim

F2 = krim dengan konsentrasi ekstrak 1,5%

F3 = krim dengan konsentrasi ekstrak 3%

F4 = krim dengan konsentrasi ekstrak 6

Uji aktivitas krim terhadap *Propionibacterium acne*

Uji aktivitas krim dengan basis *vanishing cream* terhadap *Propionibacterium acne* dilakukan dengan metode sumur (difusi agar) yang didasarkan pada kemampuan senyawa-senyawa antibakteri yang diuji untuk menghasilkan diameter zona

penghambatan di sekeliling sumur uji terhadap bakteri yang digunakan sebagai penguji. Pengujian aktivitas antibakteri sediaan dilakukan pada masing-masing formula dimana F0 sebagai kontrol negatif, F1, F2, F3 dan F4 serta sediaan krim yang mengandung klindamisin sebagai kontrol positif.

Formula F0 merupakan formula tanpa ekstrak diharapkan tidak terbentuk zona bening sehingga dapat dinyatakan bahwa bahan tambahan formulasi tidak mempunyai aktivitas antibakteri tetapi mempengaruhi aktivitas ekstrak. Hasil pengujian antibakteri dapat dilihat pada tabel 5

Tabel 5. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji alpukat

Zona hambat (diameter mm)	
Konsentrasi	<i>Propionibacterium acnes</i>
1,5 %	3,33
3%	6,67
6%	13,33
Kontrol negatif	0
Kontrol positif	14

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol menunjukkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* dengan dibentuknya zona bening di sekeliling lubang. Zona bening yang dibentuk merupakan zona hambat bagi pertumbuhan bakteri. Hal ini terjadi karena adanya aktivitas antibakteri dari biji alpukat.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa krim ekstrak etanol biji alpukat dengan konsentrasi 1,5, 3 dan 6 % memberikan daya hambat yang berbeda-beda, dengan nilai berturut-turut yaitu 3,33, 6,67 dan 13,33 mm. Daya hambat paling besar dihasilkan dari krim dengan konsentrasi ekstrak etanol biji alpukat yang paling tinggi yaitu 6%. Hal ini menunjukkan bahwa dengan peningkatan konsentrasi dari ekstrak akan menyebabkan daya hambat terhadap bakteri semakin tinggi.

Kategori daya hambat yang dimiliki masing-masing krim menunjukkan hasil yang berbeda yaitu krim dengan konsentrasi ekstrak etanol biji alpukat 1,5 % dapat dikategorikan memiliki daya hambat yang lemah. Krim ekstrak etanol biji alpukat 3% memiliki daya hambat yang sedang dan ekstrak etanol biji alpukat 6% memberikan daya hambat kuat. Kontrol positif memberikan daya hambat 14 mm yang menunjukkan bahwa kontrol positif memiliki daya hambat yang kuat terhadap bakteri dan kontrol negatif tidak memberikan daya hambat karena menghasilkan zona hambat 0 mm.

Adanya zona hambat yang terbentuk karena adanya senyawa antibakteri pada biji alpukat. Berdasarkan skrining fitokimia, senyawa metabolit sekunder yang terdapat ada pada ekstrak biji alpukat antara lain flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Mekanisme

penghambatan pertumbuhan bakteri oleh golongan senyawa fitokimia memiliki aktivitas yang berbeda-beda. Dari hasil yang penelitian menunjukkan semakin tinggi konsentrasi sediaan krim ekstrak etanol biji alpukat maka semakin besar daya hambat yang dihasilkan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa biji alpukat mengandung senyawa aktif yaitu alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin. Ekstrak etanol biji alpukat dapat diformulasikan menjadi sediaan krim dengan konsentrasi 1,5%, 3% dan 6%. Sediaan krim ekstrak etanol biji alpukat memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes*.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait evaluasi fisik sediaan krim ekstrak etanol biji alpukat dan untuk uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode lainnya seperti metode difusi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alkhalif, M.I., Alansari, W.S., Ibrahim, E.A., dan ELhalwagy, M.E.A., 2018. Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-cancer activities of avocado (*Persea americana*) fruit and seed extract. *Journal of King Saud University - Science*, .
- Athaydes, B.R., Alves, G.M., Assis, A.L.E.M. de, Gomes, J.V.D., Rodrigues, R.P., Campagnaro, B.P., dkk., 2019. Avocado seeds (*Persea americana* Mill.) prevents indomethacin-induced gastric ulcer in mice. *Food Research International*, **119**: 751–760.
- Dabas, D., Shegog, R., Ziegler, G., dan Lambert, J., 2013. Avocado (*Persea americana*) Seed as a Source of Bioactive Phytochemicals. *Current Pharmaceutical Design*, **19**: 6133–6140.
- Girón-Vázquez, N.G., Gómez-Gutiérrez, C.M., Soto-Robles, C.A., Nava, O., Lugo-Medina, E., Castrejón-Sánchez, V.H., dkk., 2019. Study of the effect of *Persea americana* seed in the green synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial properties. *Results in Physics*, **13**: 102142.
- Gonzalez, A.C. de O., Costa, T.F., Andrade, Z. de A., dan Medrado, A.R.A.P., 2016. Wound healing - A literature review. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, **91**: 614–620.
- Primadina, N., Basor, A., dan Perdanakusuma, D., 2019. Proses Penyembuhan Luka ditinjau dari Aspek Mekanisme Seluler dan Molekuler. *Qanun Medika*, **3**: 31-43.
- Soldera-Silva, A., Seyfried, M., Campestrini, L.H., Zawadzki-Baggio, S.F., Minho, A.P., Molento, M.B., dkk., 2018. Assessment of anthelmintic activity and bio-guided chemical analysis of *Persea americana* seed extracts. *Veterinary Parasitology*, **251**: 34–43.
- Sentat, T., Permatasari, R., 2015. Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap Penyembuhan Luka Bakar pada Punggung Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*).
- Talabi, J.Y., Osukoya, O.A., Ajayi, O.O., dan Adegoke, G.O., 2016. Nutritional and antinutritional compositions of processed Avocado (*Persea americana* Mill) seeds
- 7.

