Formulasi Krim Antihiperpigmentasi Ekstrak Kulit Buah Delima (*Punica granatum* L.)

Bhakti A. Magdalena, Sriwidodo Bardi, Wiwiek Indriyanti, Firdha S. Maelaningsih
Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Jawa Barat, Indonesia

Abstrak
Kulit buah delima (*Punica granatum* L.) diketahui memiliki kandungan asam elegat dan asam galat yang menghambat enzim tirosinase, serta punicalagin yang menghambat reaksi oksidasi L-tirosin dan L-DOPA dalam mekanisme pembentukan melanin sebagai penyebab dari hiperpigmentasi. Penelitian ini bertujuan untuk membuat formulasi sediaan krim antihiperpigmentasi yang mengandung ekstrak kulit buah delima. Metode penelitian meliputi ekstraksi kulit buah delima, formulasi sediaan krim antihiperpigmentasi, evaluasi fisik sediaan, pengujian aktivitas penghambatan tirosinase, pengujian cemaran mikroba, dan ujian iritasi sediaan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah delima dapat diformulasikan menjadi krim antihiperpigmentasi yang baik, efektif, dan aman. Namun, krim yang mengandung ekstrak kulit buah delima 1% menunjukkan ketidakstabilan fisik. Sediaan krim dengan berbagai konsentrasi ekstrak kulit buah delima (0,5% dan 1%) efektif menghambat enzim tirosinase dengan nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 363 ppm dan 290 ppm.

Kata kunci: Antihiperpigmentasi, ekstrak kulit buah delima, krim

Formulation of Antihyperpigmentation Cream from Pomegranate Extract (*Punica granatum* L.)

Abstract
Granati pericarpium (Punica granatum L.) contains elegic acid and gallic acid which inhibit tyrosinase enzyme, as well as punicalagin which inhibit the oxidation reaction of L-tyrosine and L-DOPA in melanin formation mechanism as the cause of hyperpigmentation. This research was aimed to make antihyperpigmentation cream formulation containing extracts of Granati pericarpium. The methods were extraction, formulation, evaluation, tyrosinase inhibitory activity assay, microbial contamination identification, and irritation. The results showed that Granati pericarpium extract can be formulated into a safe and an effective antihyperpigmentation cream. In additon, the formulation of antihyperpigmentation cream in various concentrations (0.5% and 1%) had an effective IC50 to inhibit tyrosinase enzyme in 363 and 290 ppm.

Keywords: Antihyperpigmentation, cream, granati pericarpium

Korespondensi: Sriwidodo Bardi
sirwied@gmail.com

Pendahuluan

Hiperpigmentasi merupakan salah satu masalah kulit akibat dari peningkatan zat pigmen kulit. Peningkatan sistesis melanin secara lokal atau distribusi melanin yang tidak merata yang dapat menyebabkan pigmentasi lokal atau *spot*.[1]

Produk kosmetik yang mengandung zat kimia seperti hidrokuinon mempunyai efek samping pengelupasan pada bagian kulit epidermis dan menyebabkan kulit menjadi berwarna kemerahan dan menipis.[2] BPOM telah melarang penggunaan hidrokuinon di dalam kosmetik, sedangkan mengizinkan asam retinoat hanya untuk pengobatan hiperpigmentasi.[3] Berdasarkan hal-hal itu, harus dihindarkan pemilihan zat kimia di dalam kosmetik yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan kulit.

Pengembangan kosmetik yang berasal dari bahan alam sebagai pemutih wajah difokuskan terhadap aktivitas menghambat enzim tirosinase yang bekerja menghambat melanin. Bahan alam tersebut dapat berupa senyawa yang berasal dari tanaman[4] dan memiliki keuntungan karena efek samping yang ditimbulkan relatif lebih kecil apabila dibandingkan dari bahan kimia. Senyawa aktif dari tumbuhan yang telah dikektahui sebagai pemutih antara lain *Morus alba* L. (Moraceae) atau *Glycyrrhiza glabra* L. (Leguminosae).[5]

Sementara itu, kulit buah delima (*Punica granatum* L.) merupakan salah satu tanaman yang mempunyai aktivitas antihiperpigmentasi. Kulit buah delima mengandung senyawa-senyawa polifenol seperti asam elegat dan asam galat yang memiliki aktivitas sebagai inhibitor enzim tirosinase, dan juga punicalagin adalah ellagitanin yang ditemukan pada delima. Asam elegat memiliki afinitas terhadap tembaga pada *active site* dari tirosinase dan menghambat aktivitasnya.[6]

Berdasarkan hal-hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk memformulasi krim antihiperpigmentasi dari ekstrak kulit buah delima. Bentuk sediaan yang dipilih adalah krim karena penyebaran dari krim yang merata dan mudah dibersihkan khususnya krim emulsi minyak dalam air. Hasil dari penelitian diharapkan dapat menghasilkan suatu sediaan krim yang berfungsi sebagai antihiperpigmentasi dari ekstrak kulit buah delima yang baik, stabil, efektif, dan aman.

Metode

Bahan yang digunakan, antara lain tirosinase yang berasal dari jamur (Sigma Aldrich), ekstrak dari kulit buah delima (Lansida Herbal), levodopa atau L-DOPA (Sigma Aldrich), dikalium hidrogen fosfat, natrium hidroksida, metanol, parafin cair, dimetil sulfoksida (DMSO) (Merck), *fluid thioglycollate medium* (Merck), gliserin (Brataco Chemical), asam stearat (Brataco Chemical), setil alkohol, isopropil miristat, trietanolamin, gliseril monostearat, metil paraben, propil paraben, dan butil hidroksi toluen.

Alat-alat yang digunakan meliputi, pembakar bunsen, kuvet, spektrofotometer UV-Visibel (Specord 200), penetrometer, pH meter (Methrom), tabung sentrifugasi, pipet volume, penangas air, *homogenizer*, kamera digital, oven (Memmert, M200), timbangan analitik (Mettler Toledo), dan sentrifugator (Eppendorf-5702).

Bahan baku dalam penelitian ini adalah ekstrak kulit buah delima yang diperoleh dari Lansida Herbal, Kota Yogyakarta, Indonesia, dan dilakukan pengujian ekstrak di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (Balitro).

Formula sediaan krim dapat dilihat pada Tabel 1. Sediaan krim diformulasikan berdasarkan perbedaan konsentrasi dari ekstrak, yaitu 0,5% dan 1%. Formulasi juga dilakukan untuk krim blanko dengan komposisi basis krim yang sama tanpa ekstrak dan digunakan untuk pengujian iritasi sediaan.

Sediaan krim dibuat dengan cara melarutkan ekstrak dalam DMSO dan akuades digunakan sebagai pelarut untuk trietanolamin, gliserin, dan metil paraben pada suhu 70 °C dan digunakan sebagai fase air. Bahan-bahan yang larut di dalam

Tabel 1 Formulasi Sediaan Krim Antihiperpigmentasi yang Mengandung Kulit Buah Delima

No.	Bahan	Konsentrasi (%)	
1	Ekstrak kulit buah delima	0,5	1
2	DMSO	0,625	1,25
3	Asam stearate	5	5
4	Setil alkohol	2,5	2,5
5	Paraffin cair	2	2
6	Isopropil miristat	3	3
7	Metil paraben	0,2	0,2
8	Propil paraben	0,02	0,02
9	Trietanolamin	0,7	0,7
10	Gliserin monostearat	2	2
11	Gliserin	8	8
12	BHT	0,05	0,05
13	Akuades	Hingga 100	Hingga 100

fase minyak yaitu asam stearat, setil alkohol, isopropil miristat, propil paraben, butilhidroksitoluen, parafin cair, dan juga gliseril monostearat dipanaskan 70 ^{o}C hingga melebur, lalu dicampur dengan fase air lalu diaduk dengan *homogenizer* pada suhu 70 ^{o}C dengan kecepatan 3000 rpm. Setelah terbentuk basis krim kemudian dicampur dengan larutan ekstrak hingga homogen. Krim yang dihasilkan kemudian disimpan di dalam wadah tidak tembus cahaya.

Sediaan krim yang telah dihasilkan dievaluasi secara organoleptis (bau, warna, dan konsistensi), pengukuran pH, dengan Dengan pH meter yang telah dikalibrasi terlebih dahulu dengan larutan dapar standar pH 4 dan 7. Evaluasi dilakukan dengan menentukan viskositas dengan cara krim ditimbang sebanyak 2 g dan diukur viskositasnya dengan menggunakan alat *viscometer brookfield.*

Evaluasi sampel dilakukan selama 8 minggu dengan penyimpanan pada suhu 4 ^{o}C, suhu kamar, serta suhu 40 ^{o}C) dan pengukuran viskositas yang dilakukan tiap 2 minggu.

Pada metode *cycling test*, sampel krim disimpan pada suhu 4 ^{o}C dalam waktu 24 jam, lalu dipindahkan ke dalam oven yang bersuhu 40 ^{o}C selama 24 jam (satu siklus). Uji dilakukan sebanyak 6 siklus kemudian diamati adanya pemisahan fase atau tidak. Pada uji mekanik (*centrifugal test*), sampel krim dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu dimasukkan ke dalam sentrifugator pada kecepatan 3750 rpm selama 5 jam.

Pengukuran aktivitas penghambatan tirosinase dilakukan dengan cara empat tabung reaksi disiapkan (A, B, C, D), pada tiap tabung dipipet 1,0 mL larutan L-DOPA 2,5 mM dan 1,8 mL dapar fosfat 50 mM (pH 6,8) lalu diinkubasi selama 10 menit. Setelah diinkubasi, ditambahkan pada tiap tabung, tabung A: 0,1 mL dapar fosfat dan 0,1 mL larutan enzim tirosinase, tabung B: 0,2 mL dapar fosfat, tabung C: 0,1 mL larutan sampel dan 0,1 mL larutan enzim tirosinase, serta tabung D: 0,1 mL dapar fosfat dan 0,1 mL larutan sampel. Tabung-tabung tersebut diinkubasi selama 25 menit, selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 475 nm dengan spektrofotometer UV-Vis.[7] Nilai aktivitas penghambatan enzim tirosinase diperoleh dengan cara menghitung penghambatan dopakrom yang terbentuk menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\%\text{inhibisi} = \frac{(A - B) - (\mathrm{C} - \mathrm{D})}{(A - B)} x100\%$$

A adalah serapan larutan blanko negatif dengan enzim, B adalah serapan larutan blanko negatif tanpa enzim, C adalah serapan larutan sampel dengan enzim, dan D adalah serapan larutan sampel tanpa enzim.

Aktivitas penghambatan sampel uji ditentukan dengan nilai IC_{50}, yaitu konsentrasi dimana sampel uji dapat

menghambat aktivitas enzim tirosinase sebesar 50%.

Pengujian cemaran mikroba meliputi cemaran bakteri maupun cemaran jamur dilakukan dengan metode tabung ganda menggunakan media pertumbuhan FTM (*Fluid Thioglycollate Medium*). Digunakan sebanyak 14 tabung yang berukuran sama pada pengujian ini. Selanjutnya, disiapkan media pertumbuhan FTM dengan cara 30 g FTM dilarutkan di dalam 1 liter akuades, dipanaskan, kemudian diautoklaf selama 15 menit pada suhu 121 ^{o}C. Ke dalam setiap tabung dari 14 tabung ditambahkan masing-masing 9,0 mL media FTM steril. Dipisahkan 12 tabung dan dibagi dalam 4 kelompok yang masing-masing terdiri atas 3 tabung. Satu kelompok sebagai kontrol dan 3 kelompok lain sebagai kelompok 1 (“100”), kelompok 2 (“10”), kelompok 3 (“1”), dan dua tabung lainnya masing-masing dinyatakan sebagai tabung A dan tabung B. Masing-masing tabung pada kelompok 1 (“100”) dan juga pada tabung A dimasukkan sebanyak 1 mL larutan atau suspensi spesimen dan dicampurkan.

Dari tabung A dipipet 1 mL ke dalam tabung B dan dicampurkan. Tabung A dan tabung B masing-masing akan berisi 100 mg (100 µL) dan 10 mg (10 µL) spesimen. Masing-masing tabung kelompok 2 (“10”) ditambahkan 1 mL dari tabung A, dan ke dalam masing-masing tabung kelompok 3 (“1”) ditambahkan 1 mL dari tabung B. Kemudian, sisa isi dari tabung A dan tabung B dibuang. Semua tabung ditutup secara baik lalu diinkubasikan, diamati ada tidaknya pertumbuhan mikroba di dalam setiap tabung.

Pengujian iritasi dari sediaan krim antihihiperpigmentasi ini dilakukan dengan metode *patch test* untuk melihat perubahan yang terjadi setelah dioleskan sediaan krim antihiperpigmentasi. Pengujian ini hanya dilakukan terhadap krim ekstrak kulit buah delima dengan konsentrasi terbesar (1%) terhadap 20 orang sukarelawan dengan metode uji tempel terbuka (*patch test*). Pada punggung tangan kanan sukarelawan dioleskan krim dengan ekstrak kulit buah delima 1%, lalu pada punggung tangan kiri dioleskan krim tanpa ekstrak kulit buah delima (basis krim) sebagai pembanding. Bagian yang dioleskan kemudian dibiarkan terbuka dalam waktu 5 menit dan diamati perubahan-perubahan yang terjadi setelah pengolesan. Umumnya iritasi akan segera ditunjukkan dengan adanya reaksi kulit sesaat setelah pelekatan atau penyentuhan, reaksi tersebut dikenal sebagai iritasi primer. Apabila reaksi terjadi beberapa jam setelah pelekatan atau penyentuhan pada kulit disebut sebagai iritasi sekunder. Jika tidak terjadi reaksi diberi tanda (-). Bila kulit memerah dan gatal diberi tanda (+), dan bila terjadi pembengkakan diberi tanda (++). Pengolesan dilakukan tiga kali sehari selama tiga hari berturut-turut serta dengan cara yang sama pada hari ke-60.

Hasil

Hasil pengujian ekstrak menunjukkan bahwa bahan baku ekstrak merupakan ekstrak kulit buah delima berdasarkan pemeriksaan di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obah (Balitro).

Hasil dari formulasi sediaan krim antihiperpigmentasi dari ekstrak kulit buah delima A (0,5%) menunjukkan konsistensi yang kental, berwarna cokelat kuning, dan berbau jamur. Sedangkan hasil formulasi pada sediaan krim antihiperpigmentasi B (1%) menunjukkan konsisntensi yang agak kental, berwarna cokelat kuning pekat, dan berbau jamur.

Evaluasi fisik yang dilakukan pada sediaan krim antihiperpigmentasi adalah pengamatan organoleptis, pengukuran pH, dan pengukuran nilai viskositas. Hasil dari pengamatan organoleptis dari sediaan krim antihiperpigmentasi diperoleh sifat-sifat krim yang lembut, mudah menyebar, membentuk konsistensi setengah padat, dan cukup nyaman ketika dioleskan pada kulit. Dari hasil pengukuran nilai pH pada evaluasi fisik, didapat nilai pH krim pada sediaan A sebesar 6,71 dan pada sediaan B sebesar 6,58 (Gambar 1). Berdasarkan hasil pengukuran viskositas pada evaluasi

fisik, didapatkan nilai viskositas krim yang mengandung ekstrak kulit buah delima 0,5% sebesar 6533 cps dan nilai viskositas krim yang mengandung ekstrak kulit buah delima 1% sebesar 3340 cps (Gambar 2).

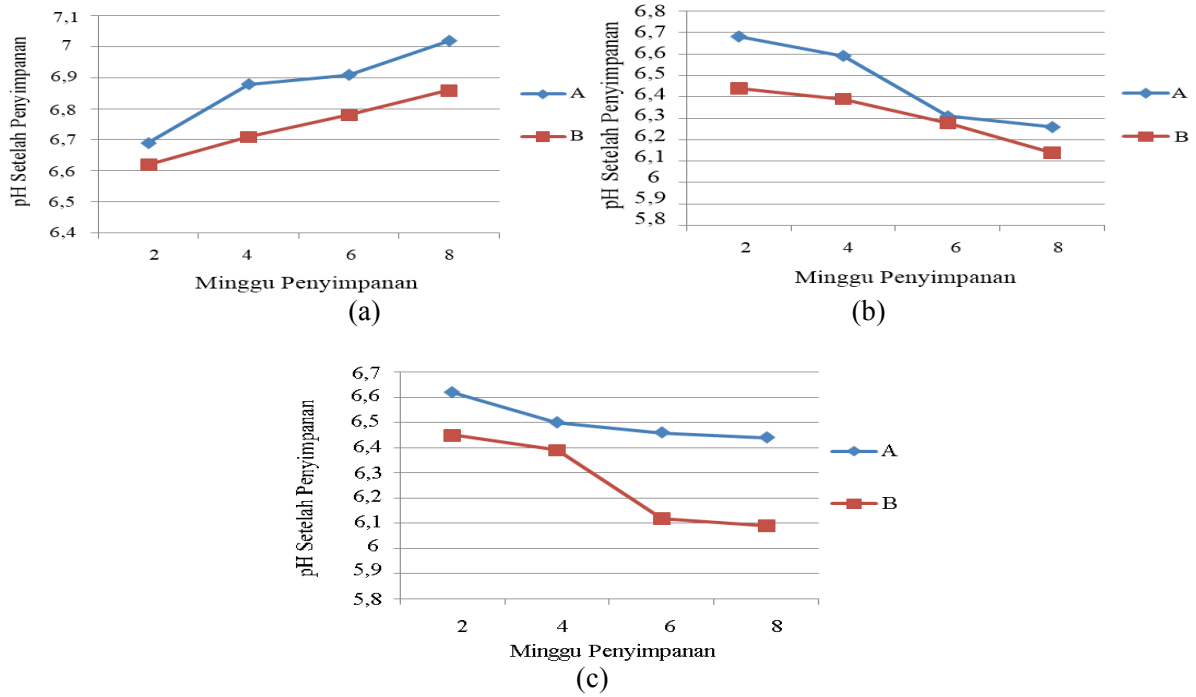
Pengujian stabilitas fisik dari sediaan dilakukan pada penyimpanan dengan berbagai suhu, metode *cycling test*, dan uji mekanik (*centrifugal test*). Penyimpanan krim pada berbagai suhu dilakukan pada suhu rendah (4 ^{o}C), suhu kamar, dan suhu tinggi (40 ^{o}C). Kedua formulasi krim yang telah disimpan pada suhu 4 ^{o}C mengalami perubahan warna menjadi sedikit lebih muda, krim yang disimpan di suhu kamar mengalami perubahan warna menjadi lebih gelap, dan pada penyimpanan di suhu 40 ^{o}C mengalami perubahan warna yang cukup signifikan menjadi lebih gelap terutama formula yang mengandung 1% ekstrak kulit buah delima.

Pada pengujian metode *cycling test,* kedua formula yang diuji menunjukkan hasil yang stabil karena tidak menunjukkan adanya pemisahan fase antara fase minyak dan fase air. Pada uji mekanik (*centrifugal test*), krim A (0,5%) tampak stabil secara fisik yang ditandai dengan tidak adanya pemisahan antara fase air dan fase minyak. Pada krim B (1%) tampak adanya sedikit pemisahan antara fase air dan fase minyak, yang berarti bahwa formula krim B tidak tahan efek gravitasi selama satu tahun.

Uji aktivitas penghambatan tirosinase ekstrak kulit buah delima dilakukan secara *in vitro* yang diformulasikan ke dalam krim dengan konsentrasi ekstrak 0,5% (krim A) dan 1% (krim B). Hasil dari pengukuran menunjukkan bahwa krim A memiliki IC_{50} sebesar 363 ppm, sedangkan krim B memiliki IC_{50} sebesar 290 ppm (Tabel 2), yang dihitung dari konsentrasi ekstrak dalam masing-masing krim.

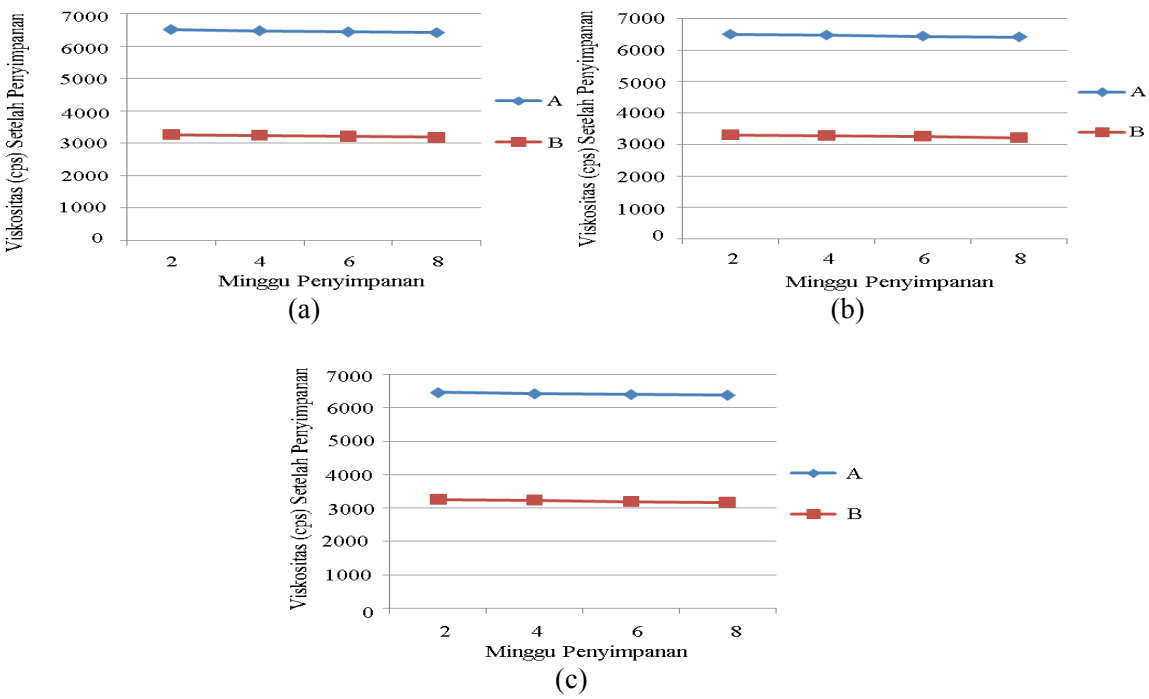
Pengujian cemaran mikroba meliputi cemaran bakteri dan jamur memberikan hasil yang sama untuk semua sediaan, tidak terjadi pertumbuhan mikroba pada tabung reaksi yang mengandung sediaan.

Hasil pengujian iritasi sediaan krim antihihiperpigmentasi metode *patch test*, dengan waktu penyimpanan selama 60 hari menunjukkan tidak terjadi iritasi pada kulit punggung tangan 20 orang sukarelawan, baik iritasi primer maupun iritasi sekunder.



Gambar 1 Grafik Hasil Pengukuran pH Krim Antihiperpigmentasi Selama 8 Minggu Penyimpanan pada (a) Suhu Rendah (4 ^{o}C) (b) Suhu Kamar (25 ^{o}C) (c) Suhu Tinggi (40 ^{o}C)

Keterangan: A: Krim dengan ekstrak kulit buah delima 0,5%, B: Krim dengan ekstrak kulit buah delima 1%



Gambar 2 Grafik Hasil Pengukuran Viskositas Krim Antihiperpigmentasi Selama 8 Minggu Penyimpanan pada (a).Suhu Rendah (4 ^{o}C) (b).Suhu Kamar (25 ^{o}C) (c).Suhu Tinggi (40 ^{o}C).

Keterangan: A: Krim dengan ekstrak kulit buah delima 0,5%, B: Krim dengan ekstrak kulit buah delima 1%

Pembahasan

Hasil dari pengamatan yang dilakukan pada krim formula A dan B menunjukkan bahwa kedua krim mempunyai konsistensi yang berbeda. Semakin besar konsentrasi ekstrak kulit buah delima yang digunakan, maka konsistensi krim akan berubah yang awalnya kental menjadi agak kental karena pengaruh jumlah penggunaan ekstrak kulit buah delima. Warna yang dihasilkan pada krim formula A dan B memiliki kepekatan yang berbeda. Semakin besar konsentrasi dari kulit buah delima yang ditambahkan ke dalam krim, maka semakin pekat warna krim yang dihasilkan.

Evaluasi sediaan fisik terdiri dari pengamatan organoleptis, warna krim yang dihasilkan sesuai dengan ekstrak yang ditambahkan. Formula yang mengandung ekstrak kulit buah delima 0,5% berwarna cokelat kekuningan, dan formula yang mengandung ekstrak kulit buah delima 1% berwarna cokelat kekuningan yang agak lebih gelap dibandingkan krim dengan kandungan ekstrak 0,5%. Kedua formula krim yang dihasilkan tersebut berbau khas seperti jamu dan bau tidak berubah selama waktu penyimpanan.

Dari hasil pengukuran nilai pH pada evaluasi fisik, didapat pH kedua formulasi krim yang mengandung ekstrak kulit buah delima 0,5% dan 1% berturut-turut sebesar 6,71 dan 6,58. pH sediaan krim tersebut memenuhi syarat pH sediaan topikal yang aman untuk kulit yaitu 4–8.[8]

Dari hasil pengukuran viskositas pada evaluasi fisik, didapat viskositas krim yang mengandung ekstrak kulit buah delima 0,5% dan 1% berturut-turut sebesar 6.533 cps dan juga 3.340 cps. Makin tinggi konsentrasi dari ekstrak kulit buah delima pada sediaan krim, maka makin rendah viskositasnya. Nilai viskositas sediaan krim yang dibuat masih berada di dalam rentang nilai viskositas sediaan topikal yang aman, yaitu 2.000–50.000 cps.[9]

Pengujian stabilitas fisik dilakukan tiga metode, yaitu penyimpanan berbagai suhu, pengujian metode *cycling test,* dan

Tabel 2 Hasil Pengujian Aktivitas Penghambatan Tirosinase dan Nilai IC_{50}

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Kuvet A	Kuvet B	Kuvet C	Kuvet D	% Penghambatan	Nilai IC_{50} (ppm)
	125			0,0223	0,0062	5,29	
Ekstrak kulit buah delima	250	0,0222	0,0052	0,0234	0,0081	10	1948
	500			0,0265	0,0107	7,06	
	750			0,0267	0,0132	20,59	
	100			0,0145	0,0117	39,13	
Krim A (minggu ke-0)	200			0,0211	0,0178	28,26	363
	400			0,0341	0,0315	43,48	
	600	0,0070	0,0024	0,0498	0,0479	58,69	
	50			0,0169	0,0128	10,87	
Krim B (minggu ke-0)	100			0,0215	0,0176	15,22	290
	200			0,0308	0,0278	34,78	
	300			0,0479	0,0455	47,83	
	100			0,0387	0,321	31,96	
Krim A (minggu ke-8)	200			0,0603	0,0522	16,49	588
	400			0,1077	0,1	20,62	
	600	0,0138	0,0041	0,1233	0,1183	48,45	
	50			0,0378	0,0293	12,37	
Krim B (minggu ke-8)	100			0,0499	0,0426	24,74	409
	200			0,0788	0,0709	18,56	
	300			0,1031	0,0955	21,65	

Keterangan: Krim A: Krim dengan ekstrak kulit buah delima 0,5%, Krim B: Krim dengan ekstrak kulit buah delima 1%, Kuvet A: Serapan larutan blanko negatif dengan enzim, Kuvet B: Serapan larutan blanko negatif tanpa enzim, Kuvet C: Serapan larutan sampel dengan enzim, Kuvet D: Serapan larutan sampel tanpa enzim

uji mekanik (*centrifugal test*). Hasil dari pengujian stabilias fisik pada penyimpanan krim dengan berbagai suhu menghasilkan perubahan warna yang berbeda. Hal ini disebabkan oleh adanya faktor suhu yang mempercepat reaksi kimia karena setiap kenaikan suhu sebesar 10 ^{o}C dapat mempercepat reaksi kimia 2 sampai 3 kalinya.

Hasil pengukuran pH pada suhu 4 ^{o}C selama 8 minggu (Gambar 1a), terlihat bahwa pH kedua formula krim mengalami kenaikan. pH kedua formula krim pada suhu rendah mengalami perubahan ke arah basa. Hasil pengukuran nilai pH selama penyimpanan pada suhu kamar (25 ^{o}C) mengalami penurunan. Hasil dari semua formula krim memiliki rentang nilai pH 6,14–6,71 sehingga masih memenuhi nilai pH yang aman untuk kulit. Kedua formula krim menunjukkan nilai pH ke arah asam karena kandungan ekstrak kulit buah delima berupa senyawa-senyawa polifenol bersifat asam lemah. Sifat asam ini bahkan lebih kuat dari kebasaan yang dimiliki oleh basis yang digunakan dalam formula (*vanishing cream*) sehingga membawa pH krim ke arah asam. Pengukuran pH selama penyimpanan pada suhu tinggi (40 ^{o}C) mengalami penurunan. pH krim cenderung mengarah ke pH asam. Hal ini mungkin disebabkan terjadinya proses hidrolisis karena adanya peningkatan suhu.

Berdasarkan Gambar 2 diketahui nilai viskositas yang menunjukkan kekentalan dari sediaan. Hasil viskositas pada suhu 4 ^{o}C, 25 ^{o}C, dan 40 ^{o}C selama penyimpanan 8 minggu menunjukkan penurunan nilai viskositas pada kedua formula krim. Dari hasil yang diperoleh ini, dapat dikatakan bahwa konsentrasi ekstrak kulit buah delima mempengaruhi viskositas sediaan krim. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak kulit buah delima dalam sediaan krim, maka makin rendah nilai viskositasnya.

Pada saat pengujian stabilitas metode c*ycling test*, kedua formula hasilnya adalah stabil karena tidak ada pemisahan fase antara fase minyak dan fase air. Pengujian stabilitas selanjutnya adalah uji mekanik. Uji mekanik atau uji sentrifugasi juga merupakan salah satu indikator kestabilan

fisik sediaan semipadat. Hukum Stokes menunjukkan bahwa pembentukan krim merupakan suatu fungsi gravitasi dan kenaikan gravitasi dapat mempercepat pemisahan fase. Efek gaya sentrifugal dari sentrifugator dengan kecepatan 3750 rpm selama 5 jam dianggap setara dengan efek gaya gravitasi yang akan diterima krim dalam penyimpanan selama setahun. Pada uji ini terdapat perbedaan hasil antara krim A dan krim B, secara fisik krim A tampak stabil karena tidak ada pemisahan antara fase air dan fase minyak. Pada krim B tampak tidak stabil karena ada sedikit pemisahan antara fase air dan fase minyak.

Dari hasil percobaan secara *in vitro* (Tabel 2), terlihat bahwa aktivitas inhibisi yang terjadi bergantung pada konsentrasi ekstrak yang digunakan sebagai inhibitor. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, maka makin besar hambatan yang terjadi. Dari hasil yang telah didapat menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah delima memiliki aktivitas penghambatan dengan nilai IC_{50} sebesar 1948,41 ppm, 164 kali lebih lemah apabila dibandingkan kekuatan penghambatan oleh *Morus alba*, yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 11,9 ppm[10] dan juga jauh lebih lemah dari *kojic acid* yang memiliki IC_{50} sebesar 8,9 ppm. Angka IC_{50} sebesar itu membuat ekstrak tersebut tergolong tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap tirosinase (inhibisi <30% pada konsentrasi 500 ppm).[10] Kemudian dilakukan pengujian aktivitas penghambatan tirosinase secara *in vitro* yang diformulasikan dalam krim dengan konsentrasi ekstrak 0,5% (krim A) dan 1% (krim B). Hasil pengukuran yang dihitung berdasarkan konsentrasi ekstrak di masing-masing krim, menunjukkan nilai IC_{50} dari kedua formula A dan krim B berturut-turut 363 ppm dan 290 ppm, di mana keduanya. Hal tersebut menunjukkan bahwa adanya penurunan nilai IC_{50} apabila dibandingkan dengan sampel ekstrak. Jadi, formula krim tersebut memiliki aktivitas penghambatan terhadap tirosinase, dengan diketahui basis *vanishing cream* tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap tirosinase.[5]

Penurunan nilai IC_{50} dari ekstrak yang telah diformulasikan ke dalam krim diduga terjadi karena hidrolisis dari punicalagin pada proses pembuatan krim. Punicalagin merupakan polifenol yang terdapat dalam jumlah dominan di buah delima,[11] diketahui merupakan ellagitanin yang terhidrolisis. Punicalagin yang terhidrolisis akan menghasilkan galagildilakton, asam elegat, dan glukosa di mana asam elegat dalam berbagai penelitian telah diketahui dapat menghambat aktivitas dari tirosinase.[12,13] Hal tersebut diperkirakan menjadi penyebab sediaan krim ekstrak kulit buah delima memiliki aktivitas penghambatan terhadap tirosinase yang lebih kuat dari ekstraknya hingga sekitar 6 kalinya. Namun hasil pengamatan pada minggu ke-8, aktivitas kedua krim terlihat menurun. Pada minggu ke-8, nilai IC_{50} dari krim A meningkat menjadi 588 ppm, dan krim B meningkat menjadi 409 ppm. Ini menunjukkan bahwa pada penyimpanan hingga minggu ke-8 telah terjadi penurunan aktivitas sebesar 1,5 sampai hampir 2 kali bila dibandingkan dengan aktivitas pada minggu awal.

Pada hasil pengujian cemaran mikroba yang meliputi cemaran bakteri dan jamur adalah sama untuk semua sediaan, yaitu tidak terjadi pertumbuhan mikroorganisme pada tabung reaksi yang mengandung sediaan. Hal ini menunjukkan bahwa metil paraben dan propil paraben yang berperan sebagai pengawet dengan konsentrasi berturut-turut 0,2% dan 0,02% efektif menghambat pertumbuhan bakteri pada sediaan krim tersebut. Tidak timbulnya mikroba pada media uji juga menunjukkan bahwa sediaan krim dapat bertahan selama 60 hari waktu penyimpanan, tanpa terjadi kontaminasi mikroba.

Pada hasil pengujian iritasi sediaan krim antihihiperpigmentasi dengan metode *patch test* menunjukkan tidak terjadi iritasi pada kulit punggung tangan 20 orang sukarelawan, baik iritasi primer maupun iritasi sekunder selama penyimpanan 60 hari. Hal ini diduga disebabkan karena konsentrasi ekstrak kulit buah delima yang

ditambahkan ke dalam krim masih dalam batas aman, dengan analogi semakin besar konsentrasi zat aktif yang ditambahkan ke dalam basis krim, maka akan semakin besar pula kemungkinan terjadinya iritasi pada kulit sukarelawan. Oleh karena itu dibuat asumsi pengujian iritasi sediaan krim antihiperpigmentasi bahwa krim antihiperpigmentasi A dan B dengan konsentrasi sebesar 0,5% dan 1% aman dalam pengujian.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian formulasi krim antihiperpigmentasi dari ekstrak kulit buah delima merupakan formulasi yang baik, efektif, dan juga aman. Krim dengan ekstrak kulit buah delima konsentrasi 1% tidak stabil. Krim antihiperpigmentasi dengan ekstrak kulit buah delima 0,5% dan 1% memiliki nilai IC_{50} berturut-turut sebesar 363 ppm dan 290 ppm sehingga keduanya tergolong memiliki aktivitas terhadap tirosinase.

Daftar Pustaka

1. Lynde CB, Kraft JN, Lynde CW. Topical treatments for melasma and postinflammatory hyperpigmentation. Skin Therapy Letter. 2006;11(9):1–12.
2. Zhu W, Gao J. The use of botanical extracts as topical skin-lightening agents for the improvement of skin pigmentation disorders. Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings. 2008;13:20–24.
3. Badan POM RI. Bahan berbahaya dalam kosmetik, dalam: kosmetik pemutih (*whitening*), Naturakos, Jakarta. Edisi Agustus 2008;3(8).
4. Juwita NK, Djajadisastra J, Azizahwati. Uji penghambatan tirosinse dan stabilitas fisik sediaan krim pemutih yang mengandung ekstrak kulit batang nangka (*Artocarpus heterophyllus*). Majalah Ilmu Kefarmasian. 2015;8(2):105–124.
5. Ozer O, Mutlu B, Kivcak B. Antityrosinase activity of some plant extracts and formulations containing ellagic acid. Pharm Biol. 2007;45: 519–524.
6. Kasai K, Yoshimura M, Koga T, Arii M, Kawasaki S. Effects of oral administration of ellagic acid-rich pomegranate extract on ultraviolet-induced pigmentation in the human skin. J Nutr Sci Vitaminol. 2006; 52:383–388.
7. Chang CT, Chang WL, Hsu JC, Shih Y, Chou ST. Chemical composition and tyrosinase inhibitory activity of Cinnamomum cassia essential oil. Botanical Studies. 2013;54(10).1–7.
8. Wasitaatmadja. Penuntun ilmu kosmetika medik. Jakarta: UI Press;1997.
9. Badan Standardisasi Nasional. Sediaan Tabir Surya SNI 16-439-1996. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional; 1996.
10. Moon JY, Yim EY, Song G, Lee NH, Hyun CG. Screening of elastase and tyrosinase inhibitory activity from Jeju island plants. EurAsia J. Biosci. 2010;4:41–53.
11. Tyagi S, Singh A, Bharwaj P, Sahu S, Yadav AP, Kori MI. Puniclagins-a large polyphenol compounds found in pomegrantes: a therapeutic review. Academic Journal of Plant Science. 2012;5(2):45–49.
12. Wang N, Wang ZY, Mo SL, Loo TY, Wang DM, Luo HB, et al. Ellagic acid, a phenolic compound, exerts antiangiogenesis effects via VEGFR-2 signaling pathway in breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 2012;134(3): 943–955.
13. Yoshimura M, Watanabe Y, Kasai K, Yamakoshi J, Koga T. Inhibitory effect of an ellagic acid-rich pomegrante extract on tyrosinase activity and ultraviolet-induced pigmentation. Biosci, Biotechnol, Biochem. 2005;69 (12):2368–2373.