

Uji Iritasi Krim Hasil Fermentasi Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Dengan Variasi Konsentrasi Emulgator Novomer Pada Kulit Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*)

Aisyah Fatmawaty, Marianti A Manggau, Rosany Tayeb, Rabiah Al Adawiah

Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Kampus UNHAS Tamalanrea Jl Perintis Kemerdekaan KM 10, Makassar 90241

Artikel info

Diterima
Direvisi
Disetujui

Kata kunci

Hibiscus sabdariffa L.
Novomer
Uji iritasi

Abstrak

Telah dilakukan penelitian uji iritasi krim antioksidan dari hasil fermentasi infus bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan variasi konsentrasi emulgator Novomer terhadap kulit kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menunjukkan apakah krim dengan konsentrasi emulgator Novomer yang digunakan menimbulkan iritasi pada kulit kelinci. Penelitian ini menggunakan 6 ekor kelinci yang dicukur punggungnya untuk masing-masing sampel iritan seluas 1 inch (2,54 cm²). Sampei yang diujikan adalah formula krim I, II, dan III (dengan variasi konsentrasi emulgator Novomer) dan basis krim dari setiap formula. Pengujian dilakukan dengan metode *patch test* sesuai metode Draize. Hasil penelitian menunjukkan formula krim I, II, dan III serta basis krim menghasifkan tingkat iritasi ringan (indeks iritasi 0,5 - 2).

ABSTRACT

Keyword

Hibiscus sabdariffa L.
Novomer
Iritation test

The research about irritation test of antioxidant cream from fermented Rosella's flower infusion using emulgator Novomer has been conducted. This research was aimed to found emulgator Novomer's concentration that using in the formula of antioxidant cream has the irritation effect on the rabbit's skin. This research utilized 6 rabbits with the skin has been abraded at the back for a 1-square-inch, those for each irritant sample using 3 formulas of the antioxidant cream I, II, III, (have variation in concentration of emulgator Novomer) and its cream base. The test is measured by patch test by Draize. The results indicate to primary irritation index of the three formulas of antioxidant cream and the cream basics are middle irritating (irritation index 0.5 - 2).

Koresponden author

Aisyah Fatmawaty
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, Kampus UNHAS Tamalanrea Jl Perintis Kemerdekaan KM 10, Makassar 90241

PENDAHULUAN

Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) telah diketahui sebagai tanaman yang memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan. Penelitian sebelumnya menunjukkan kandungan kimia yang terdapat di dalam bunga rosella antara lain: campuran asam sitrat dan asam malat, vitamin C, beta-karoten, flavonoid-quosypetine, hibiskin, dan antosianin (1,2).

Rosella memiliki banyak kandungan penting, salah satunya adalah antosianin. Antosianin pada bunga rosella berada dalam bentuk glukosida yang memiliki kemampuan penyerapan yang rendah karena sifat hidrofiliknya. Proses fermentasi dapat mengubah antosianin dari bentuk glukosida menjadi bentuk aglikon yang lebih lipofilik. Antosianin memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang dapat melawan aksi radikal bebas. Penelitian sebelumnya menunjukkan kemampuan penangkapan radikal bebas dari bunga rosella kering sebesar 83,93% (3,4,5).

Paparan panjang sinar matahari dan hasil pembakaran seperti asap kendaraan ataupun asap rokok dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas pada kulit. Radikal bebas bersifat reaktif karena mempunyai satu elektron bebas yang tidak berpasangan dan cenderung memutus electron bebas dari lipid, protein dan DNA dalam tubuh yang berujung pada kerusakan sel dan secara perlahan menyebabkan terjadinya penuaan dini (aging). Proses penuaan terlihat dengan adanya kerutan pada kulit. Hal ini dapat dicegah dengan mengkonsumsi suplemen antioksidan ataupun penggunaan antioksidan secara topikal dalam sediaan kosmetik. Sediaan antioksidan yang banyak beredar adalah krim antioksidan (6).

Krim merupakan sediaan semi padat berupa emulsi minyak dalam air (m/a) ataupun air dalam minyak (a/m), salah satu fase terdispersi di dalam fase yang lain menggunakan emulgator. Salah satu emulgator yang digunakan di dalam krim dan emulsi adalah Novemer. Emulgator ini terdiri atas air, acrylates, minyak mineral, dan polisorbate-85. Novemer memiliki keuntungan karena mudah digunakan, baik dalam proses yang membutuhkan pemanasan ataupun tidak, tidak membutuhkan perhitungan nilai HLB bahan, dan meninggalkan kesan lembut di kulit setelah pemakaian (7,8).

Basis krim dapat menyebabkan efek samping pada kulit, antara lain terjadinya iritasi primer, reaksi sensitasi, fotoalergi, dan fototoksitas. Efek samping ini dapat berasal dari zat aktif ataupun bahan tambahan pada krim, seperti bahan emulgator. Evaluasi keamanan kosmetik, salah satunya adalah uji iritasi, harus dilakukan sebelum pemakaian pada manusia sehingga mencegah reaksi hipersensitifitas. Iritasi primer biasanya diukur dengan patch test pada kulit kelinci berdasarkan prosedur Draize. Adanya tanda-tanda iritasi pada kulit hewan coba, maka memungkinkan adanya potensi iritasi pada kulit manusia (9,10,11).

Dalam penelitian ini, dilakukan uji iritasi krim dari hasil fermentasi infus bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) menggunakan variasi konsentrasi emulgator Novemer®, yang telah diuji kestabilannya. Permasalahan yang timbul, apakah krim antioksidan

dari hasil fermentasi infus bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) menggunakan variasi konsentrasi emulgator Novemer®, menimbulkan iritasi pada kulit hewan coba kelinci. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai indeks iritasi primer pada krim antioksidan dari hasil fermentasi infus bunga rosella dengan variasi konsentrasi emulgator Novemer® menyebabkan iritasi pada kulit hewan coba kelinci.

METODE KERJA

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah alkohol 70%, alfa-tokoferol, air suling, asam stearat, ekstrak bunga Rosella hasil fermentasi, emulgator Novemer®, gliserin, isopropil meristat, metil paraben, minyak mawar, propilenglikol, propil paraben, setil alkohol.

Pengambilan dan pengolahan sampel

Pengambilan sampel bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) diambil dari Kampus UNHAS Baraya Kota Makassar. Sampel bunga rosella dikumpulkan, dibuang bijinya dan diambil bagian kelopak yang berwarna merah, lalu dicuci bersih, dan dikeringkan dengan alat fruit dehidrator.

Penyiapan Infus

Sampel bunga rosella yang telah kering sebanyak 5 g dibasahi dengan air suling empat kali bobotnya, kemudian dimasukkan ke dalam panci infus, dan ditambahkan air suling sebanyak 100 ml. Campuran tersebut kemudian dipanaskan selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90°C sambil sesekali diaduk. Infus diserkai selagi panas melalui kain flanel, dan ditambahkan air suling melalui ampas hingga diperoleh volume infus 100 ml.

Pembuatan Starter

Medium MRS Broth sebanyak 5 ml dituangkan ke dalam tabung reaksi yang telah disterilkan kemudian ditambahkan inokulum *Lactobacillus casei* dari medium MRS Agar, dan ditambahkan infus rosella sebanyak 1% v/v. Diinkubasi selama 1-3 × 24 jam pada suhu 37°C

Proses Fermentasi Larutan Infus

Larutan infus sebanyak 100 ml kemudian dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer, ditambahkan starter, ditutup dengan kapas dan diinkubasi selama 1-3x24 jam pada suhu 37°C. Semua pengerjaan dilakukan secara aseptis di dalam LAF.

Penyiapan Ekstrak Hasil fermentasi

Larutan hasil fermentasi dipindahkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan 100 ml etil asetat kemudian dikocok dengan kuat dan didiamkan selama 30 menit. Ambil semua lapisan atas (etil asetat). Larutan etil asetat diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental, lalu dikeringkan dan diperoleh ekstrak kering dari hasil fermentasi.

Formulasi Krim

Dibuat tiga rancangan formula krim tipe m/a dari ekstrak rosella hasil fermentasi menggunakan variasi konsentrasi emulgator Novemer (1,5; 2,5 dan 3,5%). Formula krim dirancang berdasarkan beberapa krim yang telah dibuat menggunakan emulgator Novemer yang dimodifikasi sesuai bahan aktifnya dan telah diuji kestabilan fisiknya²⁴.

Tabel 2. Rancangan Formula Krim Antioksidan Rosella Hasil Fermentasi dengan Emulgator Novemer®

No.	Bahan	Formula krim (% b/b)		
		I	II	III
1	Hasil fermentasi	1	1	1
2	Asam stearat	2	2	2
3	Setil alkohol	3	3	3
4	Isopropil miristat	2	2	2
5	Gliserin	5	5	5
6	Propilen glikol	10	10	10
7	Novemer	1,5	2,5	3,5
8	Metil paraben	0,2	0,2	0,2
9	Propil alkohol	0,02	0,02	0,02
10	Alfa tokoferol	0,05	0,05	0,05
11	Minyak mawar	0,2	0,2	0,2
12	Air suling	73,03	74,03	73,03

Pembuatan Krim

Bahan-bahan ditimbang sesuai dengan formula. Fase minyak dibuat dengan cara melebur asam stearat, setil alkohol, dan isopropil miristat secara berturut-turut ke dalam cawan porselen di atas penangas air. Setelah melebur sempurna, propil paraben ditambahkan sambil diaduk hingga homogen dan mencapai suhu hingga 70°C. Fase air dibuat dengan cara melarutkan metil paraben pada air yang sudah dipanaskan, setelah itu, ditambahkan gliserin dan propilenglikol sambil diaduk hingga homogen. Krim dibuat dengan cara fase minyak dicampurkan ke dalam fase air sambil diaduk dengan homogenizer. Pada saat suhu mencapai 50°C dimasukkan emulgator Novemer sampai terbentuk massa krim. Kemudian dimasukkan ekstrak yang telah digerus dengan sedikit basis krim kemudian ditambahkan alfa tokoferol, dan minyak mawar sambil terus diaduk sampai homogen.

Uji Iritasi Pada Kulit Kelinci^{9,10}

Uji iritasi krim dilakukan pada 6 ekor kelinci sesuai metode Draize. Kelinci yang digunakan adalah kelinci dewasa albino, sehat, bobot badan 1,5-2 kg. Enam ekor kelinci disiapkan dan dicukur bulu punggungnya, lalu ditentukan bagian 1 inchi persegi. Sediaan sebanyak 0, 5 g dioleskan pada bagian punggung kelinci yang telah ditentukan, lalu ditutup dengan kassa steril dan perban kemudian direkatkan dengan plester lalu dibungkus dengan perban, dan dibiarkan selama 24 jam. Setelah 24 jam, plester dan perban dibuka dan dibiarkan selama 1 jam, lalu diamati. Setelah diamati, bagian tersebut ditutup kembali dengan plester yang sama, lalu dilakukan pengamatan kembali setelah 72 jam. Untuk setiap keadaan kulit diberi nilai sesuai metode skoring dari Draize sebagai berikut:

1. Eritema
 - a. Txlak ada eritema = 0
 - b. Eritema sangat ringan (hampir tidak nampak) = 1
 - c. Eritema ringan (terlihat jetas) = 2
 - d. Eritema sedang (sangat merah) = 3
 - e. Eritema berat (membentuk luka) = 4
2. Udema
 - a. Tidak ada udema = 0
 - b. Udema sangat ringan (hampir tidak nampak) = 1
 - c. Udema ringan = 2

d. Udema sedang = 3

e. Udema berat = 4

Indeks iritasi dihitung dengan cara menjumlahkan nilai dari setiap kelinci percobaan setelah 24 dan 72 jam pemberian sampel iritan, kemudian dibagi jumlah hewan coba. Penilaian iritasinya sebagai berikut

0, 5-2 = iritasi ringan

>2-5 = iritasi sedang

>5-8 = iritasi berat

PEMBAHASAN

Krim antioksidan yang mengandung ekstrak dari infus bunga rosella yang menggunakan emulgator Novemer® diuji iritasi dengan metode Draize. Hasil dari penelitian menunjukkan nilai indeks iritasi ringan pada ketiga formula krim. Dapat dilihat pada Tabel 2. Krim yang dibuat merupakan tipe emulsi minyak dalam air (m/a) menggunakan emulgator Novemer® dengan variasi konsentrasi 1,5; 2,5; dan 3,5%. Variasi konsentrasi dipilih sesuai dengan konsentrasi rujukan dari literatur Novemer® (1-4%). Ketiga formula yang telah dibuat diperoleh sediaan krim yang stabil secara fisik dan memenuhi salah satu syarat sebuah produk kosmetik. Syarat lain yang harus dipenuhi adalah keamanan produk kosmetik. Uji keamanan ini salah satunya adalah uji iritasi¹¹.

Pengamatan uji iritasi oleh metode Draize dilakukan berdasarkan 2 hal, yaitu eritema dan udema yang ditimbulkan. Kulit dapat menunjukkan reaksi yang kecil atau bahkan tidak menunjukkan reaksi pada saat kontak pertama dengan bahan kimia. Tapi dapat ditunjukkan setelahnya oleh bahan iritan tertentu pada 12-48 jam setelahnya¹⁰.

Kulit dapat menunjukkan reaksi yang kecil atau bahkan tidak menunjukkan reaksi pada saat kontak pertama dengan bahan kimia. Tapi dapat ditunjukkan setelahnya oleh bahan iritan tertentu pada 12-48 jam setelahnya¹⁰.

Eritema terlihat pada warna kemerahan di kulit dan bentuk luka yang nampak, jika ada). Udema dapat dilihat pada tinggi permukaan kulit yang naik/bengkak dibanding kulit yang normal. Bahan iritan menimbulkan kerusakan pada sel kulit melalui kerja kimiawi. Bahan kimia ini merusak membran lipid keratinosit, kemudian sebagian menembus membran sel dan merusak lisosom, mitokondria, dan komponen inti. Kerusakan membran mengaktifkan beberapa mediator seperti fosfolipase, asam arakidonat (AA) yang dirubah menjadi prostaglandin (PG) dan leukotrien (LT), diasilgliserida (DAG), platelet activating factor (PAF), dan inositida yang menginduksi terjadinya vasodilatasi serta peningkatan permeabilitas vaskuler. Vasodilatasi dan peningkatan permeabilitas vaskuler ini yang kemudian menunjukkan gejala eritema dan udema yang disebut iritasi^{10,20}.

Perhitungan indeks iritasi diperoleh dengan meratakan nilai dari eritema dan udem yang diperoleh dari pengamatan 24 dan 72 jam setelah pemberian, lalu dijumlahkan^{9,10}.

Penilaian iritasi pada beberapa kelinci yang nilainya cukup menyimpang tidak dimasukkan. Hasil pengamatan dan penghitungan indeks iritasi diperoleh, F1 memiliki indeks iritasi 1,42; F2 memiliki indeks iritasi 1,42, dan F3 memiliki indeks iritasi 1,25. Sedangkan basis formula 1, 2 dan 3 memiliki nilai indeks iritasi masing-masing 1,09; 1,17; dan 1,25. Nilai indeks iritasi yang ditunjukkan oleh ketiga formula krim dan basisnya adalah iritasi ringan (range 0,5-2). Hal ini menunjukkan nilai indeks iritasi dari ketiga formula dan basisnya, yang bervariasi berdasarkan konsentrasi penggunaan 1,5; 2,5; 3,5% emulgator Novemer®, tidak menurunkan perbedaan indeks iritasi (iritasi ringan).

Hasil ini tidak tergolong membahayakan, karena perlu diperhatikan bahwa pada dasarnya sensitifitas kulit hewan coba sedikit berbeda dengan kulit manusia. Khususnya hewan coba kelinci, tingkat iritasinya sangat mudah terlihat. Indeks iritasi pada manusia masih tidak bisa dipastikan apabila nilai pada hewan coba memiliki indeks iritasi ringan¹¹.

KESIMPULAN

Hasil penelitian uji iritasi, dapat ditarik kesimpulan bahwa, sediaan krim dari infus bunga rosella hasil fermentasi pada F 1, 2, dan 3, dengan variasi konsentrasi emulgator Novemer® menunjukkan nilai indeks iritasi ringan (range 0,5-2) pada hewan coba kelinci.

DAFTAR PUSTAKA

1. Maryani H, Kristiana L. Khasiat dan manfaat rosella. Agromedia Pustaka. Jakarta. 2008
2. Widyarningsi N. Ekstraksi dan fraksinasi komponen aktif antimitosis dari bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar. 2009. Hal. 2
3. Miyazaki K, Hanamizu T, Sone T, Chiba K, Kinoshita T, Yoshikawa S. Topical application of Bifidobacterium-fermented soy milk extract containing genistein and daidzein improves rheological and physiological properties of skin. J Cosmet Sci. 2004. pp 55: 473-479
4. Farombi EO, Fakoya A. Free radical scavenging and antigenotoxic activities of natural phenolic compounds in dried flowers of *Hibiscus sabdariffa* L. Molecular Nutrition & Food Research. 2005. pp 49: 1120-1128
5. Merdiana M. Validasi metode spektrofotometri visible untuk penetapan kadar vitamin C pada bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar. 2009
6. Burgess CM. Cosmetic dermatology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany. 2005. pp18
7. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Farmakope Indonesia Ed 3. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 1995. Hal 8
8. The lubrizol corporation. Personal care. NovemerTM+ EC-1 polymer
9. Hayes AW. Principles and Methods of Toxicology. Raven press. New York. 1982. pp 209-213
10. Lu FC. Lu's Basic Toxicology: fundamentals, target organs and risk assessment, 4th ed. Taylor & Francis, New Fetter Lane, London. 2002
11. Balsam MS, Sagarin E, Geshon SD, Rieger MM, dan Strianse SJ. Cosmetic science and technology, Vol 3, 2nd ed. John Wiley Sons. New York. 1986. pp 295