FORMULASI MASKER PEEL-OFF ANTI JERAWAT HERBA SELEDRI (Apium graveolens L) DAN UJI AKTIVITAS SEDIAAN TERHADAP Staphylococcus epidermidis DAN Staphylococcus aureus

PROPOSAL PENELITIAN INTERNAL PRODI FARMASI STIKES MEDISTRA INDONESIA 2023

LATAR BELAKANG

- Jerawat adalah penyakit peradangan kronik folikel polisebasea berupa komedo, papul, pustul dan nodus pada permukaan kulit
- Bakteri yang dapat berperan menimbulkan jerawat antara lain : Staphylococcus epidermidis, dan Staphyloccocus aereus, Propionibacterium acne
- Penggunaan antibiotik tanpa cara pemakaian yang tepat dapat mengganggu keseimbangan flora normal dikulit serta menyebabkan resistensi
- Satu tanaman yang berpotensi sebagai anti jerawat adalah seledri
- Seledri terbukti aktif menghambat beberapa bakteri penyebab penyakit kulit (Azizah et al).
- Seledri berkhasiat sebagai antiinflamasi dan senyawa yang berperan sebagai antiinflamasi adalah diosmin

- Dalam penelitian ini dibuat sediaan gel masker peel-off antiacne dari ekstrak etanol herba seledri.
- Gel yang dibuat termasuk dalam hidrogel. Hidrogel tidak berlemak sehingga sesuai digunakan pada kulit dengan fungsi kelenjar sebasea yang berlebih.
- Lapisan kering masker *peel-off* yang terbentuk memiliki daya lekat yang kuat sehingga tidak menyumbat pori kulit.
- Pelepasan zat aktif pada masker peel-off sangat baik

RUMUSAN MASALAH

- Apakah ekstrak herba seledri dapat di formulasikan dalam sediaan masker peel off anti jerawat?
- Pada kadar berapa persen ekstrak herba seledri dalam formulasi dapat memberikan memberikan hambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus*.....?

TUJUAN PENELITIAN

- Untuk mengetahui ekstrak herba seledri dapat diformulasikan dalam sediaan masker *peel-off*.
- Untuk mendapatkan suatu sediaan masker peel-off yang efektif terhadap bakteri Staphylococcus epidermidis dan Staphylococcus aureus.

MANFAAT PENELITIAN

• Pemanfaatan herba seledri (*Apium graveolens* L) sebagai obat jerawat dengan stabilitas fisik yang baik yang diharapkan dapat menjadi alternatif obat kulit, khususnya terhadap infeksi-infeksi kulit yang disebabkan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus*.

LUARAN PENELITIAN

- Luaran penelitian yang diharapkan pada penelitian ini adalah hasil publikasi pada jurnal nasional
- produk inovasi dalam bentuk sediaan jadi.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan Alat

• Alat-alat gelas, blender, bejana maserasi, penangas air, timbangan analitik, cawan petri, erlenmeyer, tabung reaksi, ose bulat, ose lurus, autoklaf (Memmert), oven (Memmert), Inkubator (Memmert), Viskometer, Laminar Air Flow (LAF), Lampu spiritus, disk blank, gelas iwaki, pinset.

Bahan

 Herba seledri, HPMC, PVA, metil paraben, etanol, propil paraben, propilen glikol, aquadest, Glukosa Nutrient Agar (GNA), Nutrient Agar (NA), Bakteri Staphylococcus epidermidis dan Staphylococcus aureus

Prosedur Kerja

Pembuatan Ekstrak Herba Seledri

Herba seledri yang telah diambil, dicuci hingga bersih dengan air mengalir dan dipotong-potong kecil, lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 50 °C selama 2 hari. Herba seledri di haluskan dengan blender simplisia. Ditimbang serbuk herba seledri sebanyak 1 kg kemudian di maserasi dengan etanol 90 % sebanyak 6 liter dengan 3 kali maserasi, 1 x maserasi di lakukan selama 3 x 24 jam dengan 2 liter etanol, lalu di saring, kemudian ampasnya di maserasi kembali. Filtrat yang terkumpul di uapkan dengan menggunakan rotary evaporator, kemudian di panaskan dalam water bath 40 °C - 60 °C. Pemanasan ekstrak dilakukan sampai berat tetap.

Skrining Fitokimia

- Pemeriksaan senyawa alkaloid, glikosida, saponin, flavonoid, antrakinon, tanin dan steroid.
- Pembuatan larutan uji fitokimia
- Pembuatan larutan uji untuk fitokimia dilakukan dengan melarutkan 500 mg ekstrak etanol dalam 50 ml etanol 90 %

PEMERIKSAAN STEROID DAN TRITERPENOID

• Larutan uji sebanyak 2 ml diuapkan dalam cawan penguap. Residu dilarutkan dengan 0,5 ml kloroform, ditambahkan 0,5 ml asam asetat anhidrat dan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung. Terbentuknya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan menunjukkan triterpenoid, sedangkan bila muncul cincin hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid

PEMERIKSAAN SAPONIN

• Larutan uji sebanyak 10 ml dalam tabung reaksi dikocok vertikal selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 detik. Pembentukan busa 1-10 cm yang stabil selama 10 menit menunjukkan adanya saponin. Pada penambahan 1 tetes HCl 2N, busa tidak hilang (Depkes RI,1989)

PEMERIKSAAN ALKALOID

- Larutan uji di pipet 2 ml diuapkan diatas cawan porselin sehingga diperoleh residu. Residu kemudian dilarutkan dengan 5 ml HCl 2 N. Larutan yang didapat di bagi ke dalam 3 tabung reaksi. Ambil 3 tabung reaksi, lalu ke dalam masing-masing tabung reaksi di masukkan 0,5 ml filtrat. Pada tabung:
- Ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat
- Ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff (positip, warna jingga)
- Ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer (positip, endapan kuning)
- Alkaloid disebut positif jika terjadi endapan atau kekeruhan pada paling sedikit 2 tabung reaksi dari percobaan diatas .

PEMERIKSAAN GLIKOSIDA

• Serbuk simplisia uji dilarutkan dalam pelarut etanol 90%, diuapkan diatas tangas air, dilarutkan sisanya dalam 5 ml asam asetat anhidrat P, lalu ditambahkan 10 tetes asam sulfat P. Warna biru atau hijau menunjukkan adanya glikosida.

PEMERIKSAAN FLAVONOID

- Larutan uji sebanyak 1 ml dibasahkan dengan aseton P, ditambahkan sedikit serbuk halus asam borat P dan serbuk halus asam oksalat P, dipanaskan diatas tangas air dan dihindari pemanasan berlebihan. Sisa yang diperoleh di campur dengan 10 ml eter P kemudian diamati dengan sinar UV 366 nm. Larutan berfluoresesnsi kuning intensif menunjukkan adanya flavonoid.
- Pemeriksaan Tanin dan Polifenol
- Larutan uji sebanyak 2 ml dibagi ke dalam 2 bagian. Tabung A digunakan sebagai blangko dan tabung B di reaksikan dengan larutan FeCl₃ 10%, warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin dan polifenol.(Depkes RI, 1989)

Formulasi Masker Peel-Off

BAHAN	Konsentrasi (%)			Fungsi
	F1	F2	F3	
Ekstrak Herba seledri	10	10	10	Zat aktif
PVA	10	12,5	15	Basis gel
НРМС	1	1,5	2	Basis gel
Propilen Glikol	15	15	15	Humektan
Metil paraben	0,2	0,2	0,2	Pengawet
Propil Paraben	0,1	0,1	0,1	Pengawet
Pewangi	1	1	1	Pewangi
Etanol 96%	15	15	15	Pelarut
Aqua dest	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Pelarut

CARA KERJA PEMBUATAN MASKER

- PVA yang telah ditimbang kemudian dilarutkan dengan aquadest hangat sehingga PVA mengembang sempurna dan homogen (campuran 1).
- Kembangkan HPMC dengan air dingin (20 kali dari jumlah HPMC) di dalam mortir selama 15 menit digerus homogen (campuran 2). Larutkan pengawet dengan air (campuran 3). Tambahkan campuran 2 dengan gliserin kemudian gerus sampai homogen, lalu masukan campuran 3 dan gerus hingga homogen. Kemudian tambahkan campuran 1 gerus sampai homogen lalu tambahkan etanol dan gerus sampai homogen.
- Selanjutnya tambahkan sisa aquadest, gerus sampai terbentuk massa gel homogen. Tambahkan ekstrak seledri kedalam campuran tersebut, aduk hingga homogen.

Pengujian Masker Peel-Off

Evaluasi sifat fisik sediaan di lakukan sebelum dan sesudah penyimpanan setiap hari ke-7, 14 dan 21. Pengujian ini meliputi :

Uji Organleptis

 Dilakukan dengan parameter pengujian berdasarkan perubahan, warna, bentuk dan bau. Uji ini bertujuan untuk melihat adanya perubahan yang signifikan pada sediaan yang sudah dibuat meliputi warna, bau dan bentuk dari sediaan (Septiani dkk .2011)

Uji Homogenitas

• Sejumlah 0,1 gram sediaan di oleskan pada kaca tembus pandang, diamati apakah terdapat bagian yang tidak tercampurkan dengan baik. Sediaan dikatakan homogen jika semua bahan tercampur rata dan tidak ada partikel kasar yang ada dalam sediaan. (Charter, 1997)

Uji pH

• Pengujian pH dilakukan dengan menguji sampel masker dengan pH Universal / pH digital, yang bertujuan untuk mengetahui kesesuaian pH sediaan dengan pH kulit. pH kulit sediaan topikal yang baik berada pada rentang pH 4,5-6,5 (Aulton, 2005)

Uji daya sebar

• Pengujian ini dilakukan 48 jam setelah pembuatan gel cara mengukur diameter sebar sediaan yang diletakkan sejumlah 1 gram sediaan di atas lempeng kaca yang diberikan beban 100 gram dan diamkan setelah 1 menit, kemudian di catat diameter penyebarannya. Daya sebar yang baik 5-7 cm (Voight,1994)

Uji Waktu Mengering

 Pengujian ini dilakukan dengan cara mengoleskan sediaan sebanyak 0,1 gram pada object glass/ kulit subjek manusia, hingga membentuk lapisan tipis dengan tebal 1 mm pada luas 2,5 cm x 2,5 cm. Ditunggu sampai kering dan dapat dikelupas. Dihitung waktu yang diperlukan. Persyaratan waktu mengering 15-30 menit (Lestari, 2013)

Uji Viskositas

• Uji Viskositas di lakukan setelah 48 jam pembuatan gel. Masing-masing formula gel di tentukan viskositasnya dengan menggunakan Viscotester Kemudian, dilakukan repetisi tiga kali, dengan pendiaman selama 5 menit sebelum di uji ulang. Kisaran viskositas standar yaitu 2000-50.000 cps (Charter,1997)

Uji Stabilitas Fisik Gel Masker Peel-Off Anti Acne

• Dilakukan uji pergeseran viskositas untuk mengetahui stabilitas fisika sediaan. Uji pergeseran viskositas dilakukan setelah 48 jam pembuatan gel dan setelah gel disimpan selama 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu dan 4 minggu. Masing masing formula gel ditentukan viskositasnya. Hasil dihitung sebagai persen pergeseran viskositas di gunakan rumus :

% pergeseran viskositas =
$$\frac{viskositas\ awal-viskositas\ akhir}{viskositas\ awal}$$
 x100 % (Charter,1997)

Uji Aktivitas Antibakteri Masker Peel-Off

Sterilisasi alat

 Alat-alat yang digunakan dicuci dengan sabun, wadah mulut lebar dibersihkan dengan direndam dengan larutan deterjen panas selama 15-30 menit diikuti dengan air suling. Alat-alat dikeringkan dengan posisi terbalik. Tabung reaksi dan erlenmeyer disumbat dengan kapas bersih. Alat yang dibuat dari plastik di sterilkan dengan autoklaf yang diatur pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (per square inch) selama 15 menit. Alat gelas di sterilkan di oven suhu 170 -180°C selama 2 jam. Jarum ose dibakar dengan api bunsen sampai merah. Alat alat yang telah steril di bungkus dengan aluminium foil.

Pembuatan Media

- Nutrient Agar (NA)
- Komposisi :
- Bacto beef extract 3 gram
- Bacto pepton5 gram
- Bacto Agar15 gram
- Air Suling ad 1 liter
- Cara pembuatan :
- Sebanyak 23 gram serbuk Nutrient Agar (NA) dilarutkan dalam air suling steril sedikit demi sedikit kemudian volumenya dicukupkan sehingga 1 liter dengan bantuan pemanasan sampai semua bahan larut lalu disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Difco laboratories)

Nutrient Broth (NB)

- Komposisi:
- Enzim digest gelatin 5 gram
- Beef extract3 gram
- Air Suling ad 1 liter

Cara pembuatan:

- Sebanyak 8 gram serbuk Nutrient Broth (NB) dilarutkan dalam air suling
- steril sedikit demi sedikit kemudian volumenya dicukupkan sampai 1 liter dengan bantuan pemanasan sampai bahan larut sempurna kemudian disterilkan di autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Zimbro, 2009

Pembuatan Agar Miring

• Sebanyak 3 ml media nutrient agar steril dimasukan kedalam tabung reaksi yang steril, didiamkan pada temperatur kamar sampai nutrient agar membeku pada posisi miring membentuk suhu 45°C, kemudian disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 5°C

Penyiapan Stok Kultur Bakteri

Pembuatan Stok Kultur Bakter Staphylococcus epidermidis

• Biakan *Staphylococcus epidermidis* dari biakan murni diambil dengan jarum ose steril lalu diinokulasi kan pada permukaan sediaan media nutrient agar miring, kemudian diinkubasi di inkubator pada suhu kisaran 35°C selama 24 jam.

Pembuatan Stok Kultur Bakter Staphylococcus aureus

• Dilakukan hal yang sama seperti point a.

Penyiapan Inokulum Bakteri

Pembuatan Inokulum Bakteri *Staphylococcus* epidermidis

 Koloni Staphylococcus epidermidis diambil dari stok kultur yang sudah disediakan dengan menggunakan jarum ose steril yang dibakar di api bunsen, kemudian di suspensikan kedalam 5 ml media nutrient broth yang telah disterilkan, kemudian diukur kekeruhan larutan yang berwarna kuning pada panjang gelombang 580 nm sampai diperoleh transmitan 25% dengan menggunakan Spektrofotometer UV (DitjenPOM, 1995)

Pembuatan Inokulum Bakteri Staphylococcus aureus

Dilakukan hal yang sama seperti point a.

Pembuatan Media Nutrient Broth

 Media Nutrient Broth di timbang sebanyak 1,3 gram dilarutkan dalam 100 ml aquades, dituangkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 5 ml dihomogenkan dan di sterilisasi dengan autoklaf pada 121°C selama 2 jam

Inokulasi Bakteri pada Media

 Bakteri biakan murni diambil 1 ose, lalu di biakan pada media nutrient agar miring. Hasil dari inkubasi selama 18-24 jam di ambil 1 ose lagi, lalu di suspensikan pada nutrient broth steril sehingga di dapatkan suspensi bakteri lalu di inkubasi kembali pada suhu 37°C selama 18-24 jam

Uji Aktivitas Antimikroba

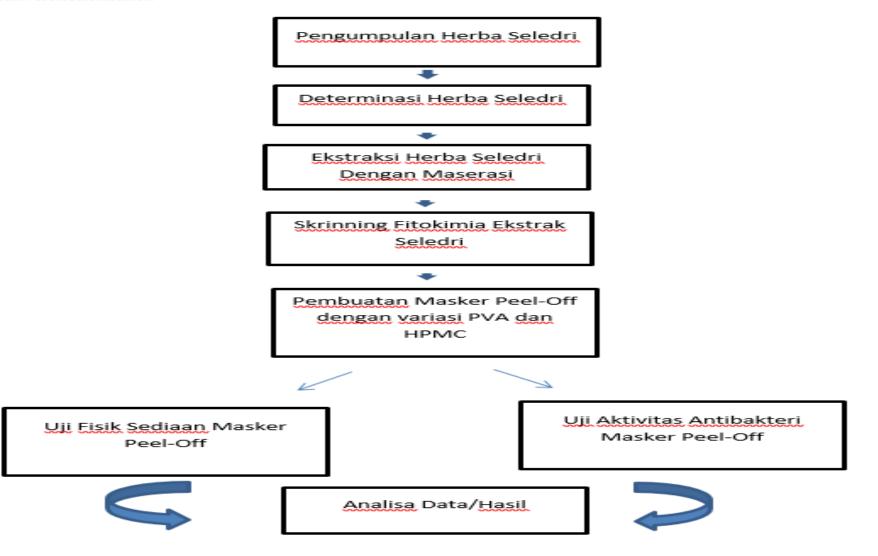
• Bakteri uji Staphylococcus epidermidis dan Staphylococcus aureus, yang telah di suspensikan kemudian dilihat kadar dan di sesuaikan kekeruhannya dengan standar Mc Farland. Jika masih terlalu keruh maka dapat di encerkan kembali dengan larutan NaCl 0,9%. Setelah kekeruhannya sesuai maka diambil sebanyak 200µL suspensi bakteri lalu dimasukan ke dalam 20 ml media Mueller Hinton Agar dan dituangkan ke dalam petri dish, biarkan sehingga agar-agar mengeras. Setelah media membentuk padatan, lalu di buat lubang sumuran, setiap sumuran di masukan 50 mg sediaan masker peel-off, 50 mg Erythromisin jel sebagai kontrol positip, 50 mg basis masker sebagai kontrol negatif (Zimbro, 2009)

Analisis Data

Data hasil analisis sediaan dan uji organoleptik sediaan di analisa dengan menggunakan uji oneway, Uji Anova, Uji Duncan dan Uji Post Hoc Test Homogenous Subset

SKEMA PENELITIAN

Skema Penelitian



BAB IV JADWAL PENELITIAN

Tabel 4.1. Prosedur dan Jadwal Penelitian

STIKes Medistra Indonesia

Waktu / minggu Kegiatan No 13 12 | 13 15 18 20 2 5 6 8 9 10 11 14 16 | 17 | Persiapan Penelitian Pengajuan Usulan Penelitian \mathbf{x} Seleksi Usulan Penelitia (Presentasi) \mathbf{x} \mathbf{x} Keputusan Penelitian \mathbf{x} \mathbf{x} Penandatanganan Kontrak Penelitian \mathbf{x} Pelaksanaan Penelitian Pelaksanaan Penelitian \mathbf{x} \mathbf{x} Laporan Kemajuan \mathbf{x} \mathbf{x} Pemantauan Pelaksanaan Penelitian \mathbf{x} \mathbf{x} \mathbf{x} \mathbf{x} \mathbf{x} \mathbf{x} \mathbf{x} Laporan Hasil Penelitian \mathbf{x} \mathbf{x} \mathbf{x} Pasca Penelitian Seminar Hasil Penelitian \mathbf{x} \mathbf{x} Publikasi Hasil Penelitian \mathbf{x} \mathbf{x}

+‡+

BAB V PEMBIAYAAN

Tabel.5.1. Perincian Pembiayaan

No	Kegiatan	Biaya	Keterangan		
Persiapan					
1	Pengumpulan simplisia daun seledri	Rp. 750.000	-		
2	Determinasi tanaman	Rp. 50.000	-		
3	Pembelian bahan penelitian	Rp. 2.500.000	-		
Penelitian					
4	Uji Parameter Spesifik	Rp1.500.000.	-		
5	Uji Parameter Non spesifik	Rp. 1.500.000	-		
Pasca Penelitian					
6	Biaya lain – lain	Rp. 100.000	^-		