

# FORMULASI DAN EVALUASI SEDIAAN SERUM WAJAH YANG MENGANDUNG MINYAK ATSIRI KULIT BUAH JERUK KEPROK (*Citrus reticulata* Blanco) SEBAGAI ANTI-ACNE

Vania Ristianti<sup>1</sup>, Eva Monica<sup>2</sup>, Nur Aziz<sup>3</sup>

Universitas Ma Chung, Universitas Ma Chung, Universitas Ma Chung

611910034@student.machung.ac.id, eva.monica@machung.ac.id, nur.aziz@machung.ac.id

## Abstrak

Jerawat merupakan salah satu gangguan kulit berupa inflamasi kronis yang terjadi pada jaring *polisebacea*. Gangguan kulit ini dapat disebabkan oleh berbagai macam faktor salah satu diantaranya adalah karena adanya infeksi bakteri *Cutibacterium acnes* (*C.acnes*). Pengobatan terhadap jerawat dapat dilakukan dengan menggunakan antibiotik baik secara oral maupun topikal. Salah satu bahan alam yang memiliki aktivitas anti bakteri terhadap bakteri *C.acnes* adalah tanaman buah jeruk keprok (*Citrus reticulata* Blanco). Minyak atsiri dari kulit buah jeruk keprok mengandung metabolit sekunder berupa senyawa limonene yang memiliki aktivitas anti bakteri terhadap bakteri gram positif.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formulasi serum anti-*acne* yang optimum melalui hasil evaluasi mutu berupa uji organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya lekat, uji tipe emulsi, uji distribusi ukuran partikel dan uji daya sebar. Pengujian terhadap efektivitas serum anti-*acne* dilakukan dengan menggunakan bakteri *C.acnes* dengan metode difusi sumuran. Hasil dan kesimpulan dari penelitian menunjukkan bahwa pada pengujian mutu sediaan semua formula menunjukkan hasil yang memenuhi persyaratan mutu sediaan. Efektivitas serum yang paling baik ditemukan pada serum dengan kadar minyak atsiri kulit buah jeruk keprok sebesar 12,5% v/v dengan diameter daya hambat sebesar  $12,63 \pm 1,87$  mm pada pengujian menggunakan bakteri *C.acnes*. Saran untuk penelitian ini adalah perlu dipastikan bahwa bakteri yang digunakan pada pengujian merupakan kultur murni, perlu juga dilakukan pengujian terhadap stabilitas sediaan serum untuk mengetahui ketahanan dan kualitas sediaan selama masa simpan, serta dapat dilakukan penelitian lebih mendalam terkait hubungan sifat hemolisis bakteri *C.acnes* dengan resistensinya terhadap antibiotik.

**Kata kunci:** Minyak atsiri kulit buah jeruk keprok, *Citrus reticulata* Blanco, Serum anti-*acne*, Jerawat

## Abstract

*Acne is a form of persistent inflammation of the skin's polysebaceous tissue. An infection with the Cutibacterium acnes (C.acnes) bacteria is one of the many possible causes of this skin condition. Antibiotics can be applied topically and orally to treat acne. The citrus reticulata Blanco (tangerine) fruit plant is one of the natural ingredients that can kill the C. acnes bacteria. Medicinal balm from tangerine strip holds back auxiliary*

*metabolites as limonene, which have antibacterial action against gram-positive microorganisms. Through organoleptic tests, homogeneity, pH, viscosity, adhesion, an emulsion type test, a particle size distribution test, and a spreadability test, this study aims to produce the best anti-acne serum formulation. Using the well-diffusion method, the effectiveness of anti-acne serum was tested using C.acnes bacteria.*

*According to the study's findings and conclusions, all formulas produced results that met quality standards during quality testing. The best serum adequacy was found in serum with tangerine strip rejuvenating oil content of 12.5% v/v with a restraint measurement of  $12.63 \pm 1.87$  mm in testing utilizing C.acnes microorganisms. For this study, it is suggested that pure cultures of the bacteria used in the test should be tested, that serum preparations should be tested for stability to see how long they last and how good they are, and that more indepth research should be done on the connection between C. acnes's antibiotic resistance and its hemolytic properties.*

**Keywords:** Tangerine peel essential oil, *Citrus reticulata* Blanco, Anti-*acne* Serum, *acne*

## PENDAHULUAN

*Acne vulgaris* dimanifestasikan oleh tubuh sebagai lesi inflamasi maupun non-inflamasi dapat berupa papula, pustul dan nodul. (Kirsten, Mohr dan Augustin, 2021). Patogenesis jerawat disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya hipersekresi sebum, proliferasi abnormal dan diferensiasi keratinosit pada folikel rambut yang menyebabkan komedo, adanya infeksi bakteri seperti *Propionibacterium acnes* (*P.acnes*), atau yang saat ini disebut *Cutibacterium acnes* (*C.acnes*) dan *Staphylococcus epidermidis*, serta adanya stres psikologis (Stoica et al., 2020; Fadilah, 2021). Bakteri *Cutibacterium acnes* merupakan salah satu penyebab utama jerawat. Bakteri ini dapat menyebabkan inflamasi dan memicu terbentuknya komedo (Stoica et al., 2020).

Pengobatan jerawat yang disebabkan karena infeksi bakteri umumnya dilakukan dengan menggunakan antibiotik baik secara topikal maupun sistemik untuk dapat mengatasi peradangan akibat infeksi bakteri. Antibiotik yang banyak digunakan diantaranya adalah tetrasiklin, eritromisin, doksisisiklin, minosiklin dan klindamisin.

Namun beberapa studi telah melaporkan adanya resistensi bakteri *C.acnes* terhadap antibiotik yang umumnya digunakan tersebut (Stoica *et al.*, 2020).

Menanggapi permasalahan tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian terikat agen antibakteri yang dapat menjadi alternatif dalam terapi jerawat, yang pada penelitian ini dipilih bahan aktif berupa minyak atsiri jeruk keprok. Minyak atsiri yang berasal dari kulit buah jeruk keprok mengandung senyawa limonene yang diketahui memiliki aktivitas anti bakteri terhadap bakteri gram positif seperti bakteri *C.acnes*. Dalam penelitian ini akan dilakukan formulasi sediaan serum yang berfungsi sebagai kosmetik anti-*acne* dengan menggunakan bahan aktif dari minyak atsiri jeruk keprok.

## MATERIAL DAN METODE PENELITIAN

### Material

Neraca analitik gram (Ohaus) dan miligram (Shimadzu), spektrofotometer UV-Vis (Jasco V-760), spatula, gelas beker 100 ml (Iwaki), batang pengaduk, mikropipet 1001000  $\mu$ L (Dragon Med), Mikropipet 20-200  $\mu$ L (Socorex), pipet tetes, pH meter (Ohaus), rotary viscometer (VT-04F), anak timbangan, alat uji daya sebar, tabung reaksi (Pyrex), cawan petri, kawat ose, bunsen, kaca arloji, kertas coklat, disposable cotton swab, perforator, tali kasur, autoklaf, inkubator, wadah serum. Minyak atsiri jeruk keprok (*Citrus reticulata*) merek SESMU, carbomer, propilenglikol, Trietanolamin (TEA), natrium benzoat, akuades, Blood Agar base (HIMEDIA), Mueller Hinton Broth (HIMEDIA), darah domba steril, akuades, antibiotik gel Clindamycin phosphate 1% (MediKlin), bakteri *Propionibacterium acnes*

### Metode Penelitian

#### Jenis Penelitian

Jenis penelitian adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan tujuan mendapatkan formula serum yang paling optimum.

#### Variabel Penelitian

Terdapat 3 macam variabel pada penelitian ini : Variabel Bebas : variasi konsentrasi minyak atsiri jeruk keprok dengan konsentrasi 3,5%, 6,5%, 9,5% dan 12,5% v/v.

Variabel Terikat aktivitas anti bakteri minyak atsiri jeruk keprok dan hasil evaluasi sediaan serum wajah yang meliputi uji organoleptik, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, daya lekat, tipe emulsi dan distribusi ukuran globul.

Variabel Kontrol: Minyak atsiri yang digunakan, dan jenis bahan tambahan (*eksipien*) dalam formulasi sediaan serum wajah. Pada pengujian aktivitas antibakteri serum digunakan gel *Clindamycin Phosphate* 1% (MediKlin) sebagai kontrol positif dan serum yang tidak mengandung minyak atsiri jeruk keprok (*placebo*) sebagai kontrol negatif.

#### Cara Kerja

Uji Aktivitas Anti bakteri Minyak Atsiri Jeruk Keprok Lubangi media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri dengan menggunakan perforator, hingga terbentuk sumuran. Masukkan secara perlahan 40  $\mu$ L sampel minyak atsiri dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 5% dan 2,5% v/v, kontrol negatif (DMSO 100%) dan kontrol positif *Clindamycin* 2  $\mu$ g/40 $\mu$ L kedalam setiap sumuran dengan diameter  $\pm$ 7,6 mm secara aseptis. Tutup cawan petri dan rekatkan dengan plastik *wrap*. Inkubasi cawan petri tanpa dibalik didalam *candle jar* dalam waktu 24 jam. Ukur diameter daya hambat yang terbentuk dengan menggunakan persamaan.

Penentuan MIC dan MBC Minyak Atsiri Jeruk Keprok Dibuat pengenceran minyak atsiri jeruk keprok menjadi delapan seri konsentrasi yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%, 0,39% v/v untuk setiap media digunakan 0,5 ml media MHB, 0,5 ml serum minyak atsiri jeruk keprok dan 0,5 ml suspensi bakteri, untuk kontrol positif 0,5 ml antibiotik *Clindamycin* dan 0,5 ml DMSO 100% sebagai kontrol negatif. Kontrol bakteri berisikan 0,5 ml suspensi bakteri dalam 0,5 ml media MHB. Suspensi bakteri yang digunakan pada pengujian ini adalah suspensi yang mengandung bakteri dengan koloni setara dengan  $10^6$  CFU/mL. Pengamatan dilakukan berdasarkan kekeruhan dari larutan uji pada setiap seri konsentrasi, kontrol negatif dan kontrol positif. Setiap larutan uji diinkubasi pada suhu 37°C pengamatan dilakukan setelah diinkubasi 24 jam dan 48 jam.

Penentuan MBC dilakukan dengan memilih satu larutan uji MIC yang tidak menunjukkan adanya kekeruhan pada tabung reaksi dan satu konsentrasi yang menunjukkan kekeruhan sebagai pembandingnya. Diambil satu ose dari seri konsentrasi yang telah dipilih kemudian apuskan menggunakan ose pada media BA dalam cawan petri. Kemudian diinkubasi dalam keadaan anaerob didalam *candle jar* pada suhu 37°C selama 24 jam.

#### Preparasi Sediaan Serum

Prosedur pembuatan serum wajah dimulai dengan menyiapkan peralatan dan menimbang bahan yang diperlukan. Carbomer dikembangkan dalam akuades, setelah mengembang propilenglikol. Larutkan natrium benzoat dengan sedikit akuades, tambahkan kedalam campuran serum sebelumnya. Tambahkan sisa akuades dan aduk hingga tercampur homogen. Tambahkan TEA dan aduk hingga homogen dan serum mulai mengental. Setelah mengental masukkan zat aktif minyak atsiri jeruk keprok dan aduk kembali hingga homogen. Terakhir masukkan serum kedalam wadah serum.

**Tabel 1. Formula Sediaan Serum**

Bahan	Konsentrasi (%)					Fungsi
	F0	F1	F2	F3	F4	
Minyak atsiri jeruk keprok	-	3,5	6,5	9,5	12,5	Bahan aktif

Carbomer	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	Emulsifier
Propilenglikol	10	10	10	10	10	Humektan
TEA	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	Emulsifier
Natrium Benzoat	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	Pengawet

Evaluasi Mutu Sediaan

Uji Organoleptis

Pengujian ini merupakan uji dengan mengamati tekstur, warna, aroma dan bentuk dari sediaan serum wajah yang telah dibuat dengan memanfaatkan alat indra (mata dan hidung). Hasil pengamatan yang diharapkan serum memiliki tekstur berupa cairan jernih agak kental, dengan aroma jeruk.

Uji Homogenitas

Uji homogenitas menggunakan alat bantu berupa kaca preparat. Penentuan homogenitas dilakukan dengan mengambil secukupnya serum wajah yang telah dibuat, kemudian dioleskan pada kaca preparat dan ditutup menggunakan kaca preparat lain, diamati apakah terdapat partikel-partikel bahan yang tidak tercampur secara homogen pada serum. Sediaan serum yang baik adalah apabila tidak didapati adanya partikel-partikel kasar pada kaca preparat.

Uji pH

Pengukuran menggunakan pH meter digital yang telah dikalibrasi dengan larutan dapar standar pH asam (pH 4), pH netral (pH 7) dan pH basa (pH 10). Pertama-tama elektroda dicuci terlebih dahulu dengan menggunakan akuades, lalu dikeringkan menggunakan tissue. Elektroda dicelupkan pada sampel serum dalam gelas beker, jalankan pH meter dengan menekan tombol 'enter'. Tunggu sampai pH meter menunjukkan pH yang konstan. pH sediaan yang diharapkan adalah pada rentang 4,0-6,0.

Uji Daya Sebar

Dilakukan dengan pertama mempersiapkan alat pengujian daya sebar. Tutup alat uji daya sebar ditimbang. Sebanyak kurang lebih 200 mg serum diambil dan diteteskan pada alat uji daya sebar, kemudian ditindih menggunakan penutupnya, pengujian dilakukan selama 1 menit. Uji diulangi dengan menggunakan pemberat 1 gram, 3 gram, dan 5 gram. Diameter penyebarannya diukur. Hasil yang diharapkan adalah daya sebar berada pada rentang 5 hingga 7 cm.

Uji Daya Lekat

Serum pada pengujian ini diteteskan pada kaca preparat kemudian ditutup menggunakan kaca preparat lain dan diberi pemberat (250 gram) selama 15 menit, kemudian diuji menggunakan alat uji daya lekat. Diukur waktu yang dibutuhkan untuk kedua kaca terlepas satu sama lain.

Uji Tipe Emulsi

Uji ini dilakukan dengan meneteskan setetes serum pada kaca objek kemudian ditambahkan dengan satu tetes methylene blue. Serum yang telah ditetesi dengan methylene blue diamati diatas mikroskop. Methylene blue akan mewarnai fase air dari emulsi tersebut.

Uji Distribusi Ukuran Globul

Distribusi ukuran globul dilakukan dengan mengambil foto dari globul serum dengan menggunakan mikroskop yang dilengkapi dengan optilab. Ukuran globul diukur dengan menggunakan software image raster dengan menarik dua garis dari setiap globul.

Terakhir dibuat kurva distribusi ukuran globul.

Uji Viskositas

Viskositas serum diukur dengan menggunakan rotary viscometer. Sebanyak kurang lebih 100ml serum dimasukkan kedalam wadah gelas, rotor yang telah terpasang pada viskometer diturunkan sehingga tercelup kedalam serum dimulai dengan rotor nomor 2>1>3. Nyalakan panel on/off pada viskometer, amati skala yang ditunjukkan jarum sesuai nomor rotor yang digunakan. Viskositas yang diharapkan untuk serum adalah 2301150 centipoise.

Uji Efektivitas Serum

Dilakukan dengan metode difusi sumuran. Lubangi media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri dengan menggunakan perforator, hingga terbentuk sumuran. Masukkan secara perlahan 40 µL sampel serum (F1,F2,F3,F4) ,kontrol negatif (F0) serta kontrol positif (gel Clindamycin phosphate 1% ) kedalam setiap sumuran dengan diameter ±7,6 mm secara aseptis. Tutup cawan petri dan rekatkan dengan plastik wrap. Inkubasi cawan petri tanpa dibalik didalam candle jar selama 24 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Aktivitas Anti bakteri Minyak Atsiri Jeruk Keprok

Aktivitas anti bakteri minyak atsiri jeruk keprok (Citrus reticulata Blanco) terhadap bakteri C.acnes menunjukkan aktivitas penghambatan dengan zona hambat maksimum pada konsentrasi 100% v/v yaitu sebesar 14,32 ± 2,53 mm. Diikuti oleh konsentrasi 12,5% v/v dengan zona hambat sebesar 12,40 ± 1,25 mm, dan konsentrasi 5% v/v dengan diameter zona hambat sebesar 12,20 ± 1,94 mm. Namun pada penelitian ini, tidak ditemukan adanya daya hambat yang signifikan pada kontrol positif Clindamycin 2 µg/40 µL dan tidak ditemukan adanya daya hambat oleh kontrol negatif berupa DMSO 100%.

Tabel 2. Hasil Uji Difusi Sumuran Minyak Atsiri Jeruk terhadap bakteri C.acnes

Kadar (% v/v)	Zona Hambat (mm ± SD)
100	14,32 ± 2,53
50	11,65 ± 1,87
25	10,60 ± 0,92

12,5	12,40 ± 1,25
5	12,20 ± 1,94
2,5	10,73 ± 0,66
Kontrol positif <sup>a</sup>	8,00 ± 4,62
Kontrol negatif <sup>b</sup>	ND

ND = Not detected

Semua hasil mewakili rata-rata zona hambat (mm) ± SD (n=3)

<sup>a</sup>Clindamycin phosphate setara dengan Clindamycin 2 µg/40 µL

<sup>b</sup>Pelarut DMSO 100%



Gambar 1. Hasil Uji Difusi Sumuran terhadap *C.acnes*

Tidak signifikannya daya hambat yang ditimbulkan oleh kontrol positif menunjukkan adanya kemungkinan resistensi bakteri *C.acnes* yang digunakan pada penelitian ini terhadap Clindamycin dengan konsentrasi 2 µg/40 µL. Mutasi gen yang paling berperan terhadap resistensi antibiotik Clindamycin adalah mutasi pada gen 23S rRNA (2058A>G) dan 23S rRNA (2058A>T) (Neves *et al.*, 2015). Gen 23S rRNA mengalami metilasi yang dikodekan oleh gen erm (Anomin,2012). Salah satu faktor yang dapat mengindikasikan bahwa bakteri yang digunakan pada penelitian ini kemungkinan mengalami resistensi adalah sifat hemolisis bakteri. Bakteri *C.acnes* hemolisis memiliki kemampuan menginfeksi dan resistensi yang tinggi terhadap antibiotik Clindamycin (Boyle *et al.*, 2020). Bakteri *C.acnes* yang mengalami hemolisis ditemukan memiliki ekspresi gen ABC tranportase yang mana gen ini memicu aktivasi sistem *efflux* pada bakteri, dimana bakteri dapat mengeluarkan substrat yang dapat membahayakan diri keluar dari sel.

Penentuan MIC dan MBC Minyak Atsiri Jeruk Keprok Tidak didapati terjadinya kekeruhan pada seri konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% v/v, yang menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut tidak terjadi pertumbuhan bakteri, jika dilihat melalui hasil ini disimpulkan bahwa MIC terhadap bakteri *C.acnes* adalah

≥ 3,125% v/v. Namun, pada uji aktivitas minyak atsiri jeruk keprok dengan menggunakan metode difusi

sumuran masih didapati adanya daya hambat minyak atsiri jeruk keprok terhadap bakteri *C.acnes* pada konsentrasi 2,5% v/v sehingga dapat disimpulkan bahwa nilai MIC minyak atsiri jeruk keprok (*Citrus reticulata* Blanco) terhadap bakteri *C.acnes* adalah sebesar ≥ 2,5% v/v.

Uji MBC dilakukan pada seri konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% v/v dan kontrol negatif. Setelah melalui inkubasi selama 24 jam pada seri konsentrasi 6,25% dan 3,125% v/v bakteri *C.acnes* masih mengalami pertumbuhan, sedangkan pada konsentrasi 50%, 25%,12,5% v/v, dan kontrol negatif tidak menunjukkan adanya pertumbuhan. Maka dapat disimpulkan bahwa MBC dari minyak atsiri jeruk keprok terhadap bakteri *C.acnes* adalah ≥ 12,5% v/v.



Gambar 2. MBC Minyak Atsiri Jeruk Keprok

#### Pembuatan Serum Anti-*Acne*

Pada proses pembuatan sediaan serum carbomer sebagai agen pengemulsi dikembangkan dengan akuades hingga terdispersi merata. Setelah carbomer terdispersi secara merata ditambahkan humektan dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* pada kecepatan 210 rpm hingga tercampur merata, setelah homogen dicampurkan natrium benzoat yang telah dilarutkan dengan akuades sebelumnya. Setelah tercampur merata ditambahkan sisa akuades dan TEA. Setelah basis serum selesai dibuat ditambahkan zat aktif kedalam basis kemudian diaduk kembali menggunakan *magnetic stirrer* hingga homogen.

#### Evaluasi Mutu Sediaan

##### Uji Organoleptis

Berdasarkan hasil pengamatan pada pengujian organoleptis sediaan serum, tekstur dari seluruh sediaan serum baik pada F0 hingga F4 tidak mengalami perubahan. Semua formula memiliki konsistensi yang cair dan cenderung agak kental, seperti *emulgel*. Aroma yang dimiliki serum adalah aroma jeruk yang merupakan dari aroma dari minyak atsiri jeruk keprok (*Citrus reticulata* Blanco). Warna yang ditampilkan oleh serum ini pada

formula F1 dan F2 adalah putih keruh, sedangkan pada formula F3 dan F4 berwarna putih keruh agak kekuningan, formula F0 merupakan basis serum yang berwarna transparan.

Uji Homogenitas

Dari hasil pengujian terhadap homogenitas serum menunjukkan bahwa seluruh formula serum yang dibuat tercampur secara homogen dan tidak ditemukan adanya gumpalan pada serum. Hal ini dipengaruhi oleh pengadukkan pada saat proses pembuatan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 210 rpm. *Magnetic stirrer* dipilih karena dapat melakukan pengadukkan dengan kecepatan tertentu secara konstan. Pengadukkan dengan kecepatan konstan dan penambahan bahan secara perlahan menyebabkan setiap bahan khususnya bahan pengemulsi (carbomer) tercampur secara merata, dan tidak membentuk gumpalan pada serum.

Uji pH

Berdasarkan hasil pengujian pH dihasilkan nilai pH sediaan serum yang secara keseluruhan telah sesuai dengan persyaratan, karena berada pada kisaran pH normal kulit yaitu 4-6. Hasil rerata pH serum yang diperoleh melalui hasil pengujian berkisar antara 4,51 hingga 4,63. Pengujian terhadap pH serum dilakukan replikasi sebanyak 3 kali pengulangan untuk setiap formula untuk memastikan bahwa hasil yang didapatkan dari pengukuran adalah valid. Penambahan TEA pada sediaan serum selain berfungsi untuk menstabilkan sediaan dengan carbomer sebagai *emulsifying agent* namun juga dapat meningkatkan pH serum apabila ditambahkan dalam jumlah banyak, hal ini disebabkan oleh pH TEA yang sangat basa yaitu sebesar 10,5 (Sheskey, 2017).

Tabel 3. Hasil Uji pH

Uji pH		
Formula	Rerata	SD
F0	4,51	0,045826
F1	4,61	0,02
F2	4,62	0,026458
F3	4,63	0,058595
F4	4,55	0,045092

Uji Daya Sebar

Berdasarkan evaluasi daya sebar didapatkan hasil rerata daya sebar serum dalam setiap formula adalah 5,2 hingga 7,2, dimana hal ini telah sesuai dengan spesifikasi. Hasil dari keseluruhan data menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara daya sebar satu formula dengan formula yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan kadar bahan aktif yang ditambahkan kedalam serum tidak berpengaruh terhadap daya sebar serum.

Tabel 4. Hasil Uji Daya Sebar

Beban (gram)	Daya sebar (cm)				
	F0	F1	F2	F3	F4
0	6,522	6,844	6,922	6,344	5,233
1	7,178	7,000	7,211	6,544	5,856
3	7,200	7,266	7,222	6,656	6,078
5	7,244	7,222	7,222	6,722	6,122

Uji Daya Lekat

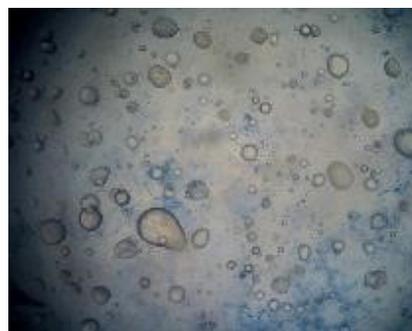
Berdasarkan hasil pengujian terhadap daya lekat serum diperoleh hasil rerata daya lekat serum adalah 25,91 hingga 64,18 detik. Hasil pengukuran daya lekat serum antara ketiga replikasi didapati sangat jauh, dapat dilihat dari standar deviasi yang bernilai besar. Keseluruhan formula memiliki daya lekat yang memenuhi persyaratan daya lekat sediaan yang berbentuk gel yaitu lebih dari 1 detik.

Tabel 5. Hasil Uji Daya Lekat

Uji Daya Lekat (detik)		
Formula	Rerata	SD
F0	25,91	9,227573
F1	64,18	11,42
F2	55,20	17,50042
F3	34,51	15,09216
F4	35,23	22,41898

Uji Tipe Emulsi

Hasil pengujian tipe emulsi menggunakan *methylene blue* didapati bahwa semua formulasi serum merupakan emulsi tipe minyak dalam air (M/A) Hal ini dapat diamati dari globul-globul yang tidak berwarna biru sedangkan air pada fase luarnya terwarnai oleh *methylene blue*. Fase luar dari serum merupakan fase air dan fase dalamnya merupakan fase minyak yang terdispersi didalam fase air dalam bentuk globul-globul.



Gambar 3. Uji Tipe Emulsi

Uji Distribusi Ukuran Globul

Dari hasil pengukuran ukuran globul dari sediaan serum menggunakan mikroskop, didapatkan hasil rentang rerata diameter globul untuk keempat formula adalah antara 19,8

$\mu\text{m}$  hingga 24,2  $\mu\text{m}$ . Dari hasil perhitungan antilog SD dari ukuran globul didapatkan nilai antilog SD untuk setiap formula lebih dari 1,2. Bila nilai antilog SD kurang dari 1,2 maka globul merupakan monodispers sedangkan bila nilai antilog Standar Deviasi (SD) lebih dari 1,2 maka globul merupakan polidispers (Cicilia, 2013).

Tabel 6. Hasil Uji Distribusi Ukuran Globul

Formula	Rerata ( $\mu\text{m}$ )	Antilog SD
F1	19,8385	6,809684
F2	20,8068	6,966243
F3	20,0806	6,870075
F4	24,2150	7,649627

#### Uji Viskositas

Berdasarkan data hasil pengujian viskositas pada tabel 7 dengan menggunakan *rotary viscometer* didapatkan hasil bahwa viskositas serum yang diformulasi pada penelitian ini telah memenuhi persyaratan viskositas yang baik untuk serum yaitu 230-1150 *centipoise* (cP). Perubahan nilai viskositas yang diperoleh dapat dipengaruhi oleh beberapa hal diantaranya adalah pemilihan bahan pengemulsi serta proporsi fase yang terdispersi (minyak atsiri jeruk). Selain itu persentase TEA yang ditambahkan dalam serum juga dapat meningkatkan viskositas. Telah dilakukan beberapa kali percobaan formulasi sebelumnya oleh peneliti, dan didapati bahwa peningkatan persentase TEA yang tidak disertai dengan peningkatan konsentrasi pengemulsi yang dalam formula ini digunakan carbomer, dapat meningkatkan viskositas serum.

Tabel 7. Hasil Uji Viskositas

Formula	Rerata (cP)	SD
F0	266,6667	28,8675
F1	266,6667	28,8675
F2	383,3333	57,7350
F3	450,0000	0,0000
F4	486,6667	32,1455

#### Uji Efektivitas Serum

Aktivitas antibakteri serum dengan bahan aktif minyak atsiri jeruk keprok (*Citrus reticulata* Blanco) terhadap bakteri *C.acnes* menunjukkan aktivitas terbesar pada kontrol positif dengan diameter zona hambat sebesar  $13,00 \pm 1,39$  mm, diikuti oleh F4 dengan diameter daya hambat sebesar  $12,63 \pm 1,87$  mm. Pada kontrol negatif berupa placebo serum (F0) tidak ditemukan adanya daya hambat yang ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan bakteri pada sekeliling lubang sumuran yang dibuat. Dari hasil ini didapati bakteri diameter zona hambat yang diberikan oleh serum minyak atsiri jeruk keprok jika dibandingkan dengan kontrol positif tidak berbeda jauh, sehingga melalui pengujian ini disimpulkan bahwa serum

minyak atsiri dengan konsentrasi tertinggi (F4) memiliki efektivitas yang cukup mendekati kontrol positif. Melalui hasil ini juga diketahui bahwa efek anti bakteri yang ditimbulkan oleh serum bersifat *doseindependent* yang mana tidak bergantung pada konsentrasi minyak atsiri jeruk keprok yang ditambahkan.

Tabel 8. Hasil Uji Efektivitas Serum

Formula	Zona Hambat (mm $\pm$ SD)
F1	$11,53 \pm 1,93$
F2	$10,53 \pm 0,25$
F3	$11,07 \pm 2,54$
F4	$12,63 \pm 1,87$
Kontrol positif <sup>a</sup>	$13,00 \pm 1,39$
Kontrol negatif <sup>b</sup>	ND

ND = Not detected

Semua hasil mewakili rata-rata zona hambat (mm)  $\pm$  SD (n=3)

<sup>a</sup>Gel *Clindamycin phosphate* setara dengan *Clindamycin* 1% (MediKlin)

<sup>b</sup>F0 = placebo serum

Daya hambat yang dihasilkan oleh minyak atsiri jeruk keprok (*Citrus reticulata*) ini disebabkan oleh adanya kandungan metabolit sekunder berupa senyawa limonene yang banyak terdapat dalam minyak atsiri kulit buah jeruk keprok. Limonene sendiri merupakan senyawa monoterpen yang memiliki aktivitas anti bakteri terhadap bakteri gram positif dimana bakteri *Cutibacterium acnes* merupakan salah satu dari bakteri gram positif. Pada penelitian yang dilakukan oleh Han di China pada tahun 2021, yang mana meneliti aktivitas anti bakteri limonene terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ditemukan bahwa limonene dapat menghancurkan integritas dan permeabilitas dinding sel, yang menyebabkan kematian sel.

#### KESIMPULAN

Aktivitas anti bakteri minyak atsiri jeruk keprok (*Citrus reticulata* Blanco) terhadap bakteri *Cutibacterium acnes* diuji dan ditemukan efektif pada konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 5% dan 2,5% v/v yang diukur dengan diameter zona hambat (mm). Aktivitas antibakteri paling besar ditemukan pada minyak atsiri jeruk dengan kadar 100% v/v dengan zona hambat  $14,32 \pm 2,53$  mm, diikuti oleh konsentrasi 12,5% v/v dengan zona hambat sebesar  $12,40 \pm 1,25$  mm. Namun pada penelitian ini tidak ditemukan adanya daya hambat pada kontrol positif (*Clindamycin phosphate* setara dengan *Clindamycin* 2  $\mu\text{g}/40 \mu\text{L}$ ), hal ini menunjukkan adanya kemungkinan resistensi bakteri *C.acnes* yang digunakan pada penelitian terhadap antibiotik *Clindamycin* pada konsentrasi tersebut, yang dapat terjadi karena adanya mutasi terhadap

gen 23S rRNA yang berperan dalam resistensi antibiotik *Clindamycin*.

Minyak atsiri jeruk keprok diuji *Minimum Inhibition Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) terhadap bakteri *Cutibacterium acnes* menggunakan metode pengenceran (makrodilusi) dengan seri konsentrasi 50%,25%,12,5%,6,25%, 3,125% v/v dan kontrol negatif. Nilai MIC adalah sebesar 3,125% v/v. Pada konsentrasi 3,125% v/v tidak didapati adanya pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan larutan uji yang berwarna jernih setelah diinkubasi selama 24 jam dan 48 jam. Namun pada uji aktivitas yang sebelumnya dilakukan didapati bahwa pada kadar 2,5% v/v minyak atsiri jeruk masih dapat memberikan daya hambat terhadap bakteri *C.acnes*, sehingga pada penelitian ini disimpulkan bahwa nilai MIC dari minyak atsiri jeruk keprok terhadap bakteri *C.acnes* adalah sebesar  $\geq 2,5\%$  v/v. Pada pengujian MBC, didapatkan MBC pada konsentrasi 12,5% v/v yang ditandai tidak adanya pertumbuhan bakteri ketika larutan uji dilusi cair disapukan pada media *Blood Agar*.

Formula 4 memberikan hasil yang memenuhi persyaratan dalam penelitian ini. Formula 4 memenuhi persyaratan untuk hampir semua evaluasi mutu dengan hasil uji organoleptis memiliki penampilan yang stabil dengan aroma jeruk, bentuk cair agak kental dan warna putih keruh kekuningan, homogen dan memiliki pH yang sesuai dengan persyaratan dengan rerata 4,55 dengan nilai signifikansi  $> 0,05$ , daya sebar dengan rerata 5,233 hingga 6,122 cm pada tiga berat beban yang berbeda dengan nilai signifikansi  $> 0,05$ , hasil uji daya lekat lebih dari 1 detik, dan viskositas dengan rerata 486,67 cP. Namun pada uji distribusi ukuran globul formula 4 tidak memenuhi persyaratan dikarenakan globul yang terbentuk pada sediaan memiliki ukuran yang besar dengan rerata 24,2150  $\mu\text{m}$ , yang mana hal ini dapat ditanggulangi dengan penggunaan *ultra turrax* pada saat proses pengadukan dengan waktu dan kecepatan pengadukan yang harus dioptimasi terlebih dahulu. Secara efektivitas formula 4 adalah formula yang paling baik, dikarenakan memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri yang paling besar jika dibandingkan dengan formula 1,2, dan 3, selain itu formula 4 juga memiliki daya hambat terhadap bakteri *C.acnes* yang mendekati dan tidak berbeda secara signifikan terhadap kontrol positif, sehingga dinilai layak untuk dijadikan alternatif terapi jerawat.

#### DAFTAR PUSTAKA

Abdulmassih, R. *et al.*, 2016, Propionibacterium acnes : Time-to-Positivity in Standard Bacterial Culture From Different Anatomical Sites, *Journal of Clinical Medicine Research*, 8(12):916–918.

Achermann, Y. *et al.*, 2014, Propionibacterium acnes: From Commensal to opportunistic biofilm-associated implant pathogen, *Clinical Microbiology Reviews*, 27(3):419–440.

Anonim, 2012, *Performance Standarts for Antimicrobial Disk Susceptibility Test; Approved Standart 11<sup>th</sup> Edition*, Clinical and Laboratory Standart Institute, United States.

Anonim, 2019, *European Pharmacope 10<sup>th</sup> Edition*, Council of Europe, Starsbourg.

Balouri, M., Sadiki, M. and Ibsouda, S. K., 2016, Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity : A review, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2):71–79.

Berardi, R. R. and Et.al, 2009, *Handbook of Nonprescription Drugs 16th Edition*, American Pharmacists Association, Washington DC.

Boyle, K. K. *et al.*, 2020, Pathogenic genetic variations of *C. acnes* are associated with clinically relevant orthopedic shoulder infections, *Journal of Orthopaedic Research*, 38(12):2731–2739.

Budiasih, S. *et al.*, 2018, Formulation and Characterization of Cosmetic Serum Containing Argan Oil as Moisturizing Agent, *Bromo*, pp. 297–304.

Cicilia, E., 2013, Formulasi Tablet Kunyah Atapulgit dengan Variasi Konsentrasi Bahan Pengikat Gelatin Menggunakan Metode Granulasi Basah, *Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura*.

Erasto, P. and Viljoen, A. M., 2008, Limonene - A review: Biosynthetic, ecological and pharmacological relevance, *Natural Product Communications*, 3(7):1193–1202.

Fadilah, A. A., 2021, Hubungan Stres Psikologis Terhadap Timbulnya Akne Vulgaris, *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 10(2):390–395.

Fajrin, J. and Pratama, L. G., 2016, Aplikasi Metode Analysis of Variance (ANOVA) untuk Mengkaji Pengaruh Penambahan Silica Fume, *Jurnal Rekayasa Sipil*, 12(1):11–23.

Ghasemi, A. and Zahediasl, S., 2012, Normality test for Statistical Analysis : A Guide for Non-Statisticians, *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 10(2):486–489.

Han, Y., Chen, W. and Sun, Z., 2021, Antimicrobial Activity and Mechanism of Limonene Against Staphylococcus aureus, *Journal of Food Safety*, 41(5):114.

Jefté, K. *et al.*, 2022, Terpenes as bacterial efflux pump inhibitors : A systematic review, *Frontiers in Pharmacology*, 1(10): 1–12.

Kirsten, N., Mohr, N. and Augustin, M., 2021, Prevalence and cutaneous comorbidity of acne vulgaris in the working population, *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 14:1393–1400.

Mandal, S. and Mandal, M., 2015, *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, Elsevier Inc, Philadelphia.

Mardhiani, Y. D. *et al.*, 2018, Formulasi dan Stabilitas Sediaan Serum dari Ekstrak Kopi Hijau (Coffea Canephora), *Indones Natural Research Pharmaceutical Jpurnal*, 2(2):19–33.

Martin, A. N. and Sinko, P. J., 2011, *Martin's Physical Pharmacy And Pharmaceutical Sciences*, Lippincott William and Wilkins, Philadelphia.

Martini, F. H., Tallitsch, R. B. and Nath, J. L., 2018, *Human Anatomy 9th Edition*, Preason Education, Inc, London.

Mayslich, C., Grange, P. A. and Dupin, N., 2021, Cutibacterium acnes as an Opportunistic Pathogen : An Update of Its Virulence-Associated Factors, *Mdpi Journal*, 9:1–21.

- McLaughlin, J. *et al.*, 2019, Propionibacterium acnes and acne vulgaris: New insights from the integration of population genetic, multi-omic, biochemical and host-microbe studies, *Mdpi Microorganisms*, 7(5):1-29.
- Michalun, V. and Dinardo, J., 2015, *MILADY Skin Care and Cosmetic Ingredients Dictionary*, Cengage Learning, Unites States.
- Miss. Purva S Rajdev *et al.*, 2022, Formulation and Evaluation of Face Serum, *International Journal of Advanced Research in Science, Communication and Technology*, 2(5):255–259.
- Montenegro, L. *et al.*, 2015, Effects of lipids and emulsifiers on the physicochemical and sensory properties of cosmetic emulsions containing vitamin E, *Journal Cosmetics*, 2(1):35–47.
- Netter, F. H., 2014, *Atlas of Human Anatomy Seventh Edition*, Elsevier Inc, Philadelphia.
- Neves, J. R. *et al.*, 2015, Pripionibacterium acnes and bacterial resistance, *Surgical & Cosmetic Dermatology*, 26(6):781–793.
- Nibali, L. and Henderson, B., 2016, *The Human Microbiota and Chronic Disease*, John Wiley & Sons, Inc, Canada.
- Ollitrault, P., Curk, F. and Krueger, R., 2020, *The Genus Citrus*. Elsevier Inc, Philadelphia.
- Pranidya Tilarso, D., Maghfiroh, A. and Jihan Amira, K., 2022, Pengaruh Gelling Agent Pada Sediaan Serum Jerawat Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Hijau Dan Buah Belimbing Wuluh, *Jurnal Farmasi Indonesia*, 3(1):22–26.
- Ram, Y. *et al.*, 2019, Predicting microbial growth in a mixed culture from growth curve data', *Proceedings of National Acedemy of Sciences of the United States of America*, 116(29): 14698-14707.
- Saha, U. S. *et al.*, 2016), A cost-effective anaerobic culture method & its comparison with a standard method, *Indian Journal of Medical Research*, 144(10):611–613.
- Septiyanti, M., Liana, L. and Kumayanjati, B., 2019, Formulation and evaluation of serum from red , brown and green algae extract for anti- aging base material Formulation and Evaluation of Serum from Red , Brown and Green Algae Extract for Anti-aging Base Material, *Proceeding of the 5<sup>th</sup> International Symposium on Applied Chemistry*, 020078:1-12.
- Sheskey, P. J., Cook, W.G. and Cable, C. G., 2017, *Handbook of Pharmaceutical excipients 8th Edition*, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Washington DC.
- Sianturi, R., 2022, Uji homogenitas sebagai syarat pengujian analisis, *Jurnal Pendidikan, Sains, Sosial, dan Agama*, 8(1):386–397.
- Stoica, C. *et al.*, 2020, The Role of Skin Microbiome in The Pathogenesis of Acne Vulgaris, *DermatoVenerol*, 65(4):43–51.
- Sudarmono, P. P., 2016, Mikrobioma: Pemahaman Baru tentang Peran Mikroorganisme dalam Kehidupan Manusia, *eJournal Kedokteran Indonesia*, 4(2):71–75.
- Susanti, G., Asrul, M. and Tusnani, S., 2022, Pemanfaatan Ekstrak Daun Lerek sebagai Antibakteri terhadap Bakteri Penyebab Jerawat Propionibacterium Acnes, *Jurnal Ilmiah Pendidikan Kesehatan*, 7(2):94– 102.
- Tortora, G. J.; Derrickson, B., 2010, *Introduction to the Human Body: The Essentials of Anatomy and Physiology*, John Wiley & Sons, Inc, Canada.
- Zhang, F. and Cheng, W., 2022, The Mechanism of Bacterial Resistance and Potential Bacteriostatic Strategies, *Mdpi Antibiotics*, 11(1215):1-23.