

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai negara dengan iklim tropis yang terletak di garis katulistiwa, menerima sinar matahari setiap hari sepanjang tahun, menyebabkan kulit terus-menerus terpapar sinar matahari. Paparan sinar matahari yang berlebihan dapat menyebabkan kulit menjadi gelap dan menimbulkan kerusakan pada kulit. Selain itu, penyakit kulit juga dapat terjadi apabila kulit terus-menerus terpapar sinar matahari tanpa perlindungan.

Salah satu penyakit yang disebabkan oleh paparan sinar matahari yang berlebihan adalah kanker kulit. Kanker kulit terjadi karena adanya perubahan sifat-sifat sel kulit yang normal menjadi ganas. Sel-sel ini terus-menerus membelah diri menjadi bentuk yang abnormal secara tidak terkontrol akibat kerusakan pada DNA (Hendaria *et al.*, 2013).

Menurut WHO pada tahun 2020 diperkirakan 325.000 kasus baru kanker kulit didiagnosis diseluruh dunia dan 57.000 orang meninggal karena penyakit tersebut. Di Indonesia, kanker kulit menempati urutan ketiga setelah kasus kanker leher rahim dan kanker payudara. Insiden kanker kulit dijumpai sekitar 5,9 hingga 7,8% dari semua jenis kanker per tahun. Jenis kanker kulit yang paling umum di Indonesia adalah karsinoma sel basal (65,5%), diikuti oleh karsinoma sel skuamosa (23%), melanoma maligna (7,9%), dan jenis kanker kulit lainnya (Saputro *et al.*, 2022).

Masalah kesehatan ini secara langsung berkaitan dengan *Reactive Oxygen Species* (ROS) akibat dari stress oksidatif dan sinar UV. Stress oksidatif pada sel dapat merusak makromolekul hingga menyebabkan penyakit degeneratif seperti diabetes, dan kanker (Wibawa, 2021).

Hal tersebut dapat diatasi dengan antioksidan, yang dimana mekanisme antioksidan adalah menangkal radikal bebas dan bisa memberi perlindungan endogen serta tekanan oksidatif eksogen dengan menangkap radikal bebas (Haerani *et al.*, 2018). Antioksidan bisa didapat dari berbagai sumber, salah satunya didapat secara alami.

Secara alami antioksidan dapat diperoleh dari tanaman yang mengandung karotenoid dan flavonoid. Ada banyak tanaman yang mengandung antioksidan salah satunya adalah tanaman kakao. Tanaman kakao mengandung polifenol dan flavonoid. Flavonoid adalah salah satu jenis antioksidan, dan merupakan salah satu jenis antioksidan yang banyak terkandung dalam kakao. Kakao yang kaya antioksidan, sehingga diformulasikan menjadi suatu sediaan. Antioksidan banyak diformulasikan dan dibuat menjadi sediaan oral yaitu vitamin dan sediaan topikal sebagai produk perawatan kulit (Haerani *et al.*, 2018).

Perlindungan kulit dari kerusakan dan penuaan dapat dicapai dengan menggunakan sediaan topikal berupa krim antioksidan (Khumaidi, 2015). Produk perawatan kulit yang umumnya tersedia di pasaran sering berbentuk krim. Krim adalah sediaan setengah padat yang mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai (Depkes RI, 2020). Krim memiliki beberapa kelebihan, di antaranya adalah kemudahan aplikasi pada kulit, tidak lengket, mudah diserap oleh kulit, dan dapat dicuci dengan mudah menggunakan air (Budianor *et al.*, 2022).

Kakao mengandung kadar flavonoid tinggi di mana flavonoid berkontribusi pada efek antioksidan, peningkatan imun, dan antikanker (Chusniasih & Tutik, 2020). Biji kakao juga kaya akan polifenol, sekitar 12-18% dari berat kering keseluruhan biji. *Cathecin* dan *epicatechin*, antosianin, dan prosianidin adalah kelompok polifenol utama dalam kakao (Hafidhah *et al.*, 2017). Untuk mendapatkan senyawa tersebut diperlukannya proses ekstraksi yaitu pemisahan senyawa aktif dengan inertnya.

Metode ekstraksi maserasi merupakan ekstraksi konvensional yang dapat digunakan untuk pemisahan senyawa *non volatile* dan *volatile*. Salah satu faktor penentu dalam ekstraksi adalah jenis pelarut yang digunakan. Penelitian oleh Wibawa (2021), menunjukkan bahwa ekstrak metanol biji kakao mengandung total antioksidan sebesar 42,454 $\mu\text{g/mL}$. Sementara itu, ekstraksi antioksidan terbaik menggunakan etanol 96% menunjukkan hasil antioksidan dan total fenol tertinggi dibandingkan dengan pelarut etanol 70% dan metanol. Hasil kadar flavonoid yang didapatkan untuk ekstrak etanol 70% adalah 6,79 mg QE/g Ekstrak dan untuk ekstrak metanol adalah 9,25 mg QE/g Ekstrak (Putri *et al.*, 2023)

Biji kakao memiliki kandungan antioksidan yang tinggi dan berpotensi memiliki efikasi yang tinggi jika diolah menjadi sediaan krim. Sifat fisik dan stabilitas sediaan krim akan menentukan keefektifan sediaan saat diaplikasikan ke kulit. Penelitian oleh (Zulfa *et al.*, 2018) menunjukkan bahwa adanya variasi konsentrasi ekstrak dapat mempengaruhi viskositas, daya lekat, daya sebar dan efikasi dari sediaan krim. Untuk menilai aktivitas antioksidan pada krim dapat digunakan metode radikal bebas DPPH. Metode DPPH adalah suatu pendekatan yang digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan dalam sampel dengan mengukur parameter konsentrasi yang memberikan efek sebesar 50% (IC_{50}) (Amin *et al.*, 2022).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk membuat formulasi krim antioksidan dengan menggunakan ekstrak etanol 96% dari biji kakao (*Theobroma cacao* L.). Variasi konsentrasi ekstrak akan digunakan sebagai variabel bebas untuk mengetahui pengaruhnya terhadap mutu fisik krim dan efikasi antioksidan sediaan, yang akan diukur menggunakan metode uji DPPH.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, dapat dirumuskan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimanakah pengaruh variasi penambahan ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap mutu fisik krim?

2. Bagaimana pengaruh perbedaan variasi penambahan ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao* L.) pada formulasi krim terhadap aktivitas antioksidan?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh variasi penambahan ekstrak etanol biji buah kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap mutu fisik krim.
2. Mengetahui pengaruh variasi penambahan ekstrak etanol biji buah kakao (*Theobroma cacao* L.) pada formulasi krim terhadap aktivitas antioksidan.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pemahaman yang lebih mendalam tentang sifat antioksidan yang didapatkan dari ekstrak biji kakao serta interaksinya dengan formulasi krim sehingga dapat membantu dalam pengembangan teori dan konsep seputar penggunaan bahan alami serta formulasi dalam produk perawatan kulit.

1.4.2 Manfaat praktis

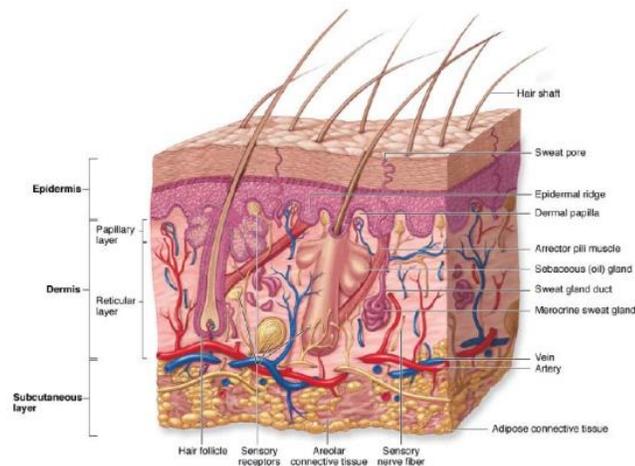
Diharapkan hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai panduan dalam formulasi pembuatan krim antioksidan berbahan biji bubuk kakao yang memiliki fisik mutu yang baik dan memiliki efikasi yang tinggi. Serta pemilihan bahan, proses pembuatan dan penentuan rasio formulasi yang tepat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit

Kulit adalah organ terluar tubuh manusia yang melapisi seluruh permukaan tubuh. Berat kulit diperkirakan mencapai sekitar 7% dari berat tubuh total seseorang. Pada permukaan kulit, terdapat pori-pori yang berfungsi sebagai tempat keluarnya keringat. Kulit memiliki berbagai fungsi penting, termasuk sebagai pelindung tubuh dari berbagai potensi bahaya, alat indra peraba, serta sebagai pengatur suhu tubuh. Struktur kulit terdiri dari beberapa lapisan utama, yaitu epidermis, dermis, dan hipodermis (Adhisa & Megasari, 2020).



Sumber: Kalangi (2014)

Gambar 2. 1 Jaringan Kulit.

2.1.1 Epidermis

Lapisan epidermis kulit merupakan bagian terluar dari struktur kulit manusia yang terdiri dari beberapa lapisan sel yang berbeda. Lapisan-lapisan utama dalam

epidermis mencakup 1) *Stratum corneum*, 2) *Stratum lucidum*, 3) *Stratum granulosum*, 4) *Stratum spinosum*, dan 5) *Stratum basale (germinativum)*.

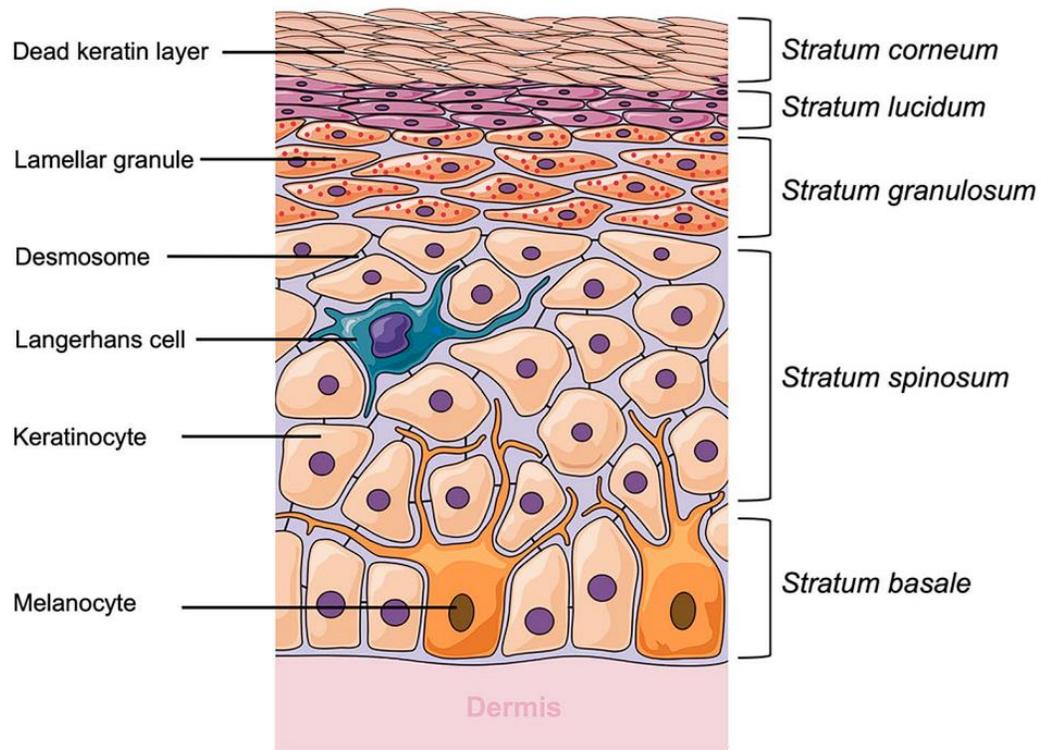
Stratum corneum (SC) adalah lapisan terluar dari epidermis, dengan ketebalan 10-20 μm , terdiri dari 15-30 lapisan sel korneosit dan berfungsi sebagai penghalang fisik utama yang melindungi kulit dari faktor-faktor eksternal seperti dehidrasi, infeksi, dan kerusakan mekanis. Lapisan ini terdiri dari sel-sel mati yang disebut korneosit atau keratinosit yang telah kehilangan inti dan organel seluler lainnya selama proses korneifikasi. Lapisan SC mengalami regenerasi setiap 4 minggu. SC tersusun atas protein keratin yang berasal dari sel-sel keratinosit mati di lapisan yang lebih dalam, dalam proses yang disebut korneifikasi, sehingga juga dikenal sebagai 'lapisan tanduk'. Selain itu, SC juga mengandung lipid seperti *ceramide* (30–40%), kolesterol, ester kolesterol, asam lemak bebas, skualen, ester lilin, dan trigliserida (Eckhart *et al.*, 2013).

Stratum lucidum terdiri dari 2–3 lapisan sel keratinosit dan hanya terdapat pada jari, telapak tangan, dan telapak kaki. Corneosit mati dari SC dibawa dari lapisan ini. *Stratum granulosum* adalah lapisan di mana sel-sel epidermis mengalami pematangan dan menghasilkan protein seperti keratin. Granulosum berasal dari granula dalam sel-sel hidup yang terbentuk oleh akumulasi keratohyalin, struktur protein yang ditemukan dalam granula (Yousef *et al.*, 2022).

Stratum spinosum, lapisan epidermis di bawah *stratum granulosum*, terdiri dari 8–10 lapisan keratinosit. Terdapat desmosom (sel penghubung) antara sel-sel, sehingga lapisan ini disebut sebagai 'lapisan berduri' (*stratum spinosum*). Sel Langerhans, sel antigen yang bertanggung jawab untuk menelan bakteri atau partikel eksogen dan sel-sel yang rusak melalui fagositosis, juga ditemukan di lapisan ini (Yousef *et al.*, 2022).

Lapisan terdalam epidermis adalah *stratum basale* yang langsung berhubungan dengan dermis melalui serat kolagen yang berinterkoneksi. Di *stratum basale*, sel-sel beregenerasi dan menjadi sel primer untuk keratinosit yang terdapat di lapisan epidermis atas. Sel Merkel, sel fungsional dari sistem sensorik, dan melanosit juga

ditemukan di lapisan ini. Lapisan-lapisan tersebut membentuk epidermis, yang berfungsi sebagai penghalang fisik terhadap lingkungan serta memberikan perlindungan dan regenerasi sel-sel kulit. (Kalangi, 2014; Ramadan *et al.*, 2022).



Sumber: Ramadan *et al.*, (2022)

Gambar 2. 2 Lapisan Epidermis Kulit.

2.1.2 Dermis

Lapisan kedua dari sistem integumen adalah dermis. Derma terdiri dari dua lapisan, yang disebut lapisan papiler dan lapisan retikular. Lapisan papiler dermis terdiri dari adiposit, pembuluh darah, dan kapiler limfatik. Ini berperan dalam penyediaan nutrisi ke lapisan kulit yang lebih dalam. Lapisan retikular jauh lebih padat daripada lapisan papiler karena mengandung serat kolagen yang tinggi, yang memberikan kulit elastisitas yang diperlukan untuk bergerak dengan leluasa.

Selain sebagai penyokong struktural, dermis juga berfungsi sebagai komponen sistem kekebalan tubuh, karena terdapat fagosit, fibroblas, leukosit, dan sel mast di dalamnya. Dermis juga berperan sebagai tempat berbagai struktur kulit lainnya, termasuk folikel rambut, kelenjar sebacea, dan kelenjar keringat, yang berperan dalam mekanisme sekresi keringat dan sebum. (Salazar *et al.*, 2023).

2.1.3 Hipodermis

Di bawah dermis terdapat lapisan kulit terdalam yang disebut hipodermis. Hipodermis, juga dikenal sebagai lapisan subkutan atau fascia superfisial, berfungsi sebagai jaringan penghubung antara kulit, otot, dan tulang. Karena fungsinya sebagai jaringan penghubung, hipodermis kaya akan proteoglikan dan glikosaminoglikan. Selain itu, kelimpahan jaringan adiposa di hipodermis menyediakan isolasi termal untuk menjaga tubuh tetap hangat (Adhisa & Megasari, 2020).

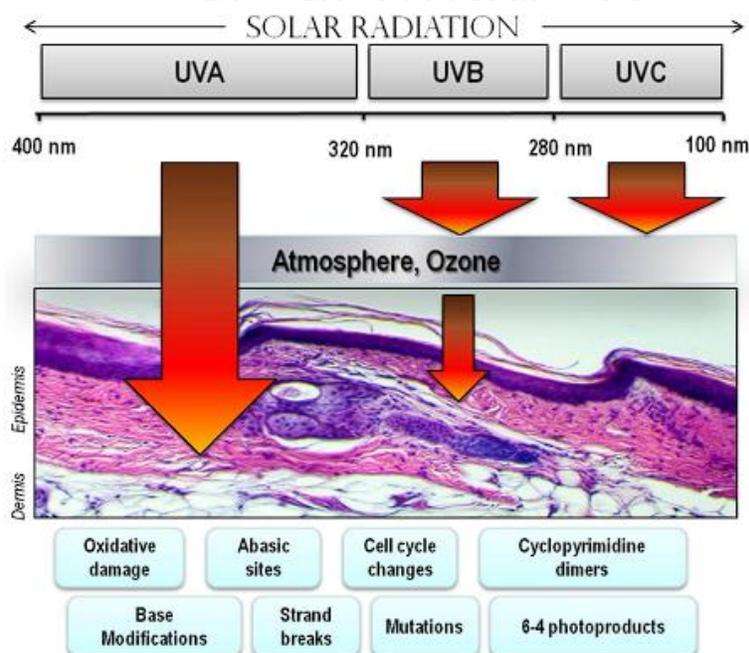
2.2 Stress Oksidatif pada Kulit

Kulit adalah organ barier antara tubuh manusia dan lingkungan. Berbagai faktor lingkungan seperti sinar ultraviolet (UV) matahari, cahaya tampak, polusi lingkungan, termasuk ozon dan partikel, dapat meningkatkan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) di kulit. Selain itu, stres psikologis kronis juga dapat menimbulkan stres oksidatif di kulit dengan menurunkan mekanisme pertahanan antioksidan. Stres oksidatif dan kerusakan oksidatif yang dihasilkannya dapat menyebabkan hiperpigmentasi dan penuaan kulit, menimbulkan perubahan pada keseragaman warna kulit, munculnya kerutan, kulit kehilangan elastisitas, kering, dan kasar (Chen *et al.*, 2021)

Reactive Oxygen Spesies (ROS), sering disebut sebagai radikal bebas atau oksidan, termasuk RNS, spesies sulfur reaktif, dan spesies karbon reaktif. ROS dan RNS, seperti radikal anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil ($\bullet OH$), oksigen singlet ($1 O_2$), hidrogen peroksida (H_2O_2), oksida nitrat (NO) dan peroksnitrit ($ONOO^-$), berbahaya bagi kulit. Spesies oksigen reaktif di kulit juga dapat diinduksi

secara ekstrinsik oleh UVA, UVB, cahaya tampak, spektrum inframerah, polutan, dan stres psikologis. Sinar UV adalah pemicu utama pembentukan ROS di kulit. Spektrum aksi untuk pembentukan ROS didominasi oleh kisaran UVA (320–400 nm), dan beberapa spektra tumpang tindih dengan kisaran UVB. Tingkat H₂O₂ dan •OH yang dapat diukur telah diamati dalam waktu 15 menit setelah paparan UV, dan terus meningkat hingga 60 menit (Chen *et al.*, 2021).

Paparan sinar ultraviolet (UV) dari matahari dapat menyebabkan berbagai masalah kulit, termasuk kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Paparan sinar UV merupakan faktor risiko utama untuk kanker kulit, termasuk karsinoma sel basal, karsinoma sel skuamosa, dan melanoma. Radikal bebas yang dihasilkan oleh sinar UV dapat merusak DNA dalam sel-sel kulit, meningkatkan risiko mutasi genetik yang dapat mengarah pada perkembangan kanker kulit (D'Orazio *et al.*, 2013).



Sumber: D'Orazio *et al.*, (2013)

Gambar 2. 3 Efek Radiasi UV terhadap Kulit

2.3 Kanker Kulit

Kanker kulit yang dipengaruhi oleh faktor lingkungan paparan UV, memiliki prevalensi yang tinggi seiring bertambahnya usia, menunjukkan periode laten yang panjang antara paparan karsinogen (Sinar UV) dan perkembangan kanker. Kanker kulit umumnya dikategorikan menjadi dua jenis utama: melanoma dan kanker kulit non-melanoma (NMSC), dibedakan berdasarkan sel asal dan karakteristik klinisnya. Risiko terkena kanker kulit sangat dipengaruhi oleh paparan UV dan tingkat pigmen kulit individu.

Radiasi UV memicu kerusakan seluler yang dapat menyebabkan kanker kulit. Sel pigmen berperan sebagai protektan terhadap radiasi sinar UV. Tingkat pigmen kulit yang bervariasi memengaruhi seberapa efektif kulit dapat melindungi diri dari bahaya yang diinduksi UV. Individu dengan warna kulit yang lebih terang atau paparan sinar matahari yang meningkat memiliki risiko lebih tinggi untuk terkena kanker kulit dibandingkan dengan individu yang memiliki warna kulit yang lebih gelap atau paparan sinar matahari yang lebih sedikit. Kanker kulit dapat berasal dari sel keratinosit dan sel melanosit, dikenal sebagai karsinoma keratinosit dan melanoma kutaneus. Kanker kulit dapat dikelompokkan berdasarkan jenisnya, meliputi *Basall Cell Carnicoma*, *Squamos Cell Carnicoma*, dan *Cutaneomus Malignant Melanoma* (D’Orazio *et al.*, 2013; Yahya *et al.*, 2021).

2.3.1 *Basall cell carnicoma*

Basal Cell Carcinoma (BCC) atau Karsinoma Sel Basal adalah jenis kanker kulit berasal dari sel-sel basal yang terletak di lapisan terdalam dari epidermis, yaitu lapisan terluar kulit. BCC sering muncul sebagai lesi kecil, bercahaya, dan berwarna merah muda atau kemerahan yang dapat menyerupai luka yang tidak sembuh atau bintik-bintik yang terkelupas. BCC (*Basal Cell Carcinoma*) ditandai dengan munculnya benjolan transparan di daerah wajah. Meskipun jarang bermetastasis, jenis kanker ini memiliki potensi untuk menjadi ganas karena dapat merusak dan menghancurkan jaringan sekitarnya. BCC jarang menyebabkan kematian, dan sering

kali dapat diobati dengan relatif mudah melalui prosedur pembedahan dan radiasi (Yahya *et al.*, 2021).

2.3.2 Squamos cell carnicoma

SCC adalah jenis kanker kulit yang berasal dari sel skuamosa, yaitu sel-sel yang terletak di lapisan tengah epidermis, atau lapisan luar kulit. Karsinoma Sel Skuamosa sering muncul sebagai lesi yang terlihat seperti luka terbuka, kulit yang bersisik, atau benjolan yang terasa kasar yang dengan terus berkembang lebih cepat dibandingkan sel basal (Yahya *et al.*, 2021).

2.3.3 Cutaneomus malignant melanoma

CMM (*Cutaneous Malignant Melanoma*) merupakan jenis tumor ganas yang berkembang dari sel melanosit pada lapisan epidermis. Dalam jenis kanker kulit CMM, terdapat empat subjenis utama, yaitu:

1. *Superficial Spreading Melanoma* (SSM)
2. *Nodular Melanoma* (NM)
3. *Lentigo Malignant Melanoma*
4. *Acral Lentiginous Melanoma* (ALM)

Sumber: Tasminatun et al., (2016).

2.4 Antioksidan

Antioksidan merupakan bioaktif yang memiliki kemampuan untuk menurunkan kadar radikal bebas dengan proses transfer elektron. Radikal bebas dapat disebabkan oleh beberapa faktor, seperti polusi lingkungan, kondisi stress dalam tubuh, hingga paparan sinar matahari yang berlebih. Senyawa antioksidan bekerja dengan mendonorkan satu elektron kepada senyawa radikal bebas yang tidak stabil, sehingga radikal bebas tersebut stabil dan tidak mengambil elektron lain dari senyawa maupun sel dalam tubuh (Rahmi, 2017).

Antioksidan juga dapat memodulasi kerja enzim redox. Antioksidan dapat memengaruhi aktivitas enzim redoks dalam sel. Beberapa antioksidan bekerja sebagai kofaktor enzim atau mengatur ekspresi gen yang terlibat dalam jalur sinyal redoks, sehingga membantu mengontrol keseimbangan antara reaksi oksidasi dan reduksi dalam sel. Antioksidan juga dapat melindungi lipid membran sel dari oksidasi, dengan menghambat peroksidasi lipid yang disebabkan oleh radikal bebas, yang dapat menyebabkan kerusakan membran dan disfungsi seluler. Antioksidan juga dapat mencegah perubahan struktural pada DNA yang disebabkan oleh radikal bebas, sehingga mengurangi risiko mutasi genetik dan kanker (Hunyadi, 2019).

Terdapat dua jenis antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan. Antioksidan alami diperoleh dari tanaman, terutama tanaman yang berwarna cerah memiliki nilai antioksidan yang lebih tinggi. Sementara itu antioksidan buatan dihasilkan dari sintesis suatu senyawa kimia yang dimana dalam penggunaan jangka Panjang akan berakibat tidak baik bagi Kesehatan tubuh. Kelompok senyawa antioksidan meliputi kelompok curcuminoids, resveratrol, cinnamic acids, lignans, dan flavonoids (Hunyadi, 2019; Rahmi, 2017).

2.5 Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.)

Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) atau yang lebih akrab disapa dengan tanaman coklat merupakan salah satu tanaman yang tumbuh subur di Indonesia yang terletak diantara garis katulistiwa. Perkembangan tumbuhan ini terus berkembang setiap tahun di Indonesia. Kakao kerap kali dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan hasil olahan dari tanaman ini juga sangat diminati diberbagai kalangan diseluruh dunia. Tingginya konsumsi kakao juga didorong oleh manfaat kesehatan yang tinggi. Salah satunya adalah kemampuannya untuk mengurangi risiko penyakit jantung. Cokelat, terutama cokelat hitam, kaya akan flavonoid, senyawa antioksidan yang dapat membantu mengurangi risiko penyakit jantung dengan meminimalkan kerusakan sel dan peradangan dalam pembuluh darah. Kakao pun sudah sejak lama diketahui

bermanfaat untuk menurunkan tingkat stress pada seseorang (Farhanandi & Indah, 2022).

Tanaman kakao termasuk ke dalam kelompok tanaman *axillary flower* yang dimana bunga dari kakao tumbuh di bagian bekas ketiak daun pada cabang dan batang tanaman dan tanaman ini tergolong tanaman tahunan. Tanaman ini memerlukan kondisi tanah yang gembur dengan sistem drainase yang baik. Adapun klasifikasi tanaman kakao berdasarkan ilmu taksonomi, klasifikasi tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) adalah sebagai berikut:



Sumber: dokumentasi pribadi

Gambar 2. 4 Biji Kakao.

2.6 Morfologi Tanaman Kakao

Tanaman Kakao (*Theobroma cacao* L.) atau yang lebih dikenal dengan tanaman coklat merupakan tanaman jenis perkebunan dengan family *Sterculiaceae*. Tanaman kakao merupakan tanaman yang bersalah dari amerika utara, akan tetapi pada masa ini

tanaman kakao telah banyak di budidayakan diberbagai negara (Farhanandi & Indah, 2022).

Tanaman kakao dapat tumbuh hingga ketinggian 4-15 m, memiliki bentuk daun yang bulat memanjang dengan ujung yang runcing serta memiliki susunan tulang daun yang menyirip. Bunga dari tanaman kakao bersifat *axillary flower* yang dimana bunga tumbuh dari ketiak daun pada batang dan cabang. Bunga dari kakao memiliki warna yang beragam yaitu putih, ungu atau kemerahan. Akar kakao termasuk dalam akar tunggang, pertumbuhan akarnya bisa mencapai 8m ke arah samping dan 15 m ke arah bawah (Ayu Juliasih et al., 2023).

Tanaman kakao yang diperbanyak secara vegetatif pada awal pertumbuhannya tidak menumbuhkan akar tunggang, melainkan akar-akar serabut yang banyak jumlahnya (Juliasih, Arsana, & Adi, 2023). Dalam satu buah kakao terdapat 20-50 biji kakao yang tersusun dalam lima baris yang menyatu pada bagian poros buah. Biji kakao terbungkus oleh daging buahnya yang bernama pulp, yang berwarna putih dan memiliki rasa yang cenderung manis dan asam (Hidayat et al., 2022).

2.7 Kandungan Kimia Tanaman Kakao

Tanaman kakao memiliki kandungan senyawa kimia yang sangat beragam, Dalam kulit kakao adalah senyawa polifenol dan flavonoid, dimana kedua senyawa ini memiliki aktivitas antioksidan. Biji kakao sendiri mengandung senyawa flavonoid seperti *catechin*, *epicatechin*, *leucocyanidin*, *proanthocyanidin*, dan *anthocyanin*. Selain biji dan kulit kakao daun kakao juga mengandung senyawa metabolit skunder seperti flavonoid, tanin, *theobromine*, kafein, *anthocyanin*, dan catecholcau. Senyawa metabolit skunder yang terkandung dalam daun kakao tersebut dapat digunakan sebagai antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Jusmiati, A et al., 2015; Wibawa, 2021).

2.8 Krim

Krim adalah bentuk sediaan setengah padat yang mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai (Depkes RI, 2020). Krim merupakan sediaan yang telah banyak beredar dipasaran, krim memiliki banyak fungsi dalam kehidupan manusia tergantung dari jenis apa yang digunakan, salah satunya adalah krim berfungsi sebagai sunscreen dan *calming* pada kulit, atau bisa juga mendapatkan manfaat dari keduanya tergantung dari formulasi apa yang digunakan pada krim. Dalam sistem dispersi sediaan krim, terdapat dua macam tipe utama: fase air yang terdispersi dalam minyak (A/M) dan fase minyak yang terdispersi dalam air (M/A).

2.8.1 Krim tipe air dalam minyak

Krim tipe air dalam minyak atau A/M (*Cold Cream*) merupakan krim dengan fase luarnya minyak, tidak mudah dicuci dengan air serta tidak mudah mengering. *Cold cream* ideal digunakan untuk merawat kulit kering di lutut, kaki, dan siku, serta sebagai pembersih riasan alami dan mencegah eksim di area tubuh yang kering. Nama krim ini berasal dari sensasi dingin yang dirasakan saat menyentuh kulit. *Cold cream* digunakan untuk melembutkan kulit, menenangkan luka bakar matahari, dan melindungi wajah dari cuaca dingin, dan lain sebagainya.

Kombinasi air dalam minyak membantu menghidrasi kulit. Contoh *cold cream* adalah krim malam atau krim pijat, yang mengandung lanolin dan derivatifnya. Istilah *cold cream* merujuk pada *numbing effect* yang ditinggalkan krim pada kulit. Emulsi air dalam minyak biasanya digunakan untuk membuat *cold cream*. Sebagian besar air dalam krim menguap setelah dioleskan ke kulit, meninggalkan minyak sisa untuk berfungsi sebagai pelarut, membersihkan kulit dari riasan dan kotoran lainnya. Selain itu, terdapat aktivitas surfaktan. *Cold cream* perlu disimpan di lingkungan yang sejuk untuk mencegah kerusakan rancid sebelum penggunaan minyak mineral atau petrolatum. Formulasi *cold cream* umumnya menggunakan beewax, dan berbagai aroma seperti air mawar dan/atau minyak mawar (Yadav *et al.*, 2023).

2.8.2 Krim tipe minyak dalam air

Krim tipe minyak dalam air atau M/A memiliki kadar air yang tinggi sehingga dapat memberikan efek hidrasi yang meningkatkan penetrasi zat aktif. Fase luar krim adalah air, sehingga krim mudah dicuci dengan air dan tidak meninggalkan noda pada pakaian. Krim jenis ini disebut juga sebagai *vanishing cream* atau krim yang cepat meresap. *Vanishing cream* adalah krim yang ringan dan cepat menyerap yang digunakan untuk melembutkan dan melembabkan kulit tanpa meninggalkan lapisan minyak yang terlalu berat. Krim ini sering digunakan sebagai dasar riasan atau sebagai pelembab harian karena kemampuannya untuk meresap dengan cepat ke dalam kulit dan memberikan hasil yang ringan serta tidak berminyak (Nofriyanti & Wildani, 2019; Yadav *et al.*, 2023).

2.9 DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*)

DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) adalah sebuah senyawa yang digunakan dalam penelitian untuk mengukur aktivitas antioksidan dari berbagai senyawa. Mekanisme tindakan antioksidan terhadap DPPH melibatkan reaksi penangkapan radikal bebas suatu senyawa terhadap DPPH. Proses ini terjadi karena DPPH merupakan radikal bebas yang memiliki satu elektron yang tidak berpasangan, sehingga bersifat sangat reaktif. Ketika suatu senyawa atau bahan antioksidan ditambahkan ke dalam larutan DPPH, senyawa tersebut dapat menyalurkan satu elektron untuk menetralkan radikal bebas ini. Sebagai hasilnya, DPPH akan kehilangan warna ungunya karena elektron yang hilang, dan senyawa atau bahan antioksidan akan mengalami perubahan warna atau tidak berwarna (Gulcin & Alwasel, 2023).

Pengujian antioksidan menggunakan DPPH disebut sebagai metode uji DPPH. Uji DPPH adalah metode untuk menentukan aktivitas antioksidan dalam sampel dengan melihat kemampuannya dalam menangkalkan radikal bebas *senyawa 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (Amin *et al.*, 2022). Nilai absorbansi DPPH berkisar antara 515-520 nm (Marxen *et al.*, 2007). Penelitian oleh Wibawa (2021), menunjukkan bahwa uji DPPH pada ekstrak metanol biji kakao mengandung total antioksidan sebesar 42,454

mg/mL GAEAC (*Gallic Acid Equivalent per milliliter of the extract*; total kapasitas antioksidan dalam nilai ekuivalen standard asam galat). Pada bagian kulit buah kakao segar mengandung antioksidan sebesar 0,008 mg/mL (Jusmiati, A *et al.*, 2015) dan sebesar 15,46 mg/mL untuk ekstrak etanol kulit buah kakao (Ulfa *et al.*, 2019). Sehingga kandungan antioksidan tertinggi dimiliki oleh biji kakao.

2.10 Inhibition Concentration 50% (IC₅₀)

Nilai IC₅₀ atau konsentrasi Inhibisi 50% adalah konsentrasi dari suatu senyawa yang diperlukan untuk mengurangi aktivitas biologis atau reaksi kimia tertentu sebesar 50%. Pada pengujian DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) IC₅₀ DPPH adalah konsentrasi dari suatu senyawa atau bahan yang diperlukan untuk mengurangi aktivitas antioksidan radikal bebas DPPH sebesar 50% (Amin *et al.*, 2016).

DPPH adalah radikal bebas yang sering digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan senyawa-senyawa kimia. Ketika senyawa antioksidan ditambahkan ke larutan DPPH, akan bereaksi dengan radikal bebas, mengubah warna larutan dari ungu ke kuning pucat atau tidak berwarna, tergantung pada efisiensi penghentian radikal. Konsentrasi dari senyawa tersebut yang diperlukan untuk menghasilkan perubahan warna sebesar 50% dari kontrol merupakan nilai IC₅₀ DPPH. Semakin rendah nilai IC₅₀, semakin kuat aktivitas antioksidan senyawa tersebut (Widyasanti *et al.*, 2016).

2.11 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu bahan padat atau cair dari padatan lainnya, seperti tanaman obat, baik secara kimia maupun fisika. Salah satu metode ekstraksi yang umum digunakan adalah metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan cara menempatkan serbuk tanaman dan pelarut yang cocok ke dalam wadah inert yang ditutup rapat pada suhu kamar. Dalam proses ini, pelarut akan meresap ke dalam serbuk tanaman dan mengekstraksi senyawa-senyawa yang diinginkan dari bahan tersebut. Metode maserasi umumnya digunakan untuk mendapatkan ekstrak tanaman dengan

komponen-komponen yang larut dalam pelarut tertentu (Nurhabiba dan Wulan, 2020). Ada banyak jenis metode ekstraksi, salah satunya adalah maserasi.

Metode maserasi merupakan metode sederhana yang paling umum digunakan dalam ekstraksi tanaman. Metode ini dapat digunakan baik pada skala kecil maupun skala industri. Proses maserasi dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang ditutup rapat pada suhu kamar. Ekstraksi berlangsung hingga tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel menggunakan penyaringan. Metode ini efektif dalam mengekstraksi senyawa-senyawa yang larut dalam pelarut tertentu dari tanaman. (Ibrahim *et al.*, 2016).

2.12 Spektrofotometri Uv-vis

Spektrofotometer merupakan instrumen penting dalam analisis kimia. Instrumen ini berfungsi untuk menguji sampel tertentu yang berorientasi pada pengukuran kualitatif dan kuantitatif

Spektrofotometer adalah instrumen analisis kimia yang digunakan untuk menguji sampel tertentu dengan tujuan pengukuran kualitatif dan kuantitatif (Yohan *et al.*, 2018). Salah satu metode spektrofotometri yang paling umum digunakan adalah spektrofotometri UV-Vis, yang memanfaatkan pengukuran serapan cahaya oleh senyawa dalam rentang sinar ultraviolet dan tampak (visible).

Sinar tampak memiliki panjang gelombang antara 400 - 800 nm, yang mencakup rentang warna biru, hijau, kuning, dan oranye. Ketika larutan menyerap sinar, hal ini mengikuti hukum Lambert-Beer, yang dinyatakan sebagai:

$$A = \log (I_0/I_t) = abc$$

Keterangan :

A = absorban

I_0 = intensitas sinar datang

a = absorptivitas

b = Panjang sel/kuvet

I_t = intensitas sinar yang diteruskan

c = konsentrasi

Prinsip kerja spektrofotometri UV-Vis didasarkan pada hukum *Lambert-Beer*. Ketika seberkas sinar dilewatkan melalui suatu larutan pada panjang gelombang tertentu, sebagian sinar tersebut diteruskan (transmisi) dan sebagian diserap oleh larutan. Besarnya absorbansi larutan pada panjang gelombang tersebut berbanding lurus dengan konsentrasi zat penyerap dan jarak yang ditempuh sinar dalam larutan yang sering disebut sebagai ketebalan larutan (Warono dan Syamsudin, 2013).

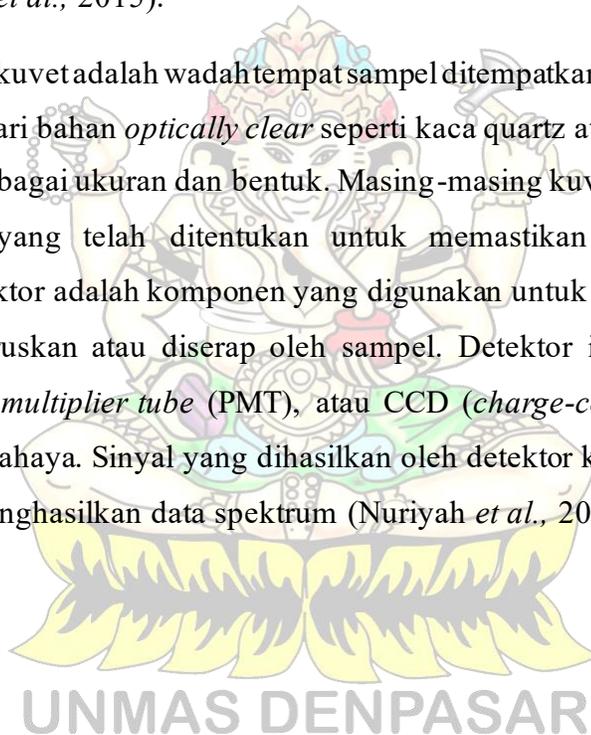
Spektrofotometri Uv-Vis memiliki 2 jenis tipe instrument, yaitu tipe *single-beam* dan tipe *double-beam*. Masing – masing spektrofotometri Uv-Vis mempunyai kelebihannya. Pada tipe *single-beam* dapat digunakan untuk mengukur gelombang Tunggal, sedangkan pada *double-beam* digunakan untuk mengukur gelombang yang lebih dari satu. *Single-beam* juga memiliki keuntungan lain yaitu harga yang terjangkau dan sederhana (Suhartati, 2017).

Double beam spectrophotometry atau spektrofotometri berkas ganda adalah teknik analisis spektrofotometri di mana cahaya dari sumber tunggal dibagi menjadi dua berkas, satu untuk sampel yang akan diukur dan yang lainnya untuk referensi. Setiap berkas kemudian melewati sampel dan referensi secara terpisah sebelum keduanya dibandingkan pada detektor. Perbedaan dalam absorbansi antara dua berkas memberikan informasi tentang konsentrasi atau sifat sampel. *Single beam spectrophotometry* atau spektrofotometri berkas tunggal adalah teknik analisis spektrofotometri yang menggunakan satu berkas cahaya yang melewati sampel secara langsung sebelum sampel diukur (Purbaningtias *et al.*, 2020).

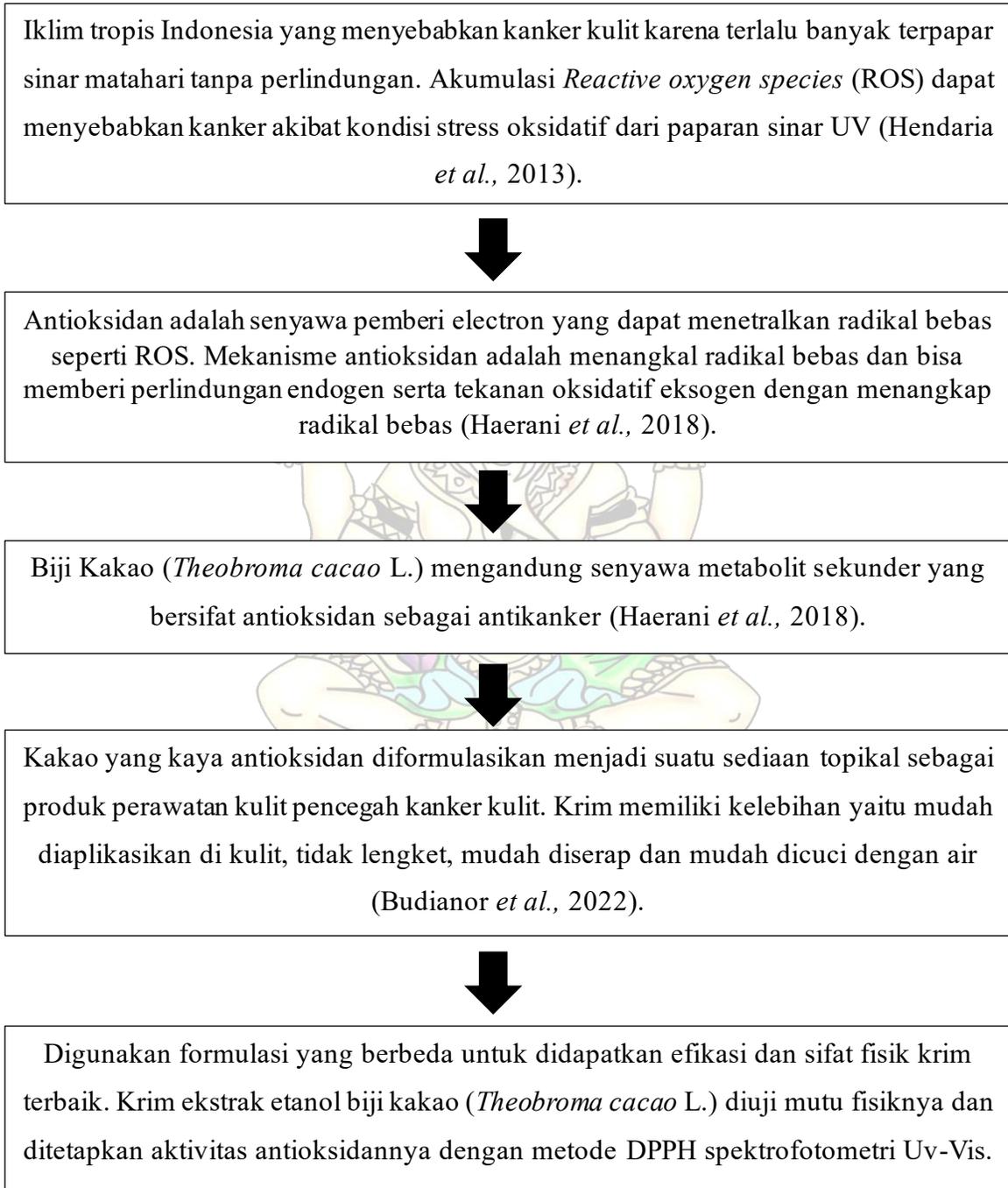
Spektrofotometer terdiri atas sumber cahaya, monokromator, kuvet dan detektor. Sumber cahaya merupakan komponen yang menghasilkan cahaya yang akan diarahkan ke sampel. Sumber cahaya ini bisa berupa lampu tungsten, lampu *deuterium*, atau

lampu *xenon*. Cahaya yang dihasilkan oleh sumber ini kemudian akan diproses dan disesuaikan oleh monokromator agar memiliki panjang gelombang yang sesuai untuk pengukuran. monokromator adalah untuk memisahkan cahaya yang dihasilkan oleh sumber cahaya menjadi komponen-komponen dengan panjang gelombang yang berbeda-beda. Ini memungkinkan kita untuk memilih panjang gelombang yang spesifik yang sesuai dengan kebutuhan pengukuran. Ada beberapa jenis monokromator, seperti prisma dan kisi difraksi, yang dapat digunakan tergantung pada aplikasi dan kebutuhan spesifik (Nuriyah *et al.*, 2015).

Kuvet atau sel kuvet adalah wadah tempat sampel ditempatkan untuk diukur. Kuvet biasanya terbuat dari bahan *optically clear* seperti kaca quartz atau kaca plastik, dan tersedia dalam berbagai ukuran dan bentuk. Masing-masing kuvet memiliki panjang lintasan cahaya yang telah ditentukan untuk memastikan konsistensi dalam pengukuran. Detektor adalah komponen yang digunakan untuk mengukur intensitas cahaya yang diteruskan atau diserap oleh sampel. Detektor ini mungkin berupa *photodiode*, *photomultiplier tube* (PMT), atau CCD (*charge-coupled device*) yang sensitif terhadap cahaya. Sinyal yang dihasilkan oleh detektor kemudian diolah dan direkam untuk menghasilkan data spektrum (Nuriyah *et al.*, 2015).

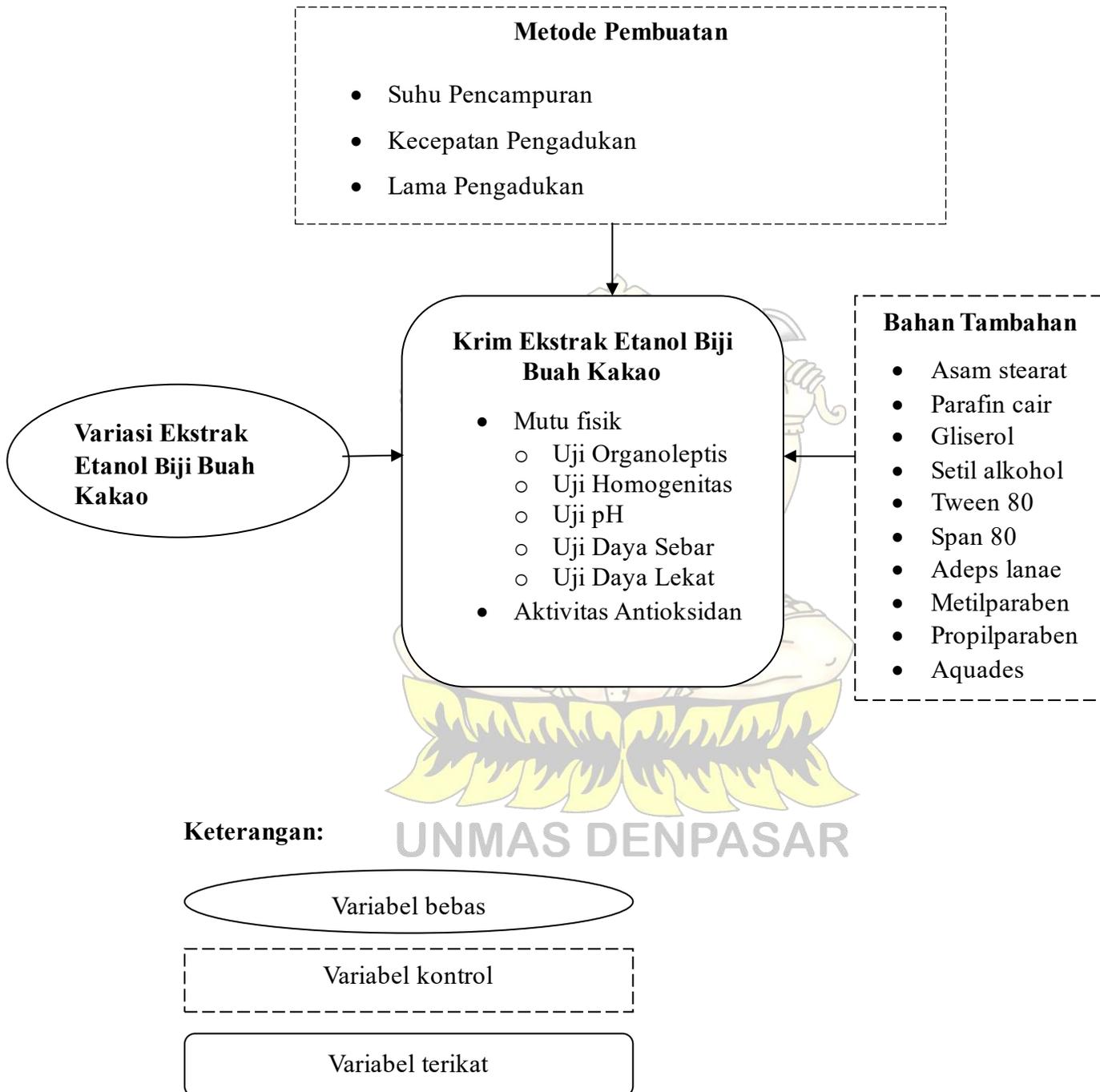


2.13 Kerangka Teori



Gambar 2. 5 Kerangka Teori.

2.14 Kerangka Konsep



Gambar 2. 6 Kerangka Konsep.

2.15 Hipotesis

1. Diduga variasi penambahan ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao* L.) mempengaruhi mutu fisik pada krim.
2. Diduga variasi penambahan ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao* L.) mempengaruhi aktivitas antioksidan pada krim.



UNMAS DENPASAR