

**OPTIMASI FORMULA LOSIO DENGAN KOMBINASI ZAT AKTIF VITAMIN
C DAN VITAMIN E SEBAGAI ANTIPENUAAN KULIT
SERTA UJI STABILITAS LOSIO**

**THE OPTIMIZATION OF LOTION FORMULA WITH ACTIVE SUBSTANCES
COMBINATION OF VITAMIN C AND VITAMIN E
AS ANTIAGING AND STABILITY TEST OF LOTION**

Kartini Nauli Silalahi, Andhi Fahrurroji, Indri Kusharyanti
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura,
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi 78124

ABSTRAK

Radikal bebas adalah salah satu faktor penyebab terjadinya penuaan dini. Radikal bebas dapat dihambat dengan antioksidan. Senyawa kimia yang memiliki aktivitas antioksidan dan bersifat non-karsinogenik adalah Vitamin C dan Vitamin E. Vitamin C membantu meregenerasi vitamin E dari bentuk teroksidasi, sehingga meningkatkan kapasitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui proporsi campuran zat aktif Vitamin C dan Vitamin E yang digunakan untuk menghasilkan sifat fisikokimia yang optimal menggunakan metode Desain Faktorial dengan perangkat lunak *Design Expert versi 9.0.3.1 trial*. Sifat fisikokimia yang dihasilkan oleh losio dengan variasi Vitamin C dan Vitamin E memiliki rentang daya lekat 14-48; pH 7,1-7,88; dan viskositas 9-46. Komposisi Vitamin C dan Vitamin E formula optimum hasil prediksi desain faktorial adalah 0,02% Vitamin C dan 1% Vitamin E. Losio formula optimum yang diuji memiliki daya lekat 39; pH 7,606; dan viskositas 46. Hasil uji beda menunjukkan bahwa sifat fisikokimia hasil percobaan tidak berbeda signifikan dengan hasil prediksi desain faktorial ($p > 0,05$). Hasil pengukuran secara spektrofotometri menunjukkan bahwa losio formula optimum memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} 3,378 ppm. Losio formula optimum mengalami oksidasi dengan terjadinya perubahan warna pada siklus ke-4 *cycling test* dan juga tidak stabil untuk penyimpanan selama setahun setelah diuji dengan *mechanical test*.

Kata kunci: Vitamin C, Vitamin E, Desain Faktorial, Antioksidan, Stabilitas

ABSTRACT

Free radicals are one of the factors that cause premature aging. Free radicals can be inhibited by antioxidants. Chemical compounds that have antioxidant activity and is non-carcinogenic are Vitamin C and Vitamin E. Vitamin C helps regenerate vitamin E from the oxidized form, thereby increasing the antioxidant capacity. This study aimed to determine the proportion of active ingredient mixture of Vitamin C and Vitamin E that are used to generate the optimal physicochemical properties using Factorial Design by *Design Expert software version 9.0.3.1 trial*. Lotion with variation of Vitamin C and Vitamin E had stickiness 14-48; pH 7,1-7,88; and viscosity 9-46. The composition of Vitamin C and Vitamin E that predicted by factorial design is 0,02% Vitamin C and 1% Vitamin E. This optimum formula had stickiness 39; pH 7,606; and viscosity 46. One sample t-test between the physicochemical properties resulted from the experiment and results predicted by factorial design showed no significant difference ($p > 0,05$). The results of spectrophotometric measurements showed that the optimum formula has a very strong antioxidant activity with the value of IC_{50} is 3,378 ppm. The optimum formula was oxidized with its color changed at the 4th cycle of cycling test and also unstable to storage for a year after tested with the mechanical test.

Keywords: Vitamin C, Vitamin E, Factorial Design, Antioxidants, Stability

PENDAHULUAN

Manusia tidak dapat terbebas dari senyawa radikal bebas dalam kehidupan sehari-hari. Asap rokok, makanan yang digoreng dan dibakar, paparan sinar matahari berlebih, obat-obat tertentu, racun dan polusi udara merupakan beberapa sumber pembentuk senyawa radikal bebas. Senyawa radikal bebas merupakan molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Elektron-elektron yang tidak berpasangan ini menyebabkan radikal bebas menjadi sangat reaktif terhadap sel-sel tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel^{1,2}.

Paparan sinar UV menyebabkan terbentuknya radikal bebas dari ROS (*Radical Oxygen Species*) yang merupakan molekul tidak stabil. ROS akan berikatan dengan komponen sel untuk menjadi stabil, sehingga akan merusak komponen sel seperti lemak, protein dan asam nukleat. Kerusakan komponen sel menyebabkan penuaan dini pada kulit yang ditandai dengan kulit kering, keriput dan kusam. Untuk mencegah hal tersebut diperlukan sediaan kosmetik yang mampu mencegah penuaan dini³.

Vitamin E 1% dan losio vitamin C 0,02% memiliki daya antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} masing-masing 8,27 $\mu\text{g/mL}$ dan 3,09 $\mu\text{g/mL}$. Vitamin C memfasilitasi pengurangan prekursor teroksidasi untuk vitamin E, inhibitor peroksida lemak (penyebab karsinogenesis) yang paling ampuh, sehingga vitamin C dan vitamin E bersifat non-karsinogenik^{4,5,6}. Kemudian kombinasi vitamin antioksidan muncul untuk menjadi sinergis. Pada tingkat molekuler, vitamin C membantu

meregenerasi vitamin E dari bentuk teroksidasi, sehingga meningkatkan kapasitas antioksidan⁷. Maka dari itu dipilih kombinasi antioksidan sintetik vitamin C dan vitamin E untuk dioptimalkan ke dalam bentuk sediaan losio. Sediaan ini dipilih karena memiliki konsistensi berbentuk cair yang memungkinkan pemakaian cepat dan merata pada permukaan kulit⁸.

Losio dibuat dalam berbagai konsentrasi untuk memperoleh konsentrasi optimum yang dapat bekerja sebagai antioksidan. Sediaan losio harus memiliki sifat fisikokimia yang baik sehingga dilakukan uji sifat fisikokimia dari losio kombinasi vitamin C dan vitamin E, dan juga dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan losio dengan metode peredaman DPPH, serta dianalisis dengan metode Desain Faktorial.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas (Pyrex), pipet *volume* (Pyrex), cawan penguap (Iwaki Pyrex), timbangan digital (Precisa tipe XB 4200C dan BEL tipe M254Ai), spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu tipe 2450), viskometer (*Brookfield viscometer* tipe VI-0325 HAT 200), pH meter (Horiba tipe B212), *oven* (Modena tipe BO 3633), termometer, *hot plate* (Schott tipe D-55122), alat vortex, *stopwatch*, wadah losio.

Bahan yang digunakan adalah vitamin (*ascorbic acid*) (DSM kode bahan No.0422460), vitamin E (*α-tocopherol*) (Sigma-Aldrich kode bahan No.258024), asam stearat teknis (Brataco, nomor batch: B130519-13),

TEA teknis, paraffin cair teknis (Brataco, nomor batch: J0977-13), setil alkohol (Brataco, nomor batch: 1012060401), gliserin, metil paraben teknis (Brataco, nomor batch: AF-411), aluminium foil, kertas saring, parfum, akuades teknis, kristal DPPH *p.a* (Sigma-Aldrich kode bahan No.SA D9132-IG) dan etanol *p.a* (Merck kode bahan No.1.06009.2500).

Penentuan Formula Losio

Penentuan formula dilakukan dengan metode Desain Faktorial menggunakan *software Design Expert versi 9.0.3.1.trial*. Taraf yang akan digunakan yaitu rentang konsentrasi vitamin yang digunakan yaitu vitamin C dan vitamin E diinput ke dalam perangkat lunak *Design Expert* untuk memperoleh rancangan formula. Dilakukan replikasi 3 kali.

Pembuatan Sediaan Losio Kombinasi Vitamin C dan Vitamin E

Pembuatan losio diawali dengan penimbangan bahan-bahan yang diperlukan. Sediaan losio yang dibuat

terdiri dari 4 formula dengan variasi konsentrasi vitamin C dan vitamin E. Formulasi losio dapat dilihat pada Tabel 1.

Bahan-bahan yang digunakan dipisah menjadi dua bagian, yaitu bahan yang larut fase minyak dan bahan yang larut fase air. Bahan-bahan yang larut minyak yaitu asam stearat, setil alkohol dan parafin cair dimasukkan ke dalam cawan penguap. Bahan-bahan yang larut air yaitu trietanolamin, gliserin, dan akuades. Fase minyak dan fase air dipanaskan dan diaduk pada suhu 70-75°C secara terpisah hingga homogen. Proses pencampuran kedua sediaan dilakukan pada suhu 70°C. Proses pengadukan dilakukan hingga kedua fase homogen dan mencapai suhu 40°C. Pengawet (metil paraben), parfum, dan zat aktif yakni vitamin C dan vitamin E dimasukkan ke dalam campuran pada suhu 35°C kemudian dilakukan pengadukan selama kurang lebih satu menit⁹.

Tabel 1. Variasi Formula Losio Kombinasi Vitamin C dan Vitamin E

Bahan	Formula (%)			
	A	B	C	D
Vitamin C	0,02	0,02	0,5	0,5
Vitamin E	1	5	1	5
Asam stearat	2,5			
Trietanolamin	1			
Parafin cair	7			
Setil alcohol	0,5			
Gliserin	5			
Metil paraben	0,1			
Parfum	3 gtt			
Aquades	ad 100			

Keterangan : gtt = guttae (tetes)

Pemeriksaan Fisikokimia Sediaan Losio Kombinasi Vitamin C dan Vitamin E

Uji Organoleptik

Pemeriksaan terhadap tekstur, warna, bau dan homogenitas losio.

Daya Sebar

Losio sebanyak 0,5 g di atas kaca arloji yang dilapisi kertas grafik. Kemudian diberi beban dengan kaca arloji yang sama selama 60 detik, lalu diberi masing-masing beban seberat 50 g, 100 g, 150 g dan 200 g dan dibiarkan selama 60 detik. Dihitung diameter penyebaran formula yang diambil dari rata-rata diameter dari beberapa sisi¹⁰.

Daya Lekat

Losio sebanyak 0,1 g di atas gelas objek. Diletakkan gelas objek yang lain di atas losio tersebut. Kemudian ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit. Dipasang gelas objek pada alat tes. Kemudian dilepaskan beban seberat 80 g dan dicatat waktunya hingga kedua gelas objek ini terlepas¹⁰.

pH

Pemeriksaan pH diawali dengan kalibrasi alat pH meter menggunakan larutan dapar pH 4 dan pH 7. Losio dilarutkan dalam akuades lalu dicelupkan pada pH meter dan dicatat nilai pH pada pH meter.

Viskositas

Viskositas losio diukur menggunakan viskometer *Brookfield*, karena sediaan losio berprinsip pada sistem aliran Non-Newton.

Penentuan Formula Optimum

Penentuan formula optimum dilakukan menggunakan metode Desain Faktorial melalui *software Design Expert versi 9.0.3.1.trial*. Hasil pengujian meliputi pH, viskositas dan daya lekat yang diinput ke dalam *software*. Dilakukan analisis hingga

diperoleh persamaan dan grafik untuk tiap respon. Lalu ditentukan target yang diinginkan yaitu untuk pH, viskositas dan daya lekat adalah *maximize* dengan tingkat *Importance* berbeda sehingga formula optimum dapat ditentukan. Hasil prediksi losio formula optimum yang ditawarkan *software* kembali dibuat dan diverifikasi sifat fisikokimianya.

Pengujian Losio Optimum dengan Metode DPPH

Pembuatan Larutan Sampel

Formula A (Vitamin E 1%), B (Vitamin C 0,02%), C (Vitamin C 0,02% - Vitamin E 1%) dan D (basis losio) sebanyak 1 g masing-masing dilarutkan dengan 10 mL etanol *p.a* dalam labu ukur, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Hasil penyaringan kemudian ditampung filtratnya.

Pembuatan Larutan DPPH 50 ppm

Sebanyak 25 mg DPPH dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur sampai 10 mL sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 2500 ppm, kemudian diencerkan dengan etanol sampai diperoleh larutan dengan konsentrasi 50 ppm¹¹.

Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum DPPH

Sebanyak 4 mL larutan DPPH 50 ppm dibiarkan selama 30 menit ditempat gelap pada suhu kamar, serapan larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 380-780 nm¹¹.

Uji Efektivitas Antioksidan Losio Vitamin C dan Vitamin E dengan DPPH

Masing-masing larutan sampel (filtrat) sebanyak 2 mL ditambahkan dengan 2 mL larutan DPPH. Campuran selanjutnya divortex kemudian didiamkan selama waktu *operating time*

yang telah diperoleh pada suhu kamar. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang optimum^{11,12}. Dilakukan tes untuk formula losio sebanyak 3 kali.

Penentuan Persentase Peredaman

Parameter yang dipakai untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah harga konsentrasi efisien atau *efficient concentration* (EC₅₀) atau *Inhibitory Concentration* (IC₅₀).

$$Q = \frac{A_1 - A_2}{A_1}$$

Keterangan : Q = Persen Peredaman

A₁ = Absorbansi Kontrol

A₂ = Absorbansi sampel

IC₅₀ dihitung dari kurva regresi linear pada berbagai konsentrasi filtrat losio formula optimum versus % aktivitas antioksidan¹³.

Uji Stabilitas

Stabilitas losio dievaluasi dengan metode *cycling test* dan *mechanical test*. Pada metode *cycling test*, sampel losio disimpan pada suhu 4 °C selama 24 jam, lalu dipindahkan ke dalam oven dengan suhu 40 ± 2 °C selama 24 jam. Uji ini dilakukan selama 6 siklus. Pada metode *mechanical test*, sampel losio disentrifugasi dengan kecepatan putaran 3750 rpm pada radius sentrifugasi selama 5 jam atau 10000 rpm selama 30 menit, karena hasilnya ekuivalen dengan efek gravitasi selama 1 tahun. Kemudian amati apakah terjadi pemisahan fase atau tidak^{10,12}.

Analisis Data

Data dari hasil penelitian berupa grafik daya sebar formula losio, kurva regresi linear metode DPPH, grafik persen inhibisi radikal bebas dan kurva regresi linear aktivitas antioksidan

dibuat dengan menggunakan program *Microsoft Office Excel*, sedangkan hasil perhitungan berbagai parameter tersebut dilakukan dengan dua cara yaitu pendekatan secara teoritis dan statistika.

1. Pendekatan secara teoritis

Data yang diperoleh dari pengujian dibandingkan dengan persyaratan-persyaratan yang terdapat dalam kepustakaan yang sudah diketahui.

2. Analisis statistika

Data hasil pengujian daya sebar dan persen inhibisi dianalisis dengan menggunakan *software R versi 2.14.1 Package R commander* untuk uji normalitas dengan uji *Shapiro-Wilk*, uji homogenitas dengan uji *Levene's Test of Homogeneity of Varian* dan *Bartlett Test of Homogeneity of Variances*, uji signifikansi dengan *One Way ANOVA* dan *Kruskal-Wallis* dan uji signifikansi dua sampel dengan *Independent Sample t-Test* dan *Wilcoxon test*. Kemudian data hasil pengujian sifat fisikokimia losio berupa pH, viskositas dan daya lekat dianalisis menggunakan *software Design Expert versi 9.0.3.1 trial* dan *software R versi 2.14.1 Package R commander*. *Software Design Expert versi 9.0.3.1 trial* digunakan untuk memperoleh formula optimum komposisi Vitamin C dan Vitamin E melalui analisis 3 sifat fisikokimia masing-masing formula dengan metode desain faktorial. Sementara *software R versi 2.14.1 Package R commander* digunakan untuk uji T. Uji T yang digunakan adalah uji T *One Sample* untuk mengetahui signifikansi antara persentase sifat fisikokimia losio optimum dengan percobaan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Formula Losio

Konsentrasi optimum losio yang dapat bekerja sebagai antioksidan diperoleh dengan optimasi proporsi kombinasi Vitamin C dan Vitamin E sebagai zat aktif dalam losio. Optimasi dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *Design Expert versi 9.0.3.1 trial* dengan model yang digunakan adalah Desain Faktorial. Model ini dapat digunakan pada optimasi yang tidak diketahui jumlah pasti kombinasi antara kedua bahan, selain itu metode ini juga praktis dan cepat¹⁴.

Penentuan formula awal zat aktif dilakukan dengan menentukan faktor yang digunakan yaitu Vitamin C dan Vitamin E serta taraf-taraf yang digunakan yaitu konsentrasi bahan aktif yang digunakan. Untuk Vitamin C konsentrasi yang digunakan yaitu 0,02% dan 0,5%. Konsentrasi 0,02% dipilih berdasarkan penelitian Faramayuda dkk dimana losio Vitamin C 0,02% memiliki daya antioksidan dengan nilai IC_{50} 3,09 $\mu\text{g/mL}$ ⁵ sedangkan konsentrasi 0,5% dipilih karena lebih besar dari 0,02% dan masih memenuhi batas konsentrasi Vitamin C dalam kosmetik yaitu di bawah 10%¹⁵. Untuk Vitamin E

konsentrasi yang digunakan yaitu 1% dan 5%. Konsentrasi 1% dipilih berdasarkan penelitian Rohman dan Riyanto dimana Vitamin E 1% memiliki daya antioksidan dengan nilai IC_{50} 8,27 $\mu\text{g/mL}$ ⁴ sedangkan konsentrasi 5% dipilih karena lebih besar dari 1% dan masih memenuhi batas konsentrasi Vitamin E dalam kosmetik yaitu di bawah 20%¹⁶. Data dimasukkan ke dalam perangkat lunak *Design Expert* dengan menggunakan metode desain faktorial 2². Kemudian diperoleh 4 formula dengan masing-masing 3 kali replikasi.

Pengujian Sifat Fisikokimia Losio Kombinasi Vitamin C dan Vitamin E

Empat formula losio dibuat replikasi 3 kali sehingga terdapat 12 sediaan. Pembuatan ke-12 sediaan dilakukan pada hari yang berbeda dimana tiap 1 sediaan dibuat dan langsung diuji sifat fisikokimianya dalam sehari. Uji fisik yang dilakukan meliputi pengamatan organoleptis, pengukuran terhadap daya sebar dan daya lekat, pengukuran viskositas sediaan, sedangkan uji kimia yang dilakukan yaitu pengukuran pH. Nilai rata-rata masing-masing respon dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Rata-Rata Sifat Fisikokimia Losio ($\bar{x} \pm SD$; n=3)

Formula	Sifat Fisikokimia		
	pH	Viskositas (poise)	Daya Lekat (Detik)
F _A	7,606 \pm 0,178	46 \pm 0	39 \pm 4,582
F _B	7,726 \pm 0,178	43 \pm 0	37 \pm 9,539
F _C	7,233 \pm 0,122	17 \pm 1	15,333 \pm 1,527
F _D	7,393 \pm 0,144	9,333 \pm 0,577	15,166 \pm 0,763

Keterangan:

F_A = Vitamin C 0,02% : Vitamin E 1% ; F_B = Vitamin C 0,02% : Vitamin E 5%

F_C = Vitamin C 0,5% : Vitamin E 1% ; F_D = Vitamin C 0,5% : Vitamin E 5%

Pengujian Organoleptis

Losio yang dihasilkan tiap formula mempunyai warna dan homogenitas yang berbeda, tetapi mempunyai kesamaan dalam hal tekstur dan bau sediaan. Semakin besar konsentrasi Vitamin E, semakin pekat warna kuning yang dihasilkan. Hasil pemeriksaan homogenitas menunjukkan bahwa sediaan losio F_A , F_B dan F_C tidak memperlihatkan adanya butir-butir kasar pada saat sediaan dioleskan pada kaca transparan¹⁷. Sementara losio F_D memperlihatkan adanya butir-butir kasar pada sediaan dan sedikit warna kuning. Semakin besar konsentrasi Vitamin C dan Vitamin E dalam losio, maka losio semakin tidak homogen dan mudah dituang. Losio tiap formula mempunyai tekstur yang lembut saat dioleskan di kulit dan mempunyai bau khas vanili yang dicampur dalam losio. Jadi disimpulkan bahwa F_A adalah formula yang paling baik secara organoleptis.

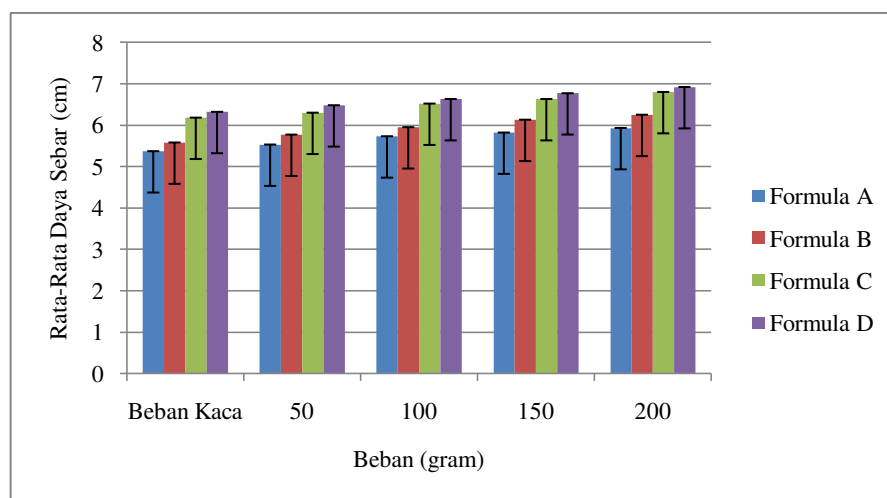
Pengujian Daya Sebar

Pengujian daya sebar (Gambar 1) bertujuan untuk mengetahui

kemampuan menyebar losio pada saat dioleskan di kulit yang berkaitan dengan daya distribusi zat aktif yang terkandung di dalam sediaan. Daya sebar losio diukur dengan cara mengukur rata-rata diameter penyebaran pada skala kaca bulat. Daya sebar merupakan bagian dari psikoreologi yang dapat dijadikan sebagai parameter aseptabilitas¹⁸. Suatu sediaan akan lebih disukai bila dapat menyebar dengan mudah di kulit, karena pemakaiannya lebih mudah dan lebih nyaman.

Hasil analisis statistik yang dilakukan antara pengaruh variasi formula terhadap daya sebar dengan uji *t Independent Samples* pada beban kaca + 150 g dan beban kaca + 200 g menghasilkan data statistik berbeda signifikan ($p < 0,05$). Hal ini dapat disimpulkan bahwa variasi konsentrasi Vitamin C dan Vitamin E yang dipakai mempengaruhi daya sebar formula.

Berdasarkan hasil pengamatan daya sebar (Gambar 1) yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa semakin besar konsentrasi Vitamin C dan Vitamin E dalam losio maka



Gambar 1. Grafik Hubungan Konsentrasi Vitamin C dan Vitamin E dengan Daya Sebar Formula Losio

diameter penyebaran semakin besar. Dengan demikian F_A adalah formula yang paling baik. Hal ini disebabkan viskositas losio berkurang seiring meningkatnya Vitamin C dan E. Semakin besar konsentrasi Vitamin E yang berupa minyak maka akan semakin sulit menyatu dengan fase minyak losio yang telah homogen, sehingga Vitamin E yang bersifat non polar akan sulit bercampur dengan Vitamin C yang bersifat polar mengakibatkan losio tidak homogen dan kekentalan berkurang¹⁶.

Pengujian Daya Lekat

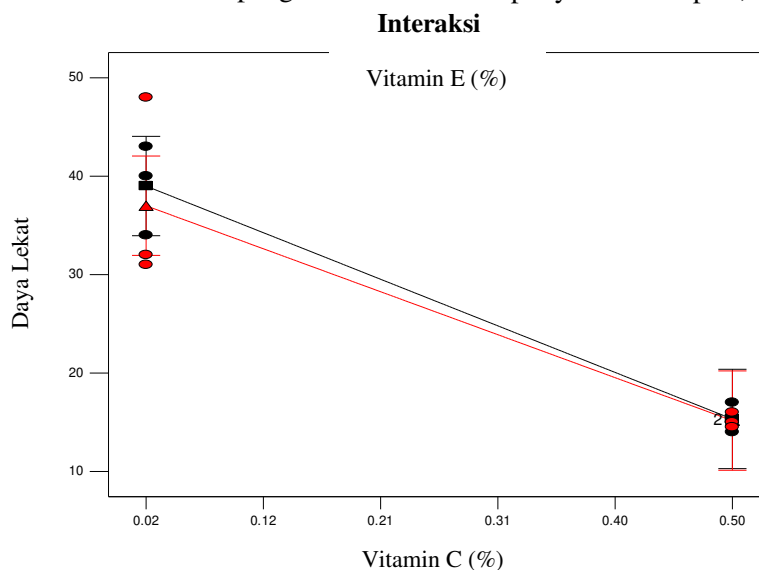
Pengujian daya lekat bertujuan untuk mengetahui kemampuan losio melekat ketika dioleskan pada kulit. Semakin besar daya lekat sediaan, maka kemampuan melekat di kulit semakin kuat dan absorpsi di kulit semakin lama¹⁰.

Gambar 2 menunjukkan terjadinya perubahan daya lekat losio dengan berubahnya campuran Vitamin C dan Vitamin E. Dari gambar dapat dilihat bahwa baik Vitamin C maupun Vitamin E sama-sama mempengaruhi

daya lekat dimana semakin meningkat konsentrasi yang digunakan maka semakin kecil daya lekat yang dihasilkan.

Dari hasil analisis desain faktorial, daya lekat losio lebih dipengaruhi oleh adanya campuran Vitamin C-Vitamin E, dimana interaksi keduanya ditunjukkan oleh persamaan 1. $Y = 26,63 - 11,38 X_A - 0,54 X_B + 0,46 X_A X_B$**Persamaan 1** Berdasarkan persamaan 1, efek campuran Vitamin C-Vitamin E bernilai positif, sehingga efeknya meningkatkan daya lekat losio.

Nilai efek Vitamin C adalah yang paling besar sehingga yang paling dominan terhadap menurunnya nilai daya lekat adalah Vitamin C. Semakin banyak penggunaan Vitamin C, maka daya lekat losio akan menurun. Hal ini dikarenakan penggunaan Vitamin C secara topikal lebih susah untuk masuk ke dalam kulit¹⁹. Analisis ANOVA untuk respon daya lekat dari hasil percobaan menunjukkan bahwa komponen Vitamin C dan Vitamin E mempunyai nilai $p > 0,05$ atau tidak



Gambar 2. Grafik Hubungan Interaksi Vitamin C dan Vitamin E terhadap Daya Lekat

berbeda signifikan yang artinya perubahan jumlah Vitamin C dan Vitamin E pada formula tidak berpengaruh signifikan pada sediaan.

Pengujian pH

Pengujian pH bertujuan untuk mengetahui apakah sediaan yang dibuat dapat diterima pH kulit atau tidak. Menurut SNI 16-4399-1996, pH dalam losio berkisar antara 4,5-8. Jika losio memiliki pH terlalu basa dapat menyebabkan kulit bersisik, sedangkan pH terlalu asam dapat menyebabkan iritasi kulit^{13,20}.

Gambar 3 menunjukkan terjadinya perubahan pH losio dengan berubahnya campuran Vitamin C dan Vitamin E. Dari gambar dapat dilihat bahwa baik Vitamin C maupun Vitamin E sama-sama mempengaruhi pH dimana semakin meningkat konsentrasi Vitamin C yang digunakan maka semakin kecil pH yang dihasilkan dan semakin meningkat konsentrasi Vitamin E yang digunakan maka semakin besar pH yang dihasilkan.

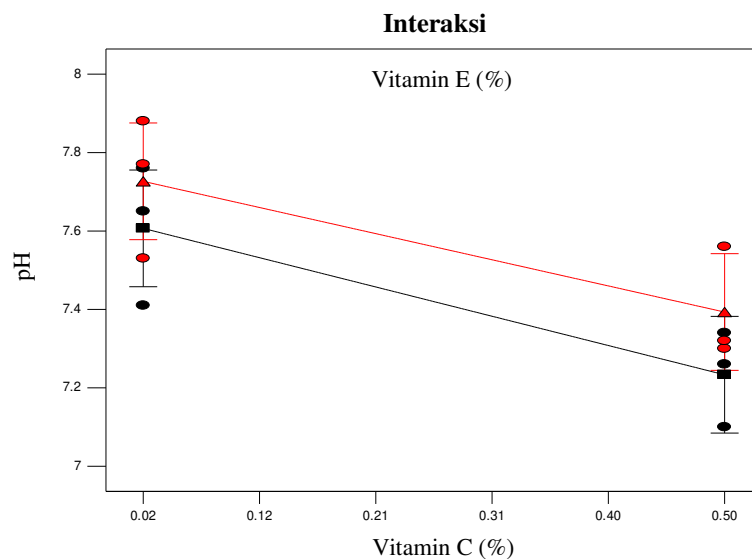
Dari hasil analisis desain

faktorial, pH losio lebih dipengaruhi oleh adanya Vitamin E dibandingkan Vitamin C, dimana interaksi keduanya ditunjukkan oleh persamaan 2.

$$Y = 7,49 - 0,18 X_A + 0,07 X_B + 0,01 X_A X_B \dots\dots\dots \text{Persamaan 2}$$

Berdasarkan persamaan 2, efek Vitamin E dan campuran Vitamin C-Vitamin E bernilai positif, sehingga efek keduanya meningkatkan pH losio.

Nilai efek Vitamin E adalah yang paling besar sehingga yang paling dominan terhadap meningkatnya nilai pH adalah Vitamin E. Semakin banyak penggunaan Vitamin E, maka pH losio juga akan meningkat. Hal ini dikarenakan Vitamin E yang bersifat basa²¹. Hasil rata-rata pH dari keempat formula berkisar antara 7,233-7,726 dan nilai pH tersebut masih dalam batas rentang 4,5-8. Hal ini menyatakan bahwa losio yang dihasilkan relatif aman digunakan. Analisis ANOVA untuk respon pH dari hasil percobaan memperlihatkan bahwa komponen Vitamin C dan Vitamin E mempunyai nilai $p > 0,05$ atau tidak berbeda signifikan yang artinya perubahan



Gambar 3. Grafik Hubungan Interaksi Vitamin C dan E terhadap pH

jumlah Vitamin C dan Vitamin E pada formula tidak berpengaruh signifikan pada sediaan.

Pengujian Viskositas

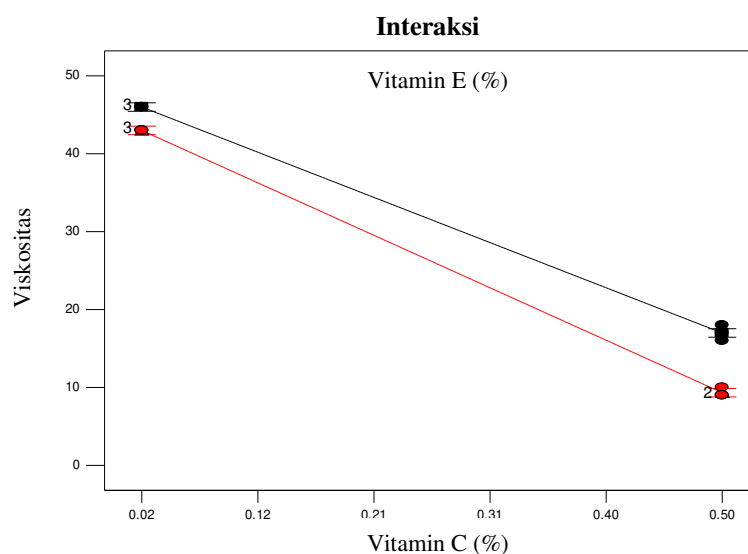
Viskositas merupakan uji fisika untuk mengetahui kekentalan suatu sediaan. Syarat viskositas losio menurut SNI 16-4399-1996 yaitu antara 20-500 Poise²⁰. Kekentalan sediaan diukur menggunakan viskosimeter *Brookfield* dengan spindel nomor 1 untuk kekentalan sediaan 3-150 Poise.

Gambar 4 menunjukkan terjadinya perubahan viskositas losio dengan berubahnya campuran Vitamin C dan Vitamin E. Dari gambar dapat dilihat bahwa baik Vitamin C maupun Vitamin E sama-sama mempengaruhi viskositas dimana semakin meningkat konsentrasi yang digunakan maka semakin kecil viskositas yang dihasilkan.

Dari hasil analisis desain faktorial, viskositas losio lebih dipengaruhi oleh adanya campuran Vitamin C-Vitamin E, dimana interaksi

keduanya ditunjukkan oleh persamaan 3. $Y = 28,83 - 15,67 X_A - 2,67 X_B - 1,17 X_A X_B$**Persamaan 3**
Berdasarkan persamaan 3, efek Vitamin C, Vitamin E dan campuran Vitamin C-Vitamin E bernilai negatif, sehingga efek ketiganya menurunkan viskositas losio.

Nilai efek Vitamin C adalah yang paling besar sehingga yang paling dominan terhadap menurunnya nilai viskositas adalah Vitamin C. Semakin banyak penggunaan Vitamin C, maka viskositas losio juga akan menurun. Hal ini disebabkan Vitamin C dan Vitamin E yang tidak homogen dalam losio apabila konsentrasi semakin ditingkatkan, menyebabkan sedikit pemisahan fase dan losio lebih mudah dituang atau kurang kental. Analisis ANOVA untuk respon viskositas dari hasil percobaan memperlihatkan bahwa komponen Vitamin C dan Vitamin E mempunyai nilai $p < 0,05$ atau berbeda signifikan yang artinya perubahan jumlah Vitamin C dan Vitamin E pada formula berpengaruh signifikan pada sediaan.



Gambar 4. Grafik Hubungan Interaksi Vitamin C dan Vitamin E terhadap Viskositas

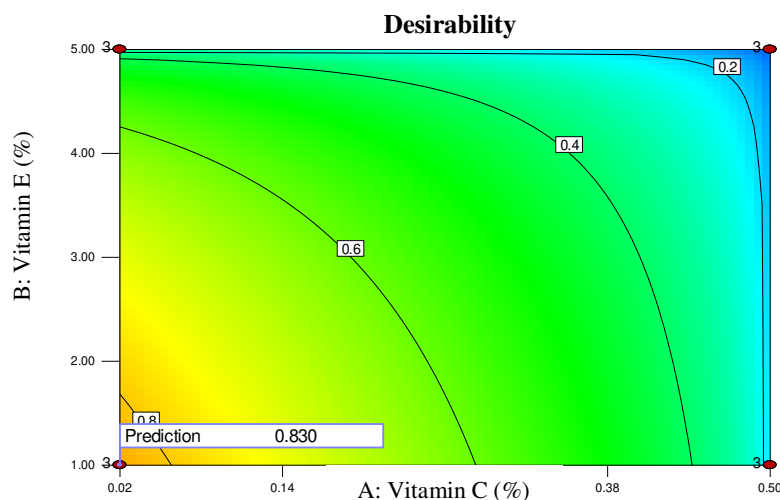
Penentuan Formula Optimum Losio

Hasil pengukuran respon sifat fisikokimia akan dianalisis oleh program *Design Expert versi 9.0.3.1*. Untuk melakukan optimasi, pada bagian *Numerical Criteria* ditentukan sasaran tiap-tiap komponen dengan batasan (*goal*) dan tingkat *Importance*. Program *Design Expert versi 9.0.3.1* memberi pilihan *goal* untuk masing-masing respon, yaitu *none*, *maximize*, *minimize*, *target*, dan *in range*.

Pada penelitian ini pH dibuat *goal maximize* karena pH yang ideal adalah yang nilainya 4,5-8, viskositas dibuat *goal maximize* karena viskositas losio tidak boleh terlalu encer karena akan bermasalah pada absorpsi losio di kulit sehingga sulit digunakan, daya lekat juga dibuat *goal maximize* karena losio yang baik memiliki kemampuan untuk melekat pada kulit lebih kuat dan absorpsi di kulit lebih lama.

Saran yang ditawarkan dari hasil analisis memiliki tingkat *desirability* tertentu dan visualisasi dalam bentuk grafik. Nilai ini besarnya nol sampai dengan satu, dimana semakin mendekati satu artinya semakin tinggi

kemungkinan mendapatkan nilai respon yang diinginkan²². Paramater yang dioptimasi pada penelitian ini adalah sifat fisikokimia dari losio. Gambaran kurva *desirability* (gambar 5) menunjukkan formula 0,02% Vitamin C : 1% Vitamin E mempunyai tingkat *desirability* yang paling tinggi. Solusi yang ditawarkan oleh perangkat lunak *Design Expert versi 9.0.3.1* untuk formula optimum adalah formula dengan nilai *desirability* sebesar 0,830. Nilai *desirability* ini berarti kemampuan memprediksi sifat fisikokimia formula optimum bernilai sekitar 83%. Selain memprediksi formula optimum, software *Design Expert* juga akan memberikan nilai respon yang diprediksikan dari formula optimum. Hasil prediksi dari formula optimum dipengaruhi oleh kriteria yang ditentukan. Nilai prediksi yang ditawarkan pada masing-masing respon dimana untuk viskositas diprediksi sebesar 46 poise, daya lekat 39 detik dan pH 7,606. Setelah diperoleh formula optimum beserta prediksi sifat fisikokimianya maka perlu dilakukan verifikasi untuk membandingkan



Gambar 4. Kurva *Desirability* Sediaan terhadap Formulasi

kesesuaian antara prediksi respon yang diberikan dengan hasil percobaan.

Pengujian Sifat Fisikokimia Losio Kombinasi Vitamin C dan Vitamin E Formula Optimum

Rancangan formula optimum yang diberikan oleh metode Desain Faktorial dengan perangkat lunak *Design Expert versi 9.0.3.1. trial* dibuat dalam formula losio optimum dan kembali diuji sifat fisikokimia untuk membuktikan dan memverifikasi data yang diprediksi oleh perangkat lunak tersebut sekaligus untuk melihat apakah hasil yang didapat telah sesuai atau tidak.

Hasil percobaan dan prediksi diuji statistik menggunakan uji T *one*

sample dengan perangkat lunak R untuk mengetahui apakah perangkat lunak *Design Expert versi 9.0.3.1. trial* dapat memprediksi formula optimum atau tidak. Hasil perbandingan prediksi dan percobaan formula optimum dapat dilihat pada tabel 3. Uji T *one sample* digunakan untuk melihat signifikansi antara data prediksi dan percobaan, hasilnya menunjukkan bahwa seluruh data tidak berbeda signifikan karena $p > 0,05$ pada taraf kepercayaan 95%. Berdasarkan hasil ini maka dapat disimpulkan bahwa metode Desain Faktorial dengan perangkat lunak *Design Expert versi 9.0.3.1. trial* dapat memprediksi formula dengan respon pH, viskositas dan daya lekat yang optimum.

Tabel 3. Hasil Perbandingan Prediksi dan Percobaan Formula Optimum ($\bar{x} \pm SD$; n=3)

Parameter	P	SO	p-value	Signifikansi
pH	7,606	7,74 ± 0,09	p>0,05	Tbs
Viskositas (poise)	46	46,33 ± 0,577	p>0,05	Tbs
Daya Lekat	39	39 ± 2	P>0,05	Tbs

Keterangan:

P = Prediksi losio optimum

SO = Losio optimum hasil percobaan dengan 3 kali replikasi

tbs = tidak berbeda signifikan

Hasil Uji Efektivitas Antioksidan dengan Spektrofotometri UV-Vis

Uji efektivitas antioksidan losio kombinasi Vitamin C dan Vitamin E dilakukan dengan metode DPPH dengan sedikit modifikasi.

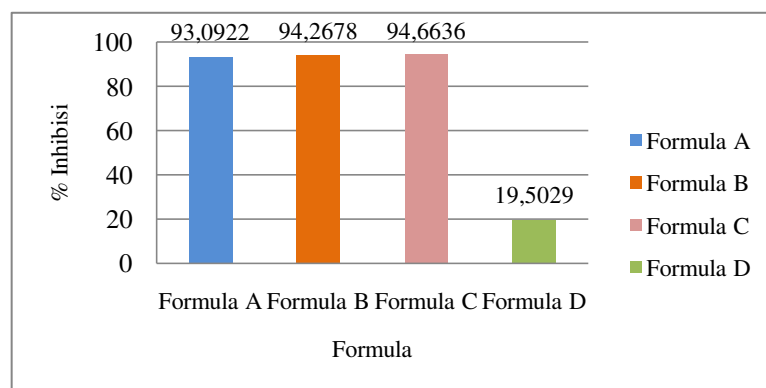
Tahap awal yang dilakukan pada pengujian efektivitas losio antioksidan ini adalah pengukuran panjang gelombang maksimum (λ_{maks}) larutan DPPH. Pada panjang gelombang maksimum akan terjadi serapan maksimum. Panjang gelombang

maksimum DPPH yang digunakan untuk pengujian persen inhibisi radikal bebas adalah 515,6 nm dengan absorbansi maksimum 0,672. Panjang gelombang maksimum DPPH yang digunakan untuk pengujian IC₅₀ adalah 516,4 nm dengan absorbansi maksimum 1,018. Filtrat yang telah direaksikan dengan DPPH, selanjutnya diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C yang mana suhu dapat mempercepat laju reaksi. Setelah penambahan senyawa uji ke dalam larutan DPPH, terjadi penurunan absorbansi DPPH dibandingkan dengan

blanko. Turunnya absorbansi menandakan berkurangnya konsentrasi radikal bebas dari DPPH yang dikarenakan oleh adanya reaksi dengan senyawa antioksidan yang mengakibatkan molekul DPPH tereduksi dan diikuti dengan berkurangnya intensitas warna ungu dari larutan DPPH¹¹. Menurut hukum *Lambert-Beer*, ada korelasi sebanding antara konsentrasi dengan absorbansi, jika terjadi penurunan konsentrasi maka absorbansi spektrum sinar dari larutan

tersebut juga akan mengalami penurunan²³. Nilai rata-rata absorbansi dari hasil pengukuran 4 (empat) formula dapat dilihat pada Gambar 6.

Berdasarkan Gambar 6 memperlihatkan bahwa kombinasi losio Vitamin C-Vitamin E dengan formula optimum memberikan persen hambat radikal tertinggi dibandingkan dengan losio Vitamin C tunggal dan losio Vitamin E tunggal.



Gambar 6. Grafik Pengujian Persen Inhibisi Radikal Bebas terhadap Formulasi Vitamin E 1% (FA), Vitamin C 0,02% (FB), Vitamin C 0,02%-Vitamin E 1% (FC), Basis (FD)

Selanjutnya dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan filtrat losio formula optimum Vitamin C-Vitamin E dengan lima seri konsentrasi yang meningkat. Penggunaan konsentrasi tersebut didasarkan pada penggunaan metode regresi dalam membuat persamaan garis yang didasarkan pada nilai absorbansi dan konsentrasi standar yang dibuat paling sedikit menggunakan lima rentang konsentrasi yang meningkat agar dapat memberikan serapan linier²⁴.

Berdasarkan hasil pengamatan secara visual, tampak bahwa filtrat losio Vitamin C-Vitamin E yang telah direaksikan dengan DPPH setelah masa

inkubasi selama 30 menit mengalami perubahan warna yang signifikan yaitu menjadi warna kuning. Kehilangan warna ungu menjadi kuning menandakan adanya aktivitas antioksidan¹¹. Sampel yang telah diinkubasi selanjutnya dianalisis absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Parameter yang digunakan untuk menunjukan aktivitas antioksidan adalah *Inhibitory Concentration (IC₅₀)* yaitu konsentrasi zat antioksidan yang memberikan persen peredaman sebesar 50%. Senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat apabila nilai *IC₅₀* kurang dari 50 µg/mL¹¹. Nilai

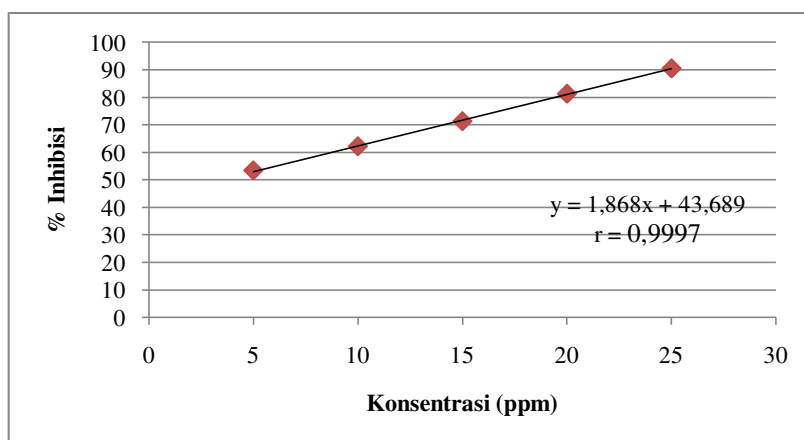
IC₅₀ diperoleh secara ekstrapolasi menggunakan persamaan regresi yaitu, $y = 0,1,868x + 43,689$. Dari persamaan tersebut diperoleh IC₅₀ sebesar 3,378 µg/mL. Kurva regresi linier aktivitas antioksidan filtrat losio kombinasi Vitamin C dan Vitamin E dapat dilihat pada gambar 7.

Berdasarkan hasil IC₅₀ yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa filtrat losio kombinasi Vitamin C dan Vitamin E memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Hal ini disebabkan Vitamin C dan Vitamin E merupakan senyawa murni sehingga di dalamnya tidak ada senyawa lain yang dapat mengganggu proses peredaman radikal bebas. Vitamin C berfungsi sebagai *oxygen scavenger* dengan mentransfer atom hidrogen ke oksigen sehingga oksigen radikal tidak tersedia untuk reaksi berikutnya²⁵, sedangkan vitamin E bekerja dengan menyumbangkan hidrogen kedalam reaksi, sehingga memutus reaksi berantai dan bersifat membatasi kerusakan²⁶. Dengan demikian Vitamin C dan Vitamin E mampu mencegah penuaan dini karena menghambat radikal bebas^{27,28}.

Pengujian Stabilitas

Pengujian *cycling test* bertujuan untuk mengetahui kestabilan emulsi apakah terjadi kristalisasi atau pengendapan maupun proses oksidasi dalam sediaan antioksidan dalam suhu yang ekstrim dengan tingkat stres yang tinggi²⁹. Pengamatan pada formula optimum losio kombinasi Vitamin C dan Vitamin E tidak menunjukkan adanya pemisahan fase, perubahan bau dan tekstur, sediaan tetap lembut. Akan tetapi pada siklus ke-4, sediaan losio mengalami oksidasi dengan terjadinya perubahan warna menjadi kekuningan. Hal ini disebabkan karena zat aktif Vitamin C sangat sensitif terhadap pemanasan, bahkan pemanasan yang tergolong ringan (sedikit di atas suhu kamar)²¹. Untuk menjaga stabilitas Vitamin C, seharusnya disimpan di dalam wadah aluminium dengan lama penyimpanan 36 bulan pada suhu 25 ± 2 °C. Untuk penyimpanan pada uji stabilitas dipercepat yaitu pada suhu 40 ± 2 °C selama 6 bulan³⁰.

Uji mekanik dilakukan untuk mengetahui terjadinya perubahan fase dari emulsi yang mana hasilnya ekuivalen dengan gaya gravitasi selama 1 tahun³¹.



Gambar 7. Kurva regresi linier aktivitas antioksidan filtrat losio kombinasi Vitamin C dan Vitamin E

Hasil pengamatan organoleptis pada formula optimum losio kombinasi Vitamin C dan Vitamin E setelah disentrifugasi tidak mengalami perubahan warna, bau dan tekstur. Sediaan losio tidak mengalami pemisahan fase, melainkan timbulnya busa. Hal ini dikarenakan emulgator yang dipakai dalam sediaan yaitu asam stearat dan trietanolamin. Apabila asam stearat dan trietanolamin dicampur, maka akan terbentuk sabun anionik pH 8 yang menyebabkan sediaan terlalu basa dan berpengaruh pada kondisi kulit saat pemakaian yang mana menyebabkan kulit bersisik^{32,33}. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan losio yang dihasilkan tidak stabil dan terpengaruh gaya gravitasi untuk penyimpanan selama setahun^{31,34}.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan formula optimum yang diperoleh berdasarkan metode desain faktorial adalah formula dengan komposisi Vitamin C 0,02% dan Vitamin E 1% dimana untuk pengujian sifat fisikokimia formula optimum tidak berbeda signifikan dengan hasil prediksi dan formula losio memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 3,378 µg/mL. Losio tidak stabil karena proses oksidasi dan penyabunan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pietta PG. Flavonoids as antioxidants. Reviews, *J Nat Prod.* 1999; **63**: 1035-1042.
2. Wijaya A. Radikal bebas dan parameter status antioksidan. Forum Diagnosticum. Prodia Diagnostic Educational Services; 1996. Hal. 1-12.
3. Elsner P, Howard IM. Cosmeceuticals drug vs cosmetics. New York: Marcel Dekker Inc; 2000. p. 16, 145, 163.
4. Rohman A, Riyanto S. Daya antioksidan ekstrak etanol daun kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) secara in vitro. *Majalah Farmasi Indonesia.* 2005; **16**(3): 136-140.
5. Faramayuda, Fahrauk, Fikri A, Yesi D. Formulasi sediaan losion antioksidan ekstrak air daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.). *Majalah Obat Tradisional.* 2010; **15**(3): 105-111.
6. Thomas CT, Basil MH. Cosmeceutical agents: a comprehensive review of the literature. *J Clin Med.* 2008; **1**: 1-20.
7. Huang CK, Miller TA. The truth about over-the-counter topical anti-aging products: a comprehensive review. *J Aest Surg.* 2007; **27**(4): 402-412.
8. Lachman LHA, Lieberman, Kanig JL. Teori dan praktek farmasi industri. Edisi III. Jilid II. Jakarta: Universitas Indonesia; 1994. Hal. 94.
9. Nowak GA. Cosmetics preparations. Augsburg: Verlag fur Chemische Industrie; 1962. p. 211-221.
10. Hana HS, Karim AZ. Physical stability and activity of cream w/o etanolic fruit extract of mahkota dewa (*Phaleria macrocarpha* (scheff.) Boerl) as a sunscreen. *Trad Med J.* 2013; **18**(2): p 109-117.

11. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J Sci Technol.* Mar-Apr 2004; **26**(2): 211-219.
12. Elya B, Dewi R, Budiman MH. Antioxidant cream of *Solanum lycopersicum* L. *J PharmTech Research.* 2013 Jan-Mar; **5**(1): 233-238.
13. Swastika A, Mufrod, Purwanto. Aktivitas antioksidan krim ekstrak sari tomat (*Solanum lycopersicum* L.). *Trad Med J.* 2013 Sep; **18**(3): 132-140.
14. Sudjana. Desain dan analisis eksperimen. Edisi IV. Bandung: Penerbit Tarsito; 2002. Hal. 109, 148-149.
15. Elmore AR. Final report of the safety assessment of L-ascorbic acid, calcium ascorbate, magnesium ascorbate, magnesium ascorbyl phosphate, sodium ascorbate, and sodium ascorbyl phosphate as used in cosmetics. *Int J Toxicol.* 2005; **24**(2): 51-111.
16. Zondlo FM. Final report on the safety assessment of tocopherol, tocopheryl acetate, tocopheryl linoleate, tocopheryl linoleate/oleate, tocopheryl nicotinate, tocopheryl succinate, dioleoyl tocopheryl methylsilanol, potassium ascorbyl tocopheryl phosphate, and tocophersolan. *Int J Toxicol.* 2002; **21**(3): 51-116.
17. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope indonesia. Edisi III. Jakarta. Departemen Kesehatan RI; 1979. Hal. 57, 612.
18. Martin A. Farmasi fisik. Edisi III. Jilid I. Jakarta: Universitas Indonesia; 1993. Hal. 29.
19. Rigel SD. Photoaging. New York: Marcel Dekker Inc; 2005. p. 4.
20. Dewan Standarisasi Nasional. Sediaan tabir surya. Jakarta: Standarisasi Nasional Indonesia 16-4399-1996; 1996.
21. Andarwulan, Koswara. Kimia vitamin. Jakarta: Rajawali Press; 1989. Hal. 32.
22. Montgomery DC, Runger GC. Applied statistic & probability for engineer. 3rd ed. New York: John Wiley & Sons Inc; 2003. p. 536.
23. Gandjar IG, Rohman A. Kimia farmasi analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar; 2009. Hal. 240, 254-256, 359-360.
24. Holme DJ, Peck H. Analytical biochemistry. London: Longman Inc; 1983. Hal. 66.
25. Giese J. Vitamin and mineral fortification of foods. *Food Tech.* 1995; **49**(5): 110-122.
26. Watson RR, Leonard TK. Selenium and vitamin A, E, and C: nutrient with cancer prevention properties. *J Am Diet Ass.* 1986; **86**: 505-510.
27. Levine M. Determination of optimal vitamin C requirements in humans. *J Am Clin Nutr.* 1995; **62**: 1347-1356.
28. Lamid A. Vitamin E sebagai antioksidan. Bogor: Puslitbang Gizi; 1995. Hal.4.
29. Niazi SK. Pharmaceutical manufacturing formulations semisolid products. Volume IV. New York: CRC Press. p. 4.
30. European Food Safety Authority. Scientific opinion on the safety and efficacy of vitamin C (ascorbic acid and sodium calcium ascorbyl phosphate) as a feed additive for all

animal species based on a dossier submitted by VITAC EEIG. *EFSA J.* 2013; **11**(2): 1-25.

31. Kurniati N. Uji stabilitas fisik dan aktivitas antioksidan formula krim mengandung ekstrak kulit buah delima (*Punica granatum* L.). *Skripsi*. Jakarta: FMIPA Farmasi. 2011.
32. Rowe RC, Sheskey PJ, Owen SC. Handbook of pharmaceutical excipients, 4th ed. London: Pharmaceutical Press; 2006. p. 737-738, 794-795, 503-504.
33. Garg A, Aggarwal D, Garg S, Sigla AK. Spreading of semisolid formulation: An Update. *Pharm. Technol.* 2002. p. 84-102.
34. Ansel CH. Pengantar bentuk sediaan farmasi. Jakarta: Universitas Indonesia; 2005. Hal. 519.