

Vol. 6 No. 2 Desember 2019



Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia

E-ISSN: 2580-8303

P-ISSN: 2406-9388



**DITERBITKAN OLEH:
FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA**

**Susunan Dewan Redaksi
Jurnal Farmasi dan Ilmu
Kefarmasian Indonesia (JFIKI)**

Penanggung Jawab:

Prof. Dr. Umi Athiyah, M.S., Apt

Dewan Redaksi

Ketua:

Elida Zairina, S.Si, MPH., Ph.D., Apt.

Wakil Ketua:

Suciati, S.Si., M.Phil., Ph.D., Apt.

Redaksi Pelaksana

Ketua:

Neny Purwitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.

Sekretaris:

Gesnita Nugraheni, S.Farm., M.Sc., Apt.

Anggota:

Dr.rer.nat Maria Lucia Ardhani D. L., M.Pharm, Apt.

Tutik Sri Wahyuni, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt.

Bambang Subakti Zulkarnain, M.Clin.Pharm., Apt.

Kholis Amalia Nofianti, S.Farm, M.Sc., Apt.

Abhimata Paramanandana, S.Farm., M.Sc., Apt.

Susmiandri, S.Kom.

Mitra Bestari

Dr. Isnaeni, MS., Apt.

I Wayan Mudianta, S.Pd., M.Phil., Ph.D.

Dr. Susi Ari Kristina, S.Farm., M.Kes

Lili Fitriani, S.Si., M.Pharm.SC., Apt.

Dr. Suzana, MS., Apt.

Begum Fauziyah, S.Si., M.Farm.

Dr. Tri Widiandani, S.Si., Sp.FRS., Apt.

Dr. Agnes Nuniek Winantari S.Si., M.Si., Apt.

Drs Marcellino Rudyanto, M.Si., Ph.D., Apt.

Dr. Tatang Irianti, M.Sc., Apt.

Rr. Retno Widyowati, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt.

Purwantiningsih, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt.

Pinus Jumaryatno, S.Si., M.Phil., Ph.D., Apt.

Kartini S.Si., M.Si., Apt., Ph.D.

Dr. Wiwied Ekasari, M.Si., Apt.

Hanni Prihastuti Puspitasari, M.Pharm., Ph.D. Apt.

Dra. Tri Murti Andayani, Sp.FRS., Ph.D., Apt.

Dr. Yunita Nita, S.Si., M.Pharm, Apt.

Dr. Fita Rahmawati, Sp.FRS., Apt.

Silvia Surini, M.Pharm.Sc., Ph.D.

Rina Kuswahyuning, M.Si., Ph.D., Apt.

**Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
Gedung Nanizar Zaman Joenoos**

Jl. Dr. Ir. H. Soekarno Surabaya 60115

Tlp. (031) 5933150, Fax. (031) 5932594

Website:

<http://e-journal.unair.ac.id/index.php/JFIKI>

Email : jfiki@ff.unair.ac.id

Informasi Bagi Penulis

Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia (JFIKI) P-ISSN:2406-9388; E-ISSN:2580-8303 adalah jurnal resmi yang diterbitkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang artikelnya dapat diakses dan unduh secara online oleh publik.

Jurnal ini adalah jurnal *peer-review* nasional yang terbit dua kali dalam setahun tentang topik-topik keunggulan hasil penelitian di bidang pelayanan dan praktek kefarmasian, pengobatan masyarakat, teknologi kefarmasian serta disiplin ilmu kesehatan yang terkait erat. Jurnal ini memfokuskan pada area-area berikut:

1. Farmasi Klinis
2. Farmasi Komunitas
3. Farmasetika
4. Kimia Farmasi
5. Farmakognosi
6. Fitokimia

Naskah yang terpilih untuk dipublikasikan di JFIKI akan dikirim ke dua *reviewer* yang pakar dibidangnya, yang tidak berafiliasi dengan lembaga yang sama dengan penulis dan dipilih berdasarkan pertimbangan tim editor. Proses *review* dilakukan secara tertutup dimana penulis dan *reviewer* tidak mengetahui identitas dan afiliasi masing-masing. Setiap naskah yang didelegasikan ke anggota redaksi diperiksa untuk keputusan akhir proses *review*, komentar dan saran akan dikirim ke penulis untuk menanggapi ulasan *reviewer* dan mengirim kembali naskah revisi dalam waktu yang telah ditentukan. Naskah yang diterima untuk publikasi adalah salinan yang diedit untuk tata bahasa, tanda baca, gaya cetak, dan format. Seluruh proses pengajuan naskah hingga keputusan akhir untuk penerbitan dilakukan secara *online*.

Daftar Isi

No	Artikel	Hal
1.	Pengembangan Formula Gel Ekstrak Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb) sebagai Antijerawat Setia Budi, Mila Rahmawati	51-55
2.	Hubungan Tingkat Kejadian Efek Samping Antiinflamasi Non Steroid dengan Usia dan Jenis Kelamin Keni Idacahyati, Tita Nofianti, Geby Alinda Aswa, Maritsa Nurfatwa	56-61
3.	The Effect of Vitamin C Addition on Epigallocatechin Gallate (EGCG) Stability in Green Tea Solution Alief Putriana Rahman, Djoko Agus Purwanto, Isnaeni	62-68
4.	Uji Aktivitas Tonik Rambut Nanoemulsi Minyak Kemiri (<i>Aleurites moluccana</i> L.) Fenita Shoviantari, Zefia Liziarmezilia, Adventa Bahing, Lia Agustina	69-73
5.	Aktivitas Antibakteri dan Stabilitas Sediaan Gel Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> folium) Luky Hayuning Les, Isnaeni, Widji Soeratri	74-80
6.	Analisis Kualitatif Sakarin dan Silamat pada Es Doger di Kota Batam Hesti Marliza, Delladari Mayefis, Raihani Islamiati	81-84
7.	Effect of Guava Powder Addition on Epigallocatechin Gallate (EGCG) Content of Green Tea and Its Antioxidant Activity Hanifah Ridha Rabbani, Djoko Agus Purwanto, Isnaeni	85-90

Pengembangan Formula Gel Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) sebagai Antijerawat

Setia Budi*, Mila Rahmawati
Fakultas Kesehatan, Universitas Sari Mulia, Banjarmasin

*Corresponding author: setiabuddi62@gmail.com

Submitted: 17 Juni 2019

Accepted: 21 September 2019

Published: 29 Februari 2020

Abstract

Background: Recently, the topical antiacne medicines have been circulating in the form of gels and creams, but there are still a few of them contain herbs, as an active ingredient or agent which potentially prevent and treat acne such as pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) because of antibacterial activity. **Objective:** To develop a stable formulation of pegagan gel. **Methods:** Testing of pegagan formulation according to the evaluation requirements based on gel concentration of 7%, 8%, and 9% as well organoleptic testing, pH, and viscosity. Extract of pegagan was added to the formula at concentration of 2.5% and 5%. Evaluation of the formula includes homogeneity, acidity test, viscosity and spread potency. **Results:** Average pH of the formula was 6.66. There was a slight difference of viscosity between First Formula and Second Formula. Both of First Formula and Second Formula showed homogeneity and dispersion capacity in accordance with the requirements. **Conclusion:** During 14 days of testing, Second Formula with 5% extract concentration more stable than Second Formula with an extract concentration of 2.5%.

Keywords: *Centella asiatica*, extract gel, gel formulation

Abstrak

Pendahuluan: Saat ini obat topikal antijerawat telah banyak beredar dalam bentuk gel dan krim, tetapi masih sedikit antijerawat topikal yang mengandung herbal, sebagai bahan aktif atau agen berpotensi dapat mencegah dan mengobati jerawat seperti pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) dengan sifat anti bakterinya. **Tujuan:** Mengembangkan formulasi sediaan gel pegagan yang stabil. **Metode:** Pengujian Formulasi pegagan sesuai persyaratan evaluasi dengan basis gel konsentrasi 7%, 8%, 9%, selanjutnya dilakukan evaluasi meliputi pengujian organoleptik, pH, dan viskositas. Formula ditambah ekstrak herba pegagan dengan konsentrasi 2,5% dan 5%. Uji evaluasi formula yang dilakukan meliputi pengamatan homogenitas, uji derajat keasaman, kekentalan dan daya sebar sediaan. **Hasil:** Rerata pH sediaan didapatkan 6,66. Formula 1 dan Formula 2 terdapat sedikit perbedaan viskositas. Formula 1 dan Formula 2 menunjukkan homogenitas dan daya sebar yang sudah sesuai persyaratan. **Kesimpulan:** Selama 14 hari, pengujian Formula 2 dengan konsentrasi ekstrak 5% lebih stabil dibandingkan Formula 1 dengan konsentrasi ekstrak 2,5%.

Kata kunci: *Centella asiatica*, ekstrak gel, formulasi gel

PENDAHULUAN

Salah satu permasalahan yang sering dijumpai pada kulit saat ini dikalangan remaja adalah gangguan jerawat. Peradangan *Polisebasea* merupakan penyakit kulit yang disebut juga sebagai jerawat terjadi akibat peradangan menahun yang ditandai dengan adanya komedo, benjolan besar atau benjolan kecil, nodus dan kista pada bagian kulit wajah. Penyebab lainnya yang

sering adalah infeksi bakteri mendominasi terjadinya permasalahan jerawat selain karena flora normal pada bagian kulit, *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang umum menginfeksi jerawat atau pada bagian kulit, sehingga ditemukan terapi yang salah pada masyarakat dengan mengobatinya menggunakan agen-agen antibakteri seperti antiseptik dan antibiotik yang tentu

penggunaannya harus sangat diperhatikan terkait efek samping dan resistensi. Penggunaan sediaan dalam bentuk herbal akan lebih mudah ditoleransi oleh bagian tubuh manusia karena efek sampingnya akan lebih rendah (Djajadisastra dkk., 2009).

Menurut Wasitaatmadja (1997), ada beberapa cara penanganan jerawat yang efektif salah satunya dengan sediaan topikal. Saat ini sediaan topikal antijerawat telah banyak beredar dalam bentuk sediaan gel dan krim. Sediaan antijerawat lebih baik diformulasikan dalam sediaan gel, karena memiliki kemampuan berdifusi yang baik pada bagian kulit sehingga efek topikal diperoleh setelah bahan aktif menembus membran semipermeabel kulit. Gel merupakan sediaan topikal yang menggunakan formulasi basis polar sehingga mudah diterima oleh bagian kulit dan daya difusi yang ditimbulkan lebih baik dari krim karena kemampuannya melewati membran kulit lebih efektif daripada sediaan krim (Sasanti dkk., 2012).

Dengan pertimbangan keunggulan gel dalam penggunaan topikal tersebut maka dilakukan penelitian dengan tujuan mengembangkan formula gel dengan bahan aktif ekstrak pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb) sebagai antijerawat. Menurut penelitian Adria (2009), tanaman ini mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acne* dan *Staphylococcus aureus*.

Pegagan termasuk salah satu tanaman obat yang telah banyak dikenal masyarakat. Pegagan mengandung asiatikosida, asam asiatat, dan asam madekasat yang mampu memacu penyembuhan luka. Karena itu, tanaman ini dapat digunakan sebagai sumber bahan aktif pada perawatan kulit yang mulai kusam, berkerut, atau menunjukkan tanda-tanda penuaan yang tidak diinginkan (Primastuti, 2013).

Khasiat lain dari asiatikosida yang terkandung dalam pegagan juga bisa mempercepat dan memicu pertumbuhan kolagen pada bagian kulit, sehingga bisa memperbaiki dan membuat regenerasi kulit ketika terjadi kerusakan kulit akibat jerawat (Sikareepaisan dkk., 2008).

BAHAN DAN METODE

Bahan

Pembuatan sediaan gel menggunakan bahan ekstrak daun pegagan didapat dari *Borobudur Extraction Centre* dengan No Batch 056PN01.2 dan ratio 10:1, viskolam, gliserin, propilenglikol, *dimethylol dimethyl hydantoin* (*DMDM hydantoin*), trietilamina (TEA), dan air suling.

Alat

Penggunaan alat pada pengujian formulasi sediaan gel ini adalah *Magnetic stirrer* (Cimarec), timbangan (Mimmert), pH meter (Lutron 207), viskometer (Brookfield *DV II +Pro*), serta alat-alat gelas yang digunakan dalam pembuatan sediaan farmasi.

Metode

Formulasi basis gel

Pembuatan basis gel untuk sediaan terdiri dari viskolam, propilenglikol, gliserin, TEA (gtt), *DMDM hydantoin* dan air suling, komposisi basis gel dapat dilihat pada (Tabel 1). Pembuatan basis gel dilakukan dengan cara mencampurkan viskolam dan sebagian air terlebih dahulu menggunakan alat *Magnetic stirrer*, kemudian ditambahkan gliserin dan propilenglikol, dan *DMDM hydantoin*. Untuk mendapatkan sediaan gel dengan homogenitas yang baik maka dilakukan pengadukan dengan perlahan dan di tambahkan secara kontinyu. Untuk mendapatkan derajat keasaman yang diinginkan maka harus ditambahkan TEA secara perlahan sampai didapatkan derajat keasaman yang diinginkan.

Tabel 1. Formula basis gel

Bahan	Komposisi Formula (% b/v)		
	F1	F2	F3
Viskolam	7	8	9
Propilenglikol	10	10	10
Gliserin	5	5	5
TEA (gtt)	15	20	15
<i>DMDM Hydantoin</i>	0,6	0,6	0,6
Aquadest	100	100	100

Pembuatan sediaan gel pegagan

Setelah didapatkan basis gel terbaik formula, gel dengan konsentrasi ekstrak 2,5% dan 5% (Tabel 2). Pembuatan sediaan gel dimulai dari melarutkan ekstrak dengan air suling, kemudian dilakukan dengan cara mencampurkan viskolam dan sebagian air terlebih dahulu menggunakan alat stirer, kemudian ditambah gliserin dan propilenglikol, dan ditambahkan *DMDM hydantoin*. Ekstrak herba pegagan (*Centella asiatica* (L.) urban) dan air suling sampai volume yang diinginkan dengan pengadukan perlahan secara kontinyu sampai membentuk gel yang homogen. Selanjutnya ditambah TEA tetes demi tetes sampai pH yang diinginkan. Gel disimpan dalam wadah tertutup pada suhu ruangan.

Tabel 2. Formulasi basis gel ekstrak pegagan

Bahan	Komposisi Formula (% b/v)	
	F1	F2
Ekstrak Pegagan	2,5	5
Viskolam	8	8
Propilenglikol	10	10
Gliserin	5	5
TEA (ggt)	25	30
DMDM Hydantoin	0,6	0,6
Aquadest	100	100

Prosedur evaluasi

Prosedur evaluasi formulasi sediaan gel berguna untuk mengetahui kualitas awal sediaan gel setelah formulasi. Pengamatan dilakukan dari sejumlah aspek pengujian yaitu warna bau dan tekstur sediaan gel.

Uji organoleptik

Dilakukan pengujian organoleptik dengan mengamati bentuk fisik, bau, dan warna sediaan gel.

Uji pH

Pengujian derajat keasaman dilakukan dengan mengamati tingkat keasaman sediaan gel untuk menjamin sediaan gel tidak menyebabkan iritasi pada kulit. pH sediaan gel diukur dengan pH meter.

Uji viskositas

Uji viskositas dilakukan evaluasi kekentalan dan persentasi kesalahan pada sediaan gel. *Spindle* disesuaikan berdasarkan konsentrasi kekentalan sediaan. Digunakan *spindle* nomor 6 - 7, dan kecepatan yang disesuaikan. *Spindle* dicelupkan ke dalam sampel gel setelah kecepatan yang sudah disesuaikan. Nomor *spindle* disesuaikan diatur dan diamkan beberapa saat sampai nilai viskositas akan menunjukkan tingkat kekentalan dari basis gel.

Uji homogenitas

Pengujian kesamaan basis gel dilakukan dengan pengujian homogenitas untuk melihat pemerataan kandungan yang terdapat pada sediaan gel, sehingga zat aktif tersebar merata kedalam sediaan basis gel.

Uji daya sebar

Sebanyak 1 gram gel letakan di atas kaca berskala, dan bagian atasnya diberi kaca yang sama dengan beban yang berbeda-beda (25 gram, 50 gram, 75 gram dan 100 gram) dan dibiarkan dengan lama waktu kurang lebih 1 menit dan hitung penambahan luas daerah yang diberikan oleh sediaan. Suatu gel dikatakan baik apabila memiliki daya sebar yang luas ditandai dengan diameter yang besar (Voight, 1994). Menurut Garg dkk. (2002), Daya sebar sediaan gel yang baik antara 5 - 7 cm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian formulasi pada penelitian ini dilakukan pada saat pembuatan basis sediaan gel topikal dengan konsentrasi basis viskolam 7%, 8% dan 9%. Setelah dilakukan evaluasi basis yang meliputi organoleptik, pH, serta viskositas. Didapatkan basis terbaik pada konsentrasi basis 8%. Setelah itu dilakukan pembuatan sediaan gel topikal dengan bahan aktif ekstrak pegagan.

Pada formulasi ini dibandingkan mutu sediaan dengan konsentrasi ekstrak 2,5% dan 5%. Setelah dilakukan praformulasi dipilih formula terbaik dengan konsentrasi zat aktif 5% karena memiliki kekentalan yang memenuhi persyaratan dan pH yang tidak mengiritasi kulit. Dalam proses pembuatan, pengadukan tidak boleh terlalu cepat. Karena semakin cepat pengadukan, globul akan terbentuk semakin banyak yang akan mempengaruhi stabilitas sediaan (Nurdianti dkk., 2017).

Hasil evaluasi basis gel

Sediaan dengan basis konsentrasi 7% berwarna putih jernih, berbeda dengan basis 8% dan 9% yang berwarna bening dan didapatkan hasil dengan bau khas viskolam serta tekstur yang lembut dan mudah dioleskan.

Pengukuran pH

Berdasarkan hasil pengukuran pH diperoleh nilai pH untuk basis dengan konsentrasi 7%, 8%, dan 9%. Nilai pH tersebut sesuai karena masuk dalam rentang yang dianjurkan untuk sediaan topikal yaitu antara 4,5 - 8,0 (Dewi, 2010).

Uji viskositas

Pengukuran viskositas telah dilakukan pada basis dengan konsentrasi 7%, 8%, dan 9% menggunakan viskometer Brookfield dengan *spindle* 4 dan kecepatan 4 rpm pada ketiga formula. Berdasarkan hasil pengukuran viskositas diperoleh nilai viskositas untuk konsentrasi 7%, 8%, dan 9%. Berdasarkan (Tabel 3) pada konsentrasi 8%, menunjukkan viskositas yang memenuhi syarat kekentalan sediaan gel, rentang viskositas yang baik berada pada rentang 50-1000 dPa (Nurahmanto *et al.*, 2017).

Tabel 3. Pengujian viskositas pada formula basis gel

Kecepatan (rpm)	Konsentrasi viskolam		
	7%	8%	9%
100	5390	8060	14250

Hasil evaluasi gel

Pengamatan organoleptis telah dilakukan pada hari ke-1, 3, 5, 7, 14 pada suhu ruang dengan suhu 25 – 30°C, diletakkan didalam lemari penyimpanan. Pengujian organoleptis dilakukan untuk menentukan sediaan gel apabila terjadi perubahan dalam bentuk fisik, warna, bau dan tekstur sediaan gel. Hasil pengamatan organoleptis pada (Tabel 4) menunjukkan bahwa Formula 1 memiliki warna hijau bening dan bertekstur lembut. Formula 2 memiliki warna hijau pekat dengan bau khas pegagan dan bertekstur lembut.

Tabel 4. Hasil pengujian homogenitas dan organoleptis selama 14 hari

Formula	H1	H3	H5	H7	H14
Formula 1	√	√	√	√	√
	√	√	√	√	√
	√	√	√	√	√
Organoleptis	warna hijau bening dan bertekstur lembut				
Formula 2	√	√	√	√	√
	√	√	√	√	√
	√	√	√	√	√
Organoleptis	warna hijau pekat dengan bau khas pegagan dan bertekstur lembut				

Keterangan: H1: Hari ke 1; H3: Hari ke 3; H5: Hari ke 5, H7: Hari ke 7; H14: Hari ke 14. (√: Tidak terdapat partikel kasar). (*: Terdapat partikel kasar)

Tabel 6. Pengujian pH selama 14 hari

Formula		H1	H3	H5	H7	H14
Formula 1 (2,5%)	R1	6,70	6,65	7,08	6,50	7,02
	R2	6,63	6,61	7,04	6,73	7,13
	R3	6,65	6,63	7,12	6,43	7,16
Rata-rata ± SD		6,66 ± 0,36	6,63 ± 0,20	7,08 ± 0,40	6,55 ± 1,56	7,10 ± 0,73
Formula 2 (5%)	R1	7,79	7,76	7,70	7,58	6,88
	R2	7,77	7,74	7,68	7,11	6,73
	R3	7,78	7,73	7,66	7,08	6,82
Rata-rata ± SD		7,78 ± 0,10	7,74 ± 0,15	7,68 ± 0,20	7,25 ± 2,80	6,81 ± 0,75

Keterangan H1: Hari ke 1, H3: Hari ke 3, H5: Hari ke 5; H7: Hari ke 7, H14: Hari ke 14
R1: Replikasi 1, R2: Replikasi 2, R3: Replikasi 3

Pengukuran viskositas

Pada hari ke-1, 7 dan 14 dilakukan pengukuran viskositas. Pengukuran viskositas dilakukan pada menggunakan alat viskometer *Brookfield* dengan *spindle* 4, 6, dan 7 pada kecepatan 4 dan 50 rpm pada kedua formula sebanyak tiga kali pada masing-masing formula. Berdasarkan hasil pengukuran viskositas diperoleh nilai viskositas untuk F1 dan F2 pada hari ke-1, 7 dan 14. Berdasarkan penelitian pada F1 dan F2, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan viskositas

Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan pada hari ke-1, 3, 5, 7, dan 14 pada suhu ruang. Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter sebanyak tiga kali pada masing-masing formula. Untuk melihat sediaan tidak mengiritasi kulit maka dilakukan pengujian derajat keasaman dengan alat pH meter pada kulit sesuai (Tabel 5). Semua sediaan topikal yang digunakan pada bagian kulit maka harus disesuaikan dengan derajat keasaman yang ada pada bagian organ yang akan mengalami kontak langsung dengan sediaan, baik topikal maupun transdermal tidak boleh terlalu asam karena akan mengiritasi dan tidak boleh terlalu basa karena akan menyebabkan kulit bersisik (Fauzy, 2012).

Tabel 5. Hasil pengujian pH formula basis gel

pH	Konsentrasi		
	7%	8%	9%
	6,62	6,82	6,82

Berdasarkan hasil pengukuran yang dilakukan dari hari ke 1 sampai hari ke 14 pH diperoleh dengan nilai pH untuk F1 dan F2. Nilai pH tersebut sesuai karena pada hari pertama sampai hari ke 14 pengujian rata-rata pH yang diperoleh pada pengujian adalah 6,66 sudah sesuai (Tabel 6) dan masuk dalam rentang yang dianjurkan untuk sediaan topikal yaitu antara 4,5 - 8,0 (Dewi, 2010).

pada F1 dan F2 selama masa penyimpanan 14 hari. Pada pengujian F1 dari hari ke-1 hingga hari ke-7. pengujian ini bertujuan agar gel mudah dikeluarkan dari *tube* dan mudah dioleskan, dimana konsistensi berkaitan dengan daya alir gel.

Uji homogenitas

Menurut Ditjen POM (2000), pengujian homogenitas atau keseragaman sediaan ini dilakukan untuk mengetahui kondisi homogenitas sediaan gel. Homogenitas ditunjukkan dengan tidak adanya tekstur

kasar dari gel dengan adanya butiran-butiran kasar. Berdasarkan hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa Formula 1 dan Formula 2 memiliki homogenitas yang baik.

Uji daya sebar

Berdasarkan hasil pemerataan atau daya penyebaran gel saat diaplikasikan pada kulit. menunjukkan bahwa hasil dari pengujian sediaan gel sudah sesuai dengan teoritis (Grag dkk., 2002) daya sebar yang baik yaitu 5 - 7 cm. Berdasarkan hasil uji daya sebar dari kedua formula sesuai dengan literatur yaitu masuk dalam rentang yang dianjurkan (5 – 7 cm). Dapat dikatakan sediaan gel memiliki daya sebar yang baik.

KESIMPULAN

Dari kedua pengembangan formulasi gel ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) diperoleh Formula 2 dengan konsentrasi ekstrak 5% lebih stabil dibandingkan dengan Formulasi 1 dengan konsentrasi ekstrak 2,5%.

DAFTAR PUSTAKA

Adria, G. (2009). Uji Aktivitas Krim Ekstrak Etanol Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urb) terhadap Bakteri Penyebab Jerawat. *Skripsi*; Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Padang.

Dewi, R. K. (2010). Optimasi Formulasi Mikroemulsi Sediaan Hormon Testosteron Undekanoat. *Skripsi*; Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta.

Ditjen POM. (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: DepKes RI.

Djajadisastra, J., Mun'im, A. & Dessy, N. P. (2009). Formulasi Gel Topikal dari Ekstrak Nerii Folium dalam Sediaan Anti Jerawat. *Jurnal Farmasi Indonesia*; 4; 210-216.

Fauzy, A. (2012). Pengaruh Konsentrasi Minyak Ikan terhadap Penetrasi Kurkumin dalam Sediaan Mikroemulsi Gel. *Skripsi*; Fakultas Matematika

dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Garg, A. D., Aggarwal, S. G. & Sigla, A. K. (2002). Spreading of Semisolid Formulation. USA: Pharmaceutical Technology.

Kementrian Kesehatan Republik Indonesia, (2014), Farmakope Indonesia (edisi V). Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.

Nurahmanto D., Mahrifah I. R. N. & Rosyidi V. A. (2017). Formulasi Sediaan Gel Dispersi Padat Ibuprofen: Studi Geling Argent dan Senyawa Peningka. *Ilmiah Manuntung*; 3; 96-105.

Nurdianti, L., Azzahra, S. F. & Aji, N. (2017). Pengembangan Formulasi Sediaan Gel Rambut Antiketombe Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) dengan Menggunakan Viscolam sebagai *Gelling Agent* dan Uji Aktivasnya terhadap Jamur *Pityrosporum ovale*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*; 17; 456-467.

Primastuti, R. F. (2013). Antioxidant and Cytotoxic Activities of *Centella asiatica* L. Leaves and Extract of Green Coffee Beans in a Cream Preparation for Grade 1-3 Cellulite and Slimming. *Makara Journal Sains*; 17; 1-5.

Sasanti, T. J. Wibowo, M. S., Fidrianny, I. & Caroline, S. (2012). Formulasi Gel Ekstrak Air Teh Hijau dan Penentuan Aktivitas Antibakterinya terhadap *Propionibacterium acne*. *Skripsi*: School of Pharmacy ITB.

Sikareepaisan, P., Suksamrarn, A. & Supaphol, P. (2008). Electrospun Gelatin Fiber Mats Containing A Herbal *Centella asiatica* Extract and Release Characteristic of Asiaticoside. *Nanotechnology*; 19; 1-10.

Voight, R. (1994). Buku Pelajaran Teknologi Farmasi (Edisi V). Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

Wasitaatmadja, S. (1997). Penuntun Ilmu Kosmetik. Jakarta: Universitas Indonesia Press.

Hubungan Tingkat Kejadian Efek Samping Antiinflamasi Non Steroid dengan Usia dan Jenis Kelamin

Keni Idacahyati^{1*}, Tita Nofianti¹, Geby Alinda Aswa¹, Maritsa Nurfatwa²

¹Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, STIKes Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya

²Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Cibinong, Bogor

*Corresponding author: keniida@stikes-bth.ac.id

Submitted: 11 Desember 2019

Accepted: 13 Februari 2020

Published: 29 Februari 2020

Abstract

Background: Non steroid antiinflammatory drug (NSAIDs) are used to reduce chronic pain and inflammation disease. NSAIDs can inhibit the enzymes cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2, thereby reducing prostaglandin and prostacyclin production. The side effects of NSAIDs are the GI complications, cardiovascular events and renal disturbances. **Objective:** This study aimed to determine the adverse drug reaction of NSAIDs and to see the relationship between the incidence of Adverse Drug Reaction (ADR) with age and sex in self-medication patients in Tasikmalaya City. **Methods:** This observational study was conducted prospectively from February till May 2019. A purposive sampling in 52 respondent was done. The Naranjo Algorithm was used a data collection toll to assess relationship between an identified untoward clinical event and a drug. The inclusion criterias was respondents aged 18 years old and above who used NSAIDs. Exclusion criteria were pregnanct women, and responden who were prescribed with NSAIDs. A Spearman correlation test was done to analyse the data. **Results:** The results showed that 13 from 52 participant experience ADR from using NSAIDs nausea, the stomachache, increased blood pressure and melena. There was a significant relationship between the incidence of ADR with age ($p = 0.001$) and there was no significant relationship between the incidence of ADR with gender ($p = 0.155$) (OR: 0.657). **Conclusions:** ADR that occurs in respondents is related to age but there is no relationship with gender.

Keywords: adverse drug reaction, naranjo, NSAID, side effect

Abstrak

Pendahuluan: Non steroid antiinflamasi drugs (NSAIDs) digunakan dalam mengatasi nyeri kronis dan inflamasi. NSAIDs menurunkan produksi prostaglandin dan prostasiklin dengan cara menghambat enzim siklooksigenase 1 dan siklooksigenase 2. Efek samping NSAIDs dapat menyebabkan gangguan di gastrointestinal, penyakit kardiovaskular, dan gangguan fungsi ginjal. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kejadian *adverse drug reaction* obat golongan NSAIDs dan melihat hubungan antara kejadian ADR dengan usia dan jenis kelamin pada pasien swamedikasi di Kota Tasikmalaya. **Metode:** Penelitian ini dilakukan secara observasional dan prospektif yang dilakukan di 2 Apotek Kota Tasikmalaya pada bulan Februari - Mei 2019. Metode purposif sampling dilakukan untuk pengambilan sampel dengan jumlah sampel 52 responden. Instrumen pengambilan data menggunakan Algoritma Naranjo untuk mengidentifikasi apakah terdapat hubungan antara gejala klinik yang tidak diinginkan dengan obat yang digunakan menggunakan kuesioner untuk mendapatkan skor probabilitas. Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah responden yang mengkonsumsi NSAIDs dengan usia lebih dari 18 tahun, kriteria eksklusi adalah wanita hamil dan responden dengan penggunaan obat golongan NSAIDs menggunakan resep dokter. Analisis data secara statistik menggunakan uji korelasi *Spearman*. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan dari 52 pasien swamedikasi terdapat 13 orang (25%) mengalami ADR obat golongan NSAIDs berupa mual, sakit di bagian lambung, tekanan darah meningkat dan melena. Hasil analisis statistik menunjukkan terdapat hubungan kuat antara kejadian ADR dengan usia ($p = 0,001$) dan tidak adanya hubungan antara kejadian ADR dengan jenis kelamin ($p = 0,155$) (OR: 0,657).

Kesimpulan: ADR yang terjadi pada responden berhubungan dengan usia tetapi tidak terdapat hubungan dengan jenis kelamin.

Kata kunci: efek samping, *adverse drug reaction*, naranjo, NSAID, anti inflamasi

PENDAHULUAN

Salah satu obat yang sering digunakan dalam mengatasi inflamasi adalah NSAIDs (IRA, 2014). NSAID bekerja dengan cara menghambat enzim siklooksigenase 1 dan 2 sehingga produksi prostaglandin (PGE2) dan prostasiklin (PGI2) yang merupakan mediator inflamasi yang mengakibatkan terjadinya vasokonstriksi pembuluh darah dapat menurun. Penggunaan NSAIDs ini dapat berdampak pada timbulnya beberapa efek samping dan komplikasi seperti gangguan fungsi ginjal, edema, hipertensi, dan pendarahan di gastrointestinal (Lovell & Ernst, 2017). Salah satu masalah yang berkaitan dengan penggunaan obat adalah *Adverse Drug Reactions* (ADR). ADR adalah reaksi obat yang tidak diinginkan yang terjadi selama penggunaan klinis. Reaksi obat yang merugikan terjadi hampir setiap hari di institusi perawatan kesehatan dan dapat mempengaruhi kualitas hidup pasien secara negatif, seringkali menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang cukup tinggi. Penelitian yang dilakukan pada 1000 pasien di RS Singapura menyebutkan bahwa 12,4% pasien mengalami ADR terkait dengan pemberian obat cardiovascular (Chan dkk., 2016). ADRs yang terjadi pada penggunaan NSAIDs sebanyak 12% (Komagamine & Kobayashi, 2019). ADR yang banyak ditemukan pada penggunaan NSAIDs yaitu sebanyak 56,7% merupakan gangguan pada gastrointestinal seperti dispepsia, diare, konstipasi, mual, muntah, dan gastritis dan 16,7% gangguan pada kardiovaskular seperti hipertensi dan hipotensi (Rahmawati dkk., 2008). ADR yang terjadi pada pasien muskuloskeletal yang mengkonsumsi NSAIDs sebanyak 12% mengalami gangguan gastrointestinal (Koffeman dkk., 2015). Ibuprofen dan naproxen dosis rendah merupakan NSAIDs yang mungkin meningkatkan resiko penyakit kardiovaskular (McGettigan & Henry, 2011). NSAID juga merupakan obat yang paling banyak menyebabkan pasien dirawat karena mengalami ADR (Christianie dkk., 2008).

Obat-obatan yang menyebabkan ADR sering ditemui pada populasi pasien dengan resiko tinggi (Camargo dkk., 2009). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran ADR obat golongan NSAID dan melihat hubungan antara kejadian ADR dengan usia

dan jenis kelamin pada pasien swamedikasi di apotek Kota Tasikmalaya.

METODE

Penelitian ini dilakukan secara observasional yang bersifat prospektif dengan pengambilan data menggunakan algoritma Naranjo dan formulir informasi pasien mengenai ADR obat golongan NSAID di 2 apotek Kota Tasikmalaya pada bulan Februari - Mei 2019. Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan berdasarkan teknik *purposive sampling*. Kriteria inklusi pasien yang melakukan swamedikasi obat golongan NSAID pada bulan Februari - Mei 2019, berusia lebih dari 18 tahun. Kriteria eksklusi wanita hamil dan pasien dengan penggunaan obat golongan NSAID menggunakan resep dokter. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari komisi etik penelitian UNPAD Nomor: 269/UN6.KEP/EC/2019. Data dianalisis menggunakan SPSS uji *Spearman* untuk mengetahui hubungan kejadian ADR dengan jenis kelamin dan usia.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 menunjukkan bahwa terdapat lebih banyak pasien yang melakukan swamedikasi obat golongan NSAID dengan jenis kelamin perempuan yaitu sebanyak 28 (54%) pasien dari total 52 (100%). Prevalensi nyeri pada perempuan lebih besar dibandingkan dengan laki-laki sehingga penggunaan NSAID lebih banyak pada perempuan (Larsson dkk., 2017).

Tabel 1. Klasifikasi pasien yang mengkonsumsi NSAID berdasarkan jenis kelamin dan usia

Demografi	Jumlah Pasien	Persentase
Jenis Kelamin		
Laki-laki	24	46%
Perempuan	28	54%
Usia (Tahun)		
18 – 30 (Remaja)	18	35%
31 – 45 (Dewasa)	20	38%
46 – 60 (Paruh Baya)	14	27%

Distribusi pasien yang mengkonsumsi obat Tasikmalaya pada bulan Februari - Mei 2019, sebanyak 52 pasien dengan pasien termuda berumur 19 tahun dan pasien tertua berumur 59 tahun. Pembagian usia dimulai dari 18 tahun, sesuai dengan subyek penelitian. Pengelompokan pasien tersebut dilakukan untuk mengetahui pada rentan berapakah kejadian ADR pada pasien dengan penggunaan obat golongan NSAID banyak terjadi.

Berdasarkan hasil penelitian terhadap 52 responden, adanya ADR obat golongan NSAID dirasakan oleh 13 pasien. ADR yang mungkin terjadi akibat penggunaan obat golongan NSAID yaitu mual, rasa perih di lambung, feses hitam (melena), dan meningkatnya tekanan darah. Setiap gejala dan keluhan setelah mengkonsumsi NSAID pasien dianjurkan untuk melaporkan kepada petugas apotek di apotek Kota Tasikmalaya.

Berdasarkan Tabel 2, perempuan lebih banyak mengalami ADR yaitu sebanyak 8 orang (62%) dibandingkan dengan pasien laki laki sebanyak 5 orang (38%). Beberapa studi telah menemukan, bahwa wanita lebih berpotensi mengalami ADR dibandingkan dengan pria karena wanita lebih sensitif terhadap reaksi obat (Davies dkk., 2011).

Tabel 2. Prevalensi kejadian ADR berdasarkan jenis kelamin dan usia

Jenis kelamin	Jumlah pasien	Persentase
Laki-laki	5	38%
Perempuan	8	62%
Usia		
18 – 30	0	0
31 – 45	5	38%
46 – 60	8	62%

Kejadian ADR yang paling banyak terjadi pada umur 32 - 59 tahun dengan jumlah pasien 13 (25%). Klasifikasi pasien swamedikasi yang mengalami ADR obat golongan NSAID berdasarkan usia di apotek Kota Tasikmalaya terdapat pasien pada usia kategori dewasa sebanyak 5 (38%) orang dan paruh baya sebanyak 8 (62%) orang.

Dalam hal ini menunjukkan adanya peningkatan kejadian efek samping obat dengan bertambahnya usia. Semakin bertambah usia maka kemampuan fungsi hati terutama peran enzim CYP 450 dalam metabolisme obat menurun serta kemampuan untuk mengeliminasi obat juga menurun sehingga beresiko besar untuk

golongan NSAID dengan kategori usia di apotek Kota mengalami efek samping obat. Disamping itu, pada usia tua kejadian efek samping obat lebih banyak terjadi hal ini disebabkan karena semakin meningkatnya usia proses metabolisme akan semakin lambat sehingga *clearance* hepar, aktivitas enzimatik, dan ketersediaan kofaktor endogen yang membantu metabolisme obat menurun (Reni dkk., 2016)

Pada usia tua terjadi perubahan fungsi anatomi dan fisiologi manusia, seperti kehilangan unit fungsional organ yang mengakibatkan obat didalam tubuh tidak dapat bekerja secara maksimal. Perubahan penanganan tubuh terhadap obat juga dapat mengakibatkan perubahan dalam respon farmakodinamika (Davies dkk., 2011).

Berdasarkan Tabel 3 terdapat hubungan antara kejadian ADR obat golongan NSAIDs dengan usia, dari data diatas diperoleh nilai korelasi sig (2-tailed) sebesar 0,001 atau < 0,05. Dapat diartikan bahwa semakin tinggi usia maka semakin besar kemungkinan terjadi ADR obat golongan NSAID.

Tabel 3. Gejala ADR responden berdasarkan usia

Usia (Tahun)	Nama Obat	ADR	P (p < 0.05)
32	Asam Mefenamat	GI	0,001
	Na Diklofenak	Mual	
34	Meloxicam	Mual	
35	Ibuprofen	Mual	
36	Meloxicam	GI TD	
	Etoricoxib	meningkat	
47	Piroxicam	GI TD	
49	Celecoxib	meningkat TD	
50	Etoricoxib	meningkat	
57	Asam Mefenamat	GI TD	
	Etoricoxib	meningkat	
58	Piroxicam	GI	
59	Piroxicam	Melena	

Tabel 4 menunjukkan tidak terdapat hubungan antara kejadian ADR obat golongan NSAIDs dengan jenis kelamin, dengan perolehan nilai korelasi sig sebesar 0,155 (p > 0,05). Jenis kelamin pria ataupun wanita tidak berbeda signifikan dalam mengalami kejadian ADR obat golongan NSAIDs.

Tabel 4. Hubungan kejadian ADR obat golongan NSAID dengan jenis kelamin

JK	Nama Obat	ADR	Sig (p < 0.05)
P	Asam Mefenamat	GI	0,15
P	Na. Diklofenak	Mual	
L	Meloxicam	Mual	
P	Ibuprofen	Mual	
P	Meloxicam	GI	
P	Etoricoxib	TD meningkat	
P	Piroxicam	GI	
L	Celecoxib	TD meningkat	
L	Etoricoxib	TD meningkat	
L	Asam Mefenamat	GI	
P	Etoricoxib	TD meningkat	
L	Piroxicam	GI	
P	Piroxicam	Feses Hitam	

Keterangan: JK: jenis kelamin, P: perempuan, L: laki-laki

Pada Tabel 5 menunjukkan proporsi kejadian ADR. Jumlah total yang merasakan ADR yaitu 13 responden, terdapat 4 orang yang mendapat skor sebesar 6 (kemungkinan besar ADR/probable), 3 orang mendapat skor 7 (kemungkinan besar ADR/probable), 4 orang mendapat skor 8 (kemungkinan besar ADR/probable), dan 2 orang yang mendapat skor 9 (pasti ADR/difinite). NSAIDs dapat merusak mukosa lambung secara topikal dan sistemik. Prevalensi NSAIDs dapat menginduksi kerusakan lambung antara 10 - 25% dan itu merupakan penyebab peningkatan morbiditas dan mortalitas. Golongan diklofenak paling banyak diresepkan dan paling tinggi mengalami ADR dengan presentase 73% (Gor & Saksena, 2011). NSAIDs bersifat lipofilik dan asam, sehingga dapat menyebabkan kerusakan secara topikal, sedangkan efek sistemik NSAIDs disebabkan karena kerusakan mukosa yang terjadi akibat penurunan produksi prostaglandin. Produksi prostaglandin menurun juga dapat menyebabkan kerusakan lambung dan usus dua belas jari. Akibat penggunaan NSAIDs adalah gangguan fisiokimia pertahanan mukosa lambung dan inhibisi sistemik terhadap pelindung mukosa lambung melalui inhibisi aktivitas siklooksigenase (COX) mukosa lambung. NSAIDs bekerja menghambat sintesis prostaglandin (PG). Prostaglandin merupakan salah satu mediator inflamasi, pada saat prostaglandin dihambat mengakibatkan berkurangnya tanda inflamasi. Meskipun demikian, prostaglandin merupakan zat yang dapat melindungi mukosa saluran cerna atas. Penghambatan sintesis PG dapat menyebabkan berkurangnya ketahanan mukosa, yang menyebabkan iritasi dalam bentuk lesi akut mukosa lambung dengan bentuk ringan sampai berat. NSAIDs yang bersifat lipofilik dan asam mempermudah

trapping ion hidrogen masuk mukosa dan menimbulkan ulserasi (Amrulloh & Utami, 2016).

Tabel 5. Proporsi kategori kejadian ADR

Kategori kejadian ADR	Skor	Jumlah
Definite (9 - 13)	9	2
Probable (5 - 8)	8	4
Probable (5 - 8)	7	3
Probable (5 - 8)	6	4

Terhambatnya enzim (COX-1 dan COX-2) mengakibatkan penurunan (PGE2) dan (PGI2) Penurunan produksi prostaglandin ini menyebabkan peningkatan retensi natrium. Peningkatan retensi natrium ini dapat menyebabkan komplikasi seperti hipertensi, gangguan fungsi ginjal, edema, dan pendarahan gastrointestinal. Peningkatan retensi natrium dapat menyebabkan peningkatan tekanan darah (Landefeld dkk., 2016; Lovell & Ernst, 2017). Tekanan darah akan meningkat dengan umur yang semakin menua dan hipertensi (peningkatan tekanan darah secara persisten) sering terjadi pada umur yang semakin tua (Kosugi dkk., 2009).

Beberapa golongan obat yang dikenal dapat memberikan efek perdarahan atau meningkatkan resiko perdarahan diantaranya, obat golongan NSAIDs. Obat golongan NSAIDs yang dapat meningkatkan resiko perdarahan antara lain ketorolak, asam mefenamat, natrium diklofenak, kalium diklofenak, piroksikam, ibuprofen, ketoprofen, ketorolac, naproxen, indometasin (Kang dkk., 2011). Penelitian mengenai perdarahan pada saluran cerna mengakibatkan 54% kematian dari 1225 kasus reaksi efek samping obat. Pasien dapat melihat manifestasi dari perdarahan berupa mimisan, perdarahan pada saluran cerna, feses hitam, ataupun berupa luka memar (Pirmohamed dkk., 2004).

Perdarahan terjadi saat pembuluh darah rusak yang menyebabkan darah keluar dari pembuluh darah. Ruptur organ dan pembuluh darah besar adalah contoh perdarahan internal (Lammers, 2009). Obat-obat NSAIDs seperti, ketorolak, piroksikam, asam mefenamat, natrium diklofenak secara tidak langsung diketahui dapat menyebabkan perdarahan pada saluran cerna hal ini berbeda dengan obat-obat dari golongan lain yang dapat menyebabkan perdarahan. Kerja obat-obat NSAIDs yang tidak selektif dalam menghambat enzim siklooksigenase, penghambatan COX-1 pada pada mukosa lambung dapat menyebabkan perdarahan pada lambung. Piroksikam dan ketorolak merupakan 2 NSAIDs yang paling besar menimbulkan luka pada saluran pencernaan (Lanas dkk., 2006).

ADRs terjadi pada pemberian NSAIDs termasuk pendarahan gastrointestinal, efek terhadap jantung dan ginjal dilaporkan pada penelitian sebelumnya (Moore dkk., 2015). Pada penelitian ini dilakukan hubungan kejadian ADRs dengan usia dan jenis kelamin, hal ini dilakukan untuk melihat faktor resiko yang mungkin terjadi pada pemberian NSAIDs.

Faktor resiko kejadian ADR NSAIDs adalah usia, riwayat penyakit tukak lambung, *dyspepsia*, penggunaan obat-obatan secara bersamaan seperti kortikosteroid dan antikoagulan, penggunaan NSAIDs dalam dosis tinggi dan penyakit kronis (Gor & Saksena, 2011).

Keterbatasan yang terjadi dalam penelitian ini adalah sedikitnya jumlah sampel yang diambil karena keterbatasan waktu penelitian dan tidak dilakukannya pengukuran konsentrasi obat dalam darah pada saat penentuan ADR menggunakan menggunakan algoritma naranjo.

KESIMPULAN

ADR yang terjadi pada responden berhubungan dengan usia tetapi tidak terdapat hubungan dengan jenis kelamin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Kemenristek Dikti yang telah membiayai penelitian ini dalam hibah penelitian dosen pemula.

DAFTAR PUSTAKA

- Amrulloh, F. M. & Utami, N. (2016). Hubungan Konsumsi OAINS terhadap Gastritis. *Jurnal Majority*; 5; 18–21.
- Camargo, C. A., Rachelefsky, G. & Schatz, M. (2009). Managing Asthma Exacerbations in the Emergency Department: Summary of the National Asthma Education and Prevention Program Expert Panel Report 3 Guidelines for the Management of Asthma Exacerbations. *Proceedings of the American Thoracic Society*; 6; 357–366.
- Chan, S. L., Ang, X., Sani, L. L., Ng, H. Y., Winther, M. D., Liu, J. J., Brunham, L. R. & Chan, A. (2016). Prevalence and Characteristics of Adverse Drug Reactions at Admission to Hospital: A Prospective Observational Study. *British Journal of Clinical Pharmacology*; 82; 1636–1646.
- Christianie, M., Setiati, S., Trisna, Y. & Andrajati, R. (2008). Kejadian Reaksi Obat yang Tidak

Dikehendaki yang Menyebabkan Pasien Usia Lanjut Dirawat di Ruang Perawatan Penyakit dalam Instalasi Rawat Inap B Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo. *Majalah Ilmu Kefarmasian*; 5; 138–149.

- Davies, G., Tenesa, A., Payton, A., Yang, J., Harris, S. E., Liewald, D., Ke, X., Hellard, S. L., Christoforou, A., Luciano, M., McGhee, K., Lopez, L., Gow, A. J., Corley, J., Redmond, P., Fox, H. C., Haggarty, P., Whalley, L. J., McNeill, G., Goddard, M. E., Espeseth, T., Lundervold, A. J., Reinvang, I., Pickles, A., Steen, V. M., Ollier, W., Porteous, D. J., Horan, M., Starr, J. M., Pendleton, N., Visscher, P. M., & Deary, I. J. (2011). Genome-wide Association Studies Establish that Human Intelligence is Highly Heritable and Polygenic. *Molecular Psychiatry*; 16; 996–1005.
- Gor, A. P. & Saksena, M. (2011). Adverse Drug Reactions of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs in Orthopedic Patients. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*; 2; 26–29.
- Rekomendasi Perhimpunan Rheumatologi Indonesia (IRA). (2014). Penggunaan Obat Anti Inflamasi Non Steroid. <http://reumatologi.or.id/var/rekomendasi>. Accessed: 27 April 2019.
- Kang, J. M., Kim, N., Lee, B. H., Park, H. K., Jo, H. J., Shin, C. M., Lee, S. H., Park, Y. S., Hwang, J. H., Kim, J. W., Jeong, S. H., Lee, D. H., Jung, H. C. & Song, I. S. (2011). Risk Factors for Peptic Ulcer Bleeding in Terms of Helicobacter Pylori, NSAIDs, and Antiplatelet Agents. *Scandinavian Journal of gastroenterology*; 46; 1295–1301.
- Koffeman, A. R., Van Buul, A. R., Valkhoff, V. E., Jong, G. W. T., Bindels, P. J. E., Sturkenboom, M. C. J. M., Lei, J. D. V., Luijsterburg, P. A. J. & Bierma-Zeinstra, S. M. A. (2015). Adverse Drug Reactions in a Primary Care Population Prescribed Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs. *Scandinavian Journal of Primary Health Care*; 33; 163–169.
- Komagamine, J. & Kobayashi, M. (2019). Prevalence of Hospitalisation Caused by Adverse Drug Reactions at An Internal Medicine Ward of a Single Centre in Japan: A Cross-sectional Study. *BMJ Open*; 9; 1–7.
- Kosugi, T., Nakagawa, T., Kamath, D. & Johnson, R. J. (2009). Uric Acid and Hypertension: An Age-

- Related Relationship?. *Journal of Human Hypertension*; 23; 75–76.
- Lammers, R. L. (2009). Roberts: Clinical Procedures in Emergency Medicine, 5th ed. Philadelphia: Saunders.
- Lanas, A., García-Rodríguez, L. A., Arroyo, M. T., Gomollón, F., Feu, F., González-Pérez, A., Zapata, E., Bástida, G., Rodrigo, L., Santolaria, S., Güell, M., de Argila, C. M., Quintero, E., Borda, F. & Piqué, J. M. (2006). Risk of Upper Gastrointestinal Ulcer Bleeding Associated with Selective Cyclo-oxygenase-2 Inhibitors, Traditional Non-aspirin Non-steroidal Anti-Inflammatory Drugs, Aspirin and Combinations. *Gut*; 55; 1731–1738.
- Landefeld, K., Gonzales, H. & Sander, G. E. (2016). Journal of Clinical Case Reports Hypertensive Crisis: The Causative Effects of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Journal of Clinical Case Reports*; 6; 10–12.
- Larsson, C., Hansson, E. E., Sundquist, K. & Jakobsson, U. (2017). Chronic Pain in Older Adults: Prevalence, Incidence, and Risk Factors. *Scandinavian Journal of Rheumatology*; 46; 317–325.
- Lovell, A. R. & Ernst, M. E. (2017). Drug-Induced Hypertension: Focus on Mechanisms and Management. *Current Hypertension Reports*; 19; 39.
- McGettigan, P. & Henry, D. (2011). Cardiovascular Risk with Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs: Systematic Review of Population-based Controlled Observational Studies. *PLoS Medicine*; 8.
- Moore, N., Pollack, C. & Butkerait, P. (2015). Adverse Drug Reactions and Drug–drug Interactions with Over-the-counter NSAIDs. *Therapeutics and Clinical Risk Management*; 11; 1061–1075.
- Pirmohamed, M., James, S., Meakin, S. & Green, C. (2004). Adverse Drug Reactions as Cause of Admission To Hospital: Authors’ Reply. *BMJ*; 329; 15-19.
- Rahmawati, F., Pramantara, I. D. P., Rochmah, W. & Sulaiman, A. S. (2008). Adverse Drug Reactions (ADRs) in Geriatric Hospitalized Patients. *Majalah Farmasi Indonesia*; 19; 185–190.
- Reni, Wahyono, T. Y. M. & Yulismar. (2016). Kejadian Efek Samping Obat Anti Tuberkulosis pada Pasien Tuberkulosis. *Jurnal Respirologi Indonesia*; 36; 222–230.

The Effect of Vitamin C Addition on Epigallocatechin Gallate (EGCG) Stability in Green Tea Solution

Alief Putriana Rahman¹, Djoko Agus Purwanto², Isnaeni^{2*}

¹Master of Pharmaceutical Science, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya

²Departement of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya

*Corresponding author: isna.yudi@gmail.com

Submitted: 5 Desember 2019

Accepted: 15 Januari 2020

Published: 29 Februari 2020

Abstract

Background: Epigallocatechin gallate (EGCG) is the most abundant green tea catechin with a powerful antioxidant effect to prevent cancer cells. EGCG in green tea solution is highly susceptible to degradation, this it is urgent to increase the stability of EGCG by vitamin C addition. Vitamin C can regenerate radical EGCG to be normal EGCG. **Objective:** This research aim was to determine percent of decreased level of EGCG before and after vitamin C addition. **Methods:** This paper was focused on enhancing the stability of EGCG by 1 mg (GTVC1), 1.5 mg (GTVC2), 2 mg (GTVC3), 2.5 mg (GTVC4) and 3 mg (GTVC5) of vitamin C addition to 10 g/L of green tea solution concentration. Evaluations of EGCG were conducted at 0 days, 1 day, 2 days, 3 days, and 4 days of storage time. EGCG was analyzed using thin layer chromatography (TLC) densitometry methods. The stability of EGCG was determined by % of decreased EGCG. **Results:** Percent of loss of EGCG in GT, GTVC1, GTVC2, GTVC3, GTVC4 and GTVC5 after 4 days storage were 19.93%, 10.89%, 21.08%, 18.18%, 28.56%, and 9.76%, respectively. **Conclusion:** This study showed that in 4 days storage, the decreased level of EGCG in green tea solution with 3 mg of vitamin C addition (GTVC5) was 9.76% which was smaller than green tea solution without vitamin C addition (GT) which EGCG decreasing 19.93%.

Keywords: EGCG, vitamin C, stability, green tea, TLC

INTRODUCTION

Tea is the most widely consumed beverage in the world and derived from leaves of the plant *Camellia sinensis*. In Indonesia, tea is one of the agricultural main products and commodity exports. Green tea is a type of tea that has the greatest health benefit owing to high radical scavenging ability. Indonesia recognized as the third-largest green tea consumption country in Asia. It was known that about 30,000 ton green tea was consumed annually (Kosugi, 2019).

Green tea contains a number of biologically active compounds, which include (-)-epicatechin (EC), (-)-epicatechin-3-gallate (ECG), (-)-epigallocatechin (EGC), and (-)-epigallocatechin-3 gallate (EGCG) (Rady *et al.*, 2018).

Around 59% of the total catechin from the leaves of the green tea is (-) epigallocatechin-3 gallate (EGCG) (Rady *et al.*, 2018). The radical scavenging ability of EGCG was higher than other catechins because EGCG has the number of hydroxyl groups

much more than others. That is why, EGCG can inhibit or reduce cancer cells in the human body (Wu *et al.*, 2011). Nevertheless, the chemical structure of EGCG makes it susceptibles to degradation. It is caused by auto-oxidation and epimerization process. The auto-oxidation degrades EGCG to be theasinensin A and epimerization degrade EGCG to be GCG or galocatechin gallate (Krupkova *et al.*, 2016).

The degradation of EGCG is affected by parameters such as extraction of brewing methods, storage temperature, and type of storage bottle. For this research, all of the parameters were used in optimum condition from the previous study. Ultrasonic extraction was used for brewing the sample at temperature 80°C (Das & Eun, 2018). Dark bottle was used for storage to avoid the light (Zeng *et al.*, 2017). The temperature of storage was set at 4°C (Sigma & Zeng *et al.*, 2017).

The previous study explained that vitamin C or Ascorbic acid addition could stabilize the content of

EGCG in green tea brewing. Vitamin C was found to regenerate EGCG radicals. The interactions between EGCG and vitamin C could be synergistic. The synergistic effect was considered to occur owing to the difference of the reduction potential (Dai *et al.*, 2008). The reduction potential of EGCG was 430 mV and the reduction potential of vitamin C was 282 mV (Dai *et al.*, 2008). Based on that, vitamin C was easier to transfer electron and EGCG was also easier to attract electron. EGCG degradation would attract electrons from vitamin C easily, so EGCG radical regenerated to normal EGCG. Oxidation of vitamin C forms oxalic and trienoic acid (Truffault *et al.*, 2017). Vitamin C level of additions will give effect for pH condition of samples. Moreover, uniformity of pH for sample could mask the effects of vitamin C addition.

Several methods have been used to determine EGCG content in green tea, such as the HPLC-UV (Fangueiro *et al.*, 2014) and TLC-densitometry (Abdelsalam *et al.*, 2014). The HPLC method offers high percentage of recovery (99-104%), however it requires solvent and mobile phases with high purity (HPLC grade), needs high cost, is complex to operate, and had slower analysis time. The TLC-densitometry can use pro analysis grade solvent and mobile phase, low cost, simple to operate, less analysis time, and environmentally friendly. Based on the explanation, TLC-densitometry was chosen to analyze EGCG stability in green tea (Abdelsalam *et al.*, 2014).

The aim of this study was to determine the percentage reduction of EGCG before and after vitamin C addition.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Chemicals analysis

EGCG standard was purchased from Sigma (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA). The solvent for extraction and for mobile phases were chloroform pro analysis (Merck), ethyl acetate pro analysis (Fulltime), formic acid pro analysis (Merck), acetone pro analysis (Smart-Lab). Vitamin C was obtained from Sigma Chemical, and methanol pro analysis (Fulltime) and the stationary phase of TLC silica gel aluminum plate 60F-254 (Merck made in Germany) were used. Some chemical materials for determination of vitamin C, concentration such as potassium iodate solution 0.002 mol L⁻¹, starch indicator solution 0.5%, potassium iodide solution 0.6

mol L⁻¹ and hydrochloric acid 1 mol L⁻¹ were also used.

Green tea material

A commercial green tea powdered used in this research was Meditea[®] (food grade) was purchased in Surabaya, Indonesia.

Instruments

Microanalytical balance (Mettler Toledo XPE26), analytic scale balance (Ohaus PA-214), ultrasonic bath (Branson 3510), Burette, Chromatography chamber (Camag, 20 x 10 cm), pH Meter (Ohaus starter 3000), TLC Plate (TLC Silica gel 60 F254, Merck), Camag Linomat 5, Camag TLC Scanner 4, Camag TLC Visualizer 2.

Methods

Vitamin C standard solution

Concentration of 500 ppm of vitamin C solution was freshly prepared from 12.5 mg of vitamin C standard in 25 mL of aqueous solution.

Green tea solution preparation

Distilled water was firstly heated at 80°C. As much as 0.25 g of tea powder in six replicates were immersed for 15 minutes in 15 mL of distilled water (in 25 mL volumetric flask) in ultrasonic bath. After 10 minutes, 2, 3, 4, 5, and 6 mL of vitamin C (500 ppm) were added to the sample solution and followed by distilled water addition up to the required volume. Then, the sample solutions were kept in dark glass bottle at 4°C (Das & Eun, 2018).

Extraction of green tea solution

Three mL of green tea infusion was extracted twice with 3 mL of chloroform. The remaining aqueous layer was extracted twice with 3 mL of ethyl acetate. The ethyl acetate layer containing EGCG was then collected and evaporated in a fume hood.

EGCG standard solution

Pure standard of (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) was prepared in methanol. Six concentrations of the calibration solution were made at the level of 50, 100, 200, 300, 400, and 500 ppm.

Maximum wavelength optimization of EGCG

The maximum wavelength of EGCG was measured in EGCG solutions (100 and 200 ppm). The wavelength which showed the highest absorbance was chosen for the next analysis.

TLC condition

The chamber was previously saturated for 2 hours with chloroform:acetone:Acetic acid (10:8:1) as a mobile phase. Densitometric scanning was performed with TLC scanner at λ 278 nm. The slit dimension was

4.00 x 0.30 mm. The scanning speed was 20 mm/s. The plate was activated in an oven at 100°C for 15 minutes.

Vitamin C determination

As much as 10 mL of GT, GTVC1, GTVC2, GTVC3, GTVC4 and GTVC5 was taken and moved into 250 mL of conical flask and 75 mL of distilled water, 2.5 mL of potassium iodide solution, 2.5 mL of hydrochloric acid solution, and 0.5 mL of starch indicator were added. And then, the sample was titrated with potassium iodate solution until the endpoint. The endpoint was achieved when the color of sample changes to dark-blue. Note the volume of potassium iodate needed.

Validation

Selectivity

The selectivity test was implemented by determining the separation peak of EGCG and the closest peak to it. EGCG solution (500 ppm) and extract solution were prepared. All of the samples were filtered using a membrane filter (0.45 µm). The EGCG standard and extract solutions were spotted to the TLC plate, eluted, and scanned using a densitometer. The selectivity test parameters were a resolution (R_s), R_f , and peak purity. The acceptance of resolution value for R_s is ≥ 1.25 , R_f between 0.3 - 0.8, and peak purity value close to 1.0.

Linearity

The linearity test was analyzed by preparing 10 different concentration solutions of standard (500, 450, 400, 350, 300, 250, 200, 150, 100 and 50 ppm). All EGCG standard solutions were spotted to the TLC plates, eluted and scanned using a densitometer. A regression line was made from the concentration of EGCG standard (x) and area (y).

Accuracy

The accuracy test was analyzed by spiking three different concentrations (80%, 100%, and 120%) were made to sample. Three replicates were made for every concentration of EGCG standard addition. All of the samples were filtered using a membrane filter (0.45 µm). Then, all samples and EGCG standards were spotted to the TLC plate, eluted, and scanned using a densitometer. The sample solution without standard addition was also analyzed. The quantity of determined EGCG was determinate from the corresponding calibration curve. The accuracy requirement is assessed based on the recovery. The recovery for 1 - 10% of EGCG in the sample was between 92 - 105% (AOAC International, 2013).

Precision

The precision test was analyzed by spiking a 100% concentration solution of EGCG standard to sample solution (six replications). All of the samples and EGCG standard were filtered using membrane filter (0.45 µm). Then, all samples were spotted to the TLC plate, eluted, and scanned using a densitometer. The sample solution without standard addition was also analyzed. EGCG was determined from the corresponding calibration curve. The precision requirement is assessed the RSD value. The RSD for 1 - 10% of EGCG in the sample is $< 2.7\%$ (AOAC International, 2013).

EGCG determination

EGCG determination was analyzed on green tea solution without vitamin C addition (GT), green tea with 1 mg of vitamin addition (GTVC1), green tea with 1.5 mg of vitamin addition (GTVC2), green tea with 2 mg of vitamin addition (GTVC3), green tea with 2.5 mg of vitamin addition (GTVC4) and green tea with 3 mg of vitamin addition (GTVC5). Evaluations of EGCG were conducted at 0 day, 1 day, 2 days, 3 days, and 4 days of storage time. All extracts were dissolved in 2 mL of methanol p.a and filtered using membrane filter (0.45 µm). All samples were spotted to the TLC plate, eluted and scanned using a densitometer. The EGCG quantity was determined from the corresponding calibration curve.

Statistical analysis

Results of EGCG values were expressed as the mean value \pm standard deviation of three independent experiments ($n = 3$). Statistical analysis was performed by one-way analysis of variance (ANOVA) using IBM SPSS statistics software version 24. A comparison of means was carried out by Tukey's multiple range analyses at $P < 0.05$.

RESULT AND DISCUSSION

Extraction of green tea solution

Chloroform, a non polar solvent, was used to remove caffeine and pigments in the green tea solution. Ethyl acetate, a semi-polar solvent, was used to extract EGCG of green tea. EGCG is a semi-polar compound so that EGCG will be extracted in the ethyl acetate layer. The ethyl acetate solution was evaporated at room temperature because of the boiling point of ethyl acetate is smaller than EGCG, ethyl acetate will evaporate but not for EGCG. And then, dry extract was dissolved with methanol. Methanol gives better separation and more volatile than ethyl acetate.

Wavelength optimization

The maximum wavelength in 100 ppm and 200 ppm of EGCG standard solution were 278 nm. This maximum wavelength would be used in a densitometer scanner.

Mobile optimization

Mobile phase with different ratios were tried, such as chloroform:acetone:formic acid (10:8:3 v/v/v), chloroform:acetone:formic acid (10:8:2 v/v/v) and

chloroform:acetone:formic acid (10:8:1 v/v/v). The results were evaluated with respect to the efficiency of separation (Rf and Rs). The optimum mobile phase ratio was found to be chloroform:acetone:formic acid (10:8:1 v/v/v) because the Rf of EGCG was 0.49 (acceptable value Rf = 0.3 - 0.8) and the resolution (Rs) was 1.27 (acceptable value Rs > 1.25). The densitogram of samples with different mobile phase can be seen in Table 1.

Table 1. EGCG content in various samples

Time storage	EGCG Content ± SD (% w/w)					
	GT	GTVC1	GTVC2	GTVC3	GTVC4	GTVC5
0 day	2.568 ± 0.81	2.384 ± 0.16	2.389 ± 0.08	2.62 ± 0.35	3.027 ± 0.87	2.346 ± 0.225
1 day	2.151 ± 0.31	2.022 ± 0.03	1.667 ± 0.38	2.017 ± 0.29	1.903 ± 0.22	2.163 ± 0.06
2 days	2.125 ± 0.06	2.081 ± 0.16	2.060 ± 0.025	1.967 ± 0.026	2.061 ± 0.14	2.172 ± 0.15
3 days	2.059 ± 0.15	2.247 ± 0.19	2.409 ± 0.16	1.995 ± 0.31	1.699 ± 0.42	2.142 ± 0.05
4 days	2.056 ± 0.21	2.125 ± 0.02	1.8856 ± 0.02	2.145 ± 0.09	1.163 ± 0.05	2.117 ± 0.04

Noted: GT: green tea, GTVC1: green tea with 1 mg of vitamin C addition, GTVC2: green tea with 1.5 mg of vitamin C addition, GTVC3: green tea with 2 mg of vitamin C addition, GTVC4: green tea with 2.5 mg of vitamin C addition, GTVC5: green tea with 3 mg of vitamin C addition

Validation

Selectivity

Acceptance criteria for selectivity tests are a resolution (Rs), Rf, and peak purity. The densitograms of all the samples can be seen in Figure 1. The Rs value of EGCG standard peak was 2.95 and the average Rs value of EGCG peak in the samples was 1.27. The

EGCG peak of standard and in the sample have the same Rf value (0.41). The purity of the EGCG peak standard and sample is more than 0.99. Based on the value of parameters, methods which was used for this research was selective to analyze EGCG in green tea solution.

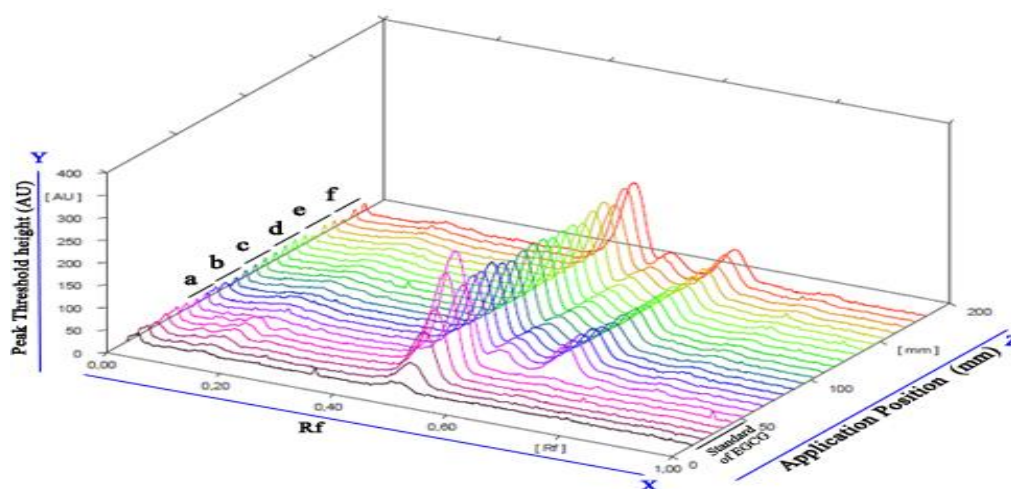


Figure 1. Densitogram of scanned TLC plate from green tea without vitamin C addition (a), green tea with 1 mg of vitamin C addition (b), green tea with 1.5 mg of vitamin C addition (c), green tea with 2 mg of vitamin C addition (d), green tea with 2.5 mg of vitamin C addition (e) and green tea with 3 mg of vitamin C addition (f)

Linearity

The linearity test was carried out in a range of EGCG concentration of 0.10276 µg/spot up to

1.0276 µg/spot. This research evaluates the linearity using correlation coefficient (r) with acceptance criteria r~1, relative process standard deviation value(Vxo)

with acceptance criteria $V_{xo} \leq 5\%$ and ANOVA linearity testing with acceptance criteria $\text{sig} \leq 0.05$. The result of the correlation coefficient (r) was obtained $r = 0.996$ which resulted in a regression line equation $y = 7363x + 622.5$. The relative process standard deviation value (V_{xo}) was obtained 3.48%, and ANOVA linearity testing was obtained $\text{sig} = 0.00$. So, it could be concluded that the data was linear.

Accuracy

Accuracy test was analyzed by spiking 80%, 100% and 120% of EGCG standard to the sample and measure the recovery. Acceptance criteria of recovery for 1% - 10% analyte concentration is 92% - 105% (AOAC International, 2013). The recovery of 80%, 100%, and 120% of EGCG standard addition were $99.330\% \pm 1.52$, $103.753\% \pm 1.04$, and $93.632\% \pm 0.37$ respectively. The results indicated that this method was accurate.

Precision

The precision test was analyzed by spiking 100% of the EGCG standard (six replicates). The precision

measure RSD value. Acceptance criteria of RSD for 1% - 10% analyte concentration is $\leq 2.7\%$ (AOAC International, 2013). The result of RSD was 1.006% with recovery 103.754 ± 1.04 . The results suggested that this method was precision.

Stability of EGCG value in green tea solution

Evaluation of EGCG value in all of samples was analyzed in one TLC plate (Figure 2). EGCG value was determined from the corresponding calibration curve. The result of EGCG level in all samples which were conducted at 0 day, 1 day, 2 days, 3 days and 4 days of storage can be seen in Table 1. The stability of EGCG was determined from the percent loss of EGCG during storage time (Table 2). Percent loss of EGCG was calculated by the formula :

$$\% \text{ Loss of EGCG} = \frac{B_0 - B_n}{B_0} \times 100\%$$

B_n = EGCG value at n day storage, n = 1, 2, 3, 4 day

B_0 = EGCG value at 0 day storage

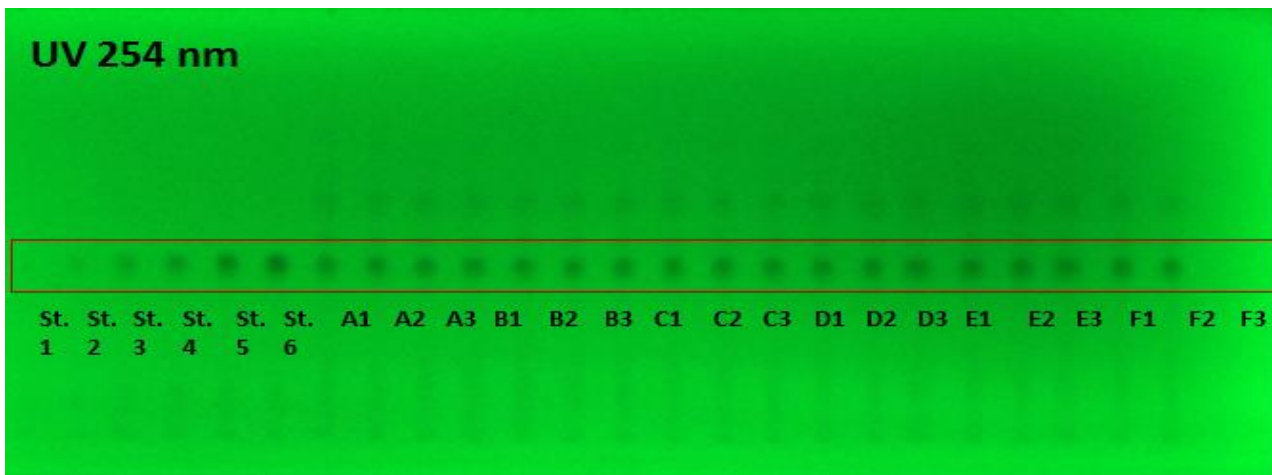


Figure 2. Visualization of TLC plate after eluted. 50 ppm - 500 ppm EGCG standard (St1-St6); green tea extract (A1-A3); green tea + vitamin C 1 mg extract (B1-B3); green tea + vitamin C 1.5 mg extract C 1.5 mg (C1-C3); green tea + vitamin C 2 mg extract (D1-D3); green tea + vitamin C 2.5 mg extract (E1-E3) and green tea + vitamin C3 mg extract (F1-F3)

Table 2. % Degreasing of EGCG content in all sample

Time storage	Degreasing of EGCG content \pm SD (%)					
	GT	GTVC1	GTVC2	GTVC3	GTVC4	GTVC5
1 day	16.23 ± 0.31	15.18 ± 0.33	30.23 ± 0.48	$23.05 \pm 1,35$	28.56 ± 0.82	7.78 ± 0.96
2 days	17.26 ± 0.86	12.74 ± 0.96	13.76 ± 0.85	$24.95 \pm 0,69$	31.93 ± 0.94	7.41 ± 0.55
3 days	19.85 ± 0.95	5.74 ± 0.59	$-0.87 \pm 0.96^*$	$23.88 \pm 0,86$	43.89 ± 0.52	$8.71 \pm .85$
4 days	19.93 ± 0.91	10.89 ± 0.92	21.08 ± 0.92	$18.18 \pm 0,21$	28.56 ± 1.05	9.76 ± 1.04

*= increasing of EGCG content

GT: green tea, GTVC1: green tea with 1 mg of vitamin C addition, GTVC2: green tea with 1.5 mg of vitamin C addition, GTVC3: green tea with 2 mg of vitamin C addition, GTVC4: green tea with 2.5 mg of vitamin C addition, GTVC5: green tea with 3 mg of vitamin C addition

The percent loss of EGCG in GT, GTVC1, GTVC2, GTVC3, GTVC4 and GTVC5 after 4 days storage were 19.93%, 10.89%, 21.08%, 18.18%, 28.56%, and 9.76%, respectively. There were statistically significant differences ($p < 0.05$) of percent loss of EGCG between samples.

Significant differences value show that vitamin C addition affected to % loss of EGCG. Three mg of vitamin C addition (GTVC5) was the best result which prevents decreasing of EGCG in green tea solution. GTVC5 has % loss of EGCG less than other samples.

Vitamin C can stabilize EGCG in green tea solution. The potential reductions of vitamin C and EGCG are 282 mV and 430 mV respectively. EGCG potential reduction is greater than vitamin C. It caused that EGCG is easier to attract electrons and vitamin C is easier to release electrons (Tsao, 2015). EGCG will be degraded to GCG or galocatechin gallate and theasinensin A. Vitamin C in green tea solution is

easily oxidized from diketo form to as dehydroascorbic acid, which followed by conversion into oxalic acid and threonic acid (Lung & Destiani, 2014). The EGCG degradation will attract electrons from vitamin C easily, so EGCG radical regenerated to normal EGCG. The prediction of stability reaction between EGCG and vitamin C can be seen in Figure 3. Oxidation of vitamin C forms oxalic and trienoic acid (Truffault *et al.*, 2017). This was proofed by decreasing vitamin C levels in green tea solution during 4 days storage. The average of decreased level of vitamin C in GT, GTVC1, GTVC2, GTVC3, GTVC4 and GTVC5 were 36.7%, 38.4%, 41.8%, 42.1%, 42.9%, and 47.5%, respectively.

Electron from the degradation of vitamin C will regenerate radical EGCG into non-radical EGCG (Dai *et al.*, 2008). This theory was in line with the result of this research. The more vitamin C levels decreased, the more EGCG radicals generated to be EGCG.

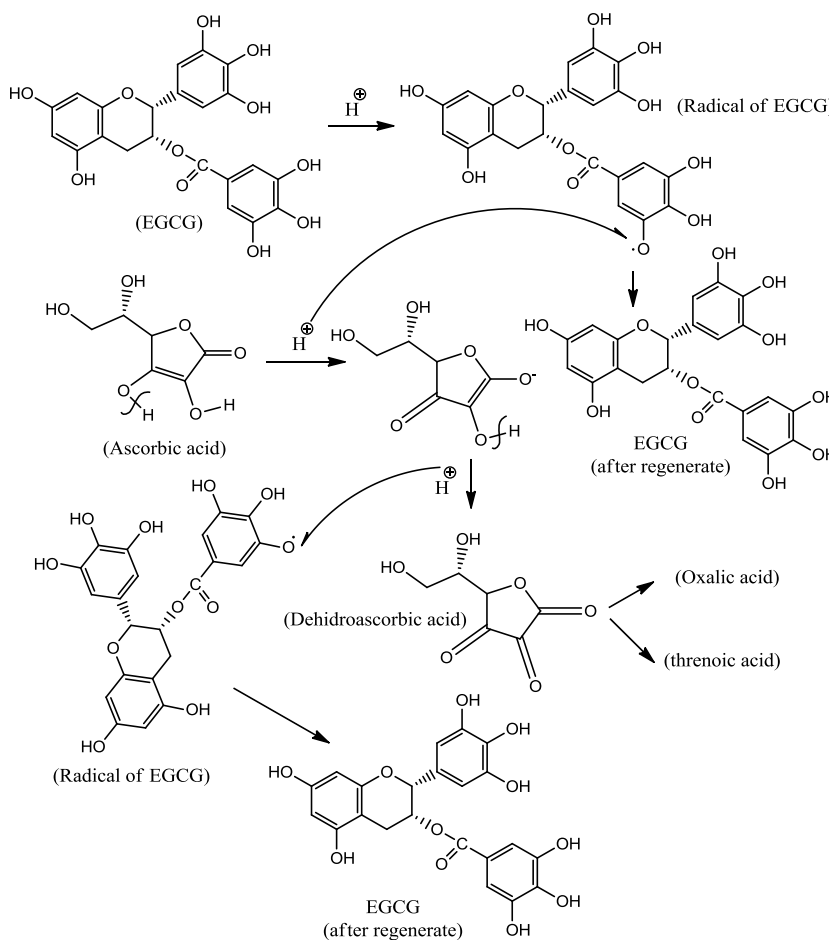


Figure 3. Prediction of EGCG stability reaction by vitamin C

CONCLUSION

The result of this study showed that during 4 days of storage of EGCG revealed that a percentage reduction of EGCG in green tea solution with 3 mg of

vitamin C addition (GTVC5) was 9.76%. It was smaller than green tea solution without vitamin C addition (GT) which decreased 19.93% of EGCG.

REFERENCES

- Abdelsalam, H. H., Al-ghobashy, M. A., Zaazaa, H. E. & Ibrahim, M. A. (2014). Stability of Catechins in Green Tea Nutraceutical Products: Application of Solid Phase Extraction – Thin Layer Chromatography Densitometry. *Food Chemistry*; 156; 94–99.
- AOAC International. (2013). AOAC Official Methods of Analysis - Appendix K: Guidelines for Dietary Supplements and Botanicals. Rockville: AOAC International.
- Dai, F., Chen, W. & Zhou, B. (2008). Antioxidant Synergism of Green Tea Polyphenols with α -Tocopherol and L-Ascorbic Acid in SDS Micelles. *Biochimie*; 90; 1499-1505.
- Das, P. R. & Eun, J. B. (2018). A Comparative Study of Ultra-sonication and Agitation Extraction Techniques on Bioactive Metabolites of Green Tea Extract. *Food Chemistry*; 253; 22–29.
- Fangueiro, J. F., Parra, A., Silva, A. M., Egea, M. A., Souto, E. B., Garcia, M. L. & Calpena, A. C. (2014). Validation of a High Performance Liquid Chromatography Method for the Stabilization of Epigallocatechin Gallate. *International Journal of Pharmaceutics*; 475; 181-190.
- Kosugi, Y. Green Tea Consumption. <http://www.ocha.net/english/teacha/distribution/greentea3.html>. Accessed: 25 January 2019.
- Krupkova, O., Ferguson, S. J. & Wuertz-Kozak, K. (2016). Stability of (-)-Epigallocatechin Gallate and Its Activity in Liquid Formulations and Delivery Systems. *Journal of Nutritional Biochemistry*; 37; 1–12.
- Lung, J. K. S. & Destiani, D. P. (2014). Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan Metode DPPH. *Farmaka*; 14; 1–10.
- Rady, I., Mohamed, H., Rady, M., Siddiqui, I. A. & Mukhtar, H. (2018). Cancer Preventive and Therapeutic Effects of EGCG, the Major Polyphenol in Green Tea. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*; 5; 1–23.
- Truffault, V., Fry, S. C., Stevens, R. G. & Gautier, H. (2017). Ascorbate Degradation in Tomato Leads to Accumulation of Oxalate, Threonate and Oxalyl Threonate. *Plant Journal*; 89; 996–1008.
- Tsao, R. (2015). Synergistic Interactions Between Antioxidants Used in Food Preservation. In: Handbook of Antioxidants for Food Preservation. Sawston: Woodhead Publishing.
- Wu, J., Chiang, M., Chang, Y., Chen, J., Yang, H., Lii, C. & Yao, H. (2011). Correlation of Major Components and Radical Scavenging Activity of Commercial Tea Drinks in Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis*; 19; 289–300.
- Zeng, L., Ma, M., Li, C. & Luo, L. (2017). Stability of Tea Polyphenols Solution with Different pH at Different Temperatures. *International Journal of Food Properties*; 20; 1–18.

Uji Aktivitas Tonik Rambut Nanoemulsi Minyak Kemiri (*Aleurites moluccana* L.)

Fenita Shoviantari*, Zefia Liziarmezilia, Adventa Bahing, Lia Agustina
Fakultas Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata, Kediri

*Corresponding author: fenita.shoviantari@iik.ac.id

Submitted: 28 November 2019

Accepted: 3 Januari 2020

Published: 29 Februari 2020

Abstract

Background: Candlenut oil from *Aleurites moluccana* L. contained saponins, flavonoids and polyphenols with its activity as hair growth stimulator has been widely used for hair tonics. In this study, candlenut oil was formulated into cosmetic preparations with a nanoemulsion system for increasing penetration and activity of active substances. Nanoemulsion is a transparent emulsion that has a droplet size of 5 – 500 nm. **Objective:** To determine activity of the nanoemulsion of candlenut oil in accelerating hair growth of male rabbits. **Methods:** The nanoemulsion was made using candlenut oil 5%, Tween 80 and Span 80 as surfactants, 96% ethanol as cosurfactant, and aquadest. Evaluation of physical quality of nanoemulsion included organoleptic, droplet sizes, polydispersity index, pH, and nanoemulsion type. The activity test was carried out *in vivo* using male rabbits with 4 treatment groups (conventional oil, nanoemulsion, positive and negative control group) for 21 days. **Results:** The nanoemulsion physical quality test showed nanoemulsion type of oil in water clear with a droplet size of 21.1 nm and polydispersity index of 0.338, with a pH of 5.47 ± 0.029 . The activity test showed that rabbits treated with nanoemulsion of candlenut oil had higher hair length and thickness than the other groups. **Conclusion:** The nanoemulsion of candlenut oil could increase hair growth activity compared to conventional candlenut oil.

Keywords: hair tonic activity, nanoemulsion, rabbit, candlenut oil

Abstrak

Pendahuluan: Minyak kemiri (*Aleurites moluccana* L.) mengandung asam oleat yang tinggi dan memiliki aktivitas sebagai perangsang pertumbuhan rambut yang telah banyak digunakan secara turun temurun sebagai tonik rambut. Pada penelitian ini, minyak kemiri diformulasikan menjadi sediaan kosmetik dengan sistem penghantaran nanoemulsi yang memiliki tujuan untuk meningkatkan penetrasi dan aktivitasnya. Nanoemulsi adalah sediaan emulsi transparan yang memiliki ukuran droplet kurang dari 100 nm. **Tujuan:** Untuk mengetahui aktivitas nanoemulsi minyak kemiri dalam mempercepat pertumbuhan rambut pada kelinci jantan. **Metode:** Nanoemulsi yang dibuat menggunakan minyak kemiri 5%, dicampur dengan Span 80 serta Tween 80 sebagai surfaktan, etanol 96% sebagai ko-surfaktan, dan pembawa air suling. Evaluasi mutu fisik nanoemulsi meliputi organoleptis, ukuran droplet, *polydispersity index*, pH, dan tipe nanoemulsi. Uji aktivitas dilakukan secara *in vivo* menggunakan kelinci jantan dengan 4 kelompok perlakuan (kelompok minyak konvensional, nanoemulsi, kontrol positif dan negatif) selama 21 hari. **Hasil:** Hasil uji mutu fisik nanoemulsi didapatkan nanoemulsi dengan tipe minyak dalam air yang jernih dengan ukuran droplet 21,1 nm dan *polydispersity index* 0,338 dengan pH $5,47 \pm 0,029$. Hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa kelinci yang diberi perlakuan nanoemulsi minyak kemiri memiliki panjang dan tebal rambut yang lebih tinggi dibandingkan kelompok lainnya. **Kesimpulan:** Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa nanoemulsi minyak kemiri dapat meningkatkan aktivitas pertumbuhan rambut dibandingkan dengan minyak kemiri konvensional.

Kata kunci: aktivitas penguat dan penyubur, rambut, nanoemulsi, kelinci, kemiri

PENDAHULUAN

Rambut adalah simbol penampilan yang baik dan keindahan pada beberapa bagian tubuh manusia. Fungsi rambut antara lain adalah sebagai penentu identitas dan untuk memberikan perlindungan terhadap kondisi lingkungan, seperti cahaya matahari dan iklim dingin (Agoes, 2015). Rambut rontok merupakan salah satu masalah serius yang dialami oleh pria dan wanita. Faktor yang menyebabkan rambut rontok dibagi menjadi dua, yaitu faktor internal dan eksternal. Faktor internal yang dapat menyebabkan kerontokan rambut antara lain kelainan genetik, kondisi hormon, penyakit sistemik, status gizi, maupun intoksikasi. Sementara faktor eksternal, antara lain stimulus dari lingkungan, maupun penggunaan kosmetik rambut yang tidak cocok dengan kondisi rambut. Faktor-faktor tersebut dapat menyebabkan tidak normalnya siklus dan batang rambut, kerusakan folikel rambut hingga dapat menyebabkan kegagalan pertumbuhan rambut (Sari & Wibowo, 2016).

Produk kosmetika untuk mengatasi masalah kerontokan rambut dapat berasal dari bahan alam maupun sintetis. Salah satu bahan aktif yang dapat digunakan sebagai anti kerontokan rambut adalah Minoksidil. Penggunaan Minoksidil sebagai penyubur rambut memungkinkan timbulnya efek samping seperti alergi kulit, sakit kepala, vertigo, edema sampai hipotensi. Dengan banyaknya efek samping dari penggunaan bahan-bahan sintetis, konsep hidup kembali pada alam mulai diminati oleh masyarakat dan didukung pula dengan melimpahnya kekayaan alam di Indonesia (Nurjanah & Krisnawati, 2014). Masyarakat lebih banyak memilih menggunakan bahan alam sebagai pilihan kosmetika yang dianggap tidak memiliki efek samping. Salah satu bahan alam yang banyak digunakan oleh masyarakat untuk mengatasi berbagai permasalahan rambut adalah minyak kemiri.

Dalam satu biji kemiri mengandung 50% - 60% berat minyak. Minyak kemiri merupakan minyak dari daging biji kemiri yang memiliki kandungan asam lemak tak jenuh (asam oleat) yang tinggi (Arlene, 2013). Sifat antioksidan asam oleat dapat memperlambat kerontokan dan mempercepat pertumbuhan rambut (Sari & Wibowo, 2016).

Nanoemulsi adalah dispersi minyak berukuran nanometer yang transparan, stabil secara termodinamika yang distabilkan oleh surfaktan dan kosurfaktan dengan ukuran droplet 10 - 100 nm. Nanoemulsi memiliki banyak keuntungan, diantaranya adalah dapat meningkatkan *active ingredient loading*

dan bioavailabilitasnya. Selain itu, nanoemulsi juga dapat menjadi salah satu sistem untuk tujuan *drug targeting* dan juga *drug controlled release* (Vivek, 2019). Penggunaan mikroemulsi pada kulit dapat meningkatkan penetrasi dan absorpsi bahan aktif tanpa perlu menambahkan eksipien penetrasi lain karena droplet mikroemulsi memiliki luas permukaan yang besar sehingga lebih efektif sebagai sistem pembawa (Lina dkk., 2017).

Surfaktan yang umumnya digunakan pada sediaan nanoemulsi adalah golongan nonionik. Golongan ini lebih dipilih karena sifatnya yang lebih non iritatif. Dalam kebanyakan kasus penggunaan surfaktan saja tidak cukup mampu menurunkan tegangan permukaan antara minyak dan air sehingga dibutuhkan bantuan kosurfaktan untuk membantu menurunkan tegangan permukaan. Kosurfaktan memiliki fungsi untuk menaikkan mobilitas ekor hidrokarbon sehingga penetrasi minyak pada bagian ekor menjadi lebih besar (Gupta dkk., 2010).

Pada penelitian ini, minyak kemiri yang biasa digunakan secara turun menurun sebagai minyak rambut akan dibuat dalam bentuk sediaan nanoemulsi dengan tujuan untuk meningkatkan penetrasi bahan aktif menembus kulit kepala sehingga dapat meningkatkan aktivitas.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain minyak kemiri (Supa), tween 80 (Fagron), span 80 (Techno pharmcem), etanol 96% (Carlo erba), air suling, dan tonik rambut ginseng yang tersedia di pasaran (digunakan sebagai kontrol positif).

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain neraca analitik *Centaurus scale TM, Thermo Scientific™ Cimarec +™ Stirring Hotplates Series*, pH meter, dan *particle size analyzer*.

Metode

Pembuatan nanoemulsi minyak kemiri (*Aleurites moluccana L.*)

Prosedur pembuatan nanoemulsi minyak kemiri *hair tonic* dilakukan dengan cara mencampurkan minyak kemiri dengan span 80 yang diaduk dengan *magnetic stirrer* 800 rpm selama 7 menit, kemudian ditambahkan tween 80, diaduk dengan *magnetic stirrer* 800 rpm, selama 7 menit. Kemudian ditambahkan etanol, lalu diaduk dengan *magnetic stirrer* 800 rpm selama 7 menit, selanjutnya ditambahkan air suling,

diaduk dengan *magnetic stirrer* 800 rpm selama 15 menit. Formulasi sediaan nanoemulsi minyak kemiri sebagai *hair tonic* tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Formulasi nanoemulsi minyak kemiri

No.	Komponen	Kegunaan	Konsentrasi (%)
1.	Minyak Kemiri	Bahan aktif	5
2.	Tween 80	Surfaktan	18,4
3.	Span 80	Surfaktan	1,8
4.	Etanol 96%	kosurfaktan	3,5
5.	Air suling	Pelarut	ad 100

Belum ada penelitian mengenai kadar minyak kemiri sebagai tonik rambut, sehingga pemilihan kadar 5% minyak kemiri pada formulasi ini menggunakan pendekatan penelitian yang dilakukan oleh Ulfah yang menyatakan bahwa ekstrak etanol biji kemiri mampu meningkatkan pertumbuhan rambut kelinci (Ulfah, 2003).

Pengamatan organoleptis

Pengujian organoleptis dilakukan secara visual dengan mengamati bentuk, bau dan warna sediaan.

Pengukuran pH

pH sediaan nanoemulsi minyak kemiri diukur dengan menggunakan pH meter digital. Kalibrasi pH meter dengan larutan dapar pH 4 dan 7 dilakukan sebelum pengujian pH sediaan untuk memastikan alat dapat berfungsi dengan baik. Setelah proses kalibrasi selesai, elektroda dibersihkan lalu dimasukkan ke dalam gelas Beaker yang berisi nanoemulsi minyak kemiri. Nilai pH sediaan nanoemulsi minyak kemiri akan muncul pada layar alat pH meter.

Penetapan tipe nanoemulsi

Tipe nanoemulsi minyak kemiri diidentifikasi dengan menggunakan metode dilusi. Sebanyak 1 gram nanoemulsi minyak kemiri dilarutkan dalam air sebanyak 100 mL. Jika nanoemulsi terlarut sempurna maka sediaan termasuk dalam tipe nanoemulsi minyak dalam air (M/A).

Pengukuran droplet

Ukuran droplet nanoemulsi diukur dengan *particle size analyzer* dengan metode *dynamic light scanering*. Nanoemulsi minyak kemiri dituang ke dalam kurvet kemudian dimasukkan ke dalam sampel *holder* dan dilakukan analisis dengan instrumen.

Persiapan hewan coba

Hewan coba yang digunakan berupa kelinci jantan (*Oryctolagus cuniculus*) dengan usia 3 - 4 bulan dan

berat \pm 3 Kg sebanyak empat ekor. Sebelum digunakan, hewan coba diaklimatisasi selama satu minggu dan diberi makan *ad libitum*. Setelah satu minggu, punggung kelinci dicukur menggunakan gunting dan pisau cukur, kemudian dibagi menjadi 4 daerah dengan masing-masing sisi yang lebih kurang 2,5 cm dan antara daerah yang satu dengan daerah yang lain diberi jarak lebih kurang 3 cm. Perlakuan berbeda diberikan pada 4 daerah pada punggung kelinci. Pada daerah 1 perlakuan pertumbuhan rambut yang diberikan minyak kemiri murni, daerah 2 kontrol (+) diberikan tonik rambut ginseng yang diperoleh di pasaran, daerah 3 merupakan kontrol (-) diberikan air suling, dan daerah 4 diberi perlakuan dengan formula nanoemulsi minyak kemiri. Perlakuan kepada hewan coba dilakukan satu kali sehari dan berlangsung selama 21 hari dengan volume 1 mL. Seluruh prosedur percobaan telah mendapatkan surat laik etik internal Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri dengan nomor 31/PP2M-KE/VI/2019.

Uji aktivitas pertumbuhan panjang rambut

Panjang rambut kelinci pada setiap perlakuan diamati pada hari ke- 8, 15 dan 22. Sebelum diukur, rambut dicabut sebanyak 10 helai yang terpanjang kemudian diletakkan pada kertas hitam. Untuk memudahkan pengukuran, rambut kelinci diletakkan pada selotip bening kemudian diukur panjangnya dengan jangka sorong.

Uji aktivitas ketebalan rambut

Pengukuran bobot atau ketebalan rambut dilakukan pada hari ke 22 dengan cara mencukur semua rambut pada masing-masing daerah yang di uji kemudian ditimbang menggunakan timbangan digital.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji mutu fisik sediaan nanoemulsi minyak kemiri tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji mutu fisik nanoemulsi minyak kemiri

Mutu Fisik	Hasil
Organoleptis	Jernih, bau khas kemiri
pH	5,47 \pm 0,029
Tipe Nanoemulsi	Minyak dalam air
Ukuran Droplet	21,1 nm
<i>Polydispersity Index</i>	0,338



Gambar 1. Nanoemulsi minyak kemiri

Pembuatan nanoemulsi dengan bahan aktif minyak kemiri pada penelitian ini merupakan tahap awal untuk pembuatan sediaan kosmetik tonik rambut yang berfungsi untuk merangsang pertumbuhan rambut. Salah satu senyawa aktif yang diduga memiliki aktivitas sebagai perangsang pertumbuhan rambut dalam minyak kemiri adalah asam oleat. Minyak kemiri yang diformulasi dalam sistem penghantaran nanoemulsi ini diharapkan dapat meningkatkan penetrasi sehingga meningkatkan aktivitas penumbuhan rambut.

Pada uji organoleptis dilakukan secara visual dan diperoleh hasil nanoemulsi yang jernih. Sediaan yang jernih merupakan indikator bahwa sediaan tersebut memiliki ukuran droplet yang kecil. Hal ini dibuktikan dengan hasil uji ukuran droplet yang didapatkan hasil 21,1 nm dan *polydispersity index* sebesar 0,338. Hasil uji ukuran droplet dan *polydispersity index* yang mendekati 0 tersebut, telah sesuai dengan persyaratan nanoemulsi yang merupakan larutan yang homogen, transparan, dengan ukuran droplet antara 10 - 100 nm (Agrawal & Agrawal, 2012).

Formulasi nanoemulsi minyak kemiri yang dibuat menggunakan kombinasi surfaktan nonionik yaitu span 80 dan tween 80. Surfaktan nonionik dipilih karena lebih aman dibandingkan jenis surfaktan lain dalam hal timbulnya iritasi pada kulit (Santos dkk., 2008; Kumar dkk., 2010). Selain itu, kombinasi surfaktan lipofil (span 80) dan hidrofil (tween 80) untuk mendapatkan sistem nanoemulsi minyak dalam air dengan HLB sistem yang diinginkan. Sementara itu, dipilih kosurfaktan yang cenderung memiliki atom C yang lebih pendek yaitu etanol yang juga memiliki efek untuk meningkatkan penetrasi pada sediaan transdermal (Rowe dkk., 2009).

Hasil pengukuran pH sediaan nanoemulsi minyak kemiri menunjukkan nilai rata-rata sebesar $5,47 \pm 0,029$. Menurut SNI, nilai pH tonik rambut yang baik berada pada kisaran 3,0 - 7,0 sehingga sediaan yang dihasilkan tidak mengiritasi kulit. Sementara pada hasil uji tipe nanoemulsi yang telah dilakukan dengan metode dilusi atau pengenceran, nanoemulsi minyak

kemiri memiliki tipe minyak dalam air (M/A) yang ditandai dengan sediaan nanoemulsi larut sempurna dalam air. Pembuatan emulsi dengan tipe minyak dalam air diharapkan dapat lebih diterima ketika digunakan dan tidak menimbulkan rambut menjadi berminyak. Uji pertumbuhan rambut dengan hewan coba kelinci selama 21 hari tersaji pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji pertumbuhan rambut kelinci

Perlakuan	Rata-rata pertumbuhan rambut hari ke- (cm)			Laju pertumbuhan rambut (cm/hari)
	8	15	22	
MK	1,35	1,38	1,37	0,06
K (+)	1,32	1,58	2,22	0,10
K (-)	-	-	0,77	0,03
NE	1,58	1,92	2,97	0,13

MK : Menggunakan minyak kemiri murni 100%

K (+) : Menggunakan tonik rambut ginseng.

K (-) : Menggunakan air suling

NE : Menggunakan nanoemulsi minyak kemiri

Data pada Tabel 3 menunjukkan bahwa daerah yang diberikan perlakuan nanoemulsi minyak kemiri memiliki ukuran panjang rambut yang paling besar dibandingkan tiga kelompok perlakuan lainnya. Ukuran droplet nanoemulsi yang kecil dapat menembus stratum korneum pada kulit kepala dengan lebih mudah dibandingkan sediaan dengan ukuran droplet yang lebih besar.

Selain memiliki laju pertumbuhan rambut yang paling cepat, dapat dilihat bahwa nanoemulsi minyak kemiri juga dapat meningkatkan ketebalan rambut. Uji ketebalan rambut kelinci yang dilakukan pada hari ke-22 tersaji pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji ketebalan rambut kelinci hari ke-22

Perlakuan	Rata-rata ketebalan Rambut (gram)
MK	$0,191 \pm 0,002$
K (+)	$0,145 \pm 0,009$
K (-)	$0,006 \pm 0,001$
NE	$0,287 \pm 0,00$

MK : Menggunakan minyak kemiri murni 100%

K (+) : Menggunakan tonik rambut ginseng.

K (-) : Menggunakan aquadest

NE : Menggunakan nanoemulsi minyak kemiri

Hasil penelitian ini, dapat menjadi tahap awal pengembangan sediaan tonik rambut dengan sistem nanoemulsi yang memiliki aktivitas lebih baik dibandingkan sediaan konvensional.

KESIMPULAN

Nanoemulsi minyak kemiri dengan kadar 5% dapat mempercepat pertumbuhan dan ketebalan rambut dibandingkan minyak kemiri konvensional.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Yayasan Bhakti Wiyata yang telah memberikan kesempatan kepada peneliti untuk menyelesaikan penelitian dan mempublikasikan hasil penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, O. P. & Agrawal, S. (2012). An Overview of New Drug Delivery System: Nanoemulsion. *Asian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*; 2; 5-12.
- Agoes, G. (2015). Sediaan Kosmetik (SFI-9). Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Arlene, A. (2013). Ekstraksi Kemiri dengan Metode Soxhlet dan Karakterisasi Minyak Kemiri. *Jurnal Teknik Kimia Usu*; 2; 6-10.
- Gupta, P. K., Pandit, J. K., Kumar, A., Swaroop, P. & Gupta, S. (2010). Pharmaceutical Nanotechnology Novel Mikroemulsion-High Energy Emulsification Preparation Evaluation and Application. *The Pharma Research*; 3; 117-139.
- Kumar, B., Jain, S. K., Prajapati, S. K., Mahor & Kumar, A. (2010). Development and Characterization of Transdermal Microemulsion Gel for an Antiviral Drug. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*; 1 ; 57-73.
- Lina, N. W. M., Maharani, T., Sutharini, M. R., Wijayanti, N. P. A. D. & Astuti, K. W. (2017). Karakterisasi Mikroemulsi Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostona* L.). *Jurnal Farmasi Udayana*; 6; 6-10.
- Nurjanah, N. & Krisnawati, M. (2014). Pengaruh Hair Tonic Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain) dan Seledri (*Apium graveolens* Linn) untuk Mengurangi Rambut Rontok. *Journal of Beauty and Beauty Health Education*; 3; 1-8.
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J. & Quinn M. E. (2009). Handbook of Pharmaceutical Excipients, Sixth Edition. London: The Pharmaceutical Press.
- Santos, P., Watkinson A. C., Hadgraft, J. & Lane, M. E. (2008). Application of Microemulsion in Dermal and Transdermal Drug Delivery Skin. *Pharmacology Physiology*; 21; 248 - 250
- Sari, D. K. & Wibowo, A. (2016). Perawatan Herbal pada Rambut Rontok. *Medical Journal of Lampung University*; 5; 129-134.
- Ulfah, A. M. (2003). Aktivitas Ekstrak Etanolik Biji Kemiri (*Aleurites moluccana* L. Wild) sebagai Pemicu Pertumbuhan Rambut Kelinci Putih Jantan serta Uji Kualitatif Kandungan Kimianya. *Skripsi*; Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Vivek P. C. (2019). Nanotherapeutics and Nanobiotechnology In: Shyam S. M, Shivendu R., Nandita, D., Raghvendra, K. M., Sabu, T. (ed.) *Micro and Nano Technologies, Applications of Targeted Nano Drugs and Delivery Systems*; 1-13. Amsterdam: Elsevier.

Aktivitas Antibakteri dan Stabilitas Sediaan Gel Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix folium*)

Luky Hayuning Les¹, Isnaeni², Widji Soeratri^{3*}

¹Magister Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya

²Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya

³Departemen Farmasetika, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya

*Corresponding author: widjisoeratri@yahoo.com

Submitted: 8 Desember 2019

Accepted: 7 Februari 2020

Published: 29 Februari 2020

Abstract

Introduction: Citrus leaves (*Citrus hystrix folium*) contain 1-1.5% essential oils, show antibacterial activity. The active ingredient content that contribute as antibacterial activity contains compounds with alcohol and aldehyde group by which protein of bacterial cell is denaturated. **Objective:** to evaluate the antibacterial effectivity and stability of gel containing essential oil isolated from *Citrus hystrix* leaves against *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. **Methods:** The essential oil gel formulation was prepared with carbomer 940 as a gelling agent. The Antibacterial activity of gel containing the essential oil was evaluated against *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* with gel containing 1% clindamycin as positive control by the agar diffusion method. **Results:** The Gel preparations were effective against *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. The mean diameter of the growth inhibition zone before and after storage for 4 weeks were 16.75 mm, dan 17.65 mm, respectively. The inhibitory activities against the two test bacteria were relatively smaller than the clindamycin gel. The gel had good physical stability indicated by no changes on consistency, color, odor, viscosity and pH observed during 4 weeks storage. The gel produced a yellowish white color, and a distinctive odor of oranges, while the control gel showed a transparent yellow color and smelled of tween. **Conclusion:** The citrus essential oil gel effectively inhibited the growth of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. It was stable after storage for 4 weeks, therefore prospective for development and study as a raw material for anti acne gels.

Keywords: antibacterial, stability, essential oil, *Citrus hystrix folium*

Abstrak

Pendahuluan: Daun jeruk (*Citrus hystrix folium*) mengandung minyak esensial 1-1,5%, menunjukkan aktivitas antibakteri. Bahan aktif yang berkontribusi sebagai aktivitas antibakteri mengandung senyawa dengan gugus alkohol dan aldehida yang mendenaturasi protein sel bakteri. **Tujuan:** mengevaluasi efektivitas dan stabilitas antibakteri gel yang mengandung minyak esensial hasil isolasi dari daun *Citrus hystrix* terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus*. **Metode:** Formulasi gel minyak atsiri dibuat menggunakan karbomer 940 sebagai gelling agent. Aktivitas antibakteri gel yang mengandung minyak atsiri dievaluasi terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus* dengan gel yang mengandung 1% klindamisin sebagai kontrol positif dengan metode difusi agar. **Hasil:** Sediaan Gel efektif terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus*. Diameter rata-rata zona hambatan pertumbuhan sebelum dan sesudah penyimpanan selama 4 minggu adalah 16,75 mm, dan 17,65 mm. Aktivitas hambatan terhadap dua bakteri uji relatif lebih kecil daripada gel klindamisin. Gel memiliki stabilitas fisik yang baik ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan pada konsistensi, warna, bau, viskositas dan pH yang diamati selama penyimpanan 4 minggu. Gel menghasilkan warna putih kekuningan dan bau jeruk yang khas, sedangkan gel kontrol menunjukkan warna kuning transparan dan berbau tween. **Kesimpulan:** Gel minyak atsiri jeruk secara efektif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus*, stabil setelah penyimpanan selama 4 minggu, oleh karena itu prospektif untuk dikembangkan sebagai bahan baku untuk gel anti jerawat.

Kata kunci: antibakteri, stabilitas, minyak atsiri, *Citrus hystrix folium*

PENDAHULUAN

Jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) adalah salah satu tanaman yang mudah dan banyak tumbuh di Indonesia. Tanaman ini tumbuh pada tempat yang cukup matahari, sesuai dengan kondisi negara tropis Indonesia. Tanaman ini banyak dimanfaatkan oleh masyarakat di Indonesia. Daunnya mengandung minyak atsiri 1-1,5%, steroid triterpenoid, dan tanin 1,8% (Agusta, 2000; Hariana, 2007; Wiranto, 2007).

Minyak atsiri atau *essential oil* merupakan cairan lembut, bersifat aromatik, dan mudah menguap pada suhu kamar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri bersifat sebagai antivirus, antibakteri, antijamur dan antiseptik. Minyak atsiri daun jeruk purut mengandung linalool, sitronelol, stromelal, sitronelil asetat, geranil asetat yang terdapat gugus alkohol dan aldehid dalam strukturnya, gugus tersebut dapat menyebabkan denaturasi protein pada bakteri (Agusta, 2000; Hariana, 2007; Winarto, 2007).

Kajian terkait potensi antibakteri minyak atsiri daun jeruk purut yang dikembangkan menjadi formula sediaan gel bermanfaat untuk mengevaluasi peluang prospektif untuk memanfaatkan minyak atsiri daun jeruk purut sebagai bahan aktif sediaan gel untuk anti bakteri. Telah dilakukan penelitian pendahuluan pada rebusan daun jeruk purut yang diuji daya hambatnya terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, diperoleh hasil bahwa terlihat sedikit daerah hambatan pada media uji. Hasil penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa minyak atsiri daun jeruk purut pada konsentrasi 0,5% mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Ada peluang bahwa minyak atsiri daun jeruk purut juga berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri penyebab jerawat *Staphylococcus epidermidis*. Jerawat adalah salah satu masalah pada kulit yang selama ini banyak meresahkan masyarakat khususnya pada masa pubertas. Jerawat menimbulkan *blackhead*, *papules*, *pustules*, *nodules* dan *scarring* pada kulit wajah. Bakteri flora normal kulit yang banyak menimbulkan infeksi pada kulit antara lain *Propionibacteria*, *Staphylococcus* dan *Micrococcus* (Tortora dkk., 2010).

Upaya telah banyak dilakukan termasuk perlakuan-perlakuan khusus untuk mengobati ataupun mencegah timbulnya jerawat di antaranya dengan mencegah pertumbuhan bakteri pada saluran folikel rambut yang dapat menyebabkan inflamasi, untuk tujuan ini biasa digunakan antibakteri. Antibakteri dapat berasal dari senyawa sintetik seperti clydamycin, erithromycin, benzoyl peroksida, azelaic acid, sulfur,

dan yang berasal dari alam seperti minyak atsiri dari daun jeruk purut (Baumann & Jonette, 2009).

Minyak atsiri dari golongan citrus juga dilaporkan mempunyai efek astringen, sehingga dapat digunakan untuk mengatasi kelebihan produksi sebum yang mengakibatkan jerawat. Untuk dapat diaplikasikan pada kulit sebagai antibakteri maka minyak atsiri perlu diformulasikan dalam bentuk sediaan tertentu, misalnya gel.

Bentuk sediaan gel dianggap memiliki nilai estetika tinggi, sehingga sesuai untuk sediaan kosmetik. *Gelling agent* yang digunakan dalam penelitian ini adalah carbomer 940, yang banyak digunakan dalam sediaan gel, karena dalam penggunaannya hanya dibutuhkan konsentrasi kecil serta memiliki viskositas dalam air yang lebih tinggi dibanding tipe carbomer lain. Carbomer merupakan polimer sintetik berat molekul tinggi dari asam akrilat yang mengalami *cross linked* dengan alil sukrosa atau ester alil dari pentaerithrio (Rowe dkk., 2006). Ketika didispersikan ke dalam air carbomer membentuk larutan bersifat asam yang keruh dengan viskositas rendah. Dengan penambahan basa penetral dapat meningkatkan konsistensi dan mengurangi kekeruhan carbomer. Penetralan larutan dispersi carbomer oleh basa yang sesuai akan meningkatkan pH, sehingga terjadi ionisasi dari gugus karboksilat pada rantai carbomer dengan melepas ion H^+ (Florence, 1998). Polimer akan mengalami hidrasi melalui pembentukan ikatan hidrogen antara karboksilat terionisasi dengan molekul air, sehingga polimer mengembang dan viskositas meningkat (Schott, 2000).

Carbomer perlu dinetralisasi dengan basa untuk dapat mengembang dan membentuk gel, sehingga dalam formula ditambahkan juga Trietanolamin. Mengingat bahan aktif dalam penelitian ini berupa minyak, maka perlu penambahan emulsifier tween 80. Penambahan Ethylenediaminetetraacetic acid sebagai chelating agent bertujuan untuk mengikat spora logam yang ada dengan membentuk senyawa chelat, sehingga proses oksidasi yang biasanya dikatalisis oleh spora logam tidak terjadi. Penambahan Butil Hidroksi Toluena juga dilakukan untuk mencegah oksidasi karena paparan cahaya. Oksidasi pada sediaan gel harus dicegah, karena dengan adanya oksidasi akan terjadi penurunan viskositas. Propilen glikol juga ditambahkan dalam formula ini sebagai humektan untuk mencegah penguapan air dan meningkatkan penetrasi bahan obat (Rowe dkk., 2006).

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus*, yang sering menyebabkan masalah pada kulit seperti infeksi pada jerawat.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Daun jeruk purut segar diperoleh dari pasar tradisional, Karangmenjangan Surabaya, pada bulan April 2009, media *nutrient* agar (MERCK), *Staphylococcus aureus* ATCC 653BP, *Staphylococcus epidermidis* yang diperoleh dari SMF Mikrobiologi RSUD Dr. Soetomo Surabaya, Tween 80, Carbomer 940, Propylen glycol, Methyl paraben, Trietanolamin, Butil Hidroksi Toluena, air suling, larutan salin.

Alat

Seperangkat alat destilator, cawan petri, labu ukur, mikro pipet, *disposable syringe*, inkubator (Memmert), Öse, jangka sorong, timbangan analitik, mortir dan stamper, pH meter (*Schott glass mainz* tipe CG 842) viskometer (Ostwald).

Metode

Isolasi minyak atsiri dari daun jeruk purut

Daun jeruk purut segar dimasukkan dan diletakkan di atas pelat berlubang dalam ketel destilasi. Proses destilasi dimulai dengan mengalirkan uap ke dalam ketel destilasi. Uap yang digunakan adalah uap jenuh atau uap yang sangat panas dengan tekanan di atas 1 atm yang mengalir dari bagian bawah simplisia. Minyak yang diperoleh dipisahkan dari air destilatnya menggunakan corong pisah, kemudian minyak yang telah dipisahkan ditambah dengan Na₂SO₄ untuk menarik sisa air yang ada pada minyak.

Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk purut

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan media *nutrient* agar. Sampel minyak atsiri dan larutan baku masing-masing dipipet sebanyak 50 µL, di masukkan ke dalam lubang pada Cawan petri yang sudah mengandung media uji dan bakteri uji, didiamkan selama 30 menit agar terjadi difusi larutan sampel ke dalam media kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam. Diamati adanya daerah hambatan pertumbuhan bakteri. Pada penelitian ini didapat hasil berupa diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri (diameter lubang 7 mm).

Pembuatan gel minyak atsiri

Formula basis gel terdiri dari komponen seperti tersaji pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Formula basis gel minyak atsiri

No	Bahan	Jumlah (%)	Kegunaan
1.	Carbomer 940	0,5	<i>Gelling agent</i>
2.	Tween 80	8	<i>Emulsifier</i>
3.	Tri etanolamin	0,85	pembasa
4.	Propilen glikol	15	<i>humectant</i>
5.	EDTA	0,1	<i>Chelating agent</i>
6.	BHT	0,05	antioksidan

Carbomer didispersikan ke dalam air suling bebas CO₂, dikembangkan selama ± 20 menit, kemudian diaduk sampai terbentuk basis gel. Setelah itu, ditambahkan *Ethylenediaminetetraacetic acid*, Butil Hidroksi Toluena, Trietanolamin, Propilen glikol ke dalam basis, dicampur sampai homogen. Minyak atsiri dilarutkan ke dalam Tween 80, kemudian ditambahkan ke dalam basis gel dan diaduk sampai homogen. Sisa air ditambahkan ke dalam sediaan dan diaduk sampai homogen. Sediaan didiamkan semalam untuk menghilangkan gelembung udara yang terjebak selama pengadukan.

Pembuatan gel klindamisin

Secara garis besar, pembuatan gel Klindamisin dilakukan dengan prosedur yang sama seperti pembuatan gel minyak atsiri. Klindamisin terlebih dahulu dilarutkan ke dalam propilen glikol lalu ditambahkan ke dalam basis gel Tween 80 kemudian ditambahkan ke dalam basis gel dan diaduk sampai homogen.

Uji organoleptis

Dilakukan pemeriksaan organoleptis meliputi konsistensi, bentuk, warna dan bau sediaan gel minyak atsiri.

Pemeriksaan pH

Ditimbang gel minyak atsiri 3 gram, ditambahkan air suling sampai 30 mL, didispersikan sampai homogen, kemudian diukur pH dengan pH meter (*Schott glass mainz* tipe CG 842) .

Pemeriksaan viskositas sediaan

Sediaan dimasukkan ke dalam cup viskometer (Ostwald) sampai batas tanda kemudian dipasang rotor yang sesuai. Alat dinyalakan selama 1 menit. Kemudian angka yang ditunjukkan pada alat dicatat.

Analisis data

Formula yang diperoleh diamati karakter fisiknya meliputi organoleptis, pH, viskositas dan daya hambatnya terhadap bakteri uji. Uji stabilitas sediaan gel minyak atsiri dilakukan selama empat minggu dengan mengamati organoleptis dan aktivitasnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan identifikasi minyak atsiri

Dalam penelitian ini digunakan metode destilasi uap air, karena proses dekomposisi minyak lebih kecil dibanding destilasi menggunakan air. Hasil penelitian pendahuluan untuk menguji kandungan minyak atsiri

daun jeruk purut menggunakan kromatografi gas menunjukkan bahwa minyak atsiri daun jeruk purut mengandung 23 macam senyawa (Tabel 2). Sitronelal, sitronelol, geraniol, dan sitronelil asetat merupakan komponen yang lebih besar dibanding yang lain.

Tabel 2. Hasil pengamatan kandungan minyak atsiri daun jeruk purut secara kualitatif

No.	Senyawa	Jumlah (%)
1.	Cyclopentane, 1-methyl-3-(1-methyl)	0,910
2.	Bicycle (3,1,0) hexane, 4-methylen	3,823
3.	3-carene	0,061
4.	Linalool	1,108
5.	Citronellal	6,220
6.	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methyl)	0,879
7.	6 octenal, 3,7-dimethyl	0,958
8.	Citronellol	4,917
9.	Geraniol	1,732
10.	2 hexanol,2,5-dimethyl	0,347
11.	Citronellol acetate	2,865
12.	Cyclohexanol, 2-(2-hydroxy-2-propyl)	0,231
13.	Cyclohexene, 4-methyl	0,291
14.	1H-cyclopropana(a)naphthalene	0,140
15.	Caryophyllene	0,696
16.	Alpha-caryophyllene	0,135
17.	α- Farnesene	0,104
18.	1,5-heptadiene,2,5-dimethyl-3-met	0,094
19.	Naphthalene	0,185
20.	1,6,10-dodecatrien-3-ol	0,675
21.	1,4-hexadiene,3,3,5-trimethyl	0,106
22.	Cyclohexanol, 4-ethyl-4-methyl	0,310
23.	Cyclohexanol,5-methyl-2-(1-methyl)	0,435

Karakteristik fisik gel minyak atsiri

Hasil uji organoleptis menunjukkan bahwa karakteristik fisik sediaan gel minyak atsiri dan gel kontrol yang mengandung klindamisin hanya berbeda baunya. Gel minyak atsiri daun jeruk purut 5% merupakan gel encer berwarna putih kekuningan dan

berbau segar khas jeruk purut, sedangkan gel klindamisin 1% berbau Tween 80 (Tabel 3). Aroma Tween gel klindamisin disebabkan gel tersebut tidak mengandung minyak atsiri, sehingga aroma tween tidak dapat tertutupi, dibandingkan gel minyak atsiri daun jeruk purut, yang tidak beraroma tween.

Tabel 3. Performa sediaan gel sebelum dan setelah penyimpanan

Waktu Penyimpanan (minggu)	Gel minyak atsiri			Gel Klindamisin		
	Konsistensi, warna, bau	pH	Viskositas	Konsistensi, warna, bau	pH	Viskositas
0	Encer, putih tulang, khas jeruk purut	6,37	6,0 cps	Encer, kuning muda, bau tween	6,15	3,6 cps
3	Encer, putih tulang, khas jeruk purut	6,37	6,0 cps	Encer, kuning muda, bau tween	6,15	3,6 cps
4	Encer, putih tulang, khas jeruk purut	6,38	6,0 cps	Encer, kuning muda, bau tween	6,5	3,6 cps

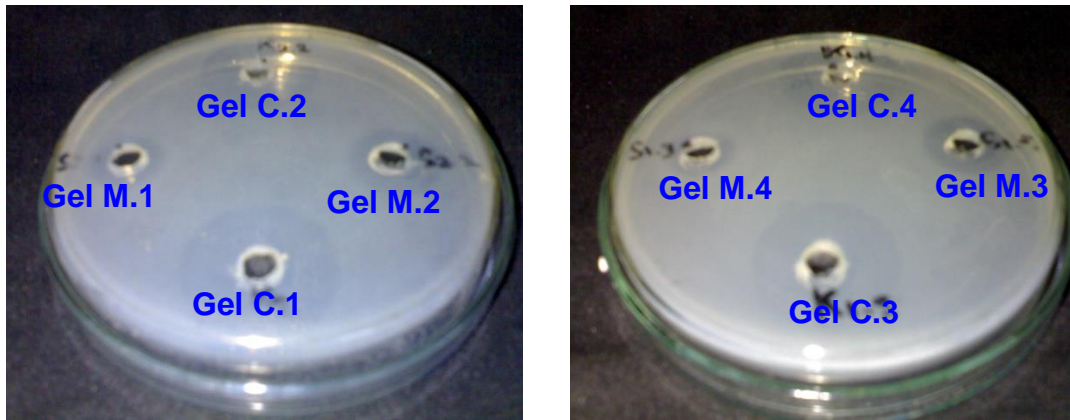
Uji aktivitas antibakteri

Dalam penelitian ini hanya digunakan satu macam konsentrasi minyak atsiri yakni sebesar 5% dan klindamisin sebesar 1%. Berbeda dengan hasil penelitian sebelumnya, minyak atsiri jeruk purut pada penelitian ini mampu menghambat *Staphylococcus*

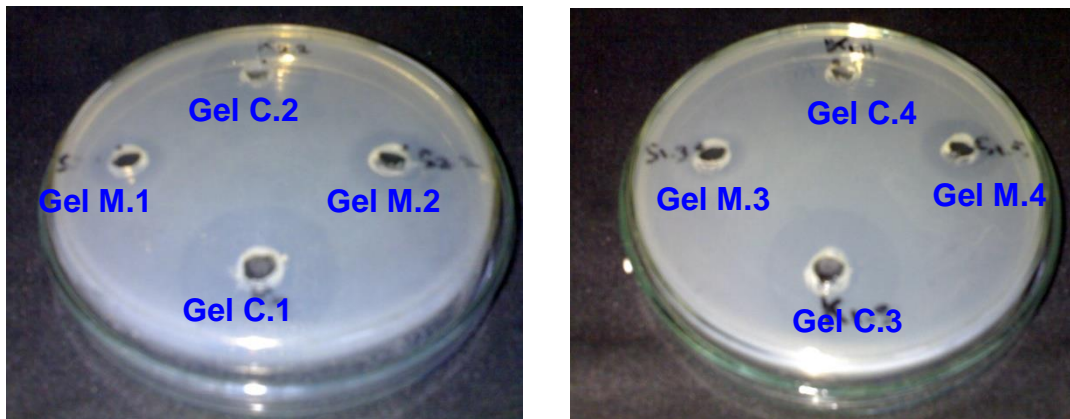
aureus pada konsentrasi 0,5%, sedangkan hasil uji Agusta (2000) diperoleh aktivitas 1-1.5% Variasi aktivitas dapat disebabkan oleh perbedaan kualitas atau spesifikasi simplisia daun jeruk purut. Untuk itu, standarisasi simplisia perlu dilakukan. Hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa potensi gel minyak atsiri

terhadap bakteri uji yang digunakan lebih rendah dibandingkan gel klindamisin pada konsentrasi 1% (Gambar 1 dan 2). Pada penelitian selanjutnya perlu

dihitung konsentrasi hambat minimum sediaan untuk menetapkan dosis efektif.



Gambar 1. Hasil uji aktivitas gel minyak atsiri 5% dan gel klindamisin 1% terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*



Gambar 2. Hasil uji aktivitas gel minyak atsiri (GM) 5% dan gel klindamisin (C) 1% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* setelah penyimpanan 1 (Gel M.1, C.1), 2 (Gel M.2, C.2), 3 (Gel M.3, C.3), dan 4 (Gel M.4, C.4) minggu

Keterangan: Gel M.1 = Gel minyak atsiri 5% pada penyimpanan 1 minggu
 Gel M.2 = Gel minyak atsiri 5% pada penyimpanan 2 minggu
 Gel M.3 = Gel minyak atsiri 5% pada penyimpanan 3 minggu
 Gel M.4 = Gel minyak atsiri 5% pada penyimpanan 4 minggu
 Gel C.1 = Gel Clindamycin 1% pada penyimpanan 1 minggu
 Gel C.2 = Gel Clindamycin 1% pada penyimpanan 2 minggu
 Gel C.3 = Gel Clindamycin 1% pada penyimpanan 3 minggu
 Gel C.4 = Gel Clindamycin 1% pada penyimpanan 4 minggu

Aktivitas antibakteri gel dengan bahan aktif minyak atsiri daun jeruk purut disebabkan oleh fungsi minyak atsiri daun jeruk purut sebagai metabolit sekunder tumbuhan yang mengandung hidrokarbon monoterpen (sitronelal), hidrokarbon monoterpen teroksigenasi (linalool, geraniol, sitronelol, dan sitronelil asetat), dan hidrokarbon monoterpen ester (sitronelil asetat) yang memiliki aktivitas antibakteri (Sakovic dkk., 2010; Lertsatitthanakorn dkk., 2010). Senyawa linalool, geraniol, sitronelol memiliki gugus P-ISSN: 2406-9388
 E-ISSN: 2580-8303

hidroksi dimana gugus tersebut memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan mekanisme denaturasi/koagulasi protein dan dapat merusak membran sitoplasma, melisis sel, mempengaruhi metabolisme sel, serta merusak dinding sel bakteri (Ma'at, 2009; Lertsatitthanakorn dkk., 2010; Bauman 2011). Minyak atsiri daun jeruk purut juga mengandung gugus aldehid yang terdapat pada senyawa sitronelal dan linalool yang juga mempunyai aktivitas denaturasi protein dan inaktivasi asam nukleat

pada bakteri. Sitronelil asetat merupakan monoterpen ester yang dapat mengganggu membran sitoplasma bakteri dan menyebabkan kebocoran sel. (Lertsatitthanakorn dkk., 2010; Bauman, 2011).

Uji stabilitas sediaan gel

Hasil uji stabilitas sediaan gel minyak atsiri daun jeruk purut dan gel kontrol menunjukkan bahwa sediaan stabil selama penyimpanan 1 minggu, 2 minggu, 3 minggu, dan 4 minggu pada suhu kamar. Stabilitas ditunjukkan dari bentuk, warna, dan bau sediaan gel minyak atsiri daun jeruk purut 5% maupun gel klindamycin 1% yang tidak berubah setelah penyimpanan. Aktivitas sediaan gel dan gel kontrol juga stabil setelah penyimpanan selama 4 minggu

(Tabel 4 dan 5). Pada uji stabilitas pH sediaan dan gel kontrol dihasilkan nilai Kv masing-masing 0,11% dan 0,00% atau kurang dari 6% (Tabel 3), maka dapat disimpulkan bahwa gel minyak atsiri daun jeruk purut 5% dan gel klindamsin 1% stabil pada penyimpanan 3 minggu dan 4 minggu. Pada uji stabilitas viskositas sediaan pada penyimpanan 3 minggu, dan 4 minggu diperoleh nilai Koefisien variasi: 0,00% atau kurang dari 6% untuk kedua sediaan gel, sehingga dapat disimpulkan bahwa gel minyak atsiri daun jeruk purut 5% dan gel klindamsin 1% stabil (Depkes RI, 2014) pada penyimpanan 3 minggu, dan 4 minggu berdasarkan nilai viskositasnya.

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antibakteri gel minyak atsiri daun jeruk purut 5% dan gel kontrol (klindamisin 1%) terhadap *Staphylococcus epidermidis* sebelum dan setelah penyimpanan

Penyimpanan	Gel minyak atsiri 5%		Gel clyndamycin 1%	
	Diameter hambatan (mm)	Kv (%)	Diameter hambatan (mm)	Kv (%)
0 minggu	17,3	4,13	30,0	1,77
1 minggu	17,5		30,1	
2 minggu	16,6		29,7	
3 minggu	15,9		28,8	
4 minggu	16,2		29,4	

Tabel 5. Hasil uji aktivitas antibakteri gel minyak atsiri daun jeruk purut 5% dan gel kontrol (klindamisin 1%) terhadap *Staphylococcus aureus* sebelum dan setelah penyimpanan pada suhu

Penyimpanan	Gel minyak atsiri 5%		Gel klindamisin 1%	
	Diameter hambatan (mm)	Kv (%)	Diameter hambatan (mm)	Kv (%)
0 minggu	18,1	4,13	29,6	3,92
1 minggu	19,0		28,9	
2 minggu	17,3		28,3	
3 minggu	17,6		28,2	
4 minggu	17,2		26,6	

Nilai viskositas gel klindamisin lebih rendah dibanding gel minyak atsiri daun jeruk purut. Fenomena ini dapat disebabkan oleh penambahan klindamisin yang menyebabkan penurunan viskositas basis gel. Gugus alkohol yang terdapat pada senyawa klindamisin dapat menimbulkan terjadinya ikatan hidrogen antar molekul dengan molekul air, sehingga mencegah terbentuknya ikatan hidrogen antara gugus karboksilat pada molekul carbomer dengan molekul air, hal ini menyebabkan terjadi interaksi antar rantai polimer melalui ikatan hidrogen molekuler dan gaya van der Waals, sehingga rantai polimer cenderung berkumpul seperti pada keadaan padat yang mengakibatkan terjadinya presipitasi (Schott, 2000).

KESIMPULAN

Sediaan gel yang mengandung minyak atsiri *Citrus hystrix* folium 5% efektif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* dan *Staphylococcus aureus* serta stabil setelah penyimpanan selama 4 minggu.

Berdasarkan performa fisik bentuk, warna, bau, dan konsistensi, pH, serta viskositas, sediaan gel minyak atsiri *Citrus hystrix* folium stabil secara fisik setelah penyimpanan selama 4 minggu.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Subakir yang telah berkontribusi pada pengujian antibakteri selama proses penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A. (2000). Aromaterapi: Cara Sehat dengan Wewangian Alami. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Baumann, L. & Jonette, K. (2009). Acne (Type 1 Sensitive Skin). In: Baumann L (ed.) *Cosmetic Dermatology Principles and Practice* (2nd ed); 121-126. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Departemen Kesehatan RI. (2014). Farmakope Indonesia IV. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Hariana, A. (2007). Tumbuhan Obat dan Khasiatnya Seri 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Lertsatitthanakorn, P., Taweechaisupapong, S., Arunyanart, C., Aromdee, C. & Khunkitti, W. (2010). Effect of Citronella Oil on Time Kill Profile, Leakage and Morphological Changes of *Propionibacterium acnes*. *Journal of Essential Oil Research*; 22; 270-274.
- Ma'at, S. (2009). Sterilisasi dan Disinfeksi, Surabaya: Airlangga University Press.
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J. & Owen, S. C. (2006). Handbook Pharmaceutical Excipients (5th ed.). Washington: Pharmaceutical Press.
- Sakovic, M., Glamočlija, J., Marin, P. D., Brkić, D. & van Griensven, L. J. (2010). Antimicrobial Effects of Essential Oil of Consumed Medicinal Herbs Using an In Vitro Model. *Molecules*; 15; 7532-7546.
- Schott, H. (2000). Colloidal Dispersion. In: Gennaro A (ed) *Remington, The Science and Practice of Pharmacy* (20th ed.); 307-310. New York: Lippincott Williams and Wilkins.
- Tortora, G. J., Funkr, B. R. & Case, C. L. (2010). Microbiology: An Introduction (10th ed.). San Francisco: Pearson Education.
- Winarto. (2007). Tanaman Obat Indonesia untuk Pengobatan Herbal Jilid 3. Jakarta: Karya Sari Herba Medika.

Analisis Kualitatif Sakarin dan Silamat pada Es Doger di Kota Batam

Hesti Marliza, Delladari Mayefis*, Raihani Islamiati
Program Studi Sarjana Farmasi, STIKes Mitra Bunda Persada, Batam

*Corresponding author: dellamayefis@gmail.com

Submitted: 28 Desember 2019

Accepted: 15 Januari 2020

Published: 29 Februari 2020

Abstract

Background: Synthetic sweetener is a substance that can cause sweetness and calories resulting lower than sugar. The artificial sweetener that is often used by traders is saccharine and cyclamate. The ingestion of saccharine and cyclamate in high dosages can cause cancer, and other diseases such as lung tumors, liver, lymph migraine, and headache. **Objective:** The purpose of this research was to know the presence or absence of saccharine and cyclamate in Doger Ice sold in some areas of Batam. **Methods:** This research used the experimental method with the sampling technique with the accidental sampling method which is an accidental sampling or available as many as 12 samples from 12 Doger Ice merchants. **Results:** The sample identification was performed qualitatively with precipitation tests and color reaction tests. The results showed that as many as 12 samples from 12 merchants in some areas of Batam did not contain saccharine and cyclamate. **Conclusion:** Doger ice sold in Batam City does not contain artificial sweeteners.

Keywords: synthetic sweeteners, saccharine, cyclamate

Abstrak

Pendahuluan: Pemanis sintetis merupakan suatu zat/bahan yang digunakan untuk menimbulkan rasa manis dengan jumlah kalori yang lebih rendah daripada gula pasir. Salah satu pemanis buatan yang sering digunakan adalah sakarin dan siklomat. Konsumsi sakarin dan siklomat dalam dosis tinggi dapat menyebabkan kanker, dan penyakit lainnya seperti tumor paru, hati, limfa, migraine dan sakit kepala. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan sakarin dan siklomat pada es doger yang dijual di beberapa lokasi di Kota Batam. **Metode:** Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan metode pengambilan sampel yang kebetulan ada atau tersedia saat itu sebanyak 12 sampel dari 12 pedagang es doger. Identifikasi sampel dilakukan secara kualitatif dengan uji pengendapan dan uji reaksi warna. **Hasil:** Hasil uji menunjukkan bahwa sebanyak 12 sampel dari 12 pedagang di beberapa lokasi di Kota Batam tidak mengandung sakarin dan siklomat. **Kesimpulan:** Es doger yang dijual di Kota Batam tidak mengandung pemanis buatan.

Kata kunci: pemanis buatan, sakarin, siklomat

PENDAHULUAN

Bahan tambahan makanan merupakan bahan tambahan dan bukan bahan utama yang digunakan pada makanan, yang digunakan untuk memperoleh produk makanan atau minuman yang enak, menarik, dan tahan lama (Rasyid dkk., 2011).

Salah satu bahan tambahan makanan yang digunakan adalah pemanis. Di pasaran tersedia 2 jenis pemanis yaitu pemanis alami dan pemanis buatan.

Pemanis alami/sukrosa berasal dari tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.), dan bit (*Beta vulgaris* L.) (Rasyid dkk., 2011). Sedangkan pemanis buatan merupakan zat/bahan dengan rasa manis dan jumlah kalori yang lebih rendah daripada gula (Nurlailah dkk., 2017).

Penggunaan pemanis buatan sudah diizinkan penggunaannya, dan tercantum di dalam Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor

208/Menkes/Per/IV/1985 adalah siklambat, sakarin dan aspartam. Sakarin dan siklambat digunakan bagi seseorang yang melakukan diet gula, karena menghasilkan kalori yang rendah (Arini, 2018).

Sakarin memiliki tingkat kemanisan 300 kali dari gula biasa (sukrosa) dan menimbulkan rasa ikutan yang pahit sedangkan siklambat tidak menimbulkan rasa ikutan yang pahit. Siklambat memiliki tingkat kemanisan 30 kali dari pada sukrosa (Rasyid dkk., 2011).

Batas maksimum penggunaan sakarin yang di atur oleh ADI (*Acceptable Daily Intake*) adalah 0 - 5 mg/BB/hari dan kadar maksimum penggunaan sakarin dalam minuman 300 mg/L sedangkan batas maksimum penggunaan siklambat adalah 0 - 11 mg/BB/hari dan kadar maksimum penggunaan siklambat dalam minuman 3 g/L (Lestari, 2011).

Penggunaan pemanis sintetis dalam jumlah yang berlebihan sangat tidak dianjurkan karena dapat menimbulkan efek merugikan bagi kesehatan, seperti penyakit syaraf, insomnia, hipertensi dan kanker otak (Devitria & Sepriyani, 2018).

Penambahan sakarin dan siklambat biasanya digunakan oleh pedagang minuman, salah satunya es doger. Minuman ini cukup digemari oleh masyarakat terutama saat cuaca panas, terlebih lagi iklim di Kota Batam cenderung panas, karena secara geografis merupakan daerah kepulauan. Terlebih penelitian analisis kualitatif sakarin dan siklambat belum pernah dilakukan di Kota Batam.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Sampel es doger, BaCl₂ 10%, eter, HCl 10%, HCl 25%, H₂SO₄ p, NaNO₄ 10%, NaOH 10%, karbon aktif, resorsinol, natrium siklambat, sakarin.

Alat

Batang pengaduk, beaker glass, corong biasa, corong pisah, *hotplate*, kaca arloji, karet penghisap, kertas saring, labu ukur, pipet tetes, pipet volume, penangas, spatel, dan timbangan.

Metode

Metode eksperimental di Laboratorium Kimia Farmasi dengan analisa kualitatif uji pengendapan dan uji reaksi warna.

Prosedur kerja

Pengambilan sampel

Pengambilan sampel es doger dengan metode *accidental sampling* dengan sampel yang kebetulan ada atau tersedia saat penelitian.

Analisis kualitatif siklambat dengan uji pengendapan (BSN, 1992)

Sebanyak 100 mL sampel dimasukan ke dalam Erlenmeyer kemudian ditambahkan arang aktif hingga larut, disaring dengan kertas Whatmann 42. Di tambahkan 10 mL larutan HCl 10% dan 10 ml larutan BaCl₂ 10%, didiamkan selama 30 menit, disaring kembali dengan kertas saring Whatmann 42 dan ditambahkan 10 mL larutan NaNO₂ 10%. Hasil reaksi dipanaskan di atas *hotplate* dan ditunggu sampai 20 - 30 menit setelah dipanaskan, kemudian diamati. Apabila terdapat endapan putih maka sampel positif mengandung siklambat.

Analisis kualitatif sakarin uji reaksi warna (BSN, 1992)

Sebanyak 50 mL sampel ditambahkan 5 mL HCl 25% kemudian ekstraksi dengan 25 mL eter. Setelah larutan terpisah, eter diuapkan kemudian tambahkan 15 tetes H₂SO₄ pekat dan 40 mg resorcinol (0,04 gram), kemudian panaskan di api kecil sampai berubah warna menjadi coklat. Setelah larutan dingin, tambahkan 5 mL aquadest dan NaOH 10% berlebih. Apabila terjadi perubahan warna menjadi hijau fluoresens (hijau kekuningan) maka sampel positif mengandung sakarin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian analisis kualitatif sakarin dan siklambat pada minuman es doger yang dijual di berbagai daerah Kota Batam menggunakan uji pengendapan dan uji reaksi warna.

Tabel 1. Hasil uji kualitatif sakarin dan siklambat dengan uji pengendapan dan reaksi warna

Sampel	Sakarin	Siklambat
1	(-)	(-)
2	(-)	(-)
3	(-)	(-)
4	(-)	(-)
5	(-)	(-)
6	(-)	(-)
7	(-)	(-)
8	(-)	(-)
9	(-)	(-)
10	(-)	(-)
11	(-)	(-)
12	(-)	(-)

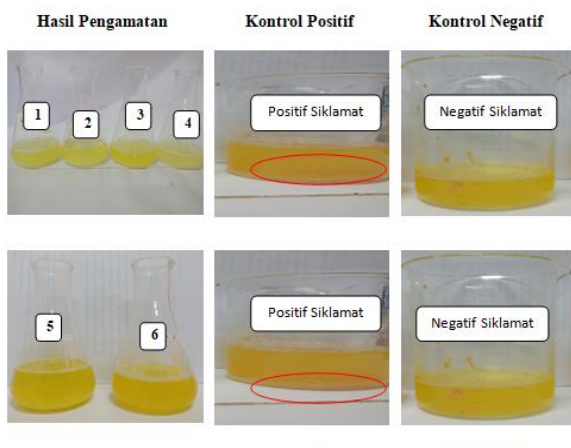
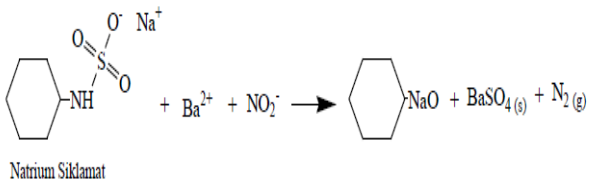
Dari Tabel 1 dapat dilihat sebanyak 12 sampel yang telah diuji dengan uji reaksi warna dan uji pengendapan didapat hasil bahwa semua sampel tidak mengandung sakarin dan siklambat.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi apakah es doger yang dijual di Kota Batam mengandung pemanis sintetis sakarin dan siklamat atau tidak, agar aman untuk dikonsumsi.

Penelitian ini dilakukan analisis secara kualitatif sakarin dan siklamat dalam minuman es doger yang terdiri dari 12 macam sampel es doger dari pedagang yang berbeda di beberapa daerah di Kota Batam.

Pada Gambar 1, uji kualitatif siklamat dilakukan dengan cara uji pengendapan. Pada preparasi sampel ditambahkan karbon aktif untuk menghilangkan warna pada sampel agar lebih mudah diamati reaksi-reaksi yang terjadi pada sampel. Pengendapan terjadi akibat penambahan BaCl₂ (barium klorida) pada suasana asam pada sampel, tunggu selama 30 menit kemudian ditambah NaNO₂ (natrium nitrit) sehingga membentuk endapan BaSO₄ (barium sulfat) lalu dipanaskan di atas hotplate atau penangas air, dan ditunggu selama 30 menit kemudian hasil yang didapat setelah dilakukan pemanas adalah tidak terdapat endapan putih.

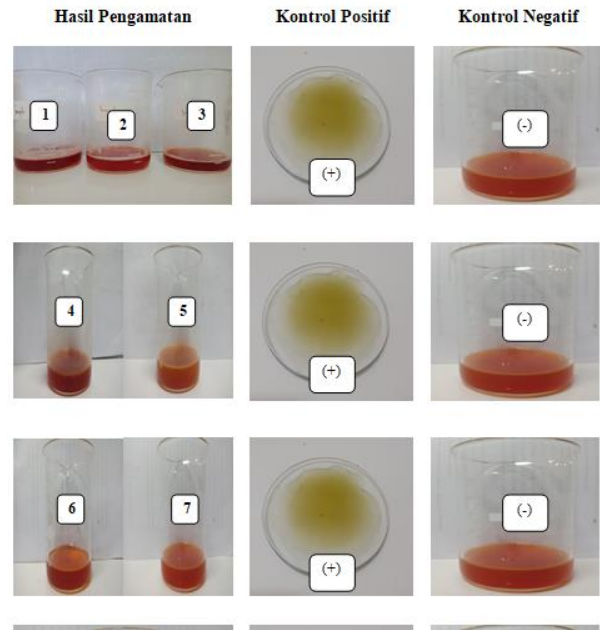
Hasil reaksi kimia yang terjadi dalam pembentukan endapan BaSO₄ (barium sulfat) adalah sebagai berikut.



Gambar 1. Uji kualitatif siklamat

Pada Gambar 2, uji kualitatif sakarin dilakukan dengan uji reaksi warna. Uji reaksi warna dilakukan dengan menambahkan HCl 25% dengan tujuan untuk mengubah garam sakarin dalam minuman es doger menjadi asam sakarin yang tidak larut dalam air, setelah itu ekstraksi dengan eter agar asam sakarin dapat ditarik oleh eter. Kemudian hasil ekstrak tersebut

dibiarkan di udara terbuka agar diperoleh sakarin, lalu tambahkan H₂SO₄ dan terbentuk o-benzoatsulfonamida dan bereaksi dengan resorcinol sehingga menghasilkan senyawa berwarna hijau fluoresens (hijau kekuningan). Sampel dikatakan positif apabila setelah diuji sampel mengalami perubahan warna menjadi hijau fluoresens (hijau kekuningan).



Gambar 2. Uji kualitatif sakarin

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan seluruh sampel tidak teridentifikasi mengandung sakarin karena setelah dilakukan pengujian tidak terjadi perubahan warna hijau fluoresens (hijau kekuningan).

KESIMPULAN

Sebanyak 12 sampel es doger di Kota Batam tidak mengandung pemanis buatan sakarin maupun siklamat, dan aman untuk dikonsumsi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih tak terhingga kami ucapkan kepada Prodi Sarjana Farmasi STIKes Mitra Bunda Persada Batam dalam mendukung kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Arini, D. (2018). Identifikasi Sakarin Pada Minuman Jajanan di Kawasan Pendidikan SD di Wilayah Kecamatan Mojojoto Kota Kediri. *Simki-Techsain*; 2; 1-8.

Badan Standarisasi Nasional (BSN). (1992). Standar Nasional Indonesia (SNI). SNI-01-2893-1992. Cara Uji Pemanis Buatan. Jakarta: Dewan

Standarisasi Indonesia.

- Devitria, R. & Sepriyani, H. (2018). Identifikasi Natrium Siklamat pada Minuman Sirup yang dijual di Lima SD Kecamatan Sukajadi Pekanbaru. *Jurnal Analis Kesehatan Klinik Sain*; 6; 1-7.
- Lestari, D. (2011). Analisis Adanya Kandungan Pemanis Buatan (Sakarín dan Siklamat) pada Jamu Gendong di Pasar Gubug Grobogan. Skripsi; Fakultas Tarbiyah Institut Agama Islam Negeri Walisongo, Semarang.
- Nurlailah, A. N. A. & Oktiyani, N. (2017). Analisis Kadar Siklamat pada Es Krim di Kota Banjarbaru. *Medical Laboratory Technology Journal*; 3; 77-81.
- Rasyid, R., Yohana, M. & Mahyuddin, M. (2016). Analisis Pemanis Sintesis Natrium Sakarin dan Natrium Siklamat dalam Teh Kemasan. *Jurnal Farmasi Higea*; 3; 52-57.

Effect of Guava Powder Addition on Epigallocatechin Gallate (EGCG) Content of Green Tea and Its Antioxidant Activity

Hanifah Ridha Rabbani¹, Djoko Agus Purwanto², Isnaeni^{2*}

¹Master of Pharmaceutical Science, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya

²Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Universitas Airlangga, Surabaya

*Corresponding author: isna.yudi@gmail.com

Submitted: 9 Desember 2019

Accepted: 8 Januari 2020

Published: 29 Februari 2020

Abstract

Background: Tea (*Camellia sinensis*) contains polyphenols including epigallocatechin gallate (EGCG) which is acknowledged to have strong antioxidant properties. However, its stability is strongly influenced by environment. In a neutral and alkaline environment, EGCG could undergo degradation and lose its antioxidant property. There are some researches about the effect of combination of green tea and other plants to their antioxidant capacity. **Objective:** The research aimed to investigate the effect of guava addition to EGCG content of green tea and their antioxidant activity. **Methods:** The concentration of EGCG was determined by chromatographic analysis using TLC scanner, meanwhile the antioxidant activity was evaluated by its ability in scavenging 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) using UV-Vis Spectrophotometer. **Results:** Among all the samples, formula 4 (2 parts of green tea and 3 parts of guava) gave the highest EGCG content (39.03 ± 3.65 mg/g). This was 37.5% higher than the control sample (28.39 ± 2.45 mg/g). Formula 4 also had the best antioxidant activity with IC_{50} of 1917.32 ± 1.75 ppm, 19% lower than control sample (2356.46 ± 3.16 ppm). **Conclusion:** The addition of guava powder significantly increased the amount of EGCG in green tea extracts and their antioxidant activity.

Keywords: green tea, *Camellia sinensis*, guava, epigallocatechin gallate (EGCG), antioxidant activity

INTRODUCTION

In recent years, tea (*Camellia sinensis*) has developed into the center of attention because of its health benefits, primarily as an antioxidant and anti-carcinogenic agents. Flavonoids are commonly believed to play important role in these benefits (Wang *et al.*, 2003). A glass of tea can contain about 300 - 400 mg of total polyphenols. Polyphenols have great antioxidant capacity and can shield body cells from the harmful side effects of reactive oxygen species. Dry tea leaves contain about 42% polyphenols in the form of catechins. The most common types of catechin inside the tea are epigallocatechin gallate (EGCG), epigallocatechin (EGC), epicatechin gallate (ECG), and epicatechin (EC). EGCG contributes to 13% of the total polyphenols in tea (Ramalakshmi & Rao, 2011).

One of the obstacles encountered during the application of tea is the stability of catechins. The stability of catechins including EGCG is strongly influenced by the environment, such as temperature,

air, and pH during storage (Zeng *et al.*, 2018). Tea catechins tend to be less stable at temperatures above 50°C, even during the heating time at 98°C; catechins can be degraded up to 20% (Chen *et al.*, 2001). Catechin degradation will result in decreased antioxidant activity (Dhaouadi *et al.*, 2016). Some solutions that have been applied to maintain the stability of tea catechin were keeping the tea inside refrigerator at 4°C, setting the pH of the solution around 4, and the addition of ascorbic acid (Chen *et al.*, 1998). This was in concordance with the work by Fangueiro *et al.* (2014) which suggested that the existence of ascorbic acid provided great protection to EGCG against degradation.

The utilization of fruit has been known to reduce the degradation of catechins. Dhaouadi *et al.* (2016) reported that adding pomegranate to green tea significantly reduced the degradation of polyphenol content from 92% to 36% in storage for 15 days at 4°C. The use of lemon juice in tea drinks was also

known to slow down the degradation of catechins (Bazinet *et al.*, 2010).

There are some researches about the effect of combination of green tea and other plants to their antioxidant capacity (Costa *et al.*, 2012; Nedamani *et al.*, 2015), however, the combination between green tea and pink guava has still not been evaluated. Guava was known to have a high level of ascorbic acid, flavonoids (Yan *et al.*, 2006), and phenolic content (Musa *et al.*, 2015). Therefore in this work, we evaluated the effects of guava addition on EGCG content were evaluated in green tea and their antioxidant activity. The concentration of EGCG was determined by chromatographic analysis using TLC scanner, meanwhile, the antioxidant activity was tested by sample's ability in capturing 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radicals using UV-Vis Spectrophotometer.

MATERIALS AND METHODS

Materials

(-)-Epigallocatechin gallate (EGCG) standard was purchased from Sigma (St. Louis, MO); 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) was acquired from Sigma (Steinheim, Germany); methanol, chloroform, formic acid, and TLC plates (20 x 20 cm) pre-coated with silica gel 60 F254 were obtained from Merck (Darmstadt, Germany), ethyl acetate was obtained from Anhui Full Time (Anhui, China); acetone and distilled water were purchased from Smart Lab (Tangerang, Indonesia). All chemicals and reagents were analytical grades.

A commercial green tea (GT) product was purchased from local shop in Surabaya, Indonesia. Each sachet of the product contained 2 g of green tea powder. As for the fruit, pink guavas (GV) were collected from local market in Surabaya. The pink guavas were produced from plantation in Blitar, Indonesia. The ripe pink guavas which had good appearance were chosen for the study. The guavas were rinsed and peeled to remove the dirt. Clean guavas were then sliced into thin pieces and dried in fruit dehydrator for about 24 hours. Dried slices of guava were turned into powder using dry miller (Miyako Model BL-101 PL).

Instruments

Chromatographic analysis was performed using CAMAG TLC Scanner 4 (Muttentz, Switzerland) and the data was collected using winCATS software. Spectrophotometric analysis was carried out using Cary 60 UV-Vis Spectrophotometer from Agilent

(California, US) with cuvettes of 1 cm length. XPE 26 Micro-analytical Balance from Mettler Toledo (Greinfensee, Switzerland) and STARTER 3000 bench pH meter were also used in this work.

Methods

Preparation of extracts

All extracts tested in this research were made freshly. Green tea powder (2 g) was put into 200 mL volumetric flask and added with 80°C distilled water until the mark. The solution was homogenized using magnetic stirrer for 10 minutes. Green tea extracts then were divided evenly for 5 variations as following: (1) green tea only (GTGV 2:0), (2) green tea added with 1 part of guava powder (GTGV 2:1), (3) green tea added with 2 parts of guava powder (GTGV 2:2), (3) green tea added with 3 parts of guava powder (GTGV 2:3), (4) green tea added with 4 parts of guava powder (GTGV 2:4). Every green tea extracts were then stirred again for another 5 minutes. All the extracts were then filtered to remove the undissolved particles. The extracts were kept in glass bottle at refrigerator if not in use.

Determination of EGCG content in extract

The extraction of EGCG in all formulas were performed using the method used by Kurniadi *et al.* (2007) with a minor adjustment. Initially, 2 mL of filtered samples were partitioned with 2 mL of chloroform. The chloroform layer was then removed. The water phased was collected and as a second partition, 2 mL of ethyl acetate was used. This step was repeated twice. The ethyl acetate layer was collected and evaporated inside acid chamber at room temperature. The extract obtained later was reconstituted with 2 mL of methanol. The quantification of EGCG was done using thin layer chromatography method which was previously used by Vasisht *et al.* (2003) with slight alteration. Each extracts (2 mL), and series of EGCG standards, were applied on pre-activated silica TLC plate. All quantitative analysis were made in three replicates. The plate was run in a chamber which was filled with chloroform, acetone, and formic acid with ratio of 5:4:1 as mobile phase. The plate was then dried inside acid chamber and scanned using Camag TLC scanner. The instrument setting as follows: slit dimensions 4.00 x 0.30 mm, scanning speed 20 mm/s, data resolution 100 $\mu\text{m}/\text{step}$, and wavelength 278 nm. The area under curve (AUC) of the EGCG peak was measured and the concentration was determined from the standard plots.

Determination of antioxidant activity

The DPPH scavenging activities were carried out using the method developed by Dhaouadi *et al.* (2016) with slight modifications. First, the extracts were diluted with distilled water to make series of concentrations. The same amount of diluted extracts (40 µL) were then mixed with 1960 µL DPPH solutions ($8.87 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). The solutions were kept in dark for 60 minutes. The absorbance of blank (DPPH solution only) and every GTGV solutions were measured at 515 nm. The antioxidant activity of extracts was expressed as % inhibition of radical DPPH using equations as following $[(A_0 - A_t) / A_0] \times 100$, where A_0 was the initial absorbance of DPPH solution only and A_t was the absorbance of GTGV solutions after 60 minutes incubation.

Statistical analysis

All test were done in three replicates. Values were presented as mean ± SD (n = 3). Statistical analysis was performed using SPSS software (Version 24,

SPSS Inc.). One-way analysis of variance (ANOVA) was used to compare the means of all evaluated parameters. Differences were considered significant if P-value is lower than 0.05.

RESULTS AND DISCUSSION

EGCG content in green tea extract

EGCG content in green tea extracts are listed in Table 1. Green tea extracts with addition of guava powder had higher EGCG content than control sample (green tea only). The addition of 3 and 4 parts of guava powder significantly increased the total of EGCG in green tea extracts. Among the five formulas of green tea and guava, the combination of 2 parts of green tea and 3 parts of guava gave the highest EGCG content ($39.03 \pm 3.65 \text{ mg/g}$). According to the scanning result of TLC plate (Figure 1), there was no EGCG peak in guava sample, indicated that green tea was the only one that contributed to the amount of EGCG detected.

Table 1. Content of *Epigallocatechin gallate* (EGCG) detected in combinations of green tea and guava extracts

Formula	EGCG content (mg/g)
GT:GV 2:0	28.39 ± 2.45^a
GT:GV 2:1	31.41 ± 0.75^{ab}
GT:GV 2:2	30.80 ± 0.49^a
GT:GV 2:3	39.03 ± 3.65^c
GT:GV 2:4	37.90 ± 3.30^{bc}

Data are means ± standard deviation (n = 3). Figures with different letters are statistically different at $P < 0.05$ as processed by the Tukey HSD test.

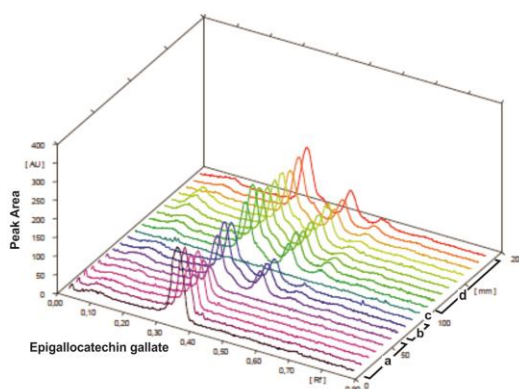


Figure 1. Scanned TLC plate showing the peaks obtained from (-)-*Epigallocatechin gallate* (EGCG) standard (a), green tea extract (b), guava extract (c), green tea added with guava extract (d). All extracts were obtained using liquid-liquid extraction

Lin & Yin (2012) reported that no epicatechin detected in guava aqueous extract. Rojas-Garbanzo *et al.* (2017) analyzed guava fruit using UHPLC-DAD-MS/MS and reported that it contained epigallocatechin gallate and other catechin compounds but due to overlapping peaks and low intensities, the

quantification of those compounds was not achieved. EGCG in guava was not detected in this study probably due to its small concentration.

The increase of EGCG content in extracts added with guava fruit shown in Table 1 was likely due to the ability of guava to reduce the pH of the solution from

6.08 to 4.65. EGCG is known to less stable in solution form. It was noted that pH affected the stability of EGCG. At neutral and alkaline environment (pH > 5.5), EGCG could undergo auto-oxidation, yielding dimers such as theasinensin A. Meanwhile acidic environment (pH = 2 - 5.5) enhanced the stability of EGCG (Krupkova *et al.*, 2016). Bazinet *et al.* (2010) previously reported in their work that adjusting the acidity of green tea solution to pH 3.8 - 4.0 by lemon juice addition increased the stability of EGCG during long-term storage.

It is also speculated that ascorbic acid from guava increased the stability of EGCG. Ascorbic acid was reported significantly stabilized catechins in alkaline solution. Since ascorbic acid is known as antioxidant, it may work as reductant to protect the catechin in green tea. Another assumption, ascorbic acid may decrease the oxidation of catechin in green tea by reducing the concentration of dissolved oxygen in solution (Chen *et al.*, 1998). This was in agreement with the reports by Fangueiro *et al.* (2014), who examined the stability of EGCG which was spiked with ascorbic acid and found that ascorbic acid could reduce the degradation of EGCG by 80%.

The ability of fruits on stabilizing EGCG is consistent with previous reports explained that pomegranate syrup stabilized green tea catechins content during 15 days storage (Dhaouadi *et al.*, 2016). The high level of sugar in pomegranate syrup was suggested made a role in maintaining catechins stability. The previous study by Xu *et al.* (2014) explained the effect of viscosity in maintaining the stability of green tea infusion. It was reported that higher viscosity improved the stability of green tea infusion while being kept in cool temperature.

Antioxidant activities of green tea extracts

DPPH is a stable radical compound that absorbs visible light at a wavelength of 515 - 517 nm (Apak *et al.*, 2013). The DPPH test measures the antioxidant properties of a compound based on their ability to capture DPPH radicals. DPPH free radicals can accept hydrogen atoms or electrons from antioxidants and form non-radical DPPH molecules. The antioxidant activity of green tea was observed from the change in color of DPPH solution which was originally dark purple to pale yellow. Table 2 shows the DPPH scavenging activity of green tea with and without the addition of guava.

Table 2. Antioxidant activities of the combination of green tea and guava extracts

Formula	Antioxidant activity (%)						IC ₅₀ (ppm)
	C = 500 ppm	1000 ppm	1500 ppm	2000 ppm	2500 ppm	3000 ppm	
GTGV 2:0	14.77 ± 0.04	26.98 ± 0.04	35.08 ± 0.04	45.84 ± 0.01	43.02 ± 0.06	59.63 ± 0.10	2356.46 ± 3.16 ^a
GTGV 2:1	15.60 ± 0.04	26.19 ± 0.06	37.40 ± 0.04	47.58 ± 0.05	57.34 ± 0.32	64.76 ± 0.07	2176.88 ± 6.54 ^b
GTGV 2:2	16.63 ± 0.01	24.90 ± 0.05	32.98 ± 0.10	43.37 ± 0.03	51.50 ± 0.05	61.58 ± 0.02	2388.63 ± 1.28 ^c
GTGV 2:3	28.05 ± 0.04	30.37 ± 0.02	40.47 ± 0.03	52.96 ± 0.02	60.39 ± 0.03	69.82 ± 0.01	1917.32 ± 1.75 ^d
GTGV 2:4	16.40 ± 0.05	27.49 ± 0.02	40.98 ± 0.01	51.88 ± 0.04	59.04 ± 0.01	69.07 ± 0.02	2025.87 ± 2.19 ^e

Data are means ± standard deviation from three replicates. For IC₅₀ column, figure followed by different letter have statistical difference at P < 0.05 as analyzed by the Tukey HSD test.

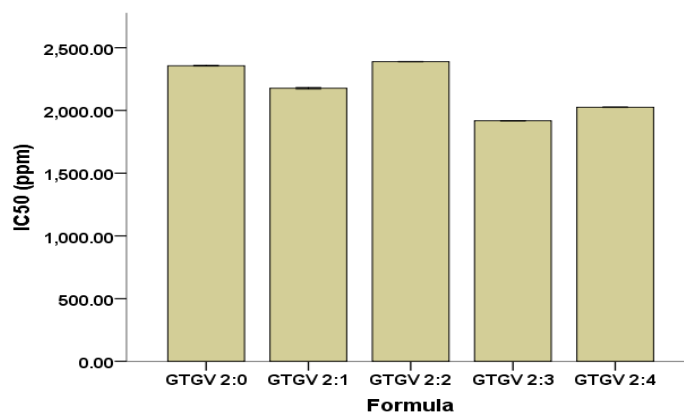


Figure 2. Antioxidant activity of green tea extracts with and without guava addition expressed as IC₅₀

The radical scavenging activity (RSA) for green tea extracts at different levels indicate a higher concentration of sample provided higher scavenging activity. This result is due to the increasing number of EGCGs that can donate their hydrogen atoms to DPPH radicals. It was reported that hydroxyl groups in B ring and a gallate esterified at C ring of EGCG structure contribute to the antioxidant capacity of EGCG (Krupkova *et al.*, 2016).

The effect of guava addition to green tea infusion was shown in Figure 2. Green tea infusion with the presence of guava had significant ($P < 0.05$) lower IC_{50} value than green tea infusion alone. Formula 4 which contained 2 parts of green tea and 3 parts of guava had the smallest IC_{50} value (1917.32 ± 1.75 ppm). The value of IC_{50} represents the amount of sample needed to scavenge 50% of DPPH radicals. The lower IC_{50} value means the higher DPPH radical scavenging activity. Obtained results suggested that the addition of guava powder was able to significantly strengthen the antioxidant activity of green tea up to 19%.

The antioxidant activity of the combination formulas was also affected by the presence of other flavonoids in green tea and guava. Green tea was reported to contain other flavonoids besides EGCG, such as catechin, epicatechin, quercetin-3-rutinoside, kaempferol-3-rutinoside, myricetin-3-glucoside, hesperetin-7-rutinoside, and naringenin-7-rutinoside (Pekal *et al.*, 2012). It has been found that guava also has antioxidant activity due to its flavonoid and phenolic contents (Yan *et al.*, 2006; Musa *et al.*, 2015). The flavonoids detected in the pink guava were kaempferol, isorhamnetin, myricetin, luteolin, and quercetin (Musa *et al.*, 2015). Another study by Nunes *et al.* (2016) examined guava using HPLC-DAD and the phenolic compounds of guava were myricetin, quercetin, quercetin-3-O-rutinoside, naringenin, 3,4-dihydroxybenzoic acid, 2-hydroxybenzoic acid, benzoic acid, gallic acid, syringic acid, 3-hydroxycinnamic acid, ferulic acid, rosmarinic acid, and 3,4-dihydroxyphenylacetic acid. Lin & Yin (2012) also reported that guava aqueous extract contained several compounds, such as ascorbic acid, rutin, quercetin, rosmarinic acid, myricetin, caffeic acid, naringenin, coumaric acid, ferulic acid, and ellagic acid.

CONCLUSION

In general, the addition of guava powder significantly increased the amount of EGCG in green tea extracts. Among all the samples, formula 4 (2 parts

of green tea and 3 parts of guava) gave the highest EGCG content (37.5% higher than the control sample). The ability of guava to reduce the pH of the solution and the presence of ascorbic acid were considered able to maintain the stability of EGCG. The presence of guava also enhanced the antioxidant activity of green tea solution up to 19%. The results were likely due to the combined effect of flavonoids contained in green tea and guava.

REFERENCES

- Apak, R., Gorinstein, S., Böhm, V., Schaich, K. M., Özyürek, M. & Güçlü, K. (2013). Methods of Measurement and Evaluation of Natural Antioxidant Capacity/Activity (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*; 85; 957–998.
- Bazinet, L., Araya-Farias, M., Doyen, A., Trudel, D. & Têtu, B. (2010). Effect of Process Unit Operations and Long-term Storage on Catechin Contents in EGCG-enriched Tea Drink. *Food Research International*; 43; 1692–1701.
- Chen, Z., Zhu, Q. Y., Tsang, D. & Huang, Y. (2001). Degradation of Green Tea Catechins in Tea Drinks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 49; 477–482.
- Chen, Z. Y., Zhu, Q. Y., Wong, Y. F., Zhang, Z. & Chung, H. Y. (1998). Stabilizing Effect of Ascorbic Acid on Green Tea Catechins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 46; 2512–2516.
- Costa, A. S. G., Nunes, M. A., Almeida, I. M. C., Carvalho, M. R., Barroso, M. F., Alves, R. C. & Oliveira, M. B. P. P. (2012). Teas, Dietary Supplements and Fruit Juices: A Comparative Study Regarding Antioxidant Activity and Bioactive Compounds. *LWT - Food Science and Technology*; 49; 324–328.
- Dhaouadi, K., Belkhir, M., Raboudi, F. & Mecha, E. (2016). Pomegranate and Mint Syrup Addition to Green Tea Beverage Stabilized Its Polyphenolic Content and Biofunctional Potentials During Refrigerated Storage. *Journal of Food Science and Technology*; 53; 1164–1177.
- Fangueiro, J. F., Parra, A., Silva, A. M., Egea, M. A., Souto, E. B., Garcia, M. L. & Calpena, A. C. (2014). Validation of a High Performance Liquid Chromatography Method for the Stabilization of Epigallocatechin Gallate. *International Journal of Pharmaceutics*; 475; 181–190.
- Krupkova, O., Ferguson, S. J. & Wuertz-Kozak, K.

- (2016). Stability of (-)-Epigallocatechin Gallate and Its Activity in Liquid Formulations and Delivery Systems. *Journal of Nutritional Biochemistry*; 37; 1–12.
- Kurniadi, M., Leswara, N. D. & Rinayanti, Y. (2007). Analisis Epigalokatekin Galat dalam Minuman Teh Hijau Siap Saji. *Majalah Ilmu Kefarmasian*; 4; 81–91.
- Lin, C. & Yin, M. (2012). Renal Protective Effects of Extracts from Guava Fruit (*Psidium guajava* L.) in Diabetic Mice. *Plant Foods for Human Nutrition*; 67; 303–308.
- Musa, K. H., Abdullah, A. & Subramaniam, V. (2015). Flavonoid Profile and Antioxidant Activity of Pink Guava. *ScienceAsia*; 41; 149–154.
- Nedamani, E. R., Mahoonak, A. S., Ghorbani, M. & Kashaninejad, M. (2015). Evaluation of Antioxidant Interactions in Combined Extracts of Green Tea (*Camellia sinensis*), Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and Oak Fruit (*Quercus branti*). *Journal of Food Science and Technology*, 52; 4565–4571.
- Nunes, J. C., Lago, M. G., Castelo-Branco, V. N., Oliveira, F. R., Torres, A. G., Perrone, D. & Monteiro, M. (2016). Effect of Drying Method on Volatile Compounds, Phenolic Profile and Antioxidant Capacity of Guava Powders. *Food Chemistry*; 197; 881–890.
- Pekal, A., Drozd, P., Biesaga, M. & Pyrzynska, K. (2012). Screening of the Antioxidant Properties and Polyphenol Composition of Aromatised Green Infusions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*; 92; 2244–2249.
- Ramalakshmi, R. & Rao, J. M. L. (2011). Recent Trends in Soft Beverages. India: Woodhead Publishing India.
- Rojas-Garbanzo, C., Zimmermann, B. F., Schulze-Kaysers, N. & Schieber, A. (2017). Characterization of Phenolic and Other Polar Compounds in Peel and Flesh of Pink Guava (*Psidium guajava* L. cv. 'Criolla') by Ultra-High Performance Liquid Chromatography with Diode Array and Mass Spectrometric Detection. *Food Research International*; 100; 445–453.
- Vasisht, K., Sharma, P. D., Karan, M., Rakesh, D. D., Vyas, S., Sethi, S. & Manktala, R. (2003). Study to Promote the Industrial Exploitation of Green Tea Polyphenols in India. Vienna: United Nations Industrial Development Organisation.
- Wang, H., Provan, G. & Helliwell, K. (2003). The Functional Benefits of Flavonoids: the Case of Tea. Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Xu, Y., Chen, G., Du, Q., Que, F., Yuan, H. & Yin, J. (2014). Sediments in Concentrated Green Tea During Low-temperature Storage. *Food Chemistry*; 149; 137–143.
- Yan, L. Y., Teng, L. T. & Jhi, T. J. (2006). Antioxidant Properties of Guava Fruit: Comparison with Some Local Fruits. *Sunway Academic Journal*; 3; 9–20.
- Zeng, J., Xu, H., Cai, Y., Xuan, Y., Liu, J., Gao, Y. & Luan, Q. (2018). The Effect of Ultrasound, Oxygen and Sunlight on the Stability of (-)-Epigallocatechin Gallate. *Molecules*; 23; 2394.

JURNAL FARMASI DAN ILMU KEFARMASIAN INDONESIA

(P-ISSN: 2406-9388; E-ISSN: 2580-8303)

SEKRETARIAT: d/a Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Jl. Dharmawangsa Dalam, Telp. (031)5033710 Fax. (031)5020514, Surabaya-60286 Email: jfiki@ff.unair.ac.id

Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia (JFIKI) menerima naskah tulisan hasil penelitian, survei, telaah pustaka yang erat kaitannya dengan bidang kesehatan, khususnya bidang kefarmasian. JFIKI terbit tiap enam bulan. Naskah yang dimuat adalah naskah hasil seleksi yang telah disetujui Dewan Redaksi dan belum pernah dipublikasikan di penerbitan lain.

Naskah dikirimkan via email kepada Redaksi Pelaksana d.a. jfiki@ff.unair.ac.id

PETUNJUK BAGI PENULIS

1. Naskah ditulis dengan program Microsoft Word Jenis huruf: Times New Romans, 10 point regular, justify, line spacing menggunakan multiple 1,2. Struktur kimia dapat dibuat dengan Chemdraw. Foto dan gambar dalam format jpg/jpeg dan untuk grafik dapat digunakan excel.
2. File gambar dan tabel ditempatkan terpisah dari file naskah.
3. Gambar termasuk grafik dibuat terpisah dari naskah, maksimum 1 halaman dan minimum ¼ halaman. Judul gambar ditulis di bagian bawah gambar dengan nomor urut angka arab.
4. Tabel dan keterangan: tabel harus utuh dalam satu halaman. Judul tabel ditulis di bagian atas tabel dengan nomor urut angka arab.
5. Naskah ditulis dalam Bahasa Indonesia atau bahasa Inggris, disusun dengan urutan sebagai berikut:
 - a. **Judul** ditulis dengan 'Title Case' (huruf kapital pada huruf pertama setiap kata kecuali kata hubung), bold, maksimum 15 kata.
 - b. **Nama penulis/para penulis** (tanpa gelar; nama depan ditulis dengan huruf kecil kecuali huruf pertama, sedangkan nama akhir ditulis dengan huruf kapital semua) beserta nama lengkap instansi penulis. Jika para penulis berasal dari instansi yang berbeda maka gunakan tanda ¹, ², ³ dan seterusnya di belakang nama masing – masing penulis. Penulis yang menjadi * alamat korespondensi diberi tanda * dan harus disertai alamat institusi lengkap beserta *e-mail*.
 - c. **Abstrak:** ditulis dalam bahasa Indonesia dan bahasa Inggris, maksimum 250 kata. **Abstract** dalam bahasa Inggris disusun sebagai berikut: *Background, objective, Method, Result and Conclusion*. **Abstrak** dalam bahasa Indonesia disusun sebagai berikut: Pendahuluan, Tujuan, Metode, Hasil dan Kesimpulan.

- d. **Kata kunci/Keywords:** 1 – 5 kata.
- e. **PENDAHULUAN**
Berisi latar belakang dan tujuan penelitian.
- f. **BAHAN DAN METODE**
Berisi penjelasan tentang: **Bahan** (sebutkan asal dan kualifikasinya); **Alat** (hanya yang sangat menentukan hasil penelitian; sebutkan nama, merk dan kualifikasinya); **Metode** (prosedur dilakukannya penelitian).
- g. **HASIL DAN PEMBAHASAN**
Berisi penjelasan tentang hasil dari semua tahapan yang telah dijelaskan dibagian metode.
- h. **KESIMPULAN**
Berisi tentang ringkasan dari apa yang didapatkan dari hasil penelitian serta apa yang perlu dipelajari lebih lanjut.
- i. **UCAPAN TERIMA KASIH**
Berisi ucapan terimakasih kepada pihak-pihak yang membantu dalam penelitian.
- j. **DAFTAR PUSTAKA** (lihat petunjuk)
Disarankan untuk menggunakan fitur citation dan bibliography yang ada pada Microsoft Word dengan menggunakan APA style.
6. **Pustaka dalam naskah** ditunjukkan dengan nama akhir penulis diikuti tahun. Bila pustaka mempunyai lebih dari dua penulis, ditulis nama akhir penulis utama diikuti dengan *et al.* (bila bahasa

Inggris) dan dkk. (bila bahasa Indonesia). Lalu tahun. Contoh:

Kultur suspensi sel *Solanum mammosum* mempunyai kemampuan melakukan biotransformasi salisilamida menjadi glikosidanya (Syahrani dkk., 1997)

7. **Daftar Pustaka** disusun berdasarkan abjad nama akhir penulis utama.

- a. **Majalah/jurnal** (*standard journal article*): nama akhir ditulis lengkap, diikuti singkatan nama lainnya yang diambil dari huruf depan nama tersebut, setelah itu ditulis tahun terbit, judul artikel, nama majalah/jurnal (ditulis lengkap tidak disingkat) dan volume (ditulis miring / *italic*) terakhir nomor halaman. Contoh:

Bosworth, H. B., Olsen, M. K., McCant, F., Harrelson, M., Gentry, P. & Rose, C. (2007). Hypertension Intervention Nurse Telemedicine Study (HINTS): testing a multifactorial tailored behavioral/educational and a medication management intervention for blood pressure control. *American Heart Journal*; 153; 918-24.

- b. **Buku:** semua nama penulis disebutkan (nama akhir ditulis lengkap, diikuti singkatan nama depan), tahun terbit, judul artikel, nama editor, judul buku dan volume (ditulis miring/*italic*), edisi, penerbit, kota dan nomor halaman. Contoh:

Cade, J. F. & Pain, M. C. F. (1988). Essentials of Respiratory Medicine. *Blackwell Science*; 220-230. Oxford: ABC Publishing.

Colby, V. T., Carrington, C. B. & Pain, M. C. F. (1999) Infiltrative lung disease In: Thurlbeck WM (ed.) *Pathology of the Lung*; 198-213. New York: Thieme Medical Publishers.

c. **Materi elektronik** (*electronic material*). Contoh:

World Health Organisation. (2003). Update 94: Preparing for the Next Influenza Season in a World Altered by SARS. <http://www.who.international/csr/disease/influenza/sars>. Accessed: 15 September 2003.

d. **Skripsi, tesis, disertasi atau poster** serta lainnya. Contoh:

Dina, S. (2004). Uji Antimalaria In Vivo Isolat *Andrographis paniculata* dari *Andrographis paniculata* Nees Terhadap *Plasmodium berghei* pada Mencit. *Skripsi*; Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya.

8. **Singkatan (Abbreviations):**

Penggunaan singkatan tidak disarankan kecuali untuk standar satuan ukuran (misal g, mg, mL, Kg atau cm). Singkatan yang digunakan harus didefinisikan dalam kurung pada saat disebutkan pertama kali di dalam *abstract* dan lagi di dalam naskah. Singkatan harus ditulis kembali pada keterangan gambar atau tabel, jika ada. Daftar singkatan yang digunakan dan definisi harus disertakan sebagai bagian dari naskah.

9. **Naskah yang diterima akan dikoreksi**, diberi catatan dan dikirimkan kembali kepada penulis untuk diperbaiki. Penulis mengirimkan kembali naskah yang telah diperbaiki dalam bentuk cetakan dan bentuk file.

10. Penulis akan menerima satu eksemplar naskah terbitan.