

Optimasi formula gel ekstrak kubis ungu (*Brassica oleracea L. var. capitata f. rubra*) menggunakan *simplex lattice design* dan pengujian aktivitas antioksidan secara *in vitro*

Rima Yulia Senja¹, Akhmad Kharis Nugroho², Erna Prawita Setyowati²

¹Akademi Farmasi Muhammadiyah, Cirebon

Jl. Cideng Indah, Kertawinangun, Kedawung, Cirebon, Jawa Barat 45153

²Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta
Sekip Utara, Yogyakarta 55281

Submitted: 23-12-2015

Reviewed: 28-02-2016

Accepted: 03-11-2016

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian optimasi formula gel ekstrak kubis ungu (*Brassica oleracea L. var. capitata f. rubra*) menggunakan metode *Simplex Lattice Design* dan pengujian aktivitas antioksidan formula gel dilakukan secara *in vitro*. Kubis ungu diekstraksi dengan soxhletasi menggunakan pelarut etanol 96%. Penentuan formula optimum gel antioksidan ekstrak kubis ungu dengan metode *Simplex Lattice Design* menggunakan *software Design-Expert®* versi 7 (DX7) dan pengujian aktivitas antioksidan gel ekstrak kubis ungu dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode spektrofotometri Ultra Violet. Stabilitas formula optimum gel dilihat melalui perbandingan sifat fisik pada awal pembuatan dan setelah penyimpanan 4 minggu menggunakan ANOVA, dengan taraf kepercayaan 95%. Formula optimum gel ekstrak kubis ungu diperoleh pada proporsi Metolose 3,883%, propilenglikol 13,5%, Tween 80 1,117%. Hasil evaluasi formula optimum gel ekstrak kubis ungu adalah luas permukaan sebar gel $38,99 \pm 3,27\text{cm}^2$; viskositas gel $295,56 \pm 1,93$ dPa.s dan perubahan viskositas $3,89 \pm 0,96\%$. Dari hasil analisis statistik uji-t satu sampel disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan antara harga prediksi *software* dengan hasil observasi ($p > 0,05$). Hasil pengujian IC_{50} dari formula optimum gel ekstrak kubis ungu adalah $257,25 \pm 0,35$ $\mu\text{g/mL}$. Hasil pengujian stabilitas fisik formula optimum gel ekstrak kubis ungu mengalami penurunan pH pada penyimpanan setelah 4 minggu ($p < 0,05$).

Kata kunci: kubis ungu, gel, Metolose, optimasi, antioksidan

ABSTRACT

A study of optimization of red cabbage (*Brassica oleracea.L. var. capitata f. rubra*) gel extract formula has been performed by using *Simplex Lattice Design* (SLD) method and antioxidant activity of the formula gel was also evaluated by using *in vitro* method. The red cabbage was extracted by soxhletation by using ethanol 96% followed by optimization of red cabbage extract in antioxidant gel preparation used SLD method by *Design-Expert®* software version 7 (DX7) and determination of its IC_{50} used UV-Spectrophotometry. The stability of optimum gel formula is seen through comparison of physical properties at the beginning and after four weeks storage used ANOVA, with a 95% significant level. Optimum gel formula of red cabbage extract obtained in the proportion of Metolose 3,883%, propilen glikol 13.5%, Tween 80 1.117%. The evaluation results of optimum gel formula of red cabbage extract is the surface area of gel dispersive of $38.99 \pm 3.27\text{cm}^2$; viscosity gel dPa.s of 295.56 ± 1.93 and viscosity change $3.89 \pm 0.96\%$. From the results of statistical analysis of one t-test sample was concluded that there was no difference between the prediction price of software with the observation result ($p > 0.05$).

Penulis korespondensi:

Rima Yulia Senja

Akademi Farmasi Muhammadiyah, Cirebon

Jl. Cideng Indah, Kertawinangun, Kedawung, Cirebon, Jawa Barat 45153

Email: rimayuliasenja@gmail.com

The IC₅₀ test result of the optimum formula of red cabbage extract gel was 257.25 ± 0.35 µg / mL. The testing result of the physical stability of the optimum formula of red cabbage extract gel suffered a pH decrease after 4 weeks of storage (p <0.05).

Keywords: red cabagge, gel, Metolose, optimization, antioxidant

PENDAHULUAN

Beberapa studi epidemiologi menunjukkan bahwa peningkatan konsumsi antioksidan alami yang terdapat dalam buah dan sayuran mempunyai manfaat yang besar terhadap kesehatan, yaitu dapat mengurangi resiko terjadinya penyakit jantung koroner. Antioksidan memiliki kemampuan mencegah terjadinya penuaan dini serta dapat mengurangi tingkat keparahan/kerusakan kulit akibat radiasi UV. Antioksidan mampu merangsang produksi kolagen yang merupakan bagian penting dari struktur dan proses peremajaan kulit (Ghiselli dkk., 1998). Salah satu kandungan di dalam kubis ungu (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* f. *rubra*) adalah antosianin yang berada dalam bentuk glikosida yang terikat molekul gula (cyanidin-3-diglucoside-5-glucoside). Senyawa ini mempunyai efek penting bagi tubuh, seperti perlindungan terhadap penyakit kardiovaskuler, diabetes mellitus, antinflamasi, antikanker dan antioksidan (Mazza dan Miniati, 1993; Giusti dan Wrolstad, 2001). Antosianin pada kubis ungu, ditemukan memiliki kekuatan antioksidan terkuat 150 kali flavonoid (Neelufar dkk., 2012).

Berdasarkan penelitian pendahuluan yang dilakukan sebelumnya, ekstrak kubis ungu dengan metode soxhletasi dari bahan segar menggunakan pelarut etanol 96% dan dilanjutkan dengan proses oven pada suhu 100°C selama 1 jam, memberikan aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan beberapa metode ekstraksi yang lain yaitu dengan nilai IC₅₀ 168,78±5,15 µg/mL dan rendemen ekstrak yang diperoleh yaitu 2,48 gram/100 gram kubis ungu segar (Senja dkk., 2014).

Bahan alam dapat digunakan sebagai alternatif dalam pembuatan produk antioksidan topikal. Pada penelitian ini, akan dibuat formulasi gel dari ekstrak kubis ungu dan uji aktivitas antioksidan sediaan. Gel memiliki keuntungan lebih mudah dicuci dengan air dan tidak meninggalkan rasa lengket pada kulit. Kualitas fisik sediaan gel dipengaruhi oleh komposisi bahan yang digunakan. Komponen basis gel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Metolose, propilenglikol dan Tween 80. Metolose dapat menghasilkan gel yang netral, jernih, tidak berwarna, stabil pada pH 3-11. Propilenglikol berperan sebagai humektan, sedangkan Tween 80 digunakan sebagai surfaktan untuk meningkatkan kestabilan ekstrak kubis ungu dalam formula. Besarnya proporsi komponen-komponen tersebut perlu dioptimasi agar dihasilkan sediaan gel dengan sifat-sifat fisik yang diharapkan. Metode *Simplex Lattice Design* dapat digunakan untuk optimasi formula pada berbagai jumlah komposisi bahan yang berbeda (Bolton, 1997).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formula optimum gel ekstrak kubis ungu menggunakan tiga komponen dalam basis yaitu Metolose, propilenglikol dan Tween 80 berdasarkan metode *Simplex Lattice Design* menggunakan *software Design Expert*[®] versi 7 pada program *mixture design* berdasarkan hasil uji fisik serta stabilitas formula optimum selama 4 minggu penyimpanan serta aktivitas antioksidan sediaan.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah soxhlet, oven, neraca elektrik (Mettler toledo, Japan) dengan kapasitas 0,021-210 g, spektrofotometer UV-Vis (Model U-2900, Japan), mikropipet (Gilson pipetmen, Germany) 20-100 µL, 100-1000 µL, mikser, viscotester Rion-Japan VT 04, pH meter, dan alat uji daya sebar. Bahan-bahan yang digunakan adalah kubis ungu (waktu panen 3 bulan dan berwarna ungu tua) yang berasal dari perkebunan di Lembang, radikal DPPH (2,2 difenil-1-pikrilhidrazil), rutin, etanol (kualitas p.a. E. Merck, Germany), Metolose (60SH), propilen glikol, Tween 80, metil paraben, dan propil paraben (kualitas farmasi).

Jalannya Penelitian

Ekstraksi kubis ungu

Proses ekstraksi kubis ungu yang dilakukan pada penelitian ini merupakan hasil penelitian pendahuluan yang dilakukan sebelumnya, yaitu optimasi metode dan pelarut dalam ekstraksi kubis ungu yang menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi (Senja dkk., 2014). Sejumlah kubis ungu segar yang

telah dihaluskan dengan *blender*, dimasukkan ke dalam alat soxhlet, kemudian ditambahkan etanol 96% sebagai pelarut dengan perbandingan 1:10 sampai seluruh bahan terendam. Proses ekstraksi dilakukan sampai diperoleh larutan penyari yang jernih. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan menggunakan *vaccum rotary evaporator* dengan suhu 70°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak dikeringkan dengan oven pada suhu 100°C selama 1 jam (Liliana dkk., 2010; Senja dkk., 2014).

Optimasi formula gel ekstrak kubis ungu

Faktor yang akan dioptimasi adalah Metolose, propilenglikol dan Tween 80. Formula 100 gram gel terdapat pada Tabel I.

Tabel I. Formula gel ekstrak kubis ungu

Formula	Jumlah (gram)
Ekstrak kubis ungu	0,3
Metolose 60SH	} 18,5
Propilen glikol	
Tween 80	
Etanol 96%	10 mL
Metil paraben	0,1
Propil paraben	0,05
Aqua Ad	100

Tabel II. Run formula gel ekstrak kubis ungu berdasarkan Simplex Lattice Design dengan menggunakan Software Design-Expert® versi 7 (DX7)

Run	Ekstrak Kubis Ungu (gram)	Metolose (gram)	Propilen glikol (gram)	Tween 80 (gram)	Metil Paraben (gram)	Propil Paraben (gram)	Etanol 96% (mL)	Aqua (mL)
I	0,3	3,75	13,50	1,25	0,1	0,05	10	71,05
II	0,3	4,00	13,75	0,75	0,1	0,05	10	71,05
III	0,3	3,25	13,75	1,50	0,1	0,05	10	71,05
IV	0,3	3,00	13,50	2,00	0,1	0,05	10	71,05
V	0,3	4,50	13,50	0,50	0,1	0,05	10	71,05
VI	0,3	3,75	14,25	0,50	0,1	0,05	10	71,05
VII	0,3	3,00	15,00	0,50	0,1	0,05	10	71,05
VIII	0,3	3,75	14,25	0,50	0,1	0,05	10	71,05
IX	0,3	3,00	13,50	2,00	0,1	0,05	10	71,05
X	0,3	3,00	14,25	1,25	0,1	0,05	10	71,05
XI	0,3	3,25	14,50	0,75	0,1	0,05	10	71,05
XII	0,3	4,50	13,50	0,50	0,1	0,05	10	71,05
XIII	0,3	3,50	14,00	1,00	0,1	0,05	10	71,05
XIV	0,3	3,00	15,00	0,50	0,1	0,05	10	71,05

Tahapan pembuatan gel ekstrak kubis ungu yaitu mula-mula dilakukan pembuatan basis gel. Air panas (20 kali jumlah Metolose) dimasukkan dalam *beaker glass*, kemudian Metolose ditaburkan di atas air panas tersebut, dibiarkan sampai mengembang kurang lebih 15 menit, dan diaduk dengan *homogenizer* pada kecepatan rendah (160 rpm) sampai membentuk gel. Metil paraben dan propil paraben masing-masing dilarutkan dalam sedikit etanol kemudian dicampur menjadi satu dan diaduk sampai homogen (Larutan 1). Basis gel ditambahkan Tween 80, diaduk dengan *homogenizer* kecepatan rendah (160 rpm), ditambahkan propilen glikol dan Larutan 1 dan diaduk sampai homogen. Campuran dibiarkan selama 24 jam di lemari pendingin pada suhu 10°C. Ekstrak kubis ungu dilarutkan dalam etanol sampai larut (Larutan 2). Basis gel kemudian ditambahkan larutan 2, kemudian diaduk dengan *homogenizer* pada kecepatan rendah sampai homogen. Untuk melihat pengaruh ketiga komponen terhadap respon (viskositas, perubahan viskositas dan luas permukaan daya sebar) dibuat 14 macam *run* formula berdasarkan *software Design-Expert®* versi 7 (DX7). Rancangan proporsi komponen tiap formula tersaji dalam Tabel II.

Uji sifat fisik dan stabilitas fisik gel

Uji organoleptik

Uji organoleptik meliputi pengamatan terhadap bentuk, warna dan bau dari sediaan yang telah dibuat (Djajadisastra dan Dessy, 2009)

Uji homogenitas

Sediaan gel dioleskan pada kaca transparan dimana sediaan diambil dari 3 bagian yaitu atas, tengah dan bawah. Homogenitas ditunjukkan dengan tidak adanya butiran kasar (Djajadisastra dan Dessy, 2009).

Uji daya sebar dan perhitungan luas permukaan sebar gel

Uji daya sebar dilakukan untuk menjamin pemerataan gel saat diaplikasikan pada kulit. Sediaan gel ditimbang sebanyak 1,0 g kemudian diletakkan ditengah kaca bulat berskala. Di atas gel diletakkan kaca bulat transparan dan pemberat sehingga berat kaca bulat dan pemberat 150 g, didiamkan 1 menit, kemudian dicatat diameter penyebarannya dan luas permukaan sebarannya (Garg dkk., 2002).

Uji pH

Sediaan gel diukur pH nya dengan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi menggunakan larutan dapar standar pH 4 dan pH 7. Sediaan gel harus memenuhi kriteria pH kulit yaitu dalam interval 4,5 -6,5 (Djajadisastra dan Dessy, 2009).

Uji viskositas

Pengujian Viskositas menggunakan *Viscotester* Rion seri VT-04. Uji stabilitas fisik dengan metode *cycling test*. Gel disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam lalu dikeluarkan dan ditempatkan pada suhu 40°C selama 24 jam. Perlakuan ini adalah satu siklus. Percobaan diulang sebanyak 6 siklus. Kondisi fisik sediaan dibandingkan dengan kondisi fisik sebelumnya selama percobaan (Djajadisastra dan Dessy, 2009).

Penentuan aktivitas antioksidan formula optimum gel ekstrak kubis ungu dengan metode peredaman radikal bebas DPPH (Azlim dkk., 2010)

Penyiapan sampel

Sampel gel sebanyak 1.005 mg diekstraksi dengan 20 mL etanol 96% dalam corong pisah selama 5 menit. Filtrat dimasukkan ke labu ukur dan ditambahkan etanol sampai 25,0 mL. Hasil ekstraksi kemudian dionifikasi, bila perlu dilakukan proses penyaringan sampai diperoleh filtrat jernih.

Uji peredaman radikal bebas DPPH (uji kuantitatif)

Larutan induk (LI) sampel dibuat dengan konsentrasi 1,0005 mg/mL dalam etanol. Sebanyak 0,25; 1,5; 2,5; 3; 5 mL LI sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 mL. Ke dalam labu ukur ditambahkan etanol sampai batas kalibrasi hingga diperoleh konsentrasi 25µg/mL; 150µg/mL; 250µg/mL; 300µg/mL dan 500µg/mL. Larutan sampel dipipet sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 5,0 mL, ditambahkan 1,0 mL DPPH dan etanol sampai tanda batas. Larutan tersebut diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Absorbansi sampel diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm.

Aktivitas antioksidan sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

Data absorbansi yang diperoleh dibuat persamaan regresi linear yang menyatakan hubungan antara konsentrasi bahan uji (x) dengan aktivitas penangkap radikal rata-rata (y) dari suatu seri replikasi pengukuran sehingga diperoleh harga IC₅₀.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi Kubis ungu

Metode yang digunakan untuk proses ekstraksi sesuai dengan penelitian pendahuluan dari penelitian ini yaitu metode soxhletasi dari bahan segar menggunakan pelarut etanol 96% dengan proses oven pada suhu 100°C selama 1 jam. Metode ekstraksi tersebut memberikan aktivitas antioksidan ekstrak kubis ungu tertinggi dibandingkan beberapa metode ekstraksi yang lain yaitu dengan nilai IC_{50} 168,78 ± 5,15 µg/mL dan rendemen ekstrak yang diperoleh yaitu 2,48 gram/100 gram kubis ungu segar (Senja dkk., 2014).

Formulasi Gel

Hasil Uji Sifat Fisik Gel Ekstrak Kubis Ungu

Komposisi formula gel yang digunakan dalam optimasi ini adalah : ekstrak kubis ungu 0,3%, Metolose 60SH 3-4,5%, Tween 80 0,5-2%, metil paraben 0,1%, propil paraben 0,05% dan aquades sampai 100%. Uji fisik sediaan gel dengan basis metolose dilakukan pada hari ke-2 atau pada penyimpanan 48 jam karena pada hari ke-2 komponen penyusun dalam sistem gel telah tersusun dengan baik (Garg, 2002). Sifat fisik sediaan gel yang akan diuji diantaranya yaitu organoleptis, daya sebar, pH dan viskositas. Hasil uji daya sebar, viskositas dan perubahan viskositas dari formula gel terdapat pada Tabel III.

Hasil pengamatan organoleptis formula gel memberikan karakter fisik yang sama yaitu bentuk gel, warna merah muda, bau khas kubis. Pada Tabel III, sediaan gel ekstrak kubis ungu mempunyai luas permukaan sebar antara 31,41 cm² sampai 57,44 cm². Hasil penelitian menunjukkan peningkatan konsentrasi metolose menyebabkan penurunan luas permukaan sebar. Hal ini didasarkan karena metolose mempunyai daya mengembang yang tidak terbatas artinya pada penambahan air yang cukup besar akan berubah menjadi bentuk solutio (Voigt, 1984). Pada uji viskositas dari ke empat belas *run* formula, *run V* dan *run XII* memiliki viskositas yang tinggi dikarenakan persentase metolose paling besar. Peningkatan jumlah *gelling agent* dapat memperkuat matriks gel sehingga menyebabkan kenaikan viskositas (Lieberman, 1998). Persentase perubahan viskositas gel dihitung berdasarkan perbandingan nilai viskositas pada minggu ke-4 terhadap viskositas pada minggu ke-1. *Run VII* memiliki persentase perubahan viskositas terkecil dibandingkan dengan formula lain, semakin kecil perubahan viskositas maka sediaan lebih stabil dalam penyimpanan yang lama.

Hasil pemeriksaan pH pada formula gel ekstrak kubis ungu menunjukkan adanya penurunan pH sediaan setelah penyimpanan 4 minggu pada suhu kamar. Penurunan pH formula gel ekstrak kubis ungu masih memenuhi kriteria pH kulit yaitu dalam interval 4,5 – 6,5 (Djajadisastra dan Dessy., 2009). Penurunan pH sediaan selama penyimpanan merupakan indikasi ketidakstabilan formula.

Luas permukaan sebar

Berdasarkan persamaan *simplex lattice design* untuk respon luas permukaan sebar gel (Tabel IV) dapat dilihat pengaruh terbesar pada peningkatan luas permukaan sebar gel yaitu pada komponen Tween 80 sebesar +55,79. Interaksi dua komponen dapat menurunkan luas permukaan sebar gel, yaitu pada interaksi antara propilen glikol-Tween 80 sebesar -44,02; Metolose-propilen glikol sebesar -5,95; Metolose-Tween 80 sebesar -5,68 sedangkan interaksi ketiga komponen (Metolose-propilen glikol-Tween 80) memberikan pengaruh positif atau meningkatkan luas permukaan sebar gel dengan nilai koefisien sebesar +327,94. Berdasarkan persamaan (*special cubic model*) diperoleh diagram *contour plot* untuk respon luas permukaan sebar gel seperti pada Gambar 1. Peningkatan konsentrasi Tween 80 dapat meningkatkan luas permukaan sebar gel. Hasil ANOVA untuk pengukuran aktual dan prediksi model menurut *software design-expert*[®] versi 7 (DX7) menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna untuk respon luas permukaan sebar gel dimana *lack of fit* yang dihasilkan sebesar 0,3266.

Tabel III. Hasil uji fisik dan stabilitas formula ekstrak kubis ungu

<i>Run</i>	Luas permukaan sebar (cm ²)	Viskositas Minggu ke-1 (dPa.S)	Viskositas Minggu ke-4 (dPa.S)	Persentase Perubahan viskositas (%)
I	44,65 ± 0,17	291,67 ± 0,88	283,89 ± 1,58	2,67 ± 0,65
II	39,95 ± 1,41	433,75 ± 3,03	406,67 ± 1,20	6,24 ± 0,49
III	47,26 ± 1,15	235,42 ± 2,60	221,33 ± 0,67	5,99 ± 1,15
IV	57,44 ± 4,16	164,00 ± 0,15	155,10 ± 1,51	5,43 ± 0,83
V	35,86 ± 0,55	512,50 ± 2,63	490,00 ± 1,00	4,39 ± 0,42
VI	31,41 ± 0,43	344,43 ± 1,20	334,43 ± 2,14	2,90 ± 0,88
VII	32,15 ± 0,50	157,53 ± 0,61	155,00 ± 2,60	1,61 ± 2,01
VIII	33,08 ± 0,82	335,00 ± 0,25	327,00 ± 1,53	2,39 ± 0,44
IX	54,63 ± 1,91	164,33 ± 0,97	156,78 ± 1,26	4,59 ± 0,32
X	33,26 ± 1,15	138,25 ± 1,52	133,33 ± 3,34	3,56 ± 2,56
XI	39,60 ± 0,90	146,10 ± 1,43	140,45 ± 0,51	3,87 ± 0,65
XII	33,62 ± 2,48	510,33 ± 0,24	487,89 ± 3,02	4,40 ± 0,61
XIII	47,68 ± 2,46	295,42 ± 3,82	280,55 ± 1,68	5,03 ± 1,11
XIV	33,60 ± 1,04	154,47 ± 0,60	150,07 ± 0,68	2,85 ± 0,46

Optimasi formula gel ekstrak kubis ungu

Optimasi formula gel ekstrak kubis ungu dilakukan dengan memasukkan data sifat-sifat fisik dan stabilitas keseluruhan formula sebagai respon ke dalam *software design-expert*[®] versi 7 (DX7). Data sifat fisik gel pada Tabel III dianalisa dengan menggunakan *software design-expert*[®] versi 7 untuk mendapatkan persamaan *simpleks lattice design* seperti tercantum pada Tabel IV.

Viskositas

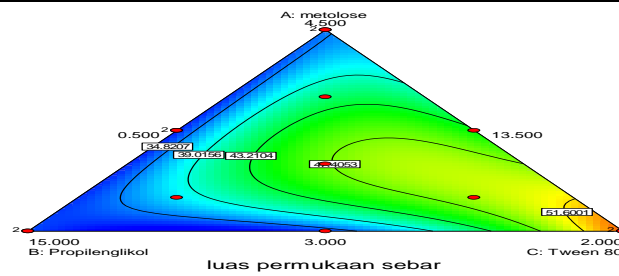
Berdasarkan persamaan *simplex lattice design* untuk respon viskositas (Tabel IV) dapat dilihat dominasi Metolose dalam menentukan viskositas gel tampak jelas dibandingkan efek propilen glikol dan Tween 80. Semakin besar konsentrasi Metolose, maka viskositas gel akan meningkat. Interaksi Metolose-propilen glikol-Tween 80 memberikan efek positif atau meningkatkan viskositas sebesar +1106,40 sedangkan interaksi Metolose-Tween 80 sebesar -118,61 dan propilen glikol-Tween 80 sebesar -91,46 memberikan efek menurunkan viskositas. Berdasarkan persamaan (*cubic model*) diperoleh diagram *contour plot* untuk respon viskositas seperti pada Gambar 2.

Tabel IV. Persamaan Simpleks Lattice Design formula gel ekstrak kubis ungu

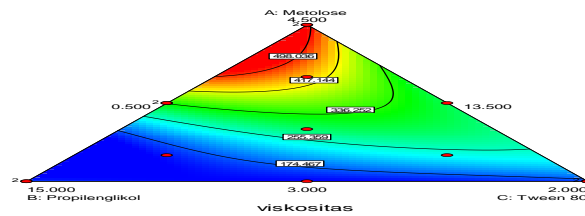
Respon (Y)	Persamaan Simpleks Lattice Design
Luas permukaan sebar (cm ²)	$Y = +34,53A + 33,24B + 55,79C - 5,95AB - 5,68AC - 44,02BC + 327,94ABC$
Viskositas (dPa.S)	$Y = 511,07A + 155,66B + 163,82C + 22,65AB - 188,61AC - 91,46BC + 1106,40ABC + 1325,29AB(A-B) - 522,88AC(A-C)$
Perubahan viskositas (%)	$Y = +4,58A + 2,14B + 5,08C - 2,49AB - 6,59AC - 0,37BC + 84,50ABC$

Keterangan:

- A : Proporsi komponen Metolose (bagian)
- B : Proporsi komponen Propilenglikol (bagian)
- C : Proporsi komponen Tween 80 (bagian)



Gambar 1. Diagram *Contour plot* luas permukaan sebar gel ekstrak kubis ungu

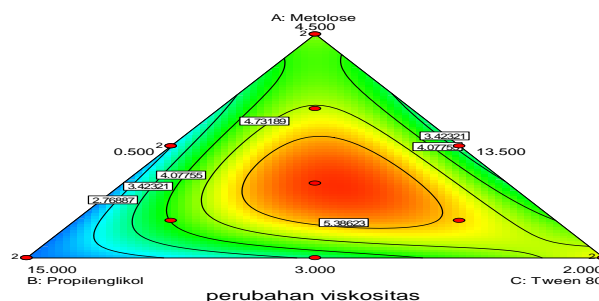


Gambar 2. Diagram *Contour plot* viskositas gel ekstrak kubis ungu

Hasil ANOVA untuk pengukuran aktual dan prediksi model menurut *software design-expert*[®] versi 7 (DX7) untuk respon viskositas tidak ada perbedaan bermakna dimana *lack of fit* yang dihasilkan 0,0533.

Perubahan viskositas

Berdasarkan persamaan *simplex lattice design* untuk respon perubahan viskositas gel (Tabel IV) dapat dilihat bahwa masing-masing komponen dapat meningkatkan perubahan viskositas gel. Tween 80 memberikan efek perubahan viskositas paling tinggi yaitu +5,05 sedangkan propilen glikol memberikan efek perubahan viskositas terkecil yaitu +2,14. Berdasarkan nilai efek tersebut maka propilen glikol merupakan faktor yang dominan dalam menentukan perubahan viskositas gel. Interaksi ketiga komponen (Metolose-propilen glikol-Tween 80) meningkatkan perubahan viskositas gel dengan nilai koefisien +84,50. Berdasarkan persamaan (*special cubic model*) diperoleh diagram *contour plot* untuk respon perubahan viskositas seperti pada Gambar 3.

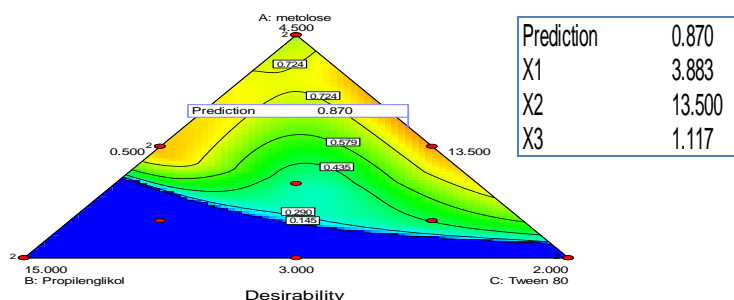


Gambar 3. Diagram *Contour plot* perubahan viskositas gel ekstrak kubis ungu

Viskositas gel dipengaruhi oleh *gelling agent*. Dalam sistem gel, *gelling agent* bertanggung jawab terhadap terbentuknya matriks gel. Selama penyimpanan, matriks gel dapat mengalami kerusakan yang menyebabkan perubahan viskositas gel. *Counter plot* perubahan viskositas menggambarkan semakin banyak propilen glikol maka perubahan viskositas akan semakin kecil. Perubahan viskositas semakin kecil diartikan bahwa stabilitas fisik gel semakin baik. Suatu gel dikatakan stabil apabila tidak ada perubahan dalam sifat alirnya. Propilen glikol mempunyai karakteristik yang spesifik pada sistem gel, dimana propilenglikol mempunyai efek memperkecil daya sebar walaupun viskositas juga kecil. Hal tersebut mungkin disebabkan sifat viskoelastik dari propilenglikol. Hasil ANOVA untuk pengukuran aktual dan prediksi model menurut *software design-expert*[®] versi 7 (DX7) untuk respon perubahan viskositas tidak ada perbedaan bermakna dimana *lack of fit* yang dihasilkan 0,0962.

Penentuan formula optimum gel ekstrak kubis ungu

Pada penelitian ini digunakan pendekatan numerik untuk menentukan formula optimum. Sifat fisik dan stabilitas yang dimasukkan sebagai respon adalah luas permukaan sebar, viskositas dan persentase perubahan viskositas. Parameter yang digunakan dalam penentuan formula optimum gel antioksidan ekstrak kubis ungu yaitu luas permukaan sebar ($19,625-38,465\text{cm}^2$), viskositas 200-300 dPa.S dan perubahan viskositas 1,61-6,24%. Diagram *superimposed contour plot* untuk menentukan daerah optimum dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram *superimposed contour plot* respon luas permukaan sebar, viskositas dan persentase perubahan viskositas gel ekstrak kubis ungu

Contour plot ketiga respon di atas yaitu luas permukaan sebar, viskositas dan perubahan viskositas gel menunjukkan kurva-kurva yang melengkung. Hal tersebut menggambarkan bahwa dalam formula gel antioksidan tersebut terjadi interaksi antara Metolose, propilen glikol dan Tween 80. Interaksi ini memang diharapkan terjadi untuk mendapatkan sifat fisik optimum yang dikehendaki. Penentuan daerah optimum gel antioksidan ekstrak kubis ungu menggunakan *software Design-Expert*[®] versi 7 (DX7). Pada diagram *superimposed contour plot* di atas terlihat bahwa formula yang terpilih sebagai formula optimum menurut *software* adalah formula yang mengandung Metolose 3,883 %, propilen glikol 13,5 % dan Tween 80 1,117 %. Formula optimum gel ekstrak kubis ungu yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Formula optimum gel ekstrak kubis ungu

Keterangan : 1. Formula optimum replikasi 1
2. Formula optimum replikasi 2
3. Formula optimum replikasi 3

Prediksi respon yang diperoleh dari analisis menggunakan *software Design Expert*[®] versi 7 selanjutnya dibandingkan dengan respon yang diperoleh pada percobaan. Uji-t satu sampel digunakan untuk menguji perbedaan rata-rata suatu sampel dengan nilai hipotesis. Hasil uji-t satu sampel respon prediksi dan respon percobaan formula optimum disajikan pada Tabel V.

Respon luas permukaan sebar gel, viskositas, perubahan viskositas menunjukkan hasil yang tidak berbeda bermakna antara prediksi *software Design Expert*[®] versi 7 (DX7) dengan hasil percobaan. Hal ini ditunjukkan oleh nilai *p* yang lebih besar atau sama dengan 0,05 sehingga hasil percobaan yang dihasilkan adalah valid.

Tabel V. Hasil uji-t satu sampel formula prediksi software DX7 dibandingkan formula optimum hasil percobaan

No	Respon	Percobaan (n=3)	Prediksi software DX7	Nilai p	Kesimpulan
1.	Luas permukaan sebar	38,99 ± 3,27	41,89	0,264	Tidak berbeda bermakna
2.	Viskositas	295,56±1,93	300	0,057	Tidak berbeda bermakna
3.	Perubahan viskositas	3,89±0,96	3,19	0,334	Tidak berbeda bermakna

Uji fisik dan stabilitas formula optimum gel ekstrak kubis ungu

Uji fisik sediaan gel meliputi organoleptis, luas permukaan sebar, viskositas dan pH. Uji stabilitas sediaan dilakukan selama 4 minggu pada suhu kamar dan uji stabilitas *Cycling test*. Hasil uji fisik dan stabilitas selama 4 minggu dapat dilihat pada Tabel VI.

Uji aktivitas antioksidan formula optimum gel ekstrak kubis ungu (*Brassica oleracea L. var. capitata f. rubra*)

Formula optimum gel ekstrak kubis ungu diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH. Perbandingan persentase peredaman radikal DPPH dari ekstrak kubis ungu, formula optimum gel ekstrak kubis ungu dan formula optimum tanpa ekstrak dapat dilihat pada Tabel VI.

Konsentrasi ekstrak kubis ungu yang digunakan pada formula mengacu pada nilai IC₈₀ ekstrak kubis ungu, dimana konsentrasi ekstrak dalam formula setara dengan 10xIC₈₀ ekstrak murni yaitu 308,97 µg/mL (Senja dkk., 2014) atau 0,3% per 100 gram formula. Dari tabel di atas, dapat dilihat bahwa perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak kubis ungu setelah diformulasi dan aktivitas antioksidan ekstrak murni, didapatkan hasil bahwa formula optimum gel ekstrak kubis ungu memberikan persentase peredaman radikal DPPH sekitar 62,99%, sedangkan formula optimum gel tanpa ekstrak (basis) memberikan persentase peredaman radikal DPPH 27,48% yang artinya kestabilan aktivitas antioksidan ekstrak dalam sediaan menurun, karena pada konsentrasi yang sama menghasilkan persen peredaman yang lebih kecil dari 80% yaitu sekitar 35,51% (angka ini didapat dari selisih persentase peredaman radikal DPPH dari formula optimum gel ekstrak kubis ungu dengan persen peredaman radikal DPPH dari basis).

Penurunan aktivitas antioksidan ekstrak kubis ungu sesudah diformulasi dalam bentuk sediaan gel kemungkinan disebabkan ketidakstabilan ekstrak dalam formula. Hal ini ditandai dengan terjadinya penurunan pH sediaan gel pada minggu ke-3 dan ke-4. Disamping itu, penurunan aktivitas antioksidan ekstrak dalam formula kemungkinan terjadi karena adanya efek kompetitif antara ekstrak kubis ungu dengan bahan-bahan dalam formula yang juga memiliki aktivitas peredaman radikal DPPH.

Tabel VI. Hasil uji fisik dan stabilitas formula optimum gel ekstrak kubis ungu selama penyimpanan 4 minggu

No	Uji fisik dan stabilitas	Hasil	Nilai p	Keterangan
1.	Organoleptis	Warna ungu kemerahan stabil, tekstur lembut, homogen, bau khas	-	Fisik gel stabil selama 4 minggu penyimpanan
2.	Uji luas permukaan sebar gel	Sediaan stabil selama 4 minggu penyimpanan.	0,109	luas permukaan sebar pada minggu ke-1 hingga minggu ke-4 tidak berbeda bermakna dengan minggu ke-0
3.	Uji viskositas gel	Sediaan stabil selama 4 minggu penyimpanan	0,090	viskositas gel pada minggu ke-1 hingga minggu ke-4 tidak berbeda bermakna dengan minggu ke-0
4.	pH	pH gel tidak stabil selama 4 minggu penyimpanan	0,000	pH gel pada minggu ke-4 berbeda bermakna dengan minggu ke-0
5.	Uji <i>Cycling test</i>	Formula optimum stabil	-	Tidak terjadi sineresis gel

Tabel VII. Perbandingan persentase peredaman radikal DPPH dari ekstrak kubis ungu, formula optimum gel ekstrak kubis ungu dan formula optimum gel tanpa ekstrak

Konsentrasi sampel ($\mu\text{g/mL}$)	Persentase peredaman radikal bebas DPPH		
	Ekstrak kubis ungu (%)	Formula optimum gel ekstrak kubis ungu (%)	Formula optimum gel tanpa ekstrak (%)
20,4	16,71 \pm 1,08	3,21 \pm 0,49	1,92 \pm 0,38
40,8	22,81 \pm 4,48	7,69 \pm 0,80	4,15 \pm 0,32
81,6	32,31 \pm 2,59	15,56 \pm 0,52	8,16 \pm 0,91
163,2	49,95 \pm 1,89	33,59 \pm 0,34	12,39 \pm 0,27
326,4	83,05 \pm 3,23	62,99 \pm 0,74	27,48 \pm 0,52

KESIMPULAN

Formula optimum gel ekstrak kubis ungu diperoleh pada proporsi Metolose 3,883%; propilen glikol 13,5%; dan Tween 80 sebesar 1,117 % berdasarkan analisis menggunakan *software Design Expert* versi 7. Formula optimum yang diperoleh mempunyai respon luas permukaan sebar, viskositas, dan perubahan viskositas yang tidak berbeda bermakna dengan nilai teoritis parameter tersebut ($p > 0,05$). Formula optimum gel ekstrak kubis ungu memiliki aktivitas antioksidan yang ditandai dengan adanya aktivitas peredaman radikal DPPH dan stabil selama 4 minggu penyimpanan ditinjau dari respon luas permukaan sebar, viskositas, namun tidak stabil ditinjau dari respon derajat keasaman (pH).

DAFTAR PUSTAKA

- Azlim, A.A., Ahmed, J.K., Syed, Z., Musthapa, S., Aisyah, M., dan Kamarul, R., 2010, *International Journal of Food Research*, 17: 1077–1084.
- Bolton, S., 1997, *Pharmaceutical Statistics: Practical and clinical applications*, Marcel Dekker, New York, 591–610; 1025–1038.
- Djajadisastra, J. dan Dessy, N., 2009, Formulasi gel topikal dari ekstrak nerii folium dalam sediaan anti jerawat, *Jurnal Farmasi Indonesia*, 4: 210–216.
- Garg, A., Aggarwal, S., dan Sigla, A., 2002, *Spreading of Semisolid Formulation: An Update. Pharmaceutical Technology*, 84–102.
- Ghiselli, Nardini, Baldi, dan Scaccini, 1998, Antioxidant activity of different phenolic fractions separated from an italian red wine, *Journal of agricultural and food chemistry*, 46: 361–367.
- Giusti, M.M. dan Wrolstad, R.E., 2001, Characterization and measurement of anthocyanins by uv-visible spectroscopy, dalam: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Inc.
- Lieberman, H., 1998, *Pharmaceutical dosage forms: disperse systems, second edition*, (3)2, edition, ed. Informa Healthcare, New York.
- Liliana, L., Claudia-Valentina, P., Manuela, S., Andrei, F.D., dan Vasile, D., 2010, Antioxidant activity of *Brassica Oleracea* L., *Allium cepa* L. and *Beta Vulgaris* L. Extracts, *Rev. Chim*, 61: 911–914.
- Mazza, G. dan Miniati, E., 1993, *Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains*, Taylor & Francis Group.
- Neelufar, S., Alekhya, T., dan Sudhakar, K., 2012, Pharmacognostical and phytochemical formulation evaluation of *Brassica Oleracea* Linn Var. *Capitata f. Rubra* (The Red Cabbage), *Journal of Pharmaceutical Biology*, 2: 43–46.
- Senja, R.Y., Issusilaningtyas, E., Nugroho, A.K., dan Setyowati, E.P., 2014, Perbandingan metode ekstraksi dan variasi pelarut terhadap rendemen dan aktivitas antioksidan ekstrak kubis ungu (*Brassica oleracea* var. *capitata.f.rubra*), *Traditional Medicine Journal*, 19 (1) : 43-48 .
- Voigt, R., 1984, Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, dalam: Noerono, S. (Penerjemah), Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 578–580;586.