

**FORMULASI DAN UJI SIFAT FISIKOKIMIA SEDIAAN
LOSIO DENGAN BERBAGAI VARIASI KONSENTRASI
VITAMIN E**

NASKAH PUBLIKASI



OLEH:

RIRIN KARINA H

NIM I 211 10 034

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK**

2014

**FORMULASI DAN UJI SIFAT FISIKOKIMIA SEDIAAN
LOSIO DENGAN BERBAGAI VARIASI KONSENTRASI
VITAMIN E**

NASKAH PUBLIKASI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi
(S. Farm) pada Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura Pontianak**



OLEH:

RIRIN KARINA H

NIM I 211 10 034

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
PONTIANAK**

2014

NASKAH PUBLIKASI

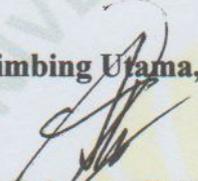
**FORMULASI DAN UJI SIFAT FISIKOKIMIA SEDIAAN
LOSIO DENGAN BERBAGAI VARIASI KONSENTRASI
VITAMIN E**

Oleh :
RIRIN KARINA H
NIM : I 211 10 034

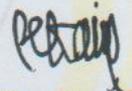
**Telah Dipertahankan Dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura
Tanggal : 14 Oktober 2014**

Disetujui,

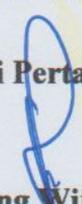
Pembimbing Utama,


Andhi Fahrurroji, M.Sc., Apt.
NIP. 1984 0819 2008 121 003

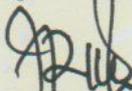
Pembimbing Pendamping,


Eka Kartika Untari, M.Farm., Apt.
NIP. 1983 0119 2008 122 001

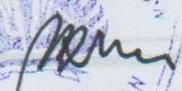
Penguji Pertama,


Bambang Wijianto, M.Sc., Apt.
NIP. 1984 1231 2009 121 005

Penguji Kedua,


Rafika Sari, M.Farm., Apt.
NIP. 1984 0116 2008 012 002

**Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura**


dr. Bambang Sri Nugroho, Sp.PD.
NIP. 19511218-1978 111 001s

Lulus tanggal : 14 Oktober 2014
No. SK Dekan FK Untan : 4032/UN22.9/DT/2014
Tanggal : 16 Oktober 2014

**FORMULASI DAN UJI SIFAT FISIKOKIMIA SEDIAAN LOSIO DENGAN
BERBAGAI VARIASI KONSENTRASI VITAMIN E**

**FORMULATION AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES TEST OF LOTION
WITH VARIOUS CONCENTRATIONS OF VITAMIN E**

Ririn Karina Hasibuan, Andhi Fahrurroji, Eka Kartika Untari
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura

ABSTRAK

Vitamin E merupakan antioksidan yang berkolaborasi dengan oksigen menghancurkan radikal bebas. Vitamin E didalam jaringan menekan terjadinya oksidasi asam lemak tidak jenuh, sehingga membantu dan mempertahankan fungsi membran sel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui formula optimum sediaan losio vitamin E dan juga untuk menetapkan kadar vitamin E setelah dibuat dalam bentuk losio menggunakan metode HPLC. Formula losio dibuat dengan lima seri konsentrasi dari vitamin E berturut-turut yaitu 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5%. Analisis data menggunakan program *R i386 3.1.1 modul R-commander*. Hasil analisis menunjukkan formula E (konsentrasi 5%) dipilih sebagai formula optimum dengan daya sebar rata-rata 6,97 cm; daya lekat rata-rata 38,33 detik; pH 7,38; dan viskositas 38,67 P. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa daya lekat, daya sebar dan pH semua sampel memiliki perbedaan signifikan sedangkan viskositas tidak berbeda signifikan. Kondisi HPLC yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan menggunakan kolom C₁₈. Hasil validasi metode analisis yaitu, seri kadar larutan baku memberikan nilai koefisien relasi (r) sebesar 0,9973; *relative standard deviation* (RSD) ≤ 16 %; persen peroleh kembali 92,16 %; *limit of detection* (LOD) sebesar 1,725 µg/mL; dan *limit of quantitation* (LOQ) sebesar 5,752 µg/mL. Hasil penetapan kadar vitamin E dalam losio yang diperoleh sebesar 3,956 %.

Kata kunci: Vitamin E, *alpha tocopherol*, Losio, Lotion, *High Performance Liquid Chromatography*, HPLC

ABSTRACT

Vitamin E is an antioxidant that can bind with oxygen to destroys free radicals. Vitamin E in tissues suppress oxidation of unsaturated fatty acids, which helps and maintain cell membrane function. This research was aimed to find out the optimum formulation of lotion vitamin E and also to determine the levels of vitamin E in lotion once it was made. The formula of lotion was made with series of five concentrations of vitamin E those are 1%, 2%, 3%, 4%, and 5%. The optimum formula is chosen based on two physicochemical properties parameters, pH and viscosity. Analysis of data was performed using program *R i386 3.1.1 package R-commander*. The results showed that formula E (contained concentration 5%) was selected as the optimum formula with spreading capacity of 6,97 cm; adhesive force 38,33 s; pH 7,38; and the viscosity 38,67 P. C₁₈ column was used in this research for HPLC condition. Validation result from the analysis method used standard levels series displaying correlation coefficient (r) of 0,9973; relative standard deviation (RSD) ≤ 16 %; percentage of recovery 92,16 %; limit of detection (LOD) 1,725 µg/mL; and limit of quantitation (LOQ) 5,752 µg/mL. The result of vitamin E levels obtained by HPLC are 3,956 %.

Keywords: Vitamin E, *alpha tocopherol*, Losio, Lotion, *High Performance Liquid Chromatography*, HPLC

PENDAHULUAN

Lapisan terluar kulit selalu terpapar oleh bahan-bahan oksidatif lingkungan yang dapat menimbulkan berbagai gangguan pada kulit. Hal tersebut dapat diatasi dengan adanya antioksidan¹. Antioksidan yang paling sering digunakan salah satunya adalah vitamin E. Penggunaan vitamin khususnya dalam bidang kosmetik telah menjadi pemberi keuntungan pasar yang penting². Vitamin E (α -tokoferol) telah banyak digunakan sebagai antioksidan dalam sediaan kosmetik karena mencegah proses penuaan, pemeliharaan dan perlindungan proses biologis normal seperti sebagai anti inflamasi, anti karsinogenesis dan sebagainya¹.

Vitamin E akan dibuat dalam sediaan losio. Hal ini karena losio praktis dan memberikan rasa nyaman pada kulit. Sebagai emulsi, losio lebih mudah dibuat dan memberikan rasa nyaman pada kulit dibandingkan dengan krim karena lebih encer^{3,4}.

Vitamin E dibuat dalam berbagai variasi konsentrasi untuk mengetahui formula optimum losio vitamin E. Penggunaan konsentrasi vitamin E sebesar 0,5% dalam sediaan krim hanya memberikan presentase permeasi ke kulit sebesar 4,3%, sehingga direkomendasikan penggunaan konsentrasi minimal vitamin E sebesar 1% agar dapat berpenetrasi ke dalam kulit dan menghasilkan efek terapeutik yang baik². Menurut survey yang dilakukan oleh *Personal Care Products Council* tahun 2013, konsentrasi maksimal vitamin E yang digunakan pada produk yang kontak dengan dermal/kulit sebesar 5,4%⁵. Karena kebanyakan α -tokoferol yang digunakan pada produk kosmetik topikal digunakan konsentrasi sebesar 5% atau kurang⁶, maka dalam penelitian ini digunakan konsentrasi terbesar sebesar 5%.

Sediaan losio vitamin E akan diuji sifat fisikokimianya. Dari hasil uji tersebut, formula yang memberikan sifat fisikokimia yang baik akan dipilih sebagai formula optimum. Vitamin E pada formula optimum akan ditetapkan

kadarnya menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Penyaring membran Whatman *Cellulose Nitrate* 0,45 μm , alat-alat gelas (Pyrex), mortar dan stamper (Pyrex), *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) (Shimadzu Series LC-20AD), kolom C-18 Shim Pack VPS-ODS (250L x 4,6), spektrofotometer UV (Shimadzu Series UV 2450), sentrifugator (Clements GS 150 Centrifuge), sonifikator (Branson 1510), pompa vakum (Gast DOA P604 BN), *viscometer brookfield*, pH meter (HORIBA) dan *hot plate* (Philips HD 4917).

Vitamin E (dl- α -tokoferol) (Sigma Aldrich), vitamin E standar analitik (Sigma Aldrich), asam stearat (Brataco, no batch: B130519-13), trietanolamin (Brataco), parafin cair (Brataco), setil alkohol (Brataco, no batch: 1012060401), gliserin (Brataco), metil paraben (Brataco, no batch: AF-411), vanili essence (Crystal), aquabidest steril (IKA[®]), dan metanol kualitas HPLC (Merck 1.06018.2500).

Formulasi Losio

Pembuatan losio diawali dengan menimbang bahan-bahan yang diperlukan. Sediaan losio dibuat sebanyak lima formula (Tabel 1.) dengan variasi konsentrasi vitamin E sebesar 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5%.

Bahan-bahan yang digunakan dipisah menjadi dua bagian, yaitu bahan yang larut fase minyak dan bahan yang larut fase air. Bahan-bahan yang larut minyak yaitu asam stearat, setil alkohol, dan parafin cair dimasukkan ke dalam cawan penguap. Bahan-bahan yang larut air yaitu trietanolamin, gliserin dan akuades. Fase minyak dan fase air dipanaskan dan diaduk pada suhu 70-75°C secara terpisah hingga homogen. Proses pencampuran kedua sediaan

dilakukan pada suhu 70 °C. Proses pengadukan dilakukan hingga kedua fase homogen dan mencapai suhu 40 °C. Pengawet (metil paraben), parfum, dan zat aktif vitamin E dimasukkan ke dalam campuran pada suhu 35 °C kemudian dilakukan pengadukan selama kurang lebih satu menit⁷.

Evaluasi Formula

Evaluasi formula meliputi evaluasi sifat fisikokimia. Evaluasi fisik meliputi pemeriksaan organoleptik dan homogenitas, daya sebar, dan daya lekat sediaan. Evaluasi kimia meliputi penentuan nilai pH.

1. Organoleptik dan Homogenitas

Pemeriksaan organoleptik meliputi tekstur, warna dan bau yang diamati secara visual. Pemeriksaan homogenitas dilakukan dengan meletakkan sediaan di antara dua kaca lalu diperhatikan adanya partikel yang kasar atau ketidakhomogenan dibawah cahaya.

2. Daya Sebar

Pemeriksaan dilakukan dengan dengan menekan dua lempengan kaca pada 0,5 g sediaan, diukur daya sebar pada permukaan kaca pada tiap penambahan beban, yaitu sebesar 50, 100, 150 dan 200 g. Dihitung diameter penyebaran formula yang diambil dari panjang rata-rata diameter dari beberapa sisi⁸.

3. Daya Lekat

Losio diletakkan di atas kaca objek. Kaca objek yang lain diletakkan di atas sediaan tersebut dan diberi beban 1 kg selama 5 menit. Kaca objek diletakkan pada alat uji berupa beban 80 g yang digantungkan pada salah satu kaca objek. Pencatatan waktu mulaidilakukan ketika kedua kaca objek terlepas⁸.

4. pH

Pemeriksaan pH diawali dengan kalibrasi alat pH meter menggunakan larutan dapar pH 4 dan pH 7. Losio

dilarutkan dalam akuades lalu dicelupkan pada pH meter dan dicatat nilai pH yang ditunjukkan oleh pH meter. Uji ini dilakukan sebanyak 3 kali.

5. Viskositas

Viskositas losio diukur menggunakan *Viscometer Brookfield*, karena sediaan losio berprinsip pada sistem aliran Non-Newton. Losio sebanyak 300 g ditempatkan dalam wadah dan diatur ketinggian wadah sehingga motor dapat bergerak. Dicatat hasil pengukuran yang tertera pada alat.

Preparasi Larutan Stok dan Larutan Standar

Larutan stok vitamin E dalam metanol disiapkan dalam labu ukur dan tetap didinginkan dengan konsentrasi sebesar 1000 ppm. Larutan standar vitamin E disiapkan dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25 ppm.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan baku standar vitamin E 50 ppm diukur untuk penentuan panjang gelombang maksimum pada kisaran 200 - 350 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Preparasi Sampel

Sampel sebanyak 0,5 g ditambahkan metanol secukupnya, kemudian disonifikasi selama 15 menit untuk melarutkan vitamin E. Campuran dipindahkan kedalam labu ukur 50 mL, kemudian diencerkan 400 kali dengan metanol. Larutan disentrifugasi selama 10 menit pada 3700 rpm dan disaring melewati penyaring membran Whatman dengan ukuran pori 0,45 µm⁹.

Metode Penetapan Kadar

Metode HPLC fase terbalik dengan perangkat terdiri dari sebuah pompa, sebuah detektor UV, *degassifier*, dan stasiun data. Kolom yang digunakan adalah kolom C₁₈

(250 mm x 4.6 mm i.d.) dan dikondisikan selama 30 menit dengan fase gerak adalah metanol:air (97:3 %v/v) pada suhu 40°C. Volume sampel yang diinjeksikan sebesar 50 µL dengan laju alir eluen adalah 1,5 mL/min, dideteksi pada panjang gelombang 292 nm⁹.

Validasi Metode

1. Linearitas

Dibuat 5 larutan baku standar dengan rentang konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm dari larutan stok 1000 ppm. Disuntikkan sebanyak 50 µL standar tersebut pada panjang gelombang 292 nm dan kecepatan alir 1,5 mL/menit.

2. Presisi

Larutan standar vitamin E 50 ppm diinjeksikan sebanyak 50 µL ke dalam HPLC dengan sistem kromatografi dan kolom yang sama. Penginjeksian dilakukan sebanyak tiga kali setiap hari selama 3 hari berturut-turut. Keseksamaan diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif. Persyaratan nilai presisi yang diterima adalah nilai RSD ≤ 16%¹⁰.

3. Akurasi

Larutan sampel diinjeksikan ke dalam HPLC dan diukur konsentrasinya. Studi perolehan kembali dengan metode penambahan standar 50 ppm ke dalam salah satu sampel. Campuran tersebut dikocok hingga homogen, lalu diinjeksi-

kan sebanyak 50 µL ke dalam HPLC dan diukur konsentrasinya. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Selisih dari kedua pengukuran dibandingkan dengan kadar analit yang ditambahkan. Kriteria kecermatan untuk metode kromatografi adalah perolehan kembali yang didapat berada pada rentang 80-110%¹⁰.

4. LOD dan LOQ

Batas deteksi dan kuantitas ditentukan dari hasil linieritas. Semakin kecil nilai LOD dan LOQ maka semakin rendah batas deteksi konsentrasi sampel yang dapat terukur.

Analisis Hasil

Penetapan kadar vitamin E dilakukan pada losio dengan formula optimal berdasarkan sifat fisikokimia yang baik. Jumlah vitamin E dihitung menggunakan rumus pada persamaan (1):

$$XE = \frac{X \times FP \times VS}{BS} \dots \dots \text{(Pers. 1)}$$

Keterangan:

XE = Jumlah vitamin E (µg/g)

X = Jumlah yang terukur (µg/mL)

FP = faktor pengenceran

VS = volume sampel (mL)

BS = bobot sampel (g)

Analisis Data

Data yang diperoleh berupa data kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif yaitu hasil uji organoleptis losio.

Tabel 1. Variasi Formulasi Vitamin

Bahan	Komposisi (%)				
	F A	F B	F C	F D	F E
Vitamin E	1	2	3	4	5
Asam stearat			2,5		
Trietanolamin			1		
Parafin cair			8		
Setil alkohol			2		
Gliserin			8		
Metil paraben			0.1		
Vanili essence			0.1 3 gtt		
Aquadest (g)			ad 100		

Keterangan: gtt = gutae (tetes), ad = auris dekstra (hingga)

Sedangkan data kuantitatif yaitu nilai daya sebar, daya lekat, viskositas, dan pH losio. Hasil evaluasi losio dibandingkan dengan nilai teoritis pada literatur, kemudian data dianalisis menggunakan program *R i386 3.1.1 package R commander*.

Uji normalitas data dilakukan dengan uji *Shapiro-Wilk*. Uji homogenitas data dilakukan dengan uji *Levene's Test*. Jika data termasuk data parametrik, maka data dianalisis menggunakan *One Way ANOVA (Analysis of Variance)*. Sedangkan jika data termasuk non parametrik, maka data dianalisis menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Analisis untuk dua kelompok data yang tidak berhubungan digunakan uji *t test independent* (data parametrik) dan uji *Wilcoxon* (data non parametrik).

Hasil dan Pembahasan

Uji Sifat Fisikokimia

1. Organoleptis dan Homogenitas

Uji organoleptis dilakukan dengan memeriksa tampilan fisik dari sediaan losio. Pemeriksaan yang dilakukan meliputi bentuk, bau, warna, dan rasa. Pengujian organoleptis terhadap tampilan fisik losion didapatkan hasil bahwa sediaan berbentuk massa semipadat, berbentuk agak kental hingga kental berbau khas losio, agak dingin dan sediaan berwarna putih. Hasil pemeriksaan homogenitas tidak menunjukkan adanya ketidak homogenan pada saat dioleskan pada lempeng kaca yang transparan. Hasil uji organoleptis tiap formula tertera pada tabel dibawah ini (Tabel 2.).

Tabel 2. Hasil Uji Organoleptis Sediaan Losio Vitamin E

No.	F	Hasil Pengamatan			
		Bentuk	Bau	Warna	Rasa
1.	FA	SM	BKL	Putih	LAD
2.	FB	SM	BKL	Putih	LAD
3.	FC	SM	BKL	Putih	LAD
4.	FD	SM	BKL	Putih	LAD
5.	FE	SM	BKL	Putih	LAD

Keterangan: SM = Semipadat
BKL = Bau Khas Losio
LAD = Lembut, Agak Dingin

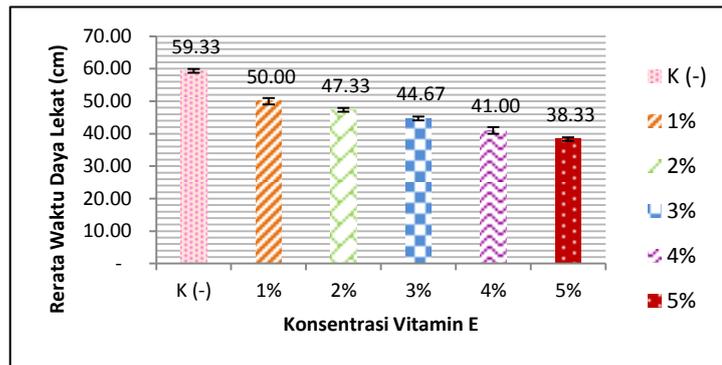
2. Daya Lekat

Daya lekat merupakan kemampuan dari suatu sediaan untuk melekat dalam jangka waktu lama saat dipakai. Semakin lama daya lekat suatu sediaan, maka semakin lama waktu penetrasi obat ke dalam kulit sehingga absorpsi obat menjadi optimal¹¹. Uji daya lekat dilakukan untuk mengetahui seberapa lama sediaan losio dapat melekat di kulit.

Data hasil uji daya lekat dianalisis secara statistik. Hasil analisis menunjukkan nilai signifikansi ($p < 0,05$) yang artinya terdapat perbedaan signifikan daya lekat antara formula A, B, C, D, dan E. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa variasi konsentrasi vitamin E sebagai zat aktif memiliki pengaruh terhadap waktu daya lekat dari sediaan losio. Hasil uji daya lekat dapat dilihat pada gambar 1. yang menunjukkan hubungan antara waktu rata-rata daya lekat dengan konsentrasi vitamin E yang digunakan tiap formula. Gambar 1 memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi vitamin E yang digunakan pada sediaan losio, maka semakin menurun kemampuan melekat sediaan losio tersebut jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal ini dikarenakan vitamin E yang berbentuk minyak dengan sifat yang lunak membuat kemampuan melekat losio semakin menurun¹². Sediaan emulsi (krim/losio) merupakan sediaan semipadat yang mengandung banyak air sehingga memiliki waktu lekat yang singkat, jika ditambahkan dengan vitamin E yang bersifat lunak, maka sediaan losio tersebut akan memiliki waktu daya lekat yang rendah¹³.

3. Uji Daya Sebar

Daya sebar merupakan kemampuan basis dan zat aktif menyebar ke permukaan kulit untuk memberikan efek terapi¹⁴. Uji daya sebar dilakukan untuk mengetahui luas penyebaran losio saat diaplikasikan pada kulit. Data hasil uji daya sebar untuk tiap beban dianalisis secara statistik. Hasil analisis statistik menunjukkan ni-



Gambar 1. Diagram Hubungan Waktu Daya Lekat dan Konsentrasi Vitamin E

lai signifikansi ($p < 0,05$) yang artinya terdapat perbedaan signifikan daya sebar antara formula A, B, C, D, dan E. Dari data tersebut disimpulkan bahwa variasi konsentrasi vitamin E memiliki pengaruh terhadap kemampuan daya sebar dari sediaan losio.

Gambar 2. menunjukkan bahwa terdapat perbedaan daya sebar antara formula satu dengan yang lainnya. Semakin tinggi konsentrasi vitamin E yang digunakan pada losio maka semakin tinggi nilai daya sebar yang dihasilkan seiring dengan penambahan beban. Hal ini berdasarkan pada kenyataan bahwa semakin rendah konsistensi sediaan losio dengan waktu lekat yang lebih rendah maka dapat membuat losio semakin mudah menyebar¹¹. Hasil pengukuran rata-rata daya sebar formula A, B, C, D, dan E menunjukkan bahwa daya sebar losio termasuk baik karena berada pada rentang daya sebar losio yang baik yaitu 5-7 cm¹⁵.

4. Uji pH

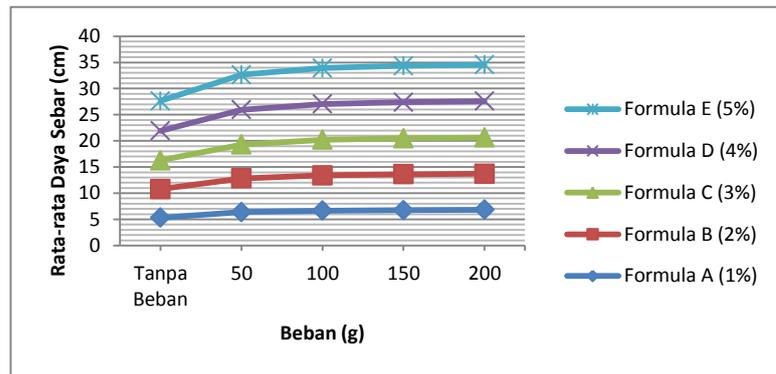
Pengujian pH dilakukan untuk mengetahui berapa nilai keasaman dari sediaan kosmetik yang dibuat. Berdasarkan SNI 16-4399-1996 bahwa nilai pH produk pelembab kulit disyaratkan berkisar antara 4,5-8,0¹⁶. Jika produk kosmetik memiliki nilai pH sangat tinggi atau sangat rendah akan menyebabkan kulit teriritasi¹⁷. Hasil analisis statistik menunjukkan nilai signifikansi ($p < 0,05$) yang artinya terdapat perbedaan signifikan nilai pH

antara formula A, B, C, D, dan E. Data statistik tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi vitamin E memiliki pengaruh terhadap nilai pH sediaan.

Sediaan losio kontrol negatif memiliki nilai pH rata-rata 7,98 atau mendekati 8,00 dikarenakan oleh adanya penambahan emulgator trietanolamin yang bercampur dengan asam stearat akan menghasilkan pH kurang lebih 8,00¹². Hal ini menunjukkan bahwa sediaan losion yang dibuat tanpa zat aktif vitamin E bersifat sedikit basa. Kemudian ketika dilakukan penambahan vitamin E ke dalam sediaan losio terjadi sedikit penurunan pH. Dari formula A hingga formula E mengalami penurunan nilai pH. Hal ini dikarenakan vitamin E memiliki nilai keasaman ≤ 2 ¹². Jadi, penambahan vitamin E dari konsentrasi terkecil hingga konsentrasi terbesar (1-5%) memiliki pengaruh terhadap perubahan pH (Gambar 3.). Meskipun terdapat perbedaan antara nilai pH sediaan losio dengan pH kulit namun pada nilai pH tersebut, nilai pH sediaan masih dapat diterima karena masih berada pada rentang yang disyaratkan.

5. Uji Viskositas

Viskositas merupakan sifat penting dalam formulasi sediaan cair semipadat yang memberikan gambaran dari tahanan suatu benda cair untuk mengalir, baik pada saat diproduksi, dimasukkan ke dalam kemasan, serta sifat-sifat penting pada saat pemakaian, seperti konsistensi, daya sebar, dan kelembaban¹⁸. Syarat viskositas menurut



Gambar 2. Kurva Hubungan Daya Sebar dan Konsentrasi Vitamin E

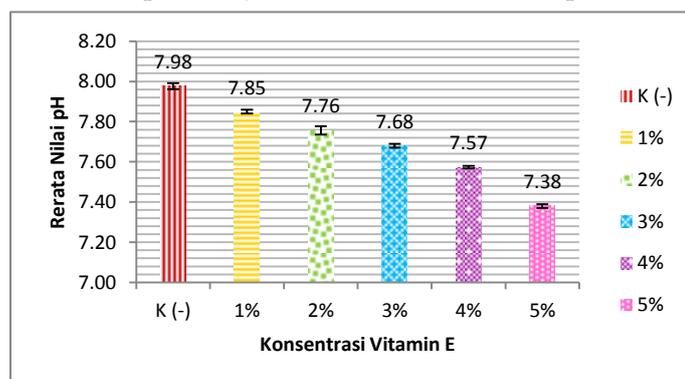
SNI 16-4399-1996 yaitu 20-500 Poise¹⁶.

Viskositas sediaan losio diukur menggunakan *Viscometer Brookfield* dengan *spindle* nomor 1 rotor untuk kekentalan 3-150 dPa (Poise). Terdapat perbedaan nilai viskositas dari kelima sediaan, dengan hasil pengujian tertera pada tabel 3. Berdasarkan tabel tersebut, terlihat bahwa terjadi penurunan viskositas dengan meningkatnya konsentrasi vitamin E. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji Wilcoxon dimana didapatkan hasil bahwa nilai viskositas antara formula A, B, C, D, dan E tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Dapat disimpulkan bahwa konsentrasi vitamin E tidak memiliki pengaruh besar terhadap viskositas dari sediaan losio.

Penetapan Kadar Vitamin E

Formula yang akan diukur kadarnya adalah formula optimum yakni

formula E dengan konsentrasi vitamin E sebesar 5%. Tolak ukur yang digunakan dalam pemilihan formula optimum ini adalah sifat fisikokimia dari sediaan losio, yaitu pH dan viskositas. Berdasarkan hasil analisis data yang dilakukan, nilai pH antara formula A, B, C, D, dan E memiliki perbedaan yang signifikan. Tetapi karena vitamin E dibuat dalam sediaan losio, maka dipilih formula dengan pH yang lebih mendekati pH kulit (4,5-6,5)¹⁹ yaitu formula E dengan pH rata-rata sebesar 7,38. Kemudian untuk viskositas dipilih formula dengan viskositas rendah yakni formula E dengan nilai viskositas rata-rata sebesar 38,67 Poise. Vitamin E dalam formula losio optimum akan diukur menggunakan HPLC dengan fase gerak yang digunakan berupa campuran antara metanol dan air (97:3). Pencampuran ini bertujuan untuk menurunkan polaritas air menggunakan



Gambar 3. Diagram Hubungan Nilai pH dan Konsentrasi Vitamin E

pelarut organik metanol, dimana dapat meningkatkan kekuatan elusi dalam kromatografi fase terbalik. Daya elusi ditentukan oleh polaritas keseluruhan pelarut, polaritas fase diam dan sifat-sifat komponen²⁰. Penggunaan metanol dan air sebagai fase gerak jika digunakan pada fase diam silika gel C₁₈ dapat menyebabkan komponen sampel yang paling polar akan terelusi lebih dahulu dibandingkan sampel yang kurang polar²¹.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Analisis vitamin E menggunakan HPLC diukur pada panjang gelombang 292 nm¹². Larutan baku vitamin E yang digunakan adalah konsentrasi 50 ppm, dimana didapatkan absorbansi paling tinggi pada panjang gelombang 292 nm. Sehingga panjang gelombang tersebut yang digunakan sebagai panjang gelombang maksimum untuk analisis menggunakan HPLC. Panjang gelombang maksimum adalah panjang gelombang saat terjadinya serapan maksimum untuk senyawa tertentu²¹.

Validasi Metode

Validasi metode merupakan tahap untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Parameter validasi pertama yang dilakukan adalah linearitas dengan membuat kurva kalibrasi. Linearitas dapat memberikan respon yang proposional terhadap konsentrasi analit dalam sampel dengan bantuan transformasi matematik¹⁰. Parameter

peak secara kromatografi berhubungan dengan konsentrasi analit dengan prosedur standarisasi²². Uji linearitas dilakukan dengan menggunakan larutan baku standar dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Setiap larutan baku standar disaring dengan penyaring Whatman agar kandungan pengotor berkurang sehingga tidak mengganggu hasil kromatogram dan munculnya *peak* saat proses pengukuran yang dapat mengganggu penetapan hasil kadar vitamin E. Data hasil pengukuran larutan baku standar dapat dilihat pada tabel 4. dibawah ini.

Tabel 4. Data Kurva Baku Larutan Baku Standar Vitamin E

No.	Konsentrasi (ppm)	Area (mAU)
1.	5	11.874
2.	10	23.290
3.	15	40.156
4.	20	52.515
5.	25	70.596

Selanjutnya dilakukan penentuan koefisien korelasi untuk mengetahui adanya hubungan linier dengan menggunakan analisis regresi linier $y = bx + a$. Berdasarkan evaluasi data diatas menggunakan deret standar vitamin E dengan rentang 5-25 ppm diperoleh persamaan regresi linier, yaitu $y = 2.933,38x - 4.314,5$ dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9973. Nilai r yang diperoleh menunjukkan linearitas yang baik karena memenuhi persyaratan yaitu $r \geq 0,99$ ²².

Pengujian validasi selanjutnya adalah presisi dengan metode keterulangan (repeatability) yaitu

Tabel 3. Data Hasil Uji Sifat Fisikokimia Sediaan Losio Vitamin E

Formula	$\bar{x} DL \pm SD$	$\bar{x} DS \pm SD$	$\bar{x} pH \pm SD$	$\bar{x} V \pm SD$
FA	50,00 ± 1,00	6,76 ± 0,076	7,85 ± 0,01	43,33 ± 0,58
FB	47,33 ± 0,58	6,83 ± 0,126	7,76 ± 0,02	42,00 ± 0,00
FC	44,67 ± 0,58	6,86 ± 0,076	7,68 ± 0,01	40,67 ± 0,58
FD	41,00 ± 1,00	6,93 ± 0,029	7,57 ± 0,01	39,67 ± 0,58
FE	38,33 ± 0,58	6,97 ± 0,018	7,38 ± 0,01	38,67 ± 0,58

Keterangan: n = 3, **Bold** = hasil uji yang digunakan, SD = Standar deviasi

$\bar{x} DL$ = Rata-rata daya lekat (detik), $\bar{x} DS$ = Rata-rata daya sebar (cm),

$\bar{x} pH$ = Rata-rata nilai pH, $\bar{x} V$ = Rata-rata nilai viskositas (Poise)

keseksamaan metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi sama dan dalam interval waktu yang pendek. Presisi dinyatakan dengan nilai standar deviasi relatif (RSD) atau koefisien variasi. Syarat nilai $RSD \leq 16\%$ untuk kadar satu per sejuta (ppm) dan lebih dari 2% secara umum¹⁰. Pengujian presisi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan dalam satu hari dan dilakukan selama tiga hari berturut-turut. Hal ini karena presisi merupakan parameter uji yang digunakan untuk mengetahui tingkat kesamaan hasil uji individual ketika dilakukan pada waktu yang berbeda²². Larutan standar baku yang digunakan adalah larutan yang sama yaitu 50 ppm untuk tiap pengujian.

Tabel 5 memperlihatkan bahwa hasil uji presisi yang dihasilkan memenuhi persyaratan yakni nilai $RSD \leq 16\%$. Dapat disimpulkan bahwa sistem operasional alat dan analisis memiliki ketepatan yang baik terhadap metode, baik dalam hari maupun antarhari sehingga metode tersebut dapat digunakan pada waktu berbeda akan memberikan hasil yang sama²³.

Tabel 5. Data Hasil Uji Presisi

No.	Hari ke-	$\bar{x} \pm \%RSD$
1.	1	107,1634 ± 3,82 %
2.	2	113,5849 ± 1,0879 %
3.	3	112,5886 ± 3,53 %
4.	Antarhari	111,1123 ± 3,11 %

Keterangan: \bar{x} = Konsentrasi terukur

Pengujian validasi berikutnya adalah akurasi. Metode yang digunakan dengan metode penambahan baku, dimana sampel akan dianalisis lalu sejumlah tertentu analit yang diperiksa

ditambahkan ke dalam sampel dicampur dan dianalisis lagi. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya (hasil yang diharapkan)¹⁰. Baku yang ditambahkan telah diketahui kadarnya yaitu 50 ppm. Akurasi dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (% *recovery*) yang merupakan rasio antara hasil yang diperoleh dengan hasil yang sebenarnya. Syarat nilai *recovery* yang diijinkan untuk setiap analit pada matriks dengan konsentrasi 0,000.1 (1 ppm) adalah 80-110%¹⁰.

Tabel 6 menunjukkan bahwa rata-rata persen perolehan kembali (% *recovery*) yang diperoleh memenuhi syarat uji akurasi. Hal ini dikarenakan rata-rata persen perolehan kembali berada pada rentang 80-110%¹⁰. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa metode yang digunakan dinilai telah efektif dalam mengekstraksi vitamin E dari sediaan losio²³.

Pengujian validasi yang terakhir adalah penentuan batas deteksi (LOD) dan batas kuantitasi (LOQ). Semakin kecil batas deteksi dan batas kuantitasi menunjukkan bahwa metode yang digunakan semakin sensitif. Batas deteksi dan kuantitasi dapat dihitung secara statistik melalui garis regresi linier dari kurva kalibrasi. Pada tabel 7. menunjukkan bahwa batas deteksi yang didapatkan adalah 1,725 µg/mL. Nilai tersebut merupakan konsentrasi terendah analit yang masih dapat terdeteksi oleh HPLC dengan detektor UV. Artinya jika jumlah sampel dibawah nilai tersebut maka jumlah sampel tersebut tidak dapat terdeteksi²³. Sedangkan untuk batas kuantitasi yang didapat adalah

Tabel 6. Data Hasil Pengukuran Uji Akurasi

No.	Sampel		Sampel + Baku		% Recovery
	Area	Jumlah	Area	Jumlah	
1.	8.553	4,3866	76.052	27,3972	92,0424
2.	8.620	4,4094	75.785	27,3062	91,5872
3.	9.473	4,7002	77.556	27,9099	92,8388
Rata-rata					92,1561

Tabel 7. Data Hasil Uji LOD dan Uji LOQ

No.	Konsentrasi (ppm)	Area	Area Berdasarkan Regresi	LOD ($\mu\text{g/mL}$)	LOQ ($\mu\text{g/mL}$)
1.	5	11.874	10.352,4		
2.	10	23.290	25.019,3		
3.	15	40.156	39.686,2	1,725	5,752
4.	20	52.515	54.353,1		
5.	25	70.596	69.020		

5,752 $\mu\text{g/mL}$ dimana merupakan nilai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat/akurat dan seksama¹⁰.

Analisis Kuantitatif Sampel Penelitian

Hasil penyuntikan larutan baku vitamin E diperoleh rata-rata waktu retensi yaitu 15,421 menit. Waktu retensi adalah periode waktu dari disuntikkannya sampel hingga diperoleh rekaman signal maksimum²⁴. Waktu retensi yang didapat dari hasil penelitian berbeda dari waktu retensi dari jurnal yang diadaptasi, yaitu 9,870 menit. Perbedaan waktu retensi ini diakibatkan oleh panjang kolom yang digunakan, dimana pada jurnal tersebut panjang kolom yang digunakan adalah sebesar 150 x 4.6 mm sedangkan pada penelitian kolom yang digunakan adalah sebesar 250 x 4.6 mm. Jika laju alir lambat atau kolom panjang, maka waktu retensi akan semakin besar²⁴. Untuk itu diharapkan dapat dilakukan penelitian penetapan kadar vitamin E dalam sediaan losio dengan memvariasikan laju alir dan fase gerak untuk mendapatkan hasil kromatogram dan waktu retensi yang lebih optimal dengan fase diam (kolom) yang sama. Kolom atau fase diam yang digunakan adalah silika gel C₁₈ (Oktadesil Silika) dimana merupakan

fase diam dengan silika yang dimodifikasi paling banyak banyak digunakan karena mampu memisahkan senyawa-senyawa dengan kepolaran rendah, sedang, maupun tinggi sehingga sampel dapat memisah dengan baik²¹. Kemudian dilakukan penyuntikan larutan sampel yang menghasilkan beberapa puncak. Puncak yang dipilih adalah puncak yang memiliki waktu retensi yang sama atau hampir mendekati dengan waktu retensi larutan baku vitamin E. Dari hasil penyuntikan diperoleh waktu retensi sampel berturut-turut adalah 15,602; 15,398; dan 15,263 menit. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan bahwa sampel mengandung vitamin E.

Metode yang paling banyak digunakan dalam identifikasi puncak adalah mencocokkan waktu retensinya dengan standar baku. Puncak yang dihasilkan oleh sampel dapat diterima jika waktu retensinya tidak berbeda jauh dengan waktu retensi dari larutan standar baku atau masih dalam rentang yang diterima yakni $\pm 5\%$ ²⁵. Tinggi puncak maupun luasnya dapat dihubungkan dengan konsentrasi. Luas puncak digunakan sebagai parameter untuk pengukuran kuantitatif²⁶. Hasil perhitungan jumlah vitamin E didapatkan bahwa jumlah sampel rata-

Tabel 8. Kadar Vitamin E Pada Sampel

No.	Sampel	Jumlah Vitamin E ($\mu\text{g/g}$)	Rata-rata Jumlah Vitamin E (g/g)	Kadar Vitamin E dalam sediaan Losio (%)
1.	Sampel 1	77.243,2		
2.	Sampel 2	82.360	0,079	3,956
3.	Sampel 3	77.931,2		

rata yaitu 0,079 g. Hal ini berarti dalam 1 g sampel terkandung vitamin E sebanyak 0,079 g dan dalam 25 g terkandung vitamin E sebanyak 0,989 g. Dari hasil perhitungan kadar vitamin E, didapatkan bahwa kadar vitamin E yang terkandung dalam sediaan losio adalah sebesar 3,956 %, hal ini menyatakan bahwa terdapat pengurangan kadar vitamin didalam sediaan losio. Berkurangnya kadar vitamin E didalam losio kemungkinan disebabkan oleh oksidasi perlahan akibat adanya oksigen di udara pada saat preparasi sampel, dimana pada proses oksidasi tersebut gugus yang teroksidasi adalah gugus -OH. Vitamin E bekerja secara utama sebagai antioksidan lipofilik penangkap radikal dan menekan tahap inisiasi atau propagasi pengikatan rantai dengan menyumbangkan hidrogen 6-fenolik ke radikal bebas^{2,12}. Untuk itu perlu dilakukannya penelitian menggunakan metode preparasi sampel yang kondisinya disesuaikan dengan kestabilan vitamin E terhadap suhu, oksigen di atmosfer, dan kondisi netral (tidak alkali) ketika melakukan preparasi atau mengekstraksi vitamin E dari sediaan losio.

Vitamin E memiliki batas maksimum penggunaannya dalam sediaan losio. Menurut *Personal Care Products Council* tahun 2013, konsentrasi maksimal vitamin E yang digunakan pada produk yang kontak dengan dermal/kulit sebesar 5,4%⁵. Pembatasan penggunaan ini dikarenakan vitamin E dapat menyebabkan efek samping seperti alergi atau iritasi pada kulit dengan presentase kejadian yang rendah, walaupun reaksi efek samping ini masih diragukan. Pada studi klinik, ditemukan bahwa tokoferol dan tokoferol asetat aman untuk digunakan pada formulasi topikal sejak kejadian reaksi iritasi dan kepekaan ditemukan hanya terjadi pada presentase kecil⁶.

Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa: sediaan losio formula optimum

memiliki sifat fisikokimia yang baik, yakni daya sebar sebesar 6,97 cm; daya lekat sebesar 38,33 detik; nilai pH sebesar 7,38; dan viskositas sebesar 38,67 P, konsentrasi optimum vitamin E adalah 5 %, kadar vitamin E dalam sediaan losio adalah 3,956 %.

Daftar Pustaka

1. Deny, F., Lestari S.K.S., dan Hakim, Z. Penggunaan Vitamin E Dan Vitamin C Topikal Dalam Bidang Kosmetik. *Majalah Kedokteran Andalas*. No. 2, **30**. Universitas Andalas. Padang. 2006; 41-51
2. Nada, A., Krishnaiah, Y.S.R., Zaghoul, A., dan Khatib, I. In vitro and in vivo Permeation of Vitamin E and Vitamin E Acetate from Cosmetic Formulations. *Med Princ Pract* 2011; 20: 509-513
3. Chen, L.H., Boissonneault G.A., dan Glauert H.P. Vitamin C, Vitamin E and Cancer (review) (abstract). *PubMed*. *Anticancer Res* **8**(4). [Internet].1988 [Dikutip pada tanggal 11 Oktober 2013]. Diakses melalui PubMed: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3052251>
4. Rieger, M.M. Harry's Cosmeticology, 8th edition, **2**. Newyork: Chemical Publishing co, inc.; 2000. Hal 3, 895
5. Chairman, W.F., Bergfeld., Belsito, D.V., Hill, R.A., Klaassen, C.D., Liebler, D.C., Marks, J.G. Jr., et al. Safety Assessment Of Tocopherols And Tocotrienols As Used In Cosmetics. *Cosmetic Ingredient Review*. Washington D. C. 2013: 26
6. Thiele, J.J. dan Ekanayake-Mudiyanselage, S. Vitamin E in Human Skin: Organ-specific Physiology and Considerations for Its Use in Dermatology. *Mol Aspects Med*, 2007; **28** (5-6): 646-667
7. Nowak, G.A. Cosmetics Preparations. Verlag Fur Chem; 1962. Hal: 111-21
8. Nugraha, L.S.A. Pengaruh Kadar Na Cmc Sebagai Bahan Pengental

- Terhadap Karakteristik Fisik Losion Repelan Minyak Akar Wangi (*Vetiveria Zizanioides* (L.) Nash). *Karya Tulis Ilmiah*. Akademi Farmasi Theresiana. Semarang. 2012: 16-18, 26
9. Nada, A., Krishnaiah, Y.S.R., Zaghloul, A., dan Khattab, I. Analysis of Vitamin E in Commercial Cosmetic Preparations by HPLC. *J. Cosmet. Sci.*, **61**; 2010: 353-365
 10. Harmita. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. **I**(3); 2004: 117-135
 11. Ansel, H.C., Popovich dan Allen, L.V. *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery System*. Sixth Edition. USA: A Lea & Febiger Book, Williams & Wilkins, A Warverly Company; 1989. Hal 489-91
 12. Rowe, R.C., Sheskey, P.J., dan Owen, S.C. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 5th edition. Pharmaceutical Press: London; 2006. Hal 301, 466-7, 471, 737-8, 763, 794.
 13. Ansel, C.H. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Jakarta: Universitas Indonesia; 2005. Hal: 519
 14. Windriyati, Y.N., Wahyunigrum, D.P., Mihadi, M.M. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Ekstrak Etanolik Umbi Bengkuang (*Pachyrrhizus erosus*, Urb) dalam Sediaan Krim Terhadap Sifat Fisiknya. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik*, 2007; **4**(1): 1-3
 15. Garg, A., Aggarwal, D., Garg, S. dan Singla, A.K. Spreading of Semisolid Formulations, An Update. *Pharm. Technol.*; 2002: 84-105
 16. Standar Nasional Indonesia 16-4399. *Sediaan Tabir Surya*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional; 1996. Hal 1
 17. Levin, J., and Maibach, H.I. *Human Skin Buffering Capacity: An Overview*, Marcel Dekker, Inc., New York; 2007. Hal 121-126
 18. Anita, S.B. Aplikasi Karaginan dalam Pembuatan Skin Lotion. *Skripsi*. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 2008: 8-12
 19. Draelos, Z.D. *Cosmetic Dermatology, Products and Procedures*. USA: Wiley-Blackwell, A John Wiley & Sons, Ltd., Publication; 2010. Hal 72
 20. Panggabean, A.S., Pasaribu, S.P., Vinanda, N., dan Hairani, R. Optimasi Kinerja Analitik Pada Penentuan Kafein dengan Metode Kromatografi Cairan Kinerja Tinggi. *Jurnal Kimia Mulawarman*. 2011; **8**(2): 70-73
 21. Gandjar, I.G., dan Rohman, A. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar; 2010. Hal 378-406
 22. Papadoyannis, I.N., dan Samanidou, V.F. Validation of HPLC Instrumentation. *J. Liq. Chromatogr. Related Technol.*, 2004; **27**(5): 753-783
 23. Pradhita, A. Penetapan Kadar Kafein Dalam Produk Minuman Berenergi Yang Beredar Di Kota Pontianak dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) Fase Terbalik. *Skripsi*. Universitas Tanjungpura. 2012: 45-46.
 24. Martina, A. Optimasi Fase Gerak Dapar Fosfat pH 4,4 Metanol Pada Penetapan Kadar Campuran Amoksisilin dan Kalium Klavulanat Dalam Tablet Secara Simultan Dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara. 2009: 9
 25. Weston, A., dan Brown, P.R. *HPLC and CE: Fundamentals and Applications*. London: Academic Press Limited; 1997. Hal 214, 216
 26. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. *Farmakope Indonesia*, edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan; 1995. Hal: 1011