

STABILITAS EPIGALLOKATEKIN GALAT DALAM KRIM EKSTRAK TEH HIJAU DENGAN VARIASI KONSENTRASI ANTIOKSIDAN VITAMIN C 1% DAN VITAMIN E 1%

Nining Sugihartini*), Hari Susanti, Zaenab, Hana Hanifah, Siti Ayu Marlina

Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

Received May 23, 2016; Accepted August 8, 2016

Abstract: *Epigallocatechingallate (EGCG) in green tea extract has activity as an anti-inflammatory agent. On the other hand the stability of EGCG is poor because of the oxidation. The aim of this study was to determine the influence of Vitamine C and Vitamine E in formulation of green tea extract cream to the stability of EGCG. The green tea extract was obtained from the extraction process by infusion followed by fractionation with ethyl acetate as the solvent. The three formulas were compiled in similar composition with the concentration of vitamine C 1% (FI), Vitamine E 1% (FII) and there was no Vitamine C and Vitamine E (FIII) as a control. The EGCG level was determined by TLC-densitometry method. The stability parameter was determined by calculation of the Q_{10} of each formula. The result of this study showed that the parameter of t_{90} of EGCG with Vitamine C 1%, Vitamine E 1% and control addition were 0.0108 hours, 0.0087 hours, 0.0084 hours, respectively. Stability of EGCG in green tea leaf extract cream with addition of the vitamin C 1% was higher than its stability with the addition of vitamin E 1%. The concentration of Vitamin C 1% was the optimum concentration as antioxidant in formulation of green tea extract cream.*

Key words: *epigallocatechingallate, stability, Vitamine E, Vitamine C, cream*

PENDAHULUAN

Salah satu bahan alam yang banyak digunakan dalam pengobatan adalah teh hijau. Teh hijau mengandung polifenol yang memiliki berbagai macam khasiat. *Epigallocatechin gallate* (EGCG) sebagai polifenol utama yang ditemukan dalam teh hijau telah terbukti memiliki khasiat sebagai antiinflamasi dan antioksidan dalam beberapa jenis sel (Cavet dkk., 2011).

Selama ini penggunaan teh hijau sebagai antiinflamasi masih jarang digunakan. Pemanfaatan teh hijau perlu ditingkatkan dengan memformulasi dalam bentuk sediaan krim. Krim merupakan salah satu sediaan perawatan kulit yang cocok mempunyai sifat yang menyebarkan, melembabkan, mudah penggunaannya, mudah berpenetrasi pada kulit sehingga memberikan efek yang diinginkan dalam penyembuhan. Krim berupa sediaan setengah padat berupa emulsi, mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi

dalam bahan dasar yang sesuai dan dimaksudkan untuk pemakaian luar (Anonim, 1995).

Permasalahan dalam memformulasi EGCG untuk sediaan di kulit adalah stabilitasnya yang rendah karena mudah mengalami oksidasi dan kemampuan penetrasinya menembus lapisan kulit yang rendah (Hsu, 2005). Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa dengan penambahan campuran *enhancer* asam oleat, propilen glikol dan minyak atsiri temulawak dengan komposisi 30,20%:35,82%:33,98% mampu untuk meningkatkan penetrasi EGCG menembus lapisan kulit (Sugihartini dkk., 2011). Oleh karena itu perlu penelitian lain terkait jenis antioksidan yang akan meningkatkan stabilitas EGCG. Antioksidan adalah senyawa yang dipergunakan untuk mencegah terjadinya oksidasi. Reaksi oksidasi sendiri merupakan reaksi yang dapat mengakibatkan kerusakan struktur molekul suatu senyawa (Sridharamurthy dkk., 2011).

*Corresponding author: Nining Sugihartini
Email: nining.sugihartini@pharm.uad.ac.id

Antioksidan yang banyak digunakan adalah vitamin C dan vitamin E. Keduanya biasanya digunakan sebagai standar aktivitas antioksidan pada penelusuran antioksidan baru (Sridharamurthy dkk., 2011 dan Rupasinghe dan Yasmin, 2010). Vitamin C dan vitamin E merupakan jenis antioksidan yang secara luas digunakan dalam penanganan terjadinya oksidasi pada suatu formula.

Pada penelitian ini akan dievaluasi efek penambahan antioksidan vitamin C dan vitamin E pada formula sediaan terhadap parameter t_{90} (waktu kadaluwarsa) EGCG.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada pembuatan krim adalah daun teh hijau (Perkebunan Samigaluh Kulon Progo), bahan penyusun krim dengan derajat farmasetis meliputi asam stearat, setil alkohol, stearil alkohol, asam sitrat, span 80, asam oleat, vitamin C, vitamin E, trietanolamin, gliserin, metil paraben, tween 80, propilen glikol, air dan minyak atsiri temulawak. Selain itu digunakan juga bahan untuk uji stabilitas kimia krim antara lain metanol, kloroform, toluen, aseton, dan asam formiat.

Alat yang digunakan untuk identifikasi adalah corong Buchner, cawan porselin, waterbath (MEMMERT), kertas saring, pengaduk, wadah kedap udara, mortir, stamper, sudip, penangas air, pot salep, alumunium foil, KLT-Densitometri (CAMAG TLC SCANNER 3), alat sentrifugasi, tabung reaksi, inkubator.

Ekstraksi *Epigallocatechin Gallate* dari teh hijau

Proses ekstraksi *epigallocatechin gallate* (EGCG) dalam simplisia daun teh dilakukan berdasarkan hasil penelitian Row dan Jin (2006). Ekstraksi diawali dengan infundasi yang selanjutnya dilakukan fraksinasi menggunakan etil asetat. Fraksi kemudian dikentalkan dengan rotari evaporator dan diuapkan di atas waterbath sampai diperoleh serbuk kering ekstrak teh hijau. Kandungan EGCG dalam ekstrak ditentukan dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) (Sugihartini, 2014).

Pembuatan krim ekstrak teh hijau

Ekstrak kering diformulasikan dalam bentuk sediaan krim dengan mengacu pada penelitian Sugihartini dkk. (2013). Krim pada penelitian ini dibuat dengan penambahan antioksidan Vitamin C dan Vitamin E seperti yang disajikan pada Tabel I.

Uji stabilitas kimia krim

Uji stabilitas dengan metode elevated

Setiap formula diberi perlakuan pemanasan pada suhu 50°, 60°, dan 70°C. Pemanasan dilakukan dengan memasukkan 2 g krim dalam tabung reaksi ke dalam waterbath yang sudah disesuaikan suhunya. Selanjutnya setiap tabung dari masing-masing formula diambil pada jam ke 0; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; dan 6. Sampel kemudian ditetapkan kadar EGCG dengan menggunakan metode KLT Densitometri (Sugihartini dkk., 2013).

Ekstraksi EGCG dari krim

Krim yang sudah mengalami pemanasan kemudian ditetapkan kadar EGCG dengan metode KLT Densitometri. Metode pemisahan EGCG dari dalam krim adalah sebagai berikut: sebanyak 2 g krim ditambah 3 mL metanol kemudian disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Supernatan yang berupa fase minyak dibuang sedangkan fase airnya diekstraksi kembali menggunakan kloroform 3 mL sebanyak 3 kali. Setelah disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit maka fase airnya kemudian ditambah metanol sampai volumenya 5 mL. Larutan sampel selanjutnya siap ditotolkan pada lempeng uji untuk ditetapkan kadar EGCGnya (Sugihartini, 2013).

Penetapan kadar EGCG dengan metode KLT Densitometri

Kadar EGCG dalam sampel ditetapkan dengan menggunakan fase diam silika gel GF 254, dielusi dengan fase gerak campuran toluen, aseton, dan asam formiat pada perbandingan 5:6:1 dan dilanjutkan pembacaan kadarnya pada panjang gelombang 303 nm (Sugihartini dkk., 2012).

Tabel I. Formula krim ekstrak teh hijau dengan variasi penambahan antioksidan

Nama Bahan	F I	F II	F III
Ekstrak teh hijau	0,20	0,20	0,20
Asam stearate	5,14	5,14	5,14
Setil alcohol	2,75	2,75	2,75
Stearyl alcohol	5,14	5,14	5,14
Trietanolamin	1,28	1,28	1,28
Gliserin	7,72	7,72	7,72
Asam Sitrat	0,64	0,64	0,64
Metil paraben	0,25	0,25	0,25
Asam oleat	6,04	6,04	6,04
Propilen glikol	7,17	7,17	7,17
Minyak atsiri temulawak	6,79	6,79	6,79
Tween 80	10	10	10
Span 80	1	1	1
Vitamin C	1	0	0
Vitamin E	0	1	0
Air	Ad 100	Ad 100	Ad 100

Keterangan :

- Formula I : formula krim dengan penambahan antioksidan vitamin C 1%
- Formula II : formula krim dengan penambahan antioksidan vitamin E 1%
- Formula III : formula krim sebagai kontrol (tanpa antioksidan)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Peran antioksidan dalam krim dievaluasi berdasarkan kadar EGCG yang masih ada setelah proses pemanasan. Penetapan kadar EGCG diawali dengan penambahan 3 mL metanol yang berfungsi sebagai pelarut. Selanjutnya disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit untuk memisahkan komponen yang terdapat di dalam krim berdasarkan berat jenis. Supernatan yang berupa fase minyak dibuang karena EGCG yang larut dalam air tidak terdapat pada bagian ini, sedangkan fase airnya diekstraksi kembali menggunakan kloroform sebanyak 3 kali. Pengekstrasian kembali ini dilakukan untuk memastikan tidak terdapat bagian minyak lagi pada fase air. Selanjutnya fase air ini disentrifus kembali dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit untuk memastikan tidak ada komponen lemak. Hasil ekstraksi ini ditambahkan metanol sebagai pelarut yang selanjutnya ditetapkan kadar EGCG dengan KLT Densitometri. Hasil uji penetapan kadar EGCG setelah pemanasan suhu 50°, 60° dan 70° C pada kontrol, krim dengan penambahan Vitamin C 1% dan krim dengan penambahan Vitamin E 1% disajikan pada Gambar 1.

Pada Gambar 1 dapat diamati bahwa pada berbagai suhu kadar EGCG relatif stabil setelah penambahan antioksidan baik Vitamin E dan Vitamin C. Hal tersebut menunjukkan potensi antioksidan dalam melindungi EGCG dari kerusakan karena oksidasi yang ditimbulkan oleh radikal bebas, cahaya matahari dsb. Profil kadar EGCG pada formula kontrol lebih rendah dibandingkan formula yang diberi antioksidan Vitamin C dan Vitamin E. Kadar EGCG pada formula kontrol berkisar antara 0,2 µg/ml – 0,5 µg/ml. Sedangkan kadar EGCG pada formula yang diberi Vitamin C antara 1,4 µg/ml – 2,0 µg/ml dan formula dengan penambahan antioksidan Vitamin E antara 0,35 µg/ml – 0,7 µg/ml. Mekanisme kerja antioksidan pada umumnya adalah dengan mendonorkan elektronnya sehingga dapat mencegah senyawa-senyawa lain agar tidak teroksidasi.

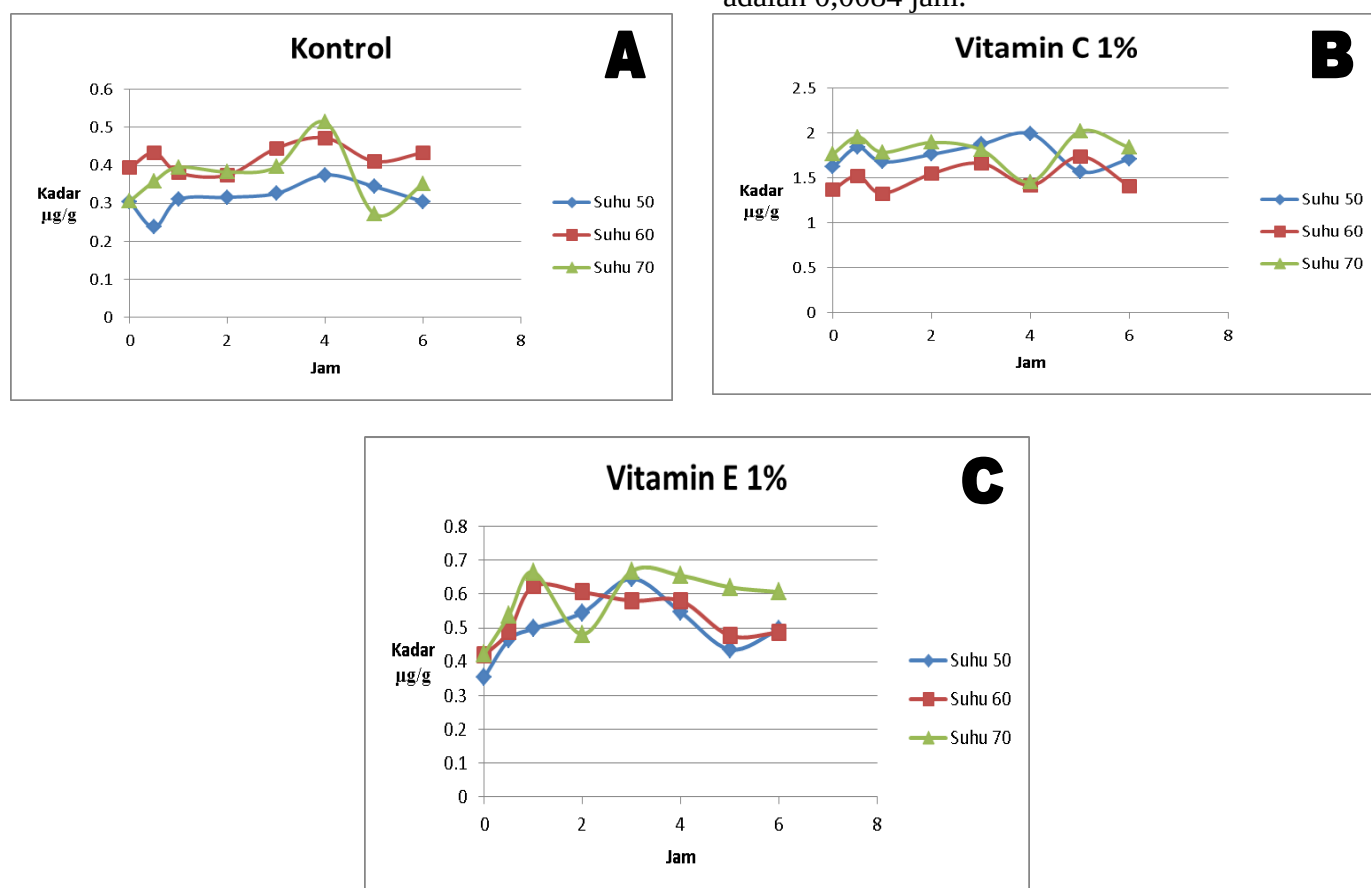
Penelitian lain juga menunjukkan bahwa penambahan Vitamin E mampu menurunkan tingkat degradasi dari polietilen oksida yang digunakan sebagai matriks dalam tablet lepas lambat karena kemampuannya mencegah oksidasi (Shojaee dkk., 2013). Aktivitas Vitamin C sebagai antioksidan juga ditunjukkan dalam penelitian tentang formulasi Vitamin E sebagai sediaan

topikal. Vitamin E diformulasikan dalam bentuk sediaan mikroemulsi. Formulasi dengan penambahan Vitamin C ternyata mampu meningkatkan fotostabilitas dari Vitamin E (Gallarate dkk., 2004).

Apabila dibandingkan antar suhu maka profil kadar EGCG yang paling baik profilnya adalah pada suhu 50° C. Semakin meningkat suhunya maka profil kadar EGCG semakin tidak beraturan. Hal tersebut kemungkinan karena dengan semakin meningkatnya suhu maka semakin mudah EGCG untuk terdegradasi sehingga kadar EGCG semakin kecil. Kadar yang semakin kecil ini membutuhkan metode analisis yang sensitive. Pada penelitian ini digunakan metode analisis KLT Densitometri yang tingkat sensitivitasnya masih relatif kecil. Oleh karena itu penentuan jenis dan konsentrasi

antioksidan terbaik berdasarkan data kadar EGCG selanjutnya ditentukan pada suhu 50° C.

Penentuan nilai t_{90} sebagai parameter *shelf life* EGCG (waktu kadaluwarsa) dilakukan dengan menggunakan metode Q_{10} . Metode Q_{10} (faktor percepatan) merupakan metode yang digunakan untuk menduga masa kadaluwarsa zat aktif yang dalam hal ini zat aktif EGCG yang disimpan pada berbagai suhu. Berdasarkan hasil perhitungan dengan metode Q_{10} diketahui bahwa nilai rata-rata t_{90} untuk kadar EGCG dalam krim ekstrak teh hijau dengan penambahan antioksidan vitamin C 1% adalah 0,0108 jam dan nilai rata-rata t_{90} untuk kadar EGCG dalam krim ekstrak teh hijau dengan penambahan antioksidan vitamin E 1% adalah 0,0087 jam. Sedangkan nilai rata-rata t_{90} untuk kadar EGCG dalam krim ekstrak teh hijau kontrol adalah 0,0084 jam.



Gambar 1. Profil kadar EGCG dalam krim kontrol (tanpa penambahan antioksidan) (A), krim dengan penambahan antioksidan Vitamin C 1% (B), krim dengan penambahan antioksidan Vitamin E 1% (C) setelah pemanasan pada suhu 50°, 60° dan 70° C

Semakin kuat suatu senyawa sebagai antioksidan dalam suatu sediaan maka semakin lama waktu kadaluarsanya. Dalam hal ini krim ekstrak teh hijau dengan penambahan Vitamin C memiliki waktu kadaluarsa yang lebih besar dari pada Vitamin E. Hal ini dimungkinkan karena Vitamin C bersifat polar, larut air, demikian pula EGCG. Vitamin C sebagai antioksidan berada dalam satu fase dengan EGCG yaitu dalam fase air sehingga EGCG dapat terlindungi oleh pengaruh oksidasi karena keberadaan vitamin C. Sedangkan Vitamin E bersifat relatif non polar, kemungkinan berada pada fase minyak dari krim. Dengan demikian, kemampuan Vitamin E untuk melindungi EGCG lebih rendah karena berada pada fase yang berbeda. Disamping itu Vitamin E sendiri juga diketahui mudah mengalami fotolisis (Gallarate dkk., 2004).

KESIMPULAN

Antioksidan vitamin C dan vitamin E memiliki pengaruh terhadap stabilitas kimia EGCG dalam krim ekstrak teh hijau. Krim ekstrak daun teh hijau dengan penambahan Vitamin C 1% memiliki daya antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan krim ekstrak daun teh hijau dengan penambahan Vitamin E 1%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terselenggara dengan dana penelitian dari DIKTI melalui skema penelitian Hibah Bersaing tahun 2012.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1995. *Farmakope Indonesia*, Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1083–1084.
- Cavet, M.E., Harrington, KL, Vollmer, T.R., Ward, K.W., dan Zhang, J.Z., 2011. Anti-inflammatory and Anti-oxidative Effects of the Green Tea Polyphenol Epigallocatechin Gallate in Human Corneal Epithelial Cells. *Global Pharmaceutical R&D. Molecular Vision*, 17, 533–542.
- Gallarate, M., Carlotti, M.E., Trotta, M., dan Ugazio, E., 2004. Disperse Systems as Topical Formulations Containing α -tocopherol. *Jurnal Drug Delivery Science Technology*, 14 (6), 471–477.
- Hsu, S., 2005. Green Tea and the Skin, *J. Am. Acad. of Dermatol.*, 52, 1049–59.
- Row, K., dan Jin, Y., 2006. Recovery of Cathecin Compound from Korean Tea by Solvent Extraction. *Bioresource Technology*, 97, 790–793.
- Rupasinghe, H.P.V dan Yasmin, A., 2010. Inhibition of Oxidation of Aqueous Emulsions of Omega-3 Fatty Acids and Fish Oil by Phloretin and Phloridzin. *Molecules*, 15, 251–257.
- Shojaee, S., Cumming, I., Kaialy, W., dan Nokhodchi, A., 2013. The Influence of Vitamin E Succinate on the Stability of Polyethylene Oxide PEO Controlled Release matrix Tablets. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 3, 486–492.
- Sridharamurthy, N. N., Yogananda, R., dan Srinivas U., 2011. In vitro Antioxidant and Antilipidemic Activities of *Xanthium strumarium*, L., *Curr. Trends in Biotech and Pharm.*, 5 (3), 1362–1371.
- Sugihartini, N., 2013. Optimasi Komposisi Enhancer dan Emulgator pada Formulasi Krim Fraksi Etil Asetat Ekstrak Teh Hijau (*Camellia sinensis*, L.) sebagai Sediaan Topikal Antiinflamasi. *Disertasi*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Sugihartini, N., Fudholi, A., Pramono, S., dan Sismindari, 2011. Optimization Composition of Oleic Acid, Propylene glycol, and Volatile Oil of *Curcuma xanthorrhiza* as Enhancer of Transport of Epigallocatechin Gallate in Green Tea Extract with Simplex Lattice Design Methode. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 7 (7), 393–395.
- Sugihartini, N., Fudholi, A., Pramono, S., dan Sismindari, 2012. Validasi Metode Analisa Penetapan Kadar Epigallocatechin Galat dengan KLT Densitometri. *Pharmaciana*, 2 (1), 81–87.
- Sugihartini, N., Fudholi, A., Pramono, S., dan Sismindari, 2014. Validasi Metode Analisa Penetapan Kadar Epigallocatechin Galat dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Pharmaciana*, 4 (1), 39–44.