

OPTIMASI CAMPURAN EKSTRAK ETANOL BUAH PEPAYA (*Carica papaya L.*) DAN EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) DALAM KRIM SEBAGAI ANTIAGING
Optimization of Mixture of Ethanol Extract Of Papaya Fruit (Carica Papaya L.) and Extract Of Morning Leaf (Moringa Oleifera) in Cream As Antiaging

Fathul Alimsyah, Nining Sugihartini, Hari Susanti

Email : ning.sugihartini@pharm.uad.ac.id

ABSTRACT

50% ethanol extract of Moringa leaves and 70% ethanol extract of papaya fruit have antioxidant and sunscreen activities. The purpose of this study was to determine the optimum composition of extract levels as an antiaging active ingredient based on antioxidant activity, SPF values and anti-elastase. The best composition is formulated in a cream preparation and tested for its physical properties.

The second composition of the extract was prepared based on the concept of simplex lactic design (SLD), namely 100% ethanol extract of papaya fruit, 100% ethanol extract of Moringa leaves and 50% ethanol extract of papaya fruit: 50% ethanol extract of Moringa leaves. The parameters tested were antioxidant activity, SPF value and elastase inhibitory activity. The total response data is calculated to get the optimal composition. After getting the optimal formula, a validation test is performed to see the simple lactic design (SLD) equation. The optimal mixture formula is formulated in cream preparations and the pH value and flow properties are determined

The test results showed the addition of the concentration of Moringa leaves ethanol extract in the mixture can reduce the IC50 value of antioxidants, increase the SPF value and decrease the IC50 value of the elastase enzyme inhibition. The validation results state that there is no significant difference which means that the equation of the simplex lactic design can be used.

The conclusion based on the calculation is the optimum composition is the ratio of the extract mixture with a composition of 0: 1 or 0% ethanol extract of papaya fruit with 100% ethanol extract of Moringa leaves.

Key words: Papaya fruit extract, Moringa leaf extract, Antiaging

PENDAHULUAN

Penuaan dini adalah suatu proses yang sangat kompleks yang teori penyebabnya banyak dijelaskan. Salah satunya yang paling umum adalah factor *reactive oxygen species* (ROS) yang dihasilkan dalam sel (Jia, 2014). ROS adalah produk sekunder dari hasil respirasi aerobik yang terjadi dalam beberapa modifikasi reaksi seluler seperti radiasi pengion, paparan logam berat maupun zat oksidan. Secara normal, ROS dapat dihilangkan oleh adanya antioksi dan alami dalam tubuh seperti katalase (CAT), glutathione reduktase (GR), superoksida dismutase (SOD), dan glutathione peroxidase (GPx). Akan tetapi oksidatif stress terjadi ketika keseimbangan

antara oksidan dan antioksi dan dalam tubuh berubah oleh karena peningkatan ROS dan penurunan antioksi dan dari dalam tubuh maka akan dapat menyebabkan kerusakan sel dan juga akan mempengaruhi penuaan pada kulit (Kim, 2016).

Penggunaan antioksidan merupakan cara yang efektif dalam mengurangi efek berbahaya dari *reactive oxygen species* (ROS) untuk melindungi kulit dari penuaan (Jadon, 2018). Salah satu efek ROS bagi penuaan adalah dapat meningkatkan produktivitas dari enzim elastase sehingga elastin pada kulit menjadi berkurang, yang mengakibatkan kulit menjadi keriput. Antioksidan dapat mereduksi ROS dan menghambat aktivitas enzim

elastase(Garg, 2017). Senyawa antioksidan memiliki efek juga sebagai sunscreen, dimana senyawa antioksidan ini dapat menyerap sinar UV A maupun UV B sehingga meminimalkan efek *photodamaging yang* ditimbulkan. Ada korelasi antara tanaman herbal yang memiliki efek antioksidan tinggi dengan nilai SPF. Pada tanaman tersebut terdapat senyawa fenolic yang cukup tinggi sehingga menyebabkan tingginya aktivitas antioksidan dan peningkatan nilai SPF(Ebrahimzadeh, 2014). Secara alami, tubuh manusia sudah memproduksi antioksidan untuk mengimbangi jumlah oksidan yang masuk kedalam tubuh namun dikarenakan jumlah oksidan yang masuk melebihi batas kemampuan yang bisa diterima oleh antioksidan alami tubuh maka diperlukan antioksidan lain yang berasal dari luar(Wulansari, 2018).³⁻⁶

Tanaman yang banyak mengandung antioksidan ada banyak macamnya, salah satunya adalah tanaman kelor (*Moringa oleifera*). Ekstrak etanol daun kelor mempunyai aktivitas antioksidan sebesar $IC_{50} = 155,8$ % dan nilai SPF sebesar 24,75 (Mugitasari, 2018)Tanaman lainya yang umum digunakan di Indonesia adalah buah pepaya (*Carica papaya L*). Tanaman ini juga memiliki aktifitas antioksidan sebesar $IC_{50} = 108,79$ % dan nilai SPF sebesar 30 (Khomaria, 2018)Kedua tanaman tersebut adalah tanaman asli Indonesia dan sangat mudah didapatkan. Penggabungan kedua ekstrak tanaman tersebut diharapkan akan diperoleh efek yang dihasilkan juga akan meningkat.

Untuk memperoleh formula campuran ekstrak yang optimum, maka perlu dilakukan studi optimasi yang bertujuan untuk memudahkan dalam merancang, menyusun, dan interpretasi data secara matematis. Salah satu metode yang sering digunakan adalah metode *simplex lattice design* (SLD). Metode *simplex lattice design* dapat digunakan untuk optimasi formula pada berbagai jumlah komposisi bahan yang berbeda. Metoda ini memiliki keuntungan yang praktis dan cepat karena tidak merupakan penentuan formula dengan coba-coba (*trial and error*). Penggunaan metode optimasi ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi

gabungan ekstrak buah pepaya dengan ekstrak daun kelor, sehingga diperoleh formula optimum yang memiliki efek yang tinggi dengan klaim yang banyak dan harga yang pas. Untuk memperoleh itu semua maka perlu penelitian lebih lanjut, maka dari itu penelitian ini dilakukan

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (*Ohaus*), glassware laboratorium (*Pyrex*), waterbath (*Memmert*), pH meter (*Omega*), spektrofotometer UV-Vis (*1700 Shimadzu*), kufet kuarsa (*Merck*), 96-well microtiter plate, Elisa reader (*Biotek*), labu ukur, mikropipet (*Acura*), glassware (*Iwaki*), Sonifikasi, Viskometer *Brookfield DV-II*.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 70% buah pepaya, ekstrak etanol 50% daun kelor, aquadest, etanol p.a (Merck), 1,1 difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) (Aldrich), kuersetin (Aldrich), oktil metoksinamat (Sigma), Elastase Assay Kit(*Biovision*).

Uji aktivitas antioksidan

Sebanyak 1,0 mL sampel ekstrak dengan konsentrasi 175, 200, 225, 250, 275 ppm, masing-masing ditambah dengan 1,0 mL larutan DPPH 0,15 mM dan didiamkan selama operating time, kemudian dibaca baca spektrofotometer dan dihitung persentase aktivitas antioksidan dengan rumus sebagai berikut (Febrianti, 2016) :

$$\% \text{inhibisi} = \left(1 - \frac{S}{C}\right) \times 100\%$$

S adalah sampel ekstrak sedangkan C adalah control positif

Penentuan Nilai SPF

Penentuan efektivitas tabir surya dilakukan dengan menentukan nilai SPF dengan metode spektrofotometri pada panjang gelombang antara 290 dan 360 nm, dengan etanol sebagai blanko. Ekstrak ditimbang sebanyak 0,5 gr dan diencerkan dengan etanol hingga 10 ml. Untuk menghitung nilai SPF digunakan rumus (Yulianti, 2015) :

$$SPF = CF + \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times \text{absorbansi}(\lambda)$$

Uji aktivitasenzim elastase

Aktivitas penghambatan elastase EEBP, EEDK dan ECPK diuji menggunakan kit EnzChek® Elastase Assay. Kit ini terdiri dari DQ™ elastin dari ligamen leher sapi yang diberi label konjugasi BODIPY® FL, enzim elastase dari pankreas babi, N-methoxysuccinyl-ala-ala-pro-val-chloromethyl keton (elastase inhibitor) dan larutan 10X buffer reaksi. Pertama-tama dimasukan 50 µL

Inhibitor enzim/ Ekstrak lalu 100 µL enzim elastase, setelah itu dilakukan preinkubasi, setelah selesai masukan substrak elastin dan diinkubasi pada suhu kamar dan dibaca intensitasnya pada instrument spektrofourometer, persentase penghambatan elastase dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{inhibisi} = \left(1 - \frac{S}{C}\right) \times 100\%$$

S adalah sampel ekstrak sedangkan C adalah kontrol positif

HASIL

Pada penelitian ini terdapat tiga parameter pengujian, yaitu antioksidan, SPF dan elastase. Ketiga parameter ini ditentukan persamaan SLD nya untuk melihat komposisi

yang optimum, lalu dilakukan validasi dengan membandingkan dengan hasil percobaan, data ketiga parameter disajikan pada table 1

Tabel 1. Nilai IC₅₀ Antioksidan,SPF dan IC₅₀ Elastase pada sampel ekstrak

Kelompok	IC ₅₀ Antioksidan	SPF	IC ₅₀ Elastase
EEBP	270 ± 3.08*	29 ± 0,39*	7080 ± 202,36
EEDK	79 ± 0.28*	31 ± 0,09*	6444 ± 314,51
EEPK	241 ± 2.23*	33 ± 1,26*	6674 ± 172,58*

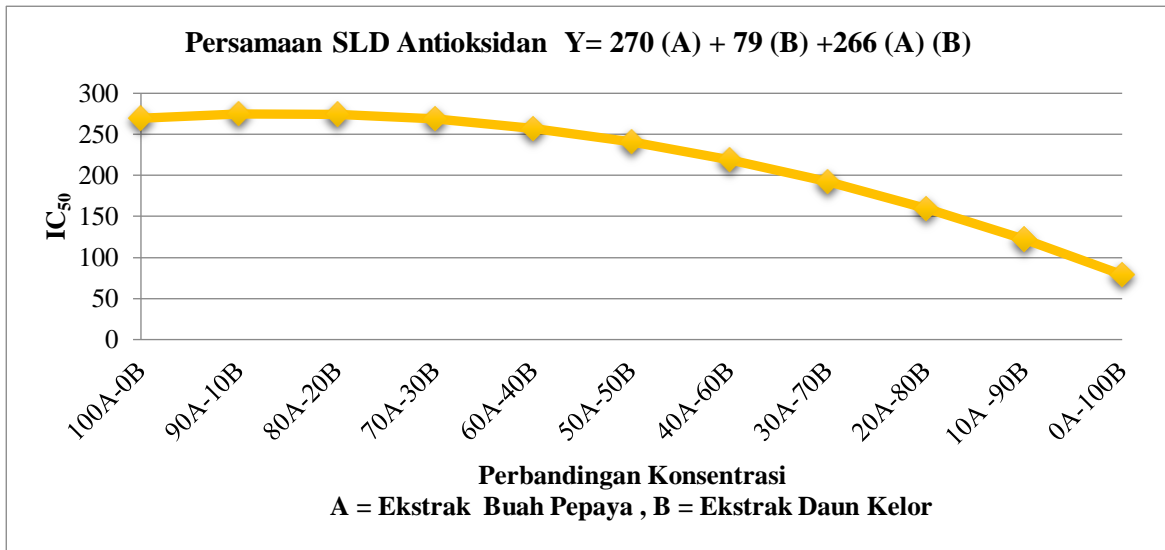
EEBP = Ekstrak Etanol Buah Pepaya, EEDK = Ekstrak Etanol Daun Kelor, EEPK = Ekstrak Etanol Pepaya-Kelor.
*(p<0,05) memberikan pengaruh yang bermakna.

Antioksidan

Pada tabel I menunjukan bahwa ekstrak etanol daun kelor (EEDK) memiliki aktivias antioksi dan yang kuat bila dibandingkan dengan ekstrak etanol buah pepaya. Sedangkan pada gambar 1 menjelaskan bahwa semakin bertambahnya konsentrasi ekstrak etanol daun kelor dalam perbandingan kedua konsentrasi maka akan menyebabkan penurunan nilai IC₅₀. Penurunan paling tinggi berada pada perbandingan konsentrasi 0A-100B yang artinya 0% ekstrak papaya dan 100% ekstrakkelor.

Penurunan IC₅₀ pada penambahan ekstrak etanol dalam campuran ekstrak membuktikan bahwa ekstrak tersebut mengandung senyawa-senyawa antioksidan yang kuat seperti flavonoid, senyawa fenolik, vitamin C dan beta karotin. Pada penelitian

Mugitasari (2018) yang menguji tentang kandungan nilai total fenolik, total flavonoid, dan beta karoten menunjukan adanya kandungan yang cukup tinggi senyawa tersebut pada ekstrak daun kelor dengan berbagai konsentrasi. Penelitian Khomaria (2018) yang mengujikan parameter yang sama dengan ekstrak buah pepaya memiliki nilai total fenolik, total flavonoid dan beta karoten yang lebih rendah bila dibandingkan dengan ekstrak daun kelor. Dengan adanya senyawa *fenil*, senyawa flavonoid serta beta karotin yang tinggi akan memberikan aktvitas antioksidan yang tinggi juga karena senyawa-senyawa tersebut memiliki atom H yang bayak yang dapat didonorkan untuk menetralkan suatu oksidan.



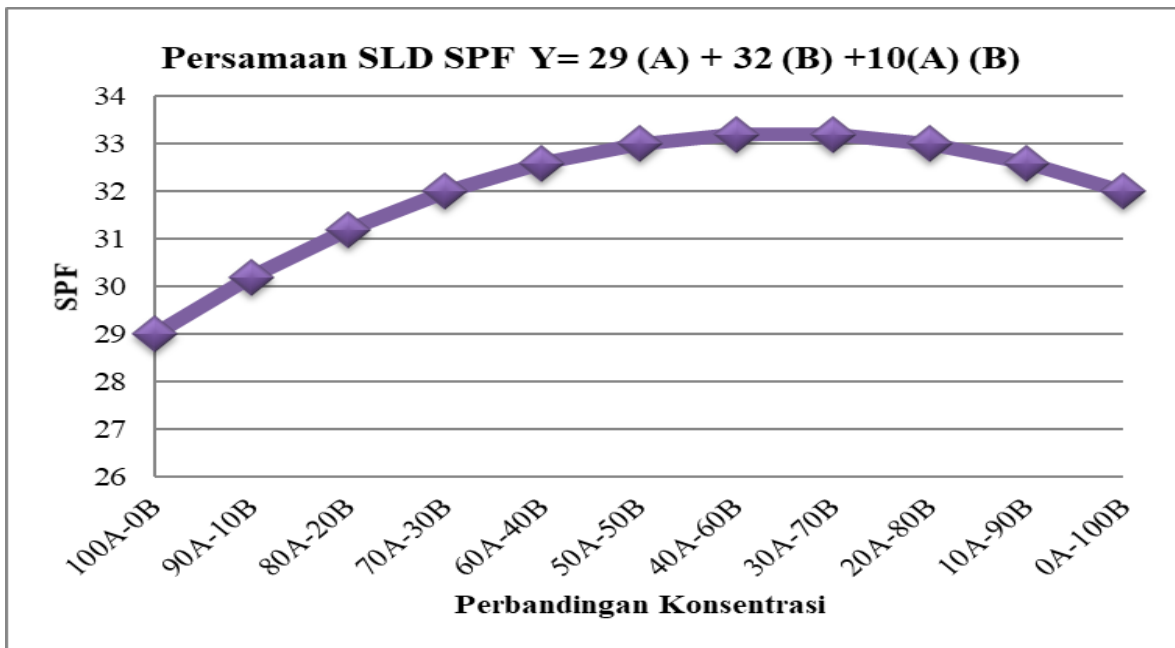
Gambar 1. Grafik hubungan perbandingan konsentrasi dengan nilai IC₅₀ Antioksidan, beserta persamaan SLD

Uji Aktivitas SPF

Dari data tabel 1 dapat dilihat bahwa nilai SPF tertinggi terdapat pada ekstrak campuran pepaya kelor (ECPK). Sedangkan pada gambar 2 menggambarkan bahwa semakin bertambahnya konsentrasi ekstrak etanol daun kelor dalam perbandingan kedua konsentrasi maka akan menyebabkan meningkatnya nilai SPF. Peningkatan paling tinggi berada pada perbandingan konsentrasi 30A-70B yang artinya 3% ekstrak pepaya dan 70% ekstrak kelor.

Peningkatan nilai SPF pada penambahan ekstrak daun kelor dalam campuran ekstrak membuktikan bahwa ekstrak tersebut mengandung senyawa-senyawa yang bersifat sebagai sunscreen seperti flavonoid, senyawa fenolik, vitamin C dan beta karotin. Pada penelitian Mugitasari (2018) yang

menguji tentang kandungan nilai total fenolik, total flavonoid, dan beta karoten memiliki nilai yang cukup tinggi pada ekstrak daun kelor dengan berbagai konsentrasi. Sedangkan pada penelitian Khomaria (2018) yang mengujikan parameter yang sama dengan ekstrak buah pepaya memiliki nilai total fenolik, total flavonoid dan beta karoten yang rendah bila dibandingkan dengan ekstrak daun kelor. Dalam Saewan dan Jimtaisong (2013), senyawa aromatik organik yang terkonjugasi dengan gugus karbonil seperti fenolik dan flavonoid berpotensi sebagai tabir surya. Gugus kromosfor pada senyawa tersebut dapat menyerap sinar ultraviolet dan melepaskan energi yang lebih rendah sehingga mencegah kulit dari efek radiasi UV yang merusak (Saewan, 2013).



Gambar 2. Grafik hubungan perbandingan konsentrasi dengan nilai SPF, beserta persamaan SLD

Uji Aktivitas Elastase

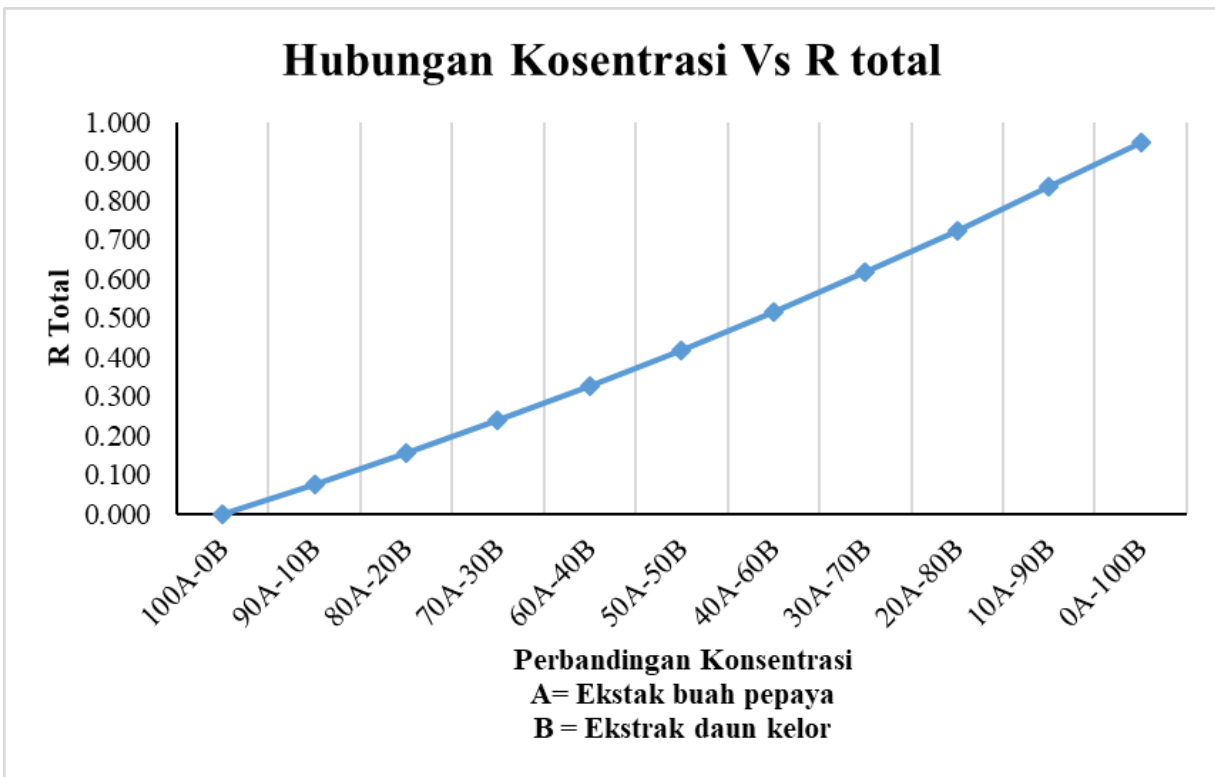
Pada Tabel I menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kelor (EEDK) memiliki nilai IC_{50} penghambatan elastase yang rendah bila dibandingkan dengan ekstrak etanol buah pepaya (EEBP). Sedangkan pada gambar 3 menjelaskan bahwa semakin bertambahnya konsentrasi ekstrak etanol daun kelor dalam perbandingan kedua konsentrasi maka akan menyebabkan penurunan nilai IC_{50} . Penurunan paling tinggi ada pada perbandingan konsentrasi 0A-100B yang artinya 0% ekstrak buah pepaya dan 100% ekstrak daun kelor.

Penurunan nilai IC_{50} pada penambahan ekstrak daun kelor dalam formula campuran membuktikan bahwa ekstrak tersebut memiliki kandungan senyawa-senyawa yang bersifat sebagai penghambat aktivitas enzim elastase. Hal ini diduga karena dalam ekstrak daun kelor memiliki senyawa seperti flavonoid senyawa fenolik, vitamin C maupun beta karoten yang bekerja sinergis menghambat aktivasi enzim elastase. Dimana pada penelitian Mugitasari

(2018) sudah dijelaskan bahwa ekstrak etanol daun kelor memiliki kandungan total flavonoid, fenolik dan beta karoten yang tinggi bila dibanding dengan ekstrak buah pepaya pada penelitian Khomaria (2018). Faktor *reactive oxygen species* (ROS) ataupun paparan sinar UV yang berlebih akan mengaktifkan enzim elastase pada kulit. Kandungan senyawa fenolik, flavonoid dan beta karoten pada daun kelor dapat mencegah ROS dan menyerap sinar UV, sehingga aktifitas enzim elastase bisa ditahan dan proses penuaan dini bisa dihambat.

Penentuan Formula Optimum dan Validasi

Hasil perhitungan normalisasi dari masing-masing parameter dilakukan pembobotan dengan perbandingan aktivitas antioksidan dengan bobot 0,6%, uji SPF 0,2%, dan uji aktivitas elastase 0,2%. Kemudian dihitung respon total dengan menjumlahkan dari nilai R masing-masing parameter sehingga berdasarkan perhitungan tersebut maka diperoleh data sesuai yang akan disajikan pada grafik dibawah ini.



Gambar 6. Grafik Hubungan antara konsentrasi ekstrak pepaya (A) dan ekstrak kelor (B) terhadap respon total

Dari data grafik diatas menunjukkan bahwa nilai R total yang paling tinggi ada pada

perbandingan komposisi 0% pepaya : 100 % kelor. Data hasil validasi disajikan pada tabel II

Tabel II. Data Perbandingan Hasil SLD vs Hasil Percobaan

Formula	IC ₅₀ Antioksidan	SPF
Hasil SLD	79,03	31,99
Hasil Percobaan	80,15	31,58
Analisis Statistik	P>0,05	P>0,05

Hasil analisis statistik terhadap nilai nilai IC₅₀ dan nilai SPF antara nilai perhitungan SLD vs hasil pengujian dapat dilihat pada tabel diatas. Hasil analisis menunjukkan bahwa antiosidan dan SPF memiliki nilai p > 0.05 yang artinya bahwa perbandingan hasil SLD dengan hasil percobaan yang sebenarnya tidak memiliki perbedaan signifikan. Sehingga metode SLD dapat digunakan sebagai metode optimasi komposisi formula.

mempengaruhi aktivitas antioksidan, SPF dan elastase, sehingga komposisi optimum dalam campuran adalah 0: 1 yang artinya 0 % ekstrak buah pepaya : 100 % ekstrak daun kelor.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kepada LPPM Universitas Ahmad Dahlan yang telah mendanai penelitian ini melalui hibah penelitian tahun anggaran 2018

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian bahwa penambahan ekstrak etanol daun kelor dapat

DAFTAR PUSTAKA

- Embrahimzadeh, M.A., Enayatifad, R., Khalili, M., Ghaffarloo, M., Saeedi, M., Charati, J.Y., 2014, Correlation between Sun Protection Factor and Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of some Medicinal Plants, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 13(3): 1041–1047
- Febrianti N., Rohmana M.I., Yunianto I., Dhaniaputri R., 2016, Perbandingan Aktivitas Antioksidan Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) Dan Buah Jambu Biji Merah (*Psidium guajava* L.), *Prosiding Seminar Nasional II Tahun 2016*, 1217-1224
- Garg, C., Khurana, P., Garg, P. 2017. Molecular mechanisms of skin photoaging and plant inhibitors, *International Journal of Green Pharmacy*, 11(2) S217
- Jadon, S., Karim, S., Asad, M., H., H., B., Akram, M., R., Khan, A., K., Malik, A., Chen, C., and Murtaza, Z., 2015, Anti-Aging Potential of Phytoextract Loaded-Pharmaceutical Creams for Human Skin Cell Longevity, *Hindawi Publishing Corporation Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID 709628 (3)
- Jia, N., Li, T., Diao, X., Kong, B., 2014. Protective effects of black currant (*Ribes nigrum* L.) extract on hydrogen peroxide-induced damage in lung fibroblast
- Kim, D.-B., Shin, G.-H., Kim, J.-M., Kim, Y.-H., Lee, J.-H., Lee, J.S., Song, H.-J., Choe, S.Y., Park, I.-J., Cho, J.-H., Lee, O.-H., 2016. Antioxidant and anti-ageing activities of citrus-based juice mixture. *Food Chem.* 194, 920-927
- Khomaria, Y. 2018. Kandungan Total Fenolik Dan Flavonoid Serta Potensinya Sebagai Antiaging Dan Penghambat Tirosinase Ekstrak Etanol Buah Pepaya Dengan Variasi Konsentrasi Pelarut. *Thesis*. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta
- Mugitasari, D., 2018, Uji Aktivitas Antiaging Dan Penghambatan Enzim Tirosinase Dari Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Secara In Vitro. *Tesis*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta
- Saewan N. and Jimtaisong A., 2013, Photoprotection of natural flavonoids, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(09): 129-141
- Wulansari, A. N., 2018. Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium Varingiaefolium*) Sebagai Antioksidan Alami : Review. *Farmaka*. Suplemen Volume 16 Nomor 2
- Yulianti, E., Adeltrudis, A. and Alifia, P., 2015, Penentuan nilai SPF (Sun Protection Factor) Ekstrak Etanol 70 % Temu Mangga (*Curcuma mangga*) dan Krim Ekstrak Etanol 70 % Temu Mangga (*Curcuma mangga*) secara In Vitro Menggunakan Metode Spektrofotometri, *Majalah Kesehatan FKUB*, 2: 41–50