

KARAKTERISTIK DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN SABUN PADAT TRANSPARAN YANG DIPERKAYA DENGAN EKSTRAK KASAR KAROTENOID *Chlorella pyrenoidosa*

Characteristics and Antioxidant Activity from Transparent Solid Soap Enriched with Carotenoid Crude Extract of Chlorella pyrenoidosa

Ni Wayan Sri Agustini^{1*} dan Agustina H. Winarni²

¹ Pusat Penelitian Bioteknologi - Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI),
Jl. Raya Bogor No.507, Nanggewer Mekar, Cibinong, Bogor, Jawa Barat

² Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jalan Moh Kahfi II, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan, DKI Jakarta

* Korespondensi Penulis: wayan_sa2002@yahoo.com

Diterima: 15 Januari 2017; Disetujui: 29 Maret 2017

ABSTRAK

Sabun berfungsi membersihkan kulit, tidak merusak kulit serta mampu melindungi kulit dari efek radikal bebas. Senyawa yang mampu menangkal radikal bebas adalah antioksidan yang antara lain bersumber dari *Chlorella pyrenoidosa*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak kasar karotenoid *C. pyrenoidosa* yang diformulasikan pada sabun padat transparan dan karakteristik sabun yang dihasilkan. Konsentrasi ekstrak kasar karotenoid yang digunakan adalah 5%, 10% dan 15%. Sabun padat transparan dibuat dengan metode setengah panas (*semi-boiled*). Evaluasi sediaan meliputi warna, kekerasan sabun, pH, kadar air, asam lemak bebas, lemak tidak tersabunkan, aktivitas antioksidan dan daya stabilitas sabun pada penyimpanan suhu 25-30 °C dan 60 °C selama 3 minggu. Hasil studi menunjukkan bahwa sabun padat transparan yang mengandung ekstrak kasar karotenoid sebanyak 5%, 10%, dan 15% memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ berturut-turut sebesar 66,42 µg/ml, 59,18 µg/ml, dan 10,21 µg/ml. Sabun padat transparan dengan kandungan ekstrak kasar karotenoid sebanyak 5% berwarna kuning *neon carrot*, ekstrak 10% berwarna kuning *pizzaz* dan ekstrak 15% berwarna kuning *pumpkin*. Seluruh sabun beraroma *lemongrass*. Sabun padat transparan memiliki nilai pH sebesar 9,31-10,47, kadar air 14,45-16,28%, kekerasan sabun 1,40-1,81 mm/detik, jumlah asam lemak bebas 0,42-0,68% dan lemak tidak tersabunkan 1,79-1,84%. Berdasarkan hasil uji stabilitas, sabun tahan disimpan dalam suhu kamar selama 2 tahun, karena sabun relatif stabil pada penyimpanan suhu 60 °C selama 3 minggu.

KATA KUNCI: *Chlorella pyrenoidosa*, ekstrak kasar karotenoid, sabun padat transparan, antioksidan

ABSTRACT

Soap was used to clean the skin but not damage the skin and able to protect skin from free radical effect. The compounds that could counteract free radical are antioxidants which can be found in *Chlorella pyrenoidosa*. The aims of this research were to determine the characteristic of soap and the antioxidant activity of *C. pyrenoidosa* carotenoids crude extract that was formulated in transparent solid soap. The carotenoid crude extract concentrations were 5%, 10%, and 15%. The transparent solid soap was made using semi-boiled methods. The transparent solid soap were evaluated for color, soap solidity, pH, water content, free fatty acid content, unsaturated fatty acid content, antioxidant activity and soap stability at 25-30 °C and 60 °C in 3 weeks storage. The study showed that transparent solid soaps containing 5%, 10% and 15% carotenoid crude extracts had antioxidant activity with IC₅₀ value of 66.42 µg/ml, 59.18 µg/ml and 10.21 µg/ml respectively. Transparent solid soap with 5% carotenoid extract appeared in neon carrot yellow color, 10% extract appeared in pizzaz yellow color and 15% extract appeared in pumpkin yellow color. Soaps had lemongrass odor. Transparent solid soap had pH value of 9.31-10.47, water content of 14.45-16.28%, soap hardness of 1.40-1.81mm/sec, amount of free fatty acid 0.42-0.68% and unsaponified fat 1.79-1.84%. Based on the stability test results, the soap could be stored for 2 years at room temperature because the soap was relatively stable at storage temperature of 60 °C for 3 weeks.

KEYWORDS: *Chlorella pyrenoidosa*, carotenoid crude extract, transparent solid soap, antioxidant

PENDAHULUAN

Meningkatnya kebutuhan dan semakin beragamnya selera masyarakat, menyebabkan produk sabun pembersih tubuh kini sudah sangat bervariasi seperti sabun cair, sabun *opaque* dan sabun padat transparan. Sabun padat transparan merupakan salah satu inovasi produk kosmetik, pembersih tubuh yang dapat menjadikan sabun menjadi lebih menarik dengan daya tembus pandang, menghasilkan busa lebih lembut, serta kenampakan lebih berkilau dibandingkan dengan jenis sabun lainnya.

Sabun yang baik bukan hanya dapat membersihkan kulit dari kotoran saja, tetapi juga memiliki kandungan zat yang tidak merusak kulit serta dapat melindungi kulit, salah satunya adalah dari efek radikal bebas. Efek radikal bebas pada kulit ditandai dengan adanya keriput sehingga kulit cepat mengalami proses penuaan, adanya noda hitam, terlihat lebih kusam, kering, bahkan dapat menimbulkan kanker kulit. Senyawa yang dapat menangkal radikal bebas adalah antioksidan. Antioksidan secara nyata mampu memperlambat atau menghambat oksidasi zat yang mudah teroksidasi meskipun dalam konsentrasi rendah (Green, 2008). Sumber antioksidan dapat berasal dari senyawa sintesis maupun alami. Senyawa antioksidan alami lebih direkomendasikan penggunaannya karena memiliki tingkat keamanan yang lebih baik sehingga pemanfaatannya lebih luas dalam bidang kesehatan dan kosmetika (Brewer, 2011).

Salah satu jenis antioksidan alami yaitu karotenoid. Karotenoid adalah pigmen terpenoid berwarna kuning hingga oranye-merah dan disintesis oleh organisme fotosintetik seperti mikroalga. Ada dua kelompok besar karotenoid yaitu xantofil (karotenoid yang membawa atom oksigen) dan karotena (karotenoid yang mumi hidrokarbon, tidak memiliki atom oksigen). Salah satu jenis mikroalga yang menghasilkan senyawa karotenoid adalah *Chlorella pyrenoidosa* yang merupakan mikroalga bersel tunggal dari kelas *Chlorophyceae*. Mikroalga ini diketahui sebagai penghasil bermacam jenis karotenoid seperti lutein, β -karoten, α -karoten, neoxanthin, zeaxanthin dan astaxanthin (Stephen Inbaraj, Chien, & Chen, 2006). Goiris et al., (2012), mengemukakan bahwa senyawa fenol dan karotenoid dari beberapa jenis mikrolaga memiliki kapasitas antioksidan yang tinggi sehingga bisa menjadi sumber antioksidan alami yang potensial.

Manfaat karotenoid dalam bidang kosmetika, dilaporkan dapat berfungsi sebagai pelembab, menghaluskan, menjaga elastisitas kulit, mencegah keriput, garis-garis halus, bintik-bintik hitam pada kulit serta sebagai antioksidan yang dapat menangkal

radikal bebas yang dapat merusak kesehatan tubuh (Kusmiati, Agustini, Tamat, & Rawati, 2010). Penambahan karotenoid ini dapat diformulasikan pada *body lotion moisturizer cream* pelembab dan sabun padat ataupun cair. Penambahan karotenoid ke dalam formulasi sabun padat transparan diharapkan mampu melindungi kulit dari radikal bebas yang masuk melalui permukaan kulit karena sabun padat transparan merupakan salah satu sediaan emulsi yang difungsikan sebagai penghantar obat pada kulit.

Berdasarkan uraian diatas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak pigmen karotenoid dari *C. pyrenoidosa* yang diformulasikan pada sabun padat transparan serta karakteristik sabunya.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei-November 2015 di Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, menggunakan mikroalga jenis *C. pyrenoidosa* yang merupakan koleksi dari Laboratorium Mikroalga Air Tawar, Puslit Bioteknologi-LIPI. Pertumbuhan *C. pyrenoidosa* menggunakan medium *Modified Bristol Medium* (MBM) (Agustini & Kabinawa, 1997). Bahan pembuatan sabun tertera pada Tabel 1. Peralatan yang digunakan untuk kultivasi *C. pyrenoidosa*, ekstraksi karotenoid, serta pembuatan dan evaluasi sabun adalah botol kultur, lampu TI 40 watt, *blower* (Resun), homogenizer (*WiseTis*), spektrofotometri UV-Vis (*Hitachi U-3900*), sentrifuse (*Hitachi sentrifuge*), timbangan analitik (*Precise 40 sm-200A*), pH meter (*Eutech Instruments*), penetrometer (*Kochler*), inkubator (*Memmert*) dan peralatan lainnya.

Metode

Kultivasi mikroalga *C. pyrenoidosa*

Chlorella pyrenoidosa dikultivasi pada botol ukuran 2 L menggunakan media MBM (*Modified Bristol Medium*). Kultur diberi aerasi secara terus menerus menggunakan *blower*, intensitas cahaya 2500 lux dan pH 7,0. Kepadatan sel diukur dengan metoda turbidimetri menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 550 nm (Becker, 1994). Pemanenan dilakukan pada fase stasioner awal (hari ke 8) menggunakan sentrifuse (Hitachi, Hima CT GEL) pada kecepatan 6000 rpm selama 10 menit.

Ekstraksi pigmen karotenoid.

Pigmen karotenoid diekstraksi menggunakan metoda Hua-Bin, Jiang dan Cheng (2002). Biomassa

basah disuspensikan dengan KOH 10 M kemudian dipanaskan pada suhu 60 °C selama 10 menit. Setelah dingin, suspensi tersebut ditambahkan dengan diklorometan dan disentrifuse. Fraksi karotenoid yang berwarna kuning dikumpulkan. Proses ini dilakukan secara berulang hingga fraksi berwarna kuning yang dihasilkan menjadi berwarna kuning pucat. Setelah itu, fraksi berwarna kuning dikeringkan di atas penangas pada suhu 40 °C sehingga didapatkan hasil ekstrak kasar karotenoid. Ekstrak kasar karotenoid ditimbang dan dihitung berat keringnya dengan cara gravimetri.

Pembuatan sediaan sabun padat transparan

Sabun padat transparan dibuat dengan formulasi menurut Cognis (2003) yang telah termodifikasi. Modifikasi dilakukan pada penggantian minyak nabati dengan minyak zaitun, minyak jarak dan minyak kelapa serta penambahan metil paraben dan propil paraben seperti terlihat pada Tabel 1. Penggunaan minyak berfungsi untuk memberikan kejernihan sabun, etanol 96% untuk melarutkan sabun agar lebih transparan, gliserin dan sukrosa 50% sebagai *humectant* dan untuk meningkatkan kekerasan sabun,

trietanolamin sebagai emulsifier dan surfaktan sedangkan metilparaben dan propil paraben berfungsi sebagai anti jamur. Sebelum melakukan penelitian ini terlebih dahulu dilakukan uji penelitian pendahuluan dengan menggunakan penambahan konsentrasi ekstrak kasar karotenoid yang lebih rendah dari 5%, namun hasil yang diperoleh tidak menunjukkan adanya aktivitas antioksidan. Oleh karena itu, pada studi ini penambahan ekstrak kasar karotenoid dilakukan dengan variasi konsentrasi sebesar 5%, 10% dan 15%.

Pada tahap awal pembuatan sabun, terlebih dahulu dilakukan penentuan kecepatan dan waktu pengadukan optimum sehingga menghasilkan sediaan sabun padat transparan yang homogen. Kecepatan pengadukan yang diterapkan adalah 250, 350 dan 400 rpm dengan waktu masing-masing 10, 20 dan 30 menit.

Proses pembuatan sabun diawali dengan mereaksikan asam stearat dalam minyak zaitun, minyak kelapa, minyak jarak dan butil hidroksitoluen (yang telah dilarutkan didalam minyak) di atas penangas air pada suhu 60-80 °C selama 5 menit, kemudian ditambahkan NaOH 30% sampai terbentuk

Tabel 1. Formulasi sabun padat transparan yang diperkaya dengan ekstrak kasar karotenoid *C. pyrenoidosa* (Cognis, 2003 yang dimodifikasi)

Table 1. Transparent solid soap formulation enriched with carotenoid crude extract of *C. pyrenoidosa* (Cognis, 2003, modified)

Bahan/Ingredients	Komposisi (b/b)/Composition (w/w)			
	Blanko/Blank	F1	F2	F3
Ekstrak karotenoid <i>C. pyrenoidosa</i>	-	5.00	10.00	15.00
Asam stearat/ <i>Stearic acid</i>	6.40	6.40	6.40	6.40
Minyak kelapa/ <i>Coconut oil</i>	19.40	19.40	19.40	19.40
Minyak zaitun/ <i>Olive oil</i>	6.00	6.00	6.00	6.00
Minyak jarak/ <i>Castor oil</i>	6.00	6.00	6.00	6.00
NaOH 30 %	19.40	19.40	19.40	19.40
NaCl	0.20	0.20	0.20	0.20
Gliserin/ <i>Glycerin</i>	9.40	9.40	9.40	9.40
Sukrosa 50%/Sucrose 50%	13.40	13.40	13.40	13.40
Etanol 96 %/ <i>Ethanol 96%</i>	15.00	15.00	15.00	15.00
Cocoamide DEA	1.00	1.00	1.00	1.00
Trietanolamine	1.00	1.00	1.00	1.00
Metil paraben/ <i>Methyl paraben</i>	0.15	0.15	0.15	0.15
Butil hidroksitoluen/ <i>Butyl hydroxytoluen</i>	0.01	0.01	0.01	0.01
Propil paraben/ <i>Propyl paraben</i>	0.03	0.03	0.03	0.03
<i>Lemon grass oil</i>	qs	qs	qs	qs
Akuades/ <i>Aquades</i>	6.50	6.50	6.50	6.50

massa kental yang menunjukkan terbentuknya massa sabun. Gliserin ditambahkan ke dalam campuran massa sabun, dan diaduk sampai homogen pada suhu 60-80 °C. Setelah itu, massa sabun ditambah metil paraben dan propil paraben (yang telah dilarutkan dalam etanol 96%) dan diaduk sampai homogen pada suhu 60 °C, kemudian sisa etanol dimasukkan dan diaduk sampai homogen. Ekstrak karotenoid mikroalga *C. pyrenoidosa* dimasukkan ke dalam campuran yang sudah terbentuk sambil terus diaduk sampai homogen. Selanjutnya dilakukan penambahan larutan sukrosa 50%, NaCl dan akuades sampai homogen pada suhu 60 °C. Trietanolamin dan cocoamide DEA (yang telah dilarutkan dalam air) dimasukkan ke dalam campuran, diaduk sampai homogen. *Lemon grass oil* dimasukkan ke dalam campuran pada suhu 40 °C dan diaduk sampai homogen. Campuran dituang ke dalam cetakan sabun dan didiamkan pada suhu kamar sampai mengeras. Sabun yang terbentuk selanjutnya dievaluasi yang meliputi sifat sensori, fisik, kimia dan stabilitasnya selama penyimpanan.

Evaluasi sifat sensori, fisik dan kimia sabun padat transparan

Parameter yang dievaluasi yaitu pemeriksaan organoleptik secara deskripsi terhadap kenampakan warna dan transparansi menggunakan *Handbook of Colour* (Kornerup & Wanscher, 1963) serta aroma secara sensori. Evaluasi kekerasan sabun menggunakan alat penetrometer. Kadar air ditentukan dengan menggunakan metoda gravimetri. Pengujian asam lemak bebas atau alkali bebas dan uji asam lemak yang tidak tersabunkan mengacu pada Standar Nasional Indonesia sabun mandi (SNI 06-3532-1994). Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode peredaman radikal bebas (DPPH).

Uji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH

Aktivitas antioksidan diuji dengan menggunakan metoda Brand-Williams dan Cuvelier (1995) dengan sedikit modifikasi. Ekstrak kasar karotenoid (25, 50, 125, 250 dan 500 µl) dan sabun transparan (5%, 10% dan 15%) ditambah masing-masing 1 ml DPPH 0.4 mM dan dicukupkan volumenya hingga 5 ml dengan metanol absolut sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 5, 10, 25, 50 dan 100 ppm. Larutan blanko dibuat dengan cara menambahkan 1 ml DPPH 0,4 mM dengan 4 ml methanol absolut. Kontrol positif menggunakan vitamin C dengan konsentrasi 2, 4, 6, 8 dan 10 ppm. Semua sampel dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit dan diukur serapannya pada spektrofotometer UV-VIS dengan

panjang gelombang 517 nm. Aktivitas antioksidan dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Hambatan/Inhibition} = \frac{\text{Serapan blanko/Blank adsorption} - \text{Serapan sampel/Sample adsorption}}{\text{Serapan blanko/Blank adsorption}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear dari DPPH yaitu Y = a + bx, dengan sumbu x adalah konsentrasi larutan uji sedangkan sumbu Y adalah % IC. Nilai IC₅₀ (*Inhibition Concentration* 50%) dinyatakan sebagai konsentrasi suatu bahan antioksidan yang dapat menyebabkan 50% radikal bebas DPPH kehilangan karakter radikal.

Uji stabilitas sabun padat transparan

Uji stabilitas dilakukan pada suhu 25-30 °C dan 60 °C setiap minggu selama 3 minggu (mengacu pada Lachman, Lieberman, & Kanig, 1994). Parameter yang dilakukan meliputi uji kekerasan sabun menggunakan alat penetrometer serta penentuan pH dan kadar air dengan metoda gravimetri pengeringan dalam oven suhu 105 °C selama 1 jam (SNI, 1994).

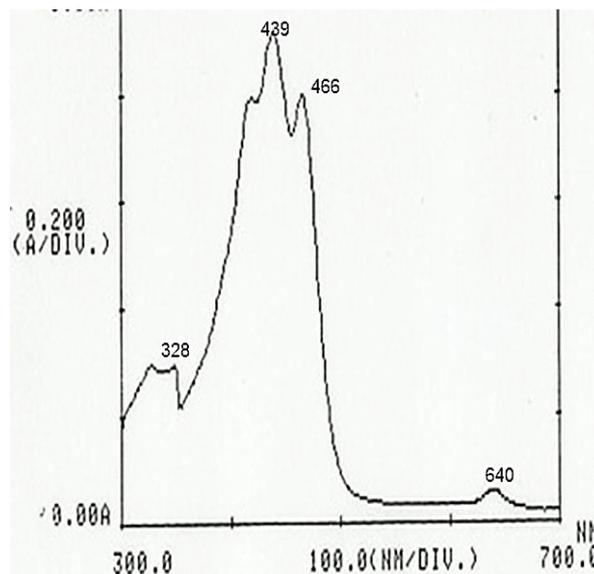
HASIL DAN BAHASAN

Ekstrak Kasar Karotenoid *C. pyrenoidosa*

Metode ekstraksi yang digunakan dalam studi ini memberikan hasil berupa ekstrak cair berwarna orange yang terindikasi sebagai ekstrak kasar karotenoid. Persentase rendemen ekstrak kasar karotenoid yang didapat adalah 2,08±0,01%. Pada studi ini, identifikasi ekstrak kasar karotenoid dilakukan dengan melihat spektrum pigmen karotenoid menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400-700 nm. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa terdapat senyawa ekstrak kasar karotenoid pada serapan di 440-460 nm. Keberadaan puncak di 300-350 nm merupakan bukti tambahan keberadaan golongan oksigenasi yang diduga merupakan xantofil. Keberadaan klorofil terlihat juga pada spektra dengan serapan sekitar 600-700 nm (Gambar 1).

Pembuatan Sabun Padat Transparan

Hasil optimasi kecepatan dan waktu pengadukan pada proses pembuatan sabun padat transparan menunjukkan bahwa kecepatan sebesar 350 rpm selama 20 menit merupakan hasil yang optimum dan menghasilkan sediaan sabun padat transparan yang homogen dan tidak berbusa selama proses pembuatan (Tabel 4). Semakin tinggi kecepatan pengadukan akan menimbulkan busa semakin banyak pada sediaan.



Gambar 1. Spektrum pigmen karotenoid mikroalga *C. pyrenoidosa*.
 Figure 1. Spectrum of carotenoid from microalgae *C. pyrenoidosa*.

Timbulnya busa tidak hanya dipengaruhi oleh kecepatan dan waktu pengadukan saja, tetapi juga dipengaruhi oleh penambahan surfaktan. Surfaktan yang dilarutkan dalam air, bila terjadi kontak dengan udara dapat menyebabkan timbulnya busa. Oleh karena itu, saat pengadukan wadah pembuatan sabun harus tertutup untuk menghindari masuknya udara.

Sabun padat transparan yang dihasilkan dari formulasi ekstrak kasar karotenoid *C. pyrenoidosa* dapat dilihat pada Gambar 2. Berdasarkan indeks warna dari *Handbook of Colour* (Kornerup & Wanscher, 1963), sabun padat transparan yang dihasilkan berwarna *Neon Carrot* untuk formulasi 1 yang mengandung ekstrak kasar karotenoid 5%, *Pizazz*

Tabel 2. Optimasi kecepatan dan waktu pengadukan pada pembuatan sabun padat transparan
 Table 2. Optimization of speed and time of stirring for the transparent solid soap

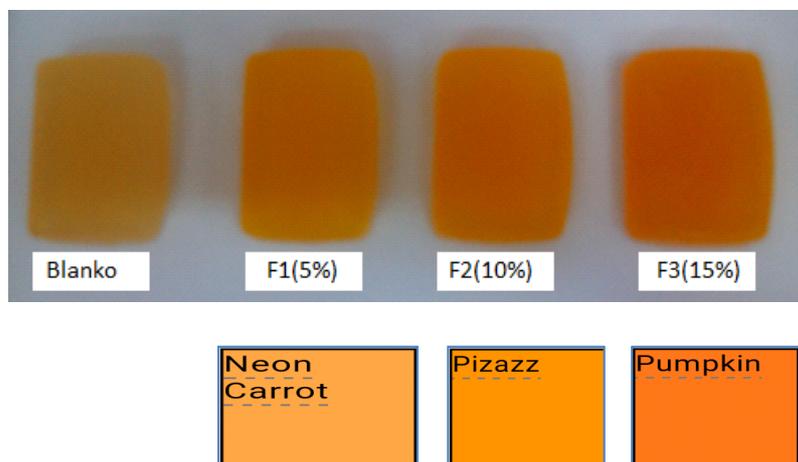
Kecepatan/ speed (rpm)	Waktu (menit)/ time (minute)	Transparan/ transparent	Kehomogenan/ homogeneity	Busa/ foam
250	10	x	∅	-
	20	x	∅	-
	30	*	∅	++
350	10	*	∅	-
	20	*	○	-
	30	*	○	+
400	10	*	○	+
	20	*	○	++
	30	*	○	++

Keterangan/note :

- ∅ = Tidak homogen/Not homogen
- = Homogen/Homogen
- ++ = Banyak busa/More quantity of foam
- x = Tidak transparan/Not transparent
- * = Transparan/Transparent
- = Tidak berbusa/Not produced foam
- + = Berbusa/Produce foam

Gambar 2. Spesifikasi warna sabun padat transparan yang mengandung ekstrak kasar karotenoid dari *C. pyrenoidosa*

Figure 2. Colour specification of transparent solid soap containing carotenoid crude extract from *C. pyrenoidosa*



untuk formulasi 2 dengan ekstrak karotenoid 10% dan *Pumpkin* untuk formulasi 3 dengan ekstrak kasar karotenoid 15%. Warna yang dihasilkan pada sabun transparan berasal dari warna ekstrak kasar karotenoid mikroalga *C. pyrenoidosa*.

Evaluasi Sabun Padat Transparan

Sifat sensori

Hasil pengamatan organoleptik menunjukkan bahwa, sabun yang dihasilkan memiliki bentuk padat dan transparan dengan warna kuning *neon carrot* (5%), kuning *pizzaz* (10%) dan kuning *pumpkin* (15%). Aroma khas yang ditimbulkan adalah aroma

lemongrass yang memberikan kesegaran dalam tubuh (Tabel 3)

Sifat fisik dan kimia

Sifat fisik yang diamati pada sabun ini adalah kekerasan sabun. Uji kekerasan sabun padat transparan dengan menggunakan alat penetrometer menunjukkan bahwa semakin kecil nilai penetrasi jarum ke dalam sabun berarti sabun yang dihasilkan semakin keras dan sebaliknya semakin besar nilai penetrasi jarum ke dalam sabun berarti semakin lunak sabun yang dihasilkan. Persyaratan nilai kekerasan sabun padat transparan belum tersedia, sehingga digunakan pembandingan yaitu sabun padat transparan

Tabel 3. Deskripsi sifat sensori sabun padat transparan yang mengandung ekstrak karotenoid *C. pyrenoidosa*.

Table 3. Sensory description of transparent solid soap containing carotenoid extract from *C. pyrenoidosa*

Formula/Formula	Parameter/Parameter		
	Warna/Color	Aroma/Aroma	Tekstur/Textur
Blangko/Blank	Putih kekuningan/ <i>Yellowish white</i> , transparan/ <i>transparent</i>	<i>Lemongrass</i>	Padat/ <i>Solid</i>
1 (5%)	Kuning <i>neon carrot</i> / <i>Yellow neon carrot</i> , transparan/ <i>transparent</i>	<i>Lemongrass</i>	Padat/ <i>Solid</i>
2 (10%)	Kuning <i>pizzas</i> / <i>Yellow pizzas</i> , transparan/ <i>transparent</i>	<i>Lemongrass</i>	Padat/ <i>Solid</i>
3 (15%)	Kuning <i>pumpkin</i> / <i>Yellow pumpkin</i> , transparan/ <i>transparent</i>	<i>Lemongrass</i>	Padat/ <i>Solid</i>

komersial, yang memiliki nilai kekerasan 1,04- 2,40 mm/detik. Nilai kekerasan sabun transparan pada semua formulasi yang dibuat berkisar 1,40-1,80 mm/detik (Tabel 4). Hal ini menunjukkan bahwa, nilai kekerasan sabun padat transparan ekstrak kasar karotenoid dari mikroalga *C. pyrenoidosa* memenuhi kriteria sabunkomersial. Pada Tabel 4 juga terlihat bahwa nilai kekerasan sabun semakin meningkat (sabun semakin lunak) seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak kasar karotenoid. Hal ini disebabkan ekstrak kasar karotenoid mudah menyatu dengan air (Sulistiani, Pramulani, & Yati, 2009).

Kadar air dalam sabun padat berpengaruh terhadap kualitas sediaan. Air yang ditambahkan dalam produk sabun dapat mempengaruhi kelarutan sabun dalam air. Semakin banyak air yang terkandung dalam sabun, maka sabun akan mudah menyusut dan cepat habis pada saat digunakan (Hambali, Bunasor, Suryani, & Kusumah, 2005). Pada Tabel 4, terlihat kadar air dalam sabun padat transparan yang mengandung ekstrak kasar karotenoid berkisar 14,45-16,28 % sedangkan kadar air sabun yang tidak mengandung ekstrak karotenoid adalah 10,41. Menurut SNI (1994), persyaratan kadar air pada sabun padat transparan tidak lebih dari 15%. Dengan demikian formula 1 dan 2 memenuhi persyaratan, sedangkan formula 3 melewati persyaratan. Meningkatnya persentase kadar air seiring dengan meningkatnya penambahan ekstrak pigmen karotenoid. Hal ini karena karotenoid pigmen yang mengandung air sehingga menambah ekstrak kasar karotenoid berarti memberikan tambahan kandungan air pada sabun tersebut.

Syarat standar mutu pH untuk sabun mandi berkisar antara 9-11 (SNI, 1994). Pada Tabel 4. pH sediaan sabun padat transparan berkisar antara 9,31%- 10,47%. Kisaran nilai pH ini memenuhi kriteria mutu sabun mandi. Nilai pH mempunyai kecenderungan menurun seiring dengan penambahan ekstrak kasar karotenoid yang mempunyai pH 6-7. Menurut Munson (1991), sabun yang memiliki pH terlalu tinggi dapat meningkatkan daya absorpsi kulit, sehingga kulit menjadi gatal atau mengelupas dan dapat menyebabkan kulit kering.

Asam lemak bebas berasal dari asam lemak yang tidak terikat dengan natrium ataupun trigliserida. Kadar asam lemak tidak boleh terlalu tinggi karena akan memicu ketengikan dan mengurangi umur simpan sabun (Khopkar, 1990). Dalam suatu formulasi, asam lemak berperan sebagai pengatur konsistensi. Spitz (1996) menyatakan bahwa asam lemak memiliki kemampuan terbatas untuk larut dalam air. Hal ini akan membuat sabun menjadi lebih tahan lama setelah digunakan. Hasil pemeriksaan asam lemak bebas sabun padat transparan berkisar antara 0,42-0,79% (Tabel 4). Pesyaratan asam lemak bebas dalam sabun padat transparan < 2,5% (SNI, 1994) sehingga semua sabun padat transparan ekstrak kasar karotenoid *C. pyrenoidosa* memenuhi persyaratan.

Lemak tidak tersabunkan merupakan lemak yang tidak ikut bereaksi selama proses saponifikasi, apabila nilai lemak tidak tersabunkan tinggi akan menimbulkan kurangnya busa yang dihasilkan oleh sabun (Khopkar, 1990). Fraksi yang tidak tersabunkan berkaitan dengan zat-zat terdapat dalam minyak atau

Tabel 4. Sifat fisik dan kimia sabun padat transparan yang mengandung ekstrak kasar karotenoid dari *C. pyrenoidosa*.

Table 4. Physical and chemical characteristics of transparent solid soap containing carotenoid crude extract from *C. pyrenoidosa*

Formula/ Formula	Rata-rata/average				
	Kekerasan sabun (mm/detik)/Hard ness of soap (mm/second)	pH	Kadar air/ Moisture content (%)	Asam lemak bebas/ Free fatty acid (%)	Lemak tidak tersabunkan/ Fat No saponified (%)
Blangko/Blank	1.4 ± 0.01	10.76 ± 0.01	10.41 ± 0.16	0.79 ± 0.02	1.79 ± 0.07
1 (5%)	1.4 ± 0.01	10.47 ± 0.03	14.45 ± 0.22	0.63 ± 0.02	1.78 ± 0.07
2 (10%)	1.8 ± 0.01	9.66 ± 0.02	14.59 ± 0.23	0.68 ± 0.04	1.84 ± 0.09
3 (15%)	1.8 ± 0.02	9.31 ± 0.03	16.28 ± 0.75	0.42 ± 0.02	1.79 ± 0.08
SNI	-	9-11	< 15	< 2.5	< 2

lemak yang tak tersabunkan. Zat-zat tersebut biasanya berupa sterol dan hidrokarbon (Hernani, Bunasor, & Fitriati, 2010). Pada Tabel 4. kandungan lemak tidak tersabunkan pada semua formulasi sabun transparan berkisar antara 1,78-1,84%. Menurut SNI (2016), persyaratan asam lemak tidak tersabunkan maksimal 2% sehingga sabun padat transparan dengan penambahan ekstrak kasar karotenoid 5%, 10% dan 15% memenuhi persyaratan.

Uji Antioksidan dengan Metode Peredaman Radikal Bebas (DPPH)

Hasil pengujian ekstrak kasar karotenoid menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 58,181 $\mu\text{g/ml}$ (Tabel 5). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kasar karotenoid dari mikroalga *C. pyrenoidosa* memiliki aktivitas antioksidan kuat. Menurut Koleva et al. (2002), senyawa yang memiliki nilai IC_{50} kurang dari 100 $\mu\text{g/ml}$ memiliki sifat antioksidan yang kuat. Sementara itu, vitamin C yang digunakan sebagai kontrol memiliki aktivitas antioksidan sebesar 1,62 $\mu\text{g/ml}$ dengan kategori yang sangat kuat.

Di samping itu, pada Tabel 5 juga terlihat bahwa sediaan sabun padat transparan dari semua formula memiliki aktivitas antioksidan. Formulasi blangko memiliki nilai IC_{50} sebesar 126 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya penambahan BHT (Butil Hidroksitoluen) yang merupakan antioksidan sintetik. Fungsi BHT dalam formulasi sabun padat adalah untuk menjaga agar minyak dalam sabun tidak teroksidasi yang akan menyebabkan ketengikan. Nemat Shahi et al. (2016) mengemukakan bahwa ketengikan terjadi karena dalam minyak terdapat ikatan rangkap sehingga akan menyebabkan terbentuknya asam, aldehid, dan keton dengan rantai pendek yang akan menimbulkan bau dan cita rasa tengik.

Dengan demikian sabun padat transparan dengan formula 1 dan 2 memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, sedangkan formula 3 memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa semakin meningkat ekstrak karotenoid yang digunakan, maka semakin kuat aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Menurut Koleva, et al. 2002 aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} 50-100 $\mu\text{g/ml}$ termasuk katagori kuat dan nilai $IC_{50} < 50$ $\mu\text{g/ml}$ katagori sangat kuat.

Menurut Ambati, Phang, Ravi dan Aswathanarayana (2013), astaxanthin dari *H. pluvialis* memiliki bioavailabilitas yang lebih baik dan sifat antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan karotenoid lain. Sementara itu, Cerón et al. (2007) berpendapat bahwa aktivitas antioksidan astaxanthin secara in vitro terhadap DPPH 10 kali lebih tinggi dari β -karoten dan 500 kali lebih tinggi dari α -tokoferol. Oleh karena itu, semakin tinggi ekstrak kasar karotenoid yang ditambahkan ke dalam formula sabun transparan maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya.

Uji Stabilitas Sabun Padat Transparan

Stabilitas sabun padat transparan dapat dilihat setelah penyimpanan produk selama waktu simpannya (*shelf-life*). Namun demikian, cara ini membutuhkan waktu yang lama sedangkan siklus pengembangan produk kosmetik relatif singkat, sehingga digunakan pengujian stabilitas dipercepat untuk memperkirakan stabilitas jangka panjang. Uji stabilitas dipercepat adalah uji yang dirancang untuk meningkatkan laju degradasi kimia dan perubahan fisika suatu sediaan dengan membuat suatu kondisi penyimpanan yang dilebihkan. Menurut CTFA (2004) uji stabilitas dipercepat dilakukan untuk memprediksikan seberapa jauh produk tahan terhadap tekanan dan temperatur ekstrim. Tujuan uji stabilitas

Tabel 5. Nilai IC_{50} ekstrak kasar karotenoid, blangko, vitamin C dan sabun padat transparan yang mengandung ekstrak kasar karotenoid *C. pyrenoidosa*

Table 5. The IC_{50} value of carotenoid crude extract, blank, vitamin C and transparent solid soap containing carotenoid crude extract from *C. pyrenoidosa*

Sampel/Sample	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Blangko/Blank	126.00
Formula 1/Formula 1	66.42
Formula 2/Formula 2	59.18
Formula 3/Formula 3	10.21
Ekstrak kasar Karotenoid/Carotenoid crude extract	58.18
Vitamin C/Vitamin C	1.62

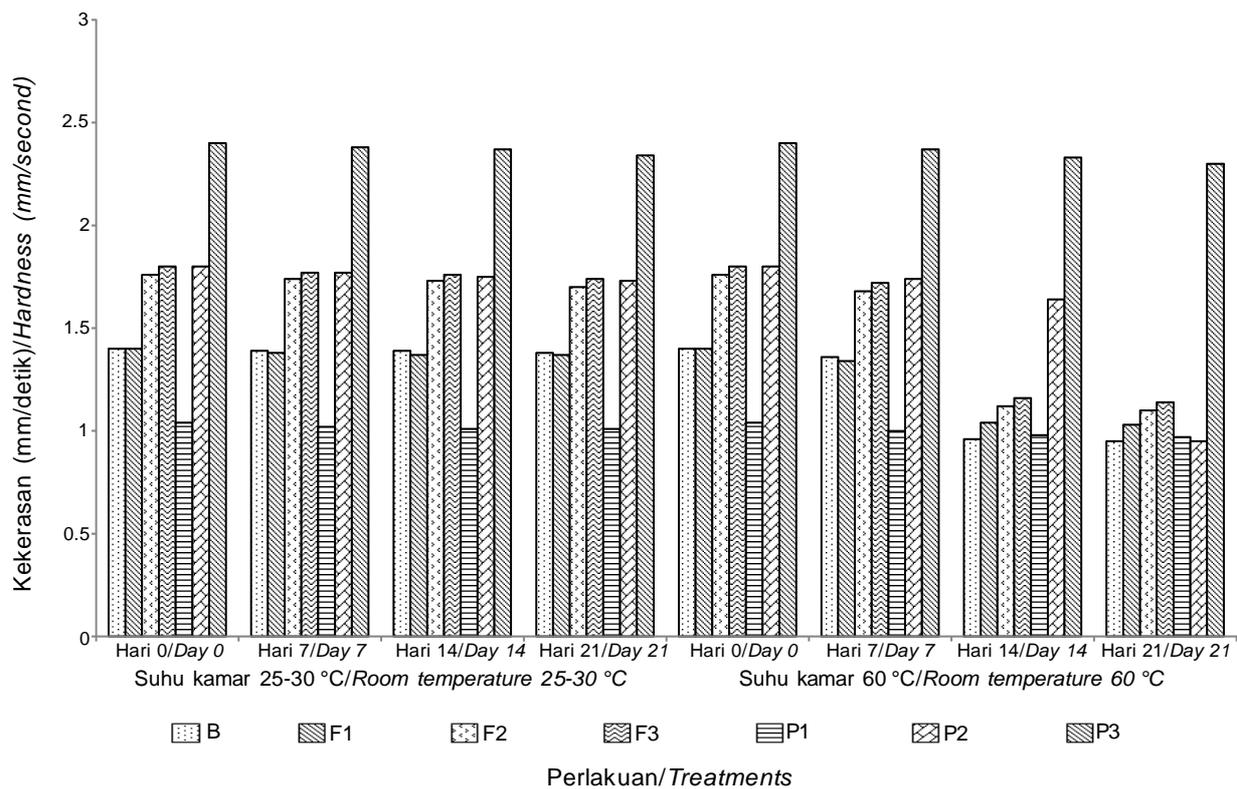
untuk menentukan parameter kinetik sehingga waktu kadaluarsa dapat diprediksi. Pada studi ini, uji stabilitas dipercepat dilakukan dengan cara teknik manipulasi suhu yang dilakukan selama 3 minggu (Lachman et al., 1994).

Kekerasan sabun

Penambahan ekstrak kasar karotenoid pada sabun padat ternyata mempengaruhi kekerasan sabun (Gambar 3). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak kasar karotenoid yang ditambahkan maka nilai kekerasan sabun atau nilai penetrasi jarum kedalam sabun semakin tinggi yang berarti sabun akan semakin lunak. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Hernani et. al. (2010), bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak lengkuas yang ditambahkan maka kekerasan sabun akan melunak. Uji stabilitas terhadap kekerasan menunjukkan bahwa kekerasan sabun padat transparan pada suhu kamar (25-30 °C) relatif tidak mengalami perubahan sedangkan pada

suhu 60 °C mengalami perubahan kekerasan. Pengaruh kekerasan pada sabun dapat disebabkan karena kadar air dalam sabun yang terus menyusut akibat adanya penguapan sehingga sabun lebih keras.

Persyaratan nilai kekerasan sabun belum tersedia sehingga tidak ada persyaratan yang menunjukkan kekerasan dalam sabun. Oleh karena itu, sabun pembanding digunakan sebagai acuan. Pada penelitian ini digunakan 3 sabun transparan komersial sebagai pembanding yang memiliki tingkat kekerasan yang berbeda. Hasil uji stabilitas selama 3 minggu menunjukkan bahwa sabun formula 1, 2 dan 3 yang disimpan pada suhu kamar (25-30 °C) mengalami kenaikan tingkat kekerasan sabun berkisar 1,43%-3,4%. Hal yang sama juga terjadi pada sabun pembanding yang mengalami tingkat kekerasan sabun antara 1,25%-3,8%. Hasil pengamatan pada suhu 60 °C menunjukkan bahwa kenaikan tingkat kekerasan pada sabun formula 1, 2 dan 3 berkisar antara 26,4-



Keterangan/note :

- 1,2,3,4 = Suhu/Temperature 25-30 °C
- B = Blangko/Blank
- F1 = Formula/Formula 1 (5%)
- F2 = Formula/Formula 2 (10%)
- F3 = Formula/Formula 3(15%)

- 5,6,7,8 = Suhu/Temperature 60 °C
- P1 = Pembanding/Comparison 1
- P2 = Pembanding/Comparison 2
- P3 = Pembanding/Comparison 3

Gambar 3. Kekerasan sabun pada suhu kamar (25-30 °C) dan suhu 60 °C

Figure 3. The soap hardness at room temperature (25-30 °C) and temperature of 60 °C

32,1% dan pada sabun pembanding berkisar antara 36-47%. Kenaikan kekerasan sabun atau penurunan nilai kekerasan yang terdapat pada alat penetrometer menunjukkan bahwa kadar air dalam sabun terus menyusut sehingga sabun menjadi lebih keras. Berdasarkan hasil tersebut maka sabun berformulasi karotenoid 5%, 10% dan 15% memiliki kekerasan sesuai dengan kriteria dengan sabun komersial (Gambar 3).

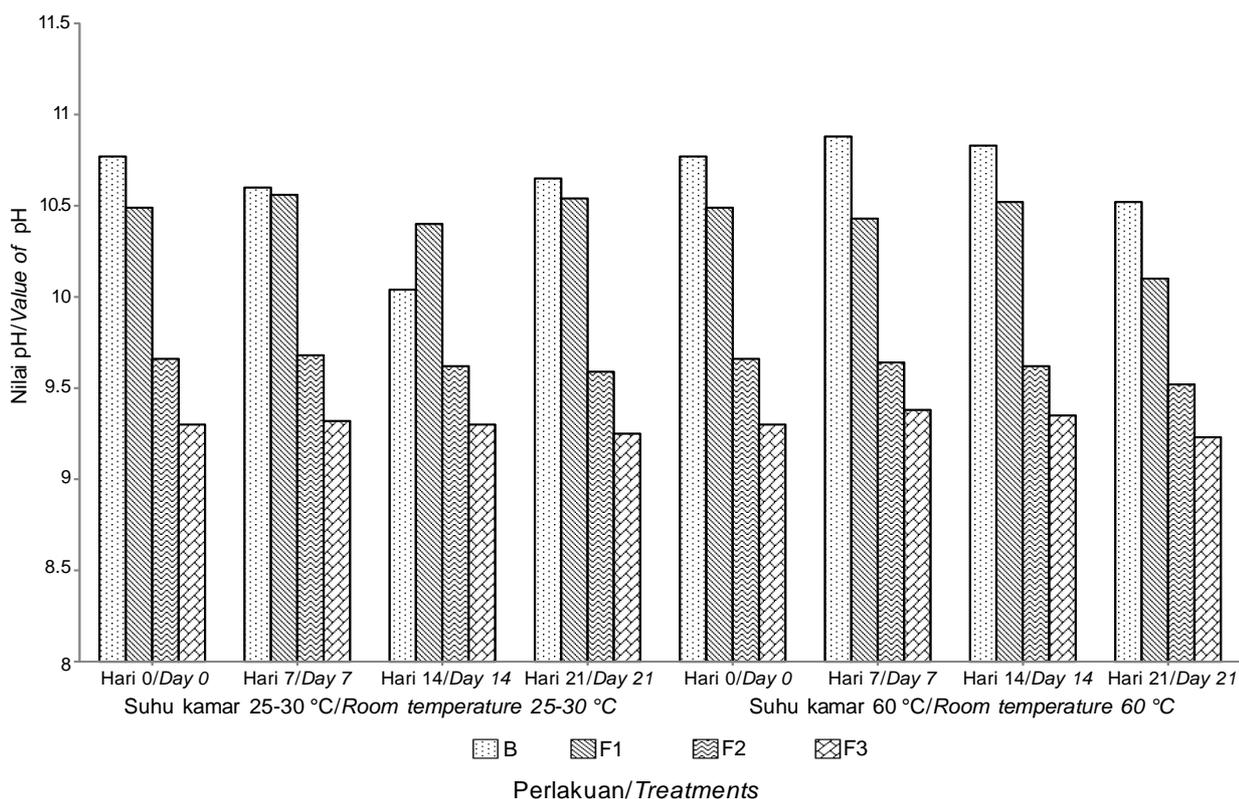
Nilai pH

Hasil pemeriksaan terhadap pH sabun padat transparan pada formula 1, 2 dan 3 pada suhu kamar (25-30°C) setelah 21 hari relatif tidak mengalami perubahan yaitu berkisar antara 9,25±0,01-10,54±0,01. Demikian pula halnya pada suhu 60 °C, setelah 21 hari pengamatan pH sabun tidak mengalami perubahan yaitu berkisar 9,23±0,09-10,52±0,01. Nilai pH yang diperoleh masih dalam persyaratan pH sabun padat transparan yaitu 9-11 sehingga sabun padat transparan stabil dalam penyimpanan (Gambar 4).

Kadar air

Analisa kadar air dilakukan untuk mengetahui kadar air dan zat yang menguap yang terdapat di dalam sabun. Pengukuran kadar air dan zat menguap perlu dilakukan karena akan berpengaruh terhadap kualitas sabun. Banyaknya air yang ditambahkan pada produk sabun akan mempengaruhi kelarutan sabun (Hambali et al., 2005). Menurut SNI (1994), persyaratan kadar air pada sabun padat transparan tidak lebih dari 15%.

Kadar air pada uji stabilitas penyimpanan suhu kamar (25-30 °C) dan suhu 60 °C berubah seiring dengan bertambahnya hari pengamatan (Gambar 5). Setelah 21 hari pengamatan, sabun transparan formula 1 dan 2 memiliki kadar air sebesar 14,05%±0,01 dan 14,11%±0,01. Berdasarkan hasil tersebut, sabun formula 1 dan 2 memenuhi persyaratan baku mutu sabun padat (SNI, 1994), sedangkan formula 3 memiliki kadar air yang tinggi (>15%) yaitu 15,81%±0,00 sehingga tidak memenuhi persyaratan.



Keterangan :

B = blangko/Blank

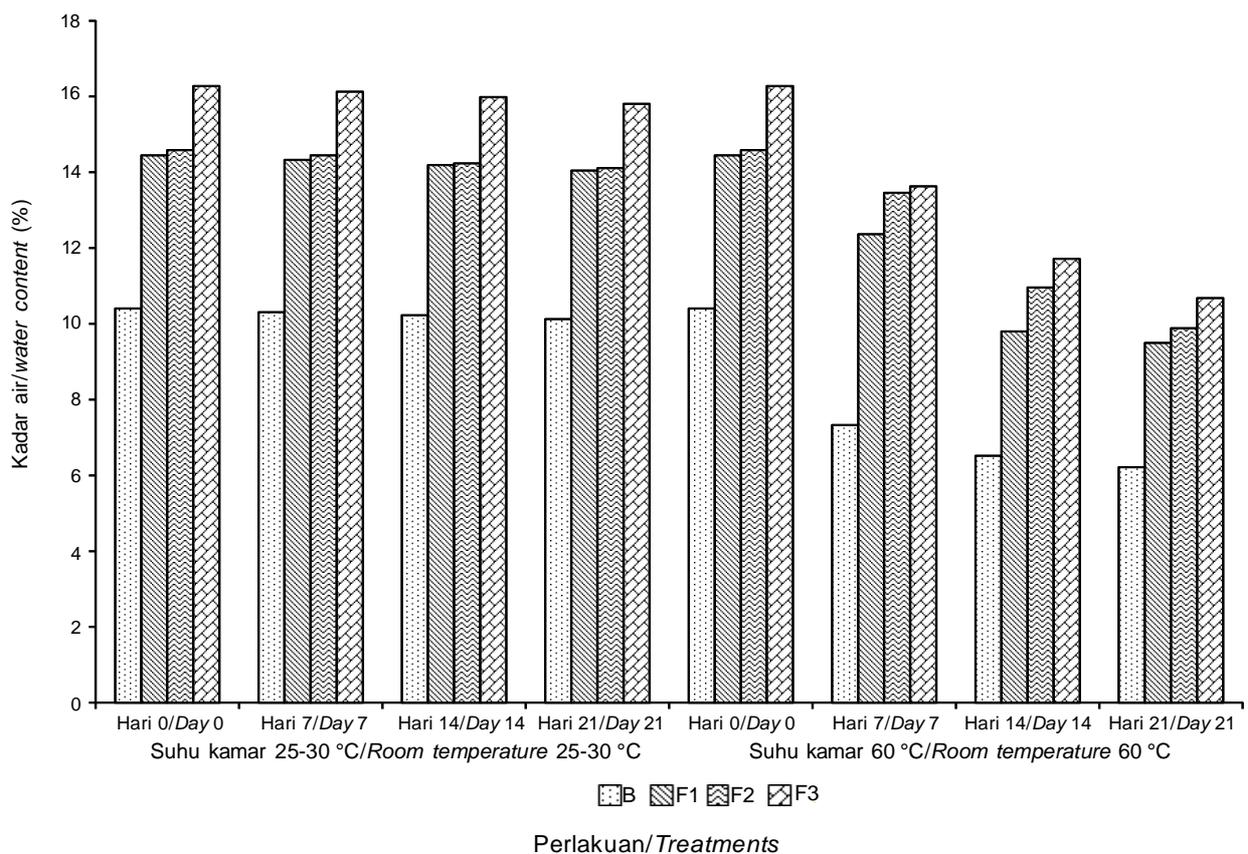
F3 = Formula/Formula 3 (15%)

F1 = Formula/Formula 1 (5%)

F2 = Formula/Formula 2 (10%)

Gambar 4. Nilai pH sabun padat transparan pada suhu kamar (25-30 °C) dan suhu 60 °C.

Figure 4. The pH value of transparent solid soap at room temperature (25-30 °C) and temperature of 60 °C



Keterangan/note :

B = blangko/Blank

F1 = Formula/Formula 1(5%)

F2 = Formula/Formula 2 (10%)

F3 = Formula/Formula 3 (15%)

Gambar 5. Kadar air sabun padat transparan pada suhu kamar (25-30 °C) dan suhu 60 °C.

Figure 5. The moisture content of transparent solid soap at room temperature (25-30 °C) and temperature at 60 °C

Uji stabilitas sabun padat transparan pada suhu 60 °C formula 1 sampai 3 setelah hari ke 21 memiliki kadar air berkisar $6,22\% \pm 0,01 - 10,68\% \pm 0,02$. Menurunnya kadar air pada suhu 60 °C disebabkan adanya penguapan air karena penyimpanan suhu yang relatif tinggi. Penurunan kadar air mengakibatkan nilai kekerasan sabun semakin kecil, hal ini berarti sabun menjadi semakin keras. Berdasarkan hasil uji stabilitas dipercepat, penyimpanan sabun pada suhu 60 °C selama tiga minggu menunjukkan sabun stabil selama pengujian suhu dipercepat tersebut, sehingga diperkirakan sabun tahan dalam suhu kamar selama 2 tahun (Lachman et al., 1994). Uji stabilitas ini memberikan indikasi bahwa sabun padat transparan dengan tambahan ekstrak kasar karotenoid dengan sifat antioksidannya dapat direkomendasikan sebagai alternatif tambahan variasi produk kosmetika.

KESIMPULAN

Ekstrak kasar karotenoid yang bersumber dari mikroalga *C. pyrenoidosa* dalam formulasi sabun padat transparan mempunyai aktivitas antioksidan. Sabun padat transparan yang dihasilkan mempunyai karakteristik transparan, berwarna kuning *neon carrot*, kuning *pizzaz* dan kuning *pumpkin*, serta beraroma *lemongrass*. Nilai pH, kekerasan sabun, kadar air, jumlah asam lemak bebas dan lemak tidak tersabunkan memenuhi persyaratan mutu sebagai sabun mandi sesuai dengan SNI 3532-1994. Sediaan sabun padat transparan berformulasi ekstrak kasar karotenoid dari mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* stabil dalam penyimpanan suhu kamar selama 2 tahun karena sabun relatif stabil pada penyimpanan suhu 60 °C selama 3 minggu.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, N. W. S., & Kabinawa, I. N. K. (1997). Pengaruh Penambahan Nitrogen Terhadap Produksi Biomasa dan Pigmen *Chlorella pyrenoidosa* dalam Skala Laboratorium. Seminar Nasional Bioteknologi Mikroalga. *Puslitbang Bioteknologi-LIPI*. 151-160.
- Ambati, R. R., Phang, S. M., Ravi, S., & Aswathanarayana R. G. (2014). Astaxanthin: Sources, Extraction, Stability, Biological Activities and Its Commercial Applications. *Mar. Drugs*, 12, 128-152; doi:10.3390/md12010128
- Becker, E. W. (1994). *Microalgae Biotechnology and Microbiology*. New York. Cambridge University Press. 56.
- Brand-Williams, W. Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28,(1). 25-30
- Brewer, M.S., (2011). Comprehensive review in food science and food safety. *Institute of food technologists*. Issue 4 Version og record online 14 Juni 2011. Doi : 10.1111/j.1541-4337.2011.00156x
- Cerón M.C., García-Malea, M. C., Rivas, J., Acien, F. G., Fernandez, J. M., Del Río, E., Guerrero, M.G., & Molina, E. (2007). Antioxidant activity of *Haematococcus pluvialis* cells grown in continuous culture as a function of their carotenoid and fatty acid content. *Appl Microbiol Biot.*, 74,1112–1119
- Cognis. (2003). *Clear Bar Soap Formulation*. No: GWH 96/25. Care Chemical Division PT. Cognis Indonesia. Jakarta.
- (CTFA).Cosmetic Toiletry and Fragrance Association. (2004). *Guidelines on Stability Testing of Cosmetic Product*, Washington DC).
- Goiris, K., Muylaert, K., Fraeye, I., Foubert, I., de Brabanter, J., & de Cooman, L. (2012). Antioxidant Potential of Microalgae in Relation to Their Phenolic and Carotenoid Content. *J. Appl. Phycol.*, 24,1477–1486. doi: 10.1007/s10811-012-9804-6.
- Green, G. A. (2008). Review: antioxidant supplements do not reduce all-cause mortality in primary or secondary prevention. *Evidence-Based Medicine*, 13 (6): 177, doi:10.1136/ebm.13.6.177).
- Hambali, E. T. K., Bunasor, A. Suryani & Kusumah, G. A. (2005). Aplikasi Dietanolamida Dari Asam Laurat Minyak Inti Sawit Pada Pembuatan Sabun Transparan. *J. Tek. Ind. Pert.*, 15(2), 46-53
- Hernani, Bunasor, K. T., & Fitriati. (2010) . Formula Sabun Transparan antijamur dengan Bahan Aktif Ekstrak Lengkuas (*Alpinia galanga* L. Swartz). *Bul. Litro.*, 21(2), 192-205
- Khopkar, S. M. (1990). *Konsep Dasar Kimia Analitik*, diterjemahkan oleh Saptoharjo A. dan Nurhadi A., Jakarta : UI Press. p.215-217.
- Koleva, Van Beek, Linssen, de Groot, Evstatieva, Prakashh, Rigelhof, & Miller. (2002). *Antioxidant activity*. New York : prentice– hall mc. Engelwood cliffs.
- Kornerup, A., & Wanscher, H. J. (1963). *Handbook of colour*. Meutheun Publishing.New York. 18.
- Kusmiati, Agustini N. W. S., Tamat, S. R., & Rawati, M. (2010). Ekstraksi dan Purifikasi Senyawa Lutein dari Mikrolaga *Chlorella pyrenoidosa* Galur Lokal INK.*Jurnal Kimia Indonesia*, 5, 30-34.
- Lachman, L., Lieberman, A. H., & Kanig, L. J., (1994) *The Theori and Practise of Industrial Pharmacy*. Lea&Febiger 600. Washington Square, USA. 1530-1531
- Hua-Bin, L., Jiang, Y., & Cheng, F. (2002). Isolation and Purification of Lutein from the microalga *Chlorella vulgaris* by Extraction after saponification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5(5),1070-1072
- Nemat Shahi, M. M., Elhami Rad, A. H., Nemat Shahi, N., Pedram Nia, A., & Estiri, H. (2016). Study Of Antioxidant Activity And Free Radical Scavenging Power Of *Physalis Alkekengi* Flower Extract. *J Fundam Appl Sci.*, 8(2S), 547-557
- Munson, J. W. (1991). *Analisis Farmasi, diterjemahkan oleh Harjana*, Surabaya , Airlangga University Press. 369-378
- (SNI). Standar Nasional Indonesia. (1994). 06-3532-1994.Sabun Mandi. Badan Standarisasi Nasional, Jakarta,1-10.
- Stephen Inbaraj, B., Chien, J. T., & Chen, B. H. (2016). Improved high performance liquid chromatographic method for determination of carotenoids in the microalga *Chlorella pyrenoidosa*. *Journal of Chromatography A.*, 11029(1-2), 193-199.
- Spitz, I., (1996). *Soap and Detergent a Theoretical and Practical Review*. AOCS Press, Champaign-Illionis, 2, 47-73.
- Sulistiani, Pramulani M., & Yati. K. (2009). *Variasi Konsentrasi Kokamidopropil Betain sebagai Surfaktan terhadap Stabilitas Fisik Sabun Transparan Minyak Atsiri Daun Kemangi (Ocimum sanctum Lin)*. Fakultas Farmasi dan Sains Univ. Muhammadiyah Prof.Dr.Hamka : Jakarta.