

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Penelitian dilakukan untuk mengetahui berapa konsentrasi *alpha lipoic acid* yang paling optimum dalam meningkatkan stabilitas asam askorbat dalam sediaan krim m/a. Sebelum dilakukan uji stabilitas asam askorbat dilakukan optimasi formula untuk menentukan formula yang digunakan pada proses selanjutnya. Penentuan formula dilakukan dengan melihat hasil dari uji sentrifugasi dan uji pH.

Uji sentrifugasi menunjukkan bahwa formula 1 lebih stabil dari formula 2. Formula 1 menunjukkan krim tetap stabil saat dilakukan sentrifugasi sedangkan pada formula 2 menunjukkan adanya pemisahan fase. Perbedaan formula 1 dan formula 2 adalah pada penggunaan emulsifier dan jumlah KOH yang digunakan. Pada formula 1 hanya digunakan asam stearat sedangkan pada formula 2 digunakan kombinasi *emulsifier*. Pada penggunaan KOH, formula 1 menggunakan KOH sebanyak 0,7% sedangkan pada formula 2 menggunakan KOH sebanyak 0,5%. Pada formula 2 juga ditambahkan paraffin *liquid* pada fase minyak dan terbentuk krim yang lebih berminyak serta kurang menempel pada kulit. Krim tidak menyatu antara fase air dan minyak. Hal ini kemungkinan disebabkan karena emulsifier yang digunakan kurang mampu mendispersikan fase minyak yang ditambahkan sehingga krim yang terbentuk tidak dapat bersatu antara fase air dan fase minyak, meskipun telah dilakukan perhitungan HLB.

Asam stearat merupakan *emulsifier* dan merupakan komponen asam. Saat dinetralisasi sebagian atau dengan kata lain ditambahkan dengan basa

pada konsentrasi tertentu maka dapat membentuk basis krim saat ditambahkan pada larutan berair (Rowe *et al.*, 2009). KOH pada formula berfungsi sebagai agen alkali, dimana pada proses pembuatan berfungsi untuk membentuk basis saat bercampur dengan asam stearat. Pada konsentrasi asam yang berlebih dan jumlah agen alkali yang sedikit, dalam hal ini konsentrasi asam stearat yang terlalu tinggi dan kurangnya jumlah KOH, menyebabkan basis menjadi tidak stabil dan mudah pecah. Karena itu saat dilakukan uji sentrifugasi pada formula 2 terjadi pemisahan fase minyak dan air.

Uji pH sediaan dilakukan untuk mengetahui tingkat keasaman dari krim. Pada formula 1 terlihat bahwa pH sediaan adalah 5,3 dan pada formula 2 didapatkan pH sediaan sebesar 4,5. Asam askorbat memiliki penetrasi yang lebih baik pada kondisi asam. Asam askorbat memiliki penetrasi maksimum pada pH 3 (Pinnel *et al.*, 2001). Namun pH 3 tidak termasuk dalam rentang pH kulit sehingga dapat mengiritasi kulit. pH kulit adalah sekitar 4,5-6,5 dan pH kulit wajah adalah sekitar 4,0-5,6 (Korting *et al.*, 1996), sehingga sediaan dengan rentang pH kulit tidak akan mengiritasi kulit. Pada pH > 5 asam askorbat akan terdegradasi menjadi bentuk teroksidanya, yaitu *dehydroascorbic acid*. Namun pada pH dibawah 6 *dehydroascorbic acid* masih menjadi bentuk *reversible*, dengan kata lain masih dapat diregenerasi menjadi bentuk asam askorbat aktif kembali (Novakova *et al.*, 2008). Berdasarkan hasil uji pH dan spesifikasi krim yang telah ditentukan, sediaan formula 2 lebih memenuhi syarat, namun ternyata formula 2 tidak stabil secara fisik sehingga digunakan formula 1 untuk proses pemeriksaan stabilitas asam askorbat dalam krim.

Penentuan kadar asam askorbat dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri. Berdasarkan hasil pengukuran spektrum panjang gelombang

untuk absorbansi asam askorbat, diperoleh hasil bahwa panjang gelombang maksimum asam askorbat dalam *acidified methanolic* (metanol pH 2) yaitu pada 245,1 nm. Absorpsi asam askorbat dalam larutan tergantung dengan pH dari larutan tersebut. Pada pH diatas 5,0 asam askorbat berada dalam bentuk monokation dan memiliki absorpsi maksimum pada 265 nm. Sedangkan pada pH yang lebih asam (di bawah 5,0) absorpsi maksimum asam askorbat berada pada di sekitar 245 nm (Selimovic *et al.*, 2011). Hasil dari spektrum asam askorbat dalam metanol pH 2 sudah sesuai dengan teori karena menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 245,1 nm, yang sangat mendekati nilai 245 nm.

Kurva baku kemudian dibuat dengan menggunakan panjang gelombang 245 nm. Larutan baku dibuat dengan rentang konsentrasi 0,5-12 ppm. Kemudian didapatkan persamaan garis linier untuk kurva baku sebesar $y = 0,072x + 0,0108$, dengan $r = 0,999$. Dengan r (koefisien korelasi) yang hampir mendekati 1 maka hubungan linier antar dua variabel menunjukkan hubungan yang kuat. koefisien korelasi (r) yang paling baik adalah ± 1 , sehingga semakin mendekati 1 maka nilai koefisien korelasi akan semakin baik.

Uji stabilitas asam askorbat dalam krim dilakukan dengan menggunakan *temperature stress test*. Model pengujian ini menggunakan suhu tinggi pada beberapa tingkatan suhu untuk mempercepat laju degradasi dari asam askorbat. Kadar asam askorbat dalam krim dihitung setelah diletakkan dalam suhu ekstrim. Krim dibuat dalam 4 konsentrasi kemudian diletakkan pada suhu 45°C, 55°C, dan 65°C. Digunakan 3 macam suhu untuk kemudian digunakan dalam persamaan Arrhenius.

Persamaan Arrhenius digunakan untuk melihat pengaruh suhu terhadap degradasi obat dan digunakan untuk menghitung laju degradasi pada suhu ruang

dengan membandingkannya terhadap laju degradasi pada suhu yang jauh lebih tinggi. Pada penelitian ini digunakan suhu 45°C, 55°C, dan 65°C. Dipilih 3 suhu tersebut karena pada suhu 45°C vitamin C sudah dalam keadaan terdegradasi. Pada suhu di bawah 40°C asam askorbat masih dalam keadaan stabil, sehingga jika dilakukan uji degradasi pada suhu di bawah 40°C akan sulit diketahui laju degradasinya. Jika digunakan suhu kurang dari 40°C tidak akan terlihat apakah asam askorbat benar-benar terdegradasi oleh suhu atau karena faktor lain, misalnya cahaya atau udara, karena asam askorbat mudah teroksidasi dengan adanya oksigen dan cahaya. Karena itu dipilih suhu di atas 40°C untuk memastikan asam benar-benar telah terdegradasi oleh suhu. Selain itu suhu tinggi menyebabkan kecepatan obat terdegradasi menjadi lebih besar sehingga dapat lebih mudah diukur (Florence dan Attwood, 2006).

Setelah pengambilan dan pengukuran sampel dengan menggunakan metode spektrofotometri kemudian didapatkan hasil absorbansi seperti pada table 5.2, 5.3, dan 5.4. kemudian dilakukan perhitungan untuk menentukan kadar asam askorbat sisa pada krim dan hasilnya dapat dilihat pada tabel 5.5, 5.6, 5.7, dan 5.8. Pada hasil perhitungan kadar terlihat bahwa pada waktu pengambilan 0 absorbansi menurun dari kontrol, formula I, formula II dan formula III. Semakin tinggi konsentrasi *alpha lipoic acid* yang ditambahkan pada formula justru menurunkan absorbansi asam askorbat.

Berdasarkan hasil perhitungan kadar terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi *alpha lipoic acid* yang digunakan maka semakin rendah kadar asam askorbat yang terdeteksi. *Alpha lipoic acid* dan asam askorbat bekerja secara bolak balik saling meregenerasi satu sama lain. Penelitian yang dilakukan oleh Lu dan Liu (2002) menunjukkan bahwa asam askorbat juga dapat mempengaruhi

kadar *alpha lipoic acid* dalam sediaan. *Alpha lipoic acid* memiliki reaksi yang kuat dengan OH^- . Pada saat bereaksi dengan OH^- dari KOH dalam sediaan, *alpha lipoic acid* berubah bentuk menjadi LipSS^+ yang merupakan bentuk kation dari *alpha lipoic acid*. Pada bentuk ini LipSS^+ tidak aktif sebagai antioksidan sehingga perlu diregenerasi menjadi bentuk awalnya yaitu *alpha lipoic acid*. Berdasarkan hasil penelitian, asam askorbat mampu meregenerasi LipSS^+ menjadi *alpha lipoic acid* kembali (Lu dan Liu, 2002). Mekanisme tersebut yang menyebabkan kadar asam askorbat justru mengalami penurunan saat terjadi peningkatan jumlah *alpha lipoic acid*. Asam askorbat yang mendonorkan elektron kemudian berubah menjadi bentuk teroksidasinya, yaitu *dehydroascorbic acid*. *Dehydroascorbic acid* kemudian akan direduksi oleh *alpha lipoic acid* menjadi bentuk asam askorbat.

Setelah dilakukan perhitungan kadar kemudian dilanjutkan dengan perhitungan laju reaksi. Tabel 5.9, 5.10, 5.11, dan 5.12 menunjukkan hasil perhitungan laju reaksi pada masing-masing orde. Pada hasil terlihat bahwa orde reaksi yang memiliki koefisien korelasi (r) yang paling mendekati ± 1 adalah orde reaksi 1 sehingga laju reaksi yang digunakan mengikuti orde satu, dimana konsentrasi zat dipengaruhi oleh kadar satu reaktan (Florence dan Attwood, 2006). Uji degradasi asam askorbat secara umum mengikuti orde satu. Penelitian sebelumnya menggunakan orde satu untuk melihat stabilitas asam askorbat, baik pada larutan, tablet, maupun krim. Penelitian kali ini menggunakan *alpha lipoic acid* sebagai co-antioksidan, yang berarti kadar asam askorbat dalam krim dipengaruhi oleh kadar *alpha lipoic acid* dalam sediaan.

Tabel 5.13 menunjukkan laju reaksi (k) pada masing-masing formula pada masing-masing suhu. Pada hasil laju reaksi terlihat bahwa semakin tinggi

suhu yang digunakan maka laju degradasi semakin cepat, ditunjukkan dengan nilai k yang makin besar. Penetapan laju kinetika reaksi dengan menggunakan suhu tinggi digunakan untuk mengetahui pengaruh suhu terhadap degradasi asam askorbat.

Kadar asam askorbat yang terukur juga menunjukkan pengaruh suhu terhadap stabilitas asam askorbat. Semakin tinggi suhu maka semakin rendah kadar askorbat yang terukur. Asam askorbat merupakan zat yang stabilitasnya dipengaruhi oleh suhu. Laju degradasi asam askorbat tergantung dari suhu karena suhu merupakan faktor yang menyebabkan kerusakan dari asam askorbat.

Tabel 5.15 menunjukkan laju degradasi pada suhu kamar (k_{25}). Laju degradasi pada suhu kamar didapatkan dari energi aktivasi (E_a) dengan menggunakan slope yang didapatkan dari regresi linier antara $1/T$ vs $\log k$. Dalam ilmu kimia, energi aktivasi didefinisikan sebagai energi yang harus dilampaui agar reaksi kimia dapat terjadi. Energi aktivasi juga bisa diartikan sebagai energi minimum yang dibutuhkan agar reaksi kimia tertentu dapat terjadi. Energi aktivasi sebuah reaksi biasanya dilambangkan dengan E_a dengan satuan kilojoule per mol (kJ/mol).

Energi aktivasi kemudian digunakan untuk mencari laju reaksi pada suhu kamar (k_{25}) dengan menggunakan persamaan Arrhenius. Tabel 5.15 menunjukkan hasil laju reaksi pada suhu kamar (k_{25}). Pada tabel terlihat bahwa formula kontrol memiliki laju reaksi yang lebih tinggi daripada formula I dan formula II, dengan kadar ALA yang lebih rendah daripada formula III, yaitu formula I dengan ALA 0,3% dan formula II dengan ALA 0,5%. Sedangkan

formula III dengan kadar ALA 0,7% menunjukkan laju reaksi yang lebih besar daripada kontrol.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa degradasi asam askorbat terjadi lebih cepat pada krim kontrol daripada krim formula I dan formula II. Sedangkan pada krim formula III asam askorbat terjadi lebih cepat daripada krim kontrol. Hal ini terjadi karena *alpha lipoic acid* mampu meregenerasi asam askorbat dalam sediaan krim sehingga laju degradasi pada krim yang mengandung ALA lebih lambat daripada krim kontrol. Pada formula III dengan kadar ALA 0,7% laju reaksi justru lebih besar daripada formula kontrol. ALA juga merupakan substansi yang *thermolabile*. Sehingga saat dilakukan pemanasan ALA juga terdegradasi bersamaan dengan terdegradasinya asam askorbat. LipSS⁺ belum berubah seluruhnya menjadi bentuk ALA dan kemudian sudah terlebih dulu terdegradasi karena suhu. Sebelum ALA mampu untuk meregenerasi asam askorbat, ALA sudah terdegradasi menjadi polimernya karena suhu tinggi dan kehilangan aktivitasnya sebagai antioksidan (Goraca *et al.*, 2011). Suhu tinggi merusak ALA dan asam askorbat sehingga kadar asam askorbat yang terukur menjadi kecil. Hal ini yang menyebabkan pada formula III dengan ALA 0,7% laju degradasi asam askorbat menjadi lebih cepat daripada kontrol.

Laju reaksi pada suhu kamar (k_{25}) kemudian digunakan untuk memperkirakan $t_{1/2}$ dan waktu kadaluarsa (t_{90}) dari sediaan. Laju reaksi pada suhu kamar (k_{25}) hanya dapat digunakan untuk memperkirakan waktu kadaluarsa, sedangkan untuk mengetahui waktu kadaluarsa secara pasti dilakukan *long term stability test*. Pengujian yang dimaksud adalah pengujian yang dilakukan pada kondisi penyimpanan sebenarnya dan membutuhkan waktu yang cukup lama.

Perhitungan waktu paruh ($t_{1/2}$) dan waktu kadaluarsa (t_{90}) dilakukan untuk mengetahui stabilitas dari asam askorbat dalam sediaan krim m/a. Waktu paruh ($t_{1/2}$) adalah waktu yang dibutuhkan zat aktif untuk terdegradasi menjadi setengah dari kadar awal. Sedangkan waktu kadaluarsa (t_{90}) adalah waktu yang dibutuhkan untuk zat aktif terdegradasi sebanyak 10% dari konsentrasi awal. Tabel 5.16 menunjukkan hasil dari perhitungan waktu paruh dan waktu kadaluarsa dari masing-masing formula.

Formula kontrol menunjukkan waktu paruh dan waktu kadaluarsa yang lebih cepat daripada formula I dan formula II. Sedangkan formula III menunjukkan waktu paruh dan waktu kadaluarsa yang lebih cepat daripada kontrol. Pada hasil perhitungan waktu paruh, formula kontrol menunjukkan hasil sebesar 2,9 jam, pada formula I menunjukkan hasil 34,6 jam, formula II sebesar 5,7 jam dan formula III sebesar 1,7 jam. Pada perhitungan waktu kadaluarsa (t_{90}), formula kontrol menunjukkan hasil sebesar 0,4 jam, pada formula I menunjukkan hasil 5,2 jam, formula II sebesar 0,9 jam dan formula III sebesar 0,3 jam. Hasil ini menunjukkan bahwa *alpha lipoic acid* dengan kadar 0,3% memiliki kemampuan paling optimum dibandingkan formula lain untuk mempertahankan stabilitas asam askorbat dalam sediaan krim. *Alpha lipoic acid* dalam formula dapat meningkatkan stabilitas dari asam askorbat dalam sediaan krim terlihat dari kemampuannya dalam memperpanjang waktu paruh ($t_{1/2}$) dan waktu kadaluarsa (t_{90}) asam askorbat saat dibandingkan dengan formula kontrol.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *alpha lipoic acid* dapat meningkatkan stabilitas dari asam askorbat, terlihat dari semakin panjangnya waktu paruh dan waktu kadaluarsa dari krim dibandingkan terhadap formula kontrol. Hal ini sesuai dengan teori bahwa *alpha lipoic acid* dapat mendaur ulang

asam askorbat secara langsung dan meregenasi *dehydroascorbic acid* menjadi bentuk asam askorbat sehingga dapat memperpanjang waktu hidup dari asam askorbat (Goraca *et al.*, 2011). Akan tetapi dengan semakin banyaknya *alpha lipoic acid* yang ditambahkan justru menunjukkan penurunan stabilitas asam askorbat dalam sediaan krim.

Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa semakin lama waktu penyimpanan, krim kontrol mengalami perubahan fisik. Krim kontrol berubah warna menjadi kecoklatan sedangkan pada krim formula I, II, dan III tidak berwarna kecoklatan. Hasil ini menunjukkan bahwa *alpha lipoic acid* dalam krim mampu menahan degradasi dari asam askorbat sehingga tidak mudah teroksidasi. Namun pada hari ke-7 dan 14 sudah mulai terlihat perubahan pada krim. Krim yang mengandung *alpha lipoic acid* juga mulai berubah warna menjadi kekuningan.

Asam askorbat merupakan substansi yang lebih stabil dalam kondisi asam. Asam askorbat dapat teroksidasi menjadi *dehydroascorbic acid* namun dapat dipulihkan kembali menjadi asam askorbat dengan adanya agen pereduksi. Agen pereduksi dalam penelitian ini adalah *alpha lipoic acid* yang berfungsi meregenerasi *dehydroascorbic acid* menjadi asam askorbat kembali. Sedangkan *dehydroascorbic acid* dapat terhidrolisis menjadi bentuk *irreversible*, yaitu menjadi *2,3-diketo-L-gulonic acid* jika tidak segera direduksi kembali menjadi asam askorbat. Perubahan bentuk menjadi *2,3-diketo-L-gulonic acid* ini yang menyebabkan perubahan warna menjadi kecoklatan, atau yang disebut reaksi *browning* (Vieira *et al.*, 2011). Inilah yang menyebabkan pada saat penyimpanan, krim kontrol lebih cepat berwarna kecoklatan, karena tidak adanya

reaksi *reversible* antara asam askorbat dan *dehydroascorbic acid*, sehingga *dehydroascorbic acid* kemudian terhidrolisis menjadi *2,3-diketo-L-gulonic acid*.

Tabel 5.23 menunjukkan hasil uji pH pada formula kontrol, I, II dan III saat dilakukan pemanasan. Hasil pengukuran awal menunjukkan bahwa pH krim menurun dengan ditamhkannya *alpha lipoic acid*. Ini berarti bahwa dengan adanya penambahan *alpha lipoic acid* krim menjadi lebih asam, karena memang *alpha lipoic acid* merupakan substansi asam. Saat dilakukan pemanasan, pH krim lama kelamaan meningkat dan semakin basa. pH atau tingkat keasaman dari asam askorbat dapat dibedakan berdasarkan grup ionisasi enol dan jumlah atom H pada C³ dan C² pada gugus asam askorbat. Saat dilakukan pemanasan, semakin tingginya suhu dan semakin lamanya waktu pemanasan akan menyebabkan asam askorbat semakin cepat terdegradasi, dan semakin banyak terbentuk produk degradasi asam askorbat, yaitu *2,3-diketo-L-gluconic acid*. Produk ini memiliki jumlah H pada C³ dan C² yang lebih sedikit daripada asam askorbat. Hal ini disebabkan karena pada saat terjadi hidrolisis maka atom H⁺ pada C² dan C³ lepas. Berkurangnya gugus ini menyebabkan pH semakin basa karena H⁺ adalah pembawa sifat asam (Hussain *et al.*, 2006). Ini yang menyebabkan pada saat suhu ditingkatkan dan main lamanya waktu maka pH yang terukur akan semakin basa. Pada krim formula I, II, dan III terlihat bahwa peningkatan suhu menyebabkan pH menjadi semakin basa. Namun jika dibandingkan dengan formula kontrol, formula I, II, dan III memiliki pH yang lebih asam daripada formula kontrol. Ini disebabkan karena *alpha lipoic acid* mampu meningkatkan stabilitas asam askorbat dalam krim. Sedangkan antara krim formula I, II, dan III, setelah krim dipanaskan beberapa lama tidak terlalu terlihat perbedaan yang signifikan antar krim. Hal ini disebabkan karena perbedaan pH

yang tidak terlalu besar saat awal pengukuran dan tidak homogenya krim akibat krim yang mulai mencair pada saat dipanaskan.

Tabel 5.24 menunjukkan hasil uji daya sebar krim pada masing-masing formula, pada formula kontrol, formula I, II dan III. Hasil menunjukkan bahwa semakin banyak *alpha lipoic acid* yang ditambahkan maka diameter dari krim semakin besar. Saat ditambahkan beban seberat 0-100 gram, krim kontrol memiliki diameter yang lebih besar daripada krim formula I, II, dan III. Ini disebabkan karena pada saat diletakkan kaca di atas krim, kemungkinan ada sedikit penekanan sehingga diameter yang dihasilkan lebih besar. Namun pada saat diletakkan beban 200 dan 500 gram, terlihat bahwa krim formula kontrol memiliki diameter yang lebih kecil daripada krim formula I, II, dan III. Semakin besarnya *alpha lipoic acid* yang ditambahkan menyebabkan pH krim menjadi semakin asam, sedangkan basis krim dibuat dalam kondisi basa. Semakin lebarnya diameter krim disebabkan karena saat jumlah *alpha lipoic acid* yang ditambahkan semakin banyak maka konsistensi krim yang dihasilkan semakin rendah. Dengan kata lain, dengan jumlah *alpha lipoic acid* yang makin sedikit maka krim akan semakin kental. Basa yang ditambahkan saat pembuatan krim, yaitu kalium hidroksida, kemampuannya dalam membentuk basa menurun dengan semakin banyaknya asam yang ditambahkan dalam proses pembuatan. Hal ini yang menyebabkan makin tingginya *alpha lipoic acid* yang ditambahkan maka diameter yang dihasilkan makin besar. Semakin besarnya diameter yang dihasilkan, maka krim semakin mudah menyebar di kulit. Ini berarti bahwa semakin tinggi konsentrasi *alpha lipoic acid* yang ditambahkan maka semakin mudah menyebar pada kulit.

Kadar asam askorbat dalam krim kemudian diuji secara statistik menggunakan SPSS IBM 20. Pertama dilakukan uji normalitas. Uji normalitas merupakan suatu uji untuk mengukur apakah data yang digunakan memiliki distribusi normal atau tidak. Hasil dari uji normalitas ini kemudian digunakan untuk menentukan metode analisis selanjutnya yang akan digunakan. Uji normalitas pada penelitian ini menggunakan uji *Shapiro-wilk* karena sampel yang digunakan < 50 . Data dikatakan berdistribusi normal apabila nilai signifikansi $> 0,05$. Tabel 5.25 menunjukkan hasil uji normalitas dari semua kelompok data. Terlihat bahwa terdapat data yang tidak terdistribusi normal dan terdistribusi normal. Semua kelompok data tidak terdistribusi normal kecuali pada kelompok suhu 55°C pada waktu pengambilan 40 menit. Setelah didapatkan normalitas data kemudian dilanjutkan dengan uji beda menggunakan uji parametrik (oneway ANOVA) untuk data berdistribusi normal dan uji non-parametrik (Kruskal-wallis) untuk data yang tidak terdistribusi normal.

Uji beda digunakan untuk mengetahui perbedaan antar formula apakah terdapat perbedaan yang signifikan atau bermakna terhadap kadar asam askorbat yang terukur. Dikatakan antar formula berbeda secara signifikan jika nilai signifikansi sebesar $< 0,05$. Tabel 5.26 dan 5.27 menunjukkan hasil uji beda terhadap empat formula, yaitu formula kontrol, formula I, II, dan III pada masing-masing kelompok perlakuan. Hasil menunjukkan bahwa bahwa pada semua kelompok perlakuan, antara formula kontrol, formula I, formula II, dan formula III memiliki nilai signifikansi $< 0,05$. Ini artinya antara formula kontrol, formula I, formula II, dan formula III menyebabkan perbedaan yang bermakna pada kadar asam askorbat yang terukur. Kemudian dilakukan perbandingan antara 2 formula dengan menggunakan uji beda antara 2 kelompok independen menggunakan uji

parametrik (uji Tukey) untuk data yang terdistribusi normal dan uji non-parametrik (uji Mann-whitney) untuk data yang tidak terdistribusi normal.

Tabel 5.28 dan 5.29 menunjukkan hasil uji beda antara 2 kelompok independen. Pada uji ini terlihat bagaimana perbedaan dari masing-masing formula, apakah berbeda secara bermakna atau tidak. Pada suhu 45°C waktu pengambilan 0 menit, semua nilai signifikansi menunjukkan ada perbedaan yang signifikan, kecuali antara formula I dan formula III. Ini berarti pada suhu 45°C waktu pengambilan 0 menit, antara formula kontrol dan formula I, formula kontrol dan formula II, formula kontrol dan formula III, formula I dan formula II, formula II dan formula III memiliki perbedaan yang signifikan. Sedangkan pada formula I dan formula III tidak berbeda secara signifikan.

Pada suhu 45°C waktu pengambilan 20 menit, semua nilai signifikansi menunjukkan nilai $<0,05$ yang berarti ada perbedaan yang signifikan, kecuali antara formula kontrol dan formula III yang memiliki nilai signifikansi 0,05. Ini berarti pada suhu 45°C waktu pengambilan 20 menit, antara formula kontrol dan formula I, formula kontrol dan formula II, formula I dan formula II, formula I dan formula III, formula II dan formula III memiliki perbedaan yang signifikan. Sedangkan pada formula kontrol dan formula III tidak berbeda secara signifikan.

Pada suhu 45°C waktu pengambilan 40 menit, semua nilai signifikansi menunjukkan nilai $<0,05$ yang berarti ada perbedaan yang signifikan, kecuali antara formula kontrol dan formula I yang memiliki nilai signifikansi 0,05. Ini berarti pada suhu 45°C waktu pengambilan 40 menit, antara formula kontrol dan formula II, formula kontrol dan formula III, formula I dan formula II, formula I dan formula III, formula II dan formula III memiliki perbedaan yang signifikan. Sedangkan pada formula kontrol dan formula I tidak berbeda secara signifikan.

Pada suhu 55°C waktu pengambilan 0 menit, semua nilai signifikansi menunjukkan nilai $<0,05$ yang berarti ada perbedaan yang signifikan antara semua formula. Ini berarti pada suhu 55°C waktu pengambilan 0 menit, antara formula kontrol dan formula I, formula kontrol dan formula II, formula kontrol dan formula III, formula I dan formula II, formula I dan formula III, formula II dan formula III berbeda secara signifikan. Ini menunjukkan bahwa *alpha lipoic acid* mampu mempengaruhi kadar asam askorbat dalam sediaan krim secara bermakna.

Pada suhu 55°C waktu pengambilan 20 menit, semua nilai signifikansi menunjukkan nilai $<0,05$ yang berarti ada perbedaan yang signifikan, kecuali antara formula kontrol dan formula I yang memiliki nilai signifikansi 0,05. Ini berarti pada suhu 55°C waktu pengambilan 20 menit, antara formula kontrol dan formula II, formula kontrol formula III, formula I dan formula II, formula I dan formula III, formula II dan formula III berbeda secara signifikan. Sedangkan pada formula kontrol dan formula I tidak berbeda secara signifikan.

Pada suhu 55°C waktu pengambilan 40 menit, semua nilai signifikansi menunjukkan nilai $<0,05$ yang berarti ada perbedaan yang signifikan antara semua formula. Ini berarti pada suhu 55°C waktu pengambilan 40 menit, antara formula kontrol dan formula I, formula kontrol dan formula II, formula kontrol dan formula III, formula I dan formula II, formula I dan formula III, formula II dan formula III berbeda secara signifikan.

Pada suhu 65°C waktu pengambilan 0 menit, semua nilai signifikansi menunjukkan nilai $<0,05$ yang berarti ada perbedaan yang signifikan antara semua formula. Ini berarti pada suhu 65°C waktu pengambilan 0 menit, antara formula kontrol dan formula I, formula kontrol dan formula II, formula kontrol dan

formula III, formula I dan formula II, formula I dan formula III, formula II dan formula III berbeda secara signifikan.

Pada suhu 65°C waktu pengambilan 20 menit, semua nilai signifikansi menunjukkan nilai <0,05 yang berarti ada perbedaan yang signifikan antara semua formula. Ini berarti pada suhu 55°C waktu pengambilan 20 menit, antara formula kontrol dan formula I, formula kontrol dan formula II, formula kontrol dan formula III, formula I dan formula II, formula I dan formula III, formula II dan formula III berbeda secara signifikan.

Pada suhu 65°C waktu pengambilan 40 menit, nilai signifikansi menunjukkan nilai <0,05 antar formula kontrol dan formula II, formula kontrol dan formula III, formula I dan formula II, formula I dan formula III yang berarti antar formula tersebut berbeda secara signifikan. Sedangkan antara formula kontrol dan formula I, formula II dan formula III memiliki nilai signifikansi >0,05 yang berarti formula tersebut tidak berbeda secara signifikan.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa *alpha lipoic acid* mampu meningkatkan stabilitas dari asam askorbat dalam sediaan krim m/a. Pada pengukuran kadar awal, dengan adanya penambahan *alpha lipoic acid* justru menurunkan jumlah asam askorbat yang terukur. Hal ini disebabkan karena *alpha lipoic acid* justru terion saat proses pembuatan krim m/a, sehingga asam askorbat meregenerasi bentuk kation dari *alpha lipoic acid*, LipSS^+ , dan mengubahnya kembali menjadi bentuk *alpha lipoic acid*. Dengan adanya penambahan *alpha lipoic acid* dapat meningkatkan stabilitas dari asam askorbat, terlihat dari waktu paruh ($t_{1/2}$) dan waktu kadaluarsa (t_{90}) yang lebih panjang dibandingkan dengan formula kontrol. Pada penelitian ini maka konsentrasi *alpha*

lipoic acid yang paling optimum dalam meningkatkan stabilitas asam askorbat adalah konsentrasi 0,3%.

6.2 Implikasi Terhadap Bidang Farmasi

Implikasi dari penelitian ini dapat digunakan sebagai masukan bagi bidang industri yang ingin menggunakan asam askorbat sebagai zat aktif dalam sediaan krim bahwa *alpha lipoic acid* dapat digunakan untuk meningkatkan stabilitas asam askorbat dalam sediaan krim m/a. Namun tetap harus dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui waktu hidup dari asam askorbat saat dikombinasikan dengan *alpha lipoic acid*. Penelitian tentang stabilitas dari asam askorbat akan lebih baik bila dilakukan dengan kondisi penyimpanan yang sesungguhnya (dalam suhu ruang) dan dengan kondisi kelembaban yang diatur, atau dengan menggunakan *climatic chamber*.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan dari penelitian ini yaitu keterbatasan alat yang digunakan dan kurangnya kontrol terhadap lingkungan di sekitar tempat penelitian. Lokasi antar alat yang letaknya agak berjauhan menyebabkan sampel mungkin tercemar atau terpapar zat yang mengganggu stabilitas asam askorbat. Asam askorbat sangat sensitif terhadap cahaya dan oksigen, namun kondisi tempat penelitian tidak mampu mengurangi faktor pengganggu tersebut sehingga hasil yang didapatkan kurang maksimal.