



Formulasi dan Evaluasi Sediaan Krim Pelembab Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Bit (*Beta Vulgaris L.*) Dengan Metode DPPH

Kartika Diah Puspita*, Eny Widhia Agustin

Program Studi Pendidikan Tata Kecantikan, Fakultas Teknik, Universitas Negeri Semarang, Semarang 50229, Jawa Tengah, Indonesia

*Koresponden Penulis : kartikadiahpuspita@gmail.com

Abstrak

Kulit merupakan lapisan terluar tubuh yang berfungsi sebagai pelindung terhadap paparan zat asing dan radikal bebas. Paparan radikal bebas secara terus-menerus dapat menyebabkan stress oksidatif yang dapat dicegah dengan penggunaan antioksidan alami. Salah satu sumber antioksidan alami adalah buah bit (*Beta Vulgaris L.*), yang dapat diformulasikan dalam sediaan krim. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi karakter fisik dan aktivitas antioksidan krim pelembab ekstrak etanol 96% buah bit. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimen murni dengan 2 formula yaitu F1 (10%) dan F2 (15%). Evaluasi sediaan meliputi uji organoleptik, homogenitas, pH, dan viskositas, sedangkan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Seluruh pengujian dilakukan tiga kali replikasi dan analisis data menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk*. Hasil penelitian menunjukkan uji organoleptik dan homogenitas F1 baik selama 4 minggu penyimpanan, sedangkan F2 mengalami perubahan pada minggu ke-3 hingga ke-4 dengan munculnya tekstur dan perubahan warna, uji pH F1 (6,51) dan F2 (5,30) yang sesuai, pada viskositas sediaan krim menunjukkan hasil F1 (1284 cP) dan F2 (1638 cP). Uji aktivitas antioksidan kedua formula memiliki aktivitas antioksidan. Pada formula 2 memiliki nilai IC_{50} sebesar 0,82 ppm yang termasuk kategori sangat kuat, sedangkan formula 1 tidak dapat ditentukan nilai IC_{50} dengan pendekatan interpolasi linier karena seluruh konsentrasi menghasilkan persen inhibisi lebih dari 50% yang mengindikasikan tidak terdapat persen inhibisi yang mengapi 50%. Hasil analisis statistik menggunakan *Independent Samples T-Test* menunjukkan perbedaan signifikan nilai $p < 0,05$ pada uji pH dan viskositas, dan pada aktivitas antioksidan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua formula $p > 0,05$.

Kata kunci: Buah bit, antioksidan, krim, etanol 96%, DPPH.

Abstract

Skin is continuously exposed to free radicals that may induce oxidative stress. Natural antioxidants are widely used to counteract these effects, and beetroot (*Beta vulgaris L.*) is known to contain antioxidant compounds that can be formulated into topical preparations. This study aimed to evaluate the physical characteristics and antioxidant activity of a moisturizing cream containing 96% ethanol extract of beetroot. This research employed a true experimental design. Physical evaluations included organoleptic properties, homogeneity, pH, and viscosity. Antioxidant activity was assessed using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method. The test was conducted triplicate for two different formulations, and the data were analyzed using the Shapiro-Wilk normality test followed by statistical analysis. The results showed that F1 maintained good organoleptic properties and homogeneity throughout four weeks of storage. In contrast, F2 exhibited changes during the third and fourth weeks, characterized by color darkening and the appearance of a granular texture. The pH values of F1 and F2 were 6.51 and 5.30, respectively. The viscosity values were F1 (1284 cP) and F2 (1638 cP). Antioxidant testing demonstrated that F2 had an IC_{50} value of 0.82 ppm, indicating very strong antioxidant activity. The IC_{50} value of F1 could not be determined using linear interpolation because all inhibition percentages exceeded 50%. Statistical analysis revealed significant difference ($p < 0,05$) in pH and viscosity between the formulations, while no significant difference ($p > 0,05$) was observed in antioxidant activity.

Keywords: Beetroot, antioxidant, cream, ethanol 96%, DPPH.

Histori Artikel

Submit : 26 April 2026

Direvisi : 10 Juni 2026

Diterima : 12 Juni 2026

DOI : 10.33474/e-jbst.v12i1.648

Sitasi : K. D. Puspita, E. W. Agustin. Formulasi dan Evaluasi Sediaan Krim Pelembab Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Bit (*Beta Vulgaris L.*) Dengan Metode DPPH. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, vol. 12, no. 1, pp. 29–41, Aug. 2026. <https://doi.org/10.33474/ejbst.v12i1.648>



Pendahuluan

Indonesia sebagai negara tropis memiliki paparan sinar UV yang tinggi, dimana radiasi sinar UV dapat menyebabkan kerusakan pada kulit. Sebagai lapisan terluar, kulit sering terpapar radikal bebas seperti sinar UV, polusi udara, asap rokok, dan lain sebagainya yang menjadi penyebab kulit mengalami kerusakan. Khususnya paparan polusi udara yang memiliki dampak buruk bagi kesehatan kulit, polusi udara yang terdiri dari jelaga, asap, jamur, metana, karbon monoksida dan serbuk sari merupakan polusi umum yang ada pada udara [1]. Akibat dari paparan polusi dapat menyebabkan permasalahan kulit antara lain penuaan (80%), jerawat (26.4%), pigmentasi (70%), dan dermatitis atopik (80% radikal bebas menjadi pemicu laju inflamasi [2]–[5]. Radikal bebas yang terpapar terus menerus dapat membuat stress oksidatif pada kulit, dimana kulit mengalami kerusakan sel, jaringan lemak, protein system kekebalan, merusak serat kolagen, elastin, dan DNA. Sehingga mempercepat proses penuaan dini yang ditandai dengan kulit kendur, muncul kerutan, kulit menjadi kering, kurang elastis, warna kulit tidak merata, garis halus, flek, dan keriput, oleh karena itu perlu perlindungan pada kulit agar penuaan dini tidak [6]–[8].

Perlindungan kulit untuk mengatasi penuaan dini dapat dilakukan dengan cara menggunakan antioksidan. Antioksidan sebagai senyawa yang mampu untuk memperlambat oksidasi akibat radikal bebas, antioksidan yang memiliki kelebihan elektron dapat membuat radikal bebas yang masuk ke dalam kulit tetap stabil [9]. Antioksidan dapat diperoleh melalui bahan sintetik dan alami, namun antioksidan yang berasal dari bahan sintetik belum tentu aman untuk kulit, maka dari itu lebih aman jika menggunakan antioksidan dari bahan alami. Penggunaan bahan alami untuk kesehatan kulit dipercaya dapat memberikan efek yang lebih lembut, toksisitas yang rendah, dan efektif untuk kebutuhan kulit dari pada bahan sintetik yang cenderung agresif dan dapat menyebabkan iritasi pada kulit [10].

Salah satu antioksidan yang berasal dari bahan alami ialah buah bit, pada umumnya buah bit biasa dikonsumsi sebagai jus untuk mengatasi anemia menurunkan tekanan darah, mengendalikan kadar gula, mengurangi peradangan, dan antioksidan dari dalam tubuh. Buah bit memiliki kandungan vitamin C, vitamin A, vitamin B6, mineral, zat besi, magnesium, mangan, kalsium, zin, flavonoid, gula murni, dan betalain [11]. Kandungan flavonoid pada buah bit merupakan senyawa metabolit sekunder yang dapat berfungsi sebagai antioksidan sama dengan vitamin A dan C. Selain sebagai antioksidan, flavonoid juga berfungsi sebagai anti inflamasi, antidiabetes, antibakteri, dan antikanker [12]. Senyawa seperti flavonoid, betalain, vitamin C, dan vitamin A dapat merangsang pembentukan kolagen, mengatasi stress oksidatif, mengikat radikal bebas, dan mengencangkan kulit sehingga dapat mencegah penuaan pada kulit [13]. Berdasarkan skrining fitokimia oleh Ananda dkk. (2023) buah bit memiliki kandungan senyawa flavonoid, steroid, tannin, dan saponin yang merupakan senyawa metabolit atau dapat digunakan sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas [14]. Ekstrak buah bit sebagai antioksidan dapat dibuat dalam sediaan krim pelembab, dimana pelembab bersifat oklusif yang sekaligus dapat memperbaiki skin barrier yang telah rusak akibat radikal bebas.

Pada penelitian Febriani dkk., (2025) menggunakan ekstrak etanol buah bit untuk mengetahui kandungan antioksidan pada sediaan face mist, melalui uji antioksidan menunjukkan bahwa face mist dari ekstrak buah bit mengandung metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, dan tannin yang dapat berfungsi sebagai antioksidan alami [15]. Penelitian yang dilakukan oleh Farika dkk., (2024) mengenai aktivitas antioksidan *lip tint* kombinasi ekstrak buah bit sebagai pewarna alami dan kulit buah manggis menunjukkan ketiga formula memenuhi kriteria baik *lip tint*, dan formula I menunjukkan efektif untuk melindungi bibir dari radikal bebas dengan kandungan antioksidan paling tinggi yaitu dengan nilai IC_{50} sebesar 34,67 [16]. Selain itu pada penelitian Asrini dkk., (2025) kandungan antioksidan dengan metode DPPH pada sampo dari ekstrak buah bit memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} pada FI 68,91 ppm (kuat), FII 42,74, dan FIII 40, 60 (sangat kuat) [17]. Buah bit sebagai tambahan suplemen kesehatan memiliki efektifitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 377,281 ppm [8]. Berdasarkan penelitian sebelumnya menunjukkan efektifitas antioksidan dan pewarna alami dari ekstrak buah bit sebagai sebagai suplemen kesehatan dan produk perawatan maupun kosmetika, akan tetapi belum ada penelitian yang memanfaatkan ekstrak etanol 96% buah bit sebagai krim pelembab dengan kandungan antioksidan alami, selain itu dengan adanya penelitian ini dapat menunjukkan perbedaan hasil kandungan antioksidan pada sediaan krim pelembab dengan sediaan lainnya.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui evaluasi fisik sediaan krim dan aktivitas antioksidan ekstrak buah bit, dengan memanfaatkan bahan alami seperti buah bit yang kaya akan kandungan antioksidan.

Material dan Metode

Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di UPT Laboratorium STIFAR Semarang, Kota Semarang, Jawa Tengah dengan jangka waktu dari bulan Februari 2026 hingga April 2026. Lokasi penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Lokasi Penelitian

Rancangan Penelitian

Peneliti menggunakan metode penelitian kuantitatif dengan desain eksperimen murni yaitu menguji aktivitas antioksidan dan evaluasi fisik sediaan krim pelembab antioksidan yang dianalisis secara statistik.

Pada penelitian ini terdapat 2 formulasi krim pelembab dengan konsentrasi ekstrak buah bit 10% dan 15% yang nantinya akan dilakukan 3 kali replikasi uji yaitu uji pH, uji organoleptik, uji homogenitas, uji viskositas, dan uji antioksidan metode DPPH. Analisis data diperoleh menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk*, apabila data berdistribusi normal ($p > 0,05$). Maka dapat dilakukan uji *Independent Samples T-Test* untuk mengetahui perbedaan antara formula. Apabila data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$), maka digunakan uji *Mann-Whitney U Test*.

Cara Kerja Penelitian

Alat dan Bahan

Bahan bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah buah bit, etanol 96%, senyawa DPPH, aquades, larutan penyangga basa dan asam, karboksilmetilselulosa (CMC), isopropil miristat, asam stearate, trietanolamin, setil alkohol, propilen glikol, metil paraben, vitamin C murni dan propil paraben. Kemudian untuk alat yang digunakan meliputi blender, aluminium foil, rotari evaporator, oven, *waterbath*, cawan petri, neraca analitik, pengaduk kaca, spatula, lumpang dan alu, cawan porselen, *object glass*, pH meter, kertas *whatmann* 0,45 μm , dan alat-alat gelas lainnya [18].

Pembuatan Ekstrak Buah Bit

Buah bit dicuci menggunakan air bersih yang mengalir, kemudian dikupas dan ambil daging buah bit. Daging buah bit diiris tipis-tipis kemudian di keringkan dibawah sinar matahari sampai kering, sampel dihaluskan hingga menjadi serbuk menggunakan blender, kemudian diayak dan ditimbang. Setelah itu dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi pada simplisia buah bit sebanyak 500 gr dengan pelarut 96% dengan perbandingan 1:10 (b/v) dan dimasukkan kedalam wadah tertutup, didiamkan selama 2 hari dan sesekali diaduk. Masrat diendapkan selama 2 hari dan disaring dengan kertas saring untuk



menghasilkan filtrat. Filtrat yang dihasilkan kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan suhu 50°C untuk mendapatkan ekstrak kental [12], [15].

Kemudian hasil ekstrak kental buah bit dihitung rendemennya menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Simplisia}} \times 100\%$$

Formulasi Krim Pelembab

Sediaan diformulasikan dalam bentuk krim tipe M/A. Hal pertama yang dilakukan adalah menimbang semua bahan yang akan digunakan, formulasi sediaan ini terbagi menjadi dua fase utama yaitu fase lipofilik (asam stearat, setil alkohol, dan propil paraben) dan fase hidrofilik (trietanolamin (TEA), metil paraben, dan propilen glikol) didifusikan terlebih dahulu diatas *waterbath* dengan suhu $\pm 70^\circ\text{C}$, dan secara terpisah bahan fase hidrofilik dipanaskan disuhu yang sama. Kemudian, kedua fase dicampur dan diaduk konstan hingga menghasilkan basis krim, lalu masukan ekstrak buah bit secara perlahan kedalam basis krim, dan digerus konstan hingga terbentuk sediaan krim yang homogen sesuai dengan masing-masing konsentrasi [18].

Tabel 1. Formulasi Krim Pelembab

Bahan	Fungsi	Formula (b/b)	
		F1	F2
Ekstrak buah bit	Zat aktif	10	15
Asam stearat	Pengalkal/ Emulgator	7,5	7,5
TEA	Pengalkal/ Emulgator	1	1
Setil alkohol	Stiffening agent	5,5	5,5
Propilen glikol	Humektan	10	10
Metil paraben	Pengawet	0,18	0,18
Propil paraben	Pengawet	0,02	0,02
Aquades	Pelarut	Add 100	Add 100

Tabel 2. Formula Sediaan

Bahan	Formulasi	
	F1	F2
Ekstrak murni	10 gr	15 gr
Basis	90 gr	85 gr
Total Sediaan	100 gr	100 gr

Evaluasi Krim Pelembab Ekstrak Buah Bit

Uji organoleptik

Uji organoleptik dilakukan untuk mengetahui visual sediaan krim pelembab dari tekstur, warna, dan bau mengalami perubahan atau tidak selama 4 minggu pengamatan. Perubahan sediaan dinilai secara visual berdasarkan tekstur yang tidak berubah, warna kemerahan-keunguan, dan aroma khas buah bit.

Uji homogenitas

Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui sediaan krim pelembab homogen atau tidak, dengan cara meletakkan 0,1 g krim pelembab pada objek glass dan diampit dengan objek glass lainnya. Lalu amati dibawah cahaya apakah terdapat butiran kasar atau sediaan krim yang tidak merata.



Uji pH

Uji pH meter dilakukan dengan cara mengambil sediaan krim pelembab sebanyak 0,1 gr yang telah diencerkan dengan aquadest sebanyak 10 ml berdasarkan SNI 16-0218-1998. Kadar pH harus menunjukkan 4,5-8,0 yang aman untuk untuk kulit.

Uji viskositas

Uji viskositas dilakukan menggunakan digital *viscometer* yaitu dengan menyelupkan spindel pada digital *viscometer* kedalam sediaan 30 g yang telah dimasukkan ke dalam beaker glass dan dengan kecepatan yang sesuai [19]. Uji viskositas dilakukan pada suhu ruang 25°C untuk menjaga stabilitas sediaan fisik selama pengujian, sesuai dengan SNI 16-0218-1998.

Uji antioksidan dengan metode DPPH pada sediaan Krim Pelembab

Uji antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) yaitu menguji kandungan antioksidan dalam sediaan menggunakan larutan DPPH.

1) Pembuatan larutan DPPH 30 (µm/mL)

Timbang 10 mg DPPH (BM 394,33 g/mol) dan dilarutkan dengan methanol p.a hingga 100 mL, larutan disimpan pada labu ukur yang dilapisi aluminium foil. Untuk memperoleh konsentrasi 30 µm/mL, dilakukan pengenceran dengan memipet 15 mL larutan stok ke dalam labu ukur 50 mL, lalu ditambahkan methanol p.a hingga tanda batas [20].

2) Pembuatan larutan blanko

3,8 mL larutan DPPH (30 µg/mL) dipipet dan methanol p.a 0,2 mL dihomogenkan, kemudian dimasukkan ke dalam vial, lalu diinkubasi diruangan gelap selama 30 menit. Kemudian, untuk menentukan Panjang gelombang maksimumnya menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 400-800 [20].

3) Pembuatan larutan pembanding vitamin C

Vitamin C sebanyak 26,2 mg dilarutkan dalam methanol p.a hingga volume 25 mL sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 1048 µg/mL. larutan induk kemudian diencerkan menjadi 104,8 µg/mL dengan memipet 1 mL larutan induk ke dalam labu ukur 10 mL dan dicukupkan dengan methanol p.a hingga tanda batas. Selanjutnya dibuat seri konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 µg/mL dengan memipet masing masing 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 mL larutan 104,8 µg/mL ke dalam labu ukur 10 mL, lalu dicukupkan dengan methanol p.a hingga tanda batas.

4) Pengujian aktivitas antioksidan [20]

Pengujian antioksidan menggunakan metode Asra dkk. dengan beberapa modifikasi pada pengenceran larutan. Sebanyak sampel ditimbang dan dilarutkan dalam metanol p.a hingga diperoleh larutan stok. Selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat untuk memperoleh konsentrasi 0,1; 1; 10; 100; 1000 µg/mL. Masing-masing larutan dibuat dalam volume tertentu, kemudian dicukupkan dengan metanol p.a hingga tanda batas labu ukur, sebelum dilakukan pengujian menggunakan larutan DPPH.

Kemudian untuk menentukan aktivitas antioksidan pada masing-masing konsentrasi dipipet dengan larutan sampel 0,2 ml dan 3,8 ml larutan DPPH 30 µm/m dengan pipet micro dimasukkan kedalam vial. Kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit diruangan gelap, serapan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada Panjang gelombang maksimum DPPH. Persentase inhibisi kemudian dihitung berdasarkan nilai absorbansi yang diperoleh untuk menentukan kekuatan antioksidan sampel. Rumus persentase inhibisi sebagai berikut.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

5) Menghitung nilai IC_{50}

Perhitungan nilai IC_{50} dilakukan berdasarkan hubungan antara konsentrasi dan persen inhibisi dari kurva aktivitas antioksidan. Penentuan nilai IC_{50} dilakukan dengan metode interpolasi linier, yaitu dengan menghitung konsentrasi pada saat inhibisi mencapai 50% berdasarkan dua titik yang berada diantara 50% [21]. Rumus interpolasi linier.

$$IC_{50} = x_1 + \frac{(50 - y_1)}{(y_2 - y_1)}(x_2 - x_1)$$

Keterangan:

x_1 = konsentrasi di bawah 50%

y_1 = % inhibisi di bawah 50%

x_2 = konsentrasi di atas 50%

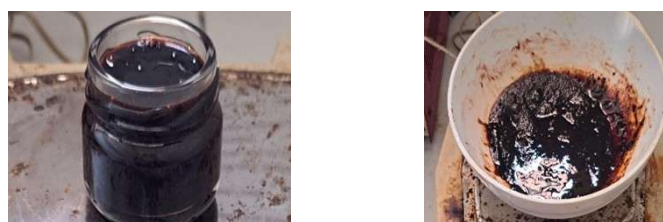
y_2 = % inhibisi di atas 50%

Hasil dan Diskusi

Ekstrak Buah Bit

Proses ekstraksi buah bit dengan metode maserasi selama 2 hari dengan melarutkan serbuk buah bit sebanyak 500 g dengan 5 liter etanol 96%. Etanol 96% bersifat semipolar efektif dalam mencari komponen aktif di dalam buah bit dan dapat berperan sebagai antiseptik yang melindungi ekstrak tetap steril dan tidak terkontaminasi. Pada penelitian ini menghasilkan ekstrak kental berwarna ungu kegelapan dengan berat 74,43 g dan diperoleh rendemen ekstrak sebesar 14,86%. Berdasarkan hasil rendemen sebesar 14,86% menyatakan bahwa penggunaan etanol 96% sebagai pelarut efektif menarik senyawa aktif secara optimal.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{74,34 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\% = 14,86\%$$



Gambar 2. Hasil Ekstraksi Buah Bit

Uji Organoleptik

Pengujian sediaan krim selama 4 minggu dilakukan pengamatan untuk melihat perubahan secara visual dari sediaan krim pelembab yang disimpan didalam suhu ruang. Hasil pengamatan dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil Uji Organoleptik

Formula	Hasil Evaluasi Sediaan Uji Organoleptik (Minggu Ke-)				
	Kriteria	1	2	3	4
	Gambar				
F1	Tekstur	Kental	Kental	Kental	Kental
	Warna	Coklat muda	Coklat muda	Coklat muda	Coklat muda
	Aroma	Khas buah bit	Khas buah bit	Khas buah bit	Khas buah bit

Gambar					
F2	Tekstur	Kental	Kental	Bertekstur	Bertekstur
	Warna	Coklat muda	Coklat muda	Coklat muda	Coklat muda*
	Aroma	Khas buah bit	Khas buah bit	Khas buah bit	Khas buah bit

Keterangan: *=bertambah gelap/oksidasi

Berdasarkan hasil pengamatan visual pada sediaan krim pelembab ekstrak buah bit didapatkan hasil warna yang cenderung coklat muda, sedangkan secara teoritis buah bit memiliki pigmen betasianin yang menghasilkan warna merah keunguan. Namun, pada sediaan krim pelembab terjadi perubahan warna segera setelah proses formulasi selesai dilakukan. Degradasi warna pada pigmen betalain menurun seiring waktu diikuti dengan perubahan parameter warna kemerahan menjadi pucat, hal ini terjadi akibat suhu ruang dan lama penyimpanan setelah terbentuk ekstrak [22]. Pigmen betalain bersifat termolabil yang sensitif terhadap panas. Perubahan pigmen terjadi akibat paparan suhu pada saat pencampuran fase basis terdapat pengadukan yang menyebabkan struktur kromofor merah menjadi senyawa turunan yaitu betalamin yang memiliki warna kekuningan [23].

Berdasarkan keterangan pada **Tabel 3**, pada F1 tidak mengalami perubahan atau oksidasi dari minggu ke-1 hingga minggu ke-4. Sedangkan, pada F2 mengalami perubahan warna yang semakin gelap dan tekstur yang tidak homogen pada minggu ke-3 dan ke-4. Mengingat karakteristik senyawa aktif bahan alami yang cenderung tidak stabil terhadap faktor eksternal, menyebabkan sediaan krim ekstrak buah bit memiliki masa simpan yang terbatas [24]. Pada F2 (15%) memiliki konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi, menyatakan lebih banyak zat alami di dalamnya, sehingga menyebabkan F2 lebih sensitif dan lebih cepat oksidasi.

Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan untuk melihat tercampurnya bahan-bahan sediaan secara merata, dengan tidak terdapat butiran halus atau partikel yang memisah [25]. Pengujian homogenitas dilihat secara visual dan dapat dilihat pada **Tabel 3**, pada F1 menunjukkan susunan yang homogen sejak awal penyimpanan, karena proses pengadukan yang konstan oleh kombinasi emulgator yang tepat mampu menurunkan tegangan sehingga sediaan tetap homogen hingga akhir penyimpanan [26]. Sedangkan F2 mengalami perubahan konsistensi menjadi bertekstur pada minggu ke-3 dan minggu ke-4. Pada F2 menunjukkan terdapat tekstur halus, hal ini berkaitan dengan beban konsentrasi zat aktif alami yang lebih tinggi pada F2 [27]. Peningkatan ekstrak kental buah bit menyebabkan akumulasi total padatan terlarut melebihi kapasitas ikatan basis krim, maka terjadinya penurunan kestabilan batas antarmuka emulsi yang memicu zat aktif saling mengelompok.

Uji pH

Kadar pH yang baik mempengaruhi keamanan terhadap kulit, berdasarkan SNI 16-0218-1998 kadar pH yang baik antara 4,5-8,0. Jika kadar pH terlalu asam atau terlalu basa akan memberikan efek terhadap kualitas sediaan krim pelembab ekstrak buah bit, berdasarkan hasil uji laboratorium sediaan krim pelembab memiliki rata-rata pH pada **Tabel 4**.

Berdasarkan keterangan tabel diatas F1 (6,51) dan F2 (5,30) memiliki kadar pH yang stabil berada diantara 4,5 hingga 8,0. Perbedaan nilai pH dari kedua formula terjadi akibat bobot ekstrak pada F2 sebanyak 15% menunjukkan hasil pH 5,30 lebih asam. Tumbuhan alami cenderung bersifat asam. Maka dari itu, semakin banyak konsentrasi ekstrak yang ditambahkan menyebabkan hasil pH lebih asam (menurun). Meskipun terjadi perubahan warna segera setelah formulasi, hasil pH sediaan tetap berada dalam rentang yang aman untuk kulit. Melalui data tersebut, hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk*



menggunakan *Independent Samples T-Test* menunjukkan terdapat perbedaan pH yang signifikan antara F1 (6,51) dan F2 (5,30) yaitu sebesar 0,000 ($p < 0,05$).

Tabel 4. Hasil Uji pH Sediaan Krim

Formula	pH (replikasi)	Rentang pH	Rata-rata
F1	6,50	4,5 - 8,0	6,51
	6,49		
	6,54		
F2	5,28		5,30
	5,33		
	5,31		

Uji Viskositas

Uji viskositas merupakan uji untuk mengukur tingkat kekentalan suatu sediaan semi-padat. Berdasarkan standar SNI 16-0218-1998 viskositas yang baik untuk sediaan krim diantara 2000 -50.000 cP, hasil uji viskositas sediaan krim pelembab dari ekstrak buah bit dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Hasil Uji Viskositas

Replikasi	Spindel	RPM	Viskositas	
			F1 (10%)	F2 (15%)
1	64	100	1188 cP	1728 cP
2	64	100	1278 cP	1620 cP
3	64	100	1386 cP	1554 cP
Rata-Rata			1284 cP	1634 cP

Pada uji viskositas F1(10%) dan F2 (15%) dilakukan dengan kecepatan 100 rpm menggunakan spindel 64, nilai viskositas menunjukkan konsistensi yang cenderung ringan. Kecepatan 100 rpm pada sediaan krim yang bersifat non-newtonian akan menunjukkan kekentalan yang lebih rendah, dibandingkan kondisi saat krim diam.

Hasil menunjukkan F2 (15%) memiliki nilai viskositas yang lebih tinggi yaitu sebesar 1634 cP. Hal ini berkaitan dengan besar ekstrak mempengaruhi penambahan zat padat pada sediaan yang memperkuat struktur basis krim. Meskipun demikian, rendahnya viskositas bersifat *spreadable* dan mudah menyerap tanpa meninggalkan rasa lengket pada permukaan kulit, selain itu mempermudah distribusi zat aktif. Berdasarkan data di atas dilakukan uji hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* menggunakan *Independent Samples T-Test* menunjukkan terdapat perbedaan viskositas yang signifikan antara F1 (1284 cP) dan F2 (1634 cP) sebesar 0,000 ($p < 0,05$).

Uji Larutan Pembanding Vitamin C

Vitamin C digunakan sebagai kontrol dalam penelitian ini karena memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang kuat melalui mekanisme donasi elektron untuk menstabilkan radikal bebas. Berdasarkan pengujian, nilai IC_{50} vitamin C yang diperoleh melalui pendekatan interpolasi linier adalah sebesar 2,13 ppm, yang menunjukkan aktivitas antioksidan sangat kuat. Nilai ini menunjukkan bahwa vitamin C mampu menangkal 50% radikal bebas pada konsentrasi yang relatif rendah. Penentuan IC_{50} menggunakan interpolasi linier dianggap lebih tepat karena data tidak menunjukkan hubungan linier



secara keseluruhan. Selain itu, nilai IC_{50} yang diperoleh juga dapat dipengaruhi oleh rentang konsentrasi yang digunakan dalam pengujian serta kondisi metode yang diterapkan. Hasil persen inhibisi dapat dilihat pada **Tabel 6**.

Tabel 6. Hasil Larutan Pembanding Vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Inhibisi (%)
2,0960	49,80
4,1920	61,14
6,2880	69,28
8,3840	53,87
10,4800	72,86

Uji Antioksidan Dengan Metode DPPH

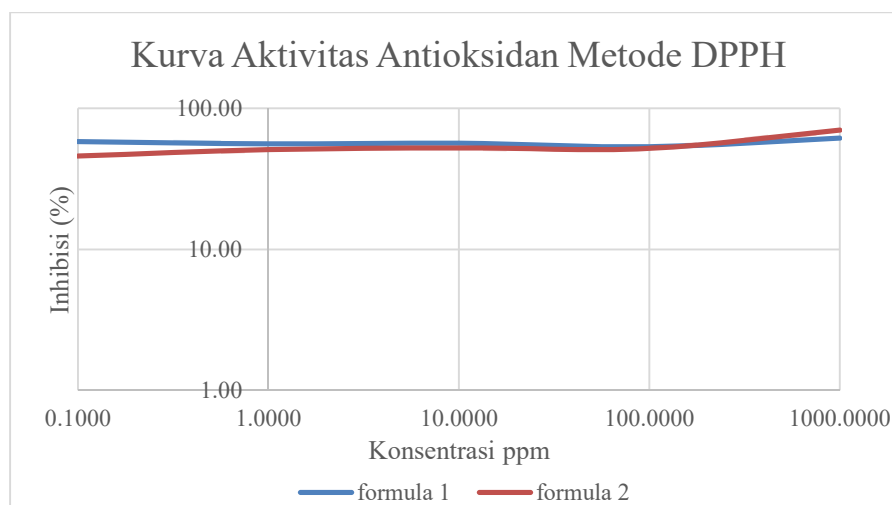
Aktivitas antioksidan krim dari ekstrak buah bit diukur menggunakan metode *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*, pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang maksimum 517 nm, berdasarkan hasil pengujian diperoleh data persen inhibisi yang disajikan dalam bentuk rata-rata $\pm$ standar deviasi dari tiga kali replikasi. Data terdapat pada **Tabel 7**.

Tabel 7. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Konsentrasi (ppm)	Mean Sd	
	Inhibisi (%)	
	F1(10%)	F2(15%)
1000,0000	61,50 $\pm$ 5,21	70,19 $\pm$ 4,45
100,0000	53,52 $\pm$ 8,18	52,00 $\pm$ 5,91
10,0000	56,68 $\pm$ 16,34	52,49 $\pm$ 12,13
1,0000	56,10 $\pm$ 7,59	51,00 $\pm$ 6,52
0,1000	58,17 $\pm$ 9,62	45,87 $\pm$ 2,21

Hasil pengujian menunjukkan kedua formula memiliki kemampuan untuk meredam radikal bebas yang ditunjukkan hampir seluruh inhibisi di atas 50% pada berbagai konsentasi. Semakin tinggi persen inhibisi menunjukkan semakin besar kemampuan sampel untuk menangkap radikal bebas [28]. Pada F1 memiliki nilai inhibisi (%) sebesar 58,17 $\pm$ 9,62 pada konsentrasi 0,1 ppm, dan semakin meningkat hingga 61,50 $\pm$ 5,21 pada konsentrasi 1000 ppm, nilai inhibisi (%) F1 menunjukkan kurva yang relatif datar dan persentase inhibisi berada pada rentang yang hampir sama meskipun konsentrasi sampel mengalami perubahan yang cukup besar. Secara teoritis, peningkatan konsentrasi antioksidan seharusnya diikuti oleh peningkatan aktivitas peredam radikal bebas. Akan tetapi, pada formula 1 perubahan konsentrasi tidak menunjukkan peningkatan persen inhibisi yang proposional, kondisi tersebut menunjukkan bahwa hubungan dosis-respon belum terbentuk dengan baik, sehingga antioksidan yang terukur cenderung seragam pada berbagai konsentrasi.

Sementara itu, pada hasil uji antioksidan F2 menunjukkan nilai inhibisi (%) sebesar 45,87 $\pm$ 2,21 pada konsentrasi 0,1 ppm dan meningkat hingga 70,19 $\pm$ 4,45 pada konsentrasi 1000 ppm. Berbanding terbalik dengan F1, F2 menunjukkan adanya peningkatan aktivitas antioksidan seiring dengan peningkatan konsentrasi. Pada F2 memiliki pola yang lebih jelas, hal ini menunjukkan peningkatan ekstrak memiliki pengaruh terhadap hasil antioksidan yang lebih baik dari kedua formula. Perbedaan pola aktivitas antioksidan F1 dan F2 dapat dilihat pada gambar kurva berikut.



Gambar 2. Kurva Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Berdasarkan kurva hubungan antara nilai inhibisi (%) dengan peningkatan konsentrasi, menunjukkan F2 (15%) memiliki peningkatan aktivitas antioksidan yang lebih jelas dan teratur terhadap perubahan konsentrasi di banding F1(10%) [29].

Nilai IC_{50} Sediaan Krim Antioksidan Ekstrak Buah Bit

Dalam uji antioksidan untuk menentukan suatu sediaan memiliki kekuatan untuk menangkal radikal bebas diukur dengan memperoleh nilai IC_{50} . Penentuan nilai IC_{50} menggunakan pendekatan interpolasi linier yaitu dengan memperkirakan dua titik berada diantara konsentrasi yang menghasilkan 50% inhibisi. Pendekatan interpolasi linier digunakan karena data tidak menunjukkan hubungan linier secara keseluruhan, namun dalam rentang konsentrasi yang sempit diantara 50% inhibisi dapat diasumsikan memiliki hubungan yang linier, sehingga pendekatan ini dapat digunakan untuk memperoleh nilai IC_{50} yang representatif dibandingkan menggunakan regresi linier pada seluruh data yang tidak memenuhi asumsi linieritas.

Pada F2 (15%) terdapat nilai yang berada diantara 50% inhibisi yaitu pada konsentrasi 0,1 ppm sebesar 45,87% dan konsentrasi 1 ppm sebesar 51,00%. Berdasarkan data tersebut diperoleh nilai IC_{50} F2 sebesar 0,82 ppm, yang dikategorika sebagai antioksidan yang sangat kuat. Nilai IC_{50} yang rendah menunjukkan bahwa dalam konsentrasi yang relatif kecil, sampel sudah mampu memberikan efek inhibisi yang signifikan terhadap radikal bebas. Selain itu, F2 menunjukan hubungan dosis-respon yang baik, dimana persen inhibisi meningkat 45,87% pada konsentrasi 0,01 ppm menjadi 70,19% pada konsentrasi 1000 ppm. Hasil ini mengindikasikan bahwa peningkatan konsentrasi sampel diikuti oleh peningkatan aktivitas antioksidan [30]. Aktivitas antioksidan ekstrak buah bit dalam berbagai sediaan memiliki perbedaan yang signifikan, dalam penelitian yang dilakukan oleh ekstrak murni buah bit menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 65,48 ppm yang termasuk kategori kuat [31]. Selain itu, ekstrak buah bit digunakan sebagai tambahan suplemen kesehatan memiliki nilai antioksidan sebesar 122,742 ppm (lemah) dan 377,281 ppm (sangat lemah) [8]. Ekstrak buah bit dalam formulasi nanomolusi dalam berbagai persen bobot ekstrak diperoleh nilai IC_{50} tertinggi sebesar 136,475 ppm yang memiliki kategori antioksidan lemah.

Sedangkan, pada F1 (10%) tidak menunjukan hubungan dosis-respon yang jelas. Persentase inhibisi relatif konstan yaitu berkisaran antara 60,47-64,05 %, meskipun konsentrasi sampel mengalami pengenceran bertingkat. Seluruh konsentrasi menghasilkan persen inhibisi diatas 50%. Secara teoritis aktivitas penangkalan radikal DPPH meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi sampel. Namun, pada F1 (10%) pola tersebut tidak terlihat, sehingga kurva dosis-respon tidak terbentuk dengan baik. Kondisi ini menyebabkan nilai IC_{50} yang diperoleh menjadi kurang representatif. Fenomena serupa telah dilaporkan pada metode DPPH, dimana hubungan antara konsentrasi antioksidan dan aktivitas peredam radikal tidak selalu bersifat linier sehingga dapat menimbulkan inkonsistensi dalam penentuan IC_{50}



[32]. Karena seluruh nilai persen inhibisi di atas 50%, tidak terdapat dua titik yang mengapit 50% inhibisi. Oleh karena itu, nilai IC_{50} F1 tidak dapat ditentukan menggunakan pendekatan interpolasi linier. Hasil persen inhibisi diatas 50% dinyatakan sesuai dengan teori murni oleh molyneux, bahwa antioksidan memiliki efek untuk menagkal radikal bebas [33].

Vitamin C sebagai kontrol positif menghasilkan IC_{50} sebesar 2,13 ppm yang termasuk kategori antioksidan yang sangat kuat. Secara deskriptif, nilai IC_{50} F2 lebih rendah dibandingkan vitamin C. Namun demikian, interpretasi hasil tersebut perlu dilakukan secara hati-hati karena nilai IC_{50} dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti rentang konsentrasi yang digunakan, kondisi pengujian, karakteristik sampel, serta metode analisi yang diterapkan. Oleh karena itu, perbandingan aktivitas antioksidan antara sampel tidak dapat didasarkan hanya pada nilai IC_{50} semata. Berdasarkan hasil data menunjukkan bahwa bentuk sediaan sangat mempengaruhi aktivitas antioksidan yang dihasilkan. Selain bentuk sediaan, nilai IC_{50} dapat bervariasi tergantung konsentrasi DPPH dan rentang konsentrasi sampel yang digunakan [21].

Hasil analisis statistik uji normalitas *Shapiro-Wilk* menggunakan *Independent Samples T-Test* menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara F1(0,525) dan F2 (0,537) $p > 0,05$.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, sediaan krim pelembab ekstrak buah bit F1 (10%) menunjukkan stabilitas fisik yang lebih baik dibandingkan F2 (15%). Selama penyimpanan 4 minggu, F1 (10%) tetap mempertahankan homogenitas dan organoleptic, sedangkan F2 (15%) mengalami perubahan warna menjadi lebih gelap dan bertekstur pada minggu ke-3 hingga minggu ke-4. Nilai pH kedua formula berada pada rentang yang sesuai dengan rata-rata pH F1 (10%) sebesar 6,51 dan F2 (15%) sebesar 5,30. Hasil pengujian viskositas menunjukkan rata-rata viskositas F1 (10%) sebesar 1284 cP dan F2 (15%) sebesar 1634 cP, namun kedua formula masih memiliki viskositas yang lebih rendah dibandingkan persyaratan viskositas sediaan krim. Hasil pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH menunjukkan bahwa kedua formula memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. F2 menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 0,82 ppm yang menunjukkan kemampuan peredaman radikal bebas. Sementara itu, nilai IC_{50} F1 tidak dapat ditentukan menggunakan metode interpolasi linier karena seluruh persen inhibisi berada diatas 50% pada rentang konsentrasi yang diuji, sehingga tidak diperoleh dua titik pengamatan yang mengapit 50% inhibisi. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan anatara F1 dan F2 pada parameter pH dan viskositas ($p < 0,05$). Namun, pada parameter aktivitas antioksidan DPPH tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua formula ($p > 0,05$).

Daftar Pustaka

- [1] W. Roberts, "Air pollution and skin disorders," *Int. J. Women's Dermatol.*, vol. 7, no. 1, pp. 91–97, 2021, doi: 10.1016/j.ijwd.2020.11.001.
- [2] K. Sieradocha, "Air pollution and skin aging," *Qual. Sport*, no. 32553, pp. 1–14, 2024.
- [3] J. Yang, H. Yang, A. Xu, and L. He, "A review of advancement on influencing factors of acne: An emphasis on environment characteristics," *Front. Public Health*, vol. 8, 2020, doi: 10.3389/fpubh.2020.00450.
- [4] E. N. De Gálvez *et al.*, "The potential role of UV and blue light from the sun, artificial lighting, and electronic devices in melanogenesis and oxidative stress," *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, vol. 228, 2022, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2022.112405.
- [5] Y. R. Woo, S. Park, K. Choi, E. S. Hong, and S. Kim, "Air pollution and atopic dermatitis (AD): The impact of particulate matter (PM10) on an AD mouse-model," *Int. J. Mol. Sci.*, 2020.
- [6] S. N. Yusharyahya, "Mekanisme penuaan kulit sebagai dasar pencegahan dan pengobatan kulit menua," *eJournal Kedokt. Indones.*, vol. 9, no. 2, p. 150, 2021, doi: 10.23886/ejki.9.49.150.
- [7] I. N. E. Lister, H. L. Amiruddin, E. Fachrial, and E. Girsang, "Anti-aging effectiveness of avocado peel extract ointment (*Persea americana* Mill.) against hydration, collagen, and elasticity levels in Wistar rat," *J. Pharm. Res. Int.*, vol. 33, pp. 173–184, 2021, doi: 10.9734/jpri/2021/v33i32b31760.



- [8] Tukiran, M. G. Miranti, I. Dianawati, and F. I. Sabila, "Aktivitas antioksidan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dan buah bit (*Beta vulgaris* L.) sebagai bahan tambahan minuman suplemen," *J. Kim. Ris.*, vol. 5, no. 2, pp. 113–119, 2020.
- [9] T. T. Irianti, Sugiyanto, S. Nuranto, and Kuswandi, *Antioksidan*. Yogyakarta, Indonesia, 2017.
- [10] M. Michalak, "Plant extracts as skin care and therapeutic agents," *Int. J. Mol. Sci.*, 2023.
- [11] D. Székely, D. Furulyás, and M. Stéger-Máté, "Investigation of mineral and vitamin C contents in different parts of beetroots (*Beta vulgaris* L.)," *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca*, vol. 47, no. 3, pp. 615–620, 2019, doi: 10.15835/nbha47311394.
- [12] R. L. Vifta *et al.*, "Analisis flavonoid total ekstrak buah bit (*Beta vulgaris* L.) berdasarkan metode dan lama," *J. Res. Pharm.*, vol. 5, no. 1, pp. 86–98, 2025.
- [13] R. K. Saputri *et al.*, "Aktivitas antioksidan dan karakterisasi nanopartikel ekstrak kulit salak Wedi sebagai kosmetik antiaging," *Biosci. J. Ilm. Biol.*, vol. 12, no. 1, pp. 37–49, 2024.
- [14] T. P. Ananda, Y. Febriani, and S. Sudewi, "Formulasi sediaan body lotion dari ekstrak etanol buah bit (*Beta vulgaris* L.) sebagai pelembap kulit dan antioksidan," *J. Pharm. Sci.*, vol. 6, no. 3, pp. 980–988, 2023, doi: 10.36490/journal-jps.com.v6i3.51.
- [15] Y. Febriani, N. Sari, and P. P. Melisa, "Formulasi dan uji antioksidan sediaan face mist dari ekstrak etanol buah bit (*Beta vulgaris* L.) sebagai pelembap wajah," *Forte J.*, vol. 5, pp. 34–43, 2025.
- [16] A. Farika, L. M. Jauharina, A. R. Maulida, and I. Kristianingsih, "Aktivitas antioksidan lip tint kombinasi buah bit dan ekstrak kulit buah manggis sebagai antioksidan alami pelindung bibir," *Cendekia J. Pharm.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–9, 2024.
- [17] D. P. Asrini, A. Retnaningsih, and E. R. Sembiring, "Formulation and antioxidant activity test shampoo preparations of red beet extract (*Beta vulgaris* L.) with DPPH method," *J. Anal. Farm.*, vol. 10, pp. 16–31, 2025.
- [18] D. W. C. Susanto, P. V. Yamlean, and K. L. Mansauda, "Formulasi dan evaluasi krim kombinasi ekstrak kulit semangka (*Citrullus lanatus*) dan ekstrak kulit pepaya (*Carica papaya* L.) sebagai pelembap," *Pharmacon*, vol. 13, no. 1, p. 470, 2024, doi: 10.35799/pha.13.2024.49564.
- [19] D. Melinda and Tatiana, "Formulasi dan uji efektivitas kelembaban sediaan krim body scrub kombinasi tepung beras ketan hitam (*Oryza sativa* L. var. glutinosa) dan ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanni*)," *J. Kesehat. Bhakti Husada Mulia Madiun*, vol. 10, no. 1, pp. 1–14, 2023.
- [20] R. Asra, R. D. Yetti, D. Ratnasari, and N. Nessa, "Studi fisikokimia betasianin dan aktivitas antioksidan dari umbi bit merah (*Beta vulgaris* L.)," *J. Pharm. Sci.*, vol. 3, no. 1, pp. 14–21, 2020, doi: 10.36490/journal-jps.com.v3i1.35.
- [21] F. Martinez *et al.*, "Use of standardized units for a correct interpretation of IC50 values obtained from the inhibition of the DPPH radical by natural antioxidants," *Chem. Pap.*, vol. 74, no. 10, pp. 3325–3334, 2020, doi: 10.1007/s11696-020-01161-x.
- [22] N. Kay and D. Atalay, "Color stability and change in bioactive compounds of red beet juice concentrate stored at different temperatures," *J. Food Sci. Technol.*, vol. 56, no. November, pp. 5097–5106, 2019, doi: 10.1007/s13197-019-03982-5.
- [23] K. S.-Świeży *et al.*, "Dehydrogenation of betacyanins in heated betalain-rich extracts of red beet (*Beta vulgaris* L.)," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, 2022.
- [24] I. S. Pratiwi *et al.*, "Literature review: Physical stability evaluation of various natural extract-based preparations," vol. 8, no. 1, pp. 625–631, 2026, doi: 10.56338/ijhess.v8i1.10091.
- [25] N. I. Safitri, N. Ermawati, and N. Oktaviani, "Formulasi sediaan krim pelembab ekstrak air buah *Citrullus lanatus*," vol. 1, no. 1, pp. 1–14, 2022.
- [26] R. I. Tranggono and F. Latifah, *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Jakarta, Indonesia: PT Gramedia Pustaka Utama, 2007.
- [27] K. Sayuti and R. Yenrina, *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang, Indonesia, 2015.
- [28] N. Amalina, M. Muslima, D. Hidayat, M. Febriansyah, and Z. Pazira, "Pengujian aktivitas antioksidan pada teh celup dengan metode DPPH," vol. 2, no. 3, pp. 80–87, 2024.



- [29] P. D. Prenzler, D. Ryan, and K. Robards, *Introduction to Basic Principles of Antioxidant Activity*, no. 28, 2021.
- [30] N. F. Santos-Sánchez, R. Salas-Coronado, C. Villanueva-Cañongo, and B. Hernández-Carlos, "Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism," 2019. [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.85270>.
- [31] S. Kedaton, C. Putri, M. Ramadhan, and U. Bit, "Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol umbi bit (*Beta vulgaris* L.) menggunakan metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)," vol. 3, pp. 1–7, 2025.
- [32] B. Brummelhaus, D. Menezes, L. Mironuk, R. Duarte, M. Antonio, and M. Barcellos, "A critical examination of the DPPH method: Mistakes and inconsistencies in stoichiometry and IC50 determination by UV-Vis spectroscopy," *Anal. Chim. Acta*, vol. 1157, p. 338398, 2021, doi: 10.1016/j.aca.2021.338398.
- [33] P. Molyneux, "The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity," *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, vol. 26, no. 2, pp. 211–219, 2004.