

**VALIDASI METODE PENETAPAN KADAR ANTIOKSIDAN
LOTION FRAKSI DAUN MIANA (*Coleus artropurpureus L.
Benth*) DENGAN METODE DPPH SECARA
SPEKTROFOTOMETER UV-Vis**

SKRIPSI



Oleh:

MILLENIA RAMADHANI

1813206015

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG**

2022

**VALIDASI METODE PENETAPAN KADAR ANTIOKSIDAN
LOTION FRAKSI DAUN MIANA (*Coleus artropurpureus L.
Benth*) DENGAN METODE DPPH SECARA
SPEKTROFOTOMETER UV-Vis
SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana
Farmasi (S. Farm.) Program Studi S1 Farmasi
STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung



Oleh:

MILLENIA RAMADHANI

1813206015

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG**

2022

**VALIDASI METODE PENETAPAN KADAR ANTIOKSIDAN
LOTION FRAKSI DAUN MIANA (*Coleus artropurpureus L.
Benth*) DENGAN METODE DPPH SECARA
SPEKTROFOTOMETER UV-Vis**

SKRIPSI

Yang diajukan oleh:

MILLENIA RAMADHANI

1813206015

Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama ,

Afidatul Muadifah, S.Si., M.Si
NIDN. 0708039102

Pembimbing Pendamping,

Apt. Dara Pranidya Tilarso, M. Farm
NIDN. 0719128906

**VALIDASI METODE PENETAPAN KADAR ANTIOKSIDAN
LOTION FRAKSI DAUN MIANA (*Coleus artropurpureus L.*
Benth) DENGAN METODE DPPH SECARA
SPEKTROFOTOMETER UV-Vis**

SKRIPSI

Oleh :

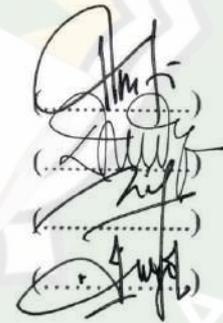
MILLENIA RAMADHANI

1813206015

Telah lolos uji etik penelitian dan pertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

Tanggal : 3 November 2022

Ketua Penguji : Afidatul Muadifah, S. Si., M. Si
Anggota Penguji : 1. apt. Dara Pranidya Tilarso, M. Farm
2. apt. Arif Santoso, M.Farm.
3. Rahma Diyan Martha, S.Si., M.Sc



Mengetahui

Ketua STIKes Karya Putra Bangsa



apt. Arif Santosa, M.Farm.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Tulungagung, 1 November 2022

Penulis,

Millenia Ramadhani

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wa Rahmatullahi Wa Barakaatuh.

Dengan mengucap syukur kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Adapun judul proposal skripsi ini "Validasi Metode Penetapan Kadar Antioksidan *Lotion* Fraksi Daun Miana (*Coleus arthropurpureus L.Benth*) Dengan Metode DPPH Secara *Spektrofotometer Uv-Vis*". Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat melakukan penelitian pada program studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.

Penulis menyadari bahwa selama masa perkuliahan hingga penyusunan proposal skripsi ini telah memperoleh bantuan, bimbingan, dan motivasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT yang senantiasa bersama penulis baik dalam suka maupun duka, yang selalu ada dan memudahkan penulis bagaimanapun keadaan penulis.
2. Bapak apt. Arif Santosa, M.Farm. selaku ketua STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
3. Ibu Apt. Dara Pranidya Tilarso, M.Farm. selaku Kaprodi S1 Farmasi dan pembimbing akademik STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
4. Ibu Afidatul Muadifah, M. Si. selaku pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini.
5. Ibu Apt. Dara Pranidya Tilarso, M.Farm. selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini.
6. Bapak dan Ibu Dosen di lingkungan STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung, khususnya Dosen Jurusan Farmasi yang telah memberikan pengajaran dan pemahaman yang tulus sehingga menambah wawasan dan pengetahuan penulis.
7. Kedua orang tua penulis Bapak Suratmin dan Ibu Endang Sulastri serta keluarga besar penulis, terimakasih atas do'a, dukungan moril maupun materil, kesabaran, dan pengertiannya sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini.
8. Teman-teman angkatan 2018 program Studi S1-Farmasi terimakasih untuk kebersamaan, dukungan, motivasi, semangat, dan do'a yang telah diberikan,

khususnya temanku Nurisma yang telah membeikan motivasi juga membantu agar skripsi ini selesai. Tak lupa kepada teman-teman departemen kimia (Ikke, Ernisa , Intan, Ria, Mellika) terimakasih untuk kebersamaan, semangat, dan dukungannya.

9. Kepada diriku sendiri, terimakasih sudah mau untuk tidak menyerah dan tidak berhenti.
10. Kepada pihak-pihak lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, yang telah memberikan dukungan, semangat, bantuan dan doa hingga terwujudnya proposal skripsi ini. Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna. Penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca dan berharap proposal ini dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang farmasi.

Terima kasih. Wassalamu'alaikum Wa Rahmatullahi Wa Barakaatuh.

Tulungagung, Oktober 2022

Penulis,

Millenia Ramadhani

**Validasi Metode Penetapan Kadar Antioksidan *Lotion* Fraksi Daun Miana
(*Coleus atropurpureus L.Benth*) dengan Metode DPPH Secara
*Spektrofotometer Uv-Vis***

Millenia Ramadhani
Program Studi S1 Farmasi

INTISARI

Daun miana (*Coleus atropurpureus L. Benth*) mengandung sumber antioksidan yang baik bagi kulit berupa senyawa fenolik atau polifenolik yang terdiri dari golongan flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui validitas metode pada penetapan kadar antioksidan fraksi daun miana dengan metode DPPH secara spektrofotometer UV-Vis serta mengetahui aktivitas antioksidan dan stabilitas fisik sediaan *lotion* fraksi daun miana. Fraksi aquadestilata, etil asetat, dan n-heksan daun miana dibuat variasi konsentrasi 20, 40, dan 60 ppm. Selanjutnya diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH dengan vitamin C sebagai pembanding dengan variasi konsentrasi 2, 6, dan 10 ppm. Hasil pengujian aktivitas antioksidan menunjukkan fraksi aquadestilata merupakan fraksi optimum dengan nilai IC₅₀ 79,943 ppm dan aktivitas antioksidan kuat. Kemudian fraksi aquadestilata daun miana diformulasi menjadi sediaan *lotion* antioksidan. Diperoleh nilai IC₅₀ pada sediaan *lotion* yaitu 47,387 ppm dengan aktivitas antioksidan sangat kuat dan sediaan telah memenuhi setiap parameter uji mutu fisik. Hasil validasi metode didapatkan nilai koefisien korelasi (R) sebesar 0,9997 tergolong linier, % *recovery* sebesar 98% tergolong akurat, RSD sebesar 0,014% tergolong sangat teliti, LOD sebesar 0,005 ppm, dan LOQ sebesar 0,016 ppm. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan metode yang digunakan valid karena semua parameter memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan.

Kata kunci : Validasi metode, antioksidan, *lotion*, fraksi daun miana (*Coleus atropurpureus L. Benth*), DPPH

***Validation of the Antioxidant Level Determination of Miana Leaf Fraction
(*Coleus atropurpureus* L. Benth) with the DPPH Method by Uv-Vis
Spectrophotometer***

Millenia Ramadhani

S1 Pharmacy Study Program

ABSTRACT

*Miana leaves (*Coleus atropurpureus* L. Benth) contain a good source of antioxidants for the skin of phenolic or polyphenolic compounds consisting of flavonoids. This study aims to determine the validity of the method on the determination of the antioxidant level of the miana leaf fraction using the UV-Vis spectrophotometer and to determine the antioxidant activity and physical stability of the miana leaf fraction lotion preparation. The fraction of aquadest, ethyl acetate, and n-hexane leaves are varied in concentrations of 20, 40, and 60 ppm. Furthermore, the antioxidant activity was tested using the DPPH method with vitamin C as a comparison with the concentration variations of 2, 6, and 10 ppm. The results of antioxidant activity tests showed that the aquadest fraction is the optimum fraction with an IC₅₀ value of 79.943 ppm and strong antioxidant activity. Then the aquadest fraction of miana leaves is formulated into an antioxidant lotion. The IC₅₀ value in lotion preparation is 47.387 ppm with very strong antioxidant activity and the preparation has met every physical quality test parameter. The method validation results were obtained by a correlation coefficient value (R) of 0.9997 being linear, a recovery of 98% being accurate, an RSD of 0.014% being very precise, a LOD of 0.005 ppm, and a LOQ of 0.016 ppm. Based on these results it can be said that the method used is valid because all parameters meet the predefined requirements.*

Keywords : *Validation of methods, antioxidants, lotions, miana leaf fractions (*Coleus atropurpureus* L. Benth), DPPH*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
INTISARI.....	vii
<i>ABSTRACT</i>	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Tanaman Miana (<i>Coleus artropurpureus</i> L. Benth)	6
2.1.1 Taksonomi.....	6
2.1.2 Morfologi	6
2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia Tanaman Miana.....	7
2.1.4 Manfaat Tanaman Miana	9
2.2 Kosmetik.....	9
2.2.1 Definisi	9
2.2.2 Kegunaan Kosmetik	10
2.3 Sediaan Lotion.....	11
2.3.1 Definisi	11
2.3.2 Jenis-jenis Lotion	12
2.3.3 Bahan Sediaan Lotion.....	14

2.3.4	Proses pembuatan Lotion	18
2.4	Radikal Bebas	18
2.4.1	Definisi Radikal Bebas	18
2.4.2	Sumber Radikal Bebas	19
2.4.3	Pembentukan Radikal Bebas	21
2.4.4	Mekanisme Senyawa Radikal Bebas.....	22
2.5	Antioksidan.....	22
2.5.1	Definisi Antioksidan.....	22
2.5.2	Klasifikasi Antioksidan	23
2.5.3	Fungsi Antioksidan	24
2.5.4	Mekanisme Kerja Antioksidan	25
2.5.5	Pengujian Antioksidan	26
2.6	Fraksinasi.....	31
2.7	Simplisia	31
2.7.1	Definisi Simplisia	31
2.7.2	Jenis-jenis Simplisia	31
2.7.3	Tahapan Pembuatan Simplisia	32
2.8	Ekstraksi	34
2.8.1	Definisi	34
2.8.2	Ekstraksi	35
2.8.3	Pelarut.....	36
2.9	Spektrofotometer UV–Vis.....	38
2.9.1	Definisi Spektrofotometer UV-Vis.....	38
2.9.2	Skema Kerja Spektrofotometer UV-Vis.....	39
2.10	Validasi Metode	42
2.10.1	Uji Linieritas	42
2.10.2	Uji Akurasi	42
2.10.3	Uji Presisi	43
2.10.4	Uji LOD & LOQ.....	44
2.11	Hipotesis Penelitian.....	44

BAB III METODE PENELITIAN.....	45
3.1 Bahan dan Alat	45
3.2 Populasi Penelitian.....	45
3.3 Sampel Penelitian	46
3.3 Variabel Penelitian.....	46
3.4 Prosedur Penelitian	47
3.4.1 Determinasi Tanaman.....	47
3.4.2 Pembuatan Simplisia	47
3.4.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia.....	48
3.4.4 Pembuatan Ekstrak	49
3.4.5 Fraksinasi.....	49
3.5 Skrining Fitokimia.....	50
3.5.1 Identifikasi Flavonoid.....	50
3.5.2 Identifikasi Saponin.....	51
3.5.3 Identifikasi Tanin.....	51
3.5.4 Identifikasi Alkaloid.....	51
3.6 Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Miana	51
3.6.1 Penyiapan Larutan DPPH.....	51
3.6.2 Uji Aktivitas Antioksidan Kontrol Positif Vitamin C..	52
3.6.3 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Miana	52
3.7 Penentuan Fraksi Optimum	54
3.8 Formulasi Sediaan Lotion.....	55
3.9 Evaluasi Mutu Lotion	57
3.9.1 Uji Organoleptik.....	57
3.9.2 Uji Homogenitas.....	57
3.9.3 Uji pH.....	58
3.9.4 Uji Viskositas	58
3.9.5 Uji Daya Sebar	58
3.9.6 Uji Bobot Jenis	58
3.9.7 Uji Daya Lekat	59

3.10	Validasi Metode	59
3.10.1	Uji Linieritas	59
3.10.2	Uji Akurasi	60
3.10.3	Uji Presisi	60
3.10.4	Uji LOD & LOQ	60
3.12	Uji Aktivitas Antioksidan Lotion Fraksi Daun Miana	61
3.12.1	Pembuatan Larutan Baku DPPH 50 ppm	61
3.12.2	Penetapan Panjang Gelombang (λ) Maksimum	61
3.12.3	Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Miana	61
3.12.4	Perhitungan Presentase Inhibisi dan Nilai IC50	62
3.13	Analisis Hasil	63
3.14	Kerangka Pemikiran	64
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		65
4.1	Determinasi Tanaman	65
4.2	Pemeriksaan Karakteristik Simplisia	65
4.2.1	Uji Susut Pengerangan	65
4.2.2	Uji Kadar Air	65
4.3	Pembuatan Ekstrak Daun Miana	66
4.3.1	Rendemen Ekstrak	67
4.3.2	Uji Bebas Etanol	67
4.4	Fraksinasi Daun Miana	68
4.4.1	Uji Bebas H-Heksan	68
4.4.2	Uji Bebas Etil Asetat	68
4.5	Skrining Fitokimia	69
4.4.1	Uji Flavonoid	70
4.4.2	Uji Saponin	71
4.4.3	Uji Tanin	73
4.4.4	Uji Alkaloid	74
4.6	Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Miana Metode DPPH	75
4.6.1	Penentuan panjang gelombang maksimal larutan DPPH	75
4.6.2	Uji antioksidan fraksi daun miana dan vitamin C	76

4.7	Formulasi Sediaan Lotion.....	78
4.8	Uji Stabilitas Sediaan Lotion.....	80
4.8.1	Uji Organoleptik.....	80
4.8.2	Uji Homogenitas.....	81
4.8.3	Uji pH.....	82
4.8.4	Uji Viskositas.....	83
4.8.5	Uji Daya Sebar.....	84
4.8.6	Uji Bobot Jenis.....	85
4.8.7	Uji Daya Lekat.....	86
4.9	Validasi Metode.....	87
4.9.1	Uji Linieritas.....	87
4.9.2	Uji Akurasi (Uji Ketepatan).....	89
4.9.3	Uji Presisi.....	90
4.9.4	Uji <i>Limited of Detection</i> (LOD) dan <i>Limited of Quantitation</i> (LOQ).....	91
4.10	Uji Aktivitas Antioksidan.....	92
4.10.1	Penentuan panjang gelombang maksimal larutan DPPH92	
4.10.2	Uji aktivitas antioksidan lotion fraksi daun miana dan vitamin C.....	93
BAB V PENUTUP.....		97
5.1	Kesimpulan.....	97
5.2	Saran.....	97
DAFTAR PUSTAKA.....		98
LAMPIRAN.....		105

DAFTAR TABEL

Tabel	Hal
Tabel 4.1 Hasil Uji Susut Pengerinan Simplisia Daun Miana	65
Tabel 4.2 Hasil Uji Kadar Air Simplisia Daun Miana	66
Tabel 4.3 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Miana	67
Tabel 4.4 Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Miana.....	68
Tabel 4.5 Hasil uji bebas N-heksan ekstrak daun miana	68
Tabel 4.6 Hasil uji bebas etil asetat ekstrak daun miana.....	69
Tabel 4.7 Hasil Skrining Senyawa fraksi Daun Miana.....	69
Tabel 4.8 Data uji aktivitas antioksidan fraksi daun miana dan vitamin C.....	77
Tabel 4.9 Fomula Modifikasi Lotion Daun Miana	79
Tabel 4.10 Data hasil uji organoleptik sediaan lotion.....	81
Tabel 4.11 Data hasil uji homogenitas	82
Tabel 4.12 Data hasil uji pH	83
Tabel 4.13 Hasil Uji Viskositas	84
Tabel 4.14 Hasil Uji Daya Sebar.....	85
Tabel 4.15 Hasil uji bobot jenis	86
Tabel 4.16 Hasil uji daya lekat.....	87
Tabel 4.17 Hasil perhitungan % inhibisi lotion fraksi aquadestilata	88
Tabel 4.18 Data hasil perolehan kembali (%recovery).....	90
Tabel 4.19 Data Hasil Uji Presisi.....	91
Tabel 4.20 Data Hasil Uji LOD & LOQ	91
Tabel 4.21 Data uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Miana dan Vitamin C. ...	94

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal
Gambar 4.1 Uji Flavonoid.....	70
Gambar 4.2 Reaksi flavonoid dengan HCl dan logam Magnesium.....	71
Gambar 4.3 Uji Saponin,.....	71
Gambar 4.4 Reaksi hidrolisis saponin dalam air	73
Gambar 4.5 Uji Tanin	73
Gambar 4.6 Reaksi antara tanin dan $FeCl_3$	74
Gambar 4.7 Uji Alkaloid.....	74
Gambar 4.8 Reaksi uji Dragendrof	75
Gambar 4.9 Spektrum absorbansi larutan DPPH	76
Gambar 4. 10 Aktivitas Antioksidan.....	78
Gambar 4.11 Spektrum absorbansi larutan DPPH	88
Gambar 4.12 Kurva kalibrasi standar vitamin c.....	89
Gambar 4.13 Spektrum Panjang Gelombang Maksimum DPPH	92
Gambar 4.14 Aktivitas Antioksidan Lotion	94

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Hal
Lampiran 1 Hasil Determinasi Daun Miana (<i>Coleus artropurpureus</i> L. Benth) ..	105
Lampiran 2 Sertifikat DPPH	106
Lampiran 3 Perhitungan Hasil	107
Lampiran 4 Preparasi Bahan	108
Lampiran 5 Penimbangan Bahan (Formulasi)	116
Lampiran 6 Validasi Metode.....	125
Lampiran 7 Dokumentasi Penelitian.....	130

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tubuh manusia mempunyai banyak cara untuk melakukan proteksi. Kulit merupakan pertahanan pertama yang dimiliki oleh tubuh yang melapisi seluruh permukaan makhluk hidup dan berfungsi melindungi tubuh dari pengaruh luar. Kesehatan manusia maupun penampilan akan terganggu apabila terjadi kerusakan pada kulit, sehingga kulit perlu dirawat, dijaga, dan dilindungi kesehatannya. Salah satu penyebab kerusakan kulit adalah radikal bebas di dalam tubuh (Wildaningsih, 2020).

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki *electron* tidak berpasangan dalam orbital terluarnya sehingga sangat reaktif (Velázquez, 2003), untuk mendapatkan pasangan elektronnya radikal bebas menjadi sangat reaktif, sehingga hal tersebut berbahaya. Mekanisme kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas cukup kompleks melalui reaksi berantai hingga terjadi stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan sel. Pengetahuan mengenai radikal bebas ini menuntun kita pada peran radikal bebas terhadap kelainan kulit (Andarina, 2017). Mekanisme pertahanan, tubuh memiliki antioksidan untuk menetralkan radikal bebas yang terbentuk. Antioksidan merupakan senyawa yang bisa meredakan atau menonaktifkan serangan radikal bebas dan ROS (*Reactive Oxygen Species*). Antioksidan dapat berfungsi untuk mengurangi radikal bebas pada bagian kulit, teksturnya yang kasar bertujuan untuk mengurangi atau menghilangkan sel kulit mati pada wajah dan menutrisi serta melembabkan kulit.

Senyawa radikal bebas yang berlebih dapat memberikan dampak merugikan bagi kesehatan. Seperti laporan penelitian yang telah dilakukan oleh Wilsy (2020) paparan sinar ultraviolet dari matahari secara kronik mengakibatkan perubahan struktur, komposisi kulit, dan efek jangka panjang berupa penuaan. Proses penuaan melibatkan berbagai sistem di dalam tubuh yang akan mengakibatkan menurunnya fungsi sistem-sistem tersebut (Anggowarsito, 2014).

Efek jangka panjang radikal bebas berupa penuaan dini yang menyebabkan perubahan nyata pada kulit (Tamu, 2017). Akibat dari sinar UV, kulit yang terpapar matahari akan cepat kering, keriput, kasar, dan menderita kerusakan lain. Mengatasi dan memperlambat penuaan yang diakibatkan dengan radikal bebas, diperlukan formulasi sediaan kosmetik yang dapat menanggulangi masalah tersebut salah satunya adalah *lotion*.

Lotion biasanya paling banyak digunakan untuk penggunaan dermatologi topikal karena memiliki kualitas absorpsi yang sangat baik dan dapat diformulasikan menjadi produk kosmetik yang elegan, mudah menyebar rata, lebih mudah dibersihkan atau dicuci dengan air (Rahmawanty, 2020). Radikal bebas dapat ditangkal dengan senyawa yang mengandung antioksidan salah satunya yang dapat diperoleh dari bahan alam. Bahan alam yang mengandung antioksidan dan dapat diformulasika menjadi sediaan *lotion* salah satunya dapat ditemukan pada daun miana (*Coleus atropurpureus L.Benth*) (Rasydy, 2021).

Daun miana (*Coleus atropurpureus L. Benth*) adalah salah satu tanaman yang memiliki kandungan antioksidan dan dapat mengatasi adanya radikal bebas. Hal ini karena tanaman tersebut mengandung sumber antioksidan yang baik bagi kulit berupa senyawa fenolik atau polifenolik yang terdiri dari golongan flavonoid (Khotimah, 2018). Secara tradisional, bagian akarnya dimanfaatkan untuk mengobati diare, dan daunnya dimanfaatkan untuk mengobati anthelmintik dan gangguan saluran kemih, sedangkan getahnya dimanfaatkan untuk mengobati cedera mata, caranya dengan menggosokkannya di area pembengkakan. Getah atau ramuan di beberapa daerah di Indonesia, dipakai untuk mengatasi wasir, bisul yang meradang, merangsang pencernaan, sebagai obat penenang, mengobati dispepsia dan secara eksternal melawan pembengkakan, dan cacar.

Kandungan senyawa aktif daun miana yaitu fenolik atau polifenolik yang terdiri dari golongan flavonoid. Senyawa tersebut mempunyai khasiat untuk meredakan rasa nyeri, sebagai antiinflamasi, antioksidan, antimikroba, antibakteri, dan dapat mempercepat penyembuhan luka. Flavonoid adalah senyawa polifenol yang banyak ditemukan pada epidermis daun-daunan, kulit buah-buahan dan

memiliki peranan penting dalam kehidupan manusia sebagai antioksidan, antimutagenik, antineoplastik dan aktivitas vasodilatator (Yulian, 2018).

Hal ini didukung oleh beberapa bukti dari laporan penelitian sebelumnya seperti Rasydy (2021) yang melakukan uji antioksidan terhadap tanaman miana dengan metode DPPH dan mendapatkan hasil bahwa ekstrak daun miana dapat diformulasikan menjadi sediaan *hand body lotion* dan secara fisik stabil. *Lotion* yang paling baik dan lebih stabil adalah dengan konsentrasi ekstrak 0,5%. Selain itu, memiliki pH 5,5-5,9 dan daya sebar 5,2– 5,9 cm, viskositas 2903-3103 Cps, berat jenis 0,966, daya lekat 4,27-4,56 detik.

Penelitian lain dilakukan oleh Ridho, (2013) menunjukkan hasil bahawa flavonoid dan fenolik merupakan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan, sedangkan yang tidak berpotensi sebagai antioksidan merupakan senyawa triterpenoid. Hal ini dikarenakan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) dari triterpenoid yang terkandung dalam ekstrak n-heksan diatas 1000 $\mu\text{g/mL}$.

Selain itu, penelitian lain oleh Podungge (2017) menunjukkan hasil uji fitokimia positif mengandung flavonoid pada berbagai ekstrak dan isolat kecuali ekstrak n-heksan. Hasil analisis infra merah menunjukkan adanya pita serapan yang menunjukkan adanya beberapa gugus fungsi seperti OH, C=C aromatik, C-H aromatik, dan C-H alifatik yang diduga merupakan senyawa golongan flavonoid. Hasil pengukuran total fenol diperoleh sebesar 44,38 mg/g GAE (Gallic Acid Equivalent). Hasil uji aktivitas antioksidan pada isolat dengan menggunakan metode DPPH (*Diphenil pikrihidrazyl*) diperoleh nilai aktivitas antioksidan sebesar 98,53 mg AEAC/g (Ascorbic acid Equivalent Antioxidant Capacity) dan IC_{50} sebesar 324,80 ppm.

Berdasarkan penjelasan di atas, peneliti menemukan potensi terhadap daun miana (*Coleus atropurpureus L. Benth*) untuk digunakan sebagai bahan sediaan *lotion*. Daun miana dari tumbuhan miana merupakan tanaman yang sangat mudah tumbuh dan memiliki pertumbuhan yang sangat cepat. Daun miana dapat ditemukan dibanyak daerah, salah satunya di Kecamatan Sumbergempol, Kabupaten Tulungagung Jawa Timur. Masyarakat sekitar saat ini hanya memanfaatkan tanaman miana sebagai tanaman hias untuk rumah. Karena tanaman

ini sangat mudah tumbuh dan berkembang terkadang masyarakat membuangnya begitu saja tanpa memanfaatkan nilai gunanya. Maka dari itu, perlu dilakukan penelitian tentang senyawa bioaktif pada daun miana (*Coleus Artropurpureus L. Benth*) yang dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami. Selain itu, belum ada penelitian yang menguji antioksidan dari daun miana (*Coleus Artropurpureus L. Benth*).

Hal tersebut membuat peneliti tertarik untuk melakukan penelitian ini dan diberikan judul “Validasi Metode Penetapan Kadar Antioksidan *Lotion* Fraksi Daun Miana (*Coleus Artropurpureus L. Benth*) dengan Metode DPPH secara *Spektrofotometer Uv-Vis.*” Pengujian dengan metode DPPH digunakan karena kelebihanannya yaitu mudah, cepat, dan sensitif untuk pengujian aktivitas antioksidan senyawa tertentu atau ekstrak tanaman (Khotimah, 2018). Sedangkan untuk memisahkan senyawa golongan utama dari kandungan satu dengan yang lainnya digunakan metode fraksinasi. Keunggulan menggunakan metode fraksinasi adalah senyawa yang diinginkan dapat terpisah dan tidak tercampur dengan dua cairan pelarut yang digunakan (Xu, 2011).

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Bagaimana validasi metode pada penetapan kadar antioksidan fraksi daun miana (*Coleus artropurpureus L. Benth*) dengan metode DPPH secara spektrofotometer UV-Vis?
- 1.2.2 Bagaimana aktivitas antioksidan dan mutu fisik sediaan *lotion* fraksi daun miana (*Coleus artropurpureus L. Benth*)?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengetahui validitas metode pada penetapan kadar antioksidan fraksi daun miana (*Coleus artropurpureus L. Benth*) dengan metode DPPH secara spektrofotometer UV-Vis.
- 1.3.2 Mengetahui aktivitas antioksidan dan mutu fisik sediaan *lotion* fraksi daun miana (*Coleus artropurpureus L. Benth*)

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan terkait kandungan antioksidan fraksi daun miana (*Coleus scutellariodes L. Benth*) dan pemanfaatannya dalam bentuk sediaan farmasi.

1.4.2 Bagi Peneliti Lain

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai fraksi daun miana (*Coleus scutellariodes L. Benth*) sebagai bahan rujukan atau referensi penelitian selanjutnya.

1.4.3 Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan masyarakat mengenai kandungan antioksidan dan manfaat dari daun miana (*Coleus scutellariodes L. Benth*)

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Miana (*Coleus atropurpureus* L. Benth)

2.1.1 Taksonomi



Gambar 2.1 Tanaman Miana (*Coleus atropurpureus* L. Benth)

(Surahmaida, 2019)

Berikut adalah klasifikasi taksonomi tanaman Miana (Simin, 2010) :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Class	: Dicotyledoneae/Magnoliopsida
Ordo	: Lamiales
Familia	: Lamiaceae
Genus	: <i>Plectranthus</i>
Spesies	: <i>Plectranthus scutellarioides</i> (L.) Benth

2.1.2 Morfologi

Coleus atropurpureus merupakan tanaman semak, tumbuh di lingkungan yang agak lembab atau sedikit berair dan memiliki tinggi mencapai 1,5 m. Warna daun *coleus atropurpureus* adalah merah keunguan dengan berukuran diantara 5-15 cm. Tanaman miana biasa dibudiyakan di kebun-kebun sebagai tanaman hias atau tumbuh liar di ladang. Cara pembudidayaannya dilakukan dengan cara stek selama kurang lebih dua sampai tiga minggu. Nama lain tanaman ini, yaitu

Sigresing (Batak), Adong-adong (Palembang), Jawek Kotok (Sunda), Iler (Jawa Tengah), Ati-ati (Bugis) dan Serewung (Minahasa) (Badrunasar, 2016). Daunnya tunggal dan memiliki tangkai sepanjang 3–4 cm. Bentuk helaian daun bulat telur, pangkal membulat atau melekok menyerupai bentuk jantung, ujung meruncing, tepi beriringgit, tulang daun menyirip jelas (berupa alur) berbentuk gambaran seperti jala, permukaan daun agak mengilap, berambut halus, panjang 7–11 cm, lebar 3,5–6 cm. Daun berwarna ungu kecoklatan sampai ungu kehitaman. Bunga dalam anak payung yang berhadapan, tersusun dalam tandan lepas di ujung atau malai yang bercabang lebar, mahkota berbibir dua dengan bibir bawah yang menggantung, berwarna putih. Buah keras, berbentuk seperti telur, dan licin (Kinho, 2011).

2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia Tanaman Miana (*Coleus atropurpureus* L. Benth)

Berdasarkan analisis fitokimia terhadap ekstrak daun miana, hasilnya menunjukkan tumbuhan ini mempunyai khasiat untuk meredakan rasa nyeri, sebagai antiinflamasi, antioksidan, antimikroba, antibakteri dan dapat mempercepat penyembuhan luka. Kandungan kimia daun miana berupa saponin, steroid, tanin, minyak atsiri, eugenol, senyawa polifenol, alkaloid, etil salisilat, kalsium oksalat, senyawa *rosmarinic acid* (RA), dan flavonoid (Rahmawati, 2009).

2.1.3.1 Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi yang dihasilkan terutama oleh tanaman, hewan laut tingkat rendah dan beberapa bakteri. Saponin bersifat polar sehingga lebih mudah larut daripada pelarut lain, ekstrak saponin akan lebih banyak dihasilkan jika diekstraksi menggunakan metanol. Mekanisme saponin sebagai antioksidan dengan meredam superoksida melalui pembentukan intermediet hidroperoksida sehingga dapat mencegah kerusakan molekul biologis oleh radikal bebas. Saponin juga berfungsi sebagai zat anti oksidan, anti-inflamasi, anti-bakteri, dan anti-jamur sehingga bisa digunakan untuk proses penyembuhan luka (Novitasari, 2016).

Penelitian yang dilakukan Mutiatikum *et al.* (2010) menunjukkan bahwa simplisia buah miana (*Coleus atropurpereus*) memiliki kandungan saponin 5,50-5,83%.

2.1.3.2 Tanin

Tanin merupakan senyawa makromolekul dari golongan polifenol yang bersifat polar sehingga larut dalam pelarut polar. Tanin dapat digunakan sebagai pencegahan terhadap infeksi luka karena mempunyai daya antiseptik dan obat luka bakar. Tanin merupakan senyawa kompleks, biasanya merupakan campuran polifenol yang sukar untuk dipisahkan karena tidak dalam bentuk kristal. Tanin biasanya berupa senyawa amorf, higroskopis, berwarna coklat kuning yang larut dalam organik yang polar. Tanin mempunyai aktivitas antioksidan menghambat pertumbuhan tumor dan enzim (Rohmawati, 2008).

Penelitian yang dilakukan Mutiatikum *et al.* (2010) menunjukkan bahwa simplisia buah miana (*Coleus atropurpureus*) memiliki kandungan tanin total 3,26-3,60%. Penelitian yang dilakukan Tarigan *et al.* (2020) menunjukkan bahwa fraksi etil asetat tanaman miana (*Coleus atropurpureus*) memiliki kandungan tanin total 1.48 ppm.

2.1.3.3 Alkaloid

Alkaloid umumnya bersifat semi polar. Alkaloid dapat digunakan sebagai antioksidan karena kemampuannya dalam menghambat reaksi asam lemak pada mitokondria dan liposom oleh Fe^{2+}/ADP diduga berperan dalam aktivitas antiperoksidasi dan efek stabilisasi membran alkaloid tersebut. Alkaloid memiliki sifat antibiotik seperti anti fungi dan anti mikroba (Salimi, 2021).

Penelitian yang dilakukan Tarigan *et al.* (2020) menunjukkan bahwa fraksi etil asetat tanaman miana (*Coleus atropurpureus*) memiliki kandungan alkaloid 1.11 ppm.

2.1.3.4 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang cenderung bersifat polar, kepolaran senyawa inilah yang mengakibatkan senyawa lebih mudah menembus dinding sel bakteri. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan karena mampu mentransfer elektron kepada senyawa radikal bebas. Antioksidan flavonoid bekerja dengan menekan pembentukan spesies oksigen reaktif dengan menghambat kerja enzim dengan mengikat unsur-unsur yang terlibat dalam produksi radikal bebas, peredaman spesies oksigen reaktif, dan melindungi tubuh. Flavonoid berungsi

sebagai antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Sakinah, 2015).

Flavonoid termasuk dalam golongan fenolik yang tersusun atas 15 atom karbon sebagai inti dasar dua cincin benzene (C₆) terikat pada rantai propane (C₃) dengan konfigurasi C₆ – C₃ – C₆. Biasa ditemukan dalam bentuk flavon, flavonol C- dan O-glikosida, Flavanon C dan O- glikosida, isoflavon C- dan O-glikosida, khalkon C- dan O-glikosida, proantosianidin, antosianin, dihidrokhalkon, auron, O-glikosida, dihidroflavanol O-glikosida (Rahmawati, 2009).

Penelitian yang dilakukan Anita *et al.* (2018) menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun Miana (*Coleus atropurpureus*) memiliki kandungan flavonoid yang cukup tinggi yaitu rata-rata 8,59 mgRE/gram.

2.1.4 Manfaat Tanaman Miana (*Coleus atropurpureus* L. Benth)

Daun miana merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki kandungan senyawa obat (Ridwan, 2010). Secara tradisional, bagian akarnya dimanfaatkan untuk mengobati diare, dan daunnya dimanfaatkan untuk mengobati anthelmintik dan gangguan saluran kemih, sedangkan getahnya dimanfaatkan untuk mengobati cedera mata, caranya dengan menggosokkannya di area pembengkakan. Getah atau ramuan di beberapa daerah di Indonesia, dipakai untuk mengatasi wasir, bisul yang meradang, merangsang pencernaan, sebagai obat penenang, mengobati dispepsia dan secara eksternal melawan pembengkakan, dan cacar.

2.2 Kosmetik

2.2.1 Definisi

Kosmetik pada Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 1175/MENKES/PER/VIII/2010 memiliki definisi sediaan atau bahan yang siap untuk digunakan pada bagian luar badan (epidermis, rambut, kuku, bibir, dan organ kelamin bagian luar) gigi, dan rongga mulut untuk membersihkan, menambah daya tarik, mengubah penampilan, melindungi supaya tetap dalam keadaan baik, memperbaiki bau badan tetapi tidak dimaksudkan untuk mengobati atau menyembuhkan suatu penyakit. Istilah kosmetika, yang dalam bahasa Inggris “cosmetics” berasal dari kata “kosmein” (Yunani) yang artinya “berhias”. Bahan yang digunakan dalam usaha untuk mempercantik diri ini, dahulu diramu dari

bahan-bahan alami yang terdapat pada lingkungan sekitar. Namun sekarang kosmetika dibuat manusia tidak hanya dari bahan alami tetapi juga bahan buatan dengan maksud untuk meningkatkan kecantikan (Sari, 2020).

2.2.2 Kegunaan Kosmetik

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI (2010), kosmetik digolongkan berdasarkan kegunaannya bagi kulit bagi menjadi kosmetik perawatan kulit (*skin-care cosmetic*) dan kosmetik riasan (*dekoratif* atau *make-up*). Kosmetik perawatan kulit (*skin-care cosmetic*) meliputi sebagai berikut:

1. Kosmetik untuk membersihkan kulit (*cleanser*) (sabun, *cleansing cream*, *cleansing milk*, penyegar kulit (*freshener*)).
2. Kosmetik untuk melembabkan kulit (*moustrizer*) (*moisturizing cream*, *night cream*, *anti wrinkle cream*).
3. Kosmetik pelindung kulit (*sunscreen cream*, dan *sunscreen foundation*, *sun block cream/lotion*).
4. Kosmetik untuk menipiskan atau mengampelas kulit (*peeling*) (*scrub cream* yang berisi butiran-butiran halus yang berfungsi sebagai pengampelas (*abrasiver*)).

Kosmetika riasan (sebagai dekoratif atau *make up*) diperlukan untuk merias dan menutupi cacat pada kulit sehingga penampilan menjadi lebih cantik dan menarik serta menimbulkan efek psikologis yang baik, seperti percaya diri. Kosmetika dekoratif dikategorikan menjadi dua golongan, meliputi:

1. Kosmetika dekoratif yang hanya memberikan efek pada permukaan dan pemakaian sebentar, seperti lipstik, bedak, pemerah pipi (*blush on*), *eye-shadow* dan lain-lain.
2. Kosmetika dekoratif yang memberikan efek mendalam dan biasanya membutuhkan waktu lama untuk luntur, seperti kosmetika pemutih kulit, cat rambut dan lain-lain (Tranggono, 2007).

Selain itu, Menteri Kesehatan RI (2010) juga membagi kosmetik menjadi 13 preparat yaitu:

1. Preparat yang digunakan untuk bayi, misalnya bedak bayi, minyak bayi, parfum bayi dan lain-lain
2. Preparat yang digunakan untuk mandi, misalnya sabun mandi, *bathcapsule* dan lain-lain.
3. Preparat untuk mata, misalnya *maskara*, *eye-shayow*, pensil alis dan lain-lain.
4. Preparat wangi-wangian, misalnya parfum, toilet water dan lain-lain.
5. Preparat untuk rambut, misalnya *hair spray*, cat rambut dan lain-lain.
6. Preparat pewarna rambut, misalnya cat rambut dan lain-lain.
7. Preparat *make up* (kecuali mata), misalnya bedak, lipstik, *blush on* dan lain-lain.
8. Preparat untuk menjaga kebersihan mulut, misalnya pasta gigi, *mouthwashes* dan lain-lain.
9. Preparat pewarnaan kulit, misalnya pembersih, pelembab, dan lain-lain.
10. Preparat untuk kuku, misalnya cat kuku, *lotion* kuku dan lain-lain.
11. Preparat perawatan kulit, misalnya pembersih, pelembab, pelindung, *cream* dan lain-lain.
12. Preparat cukur, misalnya sabun cukur dan lain-lain.
13. Preparat untuk *suntan* dan *sunscreen*, misalnya *sunscreen foundation*, dan lain-lain

Kosmetik riasan (dekoratif atau *make-up*) digunakan untuk merias dan menutup cacat pada kulit sehingga menghasilkan penampilan yang menarik serta menimbulkan efek psikologis yang baik, seperti meningkatkan rasa percaya diri (*self confidence*).

2.3 Sediaan Lotion

2.3.1 Definisi

Lotion memiliki kandungan air lebih banyak dan termasuk sediaan kosmetika golongan *emolien* (pelembut). Sifat dari sediaan ini yaitu menjadi sumber pelembab kulit, memberikan lapisan minyak yang mirip dengan sebum, mudah dioleskan dan memberikan kelembutan pada tangan dan badan, tetapi tidak

berasa berminyak (Putri, 2019). Selain itu, *lotion* juga dapat diartikan menjadi suatu sediaan yang mengandung medium air dan dipakai pada kulit tanpa digosokkan. Mengandung substansi tidak larut yang tersuspensi, dapat berbentuk larutan dan emulsi dimana mediumnya berupa air. Untuk mencegah efek pengeringan, terkadang ditambah gliserin. Sebaliknya, untuk mempercepat pengeringan ketika dipakai dan memberi efek penyejuk diberikan alkohol. Dua cairan yang tidak tercampur dan mempunyai viskositas rendah serta dapat mengalir dibawah pengaruh gravitasi setidaknya terkandung dalam *lotion*. *Lotion* ditujukan untuk dipakai pada kulit yang sehat.

Jadi, *lotion* adalah emulsi cair yang terdiri dari fase minyak dan fase air yang distabilkan oleh emulgator, mengandung satu atau lebih bahan aktif di dalamnya (Putri, , 2019). Penggunaan *lotion* ditujukan untuk pemakaian luar kulit. Setelah pengolesan *lotion*, untuk memberikan efek mudah menyebar dan mudah kering serta meninggalkan lapisan tipis pada permukaan kulit maka, konsistensi yang berbentuk cair memungkinkan pemakaian yang cepat dan merata pada permukaan kulit.

Tabel 2.1 Syarat Mutu Lotion (Badan Standarisasi Nasional,1996)

No	Kriteria	Satuan	Syarat
1	Penampakan	-	Homogen
2	pH	-	4,5-8
3	Bobot Jenis	gr/cm ³	0,95-1,05
4	Viskositas	cP	2.000-50.000
5	Cemaran	mikroba koloni/gram	Maksimum 102

Sumber: Badan Standarisasi Nasional (1996)

2.3.2 Jenis-jenis *Lotion*

Secara umum *lotion* dibedakan menjadi dua tipe yaitu tipe M/A (minyak dalam air dan tipe A/M (air dalam minyak) (Pujiastuti, 2019) :

1. Tipe M/A (minyak dalam air): minyak terdispersi dalam fase air (*fase intern* adalah minyak dan fase ekstern adalah air). .Lotion tipe M/A memiliki kelebihan yaitu mudah dicuci dan dibersihkan karena karakteristik fase luar dari tipe ini adalah hidrofilik (Mardikasari *et al.*, 2017). Emulsi tipe ini umumnya mengandung kadar air yang lebih dari 31% sehingga emulsi tipe M/A dapat diencerkan atau bercampur

dengan air dan sangat mudah dicuci (Anief, 2013).

Contoh: *vanishing cream*

Vanishing cream merupakan jenis sediaan kosmetika yang dipakai untuk maksud pembersih, pelembab dan sebagai alas bedak. *Vanishing cream* meninggalkan lapisan minyak/film pada kulit untuk itu maka berfungsi sebagai pelembab (*moisturizing*).

2. Tipe A/M (air dalam minyak): air terdispersi dalam fase minyak (*fase intern* adalah air dan fase ekstern adalah minyak). Emulsi tipe A/M umumnya mengandung kadar air yang kurang dari 25% dan mengandung sebagian besar fase minyak emulsi. Jenis ini dapat diencerkan atau bercampur dengan minyak, akan tetapi sangat sulit bercampur atau dicuci dengan air (Anief, 2013).

Contoh: *Cold cream*

Cold cream merupakan jenis sediaan kosmetika yang dipakai untuk maksud memberikan kulit rasa penyejuk dan nyaman, selain itu juga merupakan krim pembersih, berwarna putih dan bebas dari butiran. *Cold cream* memiliki kandungan *mineral oil* dalam jumlah besar.

Menurut Rahmawati (2009), viskositas sangat berpengaruh dalam pelepas zat aktif dari basis. Dibandingkan dengan *cold cream*, *vanishing cream* memiliki formula kandungan komponen air lebih banyak.

Bentuk sediaan *lotion* memberikan kesan halus, lembut dan tidak berminyak setelah digunakan. *Lotion* biasanya dibuat dengan tipe emulsi minyak dalam air (M/A). Hal ini dimaksudkan agar *lotion* dapat segera mengering ketika diaplikasikan dan meninggalkan lapisan tipis dari komponen zat aktif pada permukaan kulit (Ansel, 1989; Wilkinson and Moore, 1982). Kombinasi antara kedua emulgator yang memiliki nilai HLB yang berbeda dapat menentukan tipe emulsinya, baik tipe minyak dalam air (M/A) yang umumnya mempunyai nilai HLB 9-12 atau tipe emulsi air dalam minyak (A/M) dengan nilai HLB 3-6 (Martin, Swarbrick and Cammarata, 1993)

Menurut Voight (1994), terdapat 5 cara untuk menentukan tipe emulsi:

1. Cara Pengenceran

Emulsi dapat diencerkan hanya dengan fase luarnya. Cara pengenceran ini hanya dapat digunakan untuk sediaan emulsi cair. Jika ditambahkan air emulsi tidak pecah, maka tipe emulsi yang terbentuk adalah M/A. Sebaliknya, jika emulsi pecah, maka tipe emulsi yang terbentuk adalah A/M.

2. Cara Pewarnaan

Pewarna padat yang larut dalam air dapat mewarnai emulsi minyak dalam air (M/A). Contoh : *Methylen Blue*

3. Penggunaan Kertas Saring

Emulsi ditetaskan pada kertas saring. Jika meninggalkan noda, maka tipe emulsi ini adalah A/M. Sebaliknya, jika tidak meninggalkan noda atau transparan maka tipe emulsi ini adalah M/A.

4. Cara Flouresensi

Minyak dapat berflouresensi di bawah cahaya UV, emulsi tipe M/A flouresensinya berupa bintik-bintik, sedang emulsi A/M flouresensinya sempurna.

5. Hantaran Listrik

Emulsi tipe M/A dapat menghantarkan arus listrik karena adanya ion-ion dalam air, sedangkan tipe emulsi A/M tidak dapat menghantarkan arus listrik.

2.3.3 Bahan Sediaan Lotion

2.3.3.1 Vitamin C

Vitamin C atau asam askorbat merupakan bahan farmasi yang banyak dikonsumsi sebagai antioksidan. Asam askorbat dalam sediaan farmasi dapat ditentukan dengan metode titrasi iodometri atau spektrofotometri untraviolet pada panjang gelombang 265 nm. Penyerapan pada panjang gelombang 260 nm mampu menyerap absorbansi maksimal pada asam askorbat. Absorbansi sebanding dengan jumlah partikel, sehingga berdasarkan data tersebut partikel yang paling banyak terserap berada pada panjang gelombang 260 nm. Berdasarkan data tersebut, pengukuran selanjutnya dilakukan pada panjang gelombang 260 nm untuk beberapa sampel (Badriyah, 2015) .

2.3.3.2 Cera Alba

Cera alba merupakan lilin yang didapatkan dari sarang lebah jenis *Apis mellifera*. *Cera alba* telah digunakan sebagai bahan dalam kosmetik sejak zaman dahulu. Kegunaan *cera alba* sebagai *wax* adalah sebagai pengikat minyak selain itu *cera alba* dapat memberikan kilau, konsistensi serta menjaga kestabilan warna (Bogdanov, 2009).

2.3.3.3 Asam Stearat

Asam stearat ($C_{18}H_{36}O_2$) merupakan asam lemak jenuh yang dapat diperoleh dari hewan ataupun tumbuhan. Nama IUPAC dari asam lemak ini adalah asam oktadekanoat. Asam stearat memiliki berat molekul 284,48 g/mol (Hudaya, 2014).

2.3.3.4 Natrium Hidroksida (NaOH)

Natrium Hidroksida atau NaOH, atau terkadang disebut soda api merupakan senyawa kimia dengan alkali tinggi. Sifat-sifat kimia membuatnya ideal untuk digunakan dalam berbagai aplikasi yang berbeda. Natrium hidroksida adalah bahan dasar populer yang digunakan di industri. Sekitar 56% Natrium hidroksida yang dihasilkan digunakan oleh industri, 25% di antaranya digunakan oleh industri kertas. Natrium hidroksida juga digunakan dalam pembuatan garam Natrium dan deterjen, regulasi pH, dan sintesis organik. Ini digunakan dalam proses produksi aluminium Bayer, secara massal Natrium hidroksida paling sering ditangani sebagai larutan berair. karena lebih murah dan mudah ditangani. NaOH adalah basa yang paling umum digunakan dalam laboratorium kimia (Ningtyas, 2014).

2.3.3.5 Karbomer

Karbomer merupakan polimer akrilik. Viskositas yang dihasilkan karbomer tergantung pada pH. Pada pH 3, karbomer akan berbentuk larutan, dan pada pH 6-8 viskositas akan meningkat dan membentuk gel. Karbomer tidak mengiritasi pada pemakaian berulang serta cocok untuk sediaan gel yang didalamnya terdapat air dan alkohol (Shu, 2013). Karbomer akan membentuk gel yang transparan dan bioadhesive. Karbomer saat disebar dalam air akan mengembang, membentuk polimer untuk membentuk dispersi koloid yang bertindak sebagai elektrolit anionik (Buchan, 2013).

2.3.3.6 Butylated Hydroxy Toluene (BHT)

BHT (*Butylated Hydroxy Toluene*) merupakan salah satu antioksidan sintetik yang paling banyak digunakan dalam produk pangan. BHT juga mempunyai kelarutan yang baik dalam minyak atau lemak, serta bersifat sinergis yang baik jika dikombinasikan dengan antioksidan lain (Gultom, 2018). Kandungan asam lemak bebas dalam minyak dapat meningkat salah satunya akibat pengaruh suhu dan lama pemanasan sehingga terjadinya reaksi oksidasi dan hidrolisis dalam minyak, dimana reaksi tersebut akan menurunkan kualitas minyak yang diinginkan. Untuk mencegah oksidasi tersebut dapat ditambahkan antioksidan sintetik ataupun antioksidan alami.

2.3.3.9 Tween 80

Tween 80 mempunyai nama lain *polysorbate 80*. *Polysorbate* merupakan *polyethylene glycol* turunan dari sorbitan ester. *Tween 80* merupakan ester oleat dari sorbitol dimana tiap molekul sorbitolnya berkopolimerisasi dengan 20 melekul etilenoksida (*anhidrida sorbitol*: etilenoksida = 1:20). *Polysorbate 80* berupa cairan kental berwarna kuning muda sampai kuning sawo, berbau karamel dan dapat menyebabkan pusing, panas kadang-kadang pahit, bersifat netral, tidak menguap dan stabil terhadap suhu. *Polysorbate* menghasilkan emulsi M/A dengan tekstur yang halus, stabil pada konsentrasi elektrolit yang tinggi dan perubahan pH. Umumnya, *polysorbate* dimodifikasi dengan sorbitan ester dalam penggunaannya untuk pembuatan emulsi A/M atau M/A (Yusvita, 2010).

2.3.3.10 Span 80

Span 80 mempunyai nama lain *sorbitan monooleat*. Pemerianaanya berupa warna kuning gading, cairan seperti minyak kental, bau khas tajam, terasa lunak. Kelarutannya tidak larut tetapi terdispersi dalam air, bercampur dengan alkohol, tidak larut dalam *propilenglikol*, larut dalam hampir semua minyak mineral dan nabati, sedikit dalam eter. Berat jenis pada 20°C adalah 1,01 g/cm³. Nilai HLB 4,3. Viskositas pada 25°C adalah 970-1080 mPas. *Span 80* termasuk dalam golongan sorbitan ester yang berfungsi sebagai emulgator dan surfaktan nonionik. Sorbitan monoester digunakan secara luas pada kosmetik, makanan, dan formulasi produk farmasetik sebagai *surfaktan lipofilik nonionik*. *Span 80* jika digunakan sebagai

emulgator dikombinasikan dengan emulsifier hidrofilik pada emulsi konsentrasi yang diperoleh adalah 1-10% (Rowe, 2009). *Span 80* memiliki sifat non-toksik dan non-iritatif (Yusvita, 2010).

2.3.3.11 Oleum Citri

Oleum Citri atau minyak jeruk memiliki pemerian cairan, kuning pucat atau kuning kehijauan. memiliki bau yang khas rasa pedas dan agak pahit. Kelarutannya, larut dalam 12 bagian volume etanol 90% P, larutan agak beropalesensi, dapat bercampur dengan etanol mutlak P. *Oleum citri* atau minyak jeruk digunakan untuk pewangi (Puspita, 2020).

2.3.3.12 Nipagin

Nipagin adalah nama dagang untuk senyawa metil hidroksi benzoat, yaitu senyawa ester metil dari asam *p*-hidroksibenzoat. Rumus molekulnya adalah $\text{CH}_3(\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})\text{COO})$ atau $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$ dan memiliki berat molekul sebesar 152,15 g/mol. *Nipagin* memiliki nama kimia diantaranya *Metil p*-hidroksibenzoat, *Metil parahidroksibenzoat*, *Metil 4*-hidroksibenzoat, dan *Metil paraben*. Senyawa ini merupakan bahan tambahan pangan senyawa turunan asam benzoat, yang berfungsi sebagai bahan antimikroba atau pengawet. Senyawa ini sering juga dikenal dengan nama *metil paraben* (Hu, 2021). Pemerian nipagin yaitu hablur kecil, tidak berwarna atau serbuk hablur, putih; tidak berbau atau berbau khas lemah; mempunyai sedikit rasa terbakar. *Nipagin* memiliki tipe untuk sukar larut dalam air didalam benzene, dan dalam karbon tetraklorida. Sedangkan *nipagin* mudah larut dalam etanol dan dalam eter.

2.3.3.13 Nipasol

Sifat fisika dan kimia dari nipasol memiliki rumus molekul: $\text{CH}_3(\text{C}_8\text{H}_8(\text{OH})\text{COO})$ atau $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_3$ dengan nama kimia *Propil p*-hidroksibenzoat, *Propil parahidroksibenzoat*, *Propil 4*-hidroksibenzoat, dan *Propil paraben*. Memiliki berat molekul 180,20 g/mol dengan pemerian serbuk putih atau hablur kecil, tidak berwarna. Pemerian nipasol antara lain serbuk putih atau hablur kecil, tidak berwarna. Kelarutan nipasol sangat sukar larut dalam air, namun mudah larut dalam etanol, dan dalam eter, selain itu juga sukar larut dalam air mendidih. Nipasol dapat digunakan sebagai pengawet (Rahayu, 2013).

2.3.3.14 Purified Water/Aquadest

Air murni adalah air yang dimurnikan yang diperoleh dengan destilasi, penukar ion, osmosis balik, atau proses lain yang sesuai. Dibuat dari air yang memenuhi persyaratan air murni. Tidak mengandung zat tambahan lain. Air murni digunakan untuk pembuatan sediaan-sediaan. Pemerian merupakan cairan jernih, tidak berwarna, tidak berbau, dan pH antara 5-7 (Junaidi, 2020).

2.3.4 Proses pembuatan *Lotion*

Dalam pembuatan *lotion*, faktor penting yang harus diperhatikan adalah fungsi dari *lotion* yang diinginkan untuk dikembangkan. Fungsi dari *lotion* ialah untuk mempertahankan kelembaban kulit, melembutkan serta membersihkan, mencegah kehilangan air, dan mempertahankan bahan aktif. *Lotion* juga dipakai untuk menyejukkan, mengeringkan, anti pruritik dan efek protektif dalam pengobatan dermatosis akut. Komponen-komponen yang menyusun *lotion* adalah pelembab, pengemulsi, bahan pengisi, pembersih, bahan aktif, pelarut, pewangi, dan pengawet (Rasydy, 2021).

Cara membuat *lotion* adalah dengan cara bahan-bahan yang larut pada fase air dicampurkan dengan bahan-bahan yang larut dalam fase lemak, hal ini dilakukan dengan cara dipanaskan dan diaduk (Rasydy, 2021). Dalam pembuatan *lotion* bahan-bahan lain yang dipakai yaitu *sun screen*, *humektan*, *thickening*, *mineral oil*, setil alkohol, silikon dan preservatif. *Sun screen* sebagai bahan dasar pembuatan krim/*lotion* berguna untuk melindungi kulit dari panas matahari atau sebagai ultra violet *filter*. Untuk menahan air di bawah lapisan kulit agar tidak keluar digunakan gliserin sebagai *humektan*, hal ini juga berguna untuk mencegah hilangnya air yang berlebihan. Sebagai pelembab (*moisturizing*) kulit digunakan *mineral oil* dan silikon.

2.4 Radikal Bebas

2.4.1 Definisi Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan gugusan salah satu atom yang memiliki satu atom atau lebih elektron tak berpasangan. Aktivitas radikal bebas yang sangat tinggi, hal ini dikarenakan mempunyai sifat yang menarik electron disekelilingnya (Septiningsih, 2018). Selain itu, radikal bebas merupakan salah satu bentuk

senyawa oksigen reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan.

Senyawa ini terbentuk di dalam tubuh, dipicu oleh bermacam-macam faktor. Radikal bebas bisa terbentuk, misalnya, ketika komponen makanan diubah menjadi bentuk energi melalui proses metabolisme. Pada proses metabolisme ini, seringkali terjadi kebocoran elektron. Dalam kondisi demikian, mudah sekali terbentuk radikal bebas, seperti anion superoksida, hidroksil dan lain-lain. Radikal bebas juga dapat terbentuk dari senyawa lain yang sebenarnya bukan radikal bebas, tetapi mudah berubah menjadi radikal bebas. Misalnya hidrogen peroksida (H_2O_2), ozon dan lain-lain. Kedua kelompok senyawa tersebut sering diistilakan sebagai Senyawa Oksigen Reaktif (SOR) atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Astuti, 2008).

Radikal bebas dianggap berbahaya karena menjadi sangat reaktif dalam upaya mendapatkan pasangan elektronnya, dapat pula terbentuk radikal bebas baru dari atom atau molekul yang elektronnya terambil untuk berpasangan dengan radikal bebas sebelumnya. Dalam gerakannya yang tidak beraturan, karena sangat reaktif, radikal bebas dapat menimbulkan kerusakan di berbagai bagian sel (Astuti, 2008).

2.4.2 Sumber Radikal Bebas

Radikal bebas terbentuk dari 2 cara yakni dengan cara endogen dan cara eksogen. Radikal bebas eksogen dihasilkan dari reaksi seluler yang dikatalisis oleh besi dan reaksi enzimatik seperti lipooksigenase, peroksidase, dan zantin oksidase. Radikal bebas eksogen adalah radikal bebas berasal dari luar tubuh manusia, seperti berasal dari polutan yang berada di lingkungan yaitu emisi kendaraan bermotor dan industri, abses, asap rokok, radiasi ionisasi, infeksi bakteri, jamur, virus, obat nyamuk. Ketika radikal bebas semakin bertambah maka akan mengakibatkan terjadinya ketidakseimbangan antara jumlah radikal bebas dengan antioksidan, sehingga menimbulkan kulit menjadi tidak sehat, kulit menjadi kusam, dan mengakibatkan penuaan dini atau bahkan dapat menyebabkan kanker (Septianingsih, 2018).

Sebab-sebab yang dapat meningkatkan atau memicu pembentukan radikal bebas (Tapan, 2007):

1. Sebab dari dalam tubuh

- a. Proses oksidasi yang berlebihan. Oksigen yang biasa kita hirup merupakan penopang utama kehidupan karena menghasilkan banyak energi namun hasil samping dari reaksi pembentukan energi tersebut akan menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS).
- b. Proses olahraga yang berlebihan yang mana dapat menghasilkan radikal bebas tambahan sesuai dengan bertambahnya kebutuhan energi dan pembakaran biokimia dalam tubuh.
- c. Proses peradangan akibat menderita sakit kronik atau tumor/kanker. Radikal bebas aktif diproduksi dari luka atau otot yang digunakan secara berlebihan. Termasuk juga pada penderita diabetes, bertahun-tahun terpapar kadar gula darah yang tinggi. Kondisi ini menghasilkan molekul oksigen yang tidak stabil terus menerus. Oleh karena itu sangat penting penderita kronik atau kanker dalam hal ini menambah jumlah antioksidannya.
- d. Dalam keadaan stres psikologis yang terus menerus mengakibatkan produksi radikal bebas yang berlebihan. Karena itu banyak studi yang mengaitkan serangan jantung dan kanker.

2. Penyebab dari luar tubuh

- a. Menghirup asap rokok. Radikal bebas dari asap rokok masuk ke dalam tubuh manusia melalui saluran pernapasan. Molekul oksigen yang tidak stabil dapat langsung merusak jaringan paru atau memicu lepasnya spesies oksigen reaktif dalam sel-sel tubuh termasuk sel darah putih.
- b. Menghirup udara/lingkungan tercemar. Sama seperti rokok udara yang begitu terpolusi dan tercemar akibat buangan kendaraan bermotor, hasil pabrik dan pembakaran sampah bisa masuk melalui paru manusia dan radikal bebas tersebut merusak sel-sel tubuh dengan cara menembus membran sel.

- c. Radiasi matahari/kosmis. Sinar ultraviolet yang kuat ini dipancarkan matahari dan dapat merusak sel.
- d. Radiasi foto terapi (penyinaran). Sinar X atau radio isotop merupakan radikal bebas yang sangat kuat.
- e. Konsumsi obat-obatan termasuk kemoterapi. Obat-obatan termasuk obat antikanker, selain menyerang sel-sel kanker, obat tersebut juga merupakan radikal bebas bagi sel-sel normal lainnya.
- f. Pestisida dan zat kimia pencemaran lain. Masuk ke dalam tubuh melalui makanan dan minuman yang terpapar dengan pestisida atau zat kimia pencemaran lainnya. Keadaan ini terus menerus berlangsung di saluran cerna (Tapan, 2007).

2.4.3 Pembentukan Radikal Bebas

Pembentukan radikal bebas berlangsung secara terus menerus dalam tubuh manusia melalui metabolisme sel, peradangan, nutrisi dan radiasi sinar- γ , sinar-x, UV, bahan kimia pada makanan, obat-obatan dan polusi lingkungan bahkan pola makan (Labola, 2018). Apabila radikal bebas bereaksi dengan komponen biologis lipid, protein dan DNA akan menghasilkan senyawa teroksidasi dan terjadi kerusakan oksidatif (stres oksidatif). Pembentukan radikal bebas dibagi menjadi 3 yakni Inisiasi, propagasi dan terminasi (Labola, 2018):

1. Tahapan inisiasi adalah proses terciptanya spesies radikal secara umum, ini merupakan peristiwa pembelahan homolitik yang jarang terjadi karena hambatan energi. Biasanya tahapan ini terbentuk karena pengaruh beberapa hal seperti, suhu tinggi, UV ataupun katalis mengandung logam digunakan sebagai penghalang energi.
2. Tahapan kedua yaitu propagasi yang merupakan reaksi berantai ketika radikal bebas reaktif, maka akan menyebabkan reaksi dengan molekul stabil dan membentuk radikal bebas baru. Proses tersebut akan terjadi secara terus menerus dengan melibatkan abstraksi hidrogen atau penambahan radikal yang akan menjadi ikatan rangkap dan menyebabkan tumbuhnya banyak radikal bebas.
3. Tahap terakhir yaitu terminasi, dimana reaksi radikal akan berhenti dan

akan saling bereaksi antara dua radikal, sehingga akan membentuk spesies non radikal.

2.4.4 Mekanisme Senyawa Radikal Bebas

Mekanisme senyawa radikal bebas berawal dari suatu reaksi kimia yaitu oksidasi, sehingga diperlukan antioksidan untuk memperlambat proses terjadinya oksidasi. Radikal bebas penting bagi Kesehatan manusia, tetapi jika dihasilkan berlebih akan berbalik menyerang sel itu sendiri. Ketidakseimbangan radikal bebas dan antioksidan akan menyebabkan kerusakan pada jaringan organ tubuh, dan menyebabkan penuaan dini untuk mengurangi oksidatif adalah dengan mengurangi paparan radikal bebas (Khaira, 2010).

2.5 Antioksidan

2.5.1 Definisi Antioksidan

Senyawa antioksidan secara kimia merupakan senyawa pemberi elektron (elektron donor) (Masri, 2017). Senyawa antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron yang berfungsi sebagai penurun kadar radikal bebas dan membantu mencegah stress oksidatif akibat radikal bebas. Antioksidan secara biologis berarti senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan. Cara kerja antioksidan adalah dengan menghambat aktivitas senyawa oksidan melalui mendonorkan salah satu elektronnya kepada senyawa bersifat oksidan (Winarti, 2010). Sebagai agen pereduksi yang dapat mengkhelat ion metal dan mengurangi potensi radikal dalam tubuh, antioksidan juga berkemampuan mendonorkan elektron. Tubuh memerlukan antioksidan sebagai pelindung dari serangan radikal bebas. Akibat dari proses oksidasi dapat dihambat atau diperlambat dengan antioksidan dalam jumlah atau kadar tertentu. Senyawa antioksidan juga sangat bermanfaat bagi kesehatan dan kecantikan.

Antioksidan berfungsi sebagai inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif yang membentuk radikal bebas tidak reaktif yang tidak stabil. Antioksidan merupakan semua bahan yang dapat menunda atau mencegah kerusakan akibat oksidasi pada molekul sasaran. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif dan juga radikal bebas sehingga antioksidan dapat mencegah penyakit penyakit

yang dihubungkan dengan radikal bebas seperti karsinogenesis, kardiovaskuler, dan penuaan (Masri, 2017).

2.5.2 Klasifikasi Antioksidan

Menurut sistem/mekanisme kerjanya, antioksidan dibedakan menjadi 3 (Alvarez, 2018) :

2.5.2.1 Antioksidan Primer (Antioksidan Endogenus)

Antioksidan primer adalah suatu zat yang dapat menghentikan reaksi berantai pembentukan radikal yang melepaskan hidrogen. Merupakan senyawa yang dapat memberikan atom *hydrogen* secara cepat apabila senyawa dapat diberikan atom *hydrogen* secara cepat. Zat-zat yang termasuk dalam golongan ini adalah yang berasal dari alam dan dapat pula buatan antara lain: tokoferol, lesitin, fosfatida, sedamol, gosipol, dan asam askorbat. Antioksidan alam yang paling banyak ditemukan dalam minyak nabati adalah tokoferol yang mempunyai keaktifan vitamin E dan terdapat dalam bentuk α , β , γ , dan α -tokoferol, tapi α -tokoferol yang menunjukkan keaktifan vitamin E yang paling tinggi. Senyawa kimia yang tergolong dalam kelompok antioksidan dan dapat ditemukan pada tanaman, antara lain berasal dari golongan polifenol, flavanoid, vitamin C, Vitamin E, beta karoten, katekin dan resveratrol (Suhaling, 2012).

Antioksidan sintetik yang banyak digunakan sekarang adalah senyawa-senyawa fenol yang biasanya agak beracun. Karena itu penambahan antioksidan harus memenuhi beberapa syarat, misalnya tidak berbahaya bagi kesehatan, tidak menimbulkan warna yang tidak diinginkan, efek pada konsentrasi rendah, larut dalam lemak, mudah didapat dan ekonomis. Empat macam antioksidan yang sering digunakan pada bahan makanan adalah *Butylated hydroxyanisole* (BHA), *Butylated hydroxytoluene* (BHT), *Propiylgallate* (PG), dan *Nordihydroquairitic acid* (NDGA) (Suhaling, 2012).

2.5.2.2 Antioksidan Sekunder (Antioksidan Eksogenus)

Antioksidan sekunder adalah suatu zat yang dapat mencegah kerja prooksidan sehingga dapat digolongkan sebagai senyawa sinergik. Merupakan antioksidan

non-enzimais, di mana senyawa reaktif dihambat dengan cara pengkeletan metal dimanaa cairan ekstraseluler dirusak bentuknya. Beberapa asam organik tertentu biasanya asam di- atau trikarboksilat, dapat mengikat logam-logam (*sequistan*). Misalnya satu molekul asam sitrat akan mengikat prooksidan Fe sering dilakukan pada minyak kacang kedelai EDTA adalah *sequistan* logam yang sering digunakan dalam minyak salad. Dalam penggunaan antioksidan, harus dipikirkan bahwa terdapat keadaan atau zat tertentu yang dapat mempermudah terjadinya reaksi oksidasi, seperti panas, cahaya dan logam. Selain itu, terdapat pula zat antioksidan yang kehilangan daya antioksidannya setelah berikatan dengan oksigen sehingga tidak berfaedah bila digunakan, terutama di dalam pemrosesan makanan dalam sistem terbuka (Arisman, 2009).

2.5.2.3 Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier merupakan antioksidan yang meliputi *enzim metion sulfoksida reductase* yang berfungsi untuk mempeprbaiki DNA pada inti sel, antioksida tersier berfungsi untuk memperbaiki kerusakan pada biomolekul yang disebabkan oleh radikal bebas (Alvarez, 2018) .

2.5.3 Fungsi Antioksidan

Penggunaan senyawa antioksidan untuk pengobatan ataupun makanan semakin berkembang seiring bertambahnya pengetahuan tentang aktivitas radikal bebas. Sebagai inhibitor yang berfungsi menghambat autooksidasi senyawa antioksidan banyak dimanfaatkan diberbagai industri. Selain industri farmasi, secara luas antioksidan juga digunakan di industri makanan, industri petroleum, industri karet dan lain-lain. Antioksidan eksogen dibutuhkan untuk memperangkap radikal bebas yang berlebih. Hal ini diperlukan oleh individu yang hidup dan memiliki stres tinggi, pekerjaan yang melelahkan dan bekerja di bawah paparan sinar matahari dan polusi udara. Perubahan pada struktur sel dapat mengubah fungsinya, sehingga terjadi risiko munculnya penyakit. Kejadian tersebut biasa menyerang kulit ataupun organ lain. Antioksidan dapat diperoleh dari bahan makanan yang memiliki kandungan vitamin C, E, dan *betacaroten*, serta senyawa flavonoid (Ahmad, 2018).

Antioksidan terbaik adalah antioksidan yang didapat secara alami dari

sayur dan buah-buahan segar. Selain itu, untuk dikonsumsi setiap hari antioksidan bentuk suplemen juga dapat dijadikan pilihan. Untuk pencegahan penuaan dini, konsumsi vitamin A, C dan E sebagai antioksidan dapat diberikan sesuai kebutuhan. Selain itu, untuk membantu proses peremajaan dan memperlambat proses penuaan beberapa suplemen yang dapat membantu adalah *omega-3*, *alpha lipoic- acid*, *ubiquinon*, *arginin*, *Zinc* (Ahmad, 2018).

Penyebab dari mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi antara lain (Ahmad, 2018) :

1. Pelepasan hidrogen dari antioksidan.
2. Pelepasan elektron dari antioksidan.
3. Addisi asam lemak ke cincin aromatik pada antioksidan.
4. Pembentuk senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan.

2.5.4 Mekanisme Kerja Antioksidan

Manusia memiliki pertahanan tubuh yang berfungsi sebagai mekanisme untuk pertahanan tubuh untuk menetralkan radikal bebas. Antioksidan dapat berkurang dengan sangat cepat dan menyebabkan gangguan pada keseimbangan dari sistem prooksidasi dan antioksidasi pada sel intak (Andarina, 2017). Antioksidan bekerja melindungi sel dan jaringan sasaran dengan cara :

1. Memusnahkan (*scavenge*) radikal bebas secara enzimatik atau dengan reaksi kimia langsung.
2. Mengurangi pembentukan radikal bebas.
3. Mengikat ion logam yang terlibat dalam pembentukan spesies yang reaktif (*transferin*, *albumin*).
4. Memperbaiki kerusakan sasaran.
5. Menghancurkan molekul yang rusak dan menggantinya dengan baru.

Tubuh sendiri membuat tiga jenis antioksidan yakni, antioksidan primer (*superoxidedismutase (SOD)*, *glutathion peroxidase (GPx)*, dan protein pengikat, *ferritin*, *ceruloplasmin*). Tugasnya mencegah pembentukan radikal bebas baru dan mengubah radikal bebas menjadi bahan yang tidak berbahaya lagi. Ada juga

antioksidan jenis sekunder. Ini berasal dari vitamin C, vitamin E dan *betacarotene*. Jenis antioksidan ini bertugas menangkap radikal bebas dan mencegah reaksi berantai yang akan merusak tubuh. Sedangkan antioksidan jenis tersier (*DNA-repair enzym; methionin sulfoxidereductase*) bertugas memperbaiki kerusakan tubuh yang timbul akibat radikal bebas (Suhaling, 2012).

2.5.5 Pengujian Antioksidan

Antioksidan sendiri dapat menangkap radikal bebas pada tubuh dan bisa menjaga sistem kardiovaskular. Antioksidan merupakan senyawa yang bisa meredam atau menonaktifkan serangan radikal bebas dan ROS (*Reactive Oxygen Species*). Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa terhambat. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas (Kusbandari, 2017). Untuk menyeleksi aktivitas antioksidan diperlukan metode seperti:

2.5.7.1 Metode Uji Antioksidan

Metode uji aktivitas antioksidan antara lain adalah metode *in vivo* dan *in vitro*. Akan tetapi, metode *in vitro* yang lebih banyak dikembangkan oleh peneliti. Hal ini karena waktu pengerjaan untuk metode *in vivo* sangat lama. Metode antioksidan secara *in vitro* terbagi menjadi metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), *xantin oksidase*, *tiosianat*, dan *deoksiribosa* (Sharma, 2014).

2.5.7.2 Metode DPPH

Metode absorbansi radikal DPPH adalah metode yang sederhana, mudah, dan jumlah sample yang digunakan sedikit, selain itu waktu yang diperlukan singkat. Panjang gelombang untuk mengukur aktivitas antioksidan dilakukan pada panjang gelombang maksimum DPPH yaitu 517 nm dan 50 µm untuk konsentrasi DPPH. Perubahan warna pada larutan DPPH dalam etanol yang semula berwarna violet pekat menjadi kuning pucat disebabkan karena terjadinya aktivitas antioksidan (Regina, 2008). Setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan, DPPH tersebut akan tereduksi dan warnanya akan berubah menjadi kuning. Penurunan intensitas warna yang terjadi disebabkan oleh berkurangnya ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH. Hal ini dapat terjadi apabila adanya penangkapan satu

elektron oleh zat antioksidan, menyebabkan tidak adanya kesempatan elektron tersebut untuk beresonansi. Keberadaan sebuah antioksidan yang mana dapat menyumbangkan elektron kepada DPPH, menghasilkan warna kuning yang merupakan ciri spesifik dari reaksi radikal DPPH. Penangkap radikal bebas menyebabkan elektron menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah elektron yang diambil (Suhaling, 2012)

Metode DPPH adalah pengukuran penangkal radikal bebas sintetik dalam pelarut organik pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan. Radikal bebas menangkap satu elektron dari antioksidan dari proses penangkalan radikal bebas melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas. Untuk pelarut etanol dan methanol metode ini merupakan pengujian aktivitas antioksidan yang paling cocok (Rochmatika, 2012). Metode DPPH adalah suatu metode kolorimetri yang efektif dan cepat untuk memperkirakan aktivitas antiradikal/antioksidan. Uji kimia ini secara luas digunakan dalam penelitian produk alami untuk isolasi antioksidan fitokimia dan untuk menguji seberapa besar kapasitas ekstrak dan senyawa murni dalam menyerap radikal bebas.

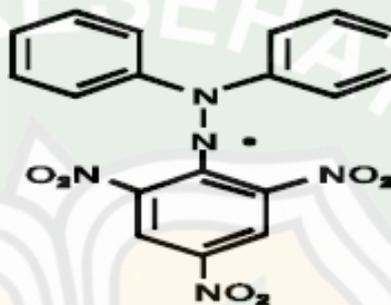
Metode DPPH berfungsi untuk mengukur elektron tunggal seperti aktivitas transfer hidrogen sekaligus untuk mengukur aktivitas penghambatan radikal bebas (Pratimasari, 2009).

1. Uraian DPPH (Ozyurt, 2007)

Nama Kimia : 1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazyl

Rumus Kimia : C₁₈H₁₂N₅O₆

Rumus Struktur :



Gambar 2.2 Rumus Struktur 1,1-Diphenyl-2-Picryl Hidrazyl (Prakash, 2001)

Berat Molekul : 349,3

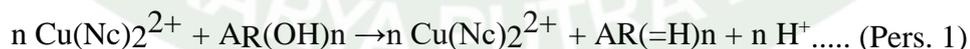
Titik Lebur : 127-129⁰ dan biasa dilaporkan 132-133⁰ C

Pemerian : Besar, membentuk prisma berwarna ungu gelap ketika benzen ditambah petrolatum eter

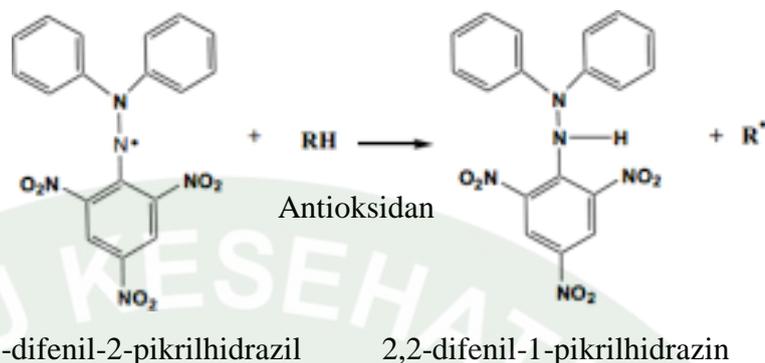
Kegunaan : Sebagai reagen analisis untuk mereduksi suatu substansi

2. Metode-metode pengukuran aktivitas antioksidan diantaranya (Widyastuti, 2010) ;

a. Metode CUPRAC (Suhaling, 2012) menggunakan bis (*neokuproin*) tembaga (II) (Cu(Nc)₂²⁺) sebagai pereaksi kromogenik. Pereaksi Cu(Nc)₂²⁺ yang berwarna biru akan mengalami reduksi menjadi (Cu(Nc)₂⁺ yang berwarna kuning dengan reaksi:



b. Metode DPPH menggunakan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil sebagai sumber radikal bebas. Prinsipnya adalah reaksi penangkapan hidrogen oleh DPPH dari zat antioksidan dengan reaksi sebagai berikut:



Gambar 2.3 Reaksi Radikal DPPH dengan Antioksidan (Prakash, 2001)

- c. Metode FRAF (Suhaling, 2012) menggunakan $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{3+}$ kompleks besi ligan 2,4,6-*tripiridil-triazin* sebagai pereaksi. Kompleks biru $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{3+}$ yang berwarna kuning dengan reaksi berikut:



Radikal bebas yang umumnya digunakan sebagai sampel dalam penelitian antioksidan atau peredam radikal bebas adalah 1,1-*difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH)(Suhaling, 2012). Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat, dan mudah untuk skrining aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat, reliabel dan praktis (Pratimasari, 2009).

2.5.7.3 Metode Xantin Oksidase

Untuk menentukan inhibisi sampel terhadap radikal bebas digunakan metode xantin oksidase. Sedangkan untuk menghitung aktivitas inhibisi radikal bebas digunakan *superoksida dismutase* (SOD) (Widowati, 2005). Metode xantin oksidase menggunakan prinsip metabolisme xantin-xantin oksidase, yang menghasilkan radikal anion superoksida. Untuk mengukur aktivitas antioksidan dalam meredam radikal anion superoksida metode ini digunakan untuk *superoksida dismutase* (SOD) mengubah superoksida menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2). Dalam pembentukan radikal bebas, metode ini perlu melewati beberapa tahap inkubasi, akan tetapi tidak memerlukan waktu pengukuran yang lama (Yang, 2013).

2.5.7.4 Metode Tiosianat

Untuk menentukan aktivitas radikal bebas metode tiosianat menggunakan senyawa pembanding sebagai kontrol positif. Sebanyak 2 mL sampel dicampur dengan 2,05 mL asam linoleat dan buffer fosfat pH 7,0 diinkubasi di tempat gelap pada suhu 37°C. Serapan warna merah pada panjang gelombang 500 nm dengan penambahan FeCl₂ dan amonium tiosianat menentukan jumlah peroksida yang terbentuk. Setiap 24 jam pengukuran dilakukan hingga mencapai absorbansi maksimum (Sharma, 2014). Metode tiosianat menggunakan prinsip lipid peroksidasi. Asam linoleat digunakan dalam metode ini, yaitu asam lemak tidak jenuh yang 21 bertindak sebagai radikal bebas. Berdasarkan peroksidasi lipid, yaitu pembentukan radikal alkoksi, secara spesifik metode ini dapat mengukur jumlah radikal bebas. Akan tetapi, proses serapan metode ini cukup lama. Sampai nilai absorbansi maksimum pengukuran serapan harus terus dilakukan (Sharma, 2014).

2.5.7.4 Metode Deoksiribosa

Metode deoksiribosa merupakan metode yang menggunakan reaksi degradasi deoksiribosa dengan radikal bebas yang dihasilkan dari larutan besi (II) sulfat dan hidrogen peroksida. Caranya, mencampurkan radikal bebas dengan ekstrak dan 2-deoksiribosa, dari reaksi ini akan terbentuk *malonaldehida* (MDA). Produk MDA akan terhambat disebabkan oleh antioksidan dalam ekstrak tanaman akan mencegah radikal hidroksil merusak 2-deoksiribosa. Kemudian, warna merah akan disebabkan dari larutan diberikan *tiobarburat* (TBA) yang akan berikatan dengan MDA (Yang, 2013). Penambahan senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan, akan melindungi deoksiribosa dari radikal hidroksil sehingga pembentukan warna menjadi berkurang. Sehingga senyawa pembanding diperlukan dalam metode ini sebagai kontrol positif. Pengamatan dilakukan pada jumlah MDA sebagai hasil dari peredaman radikal bebas oleh antioksidan. Metode deoksiribosa digunakan untuk mengukur reaksi pembentukan radikal bebas oleh FeSO₄ dan H₂O₂ menghasilkan radikal hidroksil. Potensi antioksidan yang menghambat radikal hidroksil dapat diukur dengan metode ini. Sebelum dilakukan pengukuran nilai serapan pada panjang gelombang yang ditentukan terlebih dahulu perlu menghentikan produk MDA dengan TBA, sehingga tahapan pada metode ini lebih

banyak dibandingkan metode *in vitro* dan yang lainnya (Atun, 2010).

2.6 Fraksinasi

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan senyawa untuk memisahkan golongan utama dari kandungan satu dengan yang lainnya. Fraksinasi ini menggunakan berbagai pelarut dengan kepolaran yang berbeda-beda, sehingga masing-masing pelarut mengandung senyawa dengan kepolaran yang berbeda pula. Senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar dan senyawa non polar akan masuk ke pelarut non polar (Xu, 2011).

2.7 Simplisia

2.7.1 Definisi Simplisia

Definisi simplisia atau herbal menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI) (2008) yaitu bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60⁰C. Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, hewani, mineral. Istilah simplisia dipakai untuk menyebut bahan-bahan obat alam yang masih berada dalam wujud aslinya atau belum mengalami perubahan bentuk (Budaya, 2015). Jadi simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi tiga golongan yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral (Melinda, 2014).

2.7.2 Jenis-jenis Simplisia

2.7.2.1 Simplisia Nabati

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman (Nurhayati, 2008). Yang dimaksud dengan eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya (Nurhayati, 2008).

2.7.2.2 Simplisia Hewani

Simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni (Nurhayati, 2008).

Contohnya adalah minyak ikan dan madu.

2.7.2.3 Simplisia Mineral

Simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau yang telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni. Contohnya serbuk seng dan serbuk tembaga (Budaya, 2015).

2.7.3 Tahapan Pembuatan Simplisia

2.7.3.1 Sortasi Basah

Sortasi basah adalah pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar. Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak serta pengotoran lainnya harus dibuang. Tanah yang mengandung bermacam-macam mikroba dalam jumlah yang tinggi. Oleh karena itu pembersihan simplisia dan tanah yang terikut dapat mengurangi jumlah mikroba awal (Melinda, 2014).

2.7.3.2 Pencucian

Pencucian dilakukan untuk menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih, misalnya air dan mata air, air sumur dan PDAM, karena air untuk mencuci sangat mempengaruhi jenis dan jumlah mikroba awal simplisia. Misalnya jika air yang digunakan untuk pencucian kotor, maka jumlah mikroba pada permukaan bahan simplisia dapat bertambah dan air yang terdapat pada permukaan bahan tersebut dapat mempercepat pertumbuhan mikroba (Budaya, 2015). Bahan simplisia yang mengandung zat mudah larut dalam air yang mengalir, pencucian hendaknya dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin (Melinda, 2014).

2.7.3.3 Perajangan

Beberapa jenis simplisia perlu mengalami perajangan untuk memperoleh proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan maka semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan. Akan tetapi irisan yang terlalu tipis juga menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau, rasa yang diinginkan (Melinda, 2014). Perajangan dapat dilakukan

dengan pisau, dengan alat mesin perajangan khusus sehingga diperoleh irisan tipis atau potongan dengan ukuran yang dikehendaki.

2.7.3.4 Pengerinan

Proses pengerinan simplisia, terutama bertujuan sebagai berikut (Melinda, 2014):

1. Menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhkembangkan dan bakteri.
2. Menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif.
3. Memudahkan dalam hal pengolahan proses selanjutnya (ringkas, mudah disimpan, tahan lama, dan sebagainya).

Proses pengerinan sudah dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel bila kadar airnya dapat mencapai kurang dari 10%. Hal-hal yang perlu diperhatikan dari proses pengerinan adalah suhu pengerinan, kelembaban udara, waktu pengerinan dan luas permukaan bahan. Suhu yang terbaik pada pengerinan adalah tidak melebihi 60°, tetapi bahan aktif yang tidak tahan pemanasan atau mudah menguap harus dikeringkan pada suhu serendah mungkin, misalnya 30° sampai 45°C. Terdapat dua cara pengerinan yaitu pengerinan alamiah (dengan sinar matahari langsung atau dengan diangin-anginkan) dan pengerinan buatan dengan menggunakan instrumen (Melinda, 2014).

2.7.3.5 Sortasi kering

Sortasi kering adalah pemilihan bahan setelah mengalami proses pengerinan. Pemilihan dilakukan terhadap bahan-bahan yang terlalu gosong atau bahan yang rusak. Sortasi setelah pengerinan merupakan tahap akhir pembuatan simplisia. Tujuan sortasi untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan atau pengotoran-pengotoran lainnya yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering (Melinda, 2014).

2.7.3.6 Penyimpanan

Setelah tahap pengerinan dan sortasi kering selesai maka simplisia perlu ditempatkan dalam suatu wadah tersendiri agar tidak saling bercampur antara simplisia satu dengan lainnya (Melinda, 2014). Untuk persyaratan wadah yang akan

digunakan sebagai pembungkus simplisia adalah harus inert, artinya tidak bereaksi dengan bahan lain, tidak beracun, mampu melindungi bahan simplisia dari cemaran mikroba, kotoran, serangga, penguapan bahan aktif serta dari pengaruh cahaya, oksigen dan uap air.

2.8 Ekstraksi

2.8.1 Definisi

Ekstraksi merupakan salah satu jenis pemisahan satu atau lebih bahan dari suatu padatan atau cairan. Biasanya teknik ini digunakan melakukan bantuan pelarut yang dapat memisahkan suatu komponen dari campuran. Hal ini dilakukan melalui sampel atau biasa disebut ekstraksi metode maserasi ditarik zat aktifnya. Metode maserasi adalah serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam suatu wadah tertutup rapat pada suhu kamar. Perbedaan konsentrasi larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel menyebabkan larutan terpekat terdesak keluar sehingga pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan diekstrak (Indarto, 2019).

Ketika kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman telah tercapai, saat itulah proses ekstraksi dihentikan. Selanjutnya, melakukan penyaringan untuk memisahkan pelarut dari sampel. Senyawa-senyawa yang tidak tahan akan suhu tinggi dapat rusak, maka dengan ini dilakukanlah metode maserasi untuk menghindari kerusakan senyawa (Ambarsari, 2019). Didalam simplisia terdapat beberapa senyawa aktif yang tergolong dari golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Dalam penelitian diperlukan ketelitian pemilihan pelarut dan cara ekstraksi karena perbedaan struktur kimia akan berpengaruh pada kelarutan serta stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat, dan derajat keasaman.

Pada prinsipnya fraksinasi adalah menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur untuk proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak. N-heksan, etil asetat, dan etanol merupakan jenis pelarut yang biasanya digunakan untuk fraksinasi. N-heksan digunakan untuk menarik lemak dan senyawa non-polar, untuk menarik senyawa semi polar digunakan etil asetat, sedangkan

senyawa-senyawa polar ditarik menggunakan methanol. Maka, senyawa yang akan dipisahkan sifat kepolarannya akan dapat diduga melalui proses ini. Seperti yang telah diketahui bahwa senyawa-senyawa yang memiliki sifat polar akan larut pada pelarut bersifat polar, sedangkan senyawa-senyawa yang memiliki sifat non polar akan larut pada pelarut yang bersifat non polar (Sutomo, 2021).

2.8.2 Ekstraksi

Berikut adalah metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yaitu (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000):

2.8.2.1 Cara Dingin

2.8.2.1.1 Maserasi

Maserasi yaitu proses pengekstrakan simplisia yang menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokkan atau pengadukan pada temperatur ruang (kamar) secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik artinya melakukan pengadukan secara terus-menerus atau kontinyu. Remaserasi memiliki artinya mengulang penambahan pelarut setelah melakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2.8.2.1.2 Perkolasi

Perkolasi yaitu ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*), umumnya temperatur yang digunakan adalah temperatur ruang. Tahapan pada proses ini antara lain tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2.8.2.2 Cara Panas

2.8.2.2.1 Refluks

Refluks yaitu ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Termasuk proses ekstraksi sempurna, pengulangan pada proses residu pertama umumnya dilakukan sampai 3-5 kali (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2.8.2.2.2 Soxhletasi

Soxhletasi yaitu ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru, alat khusus umumnya digunakan sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin baik (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2.8.2.2.3 Digesti

Digesti yaitu maserasi kinetik atau diaduk terus-menerus di suhu lebih tinggi daripada suhu ruang, secara umum dilakukan pada suhu 40-50°C. Infusa merupakan ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air mendidih, temperatur terukur 90-98°C pada waktu tertentu atau antara 15-20 menit (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2.8.2.2.4 Dekok

Dekok yaitu infus yang waktunya lebih lama (lebih dari 30 menit) dan temperatur sampai titik didih air (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

2.8.3 Pelarut

Pelarut polar digunakan untuk melarutkan senyawa flavonoid dalam kandungan daun miana. Banyak faktor yang harus dipertimbangkan untuk memilih pelarut atau cairan penyari. Beberapa kriteria yang harus dipenuhi cairan penyari antara lain, murah dan mudah diperoleh, bereaksi netral, stabil secara fisika dan kimia, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, serta tidak mempengaruhi zat yang berkhasiat. Untuk memilih pelarut yang akan digunakan dalam proses ekstraksi harus memperhatikan sifat kandungan senyawa yang akan diisolasi misalnya polaritas. Suatu bahan pada prinsipnya akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya (Irwan, 2011). Air, etanol, etanol-air atau etera adalah cairan penyari untuk ekstraksi yang ditetapkan oleh Farmakope Indonesia.

2.8.3.1 N-Heksana

N-Heksana memiliki rumus kimia C_6H_{14} merupakan senyawa hidrokarbon alifatik yang sangat mudah menguap. N-Heksana merupakan pelarut non-polar yang memiliki sifat mudah menguap. Titik lebur n-heksana adalah -95°C.

N-heksana merupakan jenis pelarut yang sangat tidak polar, volatil, memiliki bau khas. Berat molekulnya sebesar 86,18 gr/mol dengan titik didih heksana pada tekanan 760 mmHg adalah 66 sampai 70°C. N-heksana merupakan jenis pelarut nonpolar sehingga n-heksana dapat melarutkan senyawa – senyawa bersifat nonpolar (Susanty, 2016).

2.8.3.2 Etil Asetat

Etil Asetat termasuk senyawa organik dengan rumus kimia $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ adalah zat sintesis dari ethanol dan asam asetat dengan katalis asam sulfat melalui proses esterifikasi. Massa molar etil asetat sebesar 88,12g/mol. Wujud etil asetat yaitu berupa cairan tidak berwarna dan mempunyai aroma yang khas. Etil asetat merupakan jenis pelarut yang bersifat semi polar. Pelarut ini memiliki titik didih yang relatif rendah yaitu 77°C dan berat jenis = 0,9 g/ml. Etil asetat mempunyai viskositas 0,46 pada 20°C, dan titik nyala -3 °C (Arista, 2014)

2.8.3.3 Aquadest

Aquadest atau dalam bahasa latin yaitu “*aquadestilata*” berarti air suling. *Aquadestilata* merupakan air yang diperoleh dengan pengembunan uap air yang terjadi akibat penguapan atau pendidihan air. Ikatan hidrogen dalam air pada tekanan atmosfer bersifat mengalir (*flow*) pada suhu 100°C dan densitasnya sebesar 1 g/ml (Hamzah, 2016).

2.8.3.4 Etanol

Etanol merupakan pelarut yang baik untuk alkaloid, damar-damar, minyak atsiri dan glukosida, tetapi tidak untuk jenis albumin, gom, gula. Pelarut etanol mudah menembus membran sel intraseluler untuk mengekstrak senyawa aromatik dari tanaman. Etanol 96% merupakan jenis pelarut yang bersifat polar (Seran, 2011). Etanol adalah pelarut yang aman dan tidak toksik (Arista, 2014).

Nama Lain	: Etanol, hidroksi ethan, metil karbinol, ansol
Rumus Bangun	: $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$
Klasifikasi	: Cairan mudah terbakar, mudah menguap berbau khas, tidak beresidu
Berat Molekul	: 46,7
Titik leleh	: -117,3 - 112°C

Titik didih	: 78,4°C
Berat jenis	: 0,789 g/ml
Kelarutan	: Dalam eter, kloroform dan metil alkohol

2.9 Spektrofotometer UV-Vis

2.9.1 Definisi Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri merupakan salah satu cabang analisis instrumental yang membahas tentang interaksi atom atau molekul radiasi elektromagnetik (REM). Komponen pokok dari spektrofotometri meliputi sumber tenaga radiasi yang stabil, sistem yang terdiri atas lensa-lensa, cermin, celah-celah, monokromator untuk mengubah radiasi menjadi komponen-komponen panjang gelombang tunggal, tempat cuplikan yang transparan dan detektor radiasi yang di hubungkan dengan sistem meter atau pencatat (Suhaling, 2012). Spektrofotometer sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrofotometer menghasilkan sinar dan spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi.

Spektrofotometri merupakan salah satu metode analisis yang berdasarkan pada hasil interaksi atom atau molekul dengan radiasi elektromagnetik. Interaksi tersebut akan menghasilkan peristiwa berupa hamburan, serapan, dan emisi. Spektrum UV-Vis merupakan hasil interaksi radiasi UV-Vis terhadap molekul yang mengakibatkan molekul mengalami transisi elektronik, sehingga disebut spektrum elektronik. Hal ini didapat karena adanya gugus berikatan rangkap atau terkonyugasi yang mengabsorpsi radiasi elektromagnetik di daerah UV-Vis. Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode yang digunakan untuk menguji sejumlah cahaya yang diabsorpsi pada setiap panjang gelombang di daerah ultraviolet dan tampak (Haeria, 2016).

Dalam instrument spektrofotometri UV-Vis ini suatu sinar cahaya terpecah sebagian cahaya diarahkan melalui sel transparan yang mengandung pelarut. Ketika radiasi elektromagnetik dalam daerah UV-Vis melewati suatu senyawa yang mengandung ikatan-ikatan rangkap, sebagian dari radiasi biasanya diabsorpsi oleh senyawa. Hanya beberapa radiasi yang diabsorpsi, tergantung pada

panjang gelombang dari radiasi dalam struktur senyawa. Absorpsi radiasi disebabkan oleh pengurangan energi cahaya radiasi ketika electron dalam orbital dari rendah tereksitasi keorbital energi tinggi (Haeria, 2016).

Jangkauan panjang gelombang yang tersedia untuk pengukuran membentang dari panjang gelombang pendek ultraviolet sampai ke inframerah. Untuk kemudahan pengacuan, daerah spektrum ini pada garis besarnya dibagi dalam daerah ultraviolet (190 nm hingga 380 nm), daerah cahaya tampak (380 nm hingga 780 nm), daerah inframerah dekat (780 nm hingga 3000 nm) dan daerah inframerah (2,5 μm hingga 40 μm atau 4000 cm^{-1} hingga 250 cm^{-1}). Atau jangkauan panjang gelombang sinar ultraviolet berada pada panjang gelombang 200-400 nm sedangkan sinar tampak berada pada panjang gelombang 400-800 nm. Zat yang dapat dianalisis menggunakan spektrofotometri UV adalah zat dalam bentuk larutan dan zat tersebut tidak tampak berwarna. Prinsip dasar pada spektrofotometri adalah sampel harus jernih dan larut sempurna. Tidak ada partikel koloid apalagi suspensi, karena adanya partikel-partikel koloid ataupun suspensi akan memperbesar absorbansi (Seran, 2011). Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2 sampai 0,8 dan boleh dikatakan konstan akan diperoleh bila transmittan sampel berada pada daerah 15% sampai 70%. Hal ini disebabkan karena pada kisaran nilai absorbansi tersebut kesalahan yang terjadi adalah paling minimal (Gandjar, 2007).

2.9.2 Skema Kerja Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer adalah alat untuk transmitans atau serapan suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Alat ini terdiri dari spektrometer yang menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer sebagai alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi. Cara kerja alat spektrofotometri ini adalah sebagai berikut (Suhaling, 2012):

1. Suatu radiasi dikenakan secara bergantian atau simultan melalui sampel dan blangko yang dapat berupa pelarut atau udara.
2. Sinar yang ditransmisikan oleh sampel dan blangko kemudian diteruskan ke detektor, sehingga perbedaan intensitas ini diantara kedua berkas

sinar ini dapat memberikan gambaran tentang fraksi radiasi yang diserap oleh sampel.

3. Detektor alat ini mampu untuk mengubah informasi radiasi ini menjadi sinyal listrik yang jika diamplifikasikan akan dapat menggerakkan pena pencatat diatas kertas grafik khusus alat ini.

2.9.2.1 Sumber Radiasi

Beberapa sumber radiasi yang dipakai pada spektrofotometer adalah lampu deuterium, lampu tungstein, dan lampu merkuri (Suhaling, 2012). Sumber-sumber radiasi ultra lembayung yang kebanyakan dipakai adalah lampu hydrogen dan lampu deuterium (D2). Disamping itu sebagai sumber radiasi ultra lembayung yang lain adalah lampu xenon. Kejelekannya lampu xenon tidak memberikan radiasi yang stabil seperti lampu deuterium. Lampu deuterium dapat diapakai pada panjang gelombang 180 nm sampai 370 nm (daerah ultra lembayung dekat) (Lufira, 2021).

Lampu tungstein merupakan campuran dari filament tungstein gas iodine (halogen), oleh sebab itu sebagai lampu tungstein-iodin pada panjang spektrofotometer sebagai sumber radiasi pada daerah pengukuran sinar tampak dengan rentangan panjang gelombang 380-900 nm (PUTRI, 2021) Lampu merkuri adalah suatu lampu yang mengandung uap merkuri tekanan rendah dan biasanya dipakai untuk mengecek, mengkalibrasi panjang gelombang pada spektrofotometer pada daerah ultra lembayung khususnya daerah disekitar panjang gelombang 365 nm dan sekaligus mengecek resolusi monokromator.

2.9.2.2 Monokromator

Monokromator berfungsi untuk mendapatkan radiasi monokromatis dari sumber radiasi yang memancarkan radiasi polikromatis. Monokromator pada spektrofotometer biasanya terdiri dari susunan meliputi celah (slit) masuk-filter-prisma-kisi(grating)-celah keluar (Suhaling, 2012).

2.9.2.2.1 Celah (slit)

Celah monokromator adalah bagian yang pertama dan terakhir dari suatu sistem optik monokromator pada spektrofotometer. Celah monokromator berperan penting dalam hal terbentuknya radiasi monokromatis dan resolusi panjang

gelombang (Suhaling, 2012).

2.9.2.2.2 Filter optik

Cahaya tampak yang merupakan radiasi elektromagnetik dengan panjang gelombang 380-780 nm merupakan cahaya putih yang merupakan campuran cahaya dengan berbagai macam panjang gelombang. Filter optik berfungsi untuk menyerap warna komplementer sehingga cahaya tampak yang diteruskan merupakan cahaya yang berwarna sesuai dengan warna filter optik yang dipakai. Filter optik yang sederhana dan banyak dipakai terdiri dari kaca yang berwarna. Dengan adanya filter optik sebagai bagian monokromator akan dihasilkan pita cahaya yang sangat sempit sehingga kepekaan analisisnya lebih tinggi. Dan lebih dari itu akan didapatkan cahaya hampir monokromatis sehingga akan mengikuti hukum Lambert-Beer pada analisis kuantitatif (Suhaling, 2012).

2.9.2.2.3 Prisma dan Kisi (grating)

Prisma dan kisi merupakan bagian monokromator yang terpenting. Prisma dan kisi pada prinsipnya mendispersi radiasi elektromagnetik sebesar mungkin supaya didapatkan resolusi yang baik dari radiasi polikromatis (Suhaling, 2012).

2.9.2.3 Sel/Kuvet

Kuvet atau sel merupakan wadah sampel yang dianalisis. Kuvet ini bentuk biasanya terbuat dari quartz atau leburan silika dan ada yang dari gelas dengan bentuk tabung empat persegi panjang 1x1 cm, dengan tinggi kurang lebih 5 cm. Pada pengukuran di daerah ultra lembayung dipakai quartz atau leburan silika, sedang kuvet dari gelas tidak dipakai, sebab gelas mengabsorpsi sinar ultra lembayung (Lufira, 2021).

2.9.2.4 Detektor

Detektor merupakan salah satu bagian dari spektrofotometer yang penting oleh sebab itu detektor akan menentukan kualitas dari spektrofotometer adalah merubah signal elektronik (Irawan, 2019).

2.9.2.5 Amplifier

Amplifier dibutuhkan pada saat sinyal listrik elektronik yang dilahirkan setelah melewati detektor untuk menguatkan karena penguat dengan resistensi masukan yang tinggi sehingga rangkaian detektor tidak terserap habis yang

menyebabkan keluaran yang cukup besar untuk dapat dideteksi oleh suatu alat pengukur (Suhaling, 2012).

2.9.2.6 Recorder

Recorder adalah alat yang digunakan untuk mencatat, dapat berupa gambar/angka.

2.10 Validasi Metode

Validasi metode bertujuan memastikan atau mengkonfirmasi bahwa metode yang digunakan sudah sesuai dengan penggunaannya (Riyanto, 2011). Berikut parameter tersebut adalah:

2.10.1 Uji Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel (Riyanto, 2011).

Uji linieritas ini dilakukan dengan suatu larutan baku yang terdiri atas minimal 5 konsentrasi yang naik dengan rentang 50-100% dari rentang komponen uji. Data diproses dengan menggunakan regresi linear, sehingga dapat diperoleh respon linear terhadap konsentrasi larutan baku dengan nilai koefisien korelasi diharapkan mendekati 1 atau 0,995 untuk suatu metode analisis yang baik. Rentang metode adalah pernyataan konsentrasi terendah dan tertinggi analit yang mana metode analisis memberikan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima. Parameter adanya hubungan linear yang digunakan adalah koefisien korelasi pada analisis regresi linear $y = bx \pm a$, hubungan linear yang ideal dicapai jika nilai $b = 0$ dan $r = +1$ atau -1 tergantung dengan arah garis. Nilai a pada regresi linear menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan (Harmita, 2004).

2.10.2 Uji Akurasi

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi sering dinyatakan dalam persen perolehan kembali (*% Recovery*) analit yang ditambahkan. Akurasi dapat ditentukan melalui dua acara, yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) atau

penambahan baku (*standart addition method*). Dalam metode simulasi, sejumlah analit bahan murni ditambahkan ke dalam campuran bahan pembawa sediaan farmasi kemudian dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar analit yang ditambahkan (kadar sebenarnya). Dalam metode penambahan baku, sampel dianalisis kemudian sejumlah tertentu analit yang diperiksa ditambahkan ke dalam sampel dicampur dan dianalisis lagi. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan 12 kadar yang sebenarnya. Perhitungan % recovery dapat ditentukan dengan rumus sebagai berikut: (Riyanto, 2011)

$$\% \text{Recovery} = \frac{\text{konsentrasi spiking} - \text{konsentrasi sampel}}{\text{absorbansi standar}} \times 100\% \dots \text{(Pers. 3)}$$

Rentang kesalahan yang diizinkan pada setiap konsentrasi analit dapat dilihat pada tabel 2.3.

Tabel 2.2 Nilai persen recovery berdasarkan nilai konsentrasi sampel (Harmita, 2004)

Analit pada matriks sampel	Recovery yang diterima (%)
10 < A ≤ 100 (%)	98-102
1 < A ≤ 10 (%)	97-103
0,1 < A ≤ 1(%)	95-105
0,001 < A ≤ 0,1 (%)	90-107
100 ppb < A ≤ 1 ppm	80-110
10 ppb < A ≤ 100 ppb	60-115
1 ppb < A ≤ 10 ppb	40-120

2.10.3 Uji Presisi

Presisi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil individual, diukur melalui hasil penyebaran hasil individual rata-rata jika prosedur ditetapkan secara berulang pada sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Riyanto, 2011).

Umumnya presisi dihitung menggunakan Standar Deviasi (SD) menghasilkan *Relative Standart Deviasion (RSD)* atau *Coeficient Variation (CV)*. Presisi yang baik dinyatakan dengan semakin kecil persen RSD maka nilai presisi

semakin tinggi.

$$RSD = \frac{\text{Standar Deviasi}}{\text{Konsentrasi rata-rata analit dalam sampel}} \times 100\% \dots \text{(Pers. 4)}$$

Keterangan:

$RSD \leq 1\%$ = sangat teliti $1\% \leq RSD \leq 2\%$ = teliti

$2\% \leq RSD \leq 5\%$ = ketelitian sedang $RSD > 5\%$ = ketelitian rendah

2.10.4 Uji LOD & LOQ

Limit Deteksi (LOD) adalah konsentrasi atau jumlah terkecil/terendah dari analit dalam sampel yang dapat terdeteksi, tetapi tidak perlu terkuantisasi sehingga nilai yang dihasilkan tidak harus memenuhi kriteria akurasi dan presisi. Analisis dilakukan menggunakan alat/instrumen maka limit deteksi dan kuantisasi ditentukan dengan mengukur respon blanko beberapa kali selanjutnya ditentukan simpangan baku respon blanko. Nilai limit deteksi dan kuantisasi dapat ditentukan dengan persamaan (Yulia, 2010):

$$LOD = \frac{3xSD}{Slope} \dots \text{(Pers. 5)}$$

$$LOQ = \frac{10xSD}{slope} \dots \text{(Pers. 6)}$$

Keterangan:

LOD : Batas Deteksi

LOQ : Batas Kuantitasi

SD : Standar Deviasai

Slope : Nilai b pada Persamaan

2.11 Hipotesis Penelitian

Pada penelitian ini, peneliti merumuskan hipotesis sebagai berikut:

- 2.11.1 Fraksi daun miana (*Coleus artropurpureus L. Benth*) memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan penetapan kadar antioksidan fraksi daun miana (*Coleus artropurpureus L. Benth*) menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan metode DPPH menunjukkan hasil valid.
- 2.11.2 *Lotion* fraksi daun miana (*Coleus artropurpureus L. Benth*) memiliki aktivitas antioksidan dan mutu fisik yang sesuai standar.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun miana (*Coleus atropurpureus L. Benth*) dan pelarut etanol 96% (ABSOLUTE) untuk pembuatan ekstrak. Pereaksi *Dragendorf*, etanol 70% (ABSOLUTE), amil alkohol (EMSURE[®]), magnesium (Mg) dan asam klorida (HCl) (EMSURE[®]) untuk skrining fitokimia. Ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus L. Benth*), vitamin C (asam askorbat), cera alba (RAS CHEMICAL), asam stearat, NaOH, karbomer, *butylated hydroxytoluena* (BHT), tween 80 (EMSURE[®]), span 80 (EMSURE[®]), oleum citri (EMSURE[®]), nipagin (OZZIE), nipasol (OZZIE), *purified water* (ABSOLUTE) untuk formulasi sediaan *lotion*. Serbuk DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (HIMEDIA[®]).

3.1.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *glassware* (PYREX[®]), ph universal (MACHEREY-NAGEL), oven (MEMERT UN110), rak tabung reaksi, pipet tetes, pipet ukur, mortir dan stamper, ayakan nomor 80, batang pengaduk (PYREX[®]), spektrofotometer UV-Vis (N4S), bejana maserasi, alat uji daya lekat, alat uji daya sebar, neraca analitik, *rotary evaporator*, *waterbath* (MEMMERT), *mixer*, *blender*, inkubator, kertas perkamen, kertas saring, *hot plate* (MASPION S-301), wadah simplisia, botol maserasi, timbangan digital (SHIMADZU), dan *tissue*.

3.2 Populasi Penelitian

Populasi merupakan wilayah generalisasi yang terdiri atas obyek/subyek yang mempunyai kuantitas dan karakteristik tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya (Mulyadi, 2015). Populasi dalam penelitian ini yaitu tanaman miana (*Coleus atropurpureus L. Benth*) yang tumbuh pada 17 desa di Kecamatan Sumbergempol Kabupaten Tulungagung

meliputi Bendiljati Kulon, Bendiljati Wetan, Bendilwungu, Bukur, Doroampel, Jabalsari, Junjung, Mirigambar, Podorejo, Sambidoplang, Sambijajar, Sambirobyong, Sumberdadi, Tambakrejo, Terenceng, Wates, Wonorejo.

3.3 Sampel Penelitian

Sampel adalah bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi tersebut (Mulyadi 2015). Sampel dalam penelitian ini yaitu tumbuhan miana (*Coleus atropurpureus L. Benth*) yang daunnya berwarna merah kecoklatan. Dalam penelitian ini bahan tumbuhan miana (*Coleus atropurpureus L. Benth*) yang diambil adalah daun miana yang tumbuh pada 17 desa di Kecamatan Sumbergempol Kabupaten Tulungagung meliputi Bendiljati Kulon, Bendiljati Wetan, Bendilwungu, Bukur, Doroampel, Jabalsari, Junjung, Mirigambar, Podorejo, Sambidoplang, Sambijajar, Sambirobyong, Sumberdadi, Tambakrejo, Terenceng, Wates, Wonorejo.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah segala sesuatu yang ditetapkan oleh peneliti dan untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi beserta kesimpulannya (Mulyadi, 2015). Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, variabel bebas, variabel terikat dan variabel kontrol.

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang memberikan pengaruh atau faktor yang menyebabkan variabel terikat menjadi berubah (Mujino, 2021). Variabel bebas dalam penelitian ini adalah validasi metode DPPH penetapan kadar antioksidan lotion fraksi daun miana secara spektrofotometer Uv-Vis.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan variabel akibat dari adanya variabel bebas (Mujino, 2021). Variabel terikat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aktivitas antioksidan fraksi daun miana dan mutu fisik sediaan.

3.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol merupakan variabel perancu yang dapat mempengaruhi hasil dari hubungan antara variabel bebas dengan variabel terikat (Mujino, 2021).

Variabel kontrol yang digunakan dalam penelitian ini adalah suhu dari *rotary evaporator*. *Rotary Evaporator* adalah alat laboratorium yang memiliki fungsi untuk memisahkan suatu pelarut (solvent) dari sebuah larutan, sehingga akan menghasilkan ekstrak dengan kandungan atau konsentrasi lebih pekat atau sesuai kebutuhan. Proses pemekatan dilakukan di Teknik Kimia Universitas Brawijaya, Malang.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Determinasi Tanaman

Tujuan dilakukan determinasi untuk mengetahui kebenaran identitas jenis tanaman berdasarkan klasifikasi ilmiah (Fidyasari, 2017). Identifikasi sampel daun dari daun miana (*Coleus artropurpureus L. Benth*) dilakukan di UPT Materia Medika Batu, Jawa Timur.

3.4.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia miana (*Coleus artropurpureus L. Benth*) yaitu dengan mengumpulkan daun miana yang berwarna merah kecoklatan tumbuh pada 17 desa di Kecamatan Sumbergempol Kabupaten Tulungagung. Desa tersebut diantaranya Bendiljati Kulon, Bendiljati Wetan, Bendilwungu, Bukur, Doroampel, Jabalsari, Junjung, Mirigambar, Podorejo, Sambidoplang, Sambijajar, Sambirobyong, Sumberdadi, Tambakrejo, Terenceng, Wates, Wonorejo. Kemudian melakukan sortasi basah dengan tujuan untuk membersihkan kulit dari benda asing. Selanjutnya mencuci daun dengan air bersih yang mengalir, meniriskan kemudian menimbang berat basahnya sebanyak 3 kg. Selanjutnya merajang daun miana dengan ukuran 1-2 cm, lalu mengeringkan pada oven dengan suhu 40-50°C sampai simplisia kering dan mudah dipatahkan (Handoyo, 2020).

Selanjutnya dilakukan proses sortasi kering untuk memisahkan benda-benda asing seperti bagian-bagian tanaman yang tidak diinginkan dan pengotoran-pengotoran lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Menimbang simplisia yang sudah kering dan memblender hingga menjadi serbuk. Serbuk simplisia lalu diayak menggunakan ayakan mesh 80 hingga terbentuk serbuk simplisia dengan partikel yang lebih kecil. Hal itu dikarenakan serbuk yang lebih

halus akan lebih mudah dalam pengekstraksian sebab permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari makin luas. Simplisia yang sudah jadi disimpan dalam wadah (Rohmawati, 2008).

3.4.3 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

3.4.3.1 Uji Susut Pengerinan Simplisia

Susut pengerinan adalah pengurangan berat bahan setelah dikeringkan dengan cara yang telah ditetapkan (Departemen Kesehatan RI, 2008)

$$\text{Susut Pengerinan} = \frac{\text{bobot daun basah} - \text{bobot daun kering}}{\text{bobot daun basah}} \times 100\% \dots \text{(Pers. 7)}$$

Penetapan susut pengerinan pada simplisia bertujuan untuk mengetahui batas maksimal atau rentang besarnya pengurangan berat bahan pada proses pengerinan serta tidak terdapat syarat atau rentang nilai yang ditetapkan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

3.4.3.2 Uji Kadar Air

Uji kadar air serbuk simplisia dilakukan dengan memasukan ± 10 g ekstrak dan ditimbang seksama dalam wadah yang telah ditara, selanjutnya dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Dilanjutkan pengerinan dan timbang pada jarak 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25%. Rumus perhitungan kadar air (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000) :

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{bobot awal}} \times 100\% \dots \text{(Pers. 8)}$$

Persyaratan kandungan air dalam serbuk simplisia yaitu kurang dari 10% karena reaksi enzimatik tidak dapat berlangsung dan mencegah kerusakan oleh mikroba (Rina, 2014). Apabila kadar air dalam serbuk simplisia kurang dari 10% dapat mencegah terjadinya penurunan mutu serbuk simplisia. Penyimpanan simplisia dalam waktu yang lama menyebabkan enzim merubah kandungan kimia menjadi produk lain yang tidak lagi memiliki efek farmakologi seperti senyawa asalnya, namun hal ini tidak akan terjadi apabila simplisia yang telah dikeringkan mempunyai kadar air yang rendah.

3.4.4 Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 300 g serbuk daun miana diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Serbuk daun miana direndam dalam wadah tertutup menggunakan pelarut etanol 96%. Perbandingan antara serbuk simplisia dengan pelarut adalah 1:10. Maserasi dilakukan pada suhu kamar selama tiga hari dengan remaserasi setiap 24 jam serta dilakukan pengadukan secara berkala (Khasanah, 2016).

Hasil ekstraksi maserasi berupa maserat, disaring dengan menggunakan kertas saring untuk memisahkan maserat dengan residunya. Maserat yang telah disaring selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak yang didapat dari hasil pemekatan *rotary evaporator* diuapkan diatas *waterbath* suhu 40°C selama 3 hari untuk menghilangkan sisa-sisa pelarut yang mungkin masih ada hingga diperoleh ekstrak kental daun miana (Khasanah, 2016).

3.4.4.1 Uji Rendemen Ekstrak

Rendemen ekstrak merupakan salah satu parameter untuk menilai mutu dari suatu ekstrak. Rendemen ekstrak adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Hasil perhitungan rendemen ditunjukkan dengan satuan (%), semakin tinggi nilai rendemen maka semakin banyak nilai ekstrak yang dihasilkan (Sriwita, 2014).

Persentase rendemen ekstrak dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000):

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak kental}}{\text{bobot serbuk simplisia}} \times 100\% \dots (\text{Pers. 9})$$

3.4.4.2 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol ekstrak dilakukan dengan memasukkan 1 mL ekstrak kental daun miana ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 tetes H₂SO₄, dan 2 tetes asam asetat campuran dihomogenkan kemudian dipanaskan. Hasil positif bebas etanol jika tidak ada bau ester yang khas dari etanol (Tivani, 2021).

3.4.5 Fraksinasi

Ekstrak etanol daun miana (*Coleus atropurpureus* L. Benth) dilakukan metode fraksinasi dengan menimbang sebanyak 20 g ekstrak kental daun miana. Pertama, ekstrak daunnya dipartisi menggunakan corong pisah 100 ml dengan n-

heksana, diikuti dengan etil asetat, dan fraksi air sebagai pecahan yang tersisa. Ekstrak etanol daun miana sebanyak 20 gr dilarutkan dengan ditambahkan 50 mL aquadest, kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah. Setelah itu ditambahkan pelarut n-heksan sebanyak 50 mL, digojok perlahan-lahan. Larutan yang telah tercampur, ditunggu beberapa menit sampai larutan memisah dan diambil fraksi n-heksan. Residu yang dihasilkan difraksinasi kembali dengan pelarut etil asetat. Pelarut etil asetat ditambahkan sebanyak 50 mL, digojok perlahan dan ditunggu sampai larutan memisah dan didapatkan fraksi etil asetat dan fraksi air serta dilakukan pengulangan sampai larutan bening (Sugiarti, 2020). Setiap fraksi diuapkan dengan rotary evaporator dengan suhu 40⁰ C menjadi fraksi kasar (Khasanah, 2016).

3.4.5.1 Uji Bebas n-Heksan

Uji bebas n-heksan dilakukan untuk melihat dalam fraksi daun miana menghasilkan api dan asap. Cara uji bebas n-heksan dilakukan dengan memasukkan 2 tetes fraksi daun miana kedalam tabung reaksi, lalu dibakar. Selanjutnya, mengamati ada tidaknya api atau asap. Jika tidak menghasilkan api dan asap maka fraksi sudah terbebas dari n-heksan dan jika menghasilkan api dan asar maka perlu diuapkan kembali (Sri, 2020).

3.4.5.2 Uji Bebas Etil Asetat

Uji bebas etil asetat untuk melihat dalam fraksi daun miana masih mengandung bau etil asetat atau tidak. Jika sudah tidak berbau etil asetat, fraksi telah bebas dari etil asetat. Uji bebas etil asetat dilakukan dengan memasukkan 2 tetes fraksi daun miana ke dalam tabung reaksi ditambah 2 ml NaOH, 2 ml asam asetat dan 2 ml H₂SO₄. Selanjutnya dihomogenkan sambil dipanaskan dan tabung reaksi ditutup dengan kapas. Lalu, amati perubahan bau, jika tidak berbau etil asetat maka faksi sudah bebas dari etil asetat dan jika masih, maka perlu diuapkan kembali (Sri, 2020).

3.5 Skrining Fitokimia

3.5.1 Identifikasi Flavonoid

Melarutkan fraksi pada 3 mL etanol 96%, lalu dikocok, dipanaskan dan dikocok lagi kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan 0,1 g serbuk

Mg, dan ditambah 2 tetes HCl pekat. Jika terbentuk warna jingga berarti positif mengandung flavonoid. Perubahan warna yang terjadi disebabkan karena flavonoid tereduksi oleh Mg dan HCl (Haeria, 2016).

3.5.2 Identifikasi Saponin

Dilarutkan fraksi ke dalam 10 mL aquades panas. Dikocok selama 10 detik. Hasil positif jika terdapat busa yang stabil. Busa terbentuk karena adanya glikosida yang dapat membentuk busa dalam air dan kemudian terhidrolisis menjadi glukosa serta senyawa lainnya (Setyowati, 2014).

3.5.3 Identifikasi Tanin

Sampel ditambah etanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian ditambahkan 3 tetes FeCl₃ 1%. Bila terbentuk warna biru kehitaman menunjukkan adanya tanin. Warna biru kehitaman dihasilkan dari terbentuknya kompleks antara tanin dengan Fe³⁺ (Kusumo, 2017).

3.5.4 Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 0,5 g fraksi dicampur dengan 1 mL HCl 2 N dan 9 mL aquades panas. Larutan kemudian dipanaskan selama 2 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan pereaksi Dragendorff. Perolehan hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah atau jingga pada sampel. Perubahan warna disebabkan adanya reaksi antara pereaksi Dragendorff dan atom nitrogen yang terdapat pada senyawa alkaloid, sehingga membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K⁺ yang merupakan ion logam dan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Wullur, 2012).

3.6 Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Miana

3.6.1 Penyiapan Larutan DPPH

3.6.1.1 Penyiapan Larutan Baku Induk DPPH 100 ppm

Penyiapan larutan DPPH 100 ppm dilakukan dengan cara ditimbang sebanyak 10,0 mg serbuk DPPH dan dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu ukur 100,0 mL. Larutan dijaga pada suhu ruang, terlindung dari cahaya untuk segera digunakan (Wulandari, 2019).

3.6.1.2 Pembuatan Larutan Baku DPPH 50 ppm

Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara di pipet 50 mL larutan DPPH 100 ppm masukkan dalam labu ukur 100 ml, kemudian tambahkan etanol 96% samapi tanda batas (Wulandari, 2019).

3.6.1.3 Penetapan Panjang Gelombang (λ) Maksimum

Pengujian dilakukan dengan di pipet 1,8 mL larutan DPPH 50 ppm, kemudian ditambahkan dengan etanol 96% 3,2 mL dan dibaca pada panjang gelombang visibel 400- 800 nm (Wulandari, 2019).

3.6.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Kontrol Positif Vitamin C

3.6.2.1 Penyiapan Larutan Baku Induk Kontrol Positif Vitamin C 100 ppm

Ditimbang 10,0 mg vitamin C, larutkan dengan etanol 96% pada labu ukur 100,0 mL hingga tanda batas dan diperoleh konsentrasi 100 ppm. Dari konsentrasi 100 ppm dibuat 5 seri konsentrasi yaitu 2 ppm, 6 ppm, dan 10 ppm. Dipipet 0,2; 0,6; 1 mL sampel dimasukkan dalam labu ukur 10 mL ditambah etanol 96% sampai tanda batas (Wulandari, 2019).

3.6.2.2 Penentuan Aktivitas Antioksidan

Masing-masing konsentrasi dipipet 3,2 mL dan ditambah 1,8 mL larutan DPPH 50 ppm, campuran dimasukkan kedalam kuvet lalu diukur absorbansinya setelah mencapai OT pada panjang gelombang maksimum. Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan persamaan regresi linear hubungan konsentrasi dan % inhibisi (Wulandari, 2019).

3.6.3 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Miana

3.6.3.1 Penyiapan Larutan Induk Fraksi Daun Miana 500 ppm

Ditimbang 25,0 mg tiap fraksi daun miana larutkan dengan etanol 96% pada labu ukur 50,0 mL hingga tanda batas dan diperoleh konsentrasi 500 ppm. Kemudian dilakukan pengeceran hingga diperoleh larutan sampel uji dengan 5 seri konsentrasi yaitu 20 ppm, 40 ppm, dan 60 ppm. Dipipet 0,4; 0,8; 1,2 mL sampel dimasukkan dalam labu ukur 10 mL ditambah etanol 96% sampai tanda batas (Wulandari, 2019).

3.6.3.2 Penentuan Aktivitas Antioksidan

Masing-masing konsentrasi larutan sampel uji dipipet 3,2 mL dan ditambah 1,8 mL larutan DPPH 50 ppm, campuran dimasukkan ke dalam kuvet lalu diukur absorbansinya setelah mencapai OT pada panjang gelombang maksimum. Nilai IC₅₀ dihitung menggunakan persamaan regresi linear hubungan konsentrasi dan % inhibisi (Wulandari, 2019).

3.6.3.3 Perhitungan % Peredaman dan Nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ dihitung berdasarkan persentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel mengikuti persamaan yang telah dijelaskan sebelumnya. Persen peredaman radikal bebas dari masing-masing konsentrasi dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Peredaman} = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100\% \text{ (Rahmi et al., 2021).} \dots \text{ (Pers. 10)}$$

Keterangan:

A₁ = absorbansi kontrol (DPPH)

A₂ = absorbansi sampel

Setelah didapatkan persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, dilanjutkan dengan perhitungan secara regresi linier menggunakan persamaan:

$$y = a + bx \text{ (Rahmi et al., 2021).} \dots \text{ (Pers. 11)}$$

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan Inhibition Concentration 50% atau IC₅₀ yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50 (Rahmi et al., 2021).

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b} \text{ (Hamzah, 2016) } \dots \text{ (Pers. 12)}$$

Keterangan :

Absorbansi Kontrol = Larutan DPPH dalam etanol tanpa penambahan larutan uji

Absorbansi Sampel = Fraksi daun miana

Selanjutnya, menentukan nilai IC₅₀ yang didapatkan dari perhitungan nilai % inhibisi dengan menggunakan analisis statistik Regresi Linear. Berikut adalah persamaannya (Zuhra, 2008);

$$Y = a+bx \dots \text{(Pers. 13)}$$

Dimana:

Y = variable terikat (% Inhibisi)

X = variable bebas (konsentrasi larutan sampel)

a = intersepsi

b = koefisien regresi

Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH (Susilowati and Wulandari,2019).

Tabel 3.1 Kategori Nilai IC50

Intensitas	Nilai IC50
Sangat kuat	<50 ppm
Kuat	50-100 ppm
Sedang	100-250 ppm
Lemah	250-500 ppm
Tidak aktif	>500 ppm

3.7 Penentuan Fraksi Optimum

Menggunakan fraksi optimum ditentukan oleh nilai IC50 dengan intensitas optimum.

3.8 Formulasi Sediaan *Lotion*

Tabel 3.2 Formula *Lotion* (Rasydy,2021)

Bahan	Konsentrasi %					Fungsi
	F0	F1	F2	F3	F4	
Ekstrak Daun Miana	-	0,5	1	1,5	-	Zat Aktif
Vitamin C	-	-	-	-	0,5	Kontrol
Cera ala	2	2	2	2	2	Stabilitas Emulsi
Asam Stearat	5	5	5	5	5	Peningkat Viskositas
NaOH	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	Penetrasi
Karbomer	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	Peningkat Viskositas
BHT	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Antioksidan
Tween 80	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	Emulgator
Span 80	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	Emulgator
Oleum citri	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	Pengaroma
Nipagin	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	Pengawet
Nipasol	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	Pengawet
<i>Purified water</i>	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Zat Pelarut

Formula standar yang digunakan dalam penelitian ini dimodifikasi dari formula penelitian Rasydy (2021). Pada formula tersebut bahan aktif yang digunakan adalah daun miana (*Coleus atropurpureus L. Benth.*).

Tabel 3.3 Fomula Modifikasi *Lotion* Daun Miana

Bahan	Konsentrasi %						Fungsi
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	
Fraksi Daun Miana*	20	40	60	-	-	-	Zat Aktif
Vitamin C*	-	-	-	2	6	10	Kontrol
Cera Alba	2	2	2	2	2	2	Stabilitas Emulsi
Asam Stearat	5	5	5	5	5	5	Peningkat Viskositas
NaOH	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	Penetral
Karbomer	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	<i>Gelling Agent</i>
BHT	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Antioksidan
Tween 80	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	Emulgator
Span 80	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	Emulgator
Oleum Citri	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	Pengaroma
Nipagin	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	Pengawet
Nipasol	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	Pengawet
<i>Purifiedwater</i>	Ad	Ad	Ad	Ad	Ad	Ad	Zat Pelarut
	100	100	100	100	100	100	

Keterangan :

F1 : Formula dengan konsentrasi fraksi 20 ppm

F2 : Formula dengan konsentrasi fraksi 40 ppm

F3 : Formula dengan konsentrasi fraksi 60 ppm

F4 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 2 ppm

F5 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 6 ppm

F6 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 10 ppm

* Penambahan banyaknya larutan ekstrak daun miana dan vitamin C ditentukan setelah diperoleh nilai IC50 x 100

Pembuatan *lotion* dimulai dengan memasukkan seluruh bahan-bahan pada fase minyak yaitu cera alba, asam stearat, span 80, propil paraben kedalam gelas piala, lalu dileburkan dan memanaskannya pada suhu 75°C. Pada fase air yaitu Tween 80 dan metal, bahan-bahan dimasukkan dalam gelas piala dan panaskan

ditingkat suhu yang sama. Selanjutnya, secara perlahan memasukkan fase minyak kedalam fase air sembari tetap diaduk selama 2 menit. Kemudian tambahkan ekstrak daun miana dan karbomer yang telah dicampur NaOH, lalu diaduk hingga membentuk homogen. Terakhir, dimasukkan bahan pewangi dan diaduk hingga *lotion* membentuk homogen. Formulasi sediaan *lotion* dari ekstrak daun miana dapat dilihat dalam Tabel 3.1 (Rasydy, 2021).

3.9 Evaluasi Mutu *Lotion*

Pengujian evaluasi sediaan dilakukan dengan melakukan beberapa evaluasi terhadap mutu fisik *lotion* seperti uji organoleptis, uji homogenitas, uji viskositas, uji pH, uji daya sebar, uji bobot jenis dan uji daya lekat. Selain itu, uji hedonik dilakukan dengan menggunakan respon suka atau tidak suka dari panelis yang terdiri dari kemudahan mengaplikasikan *lotion*, homogenitas dan intensitas warna. Parameter intensitas warna terhadap sifat produk hasil uji penelitian yaitu *lotion* yang digunakan adalah aroma, warna sediaan, tekstur, reaksi terhadap kulit (Rasydy, 2021).

3.9.1 Uji Organoleptik

Uji organoleptis dilakukan secara visual mengenai bentuk, bau dan warna dari sediaan *lotion* (Hendradi, 2013). Bentuk, warna dan bau pada sediaan *lotion* tidak boleh mengalami perubahan selama penyimpanan, karena jika terjadi perubahan atau hilangnya warna dapat disebabkan oleh adanya pertumbuhan mikroorganisme serta dapat menimbulkan bau yang tidak menyenangkan pada sediaan *lotion* maka akan mengganggu kenyamanan dalam pemakaian. *Lotion* memenuhi syarat jikat tidak mengalami perubahan warna dan bau. Tidak memenuhi syarat apabila mengalami perubahan bentuk, warna dan bau. Penelitian ini diamati dan dicatat organoleptis sediaan sesaat setelah jadi pada bulan ke-0. Uji organoleptik akan dilakukan replikasi sebanyak 3x.

3.9.2 Uji Homogenitas

Sampel diambil dari 3 tempat berbeda (atas, tengah, dan bawah) masing-masing sebanyak $\pm 0,10$ gram. Sampel kemudian diletakkan pada kaca objek, tutup dengan kaca objek lainnya dan dilihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 kali. Mengamati homogenitasnya antar partikelnya dengan 3 kali pengulangan.

Sediaan dikatakan homogen jika partikel terdistribusi merata dan tidak homogen apabila partikel tidak terdistribusi dengan merata. Penelitian ini diamati dan dicatat homogenitas sediaan sesaat setelah jadi pada bulan ke-0. (Pebrianti, 2015).

3.9.3 Uji pH

Pengukuran nilai pH menggunakan kertas pH universal yang dicelupkan dalam 0,5 gr sediaan yang telah diencerkan dengan 5 ml *aquadestilata*. Nilai pH sediaan yang baik adalah pada rentang 4,5-6,5 yang sesuai dengan nilai pH kulit manusia (Ambari, 2020). Penelitian ini diamati dan dicatat pH sediaan sesaat setelah jadi pada bulan ke-0. Uji pH akan dilakukan replikasi sebanyak 3x.

3.9.4 Uji Viskositas

Kekentalan suatu cairan mempengaruhi kecepatan dari cairan tersebut, semakin kental maka kecepatan alirnya semakin turun. Pengukuran viskositas sediaan dilakukan dengan menggunakan *viscotester* VT-04F. Sediaan *lotion* dimasukkan pada wadah *viscotester* dan dipasang pada *portable viscotester*, kemudian diturunkan spindel hingga terendam dalam sampel. Spindel dibiarkan berputar selama 30 detik. Viskositas *lotion* dilihat dengan mengamati gerakan jarum penunjuk viskositas (Handoko, 2017). Penelitian ini diamati dan dicatat viskositas sediaan sesaat setelah jadi pada bulan ke-0. Uji viskositas akan dilakukan replikasi sebanyak 3x.

$$\text{Viskositas (cp)} = \text{Angka yang terbaca (dPa.s)} \times 100 \dots \text{(Pers. 14)}$$

3.9.5 Uji Daya Sebar

Untuk mengukur daya sebar *lotion* dilakukan dengan cara menimbang sediaan dan meletakkan 0,5 gram sediaan di antara dua kaca objek yang diberi beban 150 gram (Arthania, 2021). Pengukuran diameter daya sebar dilakukan setelah sediaan tidak dapat menyebar kembali atau kurang 1 menit setelah pemberian beban. Daya sebar yang baik untuk sediaan topikal sekitar 5-7 cm.

Penelitian ini diamati dan dicatat daya sebar sediaan sesaat setelah jadi pada bulan ke-0. Uji daya sebar akan dilakukan replikasi sebanyak 3x.

3.9.6 Uji Bobot Jenis

Uji bobot jenis ditentukan menggunakan piknometer dan berdasarkan pada

perbandingan bobot cairan di udara pada suhu 25°C terhadap bobot air dengan volume dan suhu yang sama. Rasio bobot suatu zat terhadap bobot zat baku yang volumenya sama dan pada suhu yang sama dan dinyatakan dalam desimal disebut bobot jenis. Tujuan bobot jenis adalah sebagai metode analisis yang untuk menentukan senyawa cair, uji identitas, dan kemurnian dari senyawa (Amananti, 2020). Penelitian ini diamati dan dicatat bobot jenis sediaan sesaat setelah jadi pada bulan ke-0. Uji bobot jenis akan dilakukan replikasi sebanyak 3x.

3.9.7 Uji Daya Lekat

Uji daya lekat bertujuan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan *lotion* untuk melekat dikulit (Luliana, 2019). Semakin lama daya lekat suatu sediaan pada tempat aplikasi maka efek farmakologis yang di hasilkan semakin besar. Syarat waktu daya lekat yang baik untuk sediaan topikal adalah tidak kurang dari 4 detik. Sampel *lotion* sebanyak 0,25 gr diletakkan di antara 2 objek gelas pada alat uji daya lekat, ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit, kemudian beban diangkat dan dicatat waktu pelepasan emulgel dari objek gelas. Penelitian ini diamati dan dicatat daya lekat sediaan sesaat setelah jadi pada bulan ke-0. Uji daya lekat akan dilakukan replikasi sebanyak 3x.

3.10 Validasi Metode

3.10.1 Uji Linieritas

Dipipet dari larutan kontrol vitamin C masing-masing 50 µl, 100 µl, 1500µl 200 µl, 250 µl, 300 µl, dan 350 µl, kemudian ditambahkan DPPH sebanyak 1,3 ml dan dicukupkan volumenya dengan etanol p.a hingga 5 ml sehingga diperoleh konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm dan 7 ppm. Campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya larutan tersebut diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm (Wahyuni, 2015). Parameter hubungan linear yang digunakan adalah koefisien korelasi pada analisis regresi linear $y = bx \pm a$, hubungan linear yang ideal dicapai jika nilai $b = 0$ dan $r = +1$ atau -1 tergantung dengan arah garis. Nilai a pada regresi linear menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang digunakan (Harmita, 2004).

3.10.2 Uji Akurasi

Sampel fraksi dengan konsentrasi 350 ppm, 400 ppm dan 450 ppm, Ditambahkan masing-masing larutan baku vitamin C konsentrasi 5 ppm diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya larutan tersebut diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Prosedur ini direplikasi sebanyak 3 kali (Wahyuni, 2015).

$$\%Recovery = \frac{\text{konsentrasi spiking} - \text{konsentrasi sampel}}{\text{Absorbansi standar}} \times 100\% \dots \text{(Pers. 15)}$$

3.10.3 Uji Presisi

Larutan baku vitamin c konsentrasi 4 ppm dimasukkan dalam kuvet dan diukur pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 515 nm. Prosedur direplikasi sebanyak 7 kali (Wahyuni, 2015).

$$RSD = \frac{\text{Standar Deviasi}}{\text{Konsentrasi rata-rata analit dalam sampel}} \times 100\% \dots \text{(Pers. 16)}$$

Keterangan:

$RSD \leq 1\%$ = sangat teliti $1\% \leq RSD \leq 2\%$ = teliti

$2\% \leq RSD \leq 5\%$ = ketelitian sedang $RSD > 5\%$ = ketelitian rendah

3.10.4 Uji LOD & LOQ

Dipipet dari larutan kontrol vitamin C masing-masing 50 µl, 100 µl, 1500µl 200 µl, 250 µl, 300 µl, dan 350 µl, kemudian ditambahkan DPPH sebanyak 1,3 ml dan dicukupkan volumenya dengan etanol p.a hingga 5 ml sehingga diperoleh konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm dan 7 ppm. Campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya larutan tersebut diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm (Wahyuni, 2015) Dipipet dari larutan kontrol vitamin C masing-masing 50 µl, 100 µl, 1500µl 200 µl, 250 µl, 300 µl, dan 350 µl, kemudian ditambahkan DPPH sebanyak 1,3 ml dan dicukupkan volumenya dengan etanol p.a hingga 5 ml sehingga diperoleh konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, 6 ppm dan 7 ppm. Campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya larutan tersebut diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm (Wahyuni, 2015).

$$LOD = \frac{3xSD}{Slope} \dots\dots \text{(Pers. 17)}$$

$$LOQ = \frac{10xSD}{slope} \dots\dots \text{(Pers. 18)}$$

Keterangan:

LOD = Batas deteksi

LOQ = Batas kuantitasi

SD = Standar Deviasi

Slope = nilai b pada persamaan

3.12 Uji Aktivitas Antioksidan Lotion Fraksi Daun Miana

Uji aktivitas antioksidan lotion fraksi daun Miana dengan:

3.12.1 Pembuatan Larutan Baku DPPH 50 ppm

Larutan DPPH 50 ppm dibuat dengan cara di pipet 50 mL larutan DPPH 100 ppm masukkan dalam labu ukur 100 ml, kemudian tambahkan etanol 96% samapi tanda batas (Wulandari, 2019)

3.12.2 Penetapan Panjang Gelombang (λ) Maksimum

Pengujian dilakukan dengan di pipet 1,8 mL larutan DPPH 50 ppm, kemudian ditambahkan dengan etanol 96% 3,2 mL dan dibaca pada panjang gelombang visibel 400- 800 nm (Wulandari, 2019).

3.12.3 Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Miana

Sampel lotion sebanyak 1 gram dilarutkan terlebih dulu kedalam pelarut etanol 96% 20 ml. Selanjutnya di disentrifus dengan kecepatan 5.000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang diperoleh dianalisa aktivitas 38 antioksidannya. Analisa Aktivitas Antioksidan dilakukan terhadap masing-masing fraksi daun miana dan kontrol (+) dengan menggunakan metode penangkapan radikal DPPH. Pada analisis aktivitas antioksidan lotion fraksi daun miana dibuat serangkaian larutan sampel dengan variasi konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm. Dipipet 2, 4, 6, ml sampel dimasukkan dalam labu ukur 10 ml ditambah etanol 96% sampai tanda batas. Sedangkan Pada analisis aktivitas antioksidan kontrol (+) dibuat serangkaian larutan sampel dengan variasi konsentrasi 2 ppm, 6 ppm, 10 ppm. Dipipet 0,2; 0,6; dan 1 ml sampel dimasukkan dalam labu ukur 10 ml ditambah etanol 96% sampai tanda batas. Untuk penentuan aktivitas antioksidan, masing-masing sampel dipipet

3,2 ml dan ditambah 1,8ml larutan DPPH 50 ppm, campuran dimasukkan kedalam kuvet lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Nilai IC50 dihitung menggunakan persamaan regresi linier hubungan konsentrasi dan % inhibisi (Ramadani *et al.*, 2020).

3.12.4 Perhitungan Presentase Inhibisi dan Nilai IC50.

Nilai IC50 dihitung berdasarkan persentase inhibisi terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel mengikuti persamaan yang telah dijelaskan sebelumnya. Persen peredaman radikal bebas dari masing-masing konsentrasi dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ Perendaman} = (A1 - A2) / A1 \times 100\% \text{ (Rahmi et al., 2021).}$$

Keterangan:

A1= absorbansi kontrol (DPPH)

A2= absorbansi sampel

Setelah didapatkan persentase inhibisi dari masing- masing konsentrasi, dilanjutkan dengan perhitungan secara regresi linier menggunakan persamaan:

$$y = a + bx \text{ (Rahmi et al., 2021).}$$

Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan Inhibition Concentration 50% atau IC50 yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC50 didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50 (Rahmi *et al.*, 2021).

$$IC_{50} = (50 - a) : b \text{ (Hamzah, 2016)}$$

Keterangan :

Absorbansi Kontrol = Larutan DPPH dalam etanol tanpa penambahan larutan uji

Absorbansi Sampel = Fraksi daun miana

Selanjutnya, menentukan nilai IC50 yang didapatkan dari perhitungan nilai % inhibisi dengan menggunakan analisis statistik Regresi Linear. Berikut adalah persamaannya (Zuhra, 2008);

$$Y = a + b X$$

Dimana:

Y = variable terikat (% Inhibisi)

X = variable bebas (konsentrasi larutan sampel)

- a = intersepsi
b = koefisien regresi

Tingkat kekuatan antioksidan dengan metode DPPH (Susilowati and Wulandari,2019).

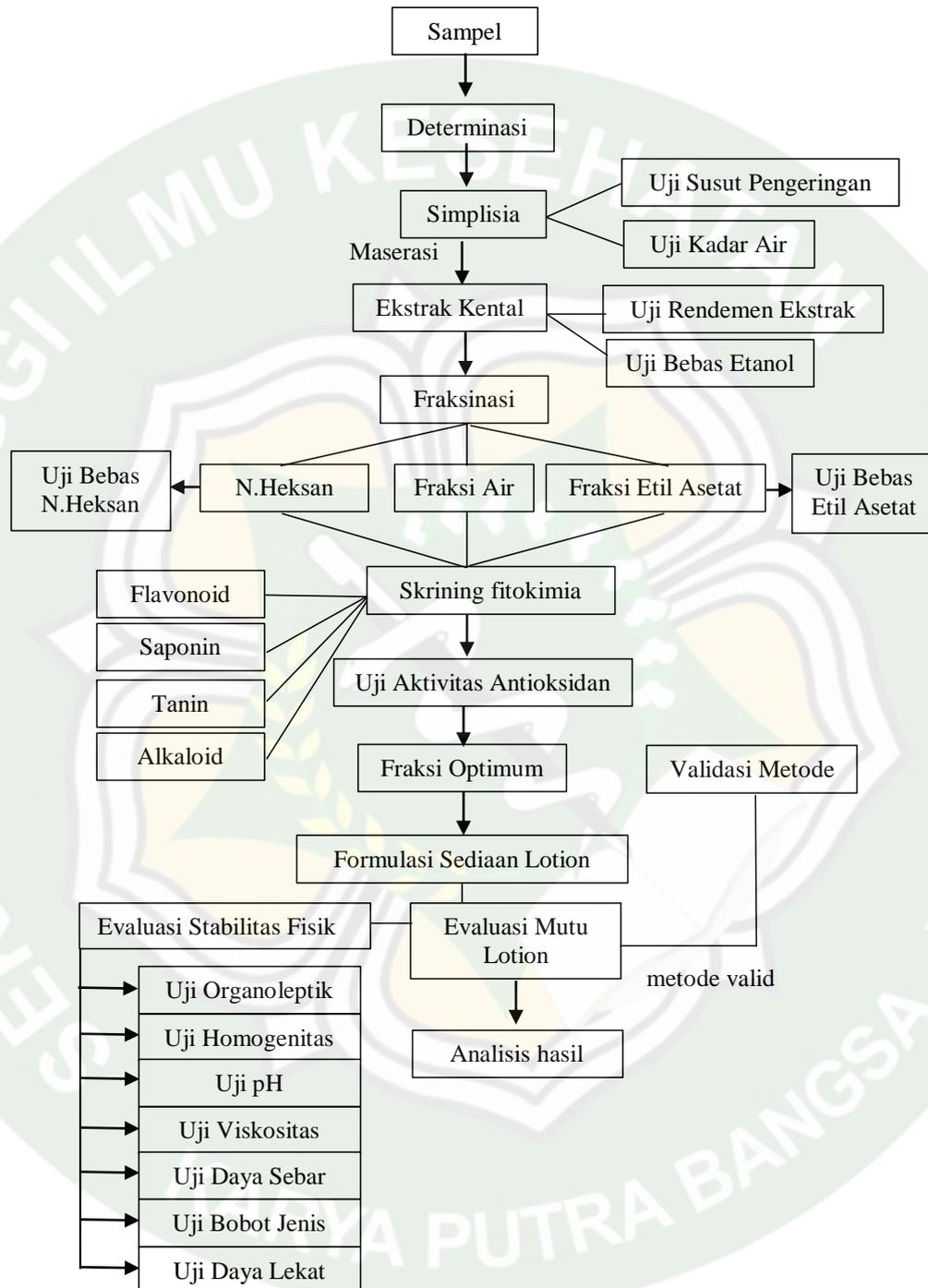
Tabel 3.4 Kategori Nilai IC50

Intensitas	Nilai IC50
Sangat kuat	<50 ppm
Kuat	50-100 ppm
Sedang	100-250 ppm
Lemah	250-500 ppm
Tidak aktif	>500 ppm

3.13 Analisis Hasil

Hasil evaluasi mutu fisik lotion antara lain uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar, uji bobot jenis, dan uji daya lekat akan dideskripsikan.

3.14 Kerangka Pemikiran



Gambar 3.4 Kerangka Penelitian

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman miana dilakukan di Materia Medica, Batu dengan nomor surat 074/196/102.20-A/2022. Determinasi dilakukan untuk mengetahui jenis suatu tanaman berdasarkan klasifikasi ilmiahnya. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah tanaman miana (*Coleus atropurpureus* (L.) Benth), dengan kunci determinasi 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b-248b-249b-250b-266b-267b-273b-276b-278b-279b-282a:Labiatae-la-2a-4b-6b-7a:Coleus-7:C.scutellarioides. Hasil dari determinasi tanaman miana dapat dilihat pada lampiran 1.

4.2 Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

4.2.1 Uji Susut Pengerinan

Uji susut pengerinan pada simplisia dilakukan untuk mengetahui rentang besarnya pengurangan berat simplisia pada proses pengerinan (DEPKES, 2000). Menurut (FHI, 2017) kadar susut pengerinan yang dipersyaratkan untuk simplisia yaitu tidak melebihi 10%. Hasil dari uji susut pengerinan simplisia daun miana sebesar 91%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa simplisia daun miana melebihi rentang menurut FHI yaitu lebih dari 10%. Hal ini disebabkan karena suhu pada proses pengerinan simplisia dapat mempengaruhi proses transpirasi (penguapan kandungan air yang terdapat pada daun miana (Luliana *et al.*, 2016). Hasil uji susut pengerinan simplisia daun miana dapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil Uji Susut Pengerinan Simplisia Daun Miana

Sampel	Bobot Daun Basah	Bobot Daun Kering	% Hasil
Daun Miana	10 kg	0,9 kg	91%

4.2.2 Uji Kadar Air

Uji kadar air dilakukan untuk mengetahui presentase kadar air yang terdapat pada serbuk simplisia (DEPKES, 2000). Uji kadar air serbuk simplisia

dilakukan dengan mengeringkan \pm 10 gram serbuk simplisia dalam oven dengan suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang kembali. Uji kadar air digunakan sebagai salah satu parameter untuk melihat kualitas simplisia daun miana yang digunakan masih memiliki kadar air yang sesuai batas atau tidak. Menurut (FHI, 2017), kadar air yang dipersyaratkan untuk simplisia daun miana yaitu tidak lebih dari 10%. Kadar air yang melebihi batas maksimal kadar air dapat menyebabkan simplisia tersebut tidak bertahan lama dan rentan terhadap pertumbuhan mikroba dan jamur. Hasil dari uji kadar air serbuk daun miana yaitu 7,5%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kadar air serbuk daun miana memenuhi syarat yang ditetapkan yaitu tidak lebih dari 10%. Hasil uji kadar air serbuk simplisia daun miana dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji Kadar Air Simplisia Daun Miana

Sampel	Bobot Awal	Bobot Akhir	% Hasil
Daun Miana	10,00 g	9,25 g	7,5%

4.3 Pembuatan Ekstrak Daun Miana

Proses ekstraksi simplisia daun miana dilakukan dengan menggunakan metode maserasi karena lebih sederhana, relatif murah, menggunakan alat yang sederhana serta dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas (Bachdim *et al.*, 2016). Pelarut yang digunakan yaitu etanol 96 % karena bersifat polar yang dapat melarutkan hampir semua zat baik yang bersifat polar, semipolar, maupun nonpolar sehingga sangat efektif untuk mendapatkan kandungan flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid. Hasil maserasi diuapkan/dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C sampai diperoleh ekstrak kental. Penggunaan suhu 60°C, dikarenakan pada suhu tersebut terdapat kandungan flavonoid tinggi, senyawa flavonoid tergolong memiliki titik didih paling rendah dibandingkan dengan saponin, tanin, dan alkaloid, apabila suhu dinaikkan akan menurunkan kadar flavonoid. Senyawa tanin memiliki titik didih berkisar 98°C - 101°C (Irianty and Yenti, 2014). Senyawa alkaloid memiliki titik didih berkisar 87°C - 238°C (Safitri, 2018). Senyawa saponin memiliki titik didih yang cukup tinggi yaitu hingga mencapai 158°C

(Santosa *et al.*, 2018)

4.3.1 Rendemen Ekstrak

Rendemen merupakan parameter penting dalam pembuatan simplisia untuk melihat perbandingan berat kering simplisia yang dihasilkan dengan berat bahan baku. Besar kecilnya nilai rendemen menunjukkan keefektifan proses ekstraksi yang dipengaruhi oleh beberapa hal, seperti ukuran partikel simplisia, jenis pelarut yang digunakan sebagai penyari, metode dan lamanya ekstraksi (Nabila, 2020). Semakin lama waktu ekstraksi maka semakin tinggi rendemen yang diperoleh. Hal tersebut terjadi karena terdapat kesempatan bereaksi antara bahan dengan pelarut yang lama sehingga proses penetrasi pelarut kedalam sel bahan semakin baik yang menyebabkan semakin banyak senyawa yang berdifusi keluar sel (Mardina, 2011). Menurut (FHI, 2017), rendemen yang dipersyaratkan untuk simplisia daun miana yaitu tidak kurang dari 8,5%. Hasil penelitian menunjukkan rendemen ekstrak daun miana sebesar 14,653%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa rendemen ekstrak daun miana tidak mengurangi batas minimal menurut FHI yaitu 8,5%. Hasil uji rendemen ekstrak daun miana dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Rendemen Ekstrak Daun Miana

Sampel	Bobot Simplisia	Bobot Ekstrak	% Hasil
Daun Miana	500 g	73,268 g	14,653%

4.3.2 Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan untuk memastikan ekstrak sudah tidak mengandung pelarut etanol, sehingga didapatkan ekstrak yang diinginkan. Uji bebas etanol dilakukan dengan cara 1 ml ekstrak kental daun miana dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan sebanyak 2 tetes CH_3COOH dan 2 tetes H_2SO_4 . Kemudian campuran dihomogenkan dan dipanaskan dengan tabung reaksi ditutup dengan kapas. Hasil uji bebas etanol ekstrak menunjukkan bahwa ekstrak tersebut positif bebas etanol yang ditandai dengan tidak terciumnya bau etanol pada ekstrak seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Daun Miana

Sampel	Perlakuan	Hasil	Keterangan
Ekstrak Daun Miana	CH ₃ COOH, H ₂ SO ₄ , dipanaskan	-	Bebas Etanol

Keterangan : (+) Terdapat etanol dan (-) tidak terdapat etanol.

4.4 Fraksinasi Daun Miana

Ekstrak daun miana selanjutnya dilakukan fraksinasi yang bertujuan untuk memisahkan senyawa yang terdapat pada daun miana berdasarkan pada tingkat kepolarannya. Pelarut yang digunakan yaitu *aquadestilata* sebagai pelarut polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar, dan n-heksan sebagai pelarut non polar dengan perbandingan 1:1. Hasil fraksi *aquadestilata* dilakukan pemekatan menggunakan *rotary evaporator* di Universitas Brawijaya, Malang.

4.4.1 Uji Bebas N-Heksan

Uji bebas n-heksan dilakukan untuk mengetahui fraksi ekstrak daun miana menghasilkan api dan asap atau tidak. Uji bebas n-heksan dilakukan dengan cara memasukkan 2 ml fraksi daun miana kedalam tabung reaksi kemudian dipanaskan dan diamati ada tidaknya api atau asap. Hasil positif ditunjukkan dengan tidak adanya api atau asap yang dihasilkan (Sofia et al., 2020). Hasil uji bebas n-heksan fraksi daun miana menunjukkan bahwa fraksi tersebut positif bebas n-heksan yang ditandai dengan tidak adanya api atau asap yang dihasilkan. Hasil uji bebas n-heksan ekstrak daun miana dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil uji bebas N-heksan ekstrak daun miana

Sampel	Perlakuan	Hasil	Keterangan
Fraksi Daun Miana	Dipanaskan	-	Bebas N-heksan

Keterangan : (+) Terdapat senyawa dan (-) tidak terdapat senyawa.

4.4.2 Uji Bebas Etil Asetat

Uji bebas etil asetat dilakukan untuk mengetahui fraksi daun miana mengandung bau cuka atau tidak. Apabila tidak berbau cuka maka fraksi tersebut telah bebas dari etil asetat. Uji bebas etil asetat dilakukan dengan cara memasukkan 2 ml fraksi daun miana ke dalam tabung reaksi ditambah 2 tetes H₂SO₄ pekat.

Selanjutnya campuran dihomogenkan dan dipanaskan serta ditutup dengan kapas (Sofia et al., 2020). Hasil uji bebas etil asetat fraksi daun miana menunjukkan bahwa fraksi tersebut positif bebas etil asetat yang ditandai dengan tidak terciumnya bau cuka pada fraksi. Hasil uji bebas etil asetat fraksi daun miana dapat dilihat pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Hasil uji bebas etil asetat ekstrak daun miana

Sampel	Perlakuan	Hasil	Keterangan
Fraksi Daun Miana	H ₂ SO ₄ dipanaskan	-	Bebas Etil Asetat

Keterangan : (+) Terdapat senyawa dan (-) tidak terdapat senyawa.

4.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam fraksi daun miana. Daun miana mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun miana dapat dilihat pada Tabel 4.7

Tabel 4.7 Hasil Skrining Senyawa fraksi Daun Miana

Golongan Senyawa	Pereaksi	Perubahan Warna	Hasil		
			F.A	F.E	F.N
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl pekat	Jingga	+	-	-
Saponin	HCl + <i>Aquadestilata</i> panas	Terbentuk busa stabil	+	+	+
Tanin	FeCl ₃ 1%	Hijau kehitaman	+	+	+
Alkaloid	H ₂ SO ₄ 2N + <i>Dragendrooff</i>	Warna jingga/kemerahan	+	-	-

Keterangan : (+) Terdapat senyawa dan (-) tidak terdapat senyawa.

F.A = fraksi aquadest

F.E = fraksi etil asetat

F.N = fraksi n-heksan

4.4.1 Uji Flavonoid

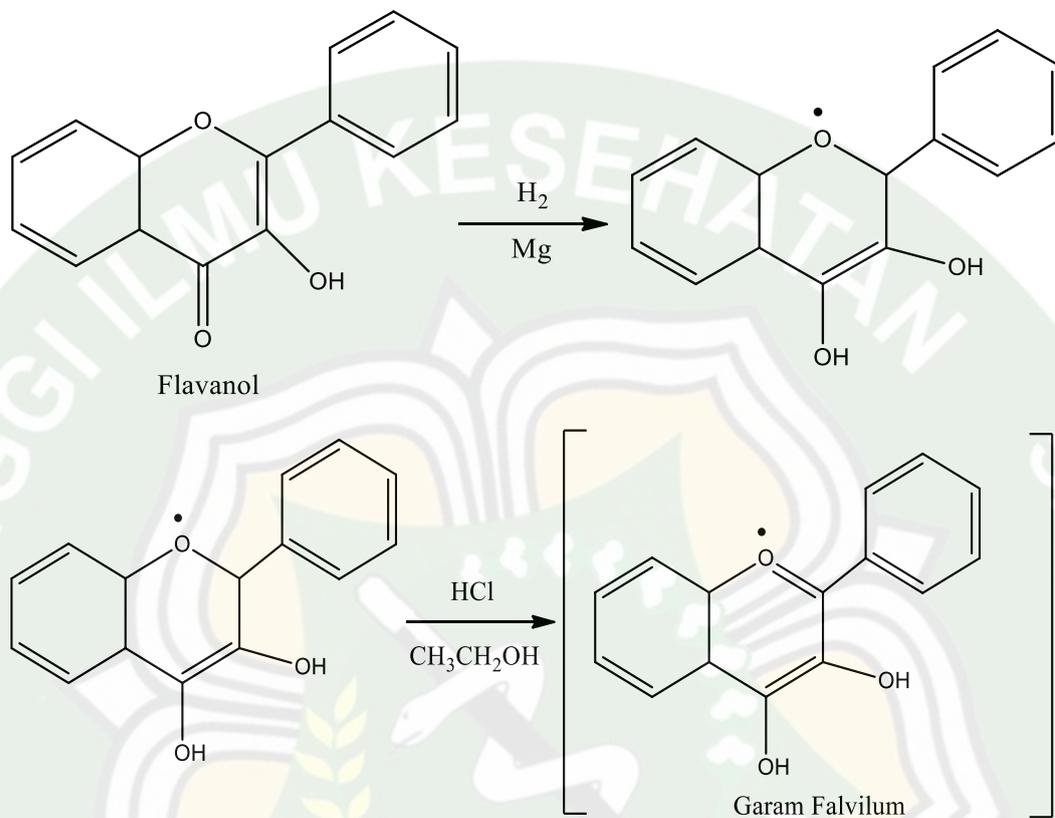


Gambar 4.1 Uji Flavonoid, (a) Sebelum perlakuan, (b) Sesudah perlakuan

Berdasarkan Tabel 4.7 fraksi Daun miana memiliki kandungan flavonoid yang dapat digunakan sebagai antioksidan dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas (Kusuma, 2015) serta dapat meningkatkan aktivitas antioksidan enzim antioksidan seluler (Hardiningtyas *et al.*, 2014). Uji flavonoid dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid dalam fraksi daun miana. Uji flavonoid dilakukan dengan cara melarutkan fraksi pada etanol 96%, dipanaskan dan dikocok kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan serbuk Mg, dan HCl pekat. Jika terbentuk warna jingga berarti positif mengandung flavonoid. Perubahan warna yang terjadi disebabkan karena flavonoid tereduksi oleh Mg dan HCl (Haeria, 2016). Hasil uji flavonoid dapat dilihat pada Gambar 4.1.

Pada uji flavonoid dilakukan dengan penambahan serbuk Mg, dan HCl pekat. Jika ekstrak sampel terdapat senyawa flavonoid, maka setelah penambahan logam Mg dan HCl akan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga. Penambahan HCl pekat dalam uji flavonoid dimaksudkan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan terganggu oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Glikosida berupa gula yang biasa dijumpai yaitu glukosa, galaktosa dan ramnosa. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna

merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan xanton. (Latifah, 2015).
Reaksi tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Reaksi flavonoid dengan HCl dan logam Magnesium (Mariana, 2013).

4.4.2 Uji Saponin



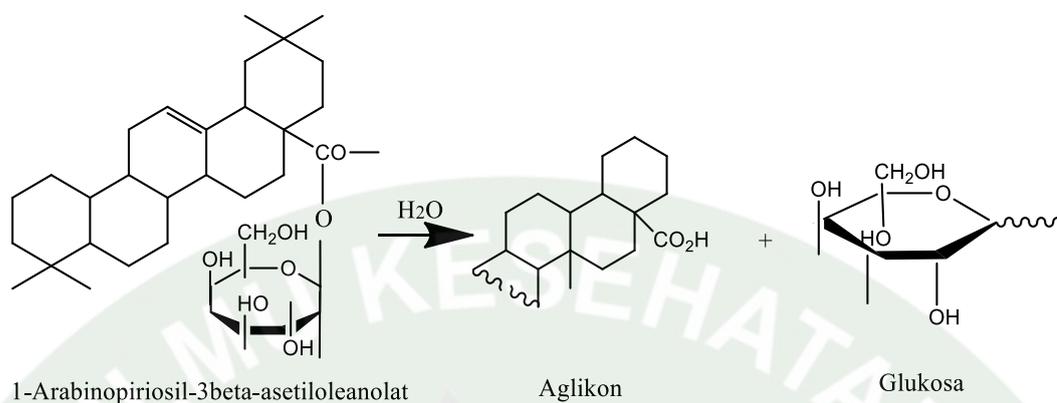
Gambar 4.3 Uji Saponin, (a) Sebelum perlakuan, (b) Sesudah perlakuan

Berdasarkan Tabel 4.7 semua fraksi Daun miana memiliki kandungan senyawa saponin. Uji saponin dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa

saponin dalam fraksi daun miana. Saponin merupakan senyawa yang bersifat seperti sabun yang dapat dideteksi berdasarkan kemampuannya dalam membentuk busa. Aktivitas senyawa saponin sebagai antioksidan dapat meredam superoksida melalui pembentukan intermediet hidroperoksida sehingga mencegah kerusakan biomolekular oleh radikal bebas (Nabila, 2020).

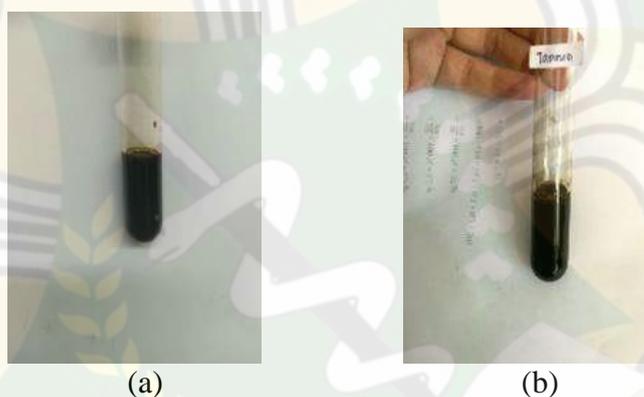
Uji fitokimia senyawa saponin dididihkan dengan aquades dalam penangas air kemudian filtrat dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Hasil uji saponin ekstrak daun miana menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya busa yang stabil (bertahan lama) menunjukkan positif terdapat saponin. Terbentuknya busa karena adsorpsi molekul saponin pada permukaan air dapat menurunkan permukaan tegangan permukaan air yang dapat menimbulkan busa (Setyowati, 2014). Hasil uji saponin dapat dilihat pada Gambar 4.3.

Hasil uji saponin dari semua fraksi menunjukkan hasil positif yang ditandai oleh adanya busa. Timbulnya busa menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Latifah, 2015). Busa yang dihasilkan pada uji skrining fitokimia bersifat stabil. Stabilitasnya busa dikarenakan adanya glikosida yang dapat membentuk busa dalam air dan kemudian terhidrolisis menjadi glukosa. Pengujian saponin menyebabkan meningkatnya kepolaran senyawa saponin sehingga terjadi perubahan letak gugus penyusunnya. Dalam keadaan tersebut, gugus yang bersifat polar (hidrofilik) akan menghadap ke luar dan gugus non-polar (hidrofobik) menghadap ke dalam dan membentuk struktur yang disebut struktur misel (Putri and Lubis, 2020). Reaksi saponin dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Reaksi hidrolisis saponin dalam air (Marliana, 2015).

4.4.3 Uji Tanin

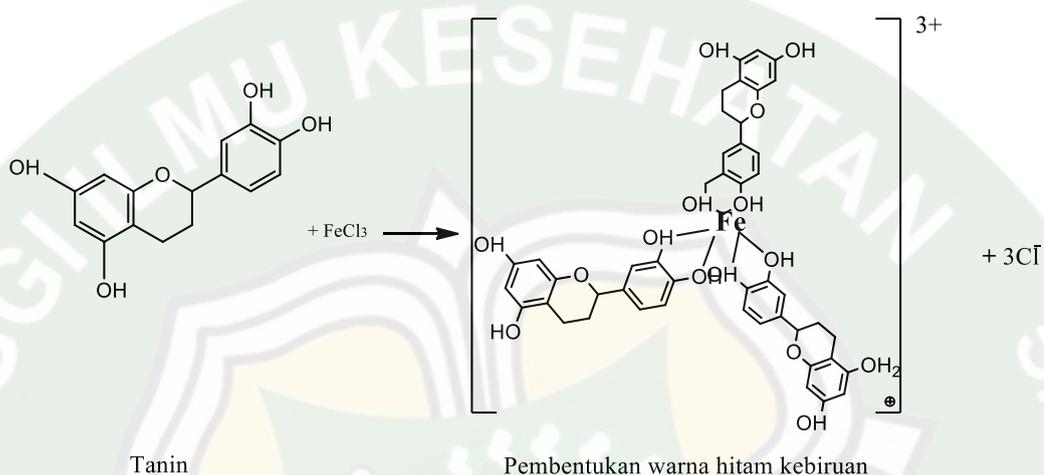


Gambar 4.5 Uji Tanin, (a) Sebelum perlakuan, (b) Sesudah perlakuan

Berdasarkan Tabel 4.7 fraksi Daun miana memiliki kandungan senyawa tannin. Uji tanin dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa tanin dalam fraksi daun miana. Tanin memiliki khasiat sebagai antibakteri, antioksidan, astringen dan antidiare. Tanin merupakan salah satu komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar mengkristal dan sukar dipisahkan. Uji tanin dilakukan dengan menambahkan sampel ditambah etanol sampai sampel terendam semuanya. Kemudian ditambahkan 3 tetes FeCl_3 1%.

Hasil uji tanin semua fraksi daun miana menunjukkan hasil positif dengan terbentuk warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya tanin. Hasil uji tannin dapat dilihat pada Gambar 4.5. Perubahan warna hijau kehitaman terjadi akibat pembentukan senyawa kompleks antara tanin dengan ion Fe^{3+} . Senyawa kompleks

tersebut terbentuk karena terdapat ikatan kovalen koordinasi antara ion atau atom logam dengan atom non logam (Novitasari, 2015). Reaksi tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.6.



Gambar 4.6 Reaksi antara tanin dan FeCl₃ (Marliana, 2015).

4.4.4 Uji Alkaloid



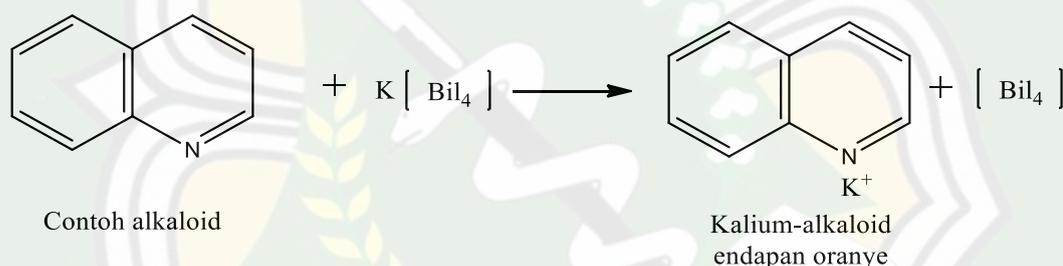
Gambar 4.7 Uji Alkaloid, (a) Sebelum perlakuan, (b) Sesudah perlakuan

Berdasarkan Tabel 4.7 fraksi Daun miana memiliki kandungan senyawa alkaloid. Uji alkaloid dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa alkaloid dalam fraksi daun miana. Senyawa alkaloid sebagai antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan atom H pada radikal bebas yang menunjukkan bahwa alkaloid bekerja sebagai antioksidan primer.

Uji alkaloid dilakukan dengan menambahkan sampel dengan H₂SO₄ 2N lalu ditetesi dengan penguji Dragendroff sebanyak 3 tetes. Hasil uji alkaloid ekstrak

daun miana menunjukkan hasil positif dengan terbentuk endapan orange yang menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Terdapatnya endapan orange karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion logam K^+ dengan alkaloid sehingga terbentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Pereaksi *Dragendorff* berfungsi untuk mendeteksi adanya alkaloid dikarenakan pereaksi ini mengandung bismut yang merupakan logam berat atom tinggi (Nabila, 2020)

Hasil uji alkaloid pada fraksi aquadest menunjukkan hasil positif karena ditandai dengan adanya warna merah atau jingga pada sampel, hasil uji alkaloid dapat dilihat pada Gambar 4.7. Perubahan warna disebabkan adanya reaksi antara pereaksi Dragendorff dan atom nitrogen yang terdapat pada senyawa alkaloid, sehingga membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam dan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Wullur, 2012). Reaksi alkaloid dapat dilihat pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8 Reaksi uji Dragendrof (Marliana, 2015)

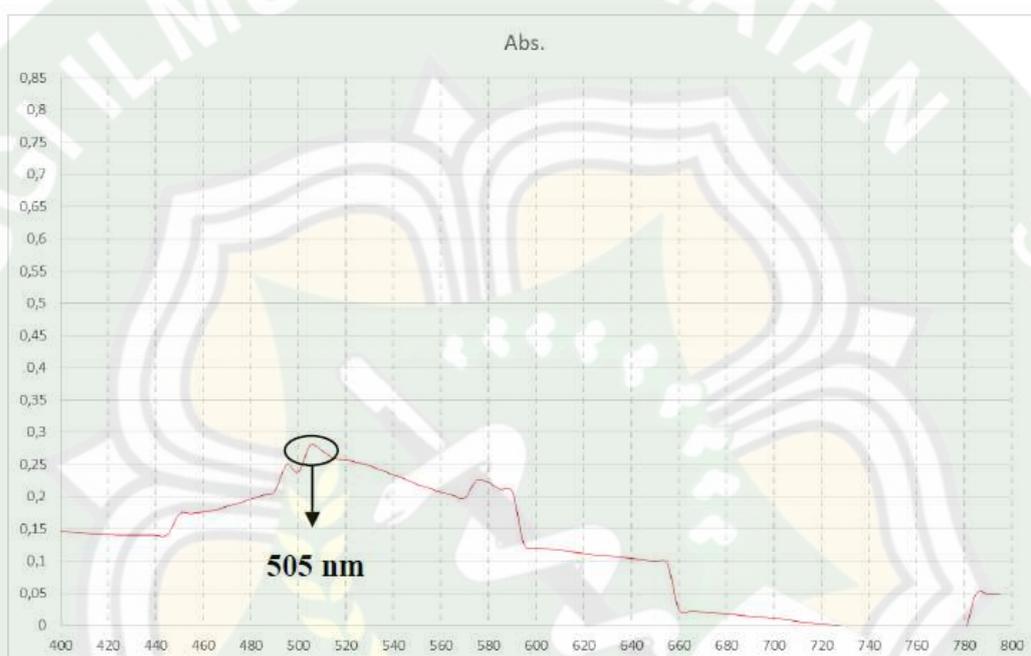
4.6 Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Miana Metode DPPH (2,2 difenil- 2 pikrilhidrazil).

DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dalam larutan metanol dan berwarna ungu tua. Perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning yang diukur pada panjang gelombang maksimal dipengaruhi oleh mekanisme senyawa antioksidan yang bereaksi dengan radikal DPPH yang mendonasi atom hidrogen.

4.7 Penentuan panjang gelombang maksimal larutan DPPH (2,2 difenil- 2 pikrilhidrazil)

Penetapan panjang gelombang maksimum digunakan untuk mengetahui panjang gelombang yang dihasilkan pada nilai serapan paling maksimum sampel

untuk mendapatkan hasil pengukuran yang akurat dan memperkecil kesalahan (Habiba, 2021). Penentuan panjang gelombang maksimal (λ max) larutan DPPH dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan pada panjang gelombang antara 400-800 nm. Hasil panjang gelombang maksimum (λ max) larutan DPPH adalah 505 nm dengan absorbansi 0,29. Hasil dapat digunakan untuk % inhibisi dan penentuan IC50 menggunakan regresi linier.



Gambar 4.9 Spektrum absorbansi larutan DPPH pada panjang gelombang 400 – 800 nm.

4.6.2. Uji aktivitas antioksidan fraksi daun miana dan vitamin C

Parameter dari metode DPPH pada aktivitas antioksidan didasarkan pada hasil IC50 (*Inhibition Concentration 50%*). IC50 adalah konsentrasi efektif yang diperlukan untuk meredam aktivitas radikal bebas sampai 50%. Semakin kecil IC50 berarti semakin besar aktivitas antioksidannya. Nilai IC50 yang kecil berarti potensi aktivitas antioksidannya yang paling besar karena pada konsentrasi kecil sudah mampu meredam radikal bebas sebesar 50%. IC50 dapat dihitung dengan membuat kurva regresi linear (Habiba, 2021). Pengujian dilakukan dengan mengambil sampel sebanyak 3,2 ml dari berbagai konsentrasi dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan larutan DPPH 50 ppm sebanyak 1,8 ml kemudian larutan dihomogenkan. Selanjutnya dibaca serapan aktivitas antioksidannya menggunakan

spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang optimum yang diperoleh. Pada uji antioksidan digunakan vitamin C sebagai kontrol positif atau pembanding karena vitamin C memiliki sifat sebagai antioksidan yang kuat. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa vitamin C sebagai kontrol positif antioksidan memiliki nilai IC50 sebesar 14,535 ppm yang tergolong sangat kuat, sedangkan nilai IC50 Fraksi *aquadestilata* sebesar 79,943 ppm yang tergolong kuat, nilai IC50 pada fraksi etil asetat sebesar 111,55 ppm yang tergolong sedang, nilai IC50 fraksi n-heksan sebesar 240,48 ppm tergolong sedang. Hasil fraksi *aquadestilata* memiliki aktivitas antioksidan terbaik dibanding dengan fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan yang sejalan dengan hasil penetapan kadar flavonoid dengan metode spektrofotometer UV-VIS pada fraksi *aquadestilata* memiliki kadar flavonoid tertinggi. Sehingga dengan hasil IC50 tersebut, fraksi *aquadestilata* daun miana berpotensi sebagai antioksidan yang selanjutnya diformulasikan dalam bentuk sediaan lotion. Hasil uji aktivitas antioksidan fraksi daun miana dan vitamin C dapat dilihat pada Tabel 4.8

Tabel 4.8 Data uji aktivitas antioksidan fraksi daun miana dan vitamin C.

Sampel	Kadar (ppm)	Absorbansi Rata-Rata	% Inhibisi	IC50	Kategori
Vitamin C	2	0,259	10,575	14,535	Sangat Kuat
	6	0,216	25,517		
	8	0,188	35,172		
Fraksi <i>Aquadestilata</i>	20	0,259	10,575	79,943	Kuat
	40	0,216	25,517		
	60	0,188	35,172		
Fraksi Etil Asetat	20	0,206	28,851	111,55	Sedang
	40	0,179	38,161		
	60	0,182	37,356		
Fraksi N-Heksan	20	0,212	27,011	240,48	Lemah
	40	0,204	29,655		
	60	0,200	31,149		

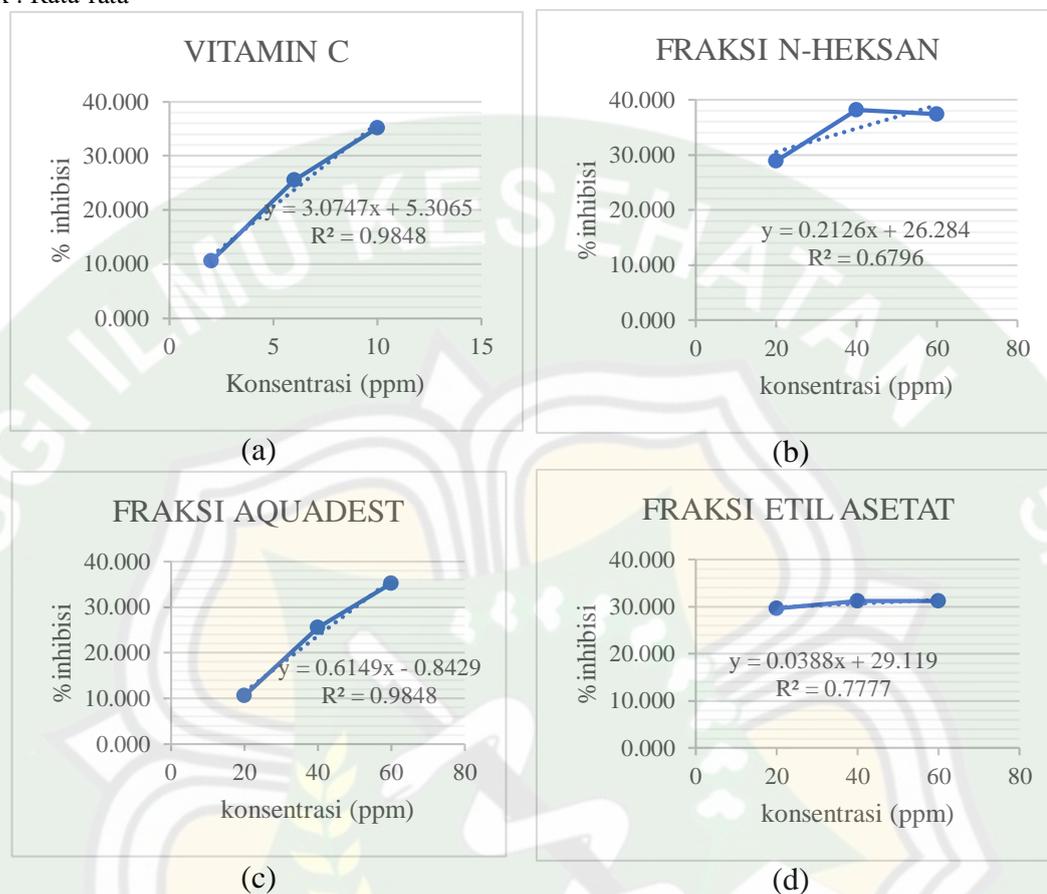
Keterangan :

R1: Replikasi pertama

R2: Replikasi kedua

R3: Replikasi ketiga

\bar{x} : Rata-rata



Gambar 4. 10 (a): Aktivitas Antioksidan Vitamin C, (b): Aktivitas Antioksidan Fraksi N-Heksan, (c): Aktivitas Antioksidan Fraksi Aquadestilata dan (d): Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat

4.7 Formulasi Sediaan Lotion

Fraksi daun miana pada formulasi digunakan sebagai zat aktif yang berkhasiat sebagai antioksidan. Sediaan lotion dibuat 5 formulasi dengan variasi ekstrak fraksi yaitu (F0) sebagai kontrol positif, (F1) fraksi dengan konsentrasi 20 ppm, (F2) 40 ppm, (F3) 60 ppm dan (F4) sebagai kontrol negatif. Formula lotion yang digunakan dapat dilihat pada table 4.10. bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain fraksi daun miana, vitamin C, cera alba, asam stearate, NaOH, karbomer, BHT, tween 80, span 80, oleum citri, nipagin, nipasol, dan purified water.

Tabel 4.9 Fomula Modifikasi *Lotion* Daun Miana

Bahan	Konsentrasi %						Fungsi
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	
Fraksi Daun	20	40	60	-	-	-	Zat Aktif
Miana *	ppm	ppm	ppm				
Vitamin C*	-	-	-	2	6	10	Kontrol
				ppm	ppm	ppm	
Cera Alba	2	2	2	2	2	2	Stabilitas Emulsi
Asam Stearat	5	5	5	5	5	5	Peningkat Viskositas
NaOH	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	Penetral
Karbomer	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	<i>Gelling Agent</i>
BHT	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Antioksidan
Tween 80	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	Emulgator
Span 80	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	Emulgator
Oleum Citri	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	Pengaroma
Nipagin	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18	Pengawet
Nipasol	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	Pengawet
<i>Purifiedwater</i>	Ad	Ad	Ad	Ad	Ad	Ad	Zat Pelarut
	100	100	100	100	100	100	

Penambahan banyaknya larutan fraksi daun miana ditentukan oleh setelah diperoleh nilai $IC_{50} \times 100$
Keterangan :

F1 : Formula dengan konsentrasi fraksi 20 ppm

F2 : Formula dengan konsentrasi fraksi 40 ppm

F3 : Formula dengan konsentrasi fraksi 60 ppm

F4 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 2 ppm

F5 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 6 ppm

F6 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 10 ppm

* Penambahan banyaknya larutan ekstrak daun miana dan vitamin C ditentukan setelah diperoleh nilai $IC_{50} \times 100$

Pembuatan *lotion* dimulai dengan memasukkan seluruh bahan-bahan pada fase minyak yaitu cera alba, asam strearat, span 80, propil paraben kedalam gelas

piala, lalu dileburkan dan memanaskannya pada suhu 75°C. Pada fase air yaitu Tween 80 dan metal, bahan-bahan dimasukkan dalam beker gelas dan panaskan ditingkat suhu yang sama. Selanjutnya, secara perlahan memasukkan fase minyak kedalam fase air sembari tetap diaduk selama 2 menit. Kemudian tambahkan ekstrak daun miana dan karbomer yang telah dicampur NaOH, lalu diaduk hingga membentuk homogen. Terakhir, dimasukkan bahan pewangi dan diaduk hingga *lotion* membentuk homogen.

4.8 Uji Stabilitas Sediaan Lotion

Uji stabilitas sediaan bertujuan untuk mengetahui ketahanan sediaan lotion antioksidan dengan penyimpanan tertentu pada suhu ruangan. Pengamatan sediaan lotion yaitu dengan penyimpanan suhu kamar dan diamati perubahan sediaan pada hari ke-0. Pengamatan uji stabilitas meliputi organoleptis (untuk mengamati bentuk, bau, warna sediaan lotion), homogenitas (untuk melihat homogenitas sediaan lotion), pH (untuk mengetahui sesuai atau tidaknya antara pH sediaan topikal dengan pH kulit), daya lekat (untuk mengetahui kemampuan sediaan lotion melekat pada kulit), daya sebar (untuk menjamin sediaan lotion ketika diaplikasikan pada kulit), dan uji bobot jenis (Binti, 2019).

4.8.1 Uji Organoleptik

Uji organoleptis dilakukan secara visual mengenai bentuk, bau dan warna dari sediaan *lotion* (Hendradi, 2013). Bentuk, warna dan bau pada sediaan *lotion* tidak boleh mengalami perubahan selama penyimpanan, karena jika terjadi perubahan atau hilangnya warna dapat disebabkan oleh adanya pertumbuhan mikroorganisme serta dapat menimbulkan bau yang tidak menyenangkan pada sediaan *lotion* maka akan mengganggu kenyamanan dalam pemakaian. *Lotion* memenuhi syarat jikat tidak mengalami perubahan warna dan bau. Tidak memenuhi syarat apabila mengalami perubahan bentuk, warna dan bau. Penelitian ini diamati dan dicatat organoleptis sediaan sesaat setelah jadi pada bulan ke-0. Uji organoleptik akan dilakukan replikasi sebanyak 3x. Hasil uji organoleptic dapat dilihat pada Tabel 4.10.

Tabel 4.10 Data hasil uji organoleptik sediaan lotion.

Parameter	Formulasi					
	F1	F2	F3	F4	F5	F6
Aroma	Jeruk	Jeruk	Jeruk	Jeruk	Jeruk	Jeruk
Bentuk	Semi	Semi	Semi	Semi	Semi	Semi
	Padat	Padat	Padat	Padat	Padat	Padat
Warna	Putih	Putih	Putih	Putih	Putih	Putih

Keterangan :

F1 : Formula dengan konsentrasi fraksi 20 ppm

F2 : Formula dengan konsentrasi fraksi 40 ppm

F3 : Formula dengan konsentrasi fraksi 60 ppm

F4 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 2 ppm

F5 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 6 ppm

F6 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 10 ppm

Tabel 4.10 menunjukkan keenam sediaan memiliki konsistensi bentuk semi padat, berwarna putih dan sediaan memiliki aroma khas jeruk oleh penambahan pengaroma oleum citri.

4.8.2 Uji Homogenitas

Sampel diambil dari 3 tempat berbeda (atas, tengah, dan bawah) masing-masing sebanyak $\pm 0,10$ gram. Sampel kemudian diletakkan pada kaca objek, tutup dengan kaca objek lainnya dan dilihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 kali. Mengamati homogenitasnya antar partikelnya dengan 3 kali pengulangan. Sediaan dikatakan homogen jika partikel terdistribusi merata dan tidak homogen apabila partikel tidak terdistribusi dengan merata. Penelitian ini diamati dan dicatat homogenitas sediaan sesaat setelah jadi pada bulan ke-0. (Pebrianti, 2015). Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada Tabel 4.11.

Tabel 4.11 Data hasil uji homogenitas

Formulasi	Hasil
F1	Homogen
F2	Homogen
F3	Homogen
F4	Homogen
F5	Homogen
F6	Homogen

Keterangan :

F1 : Formula dengan konsentrasi fraksi 20 ppm

F2 : Formula dengan konsentrasi fraksi 40 ppm

F3 : Formula dengan konsentrasi fraksi 60 ppm

F4 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 2 ppm

F5 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 6 ppm

F6 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 10 ppm

Tabel 4.11 menunjukkan keenam sediaan memiliki homogenitas yang baik ditandai dengan tidak terdapat butiran-butiran maupun gumpalan yang teramati secara visual pada kaca objek.

4.8.3 Uji pH

Pengukuran nilai pH menggunakan kertas pH universal yang dicelupkan dalam 0,5 gr sediaan yang telah diencerkan dengan 5 ml *aquadestilata*. Nilai pH sediaan yang baik adalah pada rentang 4,5-6,5 yang sesuai dengan nilai pH kulit manusia (Ambari, 2020). Penelitian ini diamati dan dicatat pH sediaan sesaat setelah jadi pada bulan ke-0. Uji pH akan dilakukan replikasi sebanyak 3x. Hasil uji pH dapat dilihat pada Tabel 4.12.

Tabel 4.12 Data hasil uji pH

Formulasi	Nilai pH			
	R 1	R2	R3	Rata-rata \pm SD
F1	6	6	6	6 \pm 0
F2	6	6	6	6 \pm 0
F3	6	6	6	6 \pm 0
F4	5	5	5	5 \pm 0
F5	5	5	5	5 \pm 0
F6	5	5	5	5 \pm 0

Keterangan :

F1 : Formula dengan konsentrasi fraksi 20 ppm

F2 : Formula dengan konsentrasi fraksi 40 ppm

F3 : Formula dengan konsentrasi fraksi 60 ppm

F4 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 2 ppm

F5 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 6 ppm

F6 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 10 ppm

Tabel 4.12 menunjukkan bahwa dari keenam formulasi lotion berada dalam rentang pH kulit, yakni 4,5-6,5. Nilai pH kurang dari 4,5 dapat menyebabkan iritasi kulit, sedangkan pH lebih dari 6,5 akan menyebabkan kulit kering dan kehilangan kelembabannya. Sehingga dapat dikatakan bahwa lotion dari keenam formulasi diatas menunjukkan pH yang baik dan aman untuk kulit (Iskandar et al.,2021).

4.8.4 Uji Viskositas

Kekentalan suatu cairan mempengaruhi kecepatan dari cairan tersebut, semakin kental maka kecepatan alirnya semakin turun. Pengukuran viskositas sediaan dilakukan dengan menggunakan *viscotester* VT-04F. Sediaan *lotion* dimasukkan pada wadah *viscotester* dan dipasang pada *portable viscotester*, kemudian diturunkan spindel hingga terendam dalam sampel. Spindel dibiarkan berputar selama 30 detik. Viskositas *lotion* dilihat dengan mengamati gerakan jarum penunjuk viskositas (Handoko, 2017). Syarat viskositas yang baik yaitu 2000- 50000 cPs (Badan Standarisasi Nasional, 1996). Penelitian ini diamati dan dicatat viskositas sediaan sesaat setelah jadi pada bulan ke-0. Uji viskositas akan

dilakukan replikasi sebanyak 3x. Hasil uji viskositas dapat dilihat pada Tabel 4.13.

Tabel 4.13 Hasil Uji Viskositas

Formulasi	Viskositas			Rata-rata \pm SD	Syarat	Keterangan
	R1	R2	R3			
F1	10.000	10.000	10.000	10.000 \pm 0		Baik
F2	10.000	10.000	10.000	10.000 \pm 0		Baik
F3	10.000	10.000	10.000	10.000 \pm 0	2000-	Baik
F4	10.000	10.000	10.000	10.000 \pm 0	50000cP	Baik
F5	10.000	10.000	10.000	10.000 \pm 0	(BSN, 1996)	Baik
F6	10.000	10.000	10.000	10.000 \pm 0		Baik

Keterangan :

F1 : Formula dengan konsentrasi fraksi 20 ppm

F2 : Formula dengan konsentrasi fraksi 40 ppm

F3 : Formula dengan konsentrasi fraksi 60 ppm

F4 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 2 ppm

F5 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 6 ppm

F6 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 10 ppm

Tabel 4.13 menunjukkan keenam sediaan memiliki viskositas yang baik dikarenakan sesuai pada rentang syarat mutu sediaan topical yaitu 2000-50.000cP.

4.8.5 Uji Daya Sebar

Untuk mengukur daya sebar *lotion* dilakukan dengan cara menimbang sediaan dan meletakkan 0,5 gram sediaan di antara dua kaca objek yang diberi beban 150 gram (Arthania, 2021). Pengukuran diameter daya sebar dilakukan setelah sediaan tidak dapat menyebar kembali atau kurang 1 menit setelah pemberian beban. Daya sebar sediaan semi padat yang baik untuk sediaan *lotion* berkisar pada diameter 5-7 cm (Rasydy *et al.*, 2021).

Penelitian ini diamati dan dicatat daya sebar sediaan sesaat setelah jadi pada bulan ke-0. Uji daya sebar akan dilakukan replikasi sebanyak 3x. Hasil uji daya sebar dapat dilihat pada Tabel 4.14.

Tabel 4.14 Hasil Uji Daya Sebar

Formulasi	Daya sebar (cm)				Syarat	Keterangan
	R1	R2	R3	Rata-rata \pm SD		
F1	6,5	6,4	6,3	6,4 \pm 0,1		Baik
F2	6	6,1	6	6,0 \pm 0,1	5-7cm	Baik
F3	5,3	5,2	5	5,2 \pm 0,2	(Rasydy	Baik
F4	5,8	5,7	5,7	5,7 \pm 0,1	<i>et al.</i> ,	Baik
F5	6	6,2	6,1	6,1 \pm 0,1	2021).	Baik
F6	6,5	6,5	6,4	6,5 \pm 0,1		Baik

Keterangan :

F1 : Formula dengan konsentrasi fraksi 20 ppm

F2 : Formula dengan konsentrasi fraksi 40 ppm

F3 : Formula dengan konsentrasi fraksi 60 ppm

F4 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 2 ppm

F5 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 6 ppm

F6 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 10 ppm

Tabel 4.14 menunjukkan keenam sediaan memiliki daya sebar yang baik dikarenakan berada dalam rentang 5-7cm. Semakin tinggi daya sebar maka sediaan akan semakin mudah dioleskan dan lebih mudah merata pada kulit (Rasydy *et al.*, 2021).

4.8.6 Uji Bobot Jenis

Uji bobot jenis ditentukan menggunakan piknometer dan berdasarkan pada perbandingan bobot cairan di udara pada suhu 25°C terhadap bobot air dengan volume dan suhu yang sama. Rasio bobot suatu zat terhadap bobot zat baku yang volumenya sama dan pada suhu yang sama dan dinyatakan dalam desimal disebut bobot jenis. Tujuan bobot jenis adalah sebagai metode analisis yang untuk menentukan senyawa cair, uji identitas, dan kemurnian dari senyawa (Amananti, 2020). Penelitian ini diamati dan dicatat bobot jenis sediaan sesaat setelah jadi pada bulan ke-0. Uji bobot jenis akan dilakukan replikasi sebanyak 3x. Hasil uji bobot jenis dapat dilihat pada Tabel 4.15.

Tabel 4.15 Hasil uji bobot jenis

Formulasi	Bobot jenis (g/ml)				Syarat	Keterangan
	R1	R2	R3	Rata-rata ± SD		
F1	0,97	0,98	0,98	0,98±0,01		Baik
F2	0,99	0,99	0,99	0,99±0,00	0,95-1,05	Baik
F3	0,98	0,98	0,97	0,98±0,01	g/ml	Baik
F4	0,99	1,00	1,00	1,00±0,01	(Yulyuswarni,	Baik
F5	0,98	0,98	0,99	0,98±0,01	2021)	Baik
F6	1,02	1,01	1,01	1,01±0,01		Baik

Keterangan :

F1 : Formula dengan konsentrasi fraksi 20 ppm

F2 : Formula dengan konsentrasi fraksi 40 ppm

F3 : Formula dengan konsentrasi fraksi 60 ppm

F4 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 2 ppm

F5 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 6 ppm

F6 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 10 ppm

Tabel 4.15 menunjukkan keenam sediaan memiliki bobot jenis yang baik dikarenakan berada pada rentang 0,95-1,05g/ml (Yulyuswarni, 2021).

4.8.7 Uji Daya Lekat

Uji daya lekat bertujuan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan *lotion* untuk melekat dikulit (Luliana, 2019). Semakin lama daya lekat suatu sediaan pada tempat aplikasi maka efek farmakologis yang di hasilkan semakin besar. Syarat waktu daya lekat yang baik untuk sediaan topikal adalah tidak kurang dari 4 detik. Sampel *lotion* sebanyak 0,25 gr diletakkan di antara 2 objek gelas pada alat uji daya lekat, ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit, kemudian beban diangkat dan dicatat waktu pelepasan emulgel dari objek gelas. Penelitian ini diamati dan dicatat daya lekat sediaan sesaat setelah jadi pada bulan ke-0. Uji daya lekat akan dilakukan replikasi sebanyak 3x. Hasil uji daya lekat dapat dilihat pada Tabel 4.16.

Tabel 4.16 Hasil uji daya lekat

Formulasi	Daya Lekat (detik)			Rata-rata \pm SD	Syarat	Keterangan
	R1	R2	R3			
F1	9,07	9,08	9,08	9,08 \pm 0,01		Baik
F2	9,09	9,09	9,09	9,09 \pm 0,00		Baik
F3	9,08	8,08	8,07	8,41 \pm 0,58	\geq 4detik	Baik
F4	8,09	8,00	9,30	8,46 \pm 0,73	(Luliana, 2019).	Baik
F5	8,08	8,08	9,09	8,42 \pm 0,58		Baik
F6	9,02	9,01	10,01	9,35 \pm 0,57		Baik

Keterangan :

F1 : Formula dengan konsentrasi fraksi 20 ppm

F2 : Formula dengan konsentrasi fraksi 40 ppm

F3 : Formula dengan konsentrasi fraksi 60 ppm

F4 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 2 ppm

F5 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 6 ppm

F6 : Formula dengan konsentrasi vitamin C 10 ppm

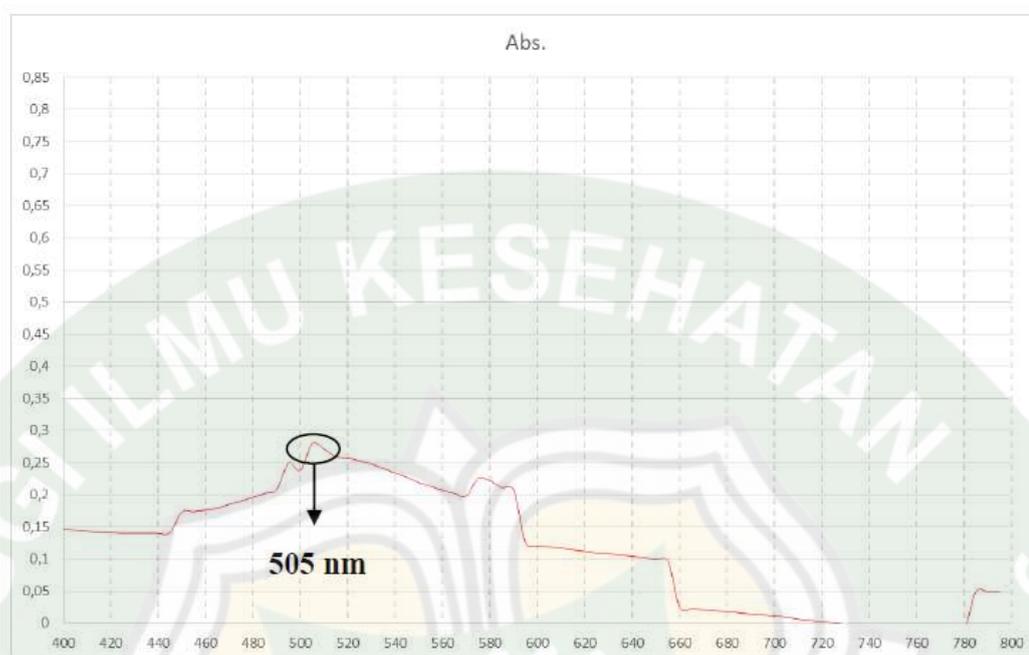
Tabel 4.15 menunjukkan keenam sediaan memiliki daya lekat yang baik dan sudah memenuhi syarat.

4.9 Validasi Metode

Validasi metode bertujuan memastikan atau mengkonfirmasi bahwa metode yang digunakan sudah sesuai dengan penggunaannya (Riyanto,2011).

4.9.1 Uji Linieritas

Linieritas merupakan kemampuan suatu metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel (Riyanto, 2011). Hasil panjang gelombang optimum DPPH dapat dilihat pada Gambar 4.11 diperoleh diperoleh DPPH memiliki panjang gelombang optimum 505nm.



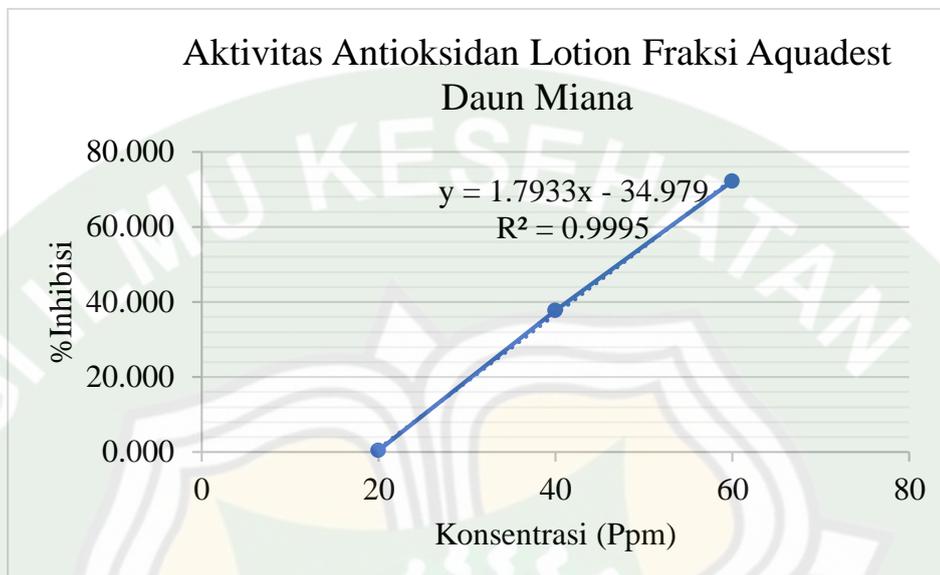
Gambar 4.11 Spektrum absorbansi larutan DPPH pada panjang gelombang 400 – 800 nm.

Tabel 4.17 Hasil perhitungan % inhibisi lotion fraksi aquadestilata

Konsentrasi (ppm)	%Inhibisi
20 ppm	0.409
40 ppm	37.704
60 ppm	72.139

Data linieritas diproses dengan menggunakan regresi linear, sehingga dapat diperoleh respon linear terhadap konsentrasi larutan baku dengan nilai koefisien korelasi diharapkan mendekati 1 atau 0,995 untuk suatu metode analisis yang baik. Rentang metode adalah pernyataan konsentrasi terendah dan tertinggi analit yang mana metode analisis memberikan kecermatan, keseksamaan, dan linearitas yang dapat diterima. Parameter adanya hubungan linear yang digunakan adalah koefisien korelasi pada analisis regresi linear $y = bx \pm a$, hubungan linear yang ideal dicapai jika nilai $b = 0$ dan $r = +1$ atau -1 tergantung dengan arah garis. Nilai a pada regresi linear menunjukkan kepekaan analisis terutama instrumen yang

digunakan (Harmita, 2004). Kurva kalibrasi standar vitamin c dapat dilihat pada Gambar 4.12.



Gambar 4.12 Kurva kalibrasi standar vitamin c pada panjang gelombang 260nm.

Berdasarkan kurva kalibrasi pada gambar 4.12 Diperoleh persamaan regresi linier $y = 1.7933x - 34.979$ dengan koefisien korelasi (R) = 0,9997. Kurva kalibrasi menunjukkan hubungan yang linear antara konsentrasi dengan %inhibisi. Dibuktikan dengan peningkatan %inhibisi seiring meningkatnya konsentrasi sampel yang didukung dengan nilai R yang mendekati 1. Hal ini membuktikan bahwa analisis kadar antioksidan menggunakan metode DPPH secara spektrofotometri uv-vis mempunyai linieritas yang baik.

4.9.2 Uji Akurasi (Uji Ketepatan)

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya. Akurasi sering dinyatakan dalam persen perolehan kembali (*% Recovery*) analit yang ditambahkan. Akurasi dapat ditentukan melalui dua acara, yaitu metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) atau penambahan baku (*standart addition method*). Dalam metode simulasi, sejumlah analit bahan murni ditambahkan ke dalam campuran bahan pembawa sediaan farmasi kemudian dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar analit yang ditambahkan (kadar sebenarnya). Dalam metode penambahan baku, sampel dianalisis kemudian sejumlah tertentu analit yang diperiksa ditambahkan ke dalam

sampel dicampur dan dianalisis lagi. Selisih kedua hasil dibandingkan dengan 12 kadar yang sebenarnya (Riyanto,2011).

Sampel lotion fraksi dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm dan 60 ppm, Ditambahkan masing-masing larutan baku vitamin C konsentrasi 10 ppm diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya larutan tersebut diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 505 nm. Prosedur ini direplikasi sebanyak 3 kali, maka didapatkan absorbansi spiking yang dapat dilihat pada Tabel 4.18 Selanjutnya dengan persamaan regresi linier $y = 1.7933x - 34.979$ didapatkan %recovery yang dapat dilihat pada Tabel 4.18.

Tabel 4.18 Data hasil perolehan kembali (%recovery)

Konsentrasi sampel (ppm)	Konsentrasi Standar yang ditambahkan	Absorbansi rata-rata	Konsentrasi spiking (ppm)	%Recovery
20 ppm	10 ppm	7,334	23,595	98 %

Berdasarkan Tabel 4.18. dapat dilihat bahwa hasil uji perolehan kembali (%recovery) sebesar 98%. Hal ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki akurasi atau ketepatan yang tergolong baik. Karena telah memenuhi syarat akurasi yang ditetapkan yaitu berada pada rentang 98-102%.

4.9.3 Uji Presisi

Presisi merupakan ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil individual, diukur melalui hasil penyebaran hasil individual rata-rata jika prosedur ditetapkan secara berulang pada sampel yang diambil dari campuran yang homogen (Riyanto, 2011). Umumnya presisi dihitung menggunakan Standar Deviasi (SD) menghasilkan *Relative Standart Deviasion (RSD)* atau *Coeficient Variation (CV)*. Presisi yang baik dinyatakan dengan semakin kecil persen RSD maka nilai presisi semakin tinggi.

Larutan lotion fraksi daun miana 20 ppm dimasukkan dalam kuvet dan diukur pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 505 nm. Prosedur ini direplikasi sebanyak 3x. Selanjutnya diukur konsentrasi sampel menggunakan persamaan regresi linier $y = 1.7933x - 34.979$. Hasil uji presisi dapat dilihat pada Tabel 4.19..di bawah ini :

Tabel 4.19 Data Hasil Uji Presisi

Konsentrasi sampel	Replikasi	Abs.	Kadar (ppm)	Rata-rata (ppm)	SD	RSD (%)
20 ppm	R1	3,002	21,179	21,181	0,0029	0,014
	R2	3,011	21,184			
	R3	3,002	21,179			

Berdasarkan tabel 4.19 diperoleh nilai simpangan baku relatif (*RSD*) sebesar 0.014, telah memenuhi persyaratan yang ditentukan yaitu $\leq 1\%$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa metode yang digunakan memiliki tingkat ketelitian yang sangat tinggi.

4.9.4 Uji Limited of Detection (LOD) dan Limited of Quantitation (LOQ)

Limit Deteksi (LOD) adalah konsentrasi atau jumlah terkecil/terendah dari analit dalam sampel yang dapat terdeteksi, tetapi tidak perlu terkuantisasi sehingga nilai yang dihasilkan tidak harus memenuhi kriteria akurasi dan presisi. Analisis dilakukan menggunakan alat/instrumen maka limit deteksi dan kuantisasi ditentukan dengan mengukur respon blanko beberapa kali selanjutnya ditentukan simpangan baku respon blanko (Yulia, 2010). Limit kuantitasi (LOQ) merupakan parameter pada analisis teknik yang diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama.(Rohmah et al, 2021). Hasil uji LOD dan LOQ dapat dilihat pada tabel 4.20.

Tabel 4.20 Data Hasil Uji LOD & LOQ

Konsentrasi Sampel (ppm)	SD	slope	LOD (ppm)	LOQ (ppm)
20	0,0029	1,7933	0,005	0,016

Berdasarkan Tabel 4.20 diperoleh batas deteksi pada konsentrasi 0,005 ppm untuk penetapan kadar antioksidan menggunakan metode DPPH secara spektrofotometer UV-Vis, sehingga pada konsentrasi tersebut absorbansi sampel masih dapat terbaca namun tidak dapat digunakan dalam perhitungan karena akan

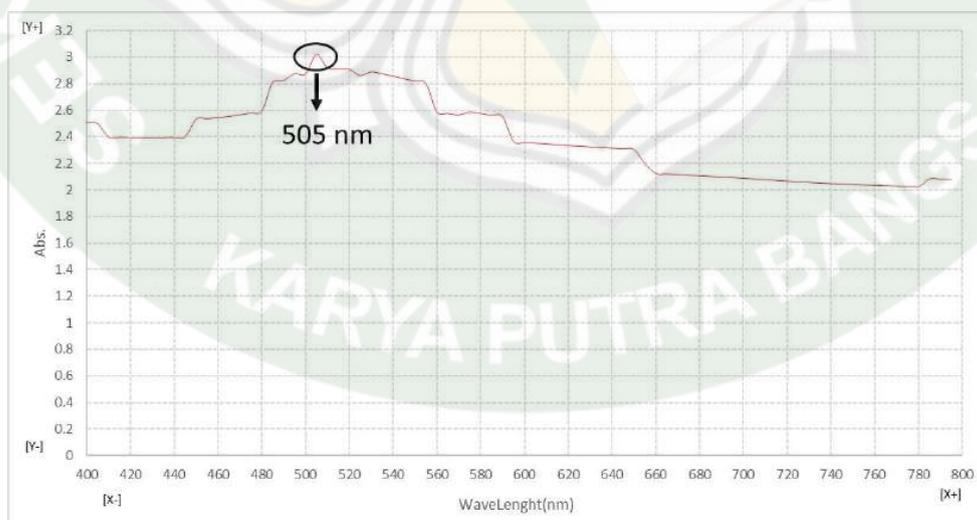
menimbulkan bias perhitungan. Sedangkan batas kuantitasi diperoleh sebesar 0,016 ppm, yang merupakan konsentrasi terkecil dan pada konsentrasi tersebut tidak menimbulkan bias perhitungan konsentrasi.

4.10 Uji Aktivitas Antioksidan

DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil dalam larutan metanol dan berwarna ungu tua. Perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning yang diukur pada panjang gelombang maksimal dipengaruhi oleh mekanisme senyawa antioksidan yang bereaksi dengan radikal DPPH yang mendonasi atom hidrogen.

4.10.1. Penentuan panjang gelombang maksimal larutan DPPH

Penentuan panjang gelombang maksimal (λ max) larutan DPPH dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan pada panjang gelombang antara 400-800 nm. Hasil panjang gelombang maksimum (λ max) larutan DPPH adalah 505 nm dengan absorbansi 3,01. Penetapan panjang gelombang maksimum berfungsi untuk mengetahui pada panjang gelombang berapa dihasilkan nilai serapan paling maksimum sampel, sehingga didapatkan hasil pengukuran yang akurat dan memperkecil kesalahan karena pada panjang gelombang tersebut perubahan absorbansi untuk setiap satuan konsentrasi adalah paling besar (Habiba, 2021). Hasil dapat digunakan untuk % inhibisi dan penentuan IC50 menggunakan regresi linier.



Gambar 4.13 Spektrum Panjang Gelombang Maksimum DPPH

4.10.2. Uji aktivitas antioksidan lotion fraksi daun miana dan vitamin C

Parameter dari metode DPPH pada aktivitas antioksidan didasarkan pada hasil IC50 (Inhibition Concentration 50%), yaitu konsentrasi yang dapat meredam aktivitas radikal bebas sebesar 50%. IC50 adalah konsentrasi efektif yang diperlukan untuk meredam aktivitas radikal bebas sampai 50%. Semakin kecil IC50 berarti semakin besar aktivitas antioksidannya. Nilai IC50 yang kecil berarti potensi aktivitas antioksidannya yang paling besar karena pada konsentrasi kecil sudah mampu meredam radikal bebas sebesar 50%. IC50 dapat dihitung dengan membuat kurva regresi linear (Habiba, 2021). Pada uji antioksidan digunakan vitamin C sebagai kontrol positif atau pembanding karena vitamin C memiliki sifat sebagai antioksidan yang kuat. Pengujian dilakukan dengan melarutkan sampel lotion sebanyak 1 gram kedalam pelarut etanol 96% 20 ml. Selanjutnya disentrifus dengan kecepatan 5.000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang diperoleh dianalisa aktivitas antioksidannya. Analisa Aktivitas Antioksidan dilakukan terhadap masing-masing fraksi daun miana dan kontrol (+) dengan menggunakan metode penangkapan radikal DPPH. Pada analisis aktivitas antioksidan lotion fraksi daun miana dibuat serangkaian larutan sampel dengan variasi konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm. Dipipet 2, 4, 6, ml sampel dimasukkan dalam labu ukur 10 ml ditambah etanol 96% sampai tanda batas. Sedangkan Pada analisis aktivitas antioksidan kontrol (+) dibuat serangkaian larutan sampel dengan variasi konsentrasi 2 ppm, 6 ppm, 10 ppm. Dipipet 0,2; 0,6; dan 1 ml sampel dimasukkan dalam labu ukur 10 ml ditambah etanol 96% sampai tanda batas. Untuk penentuan aktivitas antioksidan, masing-masing sampel dipipet 3,2 ml dan ditambah 1,8ml larutan DPPH 50 ppm, campuran dimasukkan kedalam kuvet lalu diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum. Nilai IC50 dihitung menggunakan persamaan regresi linier hubungan konsentrasi dan % inhibisi (Ramadani *et al.*, 2020). Hasil yang didapat menunjukkan bahwa lotion vitamin C sebagai kontrol positif antioksidan memiliki nilai IC50 sebesar 30,95 ppm yang tergolong sangat kuat, sedangkan nilai IC50 lotion fraksi *aquadestilata* sebesar 47,38 ppm yang tergolong sangat kuat. Hal ini dikarenakan fraksi *aquadestilata* memiliki senyawa flavonoid terbesar yang berpotensi sebagai antioksidan.

Sehingga dengan hasil IC₅₀ tersebut, lotion fraksi *aquadestilata* daun miana berpotensi sebagai antioksidan. Hasil uji aktivitas antioksidan fraksi daun miana dan vitamin C dapat dilihat pada Tabel 4.21

Tabel 4.21 Data uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Miana dan Vitamin C.

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			\bar{x}	% Inhibisi	IC ₅₀
		R1	R2	R3			
Vitamin C	2	2.805	2.846	2.805	2.819	6.584	
	6	2.573	2.567	2.567	2.569	14.859	30.952
	8	2.481	2.461	2.448	2.463	18.361	
Fraksi <i>Aquadestilata</i>	20	3.002	3.011	3.002	3.005	0.409	
	40	1.883	1.889	1.867	1.880	37.704	47.387
	60	0.821	0.734	0.967	0.841	72.139	

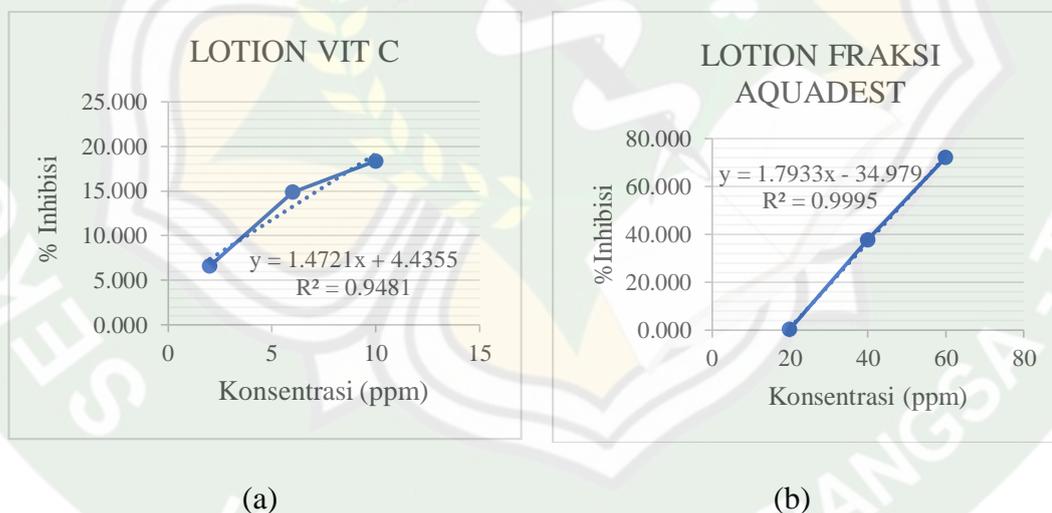
Keterangan :

R1: Replikasi pertama

R2: Replikasi kedua

R3: Replikasi ketiga

\bar{x} : Rata-rata



Gambar 4.14 (a): Aktivitas Antioksidan Lotion Vitamin C, (b): Aktivitas Antioksidan Lotion Fraksi Aquadestilata

Berdasarkan hasil aktivitas antioksidan pada Tabel 4.8 dan Tabel 4.21 dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan aktivitas antioksidan pada fraksi aquadest daun miana dan penurunan aktivitas antioksidan vitamin C sebelum dan setelah dibuat sediaan lotion. Diperoleh IC₅₀ pada fraksi aquadest sebesar 79,94 ppm yang

tergolong kuat dan IC50 vitamin C sebesar 14,53 ppm yang tergolong sangat kuat. Namun setelah pembuatan sediaan lotion terjadi penurunan nilai IC50 pada lotion fraksi aquadest menjadi 47,38 ppm. Sedangkan terjadi peningkatan nilai IC50 pada lotion vitamin C, yakni menjadi 30,95 ppm. Namun keduanya memiliki aktivitas antioksidan yang masih tergolong sangat kuat.

Kandungan BHT dalam lotion diduga memegang peranan penting dalam peningkatan aktivitas antioksidan yang ditandai dengan penurunan nilai IC50 lotion fraksi aquadestilata daun miana. Lotion tersusun atas fase minyak dan fase air. Kandungan asam lemak bebas dalam minyak dapat meningkat salah satunya akibat pengaruh suhu dan lama pemanasan sehingga terjadinya reaksi oksidasi dan hidrolisis dalam minyak, dimana reaksi tersebut akan menurunkan kualitas minyak yang diinginkan. Untuk mencegah oksidasi tersebut ditambahkan antioksidan sintetik BHT (Butylated Hydroxy Toluene) pada lotion (Gultom dan Ginting, 2018). Kandungan BHT yang merupakan antioksidan dapat meningkatkan aktivitas antioksidan lotion fraksi aquadestilata daun miana.

Sedangkan penurunan aktivitas antioksidan lotion vitamin C, diduga disebabkan oleh penurunan kadar vitamin C dalam lotion. Penurunan kadar vitamin C dikarenakan vitamin C mudah sekali terdegradasi, baik oleh temperatur, cahaya maupun udara sekitar sehingga kadar vitamin C berkurang. Proses kerusakan atau penurunan vitamin C ini disebut oksidasi.

Secara umum reaksi oksidasi vitamin C ada dua macam yaitu oksidasi spontan dan tidak spontan. Proses oksidasi spontan adalah proses oksidasi yang terjadi tanpa menggunakan enzim. Sedangkan proses oksidasi tidak spontan yaitu reaksi yang terjadi dengan penambahan enzim (Andarwulan dan Sutrisno, 1992 dalam Helmiyesi dkk., 2008).

Pada penelitian ini reaksi yang terjadi adalah proses oksidasi spontan yaitu dengan adanya pengaruh dari udara sekitar. Mekanisme oksidasi spontan terjadi sebagai berikut : monoanion asam askorbat bereaksi dengan molekul oksigen menghasilkan radikal anion askorbat dan H₂O yang diikuti pembentukan dehidro asam askorbat dan hydrogen peroksida. Dehidro asam askorbat (asam L-dehidroaskorbat) merupakan bentuk oksidasi dari asam L-askorbat yang masih

mempunyai keaktifan sebagai vitamin C. Namun asam L-dehidroaskorbat bersifat sangat labil dan dapat mengalami perubahan menjadi 2,3-L-diketogulonat (DKG). DKG yang terbentuk sudah tidak mempunyai keaktifan vitamin C lagi sehingga jika DKG tersebut sudah terbentuk maka akan mengurangi bahkan menghilangkan vitamin C yang ada dalam produk (Adarwulan dan Sutrisno, 1992 dalam Helmiyedi dkk., 2008).



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

- 5.1.1 Berdasarkan hasil data uji aktivitas antioksidan, diperoleh nilai IC₅₀ pada fraksi aquadest daun miana sebesar 79,943 ppm tergolong memiliki aktivitas antioksidan kuat, pada fraksi etil asetat sebesar 111,55 ppm tergolong memiliki aktivitas antioksidan sedang, dan pada fraksi n-heksan sebesar 240,48 ppm tergolong memiliki aktivitas antioksidan sedang.
- 5.1.2 Berdasarkan hasil data uji aktivitas antioksidan, diperoleh nilai IC₅₀ sediaan lotion fraksi aquadest daun miana sebesar 47,387 ppm tergolong memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dan keenam formulasi sediaan lotion telah memenuhi semua persyaratan berdasarkan uji mutu fisik sediaan yaitu organoleptis, pH, homogenitas, daya sebar, daya lekat, bobot jenis dan viskositas. Berdasarkan uji validasi metode yang telah dilakukan, metode penetapan kadar antioksidan lotion fraksi daun miana (*Coleus artropurpureus L.Benth*) dengan metode DPPH secara *spektrofotometer uv-vis* mempunyai validitas yang valid.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat ditarik beberapa saran sebagai berikut :

- 5.2.1 Pengujian aktivitas antioksidan sebelum dan sesudah pembuatan lotion hendaknya dilakukan pada hari yang sama untuk menghindari penurunan kualitas senyawa aktif akibat oksidasi
- 5.2.2 Penelitian selanjutnya dapat dikembangkan ke tahap isolasi senyawa antioksidan.
- 5.2.3 Dilakukan penelitian lebih lanjut dengan jenis emulgator lain atau perubahan konsentrasi untuk membuat sediaan lotion, agar tidak mempengaruhi aktivitas antioksidan pada ekstrak.
- 5.2.4 Dilakukan penelitian lebih lanjut terkait uji *in vitro* atau *in vivo* untuk mengevaluasi formulasi lotion agar mengetahui profil penetrasinya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, Z. and Damayanti, 2018. Penuaan Kulit : Patofisiologi dan Manifestasi Klinis. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin – Periodical of Dermatology and Venereology*, 30(03), pp.208–215.
- Alvarez, F. and Estrada, R., 2018, *Urban growth and Acces to Opportunities: A Challenge for Latin America* [Online].
- Amananti, W. and D, D., 2020. Aktifitas Antibakteri dari Sediaan Footsanitizer Spray Kombinasi Ekstrak Biji Kopi (Coffea) dan Rimpang Jahe (Zingiber officinale). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(2), pp.323–330.
- Ambari, Y. et al., 2020. Studi Formulasi Sediaan Lip Balm Ekstrak Kayu Secang (Caesalpinia sappan L.) dengan Variasi Beeswax. *Journal of Islamic Pharmacy*, 5(2), pp.36–45.
- Ambarsari, L., Wahyuni, R.N., Isnanto, A. and Aqilah, R.F., 2019. Evaluation Potential of Nanoparticles Moringa Leaves Extract as a Bioactive Candidate of Eco-Friendly Antifouling Paint. *Current Biochemistry*, 6(2), pp.68–77.
- Andarina, R. and Djauhari, T., 2017. Antioksidan dalam dermatologi. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 4(1), pp.39–48.
- Anggowarsito, J.L., 2014. Aspek fisiologi penuaan kulit. *WIdiya Medika Surabaya*, 2(1), pp.56–61.
- Arisman, M.B., 2009. *Buku Ajar Ilmu Gizi: Keracunan Makanan*, EGC, Jakarta.
- Arista, M., 2014. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 80% dan 96% Daun Katuk (Sauropus androgynus (L.) Merr.). *Jurnal CALYPTRA*, 2(2), pp.1–16.
- Arthania, T., Purwati, E., Puspadina, V. and Safitri, C.I.N.H., 2021. Formulasi Dan Uji Mutu Fisik Body Lotion Ekstrak Kulit Buah Pir (Pyrusbretschneideri). *Artikel Pemakalah Paralel*, VI, pp.312–318.
- Astuti, S. et al., 2008. Isoflavon Kedelai Dan Potensinya Sebagai Penangkap Radikal Bebas. *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*, 13(2), pp.126–136.
- Atun, S., Arianingrum, R., Yoshiaki, T. and Masatake, N., 2010. Phenolic content and cytotoxic properties of fermented black soybeans (Glicine soja) extract on human Hela-S3 and Raji cell lines. *Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON2010)*. 2010 PACCON 2010, pp. 689–691.
- Badriyah, L. and Manggara, A.B., 2015. Penetapan kadar vitamin V pada cabai merah (capsicum annum L) menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Wiyata*, 2(1), pp.25–28.
- Bogdanov, S. and Science, B.P., 2009. The Beeswax: Uses and Trade. In: *The Beewax Book*. Bee Product Science, Switzerland, pp. 1–16.
- BPOMRI, 2008, *Buku Informatorium Obat Nasional Indonesia (IONI)* [Online].
- Buchan, B. et al., 2013, *Gel formulations for treatment of the ophthalmic complications in cystinosis* [Online].
- Budaya, P.Y.A.B., Astiti, N.P.A. and Kriswiyanti, E., 2015. Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Kamboja (Plumeria sp.) Dan Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan Tanaman Jahe

- EMPRIT (Zingiber officinale var. Amarum). *Jurnal Biologi Udayana*, 19(1), pp.382–384.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat* [Online].
- Departemen Kesehatan RI, 2008. *Farmakop Indonesia*,
- Fauzi, M., Santoso, J. and Riyanta, A.B., 2021. Uji Kualitatif dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Buah Maja (Aegle Marmelos (L.)Correa) dengan Metode DPPH. *Jurnal Riset Farmasi*, 1(1), pp.1–8.
- Fidyasari, A., Sari, R.M. and Raharjo, S.J., 2017. Identifikasi Komponen Kimia pada Umbi Bentul (*Colocasia esculenta* (L.) Schoot) sebagai Pangan Fungsional. *Amerta Nutrition*, 1(1), p.14.
- Gandjar, I. and Rohman, A., 2007. *Kimia Farmasi Analisis. Cetakan Pertama*, Penerbit Pustaka Pelajar, Jakarta.
- Getrudis, M., Lena, E., Sudewi, S. and Citraningtyas, G., 2017. Analisis Kadar Formaldehida Pada Peralatan Makan Melamin Yang Beredar Di Kota Manado. *Pharmacon*, 6(3), pp.105–114.
- Ghozali, I., 2011. *Aplikasi Analisis Multivariat dengan Program SPSS*, Badan Penerbit Universitas Diponegoro, Semarang.
- Gultom, R. and Ginting, W.M., 2018. Pengaruh Pemberian Antioksidan Butil Hidroksi Toluene (Bht) Serta Vitamin E Dan Lama Pemanasan Terhadap Karakterisasi Dan Jumlah Omega-3 Dan Omega-6 Dari Minyak Kedelai (Soybean Oil). *JIFI (Jurnal Ilmiah Farmasi Imelda)*, 1(2), pp.43–50.
- Haeria, Hermawati., Pine, A., 2016. Penentuan kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun bidara. *Journal of Pharmaceutical and Medical Sciences*, 1(2), pp.57–61.
- Hamzah, M.H., 2016. *Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air dan Fraksi Eter Kombinasi Ekstrak Metanol Daun Kopi (Coffea arabica) Dan Ekstrak Metanol Daun Pandan (Pandanus amaryllifolius) dengan Metode DPPH*. Universitas Jember.
- Handoko, I.C., Matoetina, M. and Widyawati, P.S., 2017. Pengaruh Jenis Dan Konsentrasi Hidrokoloid Terhadap Sifat Fisik Dan Organoleptik Velva Apel Manalagi. *Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi*, 16(1), pp.41–46.
- Handoyo, D.L.Y. and Pranoto, M.E., 2020. Pengaruh Variasi Suhu Pengeringan Terhadap Pembuatan Simplisia Daun Mimba (*Azadirachta Indica*). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 1(2), pp.45–54.
- Hendradi, E., Chasanah, U., Indriani, T. and Fionnayuristy, F., 2013. Pengaruh Gliserin Dan Propilenglikol Terhadap Karakteristik Fisik, Kimia Dan Spf Sediaan Krim Tipe O / W Ekstrak Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Pharma Scientia*, 2(1).
- Hu, K., Sui, H. and Zhao, D., 2021. Synergistic interaction of renewable nipagin and eugenol for aromatic copoly(ether ester) materials with desired performance. *Scientific Reports*, 11(1), pp.1–11.
- Hudaya, T. and Pandega, I.G.W., 2014. Kajian Hidrodeoksigenasi Minyak Biji Kapok (*Ceiba Pentandra*) dengan Katalis Ni-Mo/gamma-Al₂O₃ untuk Sintesa Biohidrokarbon. *Jurnal Kimia*, (November), pp.1–60.
- Indarto, I., Narulita, W., Anggoro, B.S. and Novitasari, A., 2019. Aktivitas

- Antibakteri Ekstrak Daun Binahong Terhadap *Propionibacterium Acnes*. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*, 10(1), pp.67–78.
- Irawan, A., 2019. Kalibrasi Spektrofotometer Sebagai Penjaminan Mutu Hasil Pengukuran dalam Kegiatan Penelitian dan Pengujian. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(2), p.1.
- Irwan, F., 2011, *Aktivitas antidiabetes dan analisis fitokimia ekstrak air dan etanol daun wungu (Graptophyllum pictum (L.) Griff)* [Online].
- Junaidi, R., Hasan, A., Yerizam, M. and Purnamasari, I., 2020. The Performance of Reverse Osmosis (RO) Membrane in Producing Pure Water. *Journal of Physics: Conference Series*, 1500(1), pp.1–6.
- Khaira, K., 2010. Menangkal Radikal Bebas dengan Anti-Oksidan. *Jurnal Sainstek*, 2(2), pp.183–187.
- Khasanah, N., 2016. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi Biji Salak Pondoh (Salacca zalacca (Gaertn .) Voss .) Dengan Menggunakan Metode Dpph*. Universitas Islam Indonesia.
- Khotimah, H., Agustina, R. and Ardana, M., 2018. Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Miana (*Coleus atropurpureus* L. Benth). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 8(November 2018), pp.1–7.
- Kinho, J. et al., 2011. *Tumbuhan obat tradisional di Sulawesi Utara jilid 1 (Traditional medicinal plants in North Sulawesi)* Mahfudz, (ed.), Balai Penelitian Kehutanan Manado, Manado.
- Kusbandari, A. and Susanti, H., 2017. Kandungan Beta Karoten Dan Aktivitas Penangkapan Radikal Bebas Terhadap Dpph (1,1-Difenil 2-Pikrihidrazil) Ekstrak Buah Blewah (*Cucumis Melo* Var. *Cantalupensis* L) Secara Spektrofotometri Uv-Visibel. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Community*, 14(1), pp.37–42.
- Kusumo, G.G., Ferry Fernanda, M.A.H. and Asroriyah, H., 2017. Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Kemuning (*Murraya paniculata* L. Jack) Dengan Berbagai Jenis Pelarut Pengekstraksi. *Journal of Pharmacy and Science*, 2(1), pp.29–32.
- Labola, Y.A. and Puspita, D., 2018. Peran Antioksidan Karotenoid Penangkal Radikal Bebas Penyebab Berbagai Penyakit. *Farmasetika*, 2(5), p.12.
- Lufira, Dara.Rahmah., et al., 2021. Model Penjernih Air Hujan Untuk Air Bersih. *Jurnal Teknik Pengairan*, 12(1), pp.61–70.
- Luliana, S., Desnita, R. and Sehro, S., 2019. Lotion Formulation of Ethanolic Extract of Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) As Hair Growth Promoter in Male White Rats (*Rattus norvegicus*) of Wistar Strain. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(1), pp.52–61.
- Masri, P., 2017. *Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Etanol Buah Andaliman (Zanthoxylum acanthopodium DC.) dengan Metode DPPH*. Universitas Sumatera Utara.
- Mayaranti Wilsya, Sigit Cahyo Hardiansyah and Desy Pratama Sari, 2020. Formulasi Dan Uji Aktivitas Antioksidan Lotion Ekstrak Daun Gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm f.). *Jurnal Kesehatan : Jurnal Ilmiah Multi Sciences*, 10(02), pp.105–115.

- Melinda, 2014. *Aktivitas Anti bakteri Daun Pacar (Lawsonia intermis L.)*. Skripsi. Universitas Muhammad Surakarta.
- Menteri Kesehatan RI, 2010. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1175/Menkes/Per/VIII/2010 tentang Izin Produksi Kosmetika*,
- Mujino, M., Sari, P.P. and Widiyanti, I.W., 2021. Pengaruh Return on Asset Return on Equity Net Profit Margin Dan Earning Per Share Terhadap Harga Saham. *Jurnal Ilmiah Edunomika*, 5(1), pp.45–47.
- Mulyadi, D. and Syafitri, A., 2015. Pengaruh kepemimpinan dan motivasi kerja terhadap kinerja karyawan di bank bjb syariah cabang bogor. *Jurnal Ilmiah Binaniaga*, 11(2), pp.33–38.
- Ningtyas, F.A., 2014. *Pengaruh Waktu Dan Konsentrasi Larutan Pemasak Dalam Pemanfaatan Pelepah Batang Pisang Sebagai Bahan Baku Alternatif Pembuatan Pulp Dengan Proses Soda*. Tugas Akhir. Politeknik Negeri Sriwijaya Palembang.
- Novitasari, A.E. and Putri, D.Z., 2016. Isolasi dan Identifikasi Saponin pada Ekstrak Daun Mahkota Dewa Dengan Ekstraksi Maserasi. *Jurnal Sains*, 6(12), pp.10–14.
- Nurhayati, T., 2008. *Uji efek sediaan serbuk instan rimpang kencur (Kaempferia galanga L.) SEBAGAI TONIKUM TERHADAP MENCIT JANTAN GALUR Swiss Webster*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Ozyurt, D., 2007, *Determination of total antioxidant capacity by a new spectrophotometric method based on Ce(IV) reducing capacity measurement* [Online].
- Pebrianti, Yusriadi and Faustine, I., 2015. Uji Aktivitas Repelan Lotion Ekstrak Etanol Kulit Buah Langsung (Lansium Parasiticum Osbeck.) Terhadap Nyamuk Aedes aegypti. *Galenika Journal of Pharmacy*, 1(2), pp.113–120.
- Podungge, M.R., Salimi, Y.K. and Duengo, S., 2017. Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Miana (Coleus ScutelleroidePodungge, M.R., Salimi, Y.K. & Duengo, S. 2017. Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Miana (Coleus Scutelleroide Benth .). *Jurnal Entropi*, 1(1), pp.67–74.
- Prakash, A., Rigelhof, F. and Miller, E., 2001. Antioxidant Activity. *Medalliaon Laboratories Analytical Progress*, 10(2), pp.1–7.
- Pratimasari, D., 2009. *Uji Aktivitas Penangkap Radikal Buah Carica papaya L. Dengan Metode DPPH dan Penetapan Kadar Fenolik Serta Flavonoid Totalnya*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Pujiastuti, A. and Kristiani, M., 2019. Formulasi dan Uji Stabilitas Mekanik Hand and Body Lotion Sari Buah Tomat (Licopersicon esculentum Mill.) sebagai Antioksidan Formulation and Mechanical Stability Test for Hand and Body Lotion from Tomato Juice (Licopersicon esculentum Mill.) as Antioxidant. ,16(1), pp.42–55.
- Puspita, W., Puspasari, H. and Restanti, N.A., 2020. Formulasi Dan Pengujian Sifat Fisik Sediaan Spray Gel Ekstrak Etanol Daun Buas-Buas (Premna Serratifolia L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), p.145.
- PUTRI, A.N.A., Qonitah, F. and Ariastuti, R., 2021. *Penentuan Nilai Sun Protection Factor (SPF) Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix*

- DC). Doctoral Dissertation- Universitas Sahid Surakarta.
- Putri, Y.D., Kartamihardja, H. and Lisna, I., 2019. Formulasi dan Evaluasi Losion Tabir Surya Ekstrak Daun Stevia (Stevia rebaudiana Bertoni M). *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*, 6(1), pp.32–36.
- Rahayu, A.F., 2013. *Penetapan Kadar Nipagin Dan Nipasol Dalam Lotion Tangan Dan Badan Secara Spektrofotometri Ultraviolet*. Tugas Akhir. Universitas Sumatra Utara.
- Rahmawanty, 2020. Formulasi Sediaan Kosmetik (Lotion Antioksidan) dari Tanaman Bangkal (*Nuclea Subdita* (KORTH .) STEUD .). *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah*, 5(2), pp.25–29.
- Rahmawati, D., 2009. *Formulasi krim minyak atsiri rimpang temu giring (Curcuma heyneana Val & Zipp): uji sifat fisik dan daya antijamur terhadap Candida albicans secara in vitro*. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rasydy, L.O.A., Zaky, M. and Surtiana, R., 2021. Formulasi dan Evaluasi Fisik Sediaan Hand Body Lotion Ekstrak Etanol Daun Miana (*Plectranthus scutellarioides* (L.) R. Br.). *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 7(1), p.33.
- Regina, A., Maimunah, M. and Yovita, L., 2008. Penentuan aktivitas antioksidan, kadar fenolat total dan likopen pada buah tomat (*Solanum lycopersicum* L.). *J. Sains dan Teknol. Farm*, 13(1).
- Ridwan, Y., Satrija, F., Darusman, L.K. and Handharyani, E., 2010. Efektivitas anticestoda ekstrak daun miana (*Coleus blumei* Bent) terhadap cacing hymenolepis microstoma pada mencit. *Media Peternakan*, 33(1), pp.6–11.
- Rochmatika, L.D., Kusumastuti, H., Setyaningrum, G.D. and Muslihah, N.I., 2012. Analisis kadar antioksidan pada masker wajah berbahan dasar lapisan putih kulit semangka (*Citrullus vulgaris* schrad). *Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA*. 2012 FMIPA UNY, Yogyakarta, pp. 25–32.
- Rohmawati, N., 2008. *Efek Penyembuhan Luka Bakar Dalam Sediaan Gel Ekstrak Etanol 70 % Daun Lidah Buaya (Aloe Vera L.) Pada Kulit Punggung Kelinci New Zealand*. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Rowe, R., Sheskey, P. and Quinn, M., 2009. *Handbook of Pharmaceutical excipients* 6th ed., Libros Digitales - Pharmaceutical Press, Buenos Aires, Argentina.
- Sakinah, N., Dwyana, Z., Tambaru, E. and Rante, H., 2015. Uji Aktivitas Sediaan Obat Kumur Ekstrak Daun Miana *Coleus scutellarioides* (L.) Benth Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. *Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam*, pp.1–7.
- Salimi, Y.K., 2021. *Daun Miana sebagai Antioksidan & Antikanker* Abdul Rosid, S., (ed.), Yayasan Pendidikan dan Sosial Indonesia Maju (YPSIM) Banten, Banten.
- Sari, E.S., Heryanti, B.R. and Triasih, D., 2020. Perlindungan Hukum Bagi Konsumen Terhadap Problematika Kosmetik Yang Tidak Terdaftar Dalam Bpom. *Fakultas Hukum Universitas Semarang*, pp.1–13.
- Septiningsih, R., 2018. *Perbandingan Aktivitas Antioksidan Berbagai Bentuk*

- Sediaan (Ekstrak, Filtrat, Sari, Infus, dan Dekok) pada Jahe Merah (Zingiber officinale var. Rubrum) sebagai Sumber Belajar Biologi.* Skripsi. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Seran, E., 2011, *Spektrofotometri UV (ultraviolet)* [Online].
- Setyowati, W.A.E. et al., 2014. Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Duriozibethinus Murr.*) Varietas Petruk. , pp.271–280.
- Sharma, S., 2014. In vitro Evaluation of Antioxidant Activity of Methanolic and Petroleum Ether Extracts from Seeds of *Benincasa hispida*. *J. Nat. Prod. Plant Resour*, 4(4), pp.31–34.
- Shu, M., 2013. Formulasi Sediaan Gel Hand Sanitizer Dengan Bahan Aktif Triklosan 0,5% Dan 1%. *Calyptra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*, 2(1), pp.1–14.
- Simin, N., Zees Fahriani, R. and Paramata Roswita, N., 2010. *Kajian Etnobotani Tanaman obat oleh masyarakat kabupaten bonebolango provinsi gorontalo*, Gorontalo.
- Sri, Y., Kusnadi and Purgiyanti, 2020. Pengaruh Perbedaan Pelarut Terhadap Profil Kromatografi Lapis Tipis Pada Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga L.*). *Jurnal Pharmacy*, 2, pp.1–12.
- Sriwita, D. and Astuti, 2014. Pembuatan Dan Karakterisasi Sifat Mekanik Bahan Komposit Serat Daun Nenas-Polyester Ditinjau Dari Fraksi Massa Dan Orientasi Serat. *Jurnal Fisika Unand*, 3(1), pp.30–36.
- Sugiarti, L., Andriyani, D.M., Pratitis, M.P. and Setyani, R., 2020. Aktivitas Antibakteri Fraksi N-Heksan, Etil Asetat Dan Air Ekstrak Etanol Daun Parijoto (*Medinilla speciosa Blume*) TERHADAP *Propionibacterium acnes* DAN *Staphylococcus epidermidis*. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 4(2), pp.120–130.
- Suhaling, S., 2012. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kacang Merah (Phaseolus vulgaris L.) dengan Metode DPPH*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Susanty, S. and Bachmid, F., 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi Dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik Dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays L.*). *Jurnal Konversi*, 5(2), p.87.
- Susilowati and Wulandari, S., 2019. Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum (Wight.) Walp.*) dengan Metode DPPH (1, 1 Difenil-2 pikrilhidrazil. *Ijms*, 6(2), pp.39–44.
- Sutomo, Kiptiah, M., Nurmaidah and Arnida, 2021. Identifikasi Potensi Senyawa Antioksidan Dari Fraksi Etil Asetat Dsun Mundar (*Garcinia forbesii King.*) Asal Kalimantan Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah*, 6(3), p.6.
- Tamu, F., 2017. *Formulasi dan uji efektivitas antioksidan krim ekstrak etanol daun kersen (Muntingia calabura L) dengan metode DPPH*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Tapan, E., 2007. *Kanker, Antioksidan, dan Terapi Komplementer*, Gramedia, Jakarta.

- Tivani, I., Amananti, W. and Putri, A., 2021. Uji Aktivitas Antibakteri Handwash Ekstrak Daun Turi (*Sesbania grandiflora* L) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Manuntung. Jurnal Akademi Farmasi Samarinda*, 7(1), pp.86–91.
- Tranggono, R.I., 2007, *BP: Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. [Online].
- Velázquez, E., Tournier, H.A., Buschiaz, P., Mordujovich, de Saavedra, G., Schinella, G.R., 2003, *Antioxidant activity of Paraguayan plant extracts*, *Fitoterapia* [Online].
- Wahyuni, I.R., 2015. *Validasi Metode Analisis Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak N- Heksan, Etil Asetat, Etanol 70% Umbi Talas Ungu (Colocasia Esculenta L. Schott) Dengan Metode Dpph, Cuprac Dan Frap Secara Spektrofotometri Uv-Vis*. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Wahyuni, R., Guswandi and Rivai, H., 2014. Pengaruh Cara Pengeringan Dengan Oven, Kering Angin Dan Cahaya Matahari Langsung Terhadap Mutu Simplisia Herba Sambiloto. , 6.
- Widarjono, A., 2015. *Statistika Terapan Dengan Excel & SPSS*, UPP STIM YKPN, Yogyakarta.
- Widowati, W., Safitri, R., Rumumpuk, R. and Siahaan, M., 2005. Penapisan Aktivitas Superoksida Dismutase pada Berbagai Tanaman. *Jkm*, 5(1), pp.33–48.
- Widyastuti, N., 2010, *Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode Cuprac, DPPH, dan Frap serta Korelasinya dengan Fenol dan Flavonoid pada Enam Tanaman* [Online].
- Wildaningsih, W., 2020. *Penetapan Kadar Fenolat Total Dan Alang-Alang (Imperata Cylindrica (L .) Raeusch)* Draft Skripsi Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia Padang.
- Winarti, S., 2010. *Makanan Fungsional*, Yogyakarta.
- Wullur, A., Schadu, J. and Wardhani, A., 2012. Identifikasi Alkaloid Pada Daun Sirsak (*Annona muricata* L.). *Jurnal Ilmiah Farmasi Poltekkes Manado*, 3(2), p.96483.
- Xu, R., Ye, Y. and Zhao, W., 2011. *Introduction to natural products chemistry*, Science Press, Beijing.
- Yang, Xin-She., He, Xi., 2013. Bat algorithm: literature review and applications. *International Journal of Bio-Inspired Computation*, 5(3).
- Yulian, M. and Safrijal, 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Daun Benalu Kopi (*Loranthus Ferrugineus* Roxb.) Dengan Metode Dpph (1,1 – Difenil -2- Pikrilhidrazil). *Lantanida Journal*, 6(2), Pp.103– 202.
- Yusvita, L.Y., 2010. *Efek Span 80 Dan Tween 80 Sebagai Emulgator Terhadap Sifat Fisis Dan Stabilitas Emulsi Oral A/M Ekstrak Etanol Buah Pare (Momordica Charantia L.): Aplikasi Desain Faktorial*. Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Zuhra, C., Tarigan, J.B. and Sihotang, H., 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr.). *Jurnal Biologi Sumatera*, 3(1), pp.10–13.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Determinasi Daun Miana (*Coleus atropurpureus* L. Benth)



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU

Jl. Lahor 87 Kota Batu
Jl. Raya 228 Kejayan Kabupaten Pasuruan
Jl. Kolonel Sugiono 457 – 459 Kota Malang
Email : materiamedicabatu@jatimprov.go.id



Nomor : 074/ 196/ 102.20-A/ 2022
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Miana**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama / NIM : ERNISA AFIDATUL ISMA / 1813206008
NOVI NUR HASLINDHA / 1813206021
MILLENNIA RAMADHANI / 1813206015
Fakultas : FARMASI, STIKES KARYA PUTRA BANGSA

1. Perihal determinasi tanaman miana / iler

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Solanales
Suku : Labiales
Marga : Coleus
Jenis : *Coleus scutellarioides* (L.) Benth.
Sinonim : *Coleus atropurpureus* Benth. = *Plectranthus scutellarioides* (L.) Benth.
Nama Daerah : Iler, miana (Indonesia); kentangan (Jawa); jawer kotok (Sunda); si gresing (Batak);
adang-adang (Palembang); mayam (Menado); ati-ati, panci-panci (Bugis).
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b-248b-249b-
250b-266b-267b-273b-276b-278b-279b-282a: Labiales-1a-2a-4b-6b-7a: Coleus-
7: *C. scutellarioides*.

2. Morfologi : Batang: Batang herba tegak dan merayap dengan tinggi berkisar 30 cm sampai 150 cm, mempunyai penampung batang berbentuk segi empat dan termasuk kategori tumbuhan basah yang batangnya mudah patah. Daun: Berbentuk hati dan pada setiap tepiannya dihiasi oleh jorong-jorong atau lekuk-lekuk tipis yang bersambungan, didukung oleh tangkai daun, berwarna ungu. Bunga: Berbentuk antaian bunga bersusun, bunganya muncul pada pucuk tangkai batang.

3. Bagian yang digunakan : Daun.

4. Penggunaan : Penelitian.

5. Daftar Pustaka

- Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 08 Maret 2022

KEPALA UPT LABORATORIUM HERBAL
MATERIA MEDICA BATU

ACHMAD MABNUR, SKM, M.Kes.
PEMBINA
NIP. 19680203 199203 1 004

Lampiran 2 Sertifikat DPPH



PT. SMART-LAB INDONESIA
MANUFACTURER OF ANALYTICAL REAGENTS



CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product Name	: 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (Free radical)	Molecular Weight	: 394.32 g/mol
Catalog No.	: A 2095	Batch No.	: 110221001
Grade	: Analytical Reagent	Manufacturing Date	: February 11, 2021
Formula	: $C_{19}H_{12}N_2O_6$	Expire Date	: February , 2026
Cas No	: 1898-66-4		

NO	ITEM TEST	UNITS	SPECIFICATION	RESULT
1.	Appearance	-	Purple black or green powder	Conform
2.	Assay	wt %	min 85.0	86.19
3.	Melting point	$^{\circ}C$	125 – 145	127.6

Result : The above product corresponds to AR Grade

Reference or standard of product specification to Analar standard specification

PT. SMART LAB INDONESIA



SUDIRO S.Si.
Head QC

Lampiran 3 Perhitungan Hasil

3.1 Perhitungan susut pengeringan

Sampel	Bobot daun basah	Bobot daun kering	% Hasil
Daun Miana	10 kg	0,9 kg	91%

$$\begin{aligned} \% \text{ Susut pengeringan} &= \frac{\text{bobot daun basah} - \text{bobot daun kering}}{\text{bobot daun basah}} \times 100\% \\ &= \frac{10 - 0,9}{10} \times 100\% \\ &= 91\% \end{aligned}$$

3.2 Perhitungan Uji Kadar Air Serbuk Simplisia

Sampel	Bobot awal	Bobot akhir	% Hasil
Daun Miana	10,00 gram	9,25 gram	7,5%

$$\begin{aligned} \% \text{ kadar air} &= \frac{\text{bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{bobot awal}} \times 100\% \\ &= \frac{10 - 9,25}{10} \times 100\% \\ &= 7,5\% \end{aligned}$$

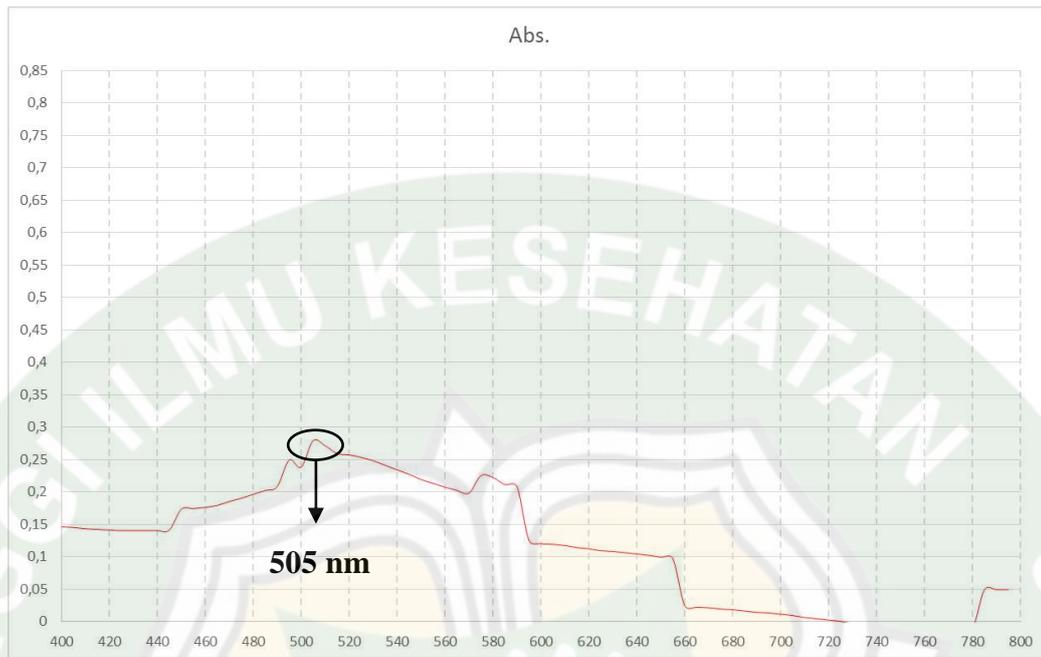
3.3 Rendemen Ekstrak

Sampel	Bobot simplisia	Bobot ekstrak	% Hasil
Daun Miana	500 gr	73,268 gram	14,6536%

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh (gram)}}{\text{bobot simplisia sebelum di ekstraksi (gram)}} \times 100\% \\ &= \frac{73,268}{500} \times 100\% \\ &= 14,6536\% \end{aligned}$$

3.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan Fraksi Daun Miana Dan Vitamin C

A. Penentuan Panjang Gelombang Optimum Larutan DPPH 50 ppm



Diperoleh hasil panjang gelombang maksimum DPPH 505 nm dengan absorbansi 0,29.

Panjang Gelombang	Absorbansi
490.0nm	0.208
495.0nm	0.249
500.0nm	0.238
505.0nm	0.290
510.0nm	0.271
515.0nm	0.259
520.0nm	0.257
525.0nm	0.253
530.0nm	0.248
535.0nm	0.241
540.0nm	0.234

Lampiran 4 Preparasi Bahan

1. Pembuatan larutan stok fraksi 500 ppm dalam 50 ml

$$500 \text{ ppm} = \frac{x}{0,05 \text{ L}}$$

$$= 25 \text{ mg}$$

2. Pembuatan larutan fraksi daun miana variasi konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, dan 60 ppm

$$V_1N_1 = V_2N_2$$

Keterangan :

V_1 = volume yang dicari

N_1 = konsentrasi awal

V_2 = volume yang diinginkan

N_2 = konsentrasi yang diinginkan

- Pembuatan larutan 20 ppm dari larutan stok 500 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 500 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 20 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,4 \text{ ml}$$

- Pembuatan larutan 40 ppm dari larutan stok 500 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 500 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 40 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,8 \text{ ml}$$

- Pembuatan larutan 60 ppm dari larutan stok 500 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 500 \text{ ppm} = 10 \text{ ml} \times 60 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 1,2 \text{ ml}$$

3. Pembuatan larutan vitamin C variasi konsentrasi 2 ppm, 6 ppm, dan 10 ppm dari larutan stok 40.000 ppm (200mg/5ml)

$$V_1N_1 = V_2N_2$$

Keterangan :

V_1 = volume yang dicari

N_1 = konsentrasi awal

V_2 = volume yang diinginkan

N_2 = konsentrasi yang diinginkan

- Pembuatan larutan 2 ppm dari larutan stok 40.000 ppm

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 40.000 \text{ ppm} = 50 \text{ ml} \times 2 \text{ ppm}$$

$$V_1 = 0,0025 \text{ ml}$$

$$= 2,5 \mu\text{l}$$

- Pembuatan larutan 6 ppm dari larutan stok 40.000 ppm

$$\begin{aligned}
 V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\
 V_1 \times 40.000 \text{ ppm} &= 50 \text{ ml} \times 6 \text{ ppm} \\
 V_1 &= 0,0075 \text{ ml} \\
 &= 7,5 \mu\text{l}
 \end{aligned}$$

- Pembuatan larutan 10 ppm dari larutan stok 40.000 ppm

$$\begin{aligned}
 V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\
 V_1 \times 40.000 \text{ ppm} &= 50 \text{ ml} \times 10 \text{ ppm} \\
 V_1 &= 0,0125 \text{ ml} \\
 &= 12,5 \mu\text{l}
 \end{aligned}$$

B. Perhitungan % Inhibisi Vitamin C dan Fraksi Daun Miana

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A.\text{Blanko} - A.\text{Sampel}}{A.\text{Blanko}} \times 100\%$$

Keterangan :

A. blanko = Absorbansi DPPH

A. sampel = Absorbansi fraksi/vitamin C

- Vitamin C 2 ppm

Replikasi	Absorbansi
1	0,275
2	0,184
3	0,319
Rata-rata	0,259

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Inhibisi} &= \frac{A.\text{Blanko} - A.\text{Sampel}}{A.\text{Blanko}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,29 - 0,259}{0,29} \times 100\% \\
 &= 10,575
 \end{aligned}$$

- Vitamin C 6 ppm

Replikasi	Absorbansi
1	0,176
2	0,168
3	0,304
Rata-rata	0,216

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Inhibisi} &= \frac{A.\text{Blanko} - A.\text{Sampel}}{A.\text{Blanko}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,29 - 0,216}{0,29} \times 100\% \\
 &= 25,517
 \end{aligned}$$

- Vitamin C 10 ppm

Replikasi	Absorbansi
1	0,208
2	0,174
3	0,182
Rata-rata	0,188

$$\begin{aligned} \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{A.Blanko} - \text{A.Sampel}}{\text{A.Blanko}} \times 100\% \\ &= \frac{0,29 - 0,188}{0,29} \times 100\% \\ &= 35,172 \end{aligned}$$

- Fraksi Aquadestilata 20 ppm

Replikasi	Absorbansi
1	0,275
2	0,184
3	0,319
Rata-rata	0,259

$$\begin{aligned} \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{A.Blanko} - \text{A.Sampel}}{\text{A.Blanko}} \times 100\% \\ &= \frac{0,29 - 0,259}{0,29} \times 100\% \\ &= 10,575 \end{aligned}$$

- Fraksi Aquadestilata 40 ppm

Replikasi	Absorbansi
1	0,176
2	0,168
3	0,304
Rata-rata	0,216

$$\begin{aligned} \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{A.Blanko} - \text{A.Sampel}}{\text{A.Blanko}} \times 100\% \\ &= \frac{0,29 - 0,216}{0,29} \times 100\% \\ &= 25,517 \end{aligned}$$

- Fraksi Aquadestilata 60 ppm

Replikasi	Absorbansi
1	0,208
2	0,174
3	0,182
Rata-rata	0,188

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{A.Blanko} - \text{A.Sampel}}{\text{A.Blanko}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,29-0,188}{0,29} \times 100\%$$

$$= 35,172$$

- Fraksi Etil Asetat 20 ppm

Replikasi	Absorbansi
1	0,191
2	0,194
3	0,234
Rata-rata	0,206

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{A.Blanko}-\text{A.Sampel}}{\text{A.Blanko}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,29-0,206}{0,29} \times 100\%$$

$$= 28,51$$

- Fraksi Etil Asetat 40 ppm

Replikasi	Absorbansi
1	0,166
2	0,168
3	0,204
Rata-rata	0,179

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{A.Blanko}-\text{A.Sampel}}{\text{A.Blanko}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,29-0,179}{0,29} \times 100\%$$

$$= 38,161$$

- Fraksi Etil Asetat 60 ppm

Replikasi	Absorbansi
1	0,171
2	0,171
3	0,203
Rata-rata	0,182

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{A.Blanko}-\text{A.Sampel}}{\text{A.Blanko}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,29-0,182}{0,29} \times 100\%$$

$$= 37,356$$

- Fraksi N-Heksan 20 ppm

Replikasi	Absorbansi
1	0,199
2	0,200
3	0,236

Rata-rata	0,212
------------------	--------------

$$\begin{aligned} \% \text{ Inhibisi} &= \frac{A.\text{Blanko} - A.\text{Sampel}}{A.\text{Blanko}} \times 100\% \\ &= \frac{0,29 - 0,212}{0,29} \times 100\% \\ &= 27,011 \end{aligned}$$

- Fraksi N-Heksan 40 ppm

Replikasi	Absorbansi
1	0,225
2	0,175
3	0,212
Rata-rata	0,204

$$\begin{aligned} \% \text{ Inhibisi} &= \frac{A.\text{Blanko} - A.\text{Sampel}}{A.\text{Blanko}} \times 100\% \\ &= \frac{0,29 - 0,200}{0,29} \times 100\% \\ &= 29,655 \end{aligned}$$

- Fraksi N-Heksan 60 ppm

Replikasi	Absorbansi
1	0,187
2	0,187
3	0,225
Rata-rata	0,200

$$\begin{aligned} \% \text{ Inhibisi} &= \frac{A.\text{Blanko} - A.\text{Sampel}}{A.\text{Blanko}} \times 100\% \\ &= \frac{0,29 - 0,200}{0,29} \times 100\% \\ &= 31,149 \end{aligned}$$

C. Perhitungan IC₅₀

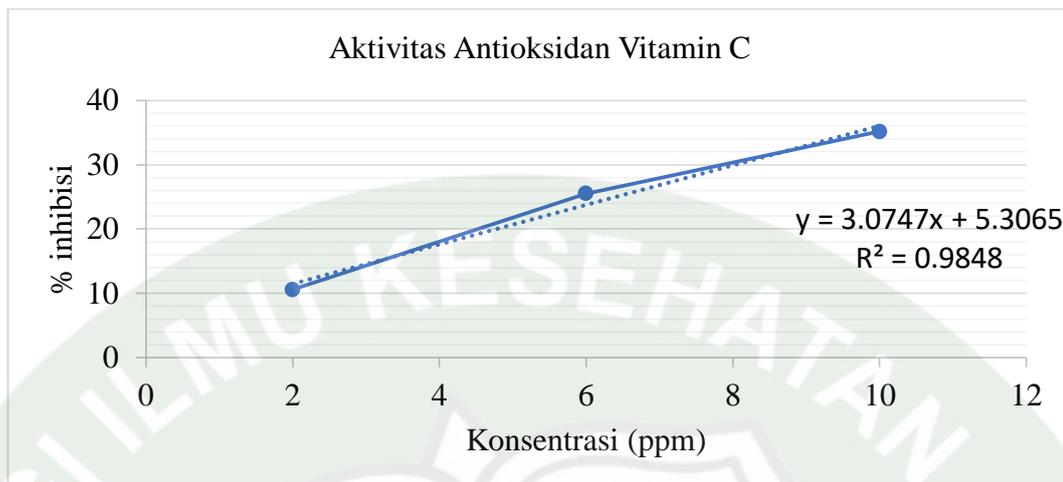
$$IC_{50} = \frac{(50-a)}{b}$$

Keterangan :

nilai (a) dan (b) diperoleh dari persamaan regresi linear $y = bx + a$

Intensitas	Nilai IC ₅₀
Sangat kuat	< 50 ppm
Kuat	50-100 ppm
Sedang	101-250 ppm
Lemah	250-500 ppm
Tidak aktif	>500 ppm

- Vitamin C

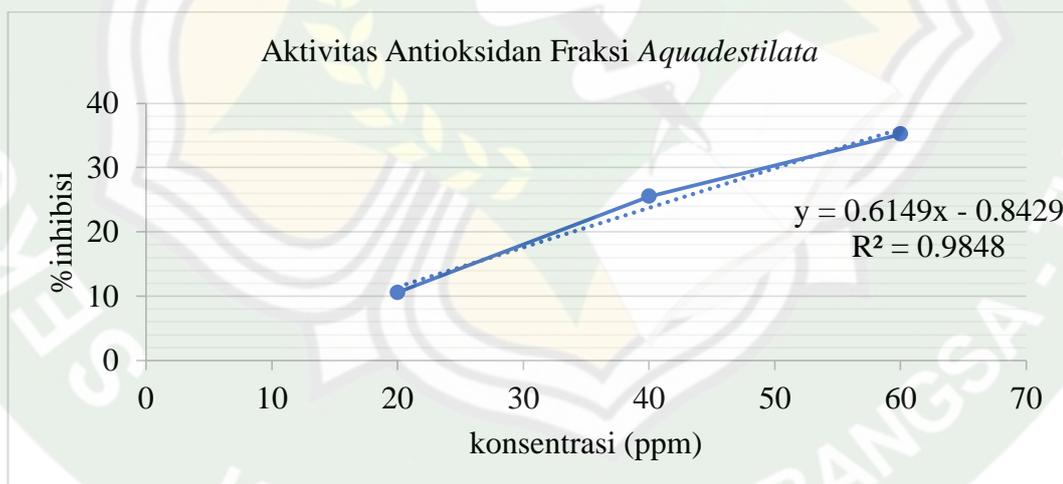


Persamaan regresi linear : $y = 3.0747x + 5.3065$

$$\begin{aligned} IC_{50} &= \frac{(50-a)}{b} \\ &= \frac{50-5,3065}{3,0747} \\ &= \mathbf{14,53589 \text{ ppm}} \end{aligned}$$

Jadi, vitamin C memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori **sangat kuat**.

- Fraksi *Aquadestilata* Daun Miana



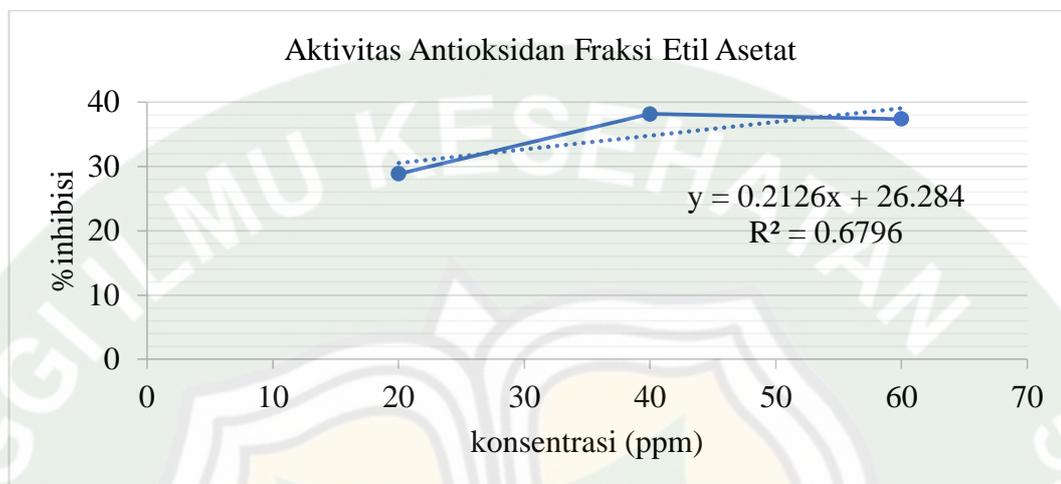
Persamaan regresi linear : $y = 0.6149x - 0.8429$

$$\begin{aligned} IC_{50} &= \frac{(50-a)}{b} \\ &= \frac{50-0,8429}{0,6149} \\ &= \mathbf{79,94324 \text{ ppm}} \end{aligned}$$

Jadi, fraksi auadestilata daun miana memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori

kuat.

- Fraksi Etil Asetat Daun Miana

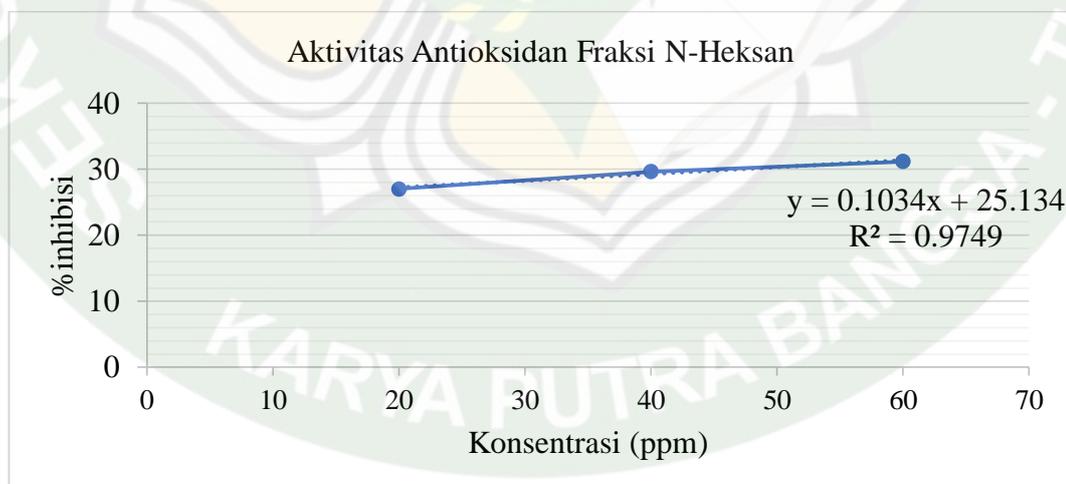


Persamaan regresi linear : $y = 0.2126x + 26.284$

$$\begin{aligned} IC_{50} &= \frac{(50-a)}{b} \\ &= \frac{50-26,284}{0,2126} \\ &= \mathbf{111,5522 \text{ ppm}} \end{aligned}$$

Jadi, fraksi etil asetat daun miana memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori **sedang**.

- Fraksi N-Heksan Daun Miana



Persamaan regresi linear : $y = 0.1034x + 25.134$

$$IC_{50} = \frac{(50-a)}{b}$$

$$= \frac{50-25,135}{0,1034}$$

$$= \mathbf{240,4836 \text{ ppm}}$$

Jadi, fraksi N-Heksan daun miana memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori **sedang**.

Sehingga fraksi **aquadestilata merupakan fraksi optimum** dari ketiga fraksi karena memiliki IC₅₀ terkecil dengan aktivitas antioksidan paling kuat.

Lampiran 5 Penimbangan Bahan (Formulasi)

IC₅₀ vitamin C sebesar 14,533 ppm = 0,0014533%

Fraksi *Aquadestilata* yang ditambahkan = 0,0014533 % × 100
= 0,15%

IC₅₀ fraksi *aquadestilata* daun miana sebesar 79,943 ppm = 0,0079943%

Fraksi *Aquadestilata* yang ditambahkan = 0,0079943 % × 100
= 0,79%

A. Formula 1 (F1)

1. Zat Aktif = Fraksi aquadest daun miana (20 ppm)
= $\frac{0,799}{100} \times 100$
= 0,799 g dari fraksi *aquadestilata* 20 ppm
2. Cera Alba = $\frac{2}{100} \times 100$ gram = 2 gram
3. Asam Stearat = $\frac{5}{100} \times 100$ gram = 5 gram
4. NaOH = $\frac{0,2}{100} \times 100$ gram = 0,2 gram
5. Karbomer = $\frac{0,5}{100} \times 100$ gram = 0,5 gram
6. BHT = $\frac{0,1}{100} \times 100$ gram = 0,1 gram
7. Tween 80 = $\frac{8,9}{100} \times 100$ gram = 8,9 gram
8. Span 80 = $\frac{1,1}{100} \times 100$ gram = 1,1 gram
9. Oleum Citri = $\frac{0,5}{100} \times 100$ gram = 0,5 gram
10. Nipagin = $\frac{0,18}{100} \times 100$ gram = 0,18 gram

$$11. \text{ Nipasol} = \frac{0,02}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,02 \text{ gram}$$

12. Purified water ad 100

$$\begin{aligned} &= 100 \text{ gram} - (0,799 + 2 + 5 + 0,2 + 0,5 + 0,1 + 8,9 + 1,1 + 0,5 + 0,18 + \\ &\quad 0,02) \text{ gram} \\ &= 100 \text{ gram} - 19,299 \text{ gram} \\ &= 80,701 \text{ gram} \end{aligned}$$

B. Formula 2 (F2)

$$\begin{aligned} 1. \text{ Zat Aktif} &= \text{Fraksi aquadest daun miana (40 ppm)} \\ &= \frac{0,799}{100} \times 100 \\ &= 0,799 \text{ g dari fraksi aquadestilata 40 ppm} \end{aligned}$$

$$2. \text{ Cera Alba} = \frac{2}{100} \times 100 \text{ gram} = 2 \text{ gram}$$

$$3. \text{ Asam Stearat} = \frac{5}{100} \times 100 \text{ gram} = 5 \text{ gram}$$

$$4. \text{ NaOH} = \frac{0,2}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,2 \text{ gram}$$

$$5. \text{ Karbomer} = \frac{0,5}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,5 \text{ gram}$$

$$6. \text{ BHT} = \frac{0,1}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,1 \text{ gram}$$

$$7. \text{ Tween 80} = \frac{8,9}{100} \times 100 \text{ gram} = 8,9 \text{ gram}$$

$$8. \text{ Span 80} = \frac{1,1}{100} \times 100 \text{ gram} = 1,1 \text{ gram}$$

$$9. \text{ Oleum Citri} = \frac{0,5}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,5 \text{ gram}$$

$$10. \text{ Nipagin} = \frac{0,18}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,18 \text{ gram}$$

$$11. \text{ Nipasol} = \frac{0,02}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,02 \text{ gram}$$

12. Purified water ad 100

$$\begin{aligned} &= 100 \text{ gram} - (0,799 + 2 + 5 + 0,2 + 0,5 + 0,1 + 8,9 + 1,1 + 0,5 + 0,18 + \\ &\quad 0,02) \text{ gram} \\ &= 100 \text{ gram} - 19,299 \text{ gram} \\ &= 80,701 \text{ gram} \end{aligned}$$

C. Formula 3 (F3)

$$1. \text{ Zat Aktif} = \text{Fraksi aquadest daun miana (60 ppm)}$$

$$= \frac{0,799}{100} \times 100$$

= 0,799 g dari fraksi *aquadestilata* 60 ppm

2. Cera Alba = $\frac{2}{100} \times 100$ gram = 2 gram

3. Asam Stearat = $\frac{5}{100} \times 100$ gram = 5 gram

4. NaOH = $\frac{0,2}{100} \times 100$ gram = 0,2 gram

5. Karbomer = $\frac{0,5}{100} \times 100$ gram = 0,5 gram

6. BHT = $\frac{0,1}{100} \times 100$ gram = 0,1 gram

7. Tween 80 = $\frac{8,9}{100} \times 100$ gram = 8,9 gram

8. Span 80 = $\frac{1,1}{100} \times 100$ gram = 1,1 gram

9. Oleum Citri = $\frac{0,5}{100} \times 100$ gram = 0,5 gram

10. Nipagin = $\frac{0,18}{100} \times 100$ gram = 0,18 gram

11. Nipazol = $\frac{0,02}{100} \times 100$ gram = 0,02 gram

12. Purified water ad 100

$$= 100 \text{ gram} - (0,799 + 2 + 5 + 0,2 + 0,5 + 0,1 + 8,9 + 1,1 + 0,5 + 0,18 + 0,02) \text{ gram}$$

$$= 100 \text{ gram} - 19,299 \text{ gram}$$

$$= 80,701 \text{ gram}$$

D. Formula 4 (F4)

1. Zat Aktif = Vitamin C (2 ppm)

$$= \frac{0,15}{100} \times 100$$

= 0,15 g dari Vitamin C 2 ppm

2. Cera Alba = $\frac{2}{100} \times 100$ gram = 2 gram

3. Asam Stearat = $\frac{5}{100} \times 100$ gram = 5 gram

4. NaOH = $\frac{0,2}{100} \times 100$ gram = 0,2 gram

5. Karbomer = $\frac{0,5}{100} \times 100$ gram = 0,5 gram

$$6. \text{ BHT} = \frac{0,1}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,1 \text{ gram}$$

$$7. \text{ Tween 80} = \frac{8,9}{100} \times 100 \text{ gram} = 8,9 \text{ gram}$$

$$8. \text{ Span 80} = \frac{1,1}{100} \times 100 \text{ gram} = 1,1 \text{ gram}$$

$$9. \text{ Oleum Citri} = \frac{0,5}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,5 \text{ gram}$$

$$10. \text{ Nipagin} = \frac{0,18}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,18 \text{ gram}$$

$$11. \text{ Nipasol} = \frac{0,02}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,02 \text{ gram}$$

12. Purified water ad 100

$$= 100 \text{ gram} - (0,15 + 2 + 5 + 0,2 + 0,5 + 0,1 + 8,9 + 1,1 + 0,5 + 0,18 + 0,02) \text{ gram}$$

$$= 100 \text{ gram} - 18,65 \text{ gram}$$

$$= 81,35 \text{ gram}$$

E. Formula 5 (F5)

$$1. \text{ Zat Aktif} = \text{Vitamin C (6 ppm)}$$

$$= \frac{0,15}{100} \times 100$$

$$= 0,15 \text{ g dari Vitamin C 6 ppm}$$

$$2. \text{ Cera Alba} = \frac{2}{100} \times 100 \text{ gram} = 2 \text{ gram}$$

$$3. \text{ Asam Stearat} = \frac{5}{100} \times 100 \text{ gram} = 5 \text{ gram}$$

$$4. \text{ NaOH} = \frac{0,2}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,2 \text{ gram}$$

$$5. \text{ Karbomer} = \frac{0,5}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,5 \text{ gram}$$

$$6. \text{ BHT} = \frac{0,1}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,1 \text{ gram}$$

$$7. \text{ Tween 80} = \frac{8,9}{100} \times 100 \text{ gram} = 8,9 \text{ gram}$$

$$8. \text{ Span 80} = \frac{1,1}{100} \times 100 \text{ gram} = 1,1 \text{ gram}$$

$$9. \text{ Oleum Citri} = \frac{0,5}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,5 \text{ gram}$$

$$10. \text{ Nipagin} = \frac{0,18}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,18 \text{ gram}$$

$$11. \text{ Nipasol} = \frac{0,02}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,02 \text{ gram}$$

12. Purified water ad 100

$$\begin{aligned}
 &= 100 \text{ gram} - (0,15 + 2 + 5 + 0,2 + 0,5 + 0,1 + 8,9 + 1,1 + 0,5 + 0,18 + \\
 &\quad 0,02) \text{ gram} \\
 &= 100 \text{ gram} - 18,65 \text{ gram} \\
 &= 81,35 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

F. Formula 6 (F6)

1. Zat Aktif = Vitamin C (10 ppm)

$$\begin{aligned}
 &= \frac{0,15}{100} \times 100 \\
 &= 0,15 \text{ g dari Vitamin C 10 ppm}
 \end{aligned}$$
2. Cera Alba = $\frac{2}{100} \times 100 \text{ gram} = 2 \text{ gram}$
3. Asam Stearat = $\frac{5}{100} \times 100 \text{ gram} = 5 \text{ gram}$
4. NaOH = $\frac{0,2}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,2 \text{ gram}$
5. Karbomer = $\frac{0,5}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,5 \text{ gram}$
6. BHT = $\frac{0,1}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,1 \text{ gram}$
7. Tween 80 = $\frac{8,9}{100} \times 100 \text{ gram} = 8,9 \text{ gram}$
8. Span 80 = $\frac{1,1}{100} \times 100 \text{ gram} = 1,1 \text{ gram}$
9. Oleum Citri = $\frac{0,5}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,5 \text{ gram}$
10. Nipagin = $\frac{0,18}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,18 \text{ gram}$
11. Nipasol = $\frac{0,02}{100} \times 100 \text{ gram} = 0,02 \text{ gram}$

12. Purified water ad 100

$$\begin{aligned}
 &= 100 \text{ gram} - (0,15 + 2 + 5 + 0,2 + 0,5 + 0,1 + 8,9 + 1,1 + 0,5 + 0,18 + \\
 &\quad 0,02) \text{ gram} \\
 &= 100 \text{ gram} - 18,65 \text{ gram} \\
 &= 81,35 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

D. Perhitungan HLB

$$(B_A \times HLB_A) + (B_B \times HLB_B) = B_{\text{total}} \times HLB_{\text{butuh}}$$

Keterangan :

B = berat emulgator (g)

Tween 80 8,9% (HLB = 15) = 8,9 g

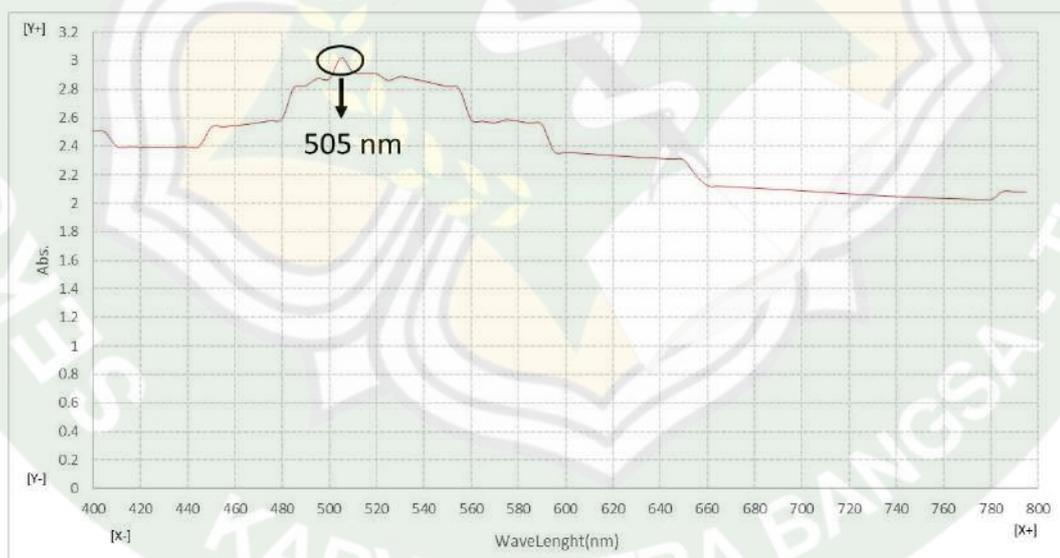
Span 80 1,1% (HLB = 4,3) = 1,1 g

Berat total emulgator = 8,9 g + 1,1 g
= 10 g

$$\begin{aligned}
 (B_A \times HLB_A) + (B_B \times HLB_B) &= B_{total} \times HLB_{butuh} \\
 (8,9 \text{ g} \times 15) + (1,1 \text{ g} \times 4,3) &= 10 \text{ g} \times HLB_{butuh} \\
 133,5 + 4,73 &= 10 \text{ g} \times HLB_{butuh} \\
 138,23 &= 10 \text{ g} \times HLB_{butuh} \\
 HLB_{butuh} &= \frac{138,23}{10} \\
 &= 13,82
 \end{aligned}$$

4.3 Pengujian Aktivitas Antioksidan Lotion Fraksi Daun Miana Dan Lotion Vitamin C

A. Penentuan Panjang Gelombang Optimum Larutan DPPH 50 ppm



Diperoleh hasil panjang gelombang maksimum DPPH 505 nm dengan absorbansi 3,017.

Panjang Gelombang	Absorbansi
490,0nm	2,823
495,0nm	2,874

500,0nm	2,872
505,0nm	3,017
510,0nm	2,918
515,0nm	2,910
520,0nm	2,908
525,0nm	2,861
530,0nm	2,888
535,0nm	2,873
540,0nm	2,856

B. Perhitungan % Inhibisi Lotion Vitamin C dan Lotion Fraksi Daun

Miana

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{A.Blanko} - \text{A.Sampel}}{\text{A.Blanko}} \times 100\%$$

Keterangan :

A. blanko = Absorbansi DPPH

A. sampel = Absorbansi lotion fraksi aquadest/vitamin C

- Fraksi *Aquadestilata* 20 ppm (F1)

Replikasi	Absorbansi
1	3,002
2	3,011
3	3,002
Rata-rata	3,005

$$\begin{aligned} \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{A.Blanko} - \text{A.Sampel}}{\text{A.Blanko}} \times 100\% \\ &= \frac{3,017 - 3,005}{3,017} \times 100\% \\ &= 0,409 \end{aligned}$$

- Fraksi *Aquadestilata* 40 ppm (F2)

Replikasi	Absorbansi
1	1,883
2	1,889
3	1,867
Rata-rata	1,880

$$\begin{aligned} \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{A.Blanko} - \text{A.Sampel}}{\text{A.Blanko}} \times 100\% \\ &= \frac{3,017 - 1,880}{3,017} \times 100\% \\ &= 37,704 \end{aligned}$$

- Fraksi *Aquadestilata* 60 ppm (F3)

Replikasi	Absorbansi
-----------	------------

1	0,821
2	0,734
3	0,967
Rata-rata	0,841

$$\begin{aligned} \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{A.Blanko} - \text{A.Sampel}}{\text{A.Blanko}} \times 100\% \\ &= \frac{3,017 - 0,841}{3,017} \times 100\% \\ &= 72,139 \end{aligned}$$

- Vitamin C 2 ppm (F4)

Replikasi	Absorbansi
1	2,805
2	2,846
3	2,805
Rata-rata	2,819

$$\begin{aligned} \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{A.Blanko} - \text{A.Sampel}}{\text{A.Blanko}} \times 100\% \\ &= \frac{3,017 - 2,819}{3,017} \times 100\% \\ &= 6,584 \end{aligned}$$

- Vitamin C 6 ppm (F5)

Replikasi	Absorbansi
1	2,573
2	2,567
3	2,567
Rata-rata	2,569

$$\begin{aligned} \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{A.Blanko} - \text{A.Sampel}}{\text{A.Blanko}} \times 100\% \\ &= \frac{3,017 - 2,569}{3,017} \times 100\% \\ &= 14,859 \end{aligned}$$

- Vitamin C 10 ppm (F6)

Replikasi	Absorbansi
1	2,481
2	2,461
3	2,448
Rata-rata	2,463

$$\begin{aligned} \% \text{ Inhibisi} &= \frac{\text{A.Blanko} - \text{A.Sampel}}{\text{A.Blanko}} \times 100\% \\ &= \frac{3,017 - 2,463}{3,017} \times 100\% \\ &= 18,361 \end{aligned}$$

C. Perhitungan IC₅₀

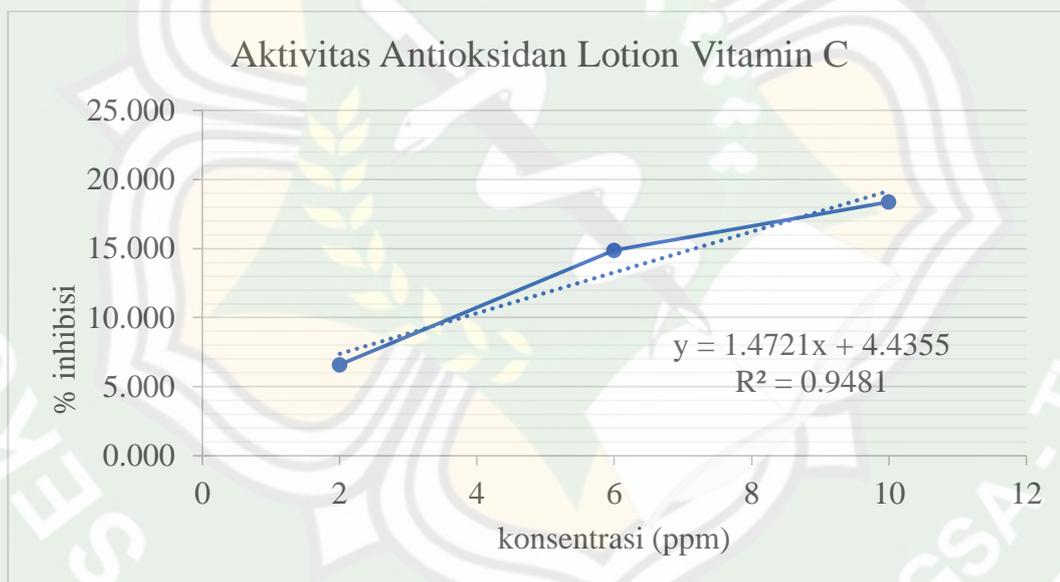
$$IC_{50} = \frac{(50-a)}{b}$$

Keterangan :

nilai (a) dan (b) diperoleh dari persamaan regresi linear $y = bx + a$

Intensitas	Nilai IC ₅₀
Sangat kuat	< 50 ppm
Kuat	50-100 ppm
Sedang	101-250 ppm
Lemah	250-500 ppm
Tidak aktif	>500 ppm

- Vitamin C



Persamaan regresi linear : $y = 1.4721x + 4.4355$

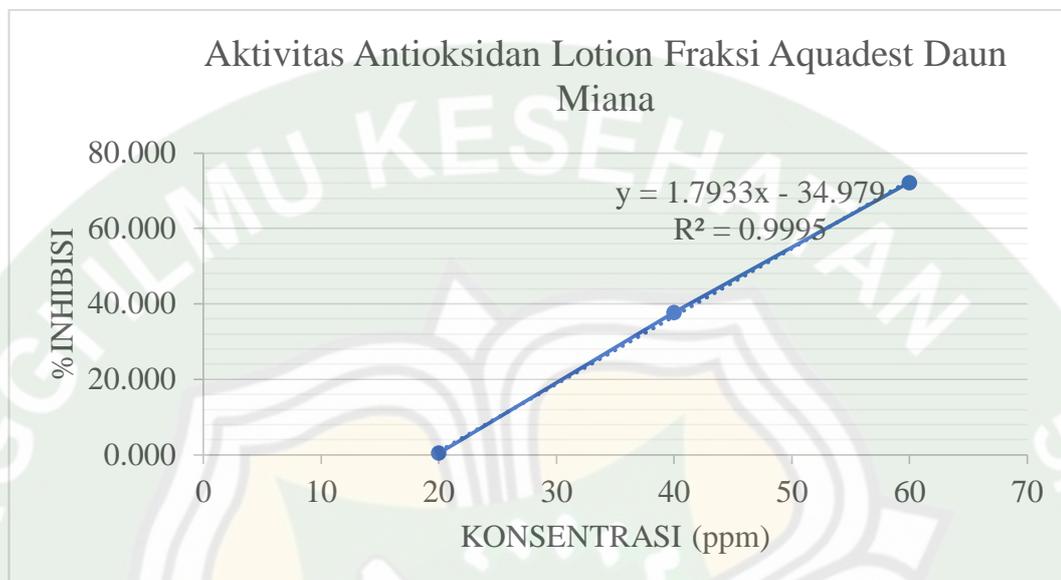
$$IC_{50} = \frac{(50-a)}{b}$$

$$= \frac{50-4,4355}{1,4721}$$

$$= \mathbf{30,952 \text{ ppm}}$$

Jadi, lotion vitamin C memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori **sangat kuat**.

- Fraksi *Aquadestilata* Daun Miana



Persamaan regresi linear : $y = 1.7933x - 34.979$

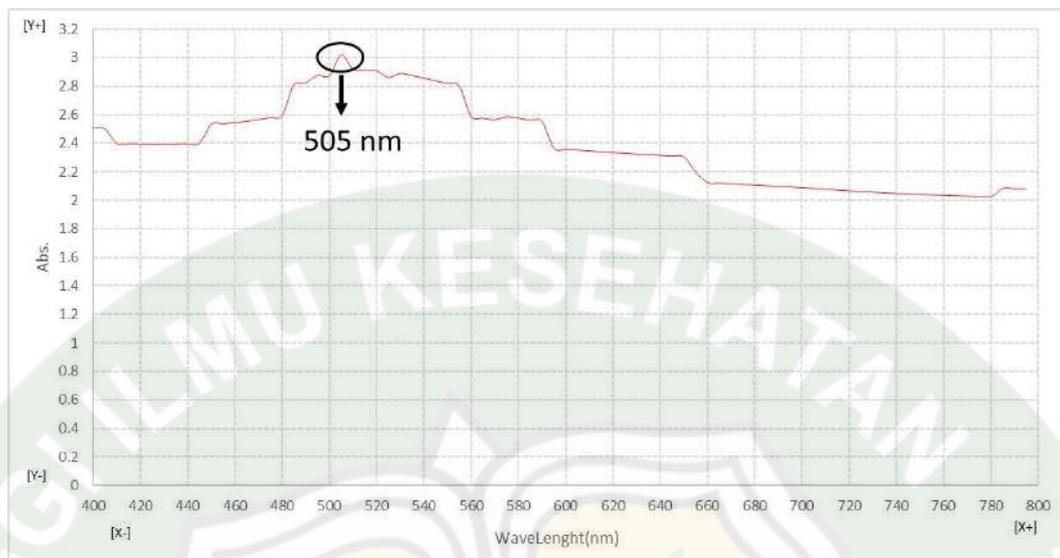
$$\begin{aligned} IC_{50} &= \frac{(50-a)}{b} \\ &= \frac{50 - (-34,979)}{1,7933} \\ &= \mathbf{47,387 \text{ ppm}} \end{aligned}$$

Jadi, lotion fraksi aquadestilata daun miana memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori **kuat**.

Lampiran 6 Validasi Metode

A. Uji Linieritas

1. Penentuan panjang gelombang optimum DDPH 50 ppm



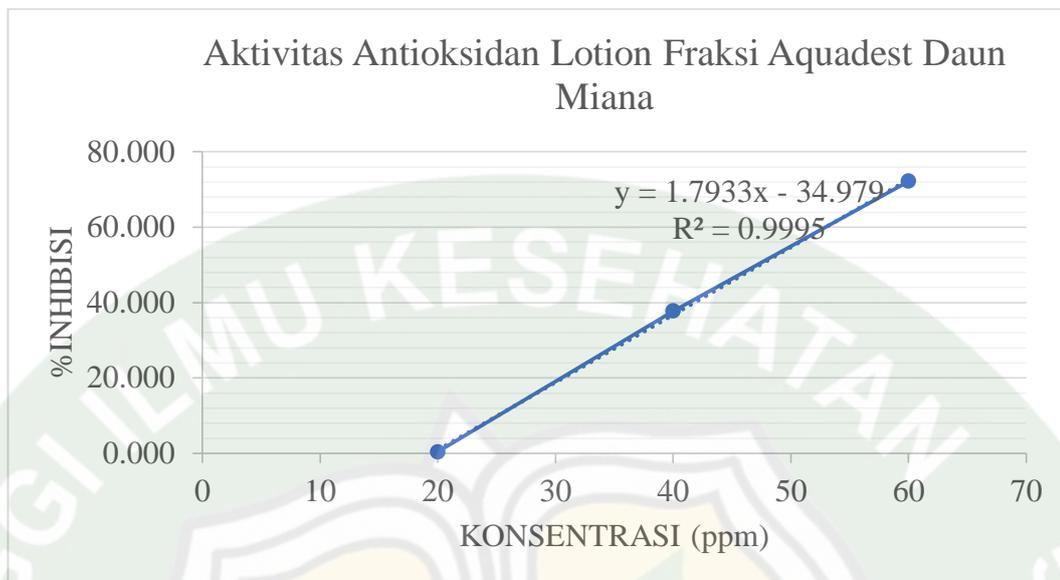
Diperoleh hasil panjang gelombang maksimum DPPH 505 nm dengan absorbansi 3,017.

Panjang Gelombang	Absorbansi
490,0nm	2,823
495,0nm	2,874
500,0nm	2,872
505,0nm	3,017
510,0nm	2,918
515,0nm	2,910
520,0nm	2,908
525,0nm	2,861
530,0nm	2,888
535,0nm	2,873
540,0nm	2,856

2. Hasil pengukuran absorbansi

Konsentrasi Sampel (ppm)	Absorbansi				%Inhibisi
	R1	R2	R3	Rata-Rata	
20	3.002	3.011	3.002	3.005	0.409
40	1.883	1.889	1.867	1.880	37.704
60	0.821	0.734	0.967	0.841	72.139

3. Pembuatan kurva hubungan konsentrasi sampel terhadap %inhibisi



Persamaan regresi linear

$$y = 1,7933x - 34,979$$

$$R^2 = 0,9995$$

Koefisien korelasi (R) = 0,9997 (syarat linear R mendekati ± 1)

Jadi, metode yang digunakan menghasilkan data yang **linear**.

B. Uji Akurasi

- Perhitungan konsentrasi standar (Vitamin C) yang harus ditambahkan

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi standar} &= \frac{1}{2} \times \text{konsentrasi analit dalam sampel} \\ &= \frac{1}{2} \times 21,18106 \\ &= \mathbf{10,59 \text{ ppm} \sim 10 \text{ ppm}} \end{aligned}$$

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$40.000 \text{ ppm} \times V1 = 10 \text{ ppm} \times 5000 \mu\text{l}$$

$$V2 = 1,25 \mu\text{l} \text{ (diambil dari larutan standart 40.000 ppm)}$$

- Hasil pengukuran absorbansi standar (Vitamin C)

Konsentrasi standar (ppm)	Replikasi	Absorbansi
10 ppm	1	2,481
	2	2,461
	3	2,448
Rata-Rata		2,463

3. Hasil pengukuran absorbansi spiking

Konsentrasi sampel (ppm)	Replikasi	Absorbansi
20 ppm	1	7,272
	2	7,249
	3	7,481
Rata-Rata		7,334

4. Perhitungan konsentrasi spiking

Persamaan regresi linear : $y = 1,7933x - 34,979$

y = absorbansi

x = konsentrasi spiking (ppm)

$$\begin{aligned}
 y = 7,334 &\Leftrightarrow 7,334 = 1,7933x - 34,979 \\
 7,334 + 34,979 &= 1,7933x \\
 42,313 &= 1,7933x \\
 x &= \frac{42,313}{1,7933} \\
 &= \mathbf{23,595 \text{ ppm}}
 \end{aligned}$$

5. Perhitungan % *recovery*

$$\begin{aligned}
 \% \text{ recovery} &= \frac{\text{konsentrasi spiking} - \text{konsentrasi analit dalam sampel}}{\text{absorbansi standar}} \times 100\% \\
 &= \frac{23,595 - 21,181}{7,334} \times 100\% \\
 &= \frac{2,414}{7,334} \times 100\% \\
 &= 98,01\% \text{ (syarat akurasi \% recovery 98-102\%)}
 \end{aligned}$$

Jadi, metode yang digunakan menghasilkan data yang **akurat**.

C. Uji Presisi

Konsentrasi sampel (ppm)	Replikasi	Absorbansi	Kadar
20 ppm	R1	3,002	21,179
	R2	3,011	21,184
	R3	3,002	21,179
Rata-rata			21,181
Simpangan Baku (SD)			0,002898

Perhitungan Simpangan Baku Relatif (RSD)

$$\text{RSD} = \frac{\text{SD}}{\text{konsentrasi rata-rata analit dalam sampel}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,002898}{21,181} \times 100\%$$

$$= 0,014 \text{ (Sangat Teliti RSD } \leq 1\%)$$

Jadi, metode yang digunakan memiliki **tingkat ketelitian yang sangat tinggi**.

D. Uji LOD dan LOQ

$$\text{SD} = 0,002898$$

$$\text{Slope (b)} = 1,7933$$

1. LOD

$$\text{LOD} = \frac{3 \times \text{SD}}{\text{slope}}$$

$$= \frac{3 \times 0,002898}{1,7933}$$

$$= \frac{0,008694}{1,7933}$$

$$= 0,004848 \text{ ppm} \sim 0,005 \text{ ppm}$$

2. LOQ

$$\text{LOQ} = \frac{10 \times \text{SD}}{\text{slope}}$$

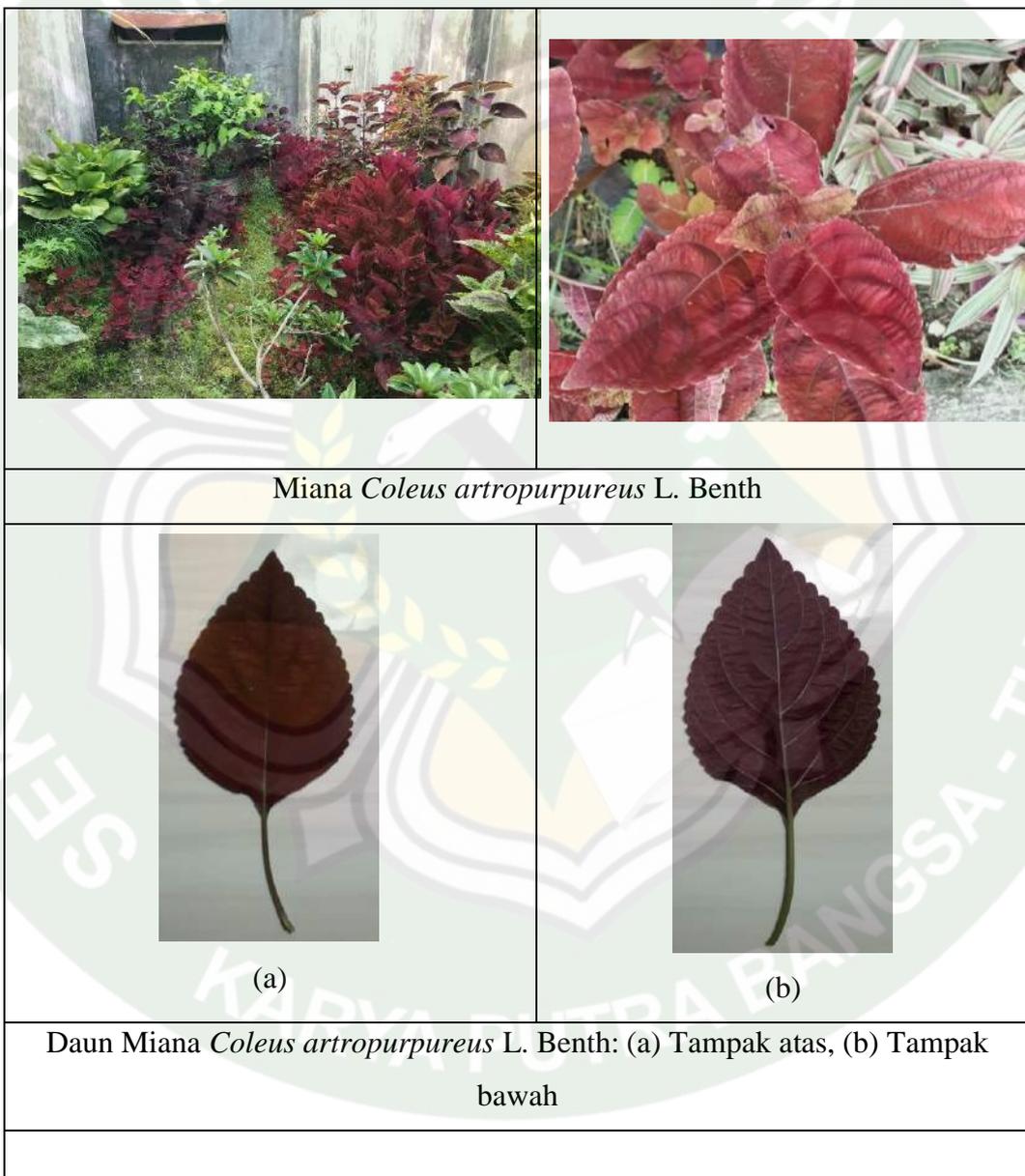
$$= \frac{10 \times 0,002898}{1,7933}$$

$$= \frac{0,02898}{1,7933}$$

$$= 0,01616 \text{ ppm} \sim 0,016 \text{ ppm}$$

Lampiran 7 Dokumentasi Penelitian

1. Tanaman Miana (*Coleus artropurpureus* L. Benth)



2. Proses Pembuatan Simplisia Serbuk Miana

		
Tanaman Miana	Pengumpulan	Sortasi Basah
		
Pencucian	Pengeringan	Sortasi Kering
		
Penggilingan	Pengayakan	Simplisia Serbuk

3. Proses Uji Kadar Air

		
Cawan kosong	plisia sebelum dioven	plisia setelah dioven

4. Proses Pembuatan Ekstrak

		
Serbuk simplisia	Perendaman dengan etanol 96% selama 5 hari	
		
Penyaringan dengan kertas saring	Penguapan	Maserat Kental

5. Pengentalan menggunakan rotary evaporator di Universitas Brawijaya Malang



Hasil evaporasi ekstrak daun miana

6. Proses fraksinasi



Fraksinasi dengan corong pisah



Fraksi *Aquadestilata*

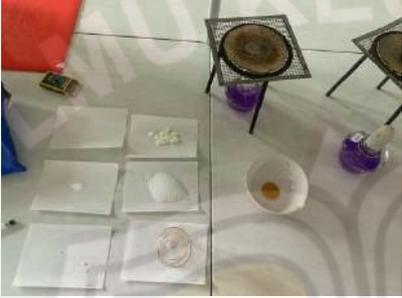


Fraksi etil asetat



Fraksi N-heksan

7. Proses pembuatan lotion

<p>1. Penyiapan bahan</p>  A laboratory bench with various ingredients and equipment for lotion preparation. There are several small white containers, a mortar and pestle, and a small bowl containing a yellow substance. A scale is also visible.	<p>2. Pelarutan fase minyak dan fase air</p>  A person pouring liquid into a beaker on a hot plate. The liquid is yellow and the hot plate is on a stand.
<p>3. Pengadukan semua bahan</p>  A person stirring a mixture in a white bowl. The mixture is white and thick. The person is using a white spatula.	<p>4. Sediaan lotion</p>  A row of white plastic bottles containing lotion. The bottles are lined up on a table in a laboratory setting.

8. Uji mutu fisik sediaan lotion

<p>1. Uji organoleptic</p>  A row of white plastic bottles containing lotion for organoleptic testing. The bottles are lined up on a table in a laboratory setting.
--

2. Uji homogenitas**3. Uji ph****4. Uji viskositas**



5. Uji daya sebar



6. Uji bobot jenis



7. Uji daya lekat



Aktivitas Antioksidan Sediaan Lotion**Larutan DPPH****Proses disentrifuge**

Preparasi Sampel**Pengukuran absorbansi larutan dpph dan sampel**