

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengumpulan Bahan

Tahapan awal penelitian ini dengan menyiapkan bahan aktif maupun eksipien yang dipakai dalam pembuatan mikrokapsul. Adapun bahan aktif yang digunakan dalam sediaan mikrokapsul yaitu ekstrak pegagan, ekstrak herba meniran, dan ekstrak rimpang kencur yang didapatkan dari PT Lansida Herbal di Yogyakarta dapat dilihat pada lampiran 3.

4.2 Determinasi Tanaman

Tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb), herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.), dan kencur (*Kaempferia galanga* L.) dilakukan determinasi karena penentuan identitas sangat penting untuk mengetahui dan memastikan kebenaran jenis tanaman yang dijadikan sampel penelitian teridentifikasi dengan benar (Hanifa et al., 2021). Berdasarkan hasil determinasi yang dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjajaran menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb L.) dengan famili Apiaceae, meniran (*Phyllanthus niruri* L. L.) famili Phyllanthaceae, dan kencur (*Kaempferia galanga* L.) famili Zingiberaceae.

4.3 Skrining Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam ekstrak pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb), herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.), dan kencur (*Kaempferia galanga* L.). Penapisan fitokimia yang dilakukan antara lain meliputi pengujian senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid/steroid. Dari penapisan fitokimia pada Tabel 4.1 diperoleh bahwa ekstrak pegagan memberikan hasil yang positif, artinya mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid.

Tabel 4. 1 Penapisan Fitokimia Ekstrak Pegagan

No	Golongan senyawa	Hasil
1	Alkaloid	+
2	Flavonoid	+
3	Tanin	+
4	Saponin	+
5	Steroid/triterpenoid	+

Keterangan: (+) = mengandung senyawa yang diuji

Senyawa alkaloid terdeteksi dengan pereaksi Mayer yang menghasilkan endapan putih, pereaksi Wagner menghasilkan endapan cokelat, dan pereaksi Dragendorff yang memberikan warna hijau. Senyawa flavonoid teridentifikasi melalui perubahan warna menjadi merah atau jingga pada larutan dan senyawa saponin teridentifikasi dengan terbentuknya busa. Uji tanin menunjukkan warna hijau kehitaman, sementara uji triterpenoid memberikan hasil positif dengan munculnya warna hitam ungu. Hasil dari skrining fitokimia pada pegagan ini sama dengan hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh (Djoko et al., 2020).

Tabel 4. 2 Penapisan Fitokimia Ekstrak Herba Meniran

No	Golongan senyawa	Hasil
1	Alkaloid	+
2	Flavonoid	+
3	Tanin	+
4	Saponin	+
5	Steroid/triterpenoid	+

Keterangan: (+) = mengandung senyawa yang diuji

Sementara hasil uji skrining fitokimia dari ekstrak herba meniran (*Phyllanthus niruri* L.) menunjukkan bahwa positif mengandung alkaloid pada pereaksi mayer karena adanya endapan putih, flavonoid yang ditunjukkan terbentuknya warna merah, tanin dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman, dan triterpenoid terbentuk warna hitam ungu, serta pada uji saponin menunjukkan terbentuknya busa

yang stabil. Hasil uji skrinning fitokimia ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri* L.) dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4. 3 Penapisan Fitokimia Ekstrak Rimpang Kencur

No	Golongan senyawa	Hasil
1	Alkaloid	+
2	Flavonoid	+
3	Tanin	+
4	Saponin	+
5	Steroid/triterpenoid	-

Keterangan: (+) = mengandung senyawa yang diuji

Hasil uji fitokimia pada Tabel 4.3 menunjukkan bahwa ekstrak rimpang kencur mengandung senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Keberadaan senyawa alkaloid dengan pereaksi Mayer ditunjukkan dengan menghasilkan endapan putih, pereaksi Wagner yang menghasilkan endapan cokelat dan pereaksi Dragendorff yang menghasilkan endapan jingga. Endapan ini terbentuk akibat pembentukan senyawa kompleks antara ion logam dari reagen dengan senyawa alkaloid. Uji flavonoid memberikan hasil positif dengan warna jingga kemerahan karena senyawa kompleks antara $AlCl_3$ dan flavonoid. Pada uji saponin menunjukkan hasil positif karena terbentuknya buih selama pengocokan. Uji tanin menggunakan pereaksi $FeCl_3$ menunjukkan hasil positif dengan terbentuk warna hijau kehitaman. Sementara uji steroid/triterpenoid memberikan hasil negatif karena tidak terbentuknya warna ungu atau hijau. Hal ini disebabkan oleh struktur siklik senyawa ini, yang umumnya berupa alkohol, aldehid, atau asam karboksilat, membuatnya cenderung bersifat semipolar dan ikatannya dengan pelarut etanol yang polar menjadi sangat lemah (Febriani et al., 2020).

4.4 Pembuatan Mikrokapsul

Proses pembuatan mikrokapsul dilakukan secara triplo untuk setiap formula nya. Tahapan pembuatan mikrokapsul tertera pada lampiran 5. Adapun proses penyalutan mikrokapsul dilakukan menggunakan bahan polimer Opadry (HPMC). Setelah pembuatan mikrokapsul, evaluasi yang dilakukan meliputi uji organoleptik,

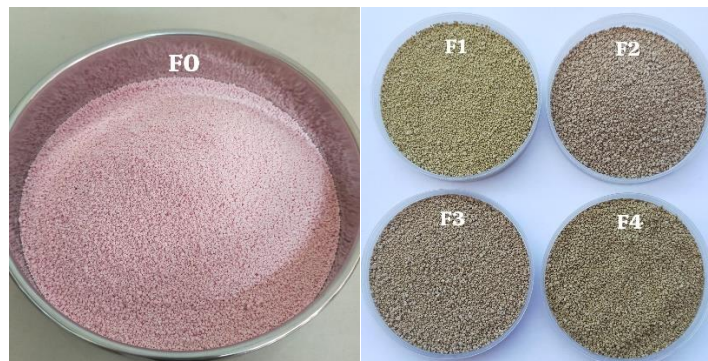
susut pengeringan, laju alir, sudut diam, distribusi ukuran partikel, kenaikan bobot, waktu larut, dan volume sedimentasi.

4.5 Evaluasi

Formulasi mikrokapsul melibatkan evaluasi sifat fisik untuk mengetahui pengaruh dari bahan yang digunakan. Setiap pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan untuk mengurangi kesalahan dalam analisis hasil dan memperoleh nilai rata-rata, sehingga hasilnya dapat dibandingkan. Adapun hasil evaluasi sifat fisik mikrokapsul sebagai berikut:

4.5.1 Organoleptik

Pengujian organoleptik mikrokapsul dilakukan pada suhu kamar (28°C - 30°C) dengan mengamati bentuk, warna, dan bau. Pemeriksaan organoleptik sebelum dan sesudah mikrokapsul disalut menunjukkan hasil yang sama. Hasil pemeriksaan organoleptik mikrokapsul dapat dilihat pada Gambar 4 dan Tabel 4.4 dibawah ini.



Gambar 4 Hasil Formulasi Mikrokapsul

Tabel 4. 4 Hasil Evaluasi Organoleptis Sebelum dan Sesudah Disalut

Pemeriksaan Sebelum dan Sesudah Disalut		Formula				
		F0	F1	F2	F3	F4
Organoleptik	Bentuk	Sferis	Sferis	Sferis	Sferis	Sferis
	Warna	Merah	Hijau	Coklat	Coklat	Coklat
		muda	muda	muda	muda	kehijauan
	Bau	Tidak berbau	Khas pegagan	Khas meniran	Khas kencur	Khas

Secara organoleptik, kelima formula yang dibuat menunjukkan hasil sebagai berikut: F0 memiliki bentuk sferis dan berwarna merah muda tanpa ada bau karena tidak mengandung bahan aktif. Warna merah muda diperoleh dari pewarna makanan untuk melihat homogenitas campuran. Baik F1 hingga F4 juga menunjukkan bentuk sferis dengan bau khas masing-masing ekstrak, namun terdapat warna berbeda disetiap formulanya. F1 berwarna hijau muda dengan bau khas pegagan, F2 berwarna coklat muda dengan bau khas meniran, F3 berwarna coklat muda dengan bau khas kencur, dan F4 berwarna coklat kehijauan dengan bau khas. Warna pada mikrokapsul yang mengandung ekstrak pegagan, meniran, dan kencur mempengaruhi hasil akhir setiap formula. Perbedaan warna antara F1 hingga F4 disebabkan oleh jumlah ekstrak dan homogenitas campuran, sehingga mempengaruhi bau khas yang dominan pada setiap formula sediaan.

4.5.2 Susut Pengerinan

Uji susut pengeringan dilakukan untuk mengetahui kandungan air yang tersisa dalam mikrokapsul yang diteliti setelah proses pengeringan, dengan tujuan menjaga mutu dan kualitas mikrokapsul. Pengukuran dilakukan tiga kali pengulangan sampai didapat hasil yang konstan.

Tabel 4. 5 Hasil Evaluasi Susut Pengeringan Sebelum Disalut

Formula	Susut pengeringan (%)			Mean $\pm$ SD	Keterangan
	I	II	III		
F0	1,41	1,13	1,15	1,23 $\pm$ 0,15	
F1	2,16	1,95	2,75	2,28 $\pm$ 0,41	
F2	1,92	1,9	1,99	1,93 $\pm$ 0,04	Syarat : 1-4% (Santoso et al., 2023)
F3	2,43	2,17	1,74	2,11 $\pm$ 0,34	

F4	1,36	1,35	1,69	1,46 ± 0,19
----	------	------	------	-------------

Hasil pengujian susut pengeringan sebelum disalut dapat dilihat pada Tabel 4.5. Hasil pengujian susut pengeringan sebelum disalut dari kelima formula menunjukkan nilai rata-rata F0 sebesar 1,23%; F1 sebesar 2,28%; F2 sebesar 1,93%; F3 sebesar 2,11%, dan F4 sebesar 1,46%. Sehingga hasil yang diperoleh memenuhi syarat %LOD yang baik, yaitu rentang 1-4%. Kemudian dilakukan analisis menggunakan metode ANOVA pada uji susut pengeringan, dan diperoleh signifikansi sebesar 0,03 ($p < 0,05$), yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara formula terhadap uji evaluasi. Oleh karena itu, lamanya proses pengeringan pada formula mikrokapsul mempengaruhi hasil uji evaluasi.

Tabel 4. 6 Hasil Evaluasi Susut Pengeringan Sesudah Disalut

Formula	Susut pengeringan (%)			Mean ± SD	Keterangan
	I	II	III		
F0	1,68	1,89	1,96	1,84 ± 0,14	Syarat : 1-4% (Santoso et al., 2023)
F1	1,78	1,81	1,91	1,83 ± 0,06	
F2	2,04	1,75	1,55	1,78 ± 0,24	
F3	1,99	1,85	1,84	1,89 ± 0,08	
F4	1,95	2,06	2,13	2,04 ± 0,09	

Sementara pengujian susut pengeringan sesudah disalut pada Tabel 4.6 kelima formula menghasilkan susut pengeringan F0, F1, F2, F3, dan F4 adalah sebesar 1,84%, 1,83%, 1,78%, 1,89%, dan 2,04%. Semua formula memenuhi syarat susut pengeringan yang baik yaitu 1-4%. Berdasarkan analisis statistik dengan Uji Kruskal Wallis, diperoleh nilai Asymp Sig. sebesar 0,255 yang lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$), maka tidak ada perbedaan signifikan antar formula setelah disalut. Mikrokapsul yang memiliki susut pengeringan kurang dari 5% akan stabil selama penyimpanan. Waktu pengeringan yang cukup lama mempengaruhi kadar. Karena semakin lama waktu pengeringan maka akan semakin kecil nilai susut pengeringan mikrokapsul yang dihasilkan (Sya'bania et al., 2021). Susut pengeringan pada mikrokapsul mempengaruhi stabilitas sediaan, kadar yang tinggi dapat memicu pertumbuhan mikroorganisme yang mengurangi stabilitas sediaan selama

penyimpanan (Rustiani & Hidayat, 2023). Susut pengeringan juga berkorelasi dengan laju alir, di mana kadar yang tinggi meningkatkan gaya kohesifitas antar partikel sehingga mengurangi kemampuan mikrokapsul untuk mengalir (Sya'bania et al., 2021).

4.5.3 Laju Alir

Pengujian laju alir dilakukan untuk menentukan waktu yang dibutuhkan dan mengukur kemudahan mikrokapsul dalam mengalir melalui alat flow tester. Data pada Tabel 4.7 menunjukkan nilai rata-rata dan standar deviasi laju alir dari kelima formula sebelum disalut. Terdapat faktor-faktor yang mempengaruhi kemudahan aliran mikrokapsul, meliputi ukuran dan bentuk partikel, luas permukaan, dan kerapatan partikel (Sya'bania et al., 2021).

Tabel 4. 7 Hasil Evaluasi Laju alir Sebelum Disalut

Formula	Laju alir (g/s)			Mean $\pm$ SD	Keterangan
	I	II	III		
F0	7,83	7,4	6,95	7,39 $\pm$ 0,44	Syarat : <10 g/s kategori Baik (Monica et al., 2023)
F1	7,35	8,03	7,94	7,77 $\pm$ 0,36	
F2	6,98	7,47	7,57	7,34 $\pm$ 0,31	
F3	7,27	8,27	6,2	7,24 $\pm$ 1,03	
F4	7,21	8,03	6,15	7,13 $\pm$ 0,94	

Hasil perhitungan bobot mikrokapsul dengan waktu alirnya menunjukkan rata-rata laju alir sebagai berikut: F0 sebesar 7,39 g/s; F1 sebesar 7,77 g/s; F2 sebesar 7,34 g/s; F3 sebesar 7,24 g/s; dan F4 sebesar 7,13 g/s. Kelima formula mikrokapsul sebelum penyalutan menunjukkan hasil laju alir kurang dari 10 g/s dan dinyatakan memenuhi syarat untuk kategori baik. Analisis statistik dilakukan menggunakan Uji Kruskal Wallis, dan diperoleh nilai Asymp Sig. sebesar 0,801 yang mana nilai tersebut lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan antara formula yang dibandingkan. Dan dari laju alir ini, dapat disimpulkan bahwa F1 adalah mikrokapsul terbaik karena memiliki nilai alir tertinggi. Semakin besar laju alir, maka semakin kecil sudut diam yang dihasilkan. Mikrokapsul yang telah dikeringkan dalam oven menjadi kering dan tidak lembab, karena mikrokapsul yang lembab memerlukan waktu lebih lama untuk mengalir.

Hal ini disebabkan oleh mikrokapsul lembab yang cenderung menggumpal dan menempel pada partikel lainnya (Sya'bania et al., 2021).

Sementara hasil pengujian laju alir mikrokapsul sesudah disalut dapat dilihat pada Tabel 4.8 dibawah.

Tabel 4. 8 Hasil Evaluasi Laju alir Sesudah Disalut

Formula	Laju alir (g/s)			Mean $\pm$ SD	Keterangan
	I	II	III		
F0	7,72	7,68	7,69	7,69 $\pm$ 0,02	Syarat : <10 g/s kategori Baik (Monica et al., 2023)
F1	7,86	8,29	8,19	8,11 $\pm$ 0,22	
F2	7,63	7,6	7,58	7,60 $\pm$ 0,02	
F3	7,68	7,99	7,98	7,88 $\pm$ 0,17	
F4	7,35	7,49	7,71	7,51 $\pm$ 0,18	

Hasil rata-rata nilai laju alir menunjukkan F0 yaitu 7,39 g/s; F1 sebesar 7,77 g/s; F2 sebesar 7,34 g/s; F3 sebesar 7,24 g/s; dan F4 sebesar 7,13 g/s. Dari hasil laju alir setelah penyalutan pada F0 hingga F4 memenuhi syarat karena masih masuk ke dalam kategori baik yang mudah mengalir. Dari analisis statistik menggunakan Uji Kruskal Wallis, diperoleh nilai Asymp Sig. sebesar 0,040 yang lebih kecil dari 0,05 ($p < 0,05$), menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara formula terhadap evaluasi laju alir setelah disalut.

4.5.4 Sudut Diam

Sudut diam adalah sudut maksimum yang dibentuk oleh permukaan mikrokapsul pada permukaan horizontal. Besar kecilnya sudut diam mikrokapsul mempengaruhi gaya tarik dan gaya gesek antar partikel. Bila gaya tarik dan gaya gesek kecil, mikrokapsul akan lebih cepat dan mudah mengalir (Sya'bania et al., 2021). Selain itu sudut diam juga dipengaruhi oleh ukuran partikel, semakin kecil ukuran partikel maka semakin tinggi kohesivitas partikel, yang dapat mengurangi kecepatan alir dan menyebabkan sudut diam menjadi besar (Elisabeth et al., 2018). Aliran mikrokapsul memburuk apabila lembab, sehingga sifat alirnya dapat diperbaiki melalui proses pengeringan (Sya'bania et al., 2021). Hasil sudut diam mikrokapsul dapat dilihat pada Tabel 4.9 menunjukkan rata-rata hasil, yaitu F0 27,79°; F1 26,94°; F2 26,32°; F3 27,76°; dan F4 27,40°. Hasil sudut diam ini

memenuhi persyaratan nilai 25-30° yang termasuk kategori baik. Dengan demikian, mikrokapsul mengalir dengan baik sehingga memudahkan mengalir dalam kemasan (Rustiani & Hidayat, 2023). Sementara analisis statistik One Way Anova, hasil data sudut diam menunjukkan bahwa nilai signifikansi 0,027, yang mana lebih kecil dari 0,05 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan signifikan yang mempengaruhi evaluasi sudut diam sebelum disalut.

Tabel 4. 9 Hasil Evaluasi Sudut diam Sebelum Disalut

Formula	Sudut diam (°)			Mean $\pm$ SD	Keterangan
	I	II	III		
F0	27,52	27,76	28,09	27,79 $\pm$ 0,28	Syarat : 25-30° kategori baik (Rahmawati et al., 2022)
F1	26,04	26,88	27,91	26,94 $\pm$ 0,93	
F2	26,52	26,15	26,31	26,32 $\pm$ 0,18	
F3	27,67	27,52	28,11	27,76 $\pm$ 0,30	
F4	27,04	27,96	27,22	27,40 $\pm$ 0,48	

Selanjutnya, evaluasi sudut diam sesudah disalut juga dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Hasil uji sudut diam mikrokapsul dapat dilihat pada Tabel 4.10. Hasil evaluasi sudut diam pada F0, F1, F2, F3, dan F4 juga memenuhi syarat karena tetap berada dalam kategori baik. Dari analisis statistik menggunakan Uji One Way ANOVA, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,000 yang lebih kecil dari 0,05 ($p < 0,05$), menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara formula terhadap evaluasi sudut diam setelah disalut.

Tabel 4. 10 Hasil Evaluasi Sudut diam Sesudah Disalut

Formula	Sudut diam (°)			Mean $\pm$ SD	Keterangan
	I	II	III		
F0	26,52	26,93	26,02	26,49 $\pm$ 0,45	Syarat : 25-30° kategori baik (Rahmawati et al., 2022)
F1	27,62	28,67	28,44	28,24 $\pm$ 0,55	
F2	27,37	26,71	27,62	27,23 $\pm$ 0,47	
F3	25,78	25,01	25,88	25,55 $\pm$ 0,47	
F4	26,74	27,19	26,82	26,91 $\pm$ 0,24	

4.5.5 Distribusi Ukuran Partikel

Tabel 4. 11 Hasil Evaluasi Distribusi ukuran partikel Sesudah Disalut

Mesh		Jumlah mikrokapsul (%)				
		F0	F1	F2	F3	F4
10	(1410-2000 μm)	0	0	0	0	0
14	(1190-1410 μm)	9,81	9,07	8,47	8,98	7,88
16	(850-1190 μm)	2,34	1,47	2,69	2,1	4,12
20	(426-850 μm)	37,09	41,62	41,74	40,76	44,69
40	(251-425 μm)	44,82	40,81	44,78	41,43	39,12
60	(181-250 μm)	5,91	7,01	2,28	6,71	4,16

Berdasarkan evaluasi distribusi ukuran partikel dari formula 0 hingga formula 4, diketahui bahwa kurang dari 50% mikrokapsul tertahan pada mesh 20, dengan jumlah mikrokapsul (%) yang lebih banyak. Hal ini disebabkan oleh penggunaan mesh 20 dalam proses ekstrusi, sehingga banyak partikel yang tertahan di mesh 20 dengan ukuran berkisar antara 426-850 μm . Selain itu, tidak ada partikel yang tersaring pada mesh 10 (1410-2000 μm), yang berarti semua formula telah memenuhi syarat (Santoso et al., 2019).

4.5.6 Kenaikan Bobot

Tabel 4. 12 Hasil Evaluasi Kenaikan bobot Setelah Disalut

Formula	Kenaikan Bobot (%)	Keterangan
0	1,57	Syarat : 7-12% (Santoso et al., 2022)
1	1,61	
2	1,49	
3	1,57	
4	1,48	

Berdasarkan hasil peningkatan bobot pada mikrokapsul yang telah disalut, semua formula tidak memenuhi syarat. Hal ini disebabkan oleh kehilangan bobot selama proses perputaran pan coating, penuangan sediaan, dan tekanan spray gun sehingga proses penyalutan menjadi kurang optimal.

4.5.7 Waktu Larut

Waktu larut adalah waktu yang dibutuhkan mikrokapsul untuk larut sepenuhnya dalam air. Kelarutan sangat dipengaruhi oleh bahan aktif dalam formula yang berasal dari tanaman, seperti ekstrak-ekstrak yang cenderung sukar larut dalam air. Waktu larut berkaitan dengan nilai porositas (rongga antar partikel),

semakin tinggi porositas maka semakin besar rongga antar partikel. Rongga-rongga ini membantu proses disintegrasi mikrokapsul, sehingga memungkinkan cairan masuk dan mempercepat proses hancurnya mikrokapsul. Hasil evaluasi waktu larut sesudah disalut yang dilakukan dengan tiga kali replikasi, dapat dilihat pada Tabel 4.13.

Tabel 4. 13 Hasil Evaluasi Waktu larut

Formula	Waktu larut (menit)			Mean $\pm$ SD	Keterangan
	I	II	III		
F0	2,14	2,19	2,23	2,18 $\pm$ 0,04	
F1	1,55	1,49	1,53	1,52 $\pm$ 0,03	Syarat : < 5 menit Mudah larut (Santoso et al., 2022)
F2	1,41	1,49	1,51	1,47 $\pm$ 0,05	
F3	1,27	1,34	1,29	1,3 $\pm$ 0,03	
F4	2,59	2,55	2,5	2,54 $\pm$ 0,04	

Hasil pengujian waktu larut sesudah disalut pada F0, F1, F2, F3, dan F4 diperoleh rata-rata waktu larut adalah kurang dari 5 menit. Artinya pada seluruh formula memenuhi persyaratan waktu larut yang baik untuk sediaan mikrokapsul. Berdasarkan analisis statistik, dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 yang lebih kecil dari 0,05 ($p < 0,05$), disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara formula terhadap evaluasi waktu melarut setelah disalut.

4.5.8 Volume Sedimentasi

Evaluasi volume sedimentasi pada Tabel 4.14 menunjukkan bahwa rata-rata nilai F pada kelima formula yaitu mendekati 1 atau tidak melebihi 1, sehingga semua formula memenuhi syarat yang ditetapkan.

Tabel 4. 14 Hasil Evaluasi Volume sedimentasi

Formula	Volume sedimentasi			Mean	Keterangan
	I	II	III		
F0	0,904	0,904	0,904	0,904	
F1	0,884	0,884	0,884	0,884	Syarat : F <1 (Santoso et al., 2022)
F2	0,892	0,892	0,892	0,892	
F3	0,888	0,888	0,888	0,888	
F4	0,872	0,872	0,872	0,872	

4.6 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan diuji secara kuantitatif dengan metode DPPH menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Metode ini didasarkan pada senyawa antioksidan yang mendonorkan elektron atau atom hidrogen (H) kepada DPPH sehingga terjadi perubahan dari bentuk radikal DPPH menjadi tereduksi. Aktivitas DPPH berkurang seiring peningkatan konsentrasi antioksidan karena lebih banyak atom hidrogen yang bereaksi dengan DPPH (Rahmah et al., 2023).

Tahapan pertama adalah mengukur panjang gelombang dari larutan baku DPPH yang telah dibuat. Dari hasil pengukuran diperoleh bahwa panjang gelombang maksimum dari larutan DPPH adalah 515 nm dengan puncak serapan maksimum sebesar 1,360. Oleh karena itu, pengukuran larutan uji dilakukan pada panjang gelombang 515 nm. Berdasarkan literatur, rentang panjang gelombang maksimum untuk DPPH adalah antara 515-520 nm (Pratama et al., 2023). Pengukuran pada panjang gelombang maksimum sangat penting untuk memaksimalkan sensitivitas dan mengurangi kemungkinan kesalahan, karena perubahan absorbansi terbesar terjadi pada panjang gelombang ini dengan setiap perubahan konsentrasi. Sementara inkubasi dilakukan selama 30 menit, karena reaksi berlangsung lambat dan ini adalah waktu optimal untuk memungkinkan sampel bereaksi dengan radikal bebas DPPH. Reaksi ini ditandai dengan perubahan warna dari ungu pekat menjadi kuning akibat gugus pikril (Rahmah et al., 2023). Adapun untuk mendapatkan spektrum yang baik pada spektrofotometer UV-Vis, konsentrasi yang digunakan harus diperhatikan.

Langkah berikutnya adalah mengukur absorbansi sampel pada setiap konsentrasi dan menghitung persentase inhibisi. Uji aktivitas antioksidan dilakukan pada ekstrak pegagan, ekstrak meniran, ekstrak kencur, serta sampel uji formula sediaan mikrokapsul F1, F2, F3, dan F4. Pengukuran dilakukan tiga kali dengan spektrofotometri UV-Vis.

Dari hasil tersebut, dibuat kurva kalibrasi yang menunjukkan hubungan antara sumbu x dan y, di mana sumbu x mewakili konsentrasi dan sumbu y menunjukkan nilai persentase inhibisi. Nilai R (koefisien korelasi) diperoleh sebagai indikator hubungan linier, dengan nilai yang mendekati 1 menunjukkan korelasi yang kuat.

Kemudian, persamaan regresi linier ditentukan dari hubungan antara konsentrasi sampel dan persentase inhibisi untuk menghitung nilai IC_{50} dari masing-masing sampel. Nilai IC_{50} menunjukkan konsentrasi senyawa yang mampu menghambat 50% aktivitas radikal bebas (Suhardiman et al., 2018).

Tabel 4. 15 Hasil Nilai IC_{50} dan Kategori Aktivitas Antioksidan

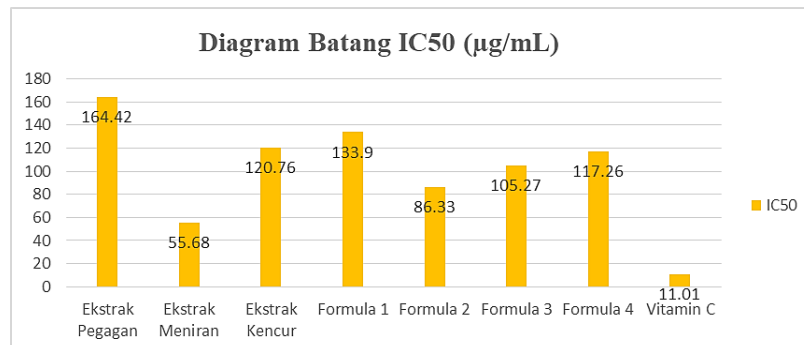
Sampel	$IC_{50} \pm SD$	Kategori
Vitamin C	$11,01 \pm 0,165$	Sangat Kuat
Ekstrak Pegagan	$164,42 \pm 0,479$	Lemah
Ekstrak Meniran	$55,68 \pm 0,463$	Kuat
Ekstrak Kencur	$120,76 \pm 0,591$	Sedang
Formula 1	$133,9 \pm 1,339$	Sedang
Formula 2	$86,33 \pm 1,308$	Kuat
Formula 3	$105,27 \pm 0,309$	Sedang
Formula 4	$117,26 \pm 1,080$	Sedang

Pada Tabel 4.15 menunjukkan hasil pengukuran %inhibisi terhadap konsentrasi ekstrak pegagan sehingga diperoleh nilai IC_{50} sebesar $164,42 \mu\text{g/mL}$ yang dikategorikan lemah. Aktivitas antioksidan dapat ditentukan dari nilai %inhibisi. Peningkatan persentase inhibisi dipengaruhi oleh penurunan nilai absorbansi yang dihasilkan oleh sampel. Penurunan nilai absorbansi disebabkan oleh tingginya konsentrasi sampel. Dengan demikian, semakin tinggi konsentrasi sampel, semakin rendah nilai absorbansinya, yang mengakibatkan persentase inhibisi semakin tinggi. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 4.15 yang menunjukkan bahwa %inhibisi terhadap konsentrasi ekstrak meniran menghasilkan IC_{50} sebesar $55,68 \mu\text{g/mL}$ yang dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan kuat karena berada dalam rentang 50-100 $\mu\text{g/mL}$. Sementara hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak kencur diperoleh nilai IC_{50} sebesar $120,76 \mu\text{g/mL}$, di mana nilai IC_{50} tersebut dikategorikan sedang namun masih memiliki aktivitas antioksidan.

Berdasarkan hasil pengukuran, menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan yang terdapat pada F1 diperoleh nilai IC_{50} sebesar $133,90 \mu\text{g/mL}$ yang termasuk kategori sedang. Disisi lain, memperlihatkan bahwa F2 mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih bagus dibandingkan formula lainnya dengan nilai IC_{50} $86,33 \mu\text{g/mL}$

sehingga memiliki antioksidan kuat. Aktivitas antioksidan F3 menghasilkan nilai IC_{50} 105,27 $\mu\text{g/mL}$, di mana nilai IC_{50} yang dihasilkan tidak jauh berbeda dengan F4 sehingga berada di rentang kategori antioksidan yang sedang. Dan F4 memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 117,26 $\mu\text{g/mL}$ yang tergolong dalam antioksidan sedang. Hasil pengukuran absorbansi sampel, %inhibisi, dan nilai IC_{50} pada ekstrak dan formula sediaan mikrokapsul dapat dilihat pada lampiran 8.

Dalam penelitian ini digunakan vitamin C sebagai pembanding kontrol positif, karena mempunyai kemampuan yang sangat baik dalam meredam radikal bebas. Karena sifatnya yang sangat polar, vitamin C memiliki efektivitas antioksidan sangat tinggi yang disebabkan oleh banyaknya gugus hidroksil. Vitamin C juga memiliki nilai potensial reduksi yang rendah, sehingga lebih mudah mereduksi radikal bebas (Budiana et al., 2022). Uji aktivitas antioksidan pada vitamin C menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 11,01 $\mu\text{g/mL}$ sehingga dapat dikatakan bahwa vitamin C termasuk kedalam kategori sangat kuat karena menunjukkan nilai IC_{50} <50 $\mu\text{g/mL}$.



Gambar 5 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan

Gambar diagram diatas menunjukkan perbandingan nilai IC_{50} pada hasil sampel ekstrak pegagan, ekstrak meniran, ekstrak kencur, F1, F2, F3, F4, dan pembandingnya yaitu vitamin C. Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan dapat diketahui bahwa aktivitas antioksidan dari setiap formula memiliki nilai IC_{50} yang berbeda-beda. Hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kestabilan senyawa antioksidan yang bisa terdegradasi oleh paparan udara, cahaya, suhu tinggi, dan proses pengeringan berpengaruh terhadap efektivitas antioksidan (Rahmah et al., 2023).