

FORMULASI DAN UJI ANTIOKSIDAN KRIM EKSTRAK ETANOL DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) MENGUNAKAN METODE DPPH

CREAM FORMULATION AND ANTIOXIDANT TESTS OF ETHANOL EXTRACTS OF BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) WITH DPPH METHOD

Besse Yuliana^{1*}, Tahirah Hasan², Ardiansyah Habar³, Abdul Wahid Suleman³

¹Prodi Profesi Apoteker, Fakultas Farmasi Universitas Megarezky Makassar

²Fakultas MIPA, Fakultas MIPA Universitas Islam Makassar

³Prodi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Megarezky Makassar

*Email Corresponding: yuliasarif@unimerz.ac.id

Submitted: 28 December 2022

Revised: 4 July 2023

Accepted: 4 August 2023

ABSTRAK

Daun belimbing wuluh mengandung senyawa flavonoid, dimana senyawa ini dapat berperan sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antioksidan adalah menangkap *Reactive Oxygen Species* secara langsung, menghambat regenerasi *Reactive Oxygen Species*, dan secara tidak langsung mampu meningkatkan aktivitas antioksidan enzim antioksidan seluler. Tujuan penelitian ini untuk memformulasi dan mengetahui persentase (%) antioksidan pada krim ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl) berdasarkan nilai IC₅₀, dan spektrofotometri UV-Vis serta sifat fisik dan kimia sediaan. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Hasil dari masing-masing formula dibuat dengan beberapa konsentrasi yaitu 2, 1,5, 1, 0,5, dan 0,25 ppm dan diuji aktivitas antioksidannya dengan mengukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515,10 nm. Untuk pengujian pembanding yaitu vitamin C dibuat dengan konsentrasi yang sama yaitu 2, 1,5, 1, 0,5, dan 0,25. Hasil penelitian menunjukkan pada formula I memiliki aktivitas nilai IC₅₀ 7,75 µg/mL, formula II memiliki aktivitas nilai IC₅₀ 7,09 µg/mL, dan formula III memiliki aktivitas nilai IC₅₀ 5,19 µg/mL, sedangkan vitamin C sebagai pembanding memiliki aktivitas nilai IC₅₀ 4,23 µg/mL. Aktivitas antioksidan dari semua sediaan memiliki sifat antioksidan yang sangat kuat karena <50 ppm.

Kata kunci : Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), DPPH, Antioksidan

ABSTRACT

Starfruit leaves contain flavonoid compounds, where these compounds can act as antioxidants in counteracting free radicals. The mechanism of action of flavonoids as antioxidants is to suppress the formation of *Reactive Oxygen Species* (ROS) by inhibiting enzymes in the formation of ROS and increasing regulation and protection of antioxidants. It can be used as a cream ingredient. The purpose of this study was to determine the percentage (%) of antioxidant content in the Ethanol Extract Cream Preparation of Belimbing Wuluh Leaves (*Averrhoa bilimbi* L.) using the DPPH method (2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl) based on IC₅₀ values, and UV-Vis spectrophotometry and properties. physical and chemical preparations. This research was conducted using the DPPH method (2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl). The results of each formula were made with several

concentrations, namely 2, 1.5, 1, 0.5, and 0.25 ppm and tested for antioxidant activity by measuring the absorbance using UV-Vis spectrophotometry at a wavelength of 515.10 nm. For comparative testing, vitamin C was made with the same concentration, namely 2, 1.5, 1, 0.5, and 0.25. The results showed that formula I had an IC_{50} value of 7.75 g/mL, formula II had an IC_{50} value of 7.09 g/mL, and formula III had an activity IC_{50} value of 5.19 g/mL, while vitamin C as a comparison had an IC_{50} value of 5.19 g/ml. activity IC_{50} value 4.23 g/ml. The antioxidant activity of all preparations has very strong antioxidant properties because it is <50 ppm.

Keywords: Belimbing Wuluh Leaf (*Averrhoa bilimbi* L.), DPPH, Antioxidant

PENDAHULUAN

Krim adalah salah satu sediaan setengah padat yang mengandung satu atau lebih bahan obat terlarut atau terdispersi dalam bahan dasar yang sesuai. Tipe krim dapat dibedakan menjadi dua tipe yaitu, yaitu krim tipe minyak dalam air (o/w) dan air dalam minyak (w/o). Pada krim tipe o/w (minyak dalam air) sifatnya mudah dicuci dengan air, daya menyebar, dan daya proteksi krim tipe minyak dalam air lebih baik daripada krim tipe air dalam minyak, sehingga dapat mendorong penyerapannya ke dalam jaringan kulit (Noviardi *et al.*, 2019). Pengembangan suatu sediaan berbasis tanaman obat telah lama dikembangkan. Saat ini penggunaan sediaan farmasi secara topikal banyak diformulasi dalam bentuk sediaan krim. Beberapa tanaman yang digunakan sebagai bahan baku sediaan krim yaitu daun belimbing wuluh yang diyakini mengandung antioksidan tinggi yang baik digunakan untuk kulit.

Daun belimbing wuluh dapat dijadikan obat tradisional karena mengandung senyawa aktif yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, juga memiliki kandungan flavonoid, saponin, tanin, sulfur, asam format, peroksidase, kalsium oksalat, kalium sitrat, vitamin C, vitamin E, dan betakaroten telah dilaporkan memiliki kemampuan sebagai pelindung terhadap sinar ultraviolet atau bersifat antioksidan (Noviardi *et al.*, 2019). Senyawa antioksidan merupakan suatu senyawa pemberi elektron, dapat meredam radikal bebas dan *Reactive Oxygen Species* (Widowati *et al.*, 2005). Untuk lebih memudahkan masyarakat dalam penggunaan daun belimbing wuluh, maka dibuat sediaan topikal yaitu krim. Tipe krim yang digunakan adalah tipe o/w (minyak dalam air) yang dibuat dengan cara mendispersikan minyak dan air. Belimbing wuluh memiliki aktivitas antioksidan, komponen eter dan air memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH dengan nilai IC_{50} adalah 50,36 ppm dan 44,01 ppm (Kuncahyo, 2007).

Pada krim tipe o/w (minyak dalam air) dapat dengan mudah dicuci dengan air, jika digunakan pada kulit, maka akan terjadi suatu penguapan dan peningkatan dari suatu obat yang larut dalam air sehingga dapat mendorong penyerapannya ke dalam jaringan kulit (Noviardi *et al.*, 2019). Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sifat antioksidan pada kulit jika digunakan. Pengembangan krim belimbing wuluh ini dimaksudkan dapat diabsorpsi dengan baik ke dalam kulit dan memberikan efek yang maksimal untuk perlindungan kulit (Tisnadiyah, 2017). Berdasarkan pertimbangan tersebut maka dilakukan penelitian dengan memformulasi sediaan krim ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebagai antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-Difenil-2-Picrylhydrazyl).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain timbangan analitik (Ohaus), toples kaca (DLX Glass Aihght Canister), labu ukur (Pyrex), beaker glass (Pyrex), gelas ukur (pyrex), blender spektrofotometri UV-Vis (EMC), blender (Cosmos), rotary evaporator (IKA RV 3 V), magnetic stirrer (Agitador Metanicho HS-1), waterbath, tabung reaksi (Pyrex). cawan porselin, pipet volume (Pyrex), pipet ukur (Pyrex), pro pipet (Glastirm), dan kuvet. Bahan yang digunakan adalah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), alkohol 96% (Pro Teknik), asam stearat, air suling, asam klorida pekat (HCl p.a), asam sulfat 2 N (H₂SO₄), besi III

klorida (FeCl_3), gliserin, metanol, magnesium, minyak mawar, natrium benzoat, pereaksi dragendorff, setil alkohol, TEA (Triethanolamine).

Prosedur Penelitian

1. Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh

Tahapan awal penelitian yaitu pengumpulan bahan. Daun belimbing wuluh yang sudah dipetik, disortasi basah (memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan yang tertempel di simplisia). Lalu dilakukan sortasi kering dengan cara daun dikeringkan dan memisahkan benda-benda asing yang masih ada seperti batu dan tanah kemudian diblender, dan serbuk dimaserasi dengan cara sampel daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang kering ditimbang sebanyak 500 gram. Sampel dimasukan kedalam bejana maserasi kemudian sampel direndam dengan pelarut etanol 96% sebanyak 2,5 liter selama 3 x 24 jam dengan mengganti pelarut tiap 24 jam dan disaring. Diuapkan ekstrak cair dengan alat *rotary evaporator* pada suhu 78°C dengan kecepatan 100 rpm. Hingga diperoleh ekstrak kental daun belimbing wuluh (Ibrahim *et al.*, 2014) dan dibuat formula krim.

Tabel I. Formulasi Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Bahan baku	Fungsi	Formula %			
		0	1	2	3
Ekstrak daun belimbing wuluh	Zat aktif	-	0,1	0,2	0,3
Asam stearat	Emulgator	14,5	14,5	14,5	14,5
Setil alkohol	Zat pengental	0,2	0,2	0,2	0,2
Triethanolamine	Pengemulsi	1,5	1,5	1,5	1,5
Gliserin	Pelembab	10	10	10	10
Natrium benzoate	Pengawet	0,1	0,1	0,1	0,1
Minyak mawar	Pengaroma	0,1	0,1	0,1	0,1
Air suling	Pelarut sampai	100	100	100	100

2. Pembuatan Sediaan Krim

Pembuatan sediaan krim ini berdasarkan penelitian terdahulu Tisnadiyah, R. E. (2017) dimana dibagi dua yakni fase minyak yang terdiri dari asam stearat dan setil alkohol serta fase air terdiri dari ekstrak, trietanolamin, gliserin, natrium benzoate, dan air suling, masing-masing dipanaskan pada suhu 60°C – 70°C sampai lebur. Kemudian fase air dicampurkan dengan fase minyak lalu dihomogenkan hingga terbentuk krim yang homogen. Sediaan krim ekstrak daun belimbing wuluh kemudian dilakukan uji skrining fitokimia untuk melihat jenis senyawa yang terkandung dalam daun belimbing wuluh yang meliputi uji kualitatif yakni uji alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, dan uji kuantitatif meliputi uji krim antioksidan dengan metode DPPH.

3. Uji Kualitatif

3.1 Alkaloid

Sebanyak 0,1 g ekstrak daun belimbing wuluh ditambahkan 3 tetes asam sulfat 2 N. Uji dengan pereaksi Dragendorff. Adanya endapan merah jingga yang terbentuk setelah ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff menunjukkan adanya alkaloid (Ibrahim *et al.*, 2014).

3.2 Tanin

Sebanyak 0,1 g ekstrak daun belimbing wuluh dilarutkan dengan aquadest 10 mL, Filtrat yang diperoleh ditambahkan reagen besi III klorida (FeCl_3) 5 mL. Warna biru tua atau hitam menunjukkan adanya tanin (Ibrahim *et al.*, 2014).

3.3 Flavonoid

Sebanyak 0,1 g ekstrak daun belimbing wuluh ditambahkan 0,2 g serbuk Mg, lalu ditambahkan 5 mL asam klorida pekat. Warna orange, merah, atau kuning menunjukkan yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid (Ibrahim *et al.*, 2014).

3.4 Saponin

Sebanyak 0,1 g ekstrak daun belimbing wuluh dilarutkan dengan aquadest 10 mL lalu dipanaskan. Larutan yang telah dipanaskan didinginkan kemudian dikocok. Timbulnya busa selama 30 detik pengocokan menunjukkan adanya saponin (Ibrahim *et al.*, 2014).

4. Uji Kuantitatif Aktivitas Krim Antioksidan dengan Metode DPPH

4.1 Pembuatan Larutan 2,2- diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)

Ditimbang serbuk DPPH sebanyak 2 mg, lalu dilarutkan menggunakan larutan metanol p.a kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL, homogenkan. Larutan disimpan pada suhu ruang (25-30°C) dan terlindung dari cahaya (Mutiar, 2018).

4.2 Pembuatan Larutan Blanko dan Optimasi Panjang Gelombang

Diambil sebanyak 1 mL larutan DPPH 0,2 mM dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambahkan metanol 9 mL lalu diamkan selama 30 menit pada suhu 37°C. Kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 516 nm (Mutiar, 2018).

4.3 Pembuatan Larutan Pembanding (Kontrol Positif) Vitamin C

Ditimbang vitamin C sebanyak 50 mg lalu dilarutkan dengan air bebas CO₂ sebanyak 10 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL menggunakan metanol pro analisis sebagai larutan induk. Kemudian dibuat seri pengenceran 0,25; 0,5; 1; 1,5; dan 2 dan diukur serapannya pada panjang gelombang 515,10 nm.

4.4 Pembuatan Larutan Uji Krim

Ditimbang sebanyak 50 mg krim, lalu dilarutkan dalam 50 mL methanol pro analisis (konsentrasi 100 ppm), larutan ini adalah larutan induk. Kemudian diencerkan beberapa konsentrasi (0,25; 0,5; 1; 1,5; dan 2). Dari beberapa seri konsentrasi tadi dipipet sebanyak 0,5 mL ke dalam vial dan ditambahkan larutan DPPH sebanyak 3,5 mL. Inkubasi selama 30 menit pada 37°C. Selanjutnya diukur menggunakan spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 515,10 nm.

4.5 Perhitungan nilai IC₅₀

Persentase inhibisi radikal DPPH dihitung dengan rumus :

$$\text{Persen inhibisi} = [\text{Ao-As}]/\text{Ao} \times 100\%$$

Dimana :

Ao : absorbansi blanko,

As : absorbansi mengandung sampel dan DPPH,

Nilai IC₅₀ merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji yang memberikan peredaman sebesar 50% (mampu menghambat atau meredam proses oksidasi sebesar 50%). Nilai IC₅₀ ditentukan dengan cara dibuat kurva linear antara konsentrasi larutan uji (sumbu x) dan % peredaman (sumbu y) dari persamaan $y = a + bx$ dapat dihitung nilai IC₅₀ dengan menggunakan rumus : $\text{IC}_{50} = (50-a)/b$

5. Evaluasi Sediaan Krim

5.1 Uji *Cycling test*

Uji *cycling test* dilakukan dengan cara menyimpan sediaan dari masing-masing formula yang ditempatkan dalam wadah gelas transparan. Sediaan disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam, kemudian dipindahkan ke dalam oven yang bersuhu 40°C selama 24 jam. Perlakuan ini adalah 1 siklus. Pengujian dilakukan sebanyak 6 siklus atau 12 hari dan diamati ada atau tidaknya perubahan yang terjadi pada masing-masing sediaan. Kondisi sediaan dibandingkan selama percobaan dengan kondisi sediaan sebelumnya (Sambodo, 2020).

5.2 Uji Organoleptis

Uji organoleptis dilakukan secara langsung, pengamatan yang dilakukan yaitu bentuk, warna, dan bau yang diberikan dari formula sediaan yang telah dibuat (Tisnadiyah, 2017).

5.3 Uji Homogenitas

Diambil 1 gram krim ekstrak daun belimbing wuluh pada bagian atas, tengah, dan bawah kemudian dioleskan pada sekeping kaca transparan. Diamati jika terjadi pemisahan fase (Tisnadiyah, 2017).

5.4 Uji pH

Sediaan krim diukur dengan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi dengan menggunakan larutan dapar pH 4 dan 7. Ditimbang sebanyak 1 gram krim dan diencerkan dengan 10 mL aquadest. Kemudian masukan pH meter yang bagian sensornya dan dibaca pH pada bagian monitor (Tisnadiyah, 2017).

5.5 Uji daya sebar

Dilakukan dengan menimbang 1 gram krim ekstrak daun belimbing wuluh, letakkan di atas preparat kaca transparan kemudian kaca yang satunya diletakkan di atas massa krim, letakkan juga pemberat 50 gram kemudian diamkan selama 1 menit. Selanjutnya ukur diameter penyebaran krim ekstrak daun belimbing wuluh pada preparat kaca.

5.6 Uji tipe krim

Uji tipe krim ini menggunakan metode pewarna. Krim dioleskan pada kaca objek, kemudian ditetesi dengan *metilen blue* dan amati perubahan yang terjadi dengan mikroskop. Jika *metilen blue* menyebar secara merata, maka tipe krim adalah M/A dan jika *metilen blue* terpisah, maka tipe krim adalah A/M (Tisnadiyah, 2017).

Analisis Data

Data yang didapatkan kemudian dianalisis nilai IC_{50} secara deskriptif untuk menentukan nilai IC_{50} yang paling kuat, sedang, ataupun lemah dari perbandingan antara ketiga formulasi sediaan krim ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak daun belimbing wuluh dapat dibuat dalam bentuk sediaan krim (Gambar 1). Sediaan krim lalu diuji stabilitas sebagaimana disajikan pada Tabel II:



Gambar 1. Sediaan krim ekstrak daun belimbing wuluh

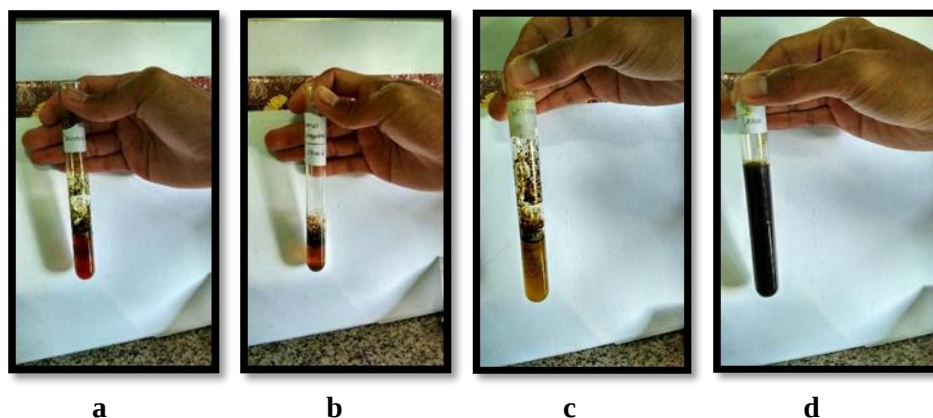
Daun belimbing wuluh dilakukan skrining fitokimia dengan beberapa senyawa yang terkandung pada daun ekstrak daun belimbing wuluh. Seperti pada tabel berikut :

Tabel II. Hasil skrining fitokimia

No	Kandungan kimia	Metode pengujian	Hasil	Keterangan
1	Flavonoid	HCl 5mL + Mg	Jingga	+
2	Alkaloid	H ₂ SO ₄ 2N + Dragendorff	Merah Jingga	+
3	Saponin	Aquades	Busa	+
4	Tanin	FeCl ₃ 5mL.	Hitam	+

Keterangan: (+) = Positif mengandung senyawa uji

Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan dimana ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) pada pengujian senyawa flavonoid positif karena terjadi perubahan pada warna yaitu menjadi jingga. Pada pengujian senyawa alkaloid menggunakan tabung reaksi pada pereaksi dragendorff hasil yang diperoleh terjadi perubahan warna menjadi jingga yang berarti positif. Pada senyawa tanin menggunakan tabung reaksi, positif karena terjadi perubahan warna hitam. Pada senyawa saponin menggunakan tabung reaksi, positif mengandung saponin dengan adanya busa.



Keterangan :
 a : Hasil skrining senyawa Flavonoid
 b : Hasil skrining senyawa Alkaloid
 c : Hasil skrining senyawa Saponin
 d : Hasil skrining senyawa Tanin

Hasil uji organoleptis menunjukkan krim formula I, II, dan III berwarna putih, semi padat, dan beraroma mawar. Hasil pengukuran pH sediaan krim menunjukkan pH 6 yang stabil setiap pengukuran selama 8 minggu menggunakan pH indikator. Nilai pH suatu krim harus berada pada rentang pH kulit, yaitu 4–6,5. pH tidak boleh terlalu asam karena akan mengiritasi kulit dan tidak boleh terlalu basa karena dapat menyebabkan kulit bersisik (Tambunan, 2012).

Tabel III. Hasil Pengamatan Uji Organoleptis

Formula	Tekstur		Warna		Aroma	
	Sebelum <i>Cycling test</i>	Setelah <i>Cycling test</i>	Sebelum <i>Cycling test</i>	Setelah <i>Cycling test</i>	Sebelum <i>Cycling test</i>	Setelah <i>Cycling test</i>
F1	Semi padat	Semi padat	Putih	Putih	bunga Mawar	bunga Mawar
F2	Semi padat	Semi padat	Putih	Putih	bunga Mawar	bunga Mawar
F3	Semi padat	Semi padat	Putih	Putih	bunga Mawar	bunga Mawar

Keterangan :

- F1 : Formulasi krim dengan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) 0,1%
 F2 : Formulasi krim dengan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) 0,2%
 F3 : Formulasi krim dengan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) 0,3%

Tabel IV. Hasil Pengamatan Homogenitas

Formula Krim	Pengamatan	
	Sebelum <i>Cycling test</i>	Setelah <i>Cycling test</i>
F1	Homogen	Homogen
F2	Homogen	Homogen
F3	Homogen	Homogen

Pada uji pH sediaan krim dimana sebelum dan sesudah *cycling test* berada pada rentang pH kulit yaitu antara 4–6,5 seperti yang tertera pada [Tabel V](#). pH sediaan tidak boleh terlalu asam karena dapat mengiritasi kulit dan tidak boleh terlalu basa karena bisa mengakibatkan bentuk kulit jadi bersisik ([Tambunan, 2012](#)).

Tabel V. Hasil Pengamatan Uji pH

Formula krim	Pengamatan pH		Signifikan
	Sebelum <i>Cycling test</i>	Setelah <i>Cycling test</i>	
F1	4,9	6,3	>0,05
F2	5,3	5,8	
F3	6,4	6,4	

Untuk daya sebar, sediaan diletakkan diatas kaca dengan ukuran 20-20 cm. Kemudian diukur daya sebar sediaan. Berdasarkan [Tabel VI](#) dimana hasil pengamatan daya sebar sediaan krim didapatkan bahwa F1 sebelum dilakukan *cycling test* memiliki daya sebar 6,8 cm dan setelah *cycling test* daya sebar menjadi 7. Pada F2 sebelum dilakukan *cycling test* memiliki daya sebar 5,6 cm dan setelah *cycling test* daya sebar menjadi 6,7 cm. Pada F3 sebelum dilakukan *cycling test* memiliki daya sebar 5,5 cm setelah *cycling test* daya sebar menjadi 6,4. Dari uji daya sebar F1, F2, dan F3 memenuhi persyaratan daya sebar sediaan krim yang baik yaitu 5–7 cm menurut [Pratasik et al \(2019\)](#). Dari data hasil evaluasi daya sebar sebelum dan sesudah *cycling test* mengalami kenaikan dan penurunan nilai daya sebar. Hal ini disebabkan karena adanya faktor suhu dan cahaya yang mempengaruhi suatu sediaan. Hasil pengamatan uji daya sebar stabil karena menunjukkan daya sebar yang baik pada sediaan krim berkisar antara 5–7 cm. Berdasarkan uji *Paired sample t-test* daya sebar memiliki nilai $p\ 0,115 > 0,05$, yang artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan daya sebar antara sebelum dan sesudah dilakukan *Cycling test*.

Tabel VI. Hasil Pengamatan Daya Sebar

Formula krim	Pengamatan Diameter (cm)		Signifikan
	Sebelum <i>Cycling test</i>	Setelah <i>Cycling test</i>	
F1	6,8	7	>0,05
F2	5,6	6,7	
F3	5,5	6,4	

Keterangan :

- F1 : Formulasi krim dengan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) 0,1%
- F2 : Formulasi krim dengan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) 0,2%
- F3 : Formulasi krim dengan konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) 0,3%

Pada uji antioksidan tahap awal yang dilakukan adalah pengukuran panjang gelombang maksimum. Panjang gelombang maksimum DPPH yang digunakan adalah 515,10 nm, dengan volume sampel yang digunakan 0,5 mL dan DPPH sebanyak 3,5 mL, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Tujuan dilakukan inkubasi selama 30 menit agar reaksi antara larutan dengan larutan DPPH berlangsung sempurna sebelum dilakukan

pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 515,10 nm.

Menurut Putri (2017), suatu senyawa dinyatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$, kuat jika nilai $IC_{50} 50 < 100 \mu\text{g/mL}$, sedang jika nilai $IC_{50} 100 < 150 \mu\text{g/mL}$, dan lemah jika nilai $IC_{50} 150 < 200 \mu\text{g/mL}$. Konsentrasi sampel yang digunakan adalah 0,25, 0,5, 1, 1,5, 2 $\mu\text{g/mL}$. Konsentrasi ini dipilih agar diketahui konsentrasi berapa sampel yang dapat menghambat 50 dari radikal DPPH atau biasa disebut nilai IC_{50} , dimana tujuan menghitung nilai IC_{50} yaitu untuk menentukan tingkat aktivitas antioksidan dari suatu sampel. Hasil yang diperoleh berdasarkan pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515,10 nm yaitu nilai IC_{50} vitamin C 4,23 $\mu\text{g/mL}$, hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada vitamin C merupakan antioksidan sangat kuat ($< 50 \mu\text{g/mL}$).

Pengujian absorbansi peredaman radikal bebas DPPH dilakukan pada sediaan krim ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dibuat dengan beberapa seri konsentrasi yakni 0,25; 0,5; 1; 1,5; dan 2, kemudian diukur dengan panjang gelombang 515,10 nm yang telah diperoleh sebelumnya. Hasil pengukuran berdasarkan UV-Vis diperoleh pada panjang gelombang 515,10 nm yaitu memiliki nilai pada formula I dengan nilai IC_{50} 7,75 $\mu\text{g/mL}$, pada formula II memiliki nilai IC_{50} 7,09 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan pada formula III memiliki nilai IC_{50} 5,19 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan krim ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) merupakan antioksidan sangat kuat ($< 50 \mu\text{g/mL}$). Sedangkan dilihat dari hasil uji SPSS pada formula I, II, dan III memiliki daya antioksidan sangat kuat tetapi dari ketiga formula daya antioksidan yang paling efektif yaitu pada formula 3 sesuai dengan nilai IC_{50} yang telah didapatkan.

Tabel VII. Hasil Pengukuran Absorbansi, Persen Inhibisi, dan IC_{50} Formula 1

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Blanko	Sampel dan DPPH	Persen inhibisi (%)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
1	0,25	0,4116	0,3994	2,96	7,75
2	0,5	0,4116	0,3827	7,02	
3	1	0,4116	0,3735	9,25	
4	1,5	0,4116	0,3599	12,55	
5	2	0,4116	0,3530	14,24	

Tabel VIII. Hasil Pengukuran Absorbansi, Persen Inhibisi dan IC_{50} Formula 2

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Blanko	Sampel dan DPPH	Persen inhibisi (%)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
1	0,25	0,4116	0,3758	8,70	7,09
2	0,5	0,4116	0,3658	11,12	
3	1	0,4116	0,3527	14,30	
4	1,5	0,4116	0,3410	17,14	
5	2	0,4116	0,3325	19,22	

Tabel IX. Hasil Pengukuran Absorbansi, Persen Inhibisi dan IC_{50} Formula 3

No	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Blanko	Sampel dan DPPH	Persen inhibisi (%)	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
1	0,25	0,4116	0,3532	14,19	5,16
2	0,5	0,4116	0,3468	15,73	
3	1	0,4116	0,3331	19,06	
4	1,5	0,4116	0,3209	22,04	
5	2	0,4116	0,2983	27,51	

Tabel X. Hasil Pengukuran Absorbansi, Persen Inhibisi dan IC₅₀ Vitamin C

No	Konsentrasi (µg/mL)	Blanko	Sampel dan DPPH	Persen inhibisi (%)	IC ₅₀ (µg/mL)
1	0,25	0,4116	0,3228	21,57	4,23
2	0,5	0,4116	0,3108	24,47	
3	1	0,4116	0,2969	27,87	
4	1,5	0,4116	0,2861	30,48	
5	2	0,4116	0,2698	34,44	

Tabel XI. Nilai IC₅₀ dari Masing-Masing Formula dan Vitamin C

Perlakuan	Nilai IC ₅₀ (µg/mL)	Kategori
Formula 1	7,75	Sangat Kuat
Formula 2	7,09	Sangat Kuat
Formula 3	5,16	Sangat Kuat
Vitamin C	4,23	Sangat Kuat

Keterangan :

Sifat antioksidan berdasarkan nilai IC₅₀

< 50 ppm : Sangat kuat

50 ppm- 100 ppm : Kuat

100 ppm – 150 ppm : Sedang

150 ppm – 200 ppm : Lemah

Tabel XII. Perbandingan Signifikan Perlakuan dengan Kontrol Positif

Perlakuan	Kontrol Positif	Formula 1	Formula 2	Formula 3
Kontrol Positif	-	0,001	0,008	0,140
Formula 1	0,001	-	0,355	0,040
Formula 2	0,008	0,355	-	0,327
Formula 3	0,140	0,040	0,327	-

KESIMPULAN

Sediaan krim ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) melalui hasil uji stabil secara fisik dan memiliki nilai IC₅₀ kurang dari 50 yaitu 5,19 µg/mL yang menandakan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dimana semakin kecil nilai IC₅₀ semakin tinggi aktivitas antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, B., & Ibrahim, S. 2018. Struktur, Bioaktivitas, dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, 6(1): 9.
- Ate, O. T. 2019. Analisis Kadar Total Flavonoid dan Fenolik dari Ekstrak Air Kombinasi Daun Papasan (*Coccinia Grandis* L) dan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L). 6.
- De Caro, C. A. 2017. UV/Vis Spektrofotometri-Fundamental dan Aplikasi. *Mettler-Toledo International*.
- Elmitra. 2017. Dasar-Dasar Farmasetika dan Sediaan Semi Solid. Deepublish : Yogyakarta.
- Giovedi, K. 2016. Penetapan Kadar Kapsaisin dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Toluena-Etil Asetat Buah Cabai Merah (*Capsicum Annum* L.) dengan Metode 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH). 53.
- Hasim, H., Arifin, Y. Y., Andrianto, D., & Faridah, D. N. 2019. Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) Sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 8(3): 86.

- Hasniar, H., Yusriadi, Y., & Khumaidi, A. 2015. Formulasi Krim Antioksidan Ekstrak Daun Kapas (*Gossypium* Sp.). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)* (E-Journal), 1(1): 9–15.
- Ibrahim, N., Yusriadi, & Ihwan. 2014. Uji Efek Antipiretik Kombinasi Ekstrak Etanol Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Burm.F. Nees.) dan Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Journal of Natural Science*, 3(3): 257–268, 12.
- Kasminah. 2016. Aktivitas Antioksidan Rumput Laut *Halymenia durvillaei* dengan Pelarut Non Polar, Polar, dan Semi Polar. Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga: Surabaya, 63.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., & Kurniadi, B. 2008. Buku Ajar Fitokimia.
- Kumoro, A. C. 2015. Teknologi Ekstraksi Senyawa Bahan Aktif dari Tanaman Obat. Yogyakarta: Plataxia.
- Kuncahyo, I. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*, L.) Terhadap 1,1-Diphenyl-2- Picrylhydrazyl (DPPH). 9.
- Leba, M. A. U. 2017. Buku Ajar Ekstraksi dan Real Kromatografi. Yogyakarta: Deepublish.
- Mailana, D., Nuryanti, & Harwoko. 2016. Formulasi Sediaan Krim Antioksidan Ekstrak Etanolik Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Acta Pharmaciae Indonesia*, 4(2): 7–15.
- Marjoni, Mhd. R. 2016. Dasar-Dasar Fitokimia. Cv. Trans Info Media: Jakarta Timur.
- Mutiara, A. U. 2018. Formulasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan Krim Minyak Atsiri Kulit Jeruk Manis (*Citrus aurantium Dulcis*) dengan Asam Stearat Sebagai Emulgator. UIN Syarif Hidayatullah: Jakarta.
- Noviardi, H., Ratnasari, D., & Fermadianto, M. 2019. Formulasi Sediaan Krim Tabir Surya dari Ekstrak Etanol Buah Bisbul (*Diospyros blancoi*). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 17(2): 262.
- Pratasik, M. C. M., Yamlean, P. V. Y., & Wiyono, W. I. 2019. Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Krim Ekstrak Etanol Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.). *Pharmacon*, 8(2): 261.
- Restika, E. 2017. Formulasi dan Penentuan Potensi Tabir Surya dari Krim Ekstrak Metanol Umbi Ubi Kelapa Ungu (*Dioscorea alata* Var *Purpurea*). UIN Alauddin Makassar: Makassar, 103.
- Salmia. 2016. Analisis Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kulit Batang Kedondong Bangkok (*Spondias dulcis*) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar: Makassar.
- Sambodo, D. K., & Yani, L. E. 2020. Formulasi dan Efektivitas Sampo Ekstrak Buah Pedada (*Sonneratia caseolaris* L) Sebagai Antiketombe Terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 2(1): 1–9.
- Santoso, U. 2017. Antioksidan Pangan. Gadjah Mada University Press: Yogyakarta.
- Sari, A. K., Ayuchecaria, N., Febrianti, D. R., Alfiannor, M. M., & Regitasari, V. 2019. Analisis Kuantitatif Kadar Flavonoid Ekstrak. Akademi Farmasi ISFI Banjarmasin: Banjarmasin, 12.
- Sayuti, N. A, & Suhendriyo, S. 2016. Formulasi *Hand & Body Lotion* Antioksidan Ekstrak Lulur Tradisional. *Interest: Jurnal Ilmu Kesehatan*, 5(2): 174–181.
- Sembiring, T., Dayana, I., & Rianna, M. 2017. Alat Penguji Material. Jakarta: Guepedia.
- Situmorang, N. B., & Marpaung, D. M. 2020. Efektivitas Formulasi Sediaan Sabun Mandi Padat Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) Sebagai Pelembab Kulit. 2, 6.
- Solichin, O. V., Pratiwi, L., & Wijianto, B. 2014. Uji Efektivitas Antioksidan Krim Ekstrak Etanol Biji Pepaya. 10.
- Tambunan, L. R. 2012. Uji Stabilitas Mikroemulsi Ekstrak Daun Seledri dan Mikroemulsi Ekstrak Daun Urang Aring dan Efektivitasnya terhadap Pertumbuhan Rambut Tikus

- Jantan *Sprague Dawley*. Depok Universitas Indonesia. *Skripsi*. Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Tisnadiyah, R. E. 2017. Formulasi Krim Ekstrak Daun Belimbing. Universitas Al-Ghifari: Bandung, 60.
- Wahyuni, D. K., Ekasari, W., Witono, J. R., & Purnobasuki, H. 2016. Toga Indonesia. Airlangga University Press: Surabaya.
- Warono, D., & Syamsudin. 2013. Unjuk Kerja Spektrofotometer Untuk Analisa Zat Aktif Ketoprofen. Universitas Muhammadiyah Jakarta, 2(2), 9.
- Widowati, W. 2005. Penapisan Aktivitas Superoksida Dismutase Pada Berbagai Tanaman. *JKM*. 5(1): 33-34.
- Wiley, J., & Sons. 2020. Spektrofotometer (*Uv-Visible*). *Compendium of Biomedical Instrumentation*, Volume 3, First Edition. Raghbir Singh Khandpur.
- Wulandari, M., Suhada, A., Pertiwi, A. D., & Utami, E. F. 2017. Formulasi Sediaan Gel *Hand Sanitizer* Ekstrak Etanol Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*. 6(2), 13.
- Yohed, I., & Kristianita, R. A. 2017. Pengaruh Jenis Pelarut dan Temperatur Terhadap Total Phenolic Content, Total Flavonoid Content, dan Aktivitas Antioksidan Di Ekstrak Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum*). Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya: Surabaya, 73.

