

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil Rendemen Ekstrak

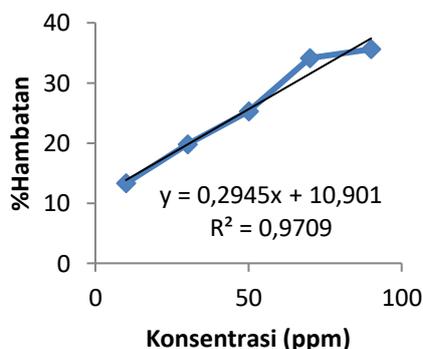
Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak

Sampel	Berat	Rendemen
Bobot Botol	161 gram	
Bobot Botol + Ekstrak Kental	174 gram	13%
Bobot Simplisia	100 gram	
Bobot Ekstrak kental	13 gram	

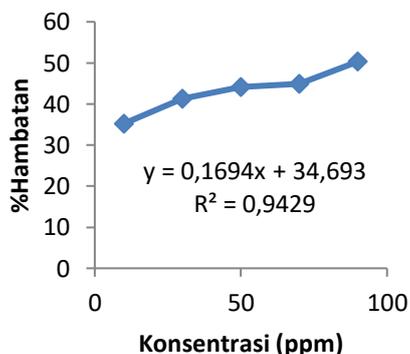
Hasil maserasi 100 gram daun belimbing wuluh yang telah kering dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 95% diperoleh ekstrak kering sebesar 13 gram dengan hasil rendemen 13%.

B. Hasil Uji Antioksidan Kombinasi Madu Lebah Kelulut dan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh dengan Metode DPPH

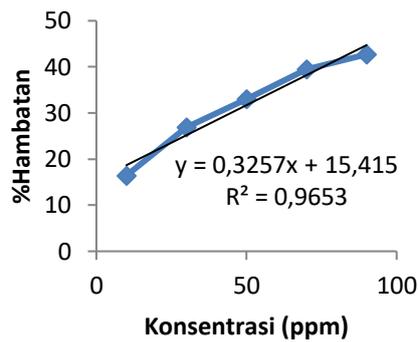
Pengukuran aktivitas antioksidan kombinasi madu lebah kelulut dan daun belimbing wuluh menggunakan perbandingan (1:0), (2:1), (1:1), (1:2), dan (0:1) sehingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi (10, 30, 50, 70, dan 90 ppm).



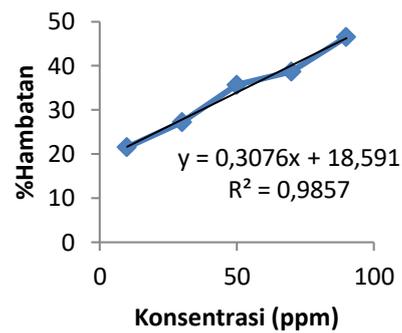
Gambar 4.1 Grafik Aktivitas Antioksidan Perbandingan 1:0 (Madu Lebah Kelulut 100%)



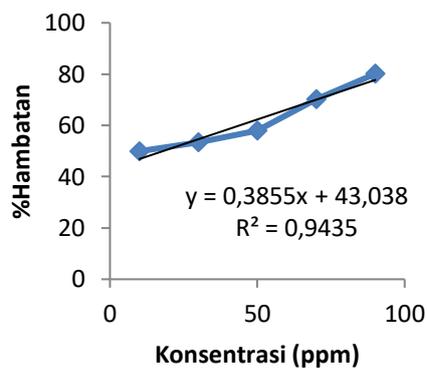
Gambar 4.2 Grafik Aktivitas Antioksidan Perbandingan 2:1 (Madu 50% : Ekstrak 25%)



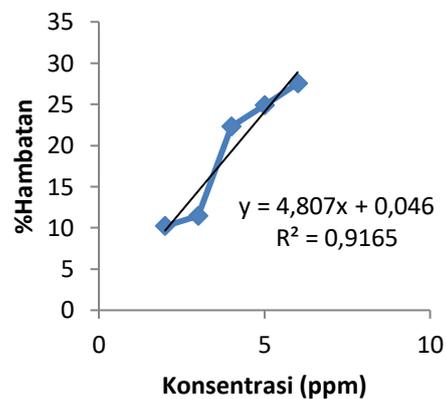
Gambar 4.3 Grafik Aktivitas Antioksidan Perbandingan 1:1 (Madu 50% : Ekstrak 50%)



Gambar 4.4 Grafik Aktivitas Antioksidan Perbandingan 1:2 (Madu 25% : Ekstrak 50%)



Gambar 4.5 Grafik Aktivitas Antioksidan Perbandingan 0:1 (Ekstrak 100%)



Gambar 4.6 Grafik Aktivitas Antioksidan Vitamin C

C. Hasil Evaluasi Ukuran dan Distribusi Partikel Nanoemulsi Madu Lebah Kelulut dan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh menggunakan *Particle Size Analyzer (PSA)*

Evaluasi ukuran dan distribusi partikel nanoemulsi madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh dilakukan di Laboratorium Fisika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta dengan menggunakan alat *Microtrac particle size analyzer (PSA)*.

Tabel 4.2 Hasil evaluasi ukuran partikel dan distribusi partikel

Ukuran partikel (nm)	Indeks Poli Dispersitas
10,85	0,765

D. Evaluasi Sediaan Nanogel Kombinasi Madu Lebah Kelulut dan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Dalam membuat formulasi sediaan dilakukan evaluasi stabilitas fisik sediaan yang berupa uji organoleptis, homogentias, pH, viskositas, daya sebar dan daya lekat. Hasil uji organoleptis nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh dapat dilihat pada Tabel 4.3.

1. Uji Organoleptis

Tabel 4.3 Hasil uji organoleptis nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh

Lama Penyimpanan	Organoleptis								
	Warna			Bau			Bentuk		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3	F1	F2	F3
0	KP	K	K	Kh	Kh	Kh	SK	SK	K
1	KP	K	K	Kh	Kh	Kh	SK	SK	K
2	KP	K	K	Kh	Kh	Kh	SK	SK	K
3	KP	K	K	Kh	Kh	Kh	SK	SK	K
4	KP	K	K	Kh	Kh	Kh	SK	SK	K

Keterangan :

F1 : Nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh 0,5%

F2 : Nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh 1,0%

F3 : Nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh 1,5%

KP : Kuning Pucat

K : Kuning

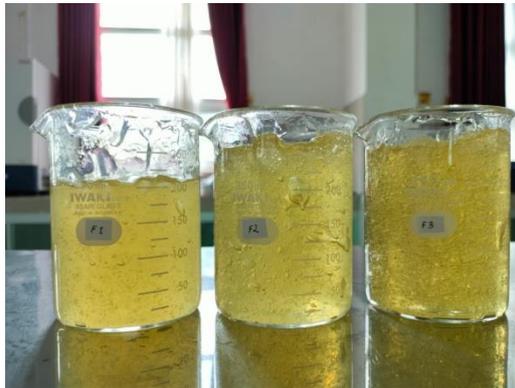
Kh : Khas

SK : Sedikit Kental

K : Kental

Dari tabel 4.3 didapatkan hasil ketiga formula sediaan nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh memiliki hasil yang berbeda-beda yang berbeda-beda dikarenakan

perbedaan konsentrasi. Hasil formula sediaan nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh dapat dilihat pada Gambar 4.7.



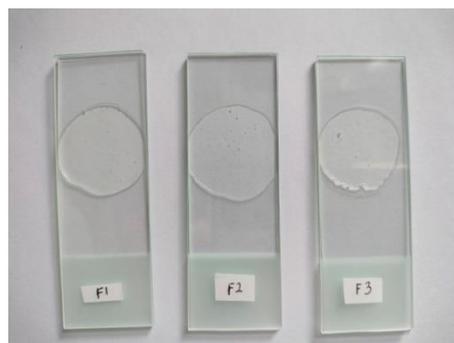
Gambar 4. 7 Sediaan Nanogel Madu Lebah Kelulut dan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

2. Uji Homogenitas

Hasil uji homogenitas sediaan nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh dapat dilihat dari Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil uji homogenitas nanogel

Lama Penyimpanan (minggu)	Homogenitas		
	F1	F2	F3
0	Homogen, tidak ada butiran kasar	Homogen, tidak ada butiran kasar	Homogen, tidak ada butiran kasar
1	Homogen, tidak ada butiran kasar	Homogen, tidak ada butiran kasar	Homogen, tidak ada butiran kasar
2	Homogen, tidak ada butiran kasar	Homogen, tidak ada butiran kasar	Homogen, tidak ada butiran kasar
3	Homogen, tidak ada butiran kasar	Homogen, tidak ada butiran kasar	Homogen, tidak ada butiran kasar
4	Homogen, tidak ada butiran kasar	Homogen, tidak ada butiran kasar	Homogen, tidak ada butiran kasar



Gambar 4.8 Uji homogenitas nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh

3. Uji pH

Pembuatan formulasi nanogel dilakukan pengukuran pH pada setiap formula. Hasil pengujian pH pada ketiga formula dapat dilihat pada Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil uji pH nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh

Lama Penyimpanan (minggu)	Nilai Rata-rata pH		
	F1	F2	F3
0	5 ± 0,00	6 ± 0,00	5 ± 0,00
1	5 ± 0,00	5 ± 0,00	5 ± 0,00
2	5 ± 0,00	6 ± 0,00	5 ± 0,00
3	5 ± 0,00	5 ± 0,00	5 ± 0,00
4	5 ± 0,00	5 ± 0,00	5 ± 0,00

4. Uji Viskositas

Hasil sediaan nanogel dilakukan pengujian viskositas dan didapatkan hasil data viskositas sediaan nanogel yang dapat dilihat pada Tabel 4.6

Tabel 4.6 Hasil nilai viskositas sediaan nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh

Lama Penyimpanan (minggu)	Nilai Viskositas (Cp)*		
	F1	F2	F3
0	7.638 ± 341,29	47.470 ± 595,70	148.266 ± 899,38

1	5.407 ± 262,80	42.413 ± 3830	144.933 ± 3094
2	5.893 ± 150,00	37.796 ± 1012,5	138.233 ± 11158,35
3	5.726 ± 207,403	35.890 ± 188,007	133.000 ± 1157,58
4	5.909 ± 55,874	32.793 ± 1994,9	129.066 ± 4437,96

*)Data disajikan sebagai rerata ± SD dari 3 replikasi

Keterangan :

F1 : Nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh 0,5%

F2 : Nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh 1,0%

F3 : Nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh 1,5%

5. Uji Daya Sebar

Hasil pengujian daya sebar nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh dapat dilihat pada Tabel 4.7

Tabel 4.7 Hasil uji daya sebar nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh

Lama Penyimpanan	Nilai Daya Sebar (cm)		
	F1	F2	F3
0	5,95 ± 0,308	5,85 ± 0,285	4,95 ± 0,147
1	6,05 ± 0,108	5,80 ± 0,036	4,96 ± 0,124
2	6,22 ± 0,061	6,01 ± 0,023	5,06 ± 0,084
3	6,32 ± 0,205	5,99 ± 0,136	5,25 ± 0,041
4	6,40 ± 0,016	6,17 ± 0,061	5,34 ± 0,075

6. Uji Daya Lekat

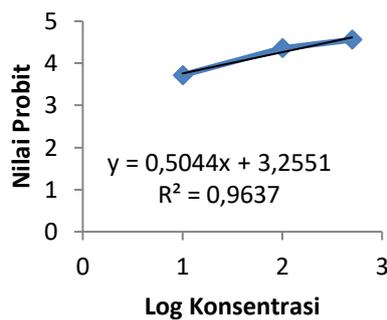
Hasil pengujian daya lekat nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh dapat dilihat pada Tabel 4.8

Tabel 4.8 Hasil uji daya lekat nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh

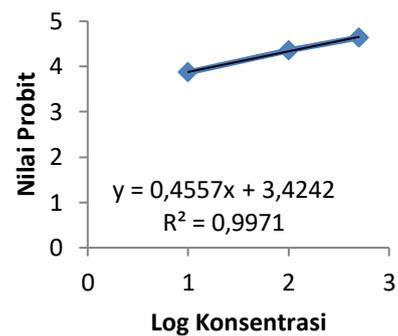
Lama Penyimpanan	Nilai Daya Lekat (Detik)		
	F1	F2	F3
0	1,16 ± 0,13	2,56 ± 0,28	5,48 ± 0,25
1	1,20 ± 0,012	3,17 ± 0,02	5,58 ± 0,08
2	2,12 ± 0,02	3,50 ± 0,02	5,43 ± 0,05
3	2,32 ± 0,017	3,40 ± 0,07	5,54 ± 0,07
4	2,47 ± 0,021	4,37 ± 0,14	5,41 ± 0,05

E. Hasil Uji Sitotoksik Nanogel Madu Lebah Kelulut dan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

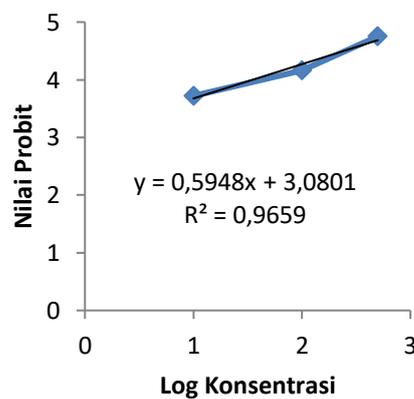
Setelah dilakukan formulasi sediaan nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh maka untuk mengetahui potensi nanogel bersifat toksik atau tidak maka perlu dilakukan pengujian toksisitas nanogel menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Hasil uji sitotoksik dapat dilihat dari tabel dibawah :



Gambar 4.9 Hasil LC_{50} Formulasi 1 nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh



Gambar 4.10 Hasil LC_{50} Formulasi 2 nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh



Gambar 4.11 Hasil LC_{50} Formulasi 3 nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh

F. Pembahasan

1. Pembahasan Hasil Rendemen Ekstrak

Penelitian ini menggunakan metode maserasi yang menggunakan pelarut etanol 95%. Etanol 95% lebih disukai karena dapat mengekstrak lebih banyak senyawa antioksidan daripada air dalam menghasilkan senyawa antioksidan (Basito, 2011). Proses ekstraksi dilakukan dengan merendam 100 gram serbuk halus daun belimbing wuluh dalam campuran 1000 mL etanol 95% selama 3 hari, melakukan 1 kali putaran pergantian pelarut untuk meningkatkan hasil senyawa dan rendemen, dan kemudian melakukan pengadukan sesekali. Tujuan pengadukan adalah untuk menciptakan konsentrasi senyawa aktif yang lebih merata didalam cairan dan juga mencapai keseimbangan yang cepat (Sari dkk., 2019). Lalu dilakukan pemekatan maserat menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C dengan kecepatan 200 rpm untuk menjaga kestabilan senyawa flavonoid. Pemekatan dilanjutkan dengan menggunakan waterbath dengan suhu 50°C hingga didapatkan ekstrak kental. Didapatkan hasil ekstrak kental pada penelitian sebanyak 13 gram. Hasil maserasi dikatakan baik apabila hasil rendemen >10% (Febriyanti, 2021), dalam hasil penelitian didapatkan hasil rendemen ekstrak sebesar 13% sehingga hasil tersebut memenuhi persyaratan standar.

2. Pembahasan Hasil Uji Antioksidan Kombinasi Madu Lebah Kelulut dan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh dengan Metode DPPH

Radikal bebas yaitu suatu molekul yang bersifat tidak stabil dikarenakan kehilangan elektron, sehingga cenderung akan bereaksi dengan mengikat suatu elektron dari molekul lain sehingga bersifat stabil. Antioksidan yaitu senyawa yang bersifat menghambat suatu reaksi oksidasi, dengan cara mengikat radikal bebas yang menyebabkan kerusakan sel akan dihambat (Febriyanti, 2021).

Salah satu sumber antioksidan alami yang dapat dimanfaatkan adalah madu lebah kelulut dan daun belimbing wuluh. Beberapa literatur menjelaskan bahwa dari kedua sumber antioksidan ini dapat menghambat radikal bebas. Sehingga untuk meningkatkan pemanfaatannya dilakukan penelitian yang bertujuan sebagai melihat hasil konsentrasi kombinasi madu lebah kelulut dan daun belimbing wuluh yang efektif sebagai antioksidan untuk formulasi nanogel dengan menggunakan pembanding yaitu vitamin C.

Metode perendaman radikal bebas DPPH digunakan untuk melakukan uji antioksidan. Metode ini dipilih karena mudah, cepat, dan membutuhkan sedikit sampel. Dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 517 nm, absorbansi ekstrak dan DPPH dapat dihitung. Nilai IC_{50} dalam pengujian antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan hasilnya. Nilai IC_{50} di bawah 50 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat, 50-100 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat, 100-150 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang sedang, 150-200 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang lemah, dan lebih dari 200 ppm menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat lemah. (Pramesti, 2013).

Pengukuran aktivitas antioksidan kombinasi madu lebah kelulut dan daun belimbing wuluh menggunakan 100 mg dari masing-masing sampel dilarutkan dengan methanol hingga membentuk larutan induk sebesar 10.000 ppm. Lalu kombinasi madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh dibuat perbandingan (1:0), (2:1), (1:1), (1:2), dan (0:1) sehingga diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi (10, 30, 50, 70, dan 90 ppm) (Wimpy, 2017). Pengukuran aktivitas antioksidan setiap konsentrasinya dipipet masing-masing volume yang dibutuhkan yaitu 0,01; 0,03; 0,05; 0,07; 0,09 mL. Ditambahkan methanol p.a sebanyak 10 mL. lalu ditambahkan larutan DPPH dengan dipipet

sebanyak 2 mL kedalam labu ukur masing-masing perbandingan. Dikocok campuran hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit di tempat gelap kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometri Uv-Vis.

Berdasarkan hasil uji antioksidan pada grafik kurva baku pada perbandingan 1:0 dilihat dari persamaan regresi linear madu lebah kelulut yaitu $y = 0,2945x + 10,901$ dan $R^2 = 0,9709$. Hasil nilai nilai IC_{50} sebesar 132,76 ppm yang artinya memiliki aktivitas antioksidan sedang. Dari hasil tersebut menunjukkan bahwa kemampuan menangkap radikal bebas sebesar 50% diperlukan kadar sampel sebesar 132,76 ppm. Pada perbandingan 2:1 diperoleh hasil nilai IC_{50} sebesar 90,36 ppm ppm yang menunjukkan bahwa kombinasi madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antioksidan kuat. Dilihat dari persamaan regresi linear madu lebah kelulut yaitu $y = 0,1694x + 34,693$ dan $R^2 = 0,9429$. Hasil nilai nilai IC_{50} sebesar 90,36 ppm menunjukkan bahwa kemampuan menangkap radikal bebas sebesar 50% diperlukan kadar sampel sebesar 90,36 ppm. Pada perbandingan 1:1 diperoleh hasil nilai IC_{50} sebesar 106,18 ppm yang menunjukkan bahwa kombinasi madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antioksidan sedang. Dilihat dari persamaan regresi linear madu lebah kelulut yaitu $y = 0,3257x + 15,415$ dan $R^2 = 0,9653$. Hasil nilai nilai IC_{50} sebesar 106,18 ppm menunjukkan bahwa kemampuan menangkap radikal bebas sebesar 50% diperlukan kadar sampel sebesar 106,18 ppm. Pada perbandingan 1:2 diperoleh hasil nilai IC_{50} sebesar 102,10 ppm yang menunjukkan bahwa kombinasi madu lebah kelulut dan madu lebah kelulut memiliki aktivitas antioksidan sedang. Dilihat dari persamaan regresi linear madu lebah kelulut yaitu $y = 0,3076x + 18,591$ dan $R^2 = 0,9857$. Hasil nilai nilai IC_{50} sebesar 102,10 ppm menunjukkan bahwa kemampuan menangkap radikal bebas

sebesar 50% diperlukan kadar sampel sebesar 102,10 ppm. Pada perbandingan 0:1 diperoleh hasil nilai IC_{50} sebesar 18,05 ppm yang menunjukkan bahwa kombinasi madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antioksidan sedang. Dilihat dari persamaan regresi linear madu lebah kelulut $y = 0.3855x + 43.038$ dan $R^2 = 0.9435$. Hasil nilai IC_{50} sebesar 18,05 ppm menunjukkan bahwa kemampuan menangkap radikal bebas sebesar 50% diperlukan kadar sampel sebesar 18,05 ppm.

Dari hasil uji antioksidan dengan kombinasi madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh, yang memiliki nilai IC_{50} tertinggi yaitu pada perbandingan 0:1 sebesar 18,05 ppm namun dari perbandingan 0:1 hanya menggunakan ekstrak daun belimbing wuluh dan tidak terdapat kombinasi madu, dikarenakan hasil uji antioksidan akan digunakan untuk melakukan formulasi sediaan nanogel dengan kombinasi madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh, maka dibutuhkan hasil nilai IC_{50} yang terbaik dari kombinasi madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh dan dapat dilihat dari perbandingan 1:1, 2:1, 1:2 yang memiliki nilai IC_{50} terbesar yaitu pada perbandingan 2:1 sebesar 90,36 ppm. Selanjutnya dapat dilakukan formulasi nanogel dengan menggunakan kombinasi madu lebah kelulut dan daun belimbing wuluh dengan perbandingan 2:1.

Pada uji antioksidan menggunakan uji DPPH menggunakan vitamin C sebagai pembanding, dikarenakan vitamin C merupakan senyawa antioksidan alami yang dapat digunakan sebagai pembanding dalam uji aktivitas antioksidan. Nilai IC_{50} dari vitamin C pada gambar 4.5 digunakan untuk membandingkan hasil nilai IC_{50} dari sampel kombinasi madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh. Didapatkan hasil nilai IC_{50} dari vitamin C sebesar 10,39 ppm dan dari hasil kurva baku pada vitamin C diperoleh hasil nilai persamaan regresi linear madu lebah kelulut $y = 4.807x + 0.046$ dan $R^2 = 0.9165$. Hasil nilai IC_{50} sebesar 10,39 ppm

menunjukkan bahwa kemampuan menangkap radikal bebas sebesar 50% diperlukan kadar vitamin C sebesar 10,39 ppm. Hasil nilai IC_{50} vitamin c menunjukkan bahwa vitamin c memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat.

3. Formulasi Sediaan Nanogel Madu Lebah Kelulut dan Ekstrak Belimbing Wuluh

Formulasi yang digunakan pada pembuatan nanogel sebagai bahan aktif yaitu madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh menggunakan perbandingan 2:1 dari hasil nilai IC_{50} antioksidan yang terbaik. Komponen lain yang digunakan dalam formulasi adalah Carbopol 940 sebagai *gelling agent*, Tween 80 sebagai pengemulsi, propilenglikol sebagai *humectant*, metil paraben dan propil paraben sebagai pengawet, TEA sebagai pembasa, dan aquadest sebagai pelarut.

Proses pembuatan nanogel biasanya terdiri dari tiga tahap. Pertama basis gel dibuat, kedua emulsi dibuat, dan ketiga basis gel dan emulsi dicampur untuk membentuk nanogel. Pada tahap pembuatan basis gel, Carbopol digunakan sebagai *gelling agent*. Aquadest panas dicampur di dalam mortar hingga terdispersi sempurna. Pada sediaan nanogel, metil paraben dan propil paraben ditambahkan sebagai pengawet. Kemudian dibuat emulsi yang terdiri dari fase minyak atau organik dan fase air. Madu lebah kelulut dan daun belimbing wuluh dalam fase organik dicampur dengan aquadest dan ditambahkan propilenglikol. Pada fase air, tween 80 dicampur dengan aquadest menggunakan magnetic stirrer selama 15 menit dengan suhu 35 °C dan 1000 rpm. Kemudian fase organik didispersikan ke dalam fase air dan ditambahkan TEA. Selama satu jam, pengadukan dilakukan dengan magnetic stirrer dengan suhu 35 °C dan kecepatan 1000 rpm hingga terbentuk emulsi. Untuk mengetahui apakah emulsi memiliki ukuran nano, emulsi yang terbentuk dari penggabungan fase organik dan fase air diuji dengan Particle Size Analyzer

(PSA). Setelah hasil uji PSA yang baik, nanoemulsi didistribusikan kembali ke dalam basis gel hingga menjadi nanogel. (Harahap, 2021).

Pengujian ukuran partikel dilakukan dengan alat *Size Analyzer* (PSA) dengan tipe *Microtrac*. Dalam pembentukan nanoemulsi dapat mengatasi bioavailabilitas suatu sediaan dapat dilakukan dengan meningkatkan efektifitas penetrasi zat aktif pada sistem penghantaran obat secara topikal sehingga terjadi penyerapan obat secara efisien (Zulfa dkk., 2019). Dengan standar karakteristik ukuran partikel berkisar antara 10-200 nm, nanoemulsi memiliki keunggulan dalam kestabilan kinetik karena memiliki ukuran partikel yang jauh lebih kecil dibandingkan emulsi konvensional. Selama pengujian partikel nanoemulsi, indeks poli dispersitas juga diukur. Persyaratan standar untuk indeks poli dispersitas tidak lebih dari 0,5 menunjukkan distribusi ukuran partikel yang seragam, semakin mendekati angka 0 menunjukkan distribusi ukuran partikel yang semakin homogen, dan menunjukkan formula nanoemulsi yang stabil. (Purwandari dkk., 2020).

4. Hasil Evaluasi Ukuran dan Distribusi Partikel Nanoemulsi Madu Lebah Kelulut dan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA)

Pengujian ukuran partikel dilakukan dengan alat *Size Analyzer* (PSA) dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 mL sampel dan dimasukkan kedalam kuvet. Setelah kuvet dimasukkan ke dalam holder, instrumen dievaluasi. Alat PSA bekerja dengan menghambat cahaya sinar laser pada partikel sampel yang dideteksi oleh detektor foton pada sudut tertentu secara cepat. Ini memungkinkan mereka untuk mengukur ukuran partikel dalam sampel atau sediaan. Nilai Indeks Polidispersitas (PI) selain ukuran partikel menunjukkan keseragaman dan kestabilan ukuran partikel nanoemulsi (Zulfa dkk., 20019).

Menurut hasil evaluasi ukuran partikel menggunakan PSA, nanogel yang mengandung komponen aktif madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh menghasilkan ukuran partikel 10,85 nm dan indeks polidispersitas 0,765 seperti yang ditunjukkan pada tabel 4.3. Baik ukuran partikel maupun distribusi partikel tetap memenuhi persyaratan standar yang berkisar antara 10-200 nm. Hasilnya menunjukkan bahwa nanoemulsi yang dibuat memiliki kualitas yang baik, sehingga pembuatan sediaan nanogel dapat dilanjutkan.

5. Evaluasi Sediaan Nanogel Kombinasi Madu Lebah Kelulut dan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Salah satu parameter penting dalam pembuatan sediaan farmasi yang berkualitas tinggi adalah evaluasi stabilitas fisik sediaan. Stabilitas fisik sediaan nanogel ditandai dengan tidak adanya penggabungan fase dalam, tidak adanya creaming, dan penampilan yang menarik. Stabilitas fisik juga merupakan faktor penting dalam pertimbangan industri farmasi dan kosmetika (Ariani & Wulandari, 2021).

a. Uji Organoleptis

Uji organoleptis dengan nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh dilakukan untuk mengamati warna, bau, dan bentuk sediaan. Uji dilakukan dengan memanfaatkan indera penglihatan untuk melihat warna, indera penciuman untuk melihat bau, dan indera peraba untuk melihat bentuk (Shanti, 2019).

Tabel 4.4 menunjukkan hasil pengujian organoleptis dari tiga formula sediaan nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh yang memiliki intensitas yang berbeda. Sediaan nanogel formula 1 dengan konsentrasi basis gel 0,5%, formula 2 dengan konsentrasi basis gel 1,5%, dan formula 3 memiliki warna kuning. Gambar 4.7 dan Lampiran 12 menunjukkan warna ketiga formula sediaan nanogel madu

lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh yang konsisten, karena warna tidak berubah dari minggu pertama penyimpanan hingga minggu keempat.

Sebagai hasil dari pengamatan yang dilakukan dari minggu 0 hingga 4, sediaan yang dibuat dari ketiga formula memiliki bau yang hampir sama, mirip dengan aroma ekstrak daun belimbing wuluh dan madu lebah kelulut. Dalam hal bentuk, data menunjukkan bahwa formula 1 dan 2 memiliki konsistensi gel yang kental, ringan, dan transparan, sedangkan formula 3 memiliki konsistensi gel yang sangat kental, ringan dan transparan. Sediaan nanogel yang telah dibuat meresap dengan cepat ketika diterapkan pada kulit. Perbedaan konsistensi antara ketiga formulasi dari minggu 0 hingga 4 penyimpanan tetap sama dan tidak berubah.

b. Uji Homogenitas

Pengujian homogenitas dilakukan untuk mengetahui apakah sediaan dibuat homogen, karena sediaan topikal harus homogen dan bebas dari partikel yang masih menggumpal serta tidak terlalu kasar (Kindangen dkk., 2018). Menurut hasil pengujian yang ditunjukkan pada tabel 4.5, sediaan dari minggu 0 hingga 4 bersifat homogen dan tidak mengandung butiran kasar. Namun, gelembung yang dihasilkan selama proses pembuatan dengan stirrer, serta dampak penggunaan Carbopol, menunjukkan peningkatan konsentrasi gelembung (Hidayanti dkk., 2015). Dalam formula 1, dengan konsentrasi Carbopol 0,5%, tidak ada gelembung. Namun, dalam formula 2, terdapat gelembung. Hasil uji homogenitas nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh ditunjukkan pada Gambar 4.8.

c. Uji pH

Untuk membuat formulasi nanogel, pengukuran pH dilakukan untuk memastikan seberapa asam sediaan nanogel

ketika diterapkan pada kulit. Jika pH sediaan nanogel terlalu asam, maka akan menyebabkan iritasi, dan jika terlalu basa, maka akan menyebabkan kulit bersisik. Oleh karena itu, pH sediaan topikal harus disesuaikan dengan pH kulit manusia, yang sekitar 4,5-6,5 (Erwiyani, 2020). Selain itu, pengukuran pH ini dilakukan untuk mengetahui nilai pH masing-masing formula.

Menurut hasil pengujian yang ditunjukkan pada tabel 4.6, pH ketiga formulasi nanogel memiliki pH yang berada dalam kisaran ideal untuk pH kulit, yang berkisar antara 4,5 dan 6,5. Ini menunjukkan bahwa ketiga formulasi memenuhi persyaratan sediaan topikal yang ideal, sesuai dengan Ariani & Wulandari (2021) yang menyatakan bahwa, hal ini sesuai dengan literatur yang dikemukakan oleh Ariani & Wulandari (2021), bahwa pH kulit berkisar antara 4,5-6,5. Jika pH sediaan nanogel dengan pH kurang dari 4 akan mengiritasi kulit, sedangkan nanogel dengan pH lebih dari 8 akan menyebabkan kulit menjadi bersisik (Ariani & Wulandari, 2021). Dilihat dari hasil nilai SD tiap formulasi sediaan nanogel memiliki SD paling seragam yang dapat diartikan bahwa data replikasi semakin homogen atau mendekati rata-rata. Sehingga dapat disimpulkan, pH sediaan dari ketiga formulasi memenuhi persyaratan yang baik pada pengujian pH.

Hasil uji pH untuk ketiga formulasi nanogel berbeda. Ini mungkin karena konsentrasi Carbopol yang berbeda di tiap formulasi. Studi Hidayanti (2018) menemukan bahwa konsentrasi Carbopol yang digunakan dapat memengaruhi pH sediaan topikal. Dengan konsentrasi Carbopol yang lebih tinggi, pH sediaan yang dihasilkan lebih tinggi. Jadi, pada penelitian ini, nilai pH sediaan nanogel yang dibuat dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi basis gel.

d. Uji Viskositas

Pengujian viskositas dilakukan untuk mengetahui tingkat kekentalan suatu zat. Viskositas merupakan tahanan cairan untuk mengalir, semakin tinggi viskositas yang dihasilkan suatu zat, maka semakin besar pula tahanannya (Mursal dkk., 2019). Nilai viskositas sediaan semisolid adalah 2.000-50.000 cP, menurut SNI 16-4399-1996. Pengujian ini dilakukan menggunakan Viskometer Anton Paar ViscoQC 100 dengan spindel nomor 6. Hasil uji viskositas diwakili dalam centipoise (cp).

Berdasarkan hasil uji viskositas pada tabel 4.7 menunjukkan bahwa formula 3 memiliki viskositas yang tinggi dengan konsentrasi Carbopol 2,0% dan paling rendah pada formula 1 dengan konsentrasi Carbopol 1,0%. Dikarenakan viskositas sediaan nanogel pada formula 3 lebih dari 50.000 cP sehingga formula 3 tidak memenuhi persyaratan viskositas sediaan semisolid. Hal tersebut diakibatkan penambahan Carbopol yang menyebabkan meningkatkan viskositas sediaan nanogel karena berat molekul polimer yang besar. Semakin tinggi konsentrasi Carbopol yang digunakan maka semakin tinggi pula nilai viskositas yang akan dihasilkan (Mursal dkk., 2019). Viskositas sediaan nanogel pada formula 1 dan formula 2 menunjukkan hasil yang sesuai persyaratan, karena hasil nilai viskositas dari kedua formulasi memasuki persyaratan sediaan semisolid yaitu 2.000 – 50.000 cP.

e. Uji Daya Sebar

Sediaan nanogel harus memiliki daya sebar yang baik. Daya sebar yang memenuhi syarat adalah 5-7 cm, yang menunjukkan konsistensi semisolid yang sangat nyaman untuk digunakan. Kemampuan sediaan untuk menyebar secara merata di permukaan kulit ketika dioleskan dinilai melalui uji daya sebar (Kindangen dkk., 2018).

Hasil uji daya sebar sediaan nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh, yang dapat dilihat pada tabel 4.8, menunjukkan bahwa ketiga sediaan nanogel memiliki daya sebar yang memenuhi persyaratan daya sebar yang baik, yaitu 5-7 cm, dan menunjukkan efektivitas kenyamanan sediaan saat digunakan secara langsung. Nilai daya sebar yang lebih tinggi menunjukkan kemampuan untuk menyebarkan dan melepaskan zat aktif (Kindangen dkk., 2018). Namun, daya sebar formula 3 pada minggu 0 dan 1 kurang dari 5 cm, menunjukkan penurunan daya sebar setiap kali menambah konsentrasi Carbopol. Ini sesuai dengan teori bahwa, viskositas berbanding terbalik dengan daya sebar namun berbanding lurus dengan daya lekat. Semakin tinggi nilai viskositas, maka daya sebar akan semakin berkurang (Ariani & Wulandari, 2021).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daya sebar sediaan dipengaruhi oleh konsentrasi Carbopol dalam basis gel. Formula 1 dengan konsentrasi Carbopol 0,5% dan formula 2 dengan konsentrasi Carbopol 1,5% memiliki tingkat penyebaran terbaik dari minggu 0 hingga 4. Erwiyani (2020) menyatakan bahwa semakin besar daya sebar yang dihasilkan, semakin luas kemampuan zat aktif untuk menyebar dan bersentuhan dengan kulit. Sebaliknya, Iriani (2022) menyatakan bahwa jika daya sebar terlalu kecil, penyebaran zat aktif akan lebih sulit saat diterapkan pada kulit.

f. Uji Daya Lekat

Tujuan pengujian daya lekat adalah untuk mengetahui berapa lama nanogel perlu melekat pada kulit agar dapat berfungsi dengan baik dalam penghantaran obat. Namun, daya lekat sediaan semi solid harus lebih dari satu detik, meskipun tidak ada persyaratan khusus untuk pengujian ini (Kindangen dkk., 2018). Tabel 4.9 menunjukkan hasil uji daya lekat nanogel

madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh yang menunjukkan bahwa formula 1, 2 dan 3 memenuhi persyaratan karena hasil daya lekat mencapai lebih dari 1 detik. Menurut teori, daya lekat sediaan topikal berkorelasi positif dengan nilai viskositasnya (Ariani & Wulandari, 2021). Kemudian, semakin lama gel melekat pada permukaan kulit, maka gel akan memberikan efek terapeutik yang lebih panjang, sehingga memungkinkan penyerapan obat yang lebih besar melalui kulit dan memberikan pengobatan yang optimal (Kindangen dkk., 2018).

6. Hasil Uji Sitotoksik Nanogel Madu Lebah Kelulut dan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

Setelah formulasi sediaan nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh selesai, perlu dilakukan pengujian toksisitas nanogel menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Metode BSLT adalah salah satu metode yang paling umum digunakan untuk mengetahui suatu senyawa biokatif yang bersifat toksik dari bahan alam. Menurut metode BSLT, suatu senyawa dianggap toksik jika harga *Lethal Concentration* (LC) $50 < 1000 \mu\text{g/ml}$ (Marliza dkk., 2021). Uji sitotoksik nanogel dilakukan dengan menggunakan 4 taraf perlakuan dan diulang 3 kali, sehingga total unit perlakuan adalah 12. Setiap unit percobaan diberikan hasil formulasi nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh 0, 10, 100, dan 500 ppm (Potu dkk., 2021). Penggunaan konsentrasi 10 ppm, 100 ppm, dan 500 ppm pada uji sitotoksik dimaksudkan untuk mengevaluasi variasi dalam respons. Sementara itu, juga dilakukan 3 kali pengulangan dengan konsentrasi 0 ppm atau kontrol negatif. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa respons kematian larva uji benar-benar berasal dari sampel dan bukan disebabkan oleh pelarut yang digunakan. Uji sitotoksik dibiarkan selama 24 jam. Setelah itu, jumlah larva hidup dan mati untuk setiap vial dihitung (Marliza dkk., 2021).

Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa formula 1 menghasilkan data perhitungan persamaan regresi linier hubungan antara X (log konsentrasi) dan Y (nilai probit dari persentase kematian) bahwa formulasi 1 nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh tidak bersifat toksik, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.9, dengan nilai LC_{50} 2879,769 > 1000 $\mu\text{g/ml}$. Formula 2 menghasilkan hasil data untuk perhitungan persamaan regresi linier hubungan antara X (log konsentrasi) dan Y (nilai probit persentase kematian) bahwa formulasi 2 nanogel ekstrak belimbing wuluh dan madu lebah kelulut tidak bersifat toksik, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.10, di mana nilai $Y = 0,4557x + 3,4242$ dan nilai LC_{50} adalah 2870,627 > 1000 $\mu\text{g/ml}$. Formula 3 menghasilkan hasil data untuk perhitungan persamaan regresi linier hubungan antara X (log konsentrasi) dan Y (nilai probit persentase kematian), bahwa formulasi 3 nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh tidak bersifat toksik, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.11, di mana nilai $Y = 0,5948x + 3,0801$, dan nilai LC_{50} adalah 1689,692 di atas 1000 $\mu\text{g/ml}$.

Dilihat dari hasil rata-rata mortalitas tertinggi ditunjukkan pada perlakuan nanogel dengan konsentrasi 500 ppm. Sedangkan perlakuan konsentrasi ekstrak 10 ppm menghasilkan rata rata mortalitas terendah. Namun, rata rata mortalitas konsentrasi tidak berbeda secara signifikan. Nanogel dari madu lebah kelulut dan ekstrak daun belimbing wuluh tidak toksik, jadi dapat digunakan sebagai kosmetik. Selain itu, dilakukan analisis statistik menggunakan program *IBM SPSS 22* dan uji normalitas *kolmogorov-smirnov*. Hasil p-value sebesar 0,200 menunjukkan bahwa data mortalitas ketiga formulasi nanogel madu lebah kelulut dan ekstrak belimbing wuluh terdistribusi normal karena p-value >0,05.

G. Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa keterbatasan penelitian, dan keterbatasan tersebut memengaruhi hasil penelitian. Keterbatasan yang ada dalam penelitian ini yaitu:

1. Sebaiknya penelitian terbaru dapat menggunakan konsentrasi dan formulasi yang berbeda dari penelitian ini untuk menentukan perbandingan sediaan formulasi mana yang lebih baik.
2. Perlu dilakukan evaluasi penyimpanan sediaan gel selama sekurang-kurangnya dua belas minggu untuk mengetahui stabilitas sediaan nanogel secara berkala.