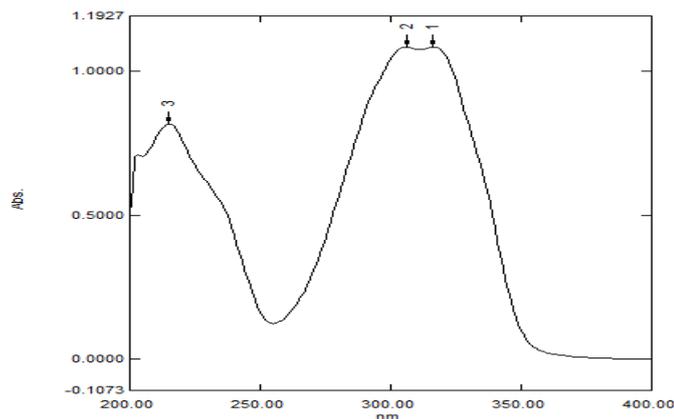


BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

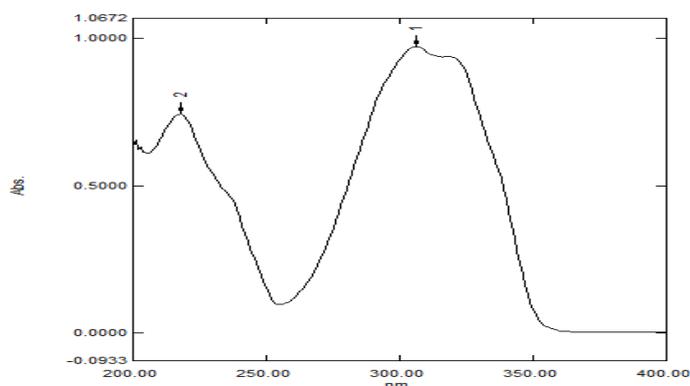
A. Verifikasi Metode Analisis

1. Hasil kurva kalibrasi resveratrol dapar posfat dan metanol

Hasil pengukuran kurva kalibrasi resveratrol dibuat dengan pelarut dapar fosfat *pH* 7,4 dan metanol. Penentuan kurva kalibrasi dengan pelarut dapar fosfat *pH* 7,4 dilakukan dalam pengujian pelepasan obat dan pelarut metanol dilakukan dalam pengujian efisiensi penyerapan dan uji aktivitas antioksidan. Penentuan panjang gelombang maksimum pada pelarut dapar fosfat *pH* 7,4 diperoleh pada panjang gelombang maksimal dihasilkan 316 nm dengan serapan 1,083, sedangkan dengan pelarut metanol dihasilkan 306 nm dengan serapan 0,9705.



Gambar 9. Hasil panjang gelombang maksimum resveratrol pelarut dapar posfat *pH* 7,4



Gambar 10. Hasil panjang gelombang maksimum resveratrol pelarut metanol

Hasil panjang gelombang maksimum resveratrol dengan pelarut dapar posfat dan metanol, panjang gelombang maksimum pada resveratrol pelarut dapar posfat pH 7,4 penelitian ini didapatkan serapan 316 nm dan panjang gelombang maksimum pada resveratrol pelarut metanol diperoleh 306 nm sehingga pada panjang gelombang maksimum resveratrol pada penelitian ini mendapatkan hasil yang sama (Nemcova *et al.*2012).

2. Hasil validasi metode analisis resveratrol dengan pelarut dapar fosfatpH 7,4

Hasil validasi metode analisis dilakukan untuk penilaian terhadap parameter tertentu, dalam percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya. Validasi metode analisis resveratrol dilakukan dengan pelarut dapar fosfat pada pH 7,4 sebagai parameter untuk uji pelepasan obat. Hasil validasi metode analisis resveratrol denga pelarut dapar fosfat dapat dilihat pada Tabel.

Tabel 6. Parameter validasi metode analisis resveratrol dengan pelarut dapar fosfat

Parameter	Hasil
Linieritas	0,9995
Batas deteksi (LOD)	0,2755µg/mL
Batas Kuantifikasi (LOQ)	0,8348µg/mL
Perolehan kembali (recovery)	100,77%
Simpangan baku relatif (RSD)	0,81%

Parameter diatas menunjukkan bahwa nilai linearitas yang dikatakan baik apabila nilai r nya $0,9995 \leq r \leq 1$. Nilai batas deteksi (LOD) yang didapatkan resveratrol yaitu 0,2755 µg/mL dan batas kuantifikasi (LOQ) yaitu 0,8348 µg/mL. Akurasi diukur sebagai analit yang diperoleh kembali dilakukan dengan penambahan larutan baku resveratrol, hasil nilai perolehan kembali diperoleh dengan rata-rata 100,77%, hasil tersebut menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki akurasi yang tinggi dan berada pada rentang 98-102%. Penentuan presisi dilakukan pada tingkat keterulangan dengan cara mengukur kadar larutan baku resveratrol dengan konsentrasi 5,606 µg/mL Nilai dari uji presisi didapatkan rata-rata 0,81% yang menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki presisi yang baik karena RSD lebih kecil dari 2% (Gandjar & Rohman 2012).

3. Hasil validasi metode analisis resveratrol dengan pelarut metanol

Hasil validasi metode analisis resveratrol dengan pelarut metanol dilakukan pada parameter iniduiji efisiensi penyerapan dan uji aktivitas antioksidan. Resveratrol memiliki kelarutan yang baik pada metanol sehingga digunakan sebagai pelarut. Hasil validasi metode analisis resveratrol dengan pelarut metanol dapat dilihat pada Tabel.

Tabel 7. Parameter validasi metode analisis resveratrol metanol

Parameter	Hasil
Linieritas	0,9997
Batas deteksi (LOD)	0,2126 µg/mL
Batas Kuantifikasi (LOQ)	0,6444 µg/mL
Perolehan kembali (recovery)	100,62%
Simpangan baku relatif (RSD)	0,36%

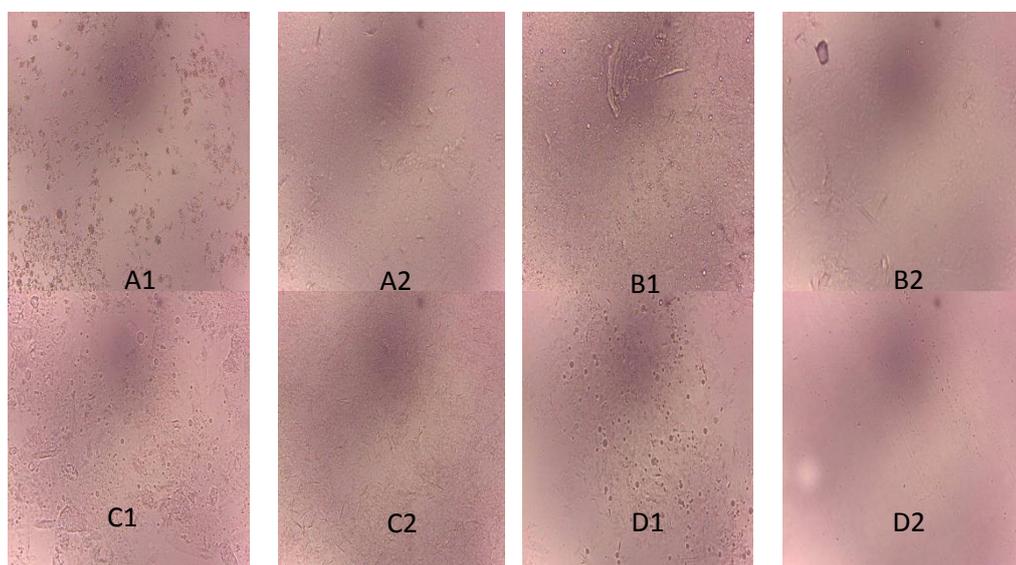
Parameter diatas menunjukkan bahwa nilai linearitas dikatakan baik apabila nilai r nya $0,9997 \leq r \leq 1$. Nilai batas deteksi (LOD) yang didapatkan resveratrol yaitu 0,2126 µg/mL dan batas kuantifikasi (LOQ) yaitu 0,6444 µg/mL. Akurasi diukur sebagai analit yang diperoleh kembali dilakukan dengan penambahan larutan baku resveratrol, hasil nilai perolehan kembali diperoleh dengan rata-rata 100,62% hasil tersebut menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki akurasi yang tinggi dan berada pada rentang 98-102%. Penentuan presisi dilakukan pada tingkat keterulangan dengan cara mengukur kadar larutan baku resveratrol dengan konsentrasi 3,603 µg/mL. Nilai dari uji presisi didapatkan rata-rata 0,36% yang menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki presisi yang baik karena RSD lebih kecil dari 2% (Gandjar & Rohman 2012).

B. Pembuatan *Nanostructured lipid carriers resveratrol* (NLC-RSV)

Pembuatan *nanostructured lipid carriers resveratrol* (NLC-RSV) telah berhasil diformulasikan dengan menggunakan metode emulsifikasi-sonikasi. Prinsip penggunaan metode ini adalah mencampurkan fase lipid dan surfaktan dengan cara melebur campuran lipid padat (asam miristat dan asam stearat) dan lipid cair (asam oleat) lalu melebur campuran surfaktan (tween 80) dan air diatas *water bath*. Formula yang dibuat dalam penelitian ini ada 4 formula dengan variasi konsentrasi berbeda pada surfaktan dalam lipid padat, yaitu dengan

mencampurkan fase lipid (lipid padat dan lipid cair) dan surfaktan (tween 80 dan air) dengan menggunakan alat *overheat stirer* pada kecepatan 1000 rpm, campuran lipid dimasukan dengan menambahkan resveratrol kemudian ditambahkan sedikit demi sedikit campuran surfaktan lalu diatur suhunya antara 70-80°C sampai membentuk masa emulsi selama 10 menit. Masa emulsi yang terbentuk lalu disonikator untuk memecah partikel emulsi menjadi partikel nano dengan *amplitudo* 35% selama 5 menit dengan *pulse on* 1 menit *off* 1 menit (Sriarumtias dkk 2017).

Skrining proses pembuatan NLC resveratrol merupakan penelitian pendahuluan bertujuan untuk memastikan pembentukan nanosistem yang diamati dengan mikroskop polarisasi. Pembuatan sistem NLC resveratrol dibuat dengan mencampurkan lipid padat dan lipid cair dengan sistem emulsifikasi. Metode emulsifikasi merupakan metode dengan cara lipid padat dan cair dipanaskan dan dicampur, kemudian obat-obatan ditambahkan untuk membentuk fase lipid. Fase lipid ditambahkan ke fase air yang mengandung surfaktan dan diaduk untuk membentuk emulsi kasar (Li *et al.* 2017). Hasil pengamatan pendahuluan pembuatan NLC resveratrol nanosistem dapat dilihat pada Gambar 12.

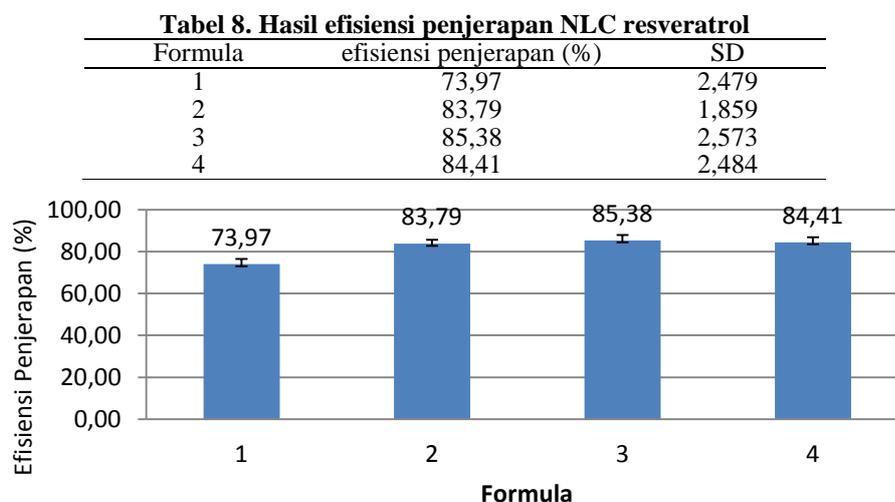


Gambar 11. Gambar mikroskop NLC-RSV dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran 40x (A1: Formula 1 sebelum disonikasi, A2: Formula 1 sesudah disonikasi, B1: Formula 2 sebelum disonikasi, B2: Formula 2 sesudah disonikasi, C1: Formula 3 sebelum disonikasi, C2: Formula 3 sesudah disonikasi, D1: Formula 4 sebelum disonikasi dan D2: Formula 4 sesudah disonikasi)

Gambar A1, B1, C1, dan D1 pada gambar diatas menunjukkan bahwa setelah dilakukan teknik emulsifikasi atau sebelum disonikasi masih berbentuk globul kasar pada mikroskop diperbesaran 40x, kemudian pada gambar A2, B2, C2 dan D2 menunjukkan bahwa bentuk NLC resveratrol lebih halus pada perbesaran 40x, karena dilakukan proses sonikasi. Sonikasi merupakan aplikasi penggunaan energi suara untuk proses pengadukan partikel pada suatu sampel. Sonikasi menggunakan energi suara untuk menggerakkan partikel yang berada dalam suatu sampel. Sonikasi dapat digunakan untuk mempercepat prosespelarutan suatu materi dengan prinsip pemecahan reaksi intermolekuler, sehingga terbentuk suatu partikel yang berukuran nano. Prosesnya dengan menggunakan gelombang ultrasonik pada amplitudo 35% selama 10 menit dengan *pulse on* 59 detik dan *off* 59 detik rentang frekuensi 20 KHz-10 MHz.

C. Efisiensi penjerapan dan *Drug loading* NLC resveratrol

Pengujian dalam formula yang telah dilakukan yaitu efisiensi penjerapan merupakan suatu karakterisasi yang memberikan data berapa persen zat aktif yang berhasil dijerap dalam ukuran nanopartikel. *Drug Loading* dalam pengujian ini yaitu membantu untuk mengetahui jumlah obat yang berada didalam suatu nanopartikel (Sriarumtias *et al.* 2017). Efisiensi penjerapan merupakan langkah yang digunakan untuk mengetahui seberapa besar presentase zat aktif yang terjebak didalam sistem NLC. Hasil perhitungan pada efisiensi penjerapan dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 12. Hasil efisiensi penjerapan (%) NLC resveratrol

Hasil perhitungan efisiensi penjerapan pada grafik diatas menunjukkan pada formula 3 memiliki efisiensi penjerapan yang paling tinggi sebesar 85,38% untuk formula 1 pada grafik diatas memiliki efisiensi penjerapan sebesar 73,97%, formula 2 memiliki efisiensi penjerapan sebesar 83,79% dan formula 4 memiliki efisiensi penjerapan sebesar 84,41%. Formula 3 yaitu asam stearat (C18) dengan tween 80 memberikan pengaruh terhadap efisiensi penjerapan yang baik. Hasil uji efisiensi penjerapan dapat dilihat dengan pendekatan metode analisa regresi linier berganda menggunakan 2^2 factorial design menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna (signifikan) ($P < 0,05$) hal ini bahwa ada pengaruh dari faktor panjang rantai lipid padat (asam miristat dan asam stearat) dan faktor konsentrasi tween 80 terhadap efisiensi penjerapan. Hasil pemeriksaan efisiensi penjerapan pada sistem NLC resveratrol dengan pendekatan secara factorial design dapat dilihat pada persamaan :

$$\text{efisiensi penjerapan (\%)} = 25,46 + 3,23A + 64,25 B - 3,52 A.B$$

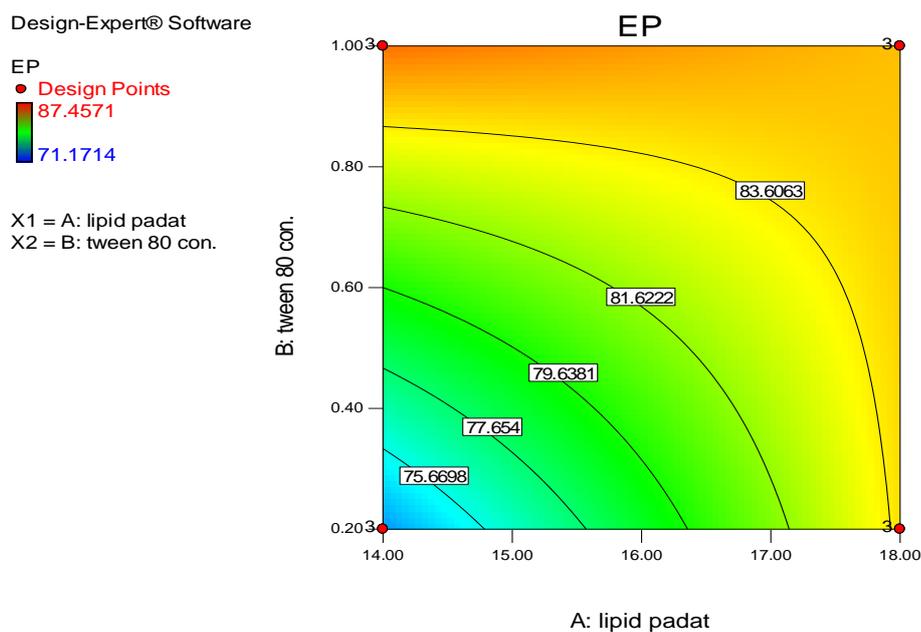
Keterangan :

A = panjang rantai lipid padat (asam miristat dan asam stearat)

B = konsentrasi tween 80

Hasil persamaan diatas menunjukkan bahwa pada faktor perbedaan panjang rantai (asam miristat dan asam stearat) meningkatkan efisiensi penjerapan sebesar (+3,23). Faktor variasi konsentrasi tween 80 meningkatkan efisiensi penjerapan (+64,25), pengaruh faktor konsentrasi tween 80 lebih besar dibandingkan dengan faktor panjang rantai (asam miristat dan asam stearat) karena semakin panjang rantai lipid padat maka akan semakin meningkat kestabilannya terhadap sistem (Tuminah 2009), sedangkan konsentrasi tween 80 semakin besar konsentrasi yang digunakan dalam sistem NLC maka mampu menghasilkan kapasitas pemuatan obat yang lebih baik (Kovacevic *et al.* 2011). Interaksi antar keduanya memberikan pengaruh yaitu menurunkan pada efisiensi penjerapan (-3,52) pada sistem NLC resveratrol, sehingga interaksi antara kedua faktor tersebut merupakan interaksi antagonisme karena menurunkan efisiensi penjerapan. Surfaktan yang digunakan pada kadar yang lebih tinggi akan berkumpul membentuk agregat yang disebut misel, selain itu pada pemakaiannya dengan kadar tinggi sampai *Critical Micelle Concentration* (CMC) surfaktan

diasumsikan mampu berinteraksi kompleks dengan obat tertentu selanjutnya dapat pula mempengaruhi permeabilitas membran tempat absorpsi obat karena surfaktan dan membran mengandung komponen penyusun yang sama (Attwood & Florence, 1985; Sudjaswadi, 1991). Hasil efisiensi penjerapan dilihat pada persamaan *contour plot* pada Gambar 14.



Gambar 13. Hasil *contour plot* efisiensi penjerapan (%) NLC resveratrol

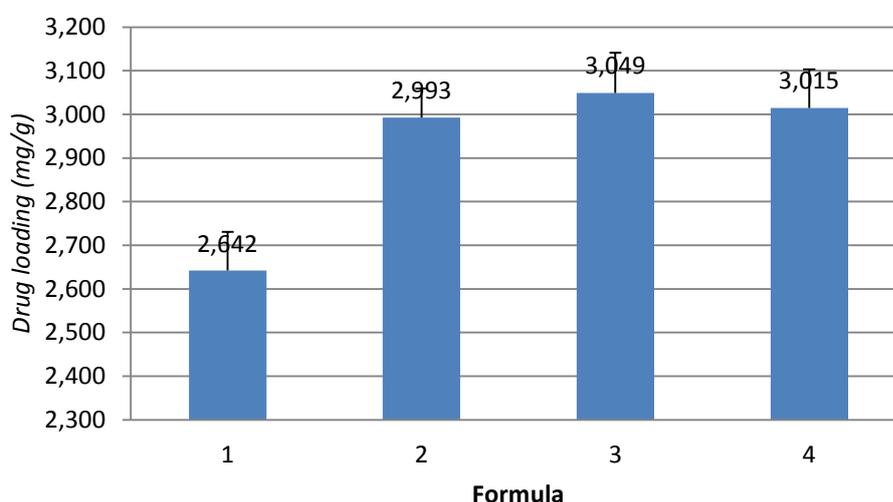
Hasil *contour plot* diatas menunjukkan pengaruh pada asam miristat C14 dengan konsentrasi tween 80 aras bawah berwarna biru (0,2) terjadi penurunan efisiensi penjerapan, aras atas pada konsentrasi tween 80 berwarna merah (1) dengan asam miristat C14 menunjukkan peningkatan persentase obat yang terjerap, semakin meningkatnya konsentrasi tween 80 maka semakin tinggi jumlah obat yang terjerap. Hasil asam stearat C18 dengan konsentrasi tween 80 aras bawah (0,2) berwarna merah menunjukkan peningkatan efisiensi penjerapan dan konsentrasi tween 80 aras atas (1) menunjukkan peningkatan pada efisiensi penjerapan.

Hasil diatas dalam penelitian ini pengaruh asam miristat pada konsentrasi tween 80 yaitu semakin banyak tween 80 yang digunakan akan meningkat efisiensi penjerapan dan pada asam stearat konsentrasi tween 80 yang digunakan

dalam jumlah kecil ataupun besar konsentrasi tween 80 tetap meningkatkan efisiensi penyerapan. *Drug loading* (DL) dilakukan untuk membantu dalam mengetahui jumlah obat dalam suatu nanopartikel (Sriutamias *et al.* 2017) pada penelitian ini dilakukan perhitungan *Drug loading*. Hasil perhitungan DL dapat dilihat pada Gambar 15.

Tabel 9. Hasil *Drug loading* NLC resveratrol

Formula	Drug loading (mg/g)	SD
1	2,642	0,089
2	2,993	0,066
3	3,049	0,092
4	3,015	0,089



Gambar 14. Hasil perhitungan *Drug loading* NLC resveratrol

Hasil *drug loading* pada sistem NLC-RSV pada grafik diatas formula 3 menunjukkan hasil *drug loading* paling besar dengan hasil 9,147 mg/gram dan pada formula 1 memiliki *drug loading* sebesar 7,926 mg/gram, pada formula 2 memiliki *drug loading* sebesar 8,978 mg/gram dan formula 4 memiliki *drug loading* sebesar 9,044 mg/gram. Analisis hasil uji *drug loading* dapat dilihat dengan pendekatan metode analisa regresi linier berganda menggunakan *2²factorial design* menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna (*not signifikan*) ($P > 0,05$) sehingga tidak mempengaruhi. Hasil pemeriksaan *drug loading* pada sistem NLC resveratrol dengan pendekatan secara *factorial design* dapat dilihat pada persamaan :

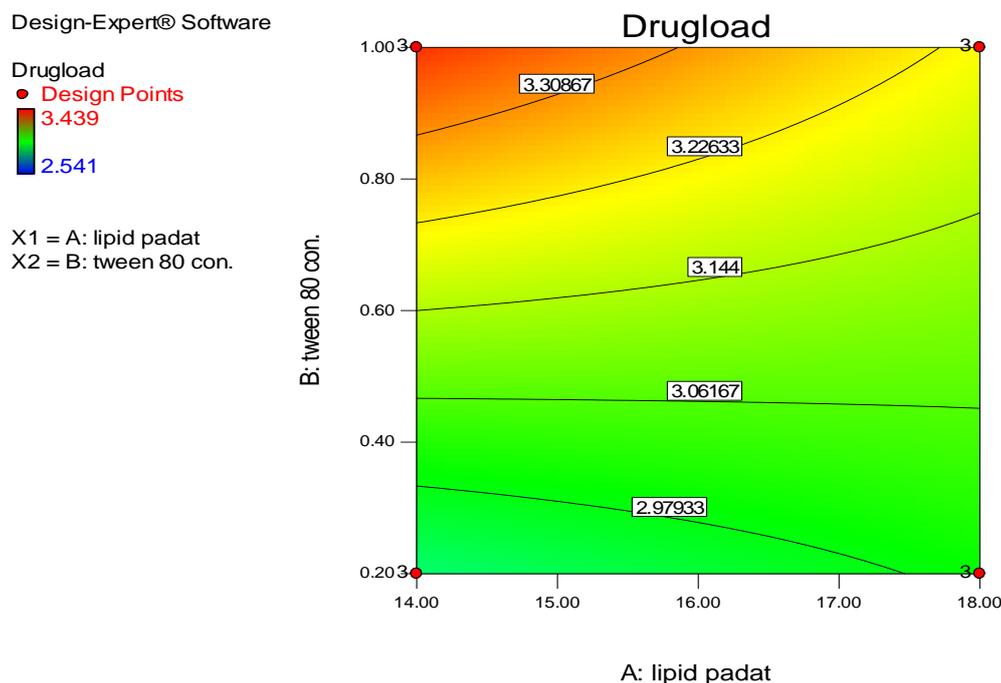
$$\text{Drug loading} = 3,12 - 0,021A + 0,18B - 0,068, A.B$$

Keterangan :

A = panjang rantai lipid padat (asam miristat dan asam stearat)

B = konsentrasi tween 80

Hasil persamaan diatas menunjukkan bahwa pada faktor perbedaan panjang rantai (asam miristat dan asam stearat) menurunkan *drug loading* sebesar (-0,021). Faktor variasi konsentrasi tween 80 meningkatkan *drug loading* (+0,18), pengaruh antar keduanya memberikan pengaruh yaitu menurunkan pada *drug loading* (-0,068) pada sistem NLC resveratrol, sehingga interaksi antara kedua faktor tersebut merupakan interaksi antagonisme karena menurunkan *drug loading*, akan tetapi tidak berbeda bermakna karena penurunan *drug loading* tidak begitu besar sehingga tidak terlalu berpengaruh. Persamaan contour plot dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 15. Hasil contour plot drug loading (mg/gram) NLC resveratrol

Hasil counter plot pada *drug loading* menunjukkan bahwa pengaruh pada asam miristat C14 bersama konsentrasi tween 80 pada aras bawah (0,2) memberikan pengaruh penurunan jumlah *drug load*, sedangkan pada aras atas (1)

menunjukkan bahwa pengaruh tween 80 memberikan peningkatan pada *drug load*. Panjang rantai asam stearat C18 bersama dengan konsentrasi tween 80 pada aras bawah (0,2) menunjukkan pengaruh yang sama dengan asam miristat bahwa menurunkan *drug load*, sedangkan pada konsentrasi tween 80 aras atas menunjukkan peningkatan terhadap *drug loading*.

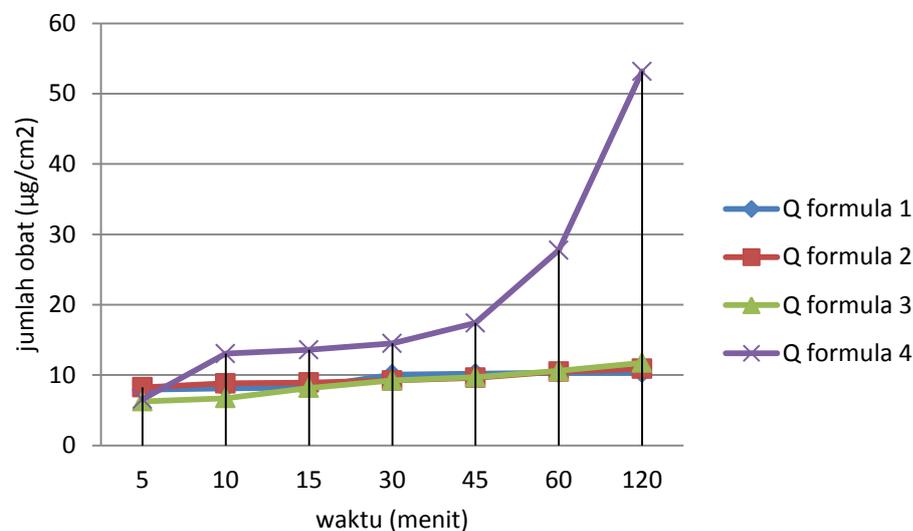
Penelitian ini menunjukkan bahwa pada campuran lipid padat asam miristat, asam stearat dan tween 80 menghasilkan *drug load* yang tidak berpengaruh signifikan, pada asam miristat dengan penambahan tween 80 sedikit lebih tinggi dari asam stearat, namun tidak berbeda signifikan terhadap sistem NLC. Penelitian ini menunjukkan bahwa pada formula 3 mempunyai *drug load* yang cukup tinggi yaitu asam miristat C14 dengan konsentrasi asam oleat aras atas (1).

D. Hasil pelepasan Obat NLC resveratrol

Uji pelepasan obat merupakan metode secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan metode kantung dialisis. Metode kantung dialisis merupakan proses perpindahan molekul terlarut dari suatu campuran larutan yang terjadi akibat difusi pada membran semi-permeabel. Uji pelepasan diperoleh parameter pelepasan yaitu laju pelepasan (fluks pelepasan). Pelepasan obat dari partikel lipid terjadi melalui difusi dan degradasi partikel lipid dalam tubuh. Mekanisme pelepasan NLC terjadi secara langsung masuk di dalam tubuh dan langsung diabsorpsi. Hasil perhitungan pelepasan NLC resveratrol dapat dilihat pada Gambar 17.

Tabel 10. Hasil pelepasan obat NLC resveratrol

Waktu (menit)	Q/A (mcg/cm ²)			
	formula 1	formula 2	formula 3	formula 4
5	7,92	8,26	6,25	12,73
10	8,11	8,82	6,70	12,95
15	8,23	8,93	8,15	13,58
30	10,07	9,22	9,22	14,49
45	10,20	9,61	9,71	17,12
60	10,32	10,49	10,59	23,48
120	10,32	10,89	11,75	44,44



Gambar 16. Hasil pelepasan obat NLC resveratrol

Hasil grafik diatas pada formula 4 menunjukkan pelepasan obat yang paling besar. Penentuan pelepasan NLC resveratrol digunakan untuk mengetahui seberapa besar jumlah obat yang terlepas atau melewati membran. Semakin besar luas permukaan membran maka semakin besar jumlah pelepasan obat. Hasil analisis statistik dilihat dengan pendekatan metode analisa regresi linier berganda menggunakan 2^2 factorial design menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna (signifikan) ($P < 0,05$). Hasil pemeriksaan pelepasan obat pada sistem NLC-RSV dengan pendekatan secara factorial design dapat dilihat pada persamaan :

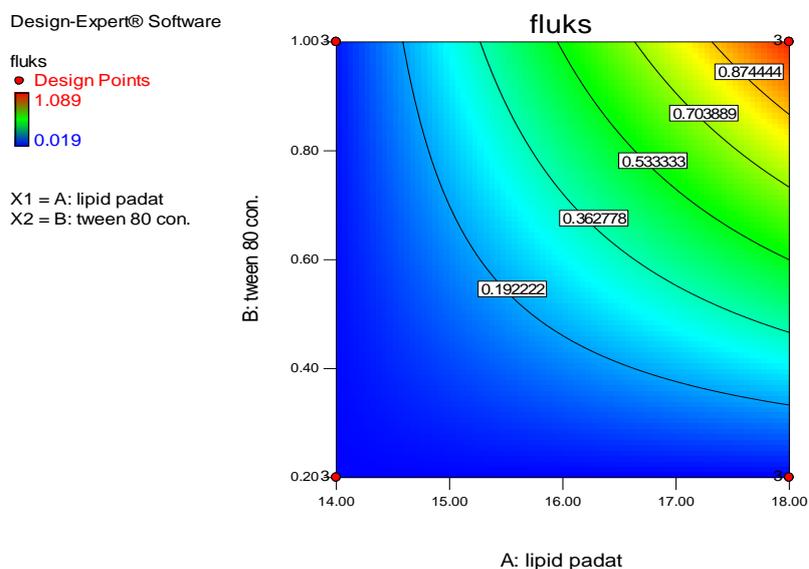
$$\text{pelepasan obat } (\mu\text{g}/\text{cm}^2) = 0,88 - 0,062A - 4,34 B + 0,312A.B$$

Keterangan :

A = panjang rantai lipid padat (asam miritat dan asam stearat)

B = konsentrasi tween 80

Hasil persamaan diatas pada faktor perbedaan panjang rantai asam miristat dan asam stearat menunjukkan penurunan pada jumlah pelepasan obat (-0,062). Faktor vairasi konsentrasi tween 80 menunjukkan penurunan jumlah pelepasan obat (-4,34) dan interaksi antara keduanya menunjukkan pengaruh peningkatan jumlah pelepasan obat (+0,312). Hasil pelepasan obat dapat dilihat pada persamaan counter plot pada Gambar 18.



Gambar 17. Hasil Counter plot pelepasan obat NLC resveratrol

Hasil contour plot diatas menunjukkan bahwa pengaruh asam miristat (C14) dengan tween 80 aras bawah (0,2) menurunkan jumlah pelepasan obat sama dengan asam stearat aras bawah (0,2) juga menurunkan jumlah pelepasan obat. Tween 80 pada aras atas (1) untuk asam miristat (C14) dengan konsentrasi yang lebih tinggi tidak terjadi perubahan sedangkan pada asam stearat (C18) pada konsentrasi tween 80 yang lebih tinggi mampu meningkatkan jumlah pelepasan obat. Hasil contour plot menunjukkan bahwa asam miristat (C14) dengan tween 80 pada aras bawah (0,2) dan aras atas (1) tidak terjadi perubahan sehingga pelepasan obatnya rendah, sedangkan pada asam stearat (C18) pada aras bawah (0,2) menunjukkan pelepasan obat yang rendah dan pada aras atas (1) menunjukan peningkatan lebih besar jumlah pelepasan obatnya dibandingkan dengan asam miristat (C14) aras atas (1).

Penelitian ini menunjukkan bahwa sistem NLC-RSV dengan asam stearat (C18) dilepaskan dengan cepat dibandingkan dengan asam miristat (C14) dan variasi konsentrasi tween 80 dengan aras tinggi (1) lebih besar jumlah pelepasannya bersama asam stearat dibandingkan dengan tween 80 pada aras bawah (0,2). Asam miristat (C14) lebih rendah pelepasannya dengan asam oleat aras atas (1) dan aras bawah (0,2). Perbandingan panjang rantai lipid padat terhadap pelepasan

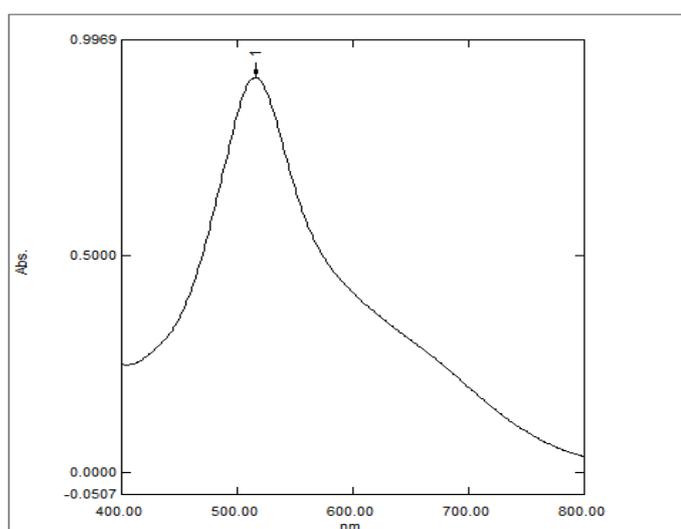
obat menunjukkan bahwa asam stearat (C18) lebih besar memberikan pengaruh pelepasan obat daripada asam miristat (C14).

Hasil penelitian diatas pada pelepasan obat dapat mempengaruhi terhadap kapasitas yang akan dibawa dalam sistem NLC. Perlakuan tersebut saling terkait, bahwa konsentrasi lipid yang lebih tinggi dapat berpengaruh pada efisiensi enkapsulasi dari obat yang dibawa. Tingginya konsentrasi lipid akan meningkatkan muatan obat yang dibawa. Penggunaan konsentrasi lipid yang lebih tinggi dapat mengurangi komposisi air yang ada didalam sistem (Tamjidi *et al.* 2013). Penelitian ini menunjukkan bahwa pada pelepasan obat dengan asam stearat (C18) dan tween 80 aras atas (1) menunjukkan bahwa pelepasan NLC-RSV lebih baik.

E. Hasil uji aktivitas antioksidan resveratrol dan NLC resveratrol

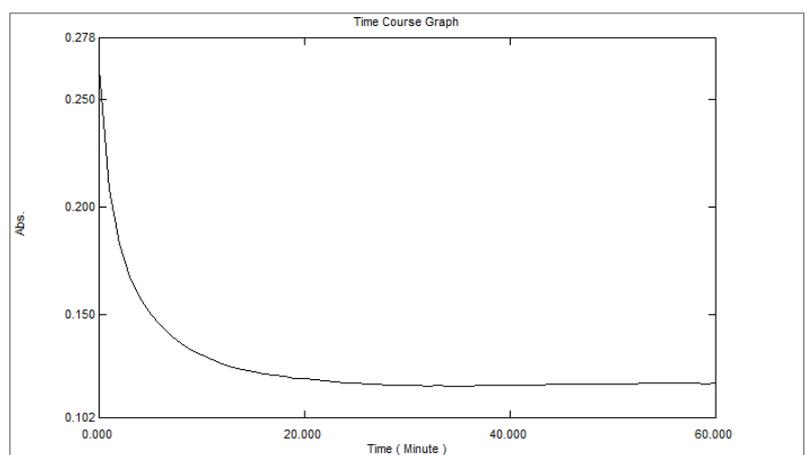
1. Hasil uji aktivitas antioksidan resveratrol dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*)

Panjang gelombang maksimum pada penelitian ini dipilih berdasarkan panjang gelombang yang dapat memberikan absorbansi DPPH maksimal. Penelitian ini dilakukan pengamatan absorbansi pada panjang gelombang 400-600 nm. Hasil panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada gambar panjang gelombang maksimum DPPH dapat dilihat pada Gambar 19.



Gambar 18. Hasil panjang gelombang maksimum larutan DPPH

Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum pada gambar diatas didapat 516 nm dengan serapan 0,910. Panjang gelombang maksimum DPPH secara teoritis diperoleh 517 nm, sehingga yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 516 nm, kemudian ditentukan pentapan *operating time* pada DPPH. Penetapan *operating time* bertujuan untuk menentukan waktu stabil yang dibutuhkan larutan uji dalam meredam radikal bebas DPPH tepat habis bereaksi. Hasil kurva baku uji antioksidan resveratrol dapat dilihat pada Gambar 20.

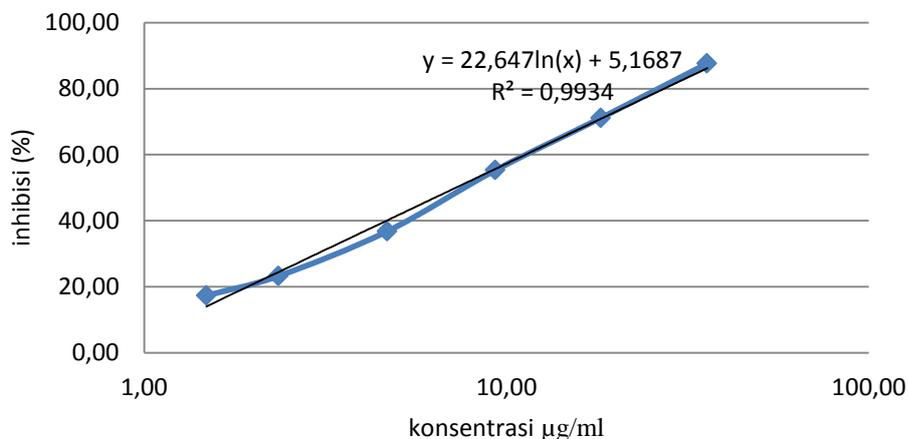


Gambar 19. Hasil *Operating time* dengan metode DPPH

Hasil penetapan *operating time* DPPH pada gambar diatas menunjukkan bahwa pada menit ke 29 sampai 40 absorbansi DPPH relatif konstan. *Operating time* dipilih pada saat penurunan absorbansi yang dihasilkan relatif stabil (Molyneux 2004). Hasil *operating time* dilakukan uji aktivitas antioksidan pada menit ke-29, setelah *operating time* dilakukan pembuatan kurva dibuat kurva hubungan antara konsentrasi dan persen inhibisi untuk menentukan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50%*). IC_{50} dijadikan parameter untuk menentukan aktivitas antioksidan resveratrol. Hasil kurva baku pada resveratrol dapat dilihat pada Gambar 21.

Tabel 11. Hasil uji aktivitas antioksidan resveratrol

Volume (μ L)	Konsentrasi (mg/mL)	Inhibisi (%)	SD
361	35,80	87,60	0,611
184	18,23	71,14	0,317
94	9,32	55,34	5,808
47	4,68	36,81	2,444
24	2,35	23,29	0,731
15	1,48	17,35	2,508



Gambar 20. Hasil kurva baku pada resveratrol dengan metode DPPH.

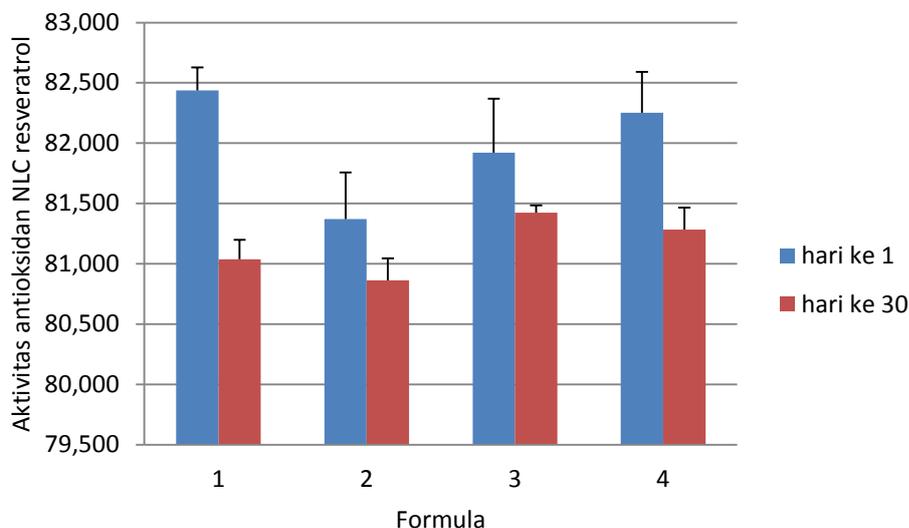
Hasil pada gambar diatas tersebut diperoleh persamaan regresi linier yang digunakan untuk menghitung aktivitas antioksidan. Parameter dari metode DPPH ini adalah nilai *inhibition concentration* 50% (IC_{50}) atau konsentrasi yang dapat meredam aktivitas radikal bebas sebesar 50% (Widyasanti *et al.* 2016). Nilai linearitas yang didapatkan pada uji aktivitas antioksidan yaitu 0,9934. IC_{50} pada resveratrol diperoleh 7,2 $\mu\text{g/mL}$. Tingkat kekuatan antioksidan yang diperoleh sangat kuat karena nilai IC_{50} yang diperoleh <50 7,2 $\mu\text{g/mL}$ (Jun 2006).

2. Hasil uji aktivitas antioksidan NLC resveratrol

Formula dalam mempertahankan antioksidan dipengaruhi oleh komposisi atau komponen. Penentuan nilai inhibisi (%) dilakukan untuk menentukan seberapa besar nilai penghambatan aktivitas antioksidan setelah dibuat sistem NLC resveratrol, ditentukan uji aktivitas antioksidannya selama penyimpanan 30 hari. Hasil pengamatan aktivitas antioksidan resveratrol pada ke empat formula dapat dilihat pada Gambar 22

Tabel 12. Hasil uji aktivitas antioksidan NLC resveratrol

No.	Formula	Hari ke 1	Hari ke 30
1	formula 1	82,43	81,03
2	formula 2	81,37	80,86
3	formula 3	81,92	81,42
4	formula 4	82,25	81,28



Gambar 21. Hasil uji aktivitas antidoksidan NLC resveratrol

Hasil gambar diatas pada uji aktivitas antioksidan NLC hari pertama formula 1 menunjukkan aktivitas antioksidan paling tinggi (82,45%), untuk formula yang lain yaitu formula 2 (81,37%), formula 3 (81,92%) dan formula 4 (82,25%), hal ini menunjukkan bahwa tiap formula tidak ada perbedaan nilai inhibisi (%) yang bermakna setelah dibuat sistem NLC resveratrol. NLC resveratrol dilakukan penyimpanan selama 30 hari kemudian di uji aktivitas antioksidan, hasil uji aktivitas antioksidan NLC pada hari ke-30 mengalami penurunan aktivitas antioksidan dengan hasil pada formula 1 (81,03%), formula 2 (80,86%), formula 3 (81,42%) dan formula 4 (81,28%), pada penurunan aktivitas antioksidan tersebut menunjukkan bahwa ada perubahan selama penyimpanan bahwa faktor panjang rantai lipid padat (asam miristat dan asam stearat) dan faktor konsentrasi tween 80 mempengaruhi aktivitas antioksidan.

Nilai IC_{50} resveratrol diperoleh 7,2 $\mu\text{g/mL}$ sebagai konsentrasi resveratrol tanpa sistem NLC, pada uji aktivitas antioksidan NLC resveratrol dilakukan dengan pengambilan sampel sebesar 10 $\mu\text{g/mL}$ karena pengambilan nilai IC_{50} menurun setelah dibuat sistem NLC, sehingga setelah dihitung nilai persentase inhibisinya selama penyimpanan 30 hari juga menurun. Hasil tersebut dianalisa menggunakan metode analisa regresi linier berganda menggunakan 2^2 factorial

design menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) (signifikan). Hasil pemeriksaan uji aktivitas antioksidan pada sistem NLC-RSV dengan pendekatan secara *factorial design* dapat dilihat pada persamaan :

$$\text{inhibisi (\%)} = 87,52 - 0,35 A - 6,76 B + 0,43 A \cdot B$$

Keterangan :

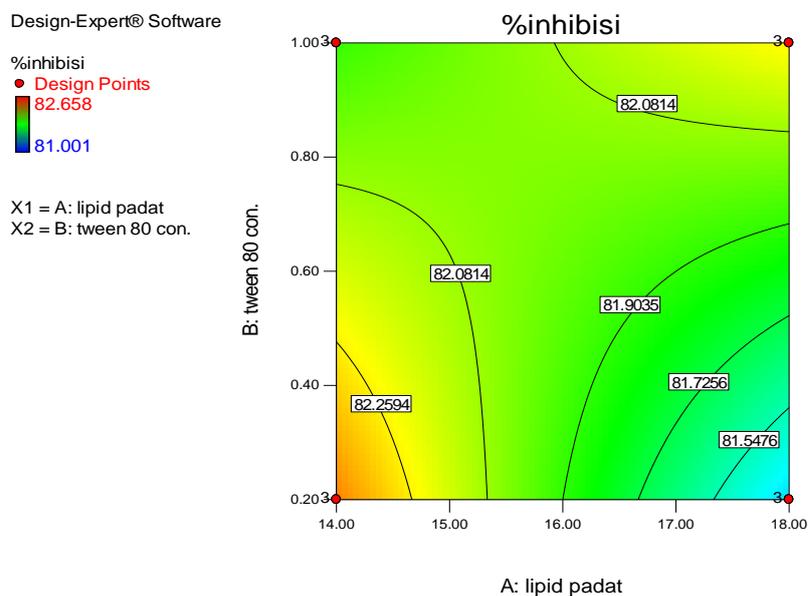
Y = inhibisi (%)

A = panjang rantai lipid padat (asam miristat dan asam stearat)

B = konsentrasi tween 80

Persamaan diatas menunjukkan pengaruh masing-masing faktor perbedaan panjang rantai lipid padat (asam miristat dan asam stearat), konsentrasi tween 80 dan interaksi keduanya terhadap aktivitas antioksidan. Hasil koefisien regresi menunjukkan bahwa faktor panjang rantai (asam miristat dan asam stearat) menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan sebesar (-0,35). Faktor pada variasi konsentrasi tween 80 memberikan pengaruh penurunan aktivitas antioksidan sebesar (-6,76). Hal tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi tween 80 lebih besar memberikan pengaruh penurunan aktivitas antioksidan. Interaksi antara perbedaan kedua faktor memberikan peningkatan pada aktivitas antioksidan sebesar(+0,43), sehingga pengaruh interaksi panjang rantai lipid padat (asam miristat dan asam stearat) dan konsentrasi tween 80 mengalami interaksi sinergisme.

Formulasi NLC resveratrol mengalami penurunan pada saat dilakukan penyimpanan selama 30 hari, matriks NLC mampu meminimalisir terjadinya degradasi dan mampu menjaga stabilitas resveratrol. Penelitian ini bertujuan dibuat dalam sistem *Nanostructured lipid carriers* (NLC) sebagaimana diketahui bahwa NLC merupakan sistem penghantaran obat yang menjadi suatu perlindungan terhadap obat (Sriarumtias *et al.* 2017). Hasil persentasi inhibisi persamaan contour plot dapat dilihat pada Gambar 23.



Gambar 22. Hasil Contour plot aktivitas antioksidan NLC-RSV

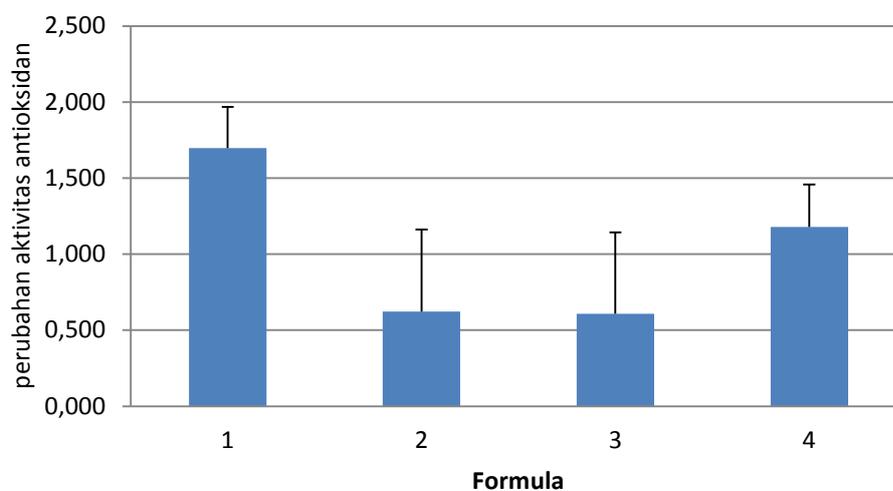
Contour plot diatas menunjukkan perubahan warna dari biru ke hijau, plot yang berwarna biru menunjukkan bahwa penurunan pada aktivitas antioksidan, sedangkan berwarna hijau sampai ke merah menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas antioksidan terhadap perbedaan panjang rantai lipid padat (asam miristat dan asam stearat) dan variasi konsentrasi tween 80. Asam miristat dengan panjang rantai C14 berinteraksi dengan konsentrasi tween 80 yang aras bawah 0,2 menunjukkan warna merah yaitu bahwa dapat mempengaruhi peningkatan aktivitas antioksidan sebesar (82,25%), konsentrasi aras atas 1 pada tween 80, memberikan warna hijau menunjukkan bahwa dapat menurunkan aktivitas antioksidan sebesar (82,08%).

Panjang rantai asam stearat C18 berinteraksi dengan konsentrasi tween 80 aras bawah 0,2 berwarna biru menunjukkan bahwa penurunan pada aktivitas antioksidan sebesar (81,54%), sedangkan dengan konsentrasi tween 80 aras atas 1 menunjukkan warna kuning sehingga dapat mempengaruhi peningkatan aktivitas antioksidan sebesar (82,04%). Aktivitas antioksidan kemudian dilakukan pengujian pada hari ke-30 untuk melihat kemampuan formula mempertahankan stabilitas aktivitas antioksidan resveratrol maka diamati aktivitas antioksidan setelah 30 hari penyimpanan. Pengukuran kemampuan ini diukur melalui

persentase perubahan aktivitas antioksidan. Hasil perhitungan perubahan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 24.

Tabel 13. Hasil perubahan aktivitas antioksidan NLC resveratrol

Formula	perubahan aktivitas antioksidan (%)	SD
1	1,698	0,270
2	0,622	0,540
3	0,607	0,537
4	1,179	0,280



Gambar 23. Hasil perubahan aktivitas antioksidan (%)

Perubahan aktivitas antioksidan bertujuan untuk melihat kestabilan suatu aktivitas antioksidan selama penyimpanan didalam sistem NLC. Hasil perubahan aktivitas antioksidan selama penyimpanan menunjukkan bahwa formula 1 menunjukkan perubahan aktivitas antioksidan sebesar 1,698%, sedangkan formula 2 menunjukkan perubahan aktivitas antioksidan sebesar 0,622%, formula 3 menunjukkan perubahan aktivitas antioksidan sebesar 0,607% dan formula 4 menunjukkan perubahan aktivitas antioksidan sebesar 1,179%. Perubahan aktivitas diatas menunjukkan bahwa pada formula 3 mengalami perubahan yang paling kecil sehingga mampu mempertahankan aktivitas antioksidan yang baik.

Hasil perubahan aktivitas antioksidan dilihat pada pendekatan metode analisa regresi linier berganda menggunakan 2^2 factorial design menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna (signifikan) ($p < 0,05$) sehingga perubahan aktivitas antioksidan menunjukkan ada pengaruh dari faktor panjang rantai (asam

miristat dan asam stearat) dan faktor konsentrasi tween 80 yang bermakna. Hasil pemeriksaan uji aktivitas antioksidan pada sistem NLC-RSV dengan pendekatan secara *factorial design* dapat dilihat pada persamaan :

$$\text{inhibisi (\%)} = 1,03 - 0,13 A - 0,13 B + 0,41 A . B$$

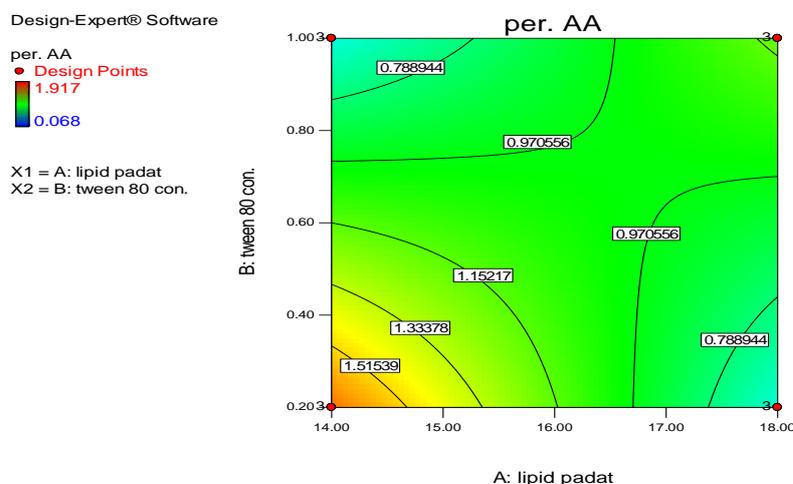
Keterangan :

Y = inhibisi (%)

A = panjang rantai lipid padat (asam miristat dan asam stearat)

B = konsentrasi tween 80

Persamaan di atas menunjukkan pengaruh masing-masing faktor perbedaan panjang rantai lipid padat (asam miristat dan asam stearat), konsentrasi tween 80 dan interaksi keduanya terhadap aktivitas antioksidan. Hasil koefisien regresi menunjukkan bahwa faktor panjang rantai (asam miristat dan asam stearat) menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan sebesar (-0,13) Faktor pada variasi konsentrasi tween 80 memberikan pengaruh penurunan aktivitas antioksidan sebesar (-0,13). Hal tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi tween 80 dan panjang rantai (asam miristat dan asam stearat) memberikan pengaruh penurunan aktivitas antioksidan. Interaksi antara perbedaan kedua faktor memberikan peningkatan pada aktivitas antioksidan sebesar (+0,41), sehingga pengaruh interaksi panjang rantai lipid padat (asam miristat dan asam stearat) dan konsentrasi tween 80 mengalami interaksi sinergisme. Hasil perubahan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada persamaan contour plot pada Gambar 25.



Gambar 24. Hasil perubahan aktivitas antioksidan (%)

Hasil contour plot diatas menunjukkan bahwa panjang rantai asam miristat C14 berinteraksi dengan tween 80 aras bawah (0,2) berwarna merah menunjukkan bahwa adanya peningkatan pengaruh perubahan aktivitas antioksidan sedangkan pada aras atas (1) berwarna biru menunjukkan bahwa penurunan aktivitas antioksidan. Panjang rantai asam stearat C18 menunjukkan warna biru pada aras bawah (0,2) tween 80 menunjukkan penurunan pada perubahan aktivitas antioksidan sedangkan aras atas (1) menunjukkan perubahan warna menjadi hijau sehingga terjadi peningkatan pada perubahan aktivitas antioksidan. Hasil perubahan aktivitas antioksidan yang paling baik yaitu pada asam miristat (C14) aras bawah (0,2) yang dapat memberikan aktivitas antioksidan yang baik.