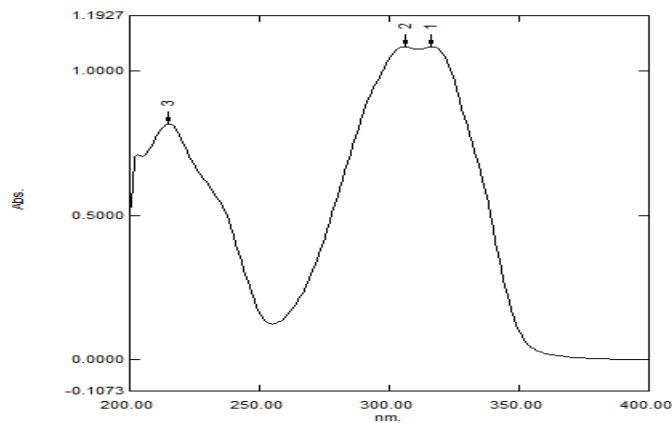


BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

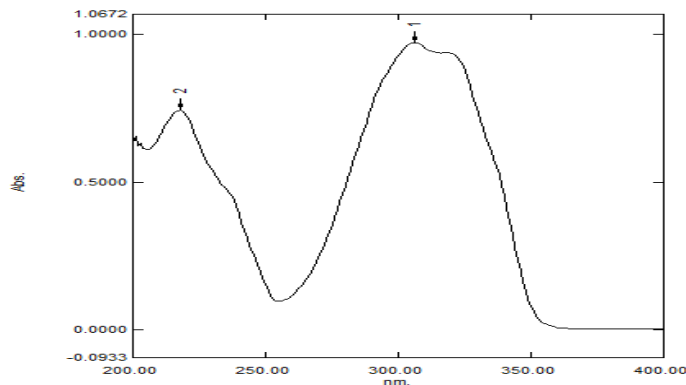
A. Kurva kalibrasi dan validasi metode analisis

1. Hasil kurva kalibrasi Resveratrol dapar posfat dan methanol

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 untuk pengujian pelepasan obat dan pelarut metanol dilakukan untuk pengujian efisiensi penyerapan dan uji aktivitas antioksidan. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dalam pelarut dapar fosfat pH 7,4 dan metanol, pada pelarut dapar fosfat pH 7,4 diperoleh panjang gelombang maksimal dihasilkan 316 nm dengan serapan 1,083, sedangkan dengan pelarut metanol dihasilkan 306 nm dengan serapan 0,907.



Gambar 10. Hasil panjang gelombang maksimum resveratrol pelarut dapar posfat pH 7,4



Gambar 11. Hasil panjang gelombang maksimum resveratrol pelarut methanol

Berdasarkan hasil panjang gelombang maksimum resveratrol dengan pelarut dapar posfat dan methanol, panjang gelombang maksimum resveratrol pelarut methanol diperoleh 306 nm, sehingga panjang gelombang maksimum penelitian ini mendapatkan hasil yang sama (Nemcova *et al.* 2012). Resveratrol memiliki panjang gelombang maksimum dengan pelarut dapar fosfat pH 5 diperoleh 307 nm (Rani *et al.* 2017), panjang gelombang pada penelitian ini didapatkan serapan 316 nm yang digunakan pada dapar fosfat pH 7,4.

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

Validasi metode analisis dilakukan untuk penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memnuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita 2004). Validasi metode analisis resveratrol dilakukan dengan pelarut dpar 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)	0,2755 µg/mL
Batas Kuantifikasi (LOQ)	0,8348 µg/mL
Perolehan kembali (recovery)	100,77%
Simpangan baku relatif (RSD)	0,96%

Nilai linearitas dikatakan baik apabila nilai r nya $0,995 \leq r \leq 1$. 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 0,96% 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

Validasi metode analisis resveratrol dengan pelarut metanol dilakukan sebagai parameter uji 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	0,9993
Batas deteksi (LOD)	0,2126 µg/mL
Batas Kuantifikasi (LOQ)	0,6444 µg/mL
Perolehan kembali (recovery)	100,62%
Simpangan baku relatif (RSD)	0,40%

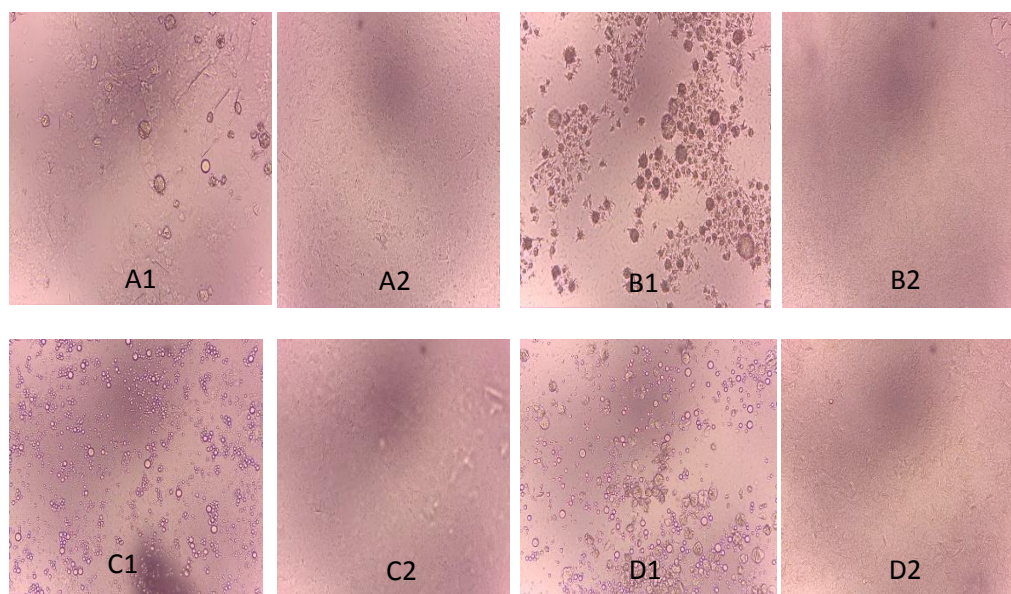
Nilai linearitas dikatakan baik apabila nilai r nya $0,995 \leq r \leq 1$. Nilai batas deteksi (LOD) yang didapatkan resveratrol yaitu 0,2126 µg/mL dan batas kuantifikasi (LOQ) yaitu 0,6444 µg/mL. Akurasi diukur sebagai analit yang diperoleh kembali dilakukan dengan penambahan larutan baku resveratrol, 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 0,40% yang menunjukkan bahwa metode yang digunakan memiliki presisi yang baik karena RSD lebih kecil dari 2% (Gandjar & Rohman 2012).

B. Skrining proses pembuatan *Nanostructured Lipid Carriers* (NLC)

Resveratrol

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

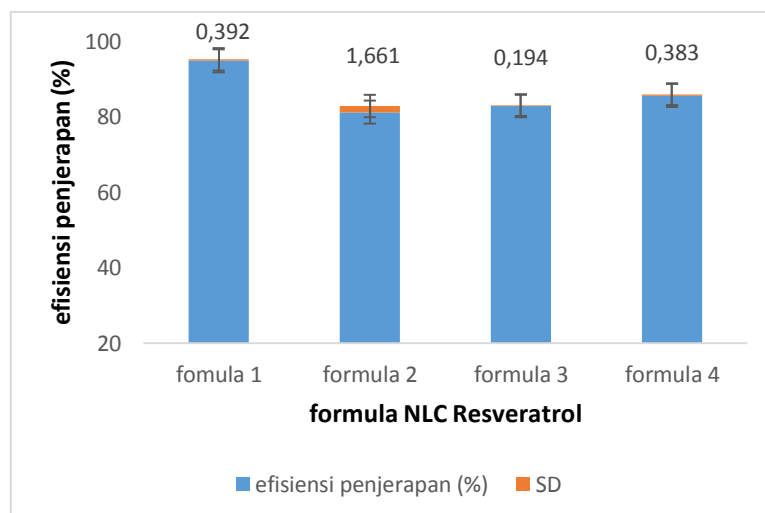
Gambar A1, B1, C1, dan D1 menunjukkan bahwa setelah dilakukan teknik emulsifikasi masih berbentuk globul kasar ketika dilihat pada mikroskop pada perbesaran 40x, kemudian pada gambar A2, B2, C2 dan D2 menunjukkan bahwa bentuk NLC resveratrol lebih halus pada perbesaran 40x, karena dilakukan proses sonikasi. 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 proses pelarutan suatu materi dengan prinsip pemecahan reaksi intermolekuler, sehingga terbentuk suatu partikel yang berukuran nano (Candani *et al.* 2018). Prosesnya dengan menggunakan gelombang ultrasonik pada amplitudo 35% selama 10 menit dengan *pulse on* 1 menit dan *off* 1 menit rentang frekuensi 20 KHz -10 MHz.

C. Efisiensi Penjerapan dan *Drug Loading* NLC resveratrol

Efisiensi penjerapan suatu karakterisasi yang memberikan data berapa persen zat aktif yang berhasil dijerap oleh nanopartikel. *Drug Loading* membantu dalam mengetahui jumlah obat dalam 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 tabel Gambar 13.

Tabel 8. Hasil efisiensi penjerapan NLC resveratrol

Formula	efisiensi penjerapan (%)	SD
1	94,84	0,392
2	81,17	1,661
3	82,84	0,194
4	85,57	0,383



Gambar 13. Hasil efisiensi penjerapan (%) NLC resveratrol

Hasil perhitungan efisiensi penjerapan yang didapatkan pada formula 1 menunjukkan memiliki efisiensi penjerapan yang paling tinggi sebesar 94,12%, formula 2 mampu menyerap obat sebesar 81, 17%, formula 3 mampu menyerap obat sebesar 82,846% dan formula mampu menyerap obat sebesar 85,570%. Formula 1 atau panjang rantai asam miristat (C14) dengan asam oleat aras bawah (0,1) 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 asam oleat terhadap efisiensi penyerapan. Hasil pemeriksaan efisiensi penyerapan pada sistem NLC resveratrol dengan pendekatan secara *factorial design* dapat dilihat pada persamaan :

$$\text{efisiensi penyerapan (\%)} = 65,29 + 44,47 A - 17,20 B + 39,19 A.B$$

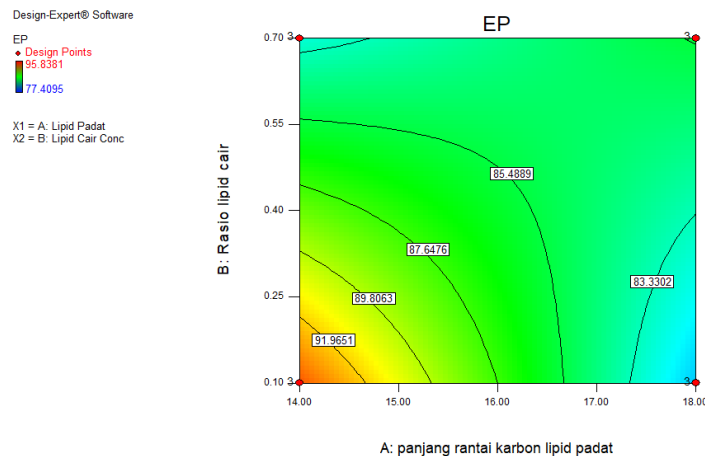
Keterangan :

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

B = konsentrasi asam oleat

Berdasarkan hasil persamaan diatas menunjukkan bahwa pada faktor perbedaan panjang rantai (asam miristat dan asam stearat) dapat meningkatkan efisiensi penyerapan sebesar (44,47). Faktor variasi konsentrasi asam oleat memberikan pengaruh penurunan efisiensi penyerapan (-17,20), pengaruh faktor panjang rantai (asam miristat dan asam stearat) lebih besar dibandingkan dengan faktor konsentrasi asam oleat, karena semakin panjang rantai lipid padat maka akan semakin meningkat kestabilannya terhadap sistem (Tuminah 2009), sedangkan konsentrasi asam oleat semakin besar konsentrasi yang digunakan maka mampu memberikan ruang untuk masuknya zat aktif (Hu *et al.* 2005).

Interaksi antar keduanya memberikan pengaruh peningkatan pada efisiensi penyerapan (39,19) pada sistem NLC resveratrol, sehingga interaksi antara kedua faktor tersebut merupakan interaksi sinergisme karena meningkatkan efisiensi penyerapan. Penggunaan surfaktan 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 penyerapan dilihat pada persamaan *contour plot* pada Gambar 14.



Gambar 14. Hasil *contour plot* efisiensi penyerapan (%) NLC resveratrol

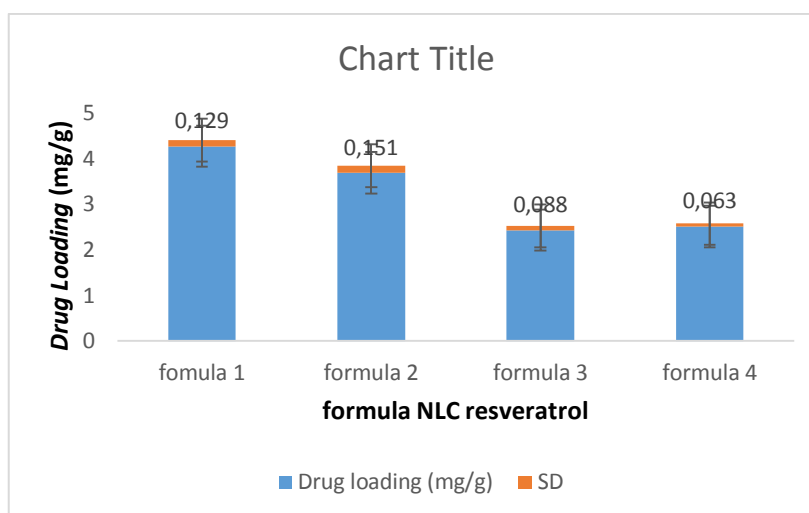
Hasil *contour plot* menunjukkan pengaruh pada asam miristat C14 dengan konsentrasi asam oleat aras bawah berwarna merah (0,1) terjadi peningkatan efisiensi penyerapan, aras atas pada konsentrasi asam oleat berwarna biru (0,7) dengan asam miristat C14 menunjukkan penurunan persentase obat yang terjerap, semakin meningkatnya konsentrasi asam oleat maka semakin rendah jumlah obat yang terjerap. Hasil asam stearat C18 dengan konsentrasi asam oleat aras bawah (0,1) berwarna biru menunjukkan penurunan efisiensi penyerapan dan konsentrasi asam oleat aras atas (0,7) menunjukkan peningkatan pada efisiensi penyerapan.

Berdasarkan hasil diatas keberadaan asam oleat pada matriks asam stearat dapat mengacak susunan kristal yang mengakibatkan penurunan derajat keteraturan kristal dan hal tersebut berakibat pada peningkatan efisiensi penyerapan. Berdasarkan penelitian ini pengaruh asam miristat semakin kecil konsentrasi asam oleat semakin meningkat efisiensi penyerapan begitupun sebaliknya, penggunaan surfaktan pada kadar yang lebih tinggi akan berkumpul membentuk agregat yang disebut misel dapat pula mempengaruhi permeabilitas membran tempat absorpsi obat karena surfaktan dan membran mengandung komponen penyusun yang sama (Attwood & Florence, 1985; Sudjaswadi, 1991) sehingga pengaruh pada surfaktan juga dapat mempengaruhi efisiensi penyerapan. Pengaruh asam stearat semakin kecil konsentrasi asam oleat maka semakin menurun efisiensi penyerapan begitupun sebaliknya (Woo *et al.* 2005). *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	4,27	0,129
2	3,69	0,151
3	2,43	0,088
4	2,51	0,063



Gambar 15. Hasil perhitungan *Drug loading* NLC resveratrol

Hasil *drug loading* pada sistem NLC-RSV pada formula 1 menunjukkan hasil *drug loading* paling besar dengan hasil 4,278 mg/gram, formula 2 mampu mendapatkan hasil *drug loading* sebesar 3,690 mg/gram, formula 3 mampu mendapatkan hasil *drug loading* sebesar 2,437 mg/gram dan formula 4 mampu mendapatkan hasil *drug loading* sebesar 2,517 mg/gram. Berdasarkan analisis hasil uji *drug loading* dapat 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 *drug loading* pada sistem NLC resveratrol dengan pendekatan secara *factorial design* dapat dilihat pada persamaan :

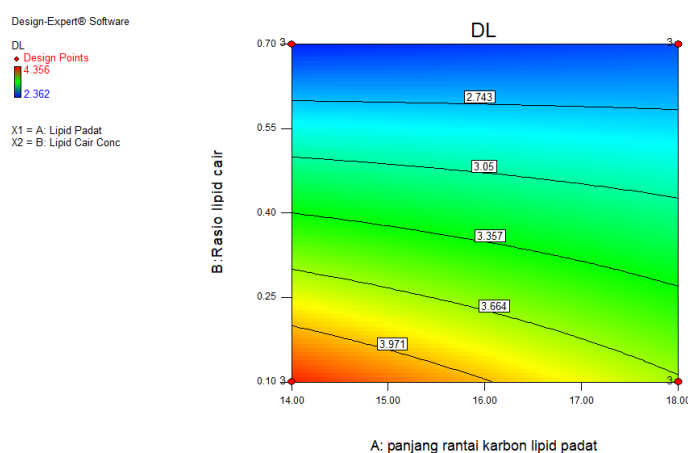
$$\text{Drug load (mg/gram)} = -5,81 + 1,88 A - 7,54 B + 1,67 A \cdot B$$

Keterangan :

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

B = konsentrasi asam oleat

Berdasarkan hasil persamaan diatas pada faktor perbedaan panjang rantai (asam miristat dan asam stearat) menunjukkan penurunan pada jumlah *drug loading* (1,88). Faktor variasi konsentrasi asam oleat menunjukkan penurunan jumlah *drug loading* (7,54) sehingga pengaruh asam oleat lebih besar memberikan pengaruh terhadap *drug loading*. dan interaksi antara keduanya menunjukkan pengaruh peningkatan jumlah *drug loading* (1,67) dengan interaksi sinergisme yang artinya kedua faktor tersebut mampu meningkatkan *drug loading* dari NLC resveratrol. Hasil *drug loading* persamaan *contour plot* dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Hasil *contour plot drug loading* (mg/gram) NLC resveratrol

Hasil *counter plot* pada *drug loading* menunjukkan bahwa pengaruh pada asam miristat C14 bersama konsentrasi asam oleat pada aras bawah (0,1) memberikan pengaruh peningkatan jumlah drug load, sedangkan pada aras atas (0,7) menunjukkan bahwa pengaruh asam oleat memberikan penurunan pada drug load. Panjang rantai asam stearat C18 bersama dengan konsentrasi asam oleat pada aras bawah (0,1) menunjukkan pengaruh yang sama dengan asam miristat bahwa meningkatkan drug load, sedangkan pada konsentrasi asam oleat aras atas menunjukkan penurunan terhadap *drug loading*.

Hal ini menunjukkan bahwa pada campuran antara lipid padat asam miristat, asam stearat dan asam oleat dapat menghasilkan rantai lipid yang berbeda dari bentuk aslinya. Rantai lipid tersebut dapat memberikan bentuk kristal

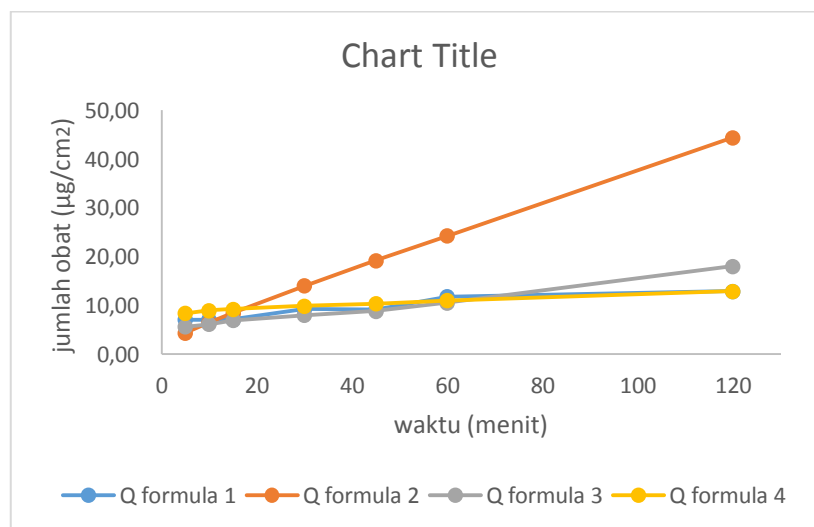
yang kurang sempurna, sehingga memberikan ruang didalam kristal yang lebih besar. Ruang kristal yang membesar tersebut dapat mengakomodasi obat lebih besar sehingga efisiensi penyerapan yang dihasilkan semakin besar (Soute & Muller. 2007). Berdasarkan penelitian ini bahwa pada formula 1 mempunyai drug load yang cukup tinggi yaitu asam miristat C14 dengan konsentrasi asam oleat aras bawah (0,1).

D. Hasil pelepasan Obat NLC resveratrol

Uji pelepasan obat merupakan metode secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan metode kantung dialisis. Metode kantung dialisis adalah 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 didalam 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	7,11	4,44	5,65	8,39
10	7,13	6,50	6,17	8,98
15	7,18	8,45	6,98	9,29
30	9,25	14,07	8,03	9,90
45	9,17	19,25	8,85	10,41
60	11,80	24,25	10,60	11,02
120	12,95	44,42	18,05	12,95



Gambar 17. Hasil pelepasan obat NLC resveratrol

Berdasarkan hasil diatas formula 2 menunjukkan pelepasan obat yang paling besar terlepasnya suatu obat. 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 :

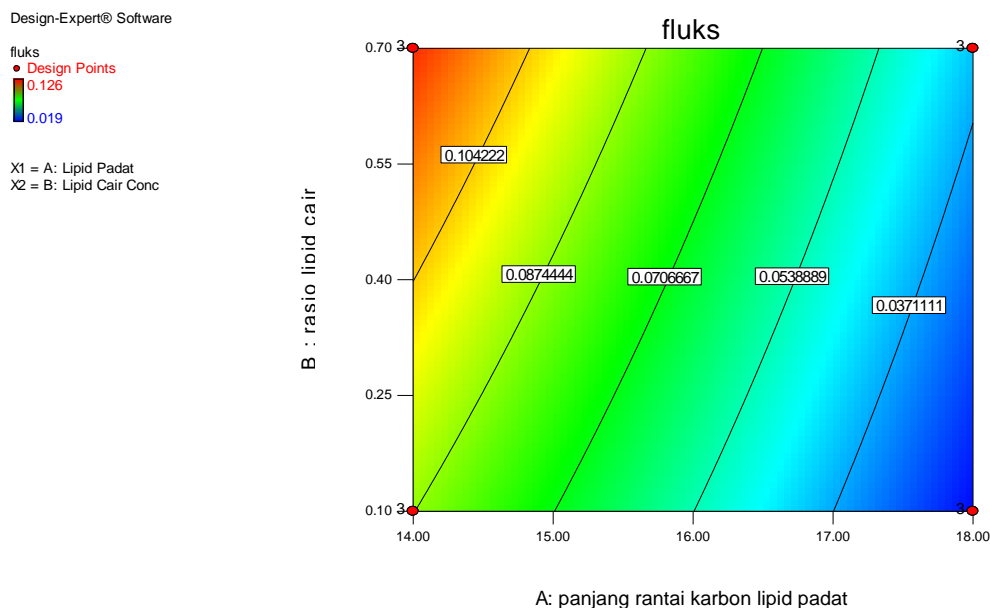
$$\text{pelepasan obat } (\mu\text{g}/\text{cm}^2) = 0,23 - 0,077 A + 0,13 B - 0,033 A \cdot B$$

Keterangan :

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

B = konsentrasi asam oleat

Berdasarkan hasil persamaan diatas pada faktor perbedaan panjang rantai asam miristat dan asam stearat menunjukkan penurunan pada jumlah pelepasan obat (-0,077). Faktor variasi konsentrasi asam oleat menunjukkan peningkatan jumlah pelepasan obat (0,13) dan interaksi antara keduanya menunjukkan pengaruh penurunan jumlah pelepasan obat (-0,033). Hasil pelepasan obat dapat dilihat pada persamaan counter plot. persamaan drug load dapat dilihat pada Gambar 18.



Gambar 18. Hasil Counter plot pelepasan obat NLC resveratrol

Hasil *contour plot* menunjukkan bahwa pengaruh asam miristat (C14) dengan asam oleat aras bawah (0,1) menurunkan jumlah pelepasan obat (0,087) dibandingkan dengan asam oleat aras atas (0,7) mampu meningkatkan jumlah pelepasan obat (0,104). Asam stearat (C18) dengan asam oleat aras bawah (0,1) menunjukkan bahwa penurunan pada jumlah pelepasan obat sedangkan asam oleat aras atas menunjukkan peningkatan pelepasan obat. Hasil contour plot menunjukkan bahwa asam miristat (C14) dengan asam oleat aras atas (0,7) lebih besar jumlah pelepasan obat dibandingkan dengan asam miristat dengan asam oleat aras bawah (0,1) dan asam stearat dengan asam oleat aras atas maupun aras bawah.

Hal tersebut menunjukkan bahwa sistem NLC-RSV dengan asam miristat (C14) dilepaskan dengan cepat dibandingkan dengan asam miristat (C18) dan variasi konsentrasi asam oleat dengan aras tinggi (0,7) lebih besar jumlah pelepasan nya bersama asam miristat dibandingkan dengan asam oleat pada aras bawah (0,1). Asam stearat (C18) lebih besar pelepasannya dengan asam oelat aras atas (0,7) dibandingkan dengan aras bawah (0,1), tetapi perbandingan panjang rantai lipid padat terhadap pelepasan obat menunjukkan bahwa asam miristat

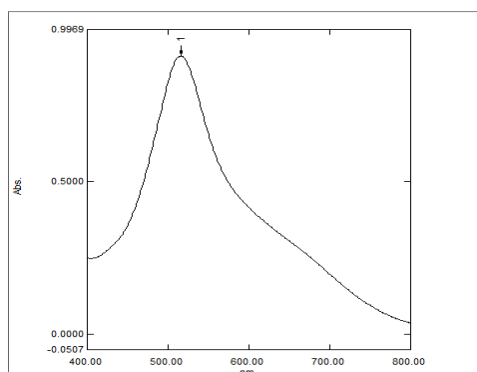
(C14) lebih besar memberikan pengaruh pelepasan obat daripada asam stearat (C18).

Berdasarkan hasil penelitian diatas bahwa rasio lipid cair dan perbandingan lipid padat terutama pada pelepasan obat dapat mempengaruhi terhadap kapasitas dan pelepasan senyawa bioaktif yang akan dibawa dalam sistem NLC. Perlakuan tersebut saling terkait, bahwa konsentrasi lipid yang lebih tinggi dapat berpengaruh pada efisiensi enkapsulasi dari senyawa bioaktif yang dibawa. Semakin tinggi konsentrasi lipid, semakin tinggi muatan senyawa bioaktif yang dibawa dan berimplikasi pada efisiensi aplikasi NLC. 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 asam oleat aras atas (0,7) 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*)

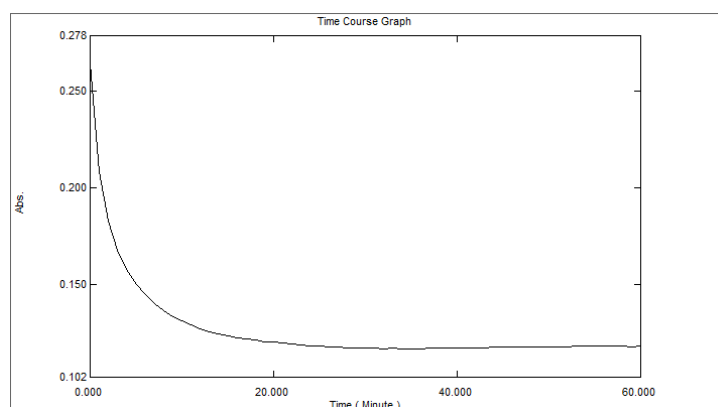
Panjang gelombang maksimum dipilih berdasarkan panjang gelombang yang dapat memberikan absorbansi DPPH maksimal. Penelitian ini dilakukan pengamatan absorbansi pada panjang gelombang 400-600 nm. Hasil panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada gambar panjang gelombang maksimum DPPH dapat dilihat pada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



Gambar 19. Hasil panjang gelombang maksimum larutan DPPH

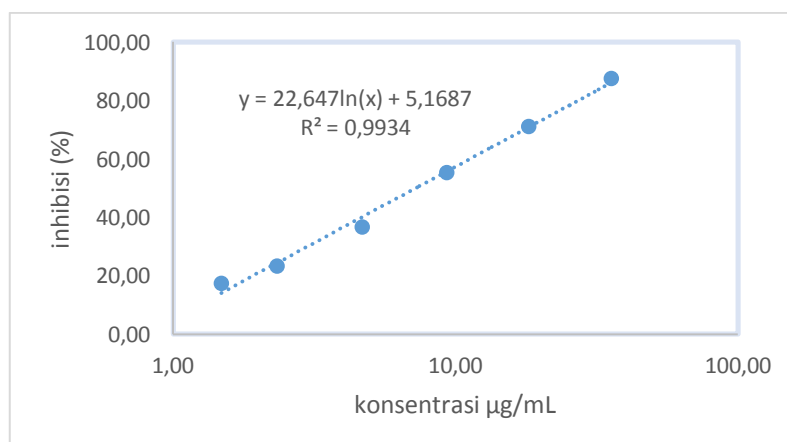
Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum yang didapat adalah 516 nm dengan serapan 0,909. Panjang gelombang maksimum DPPH secara teoritis

diperoleh 517 nm, sehingga yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 516 nm., kemudian ditentukan penetapan *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 20. Hasil *Operating time* dengan metode DPPH

Hasil penetapan *operating time* DPPH menunjukkan bahwa pada menit ke-29 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.



Gambar 21. Hasil kurva baku pada resveratrol dengan metode DPPH.

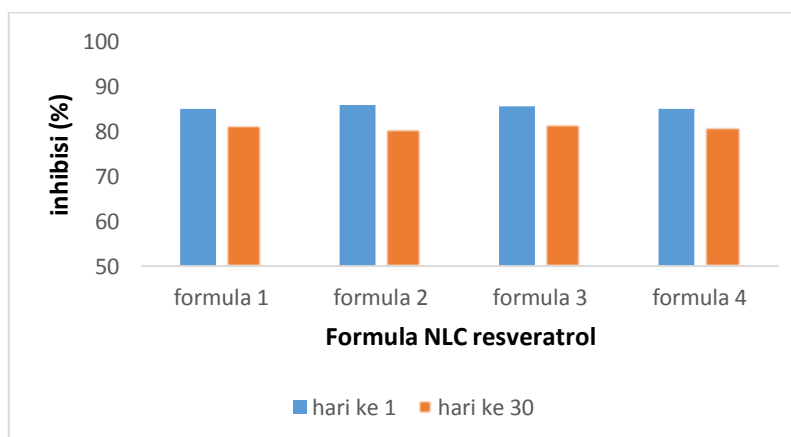
Hasil tersebut diperoleh persamaan regresi linier yang digunakan untuk menghitung aktivitas antioksidan. Parameter dari metode DPPH ini adalah nilai *inhibition concentration* 50% (IC_{50}) atau konsentrasi yang dapat meredam aktivitas radikal bebas sebesar 50% (Widyasanti *et al.* 2016). Nilai linearitas 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 (Jun 2006).

2. Hasil uji aktivitas antioksidan NLC resveratrol

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

Tabel 11. Hasil uji aktivitas antioksidan NLC resveratrol

No.	Formula	Hari ke 1	Hari ke 30
1	formula 1	84,97	81,33
2	formula 2	85,80	80,41
3	formula 3	85,50	81,59
4	formula 4	85,05	80,89



Gambar 22. Hasil uji aktivitas antioksidan NLC resveratrol

Berdasarkan hasil Gambar diatas pada uji aktivitas antioksidan NLC hari ke-1 formula 2 menunjukkan aktivitas antioksidan paling tinggi (85,80%), kemudian formula 3 (85,50%), formula 4 (85,05%) dan formula 1 menunjukkan

aktivitas antioksidan paling rendah (84,97%) 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 (81,33%), formula 2 (80,41%), formula 3 (81,59%) dan formula 4 (80,89%).

Penurunan aktivitas antioksidan tersebut menunjukkan bahwa ada perubahan selama penyimpanan bahwa faktor panjang rantai lipid padat (asam miristat dan asam stearat) dan faktor konsentrasi asam oleat 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 :

$$\text{inhibisi (\%)} = 84,65 - 3,76 A - 0,57 B - 3,21 A.B$$

Keterangan :

Y = inhibisi (%)

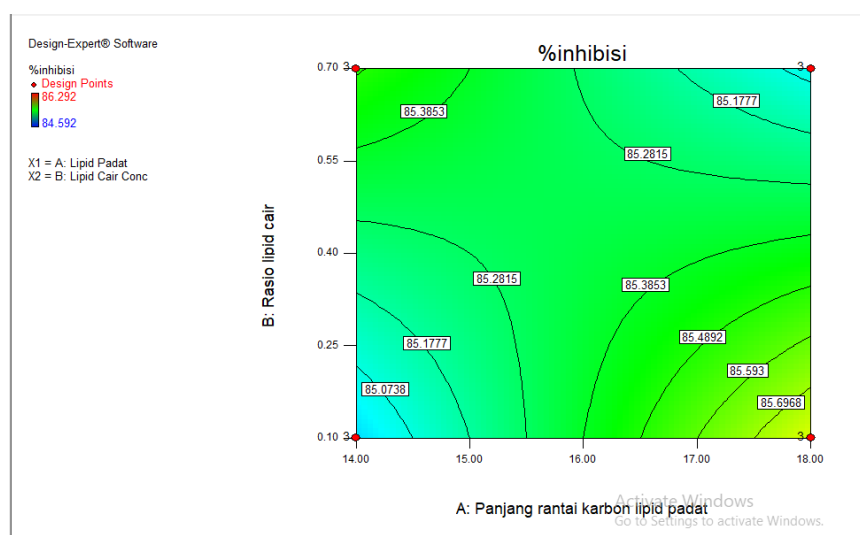
A = panjang rantai lipid padat (asam miristat dan asam stearat)

B = konsentrasi asam oleat

Persamaan menunjukkan pengaruh masing-masing faktor perbedaan panjang rantai lipid padat (asam miristat dan asam stearat), konsentrasi asam oleat dan interaksi keduanya terhadap aktivitas antioksidan. Hasil koefisien regresi menunjukkan bahwa faktor panjang rantai (asam miristat dan asam stearat) menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan sebesar (-3,76). Faktor pada variasi konsentrasi asam oleat memberikan pengaruh penurunan aktivitas antioksidan sebesar (-0,57). Hal tersebut menunjukkan bahwa faktor panjang rantai lipid padat

(asam miristat dan asam stearat) lebih besar memberikan pengaruh penurunan aktivitas antioksidan. Interaksi antara perbedaan kedua faktor memberikan penurunan pada aktivitas antioksidan sebesar (-3,21), sehingga pengaruh interaksi panjang rantai lipid padat (asam miristat dan asam stearat) dan konsentrasi asam oleat mengalami interaksi antagonis (saling berlawanan).

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 23. Hasil *Contour plot* aktivitas antioksidan NLC-RSV

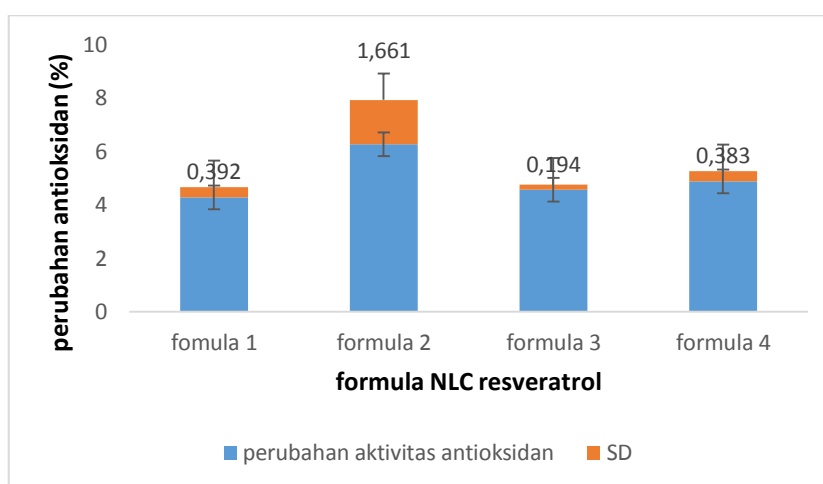
Contour plot ditunjukkan perubahan warna dari biru ke hijau, plot yang berwarna biru menunjukkan bahwa penurunan pada aktivitas antioksidan, sedangkan berwarna hijau sampai ke merah menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas antioksidan terhadap perbedaan panjang rantai lipid padat (asam miristat dan asam stearat) dan variasi konsentrasi asam oleat. Asam miristat dengan panjang rantai C14 berinteraksi dengan konsentrasi asam oleat yang aras bawah 0,1 menunjukkan warna biru yaitu bahwa dapat mempengaruhi penurunan aktivitas antioksidan sebesar (85,073%), konsentrasi aras atas 0,7 pada asam oleat,

memberikan warna hijau menunjukkan bahwa dapat meningkatkan aktivitas antioksidan sebesar (85,385%).

Panjang rantai asam stearat C18 berinteraksi dengan konsentrasi asam oleat aras bawah 0,1 berwarna hijau hingga kuning menunjukkan bahwa peningkatan pada aktivitas antioksidan sebesar (85,696%), sedangkan dengan konsentrasi aras atas 0,7 menunjukkan warna biru sehingga dapat mempengaruhi penurunan aktivitas antioksidan sebesar (85,177%). 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 12. Hasil perubahan aktivitas antioksidan NLC resveratrol

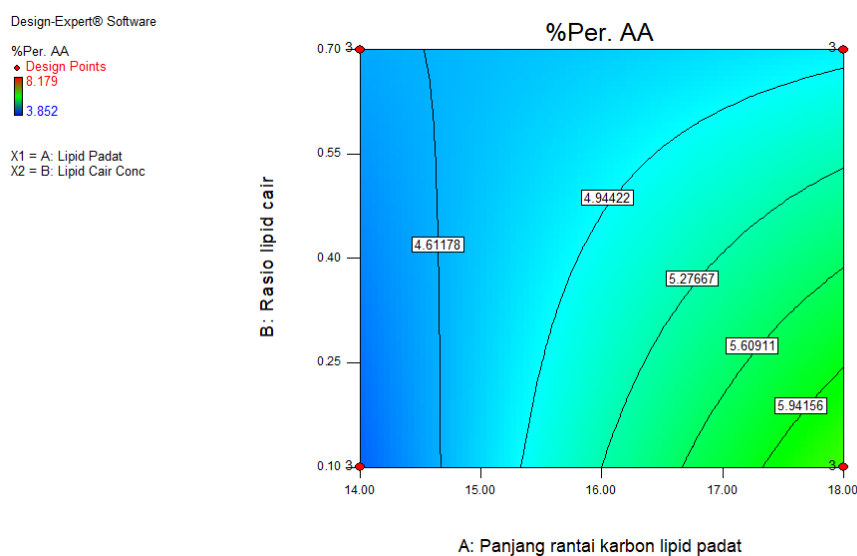
Formula	perubahan aktivitas antioksidan (%)	SD
1	4,280	0,392
2	6,275	1,661
3	4,571	0,194
4	4,884	0,383



Gambar 24. 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 4,28%, sedangkan formula 2 menunjukkan perubahan aktivitas antioksidan sebesar 6,27%, formula 3 menunjukkan perubahan aktivitas antioksidan sebesar 4,88%. Hal ini menunjukkan bahwa pada formula 1 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 tidak ada perbedaan yang bermakna (tidak signifikan) ($p > 0,05$) sehingga perubahan aktivitas antioksidan menunjukkan tidak ada pengaruh dari faktor panjang rantai (asam miristat dan asam stearat) dan faktor konsentrasi asam oelat yang bermakna. Hasil perubahan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada persamaan *contour plot* pada Gambar 25.



Gambar 25. Hasil perubahan aktivitas antioksidan (%)

Hasil *contour plot* menunjukkan bahwa perbedaan panjang rantai asam miristat C14 berinteraksi dengan asam oleat aras bawah maupun aras atas tidak berubah warna sehingga tidak mempengaruhi efek antioksidan. Panjang rantai asam miristat C18 menunjukkan perubahan warna pada aras bawah 0,1 asam oleat

menunjukkan bahwa peningkatan pada perubahan aktivitas antioksidan (5,941%) aktivitas antioksidan mengalami penurunan aktivitas antioksidan. Aras atas menunjukkan perubahan warna menjadi biru sehingga terjadi penurunan pada perubahan aktivitas antioksidan (4,944%).