



9 772686 250000

e-ISSN : 2686-2506



Formulasi dan Evaluasi Granul Instan Ekstrak Etanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*) sebagai Antioksidan

Reza Pratama*, Muhamad Reza Pahlevi, Rahmat Santoso, Tri Muhamad Rafli,

Farmasetika dan Teknologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana, Jawa Barat,
Indonesia

*E-mail: reza.pratama@bku.ac.id

(Submit 04/03/2023, Revisi 19/03/2023, Diterima 15/04/2024, Terbit 17/04/2024)

Abstrak

Meningkatnya polusi udara dapat menyebabkan masyarakat rentan akan terpaparnya penyakit infeksi saluran pernafasan bawah dan atas yang diakibatkan oleh paparan dari radikal bebas. Perlu upaya untuk menekan resiko terpapar oleh radikal bebas, salah satunya dengan memanfaatkan dari bahan alam. Daun kenikir merupakan tumbuhan yang secara empiris sering digunakan sebagai sayuran yang berpotensi memiliki khasiat antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan suatu formula sediaan granul instan menggunakan ekstrak etanol daun kenikir yang memenuhi syarat fisik dan memiliki aktivitas antioksidan. Menentukan formula optimum pada penelitian ini menggunakan *software design expert* dan dalam preparasinya granul instan ekstrak daun kenikir sebagai menggunakan metode granulasi basah. Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun kenikir dengan nilai IC_{50} yaitu 50,98 $\mu\text{g/mL}$, sediaan granul dengan pengikat PVP sebesar $58,54 \pm 0,46 \mu\text{g/mL}$ dan sediaan granul dengan pengikat CMC sebesar $59,59 \pm 0,27 \mu\text{g/mL}$. Hasil pada uji kualitatif menggunakan plat KLT menunjukan hasil positif antioksidan pada ekstrak dan sediaan granul instan dengan timbulnya bercak kuning setelah di semprot DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazy). Hasil dari evaluasi dapat disimpulkan bahwa sediaan granul instan ekstrak daun kenikir menunjukan semua formula memenuhi syarat uji fisik granul dan memiliki aktivitas antioksidan dan termasuk kedalam nilai IC_{50} dengan kategori kuat.

Kata kunci : Antioksidan, *Carboxy Methyl Celulosa* (CMC), Ekstrak daun kenikir, Granul Instan, Polivinil Pirolidon (PVP)

Pendahuluan

Udara dengan kualitas yang tidak sehat dapat menyebabkan masyarakat rentan akan terpapar senyawa radikal bebas yang bisa berdampak pada kesehatan masyarakat (1). Radikal bebas yaitu sejenis gugus atom atau partikel yang tidak memiliki pasangan elektron, dan tidak semua elektron dapat berpasangan (2). Oleh sebab itu diperlukanlah senyawa yang dapat mencegah radikal bebas dalam tubuh yaitu dengan antioksidan. Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa inhibitor atau senyawa yang menghambat proses terjadinya oksidasi. Antioksidan berfungsi salah satunya bisa melindungi sel dari serangan radikal bebas yang merusak dengan cara menerima salah satu elektron ataupun mendonorkan salah satu elektron dari radikal bebas yang pada awalnya tidak stabil menjadi stabil (3). Setiap orang membutuhkan antioksidan dalam tubuhnya. Secara alami, tubuh setiap orang memproduksi antioksidan untuk menyeimbangkan jumlah radikal bebas yang merusak. Namun, karena masuknya radikal bebas dalam tubuh tidak seimbang dengan jumlah antioksidan yang ada di dalam tubuh, diperlukan tambahan antioksidan dari luar tubuh, baik itu bahan alami maupun sintetik. Namun, penggunaan antioksidan sintetik dibatasi menurut aturan pemerintah karena kelebihan penggunaan dapat menjadi racun dalam tubuh. Oleh karena itu, penting untuk mengembangkan antioksidan dari bahan alami sebagai sumber antioksidan alami (4).

Tanaman yang diduga kuat memiliki aktivitas antioksidan alami yaitu daun kenikir (*Cosmos caudatus*). Daun kenikir disebut tanaman tropis, berasal dari benua amerika dan mudah didapati di negara asia tenggara salah satunya indonesia. Secara empiris daun kenikir di Indonesia sering digunakan sebagai sayuran, masyarakat Jawa sering menggunakan kenikir sebagai lalapan dalam makanan pecel (5). Tanpa disadari daun kenikir memiliki khasiat antioksidan yang bagus.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Widiyantoro dan Harlia (2020) bahwa ekstrak daun kenikir memiliki nilai IC₅₀ sebesar 12,5 µg/mL dan nilai tersebut dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat karena <50 µg/mL. Kandungan metabolit sekunder yang diduga memiliki aktivitas antioksidan yaitu flavonoid. Metabolit sekunder golongan flavonoid sebagai antioksidan dengan bekerja secara langsung yaitu dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas, sedangkan mekanisme secara tidak langsung yaitu dengan meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme (6). Dari penelitian yang sudah dilakukan oleh (Wahyuni et al., 2018) nilai IC₅₀ ekstrak daun kenikir didapat nilai IC₅₀ sebesar 52,81 µg/mL yang termasuk golongan antioksidan kuat (7). Jika nilai antioksidan dengan IC₅₀ <50 µg/mL dikategorikan sangat kuat.

Ekstrak daun kenikir dapat berpotensi dibuat menjadi sediaan berbentuk granul instan yang diberikan secara oral. Hal ini dikarenakan pemberian oral telah menjadi metode pengobatan yang paling populer dan nyaman bagi pasien. Dapat dilihat dari sediaan granul instan yang mempunyai beberapa keunggulan diantaranya lebih stabil ketika disimpan pada jangka waktu lama, dan sediaan granul juga dapat memperbaiki sifat alir. Selain itu sediaan ini juga memiliki keuntungan lebih praktis dengan cara diseduh (8,9).

Granulasi adalah proses memperbesar ukuran partikel dengan tujuan untuk meningkatkan flowabilitas (10). Granulasi basah adalah metode yang sering digunakan dalam pembuatan sediaan granul, dengan mencampurkan partikel kecil bahan aktif dengan eksipien yang menjadikan partikelnya berukuran lebih besar serta penambahan zat pengikat yang sesuai dengan literatur sehingga dapat terjadi masa lembab yang bisa digranulasi. Keuntungan metode granulasi basah antara lain memberikan kemampuan mengalir yang baik, meningkatkan kompresibilitas, mengontrol pelepasan, memastikan distribusi partikel secara merata, dan meningkatkan laju disolusi (11).

Berdasarkan permasalahan tersebut peneliti tertarik untuk membuat ekstrak daun kenikir menjadi sediaan berbentuk granul instan yang memiliki khasiat sebagai antioksidan yang praktis. Pembuatan granul instan ekstrak daun kenikir dengan beberapa formula yang bertujuan untuk mendapatkan hasil yang memenuhi syarat uji fisik granul. Granul instan yang telah di buat akan dievaluasi sifat fisik dengan uji laju alir, uji kadar air, uji kerapatan ruahan dan indeks kompresibilitas, uji waktu larut, penetapan pH, dan akan diujikan sifat antioksidan dengan metode KLT dan DPPH.

Metode

Alat

Mesh 12 dan 16 (Metec), Mortir dan stemper, batang pengaduk, kertas saring, pipet tetes, timbangan analitik (As R1 Plus), spatel, stopwatch (Seiko S2360IP), oven (Multitech), *granul flow tester* (Erweka), *tap density tester* (ETD-1020), pH meter (Mettler toledo), chamber, plat KLT (Merck GF 254), pipa kapiler, botol semprot, spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu UV-1800 UV/Visible), Plat KLT, dan alat gelas kaca (Pyrex) yang biasa digunakan di lab

Bahan

Ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus*) yang diperoleh dari Lansida Herbal (Yogyakarta) dan zat tambahan/eksipien yaitu polivinil pirolidon (PVP) (Anhui Sunhere Pharmaceutical, China), *carboxy methyl cellulose* (CMC) (Changsu Wealthy Science and Technology, China), Stevia, Maltodekstrin (Qinhuangdao Lihua Starch, China), Laktosa (DFE Pharma, India), etanol 96% (Merck, Germany). Pengujian khasiat antioksidan menggunakan serbuk DPPH (Sigma Aldrich, USA), Vitamin C (Merck, Germany), methanol (Merck, Germany).

Prosedur Rinci

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan dalam beberapa pengujian meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, tannin, dan steroid/triterpenoid (12,13).

Uji Alkaloid

Ditimbang ekstrak daun kenikir sebanyak 2 gram ditambah amonia dan kloroform

kemudian disaring dan ditambah HCl. Hasil saringan ditambahkan dengan 3 tetes reagen dragendrof. Hasil positif menunjukkan bila adanya perubahan warna menjadi merah bata atau merah jingga.

Uji Flavonoid

Ditimbang ekstrak daun kenikir sebanyak 0,1 gram dan ditambah 0,1 mg serbuk Mg, dan HCl pekat. Terbentuknya merah bata atau ungu menandakan positif flavonoid.

Uji Saponin

Ditimbang ekstrak daun sebanyak 0,1 gram kemudian ditambah 10 mL aquadest kemudian dikocok selama 30 detik + HCl. Terbentuknya busa menunjukkan positif saponin.

Uji Kuinon

Ditimbang ekstrak daun kenikir sebanyak 0,1 gram kemudian ditambah NaOH 1N. Terbentuknya warna merah menandakan positif kuinon.

Uji Tanin

Ditimbang ekstrak daun kenikir sebanyak 0,1 gram kemudian ditambah 2 mL FeCl_3 1%. Terjadinya perubahan warna hijau kehitaman atau biru tua, menunjukkan positif tanin.

Uji Steroid/Triterpenoid

Ditimbang ekstrak daun kenikir sebanyak 0,1 gram kemudian ditambah 2 tetes asam asetat anhidrat kemudian ditambah 1 tetes H_2SO_4 pekat. Perubahan warna hijau menunjukkan positif steroid, dan apabila perubahan warna menjadi ungu atau merah itu menunjukkan positif triterpenoid.

Rancangan formula

Formula disusun menggunakan *software Design Expert* untuk menentukan formula yang paling optimal. Didapatkan 5 formula dari penggunaan PVP dan 5 formula dari penggunaan CMC. Dari 5 formula diambil 3 formula dengan konsentrasi paling sedikit, sedang dan paling banyak. Dan dari 3 formula yang sudah diformulasikan akan dipilih 1 formula untuk dibuat dalam 3 bets. Dari hasil desain expert didapatkan hasil 3 formula dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Bahan	Fungsi	Komposisi % (b/b)					
		F1	F2	F3	F4	F5	F6
Ekstrak Daun Kenikir	Bahan Aktif	18	18	18	18	18	18
PVP	Pengikat	5	2,75	0,5	-	-	-
CMC	Pengikat	-	-	-	1	3,25	5,5
Stevia	Pemanis	10	10	10	10	10	10
Maltodextrin	Peningkat kelarutan	2	2	2	2	2	2
Laktosa	Pengisi	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100
Total		100	100	100	100	100	100

Pembuatan Granul Instan

Granul dengan pengikat PVP

Ditimbang ekstrak kental daun kenikir (*Cosmos caudatus*) serta bahan tambahan/eksipten, kemudian dimasukan ekstrak ke dalam mortir lalu ditambah laktosa dan maltodektrin kemudian diaduk hingga ekstrak kental menjadi kering. Ditambahkan stevia dan diaduk hingga homogen, kemudian ditambahkan PVP lalu diaduk hingga merata, selanjutnya ditetaskan etanol 96% secukupnya hingga terbentuk masa kepal. Diayak masa kepal menggunakan mesh 12 hingga terbentuk granul dan simpan pada wadah yang datar. Dikeringkan granul menggunakan oven pada suhu 40° C selama 24 jam dan diayak kembali granul dengan menggunakan mesh 16 (14).

Granul dengan pengikat CMC

Ditimbang CMC dan dibuat hingga terbentuk mucilago, kemudian ditimbang ekstrak kental daun kenikir (*Cosmos caudatus*) serta bahan tambahan/eksipten. Dimasukkan ekstrak kental ke dalam mortir kemudian ditambahkan laktosa dan maltodektrin, selanjutnya diaduk hingga ekstrak kental menjadi kering. Ditambahkan stevia, diaduk hingga homogen dan ditambahkan Mucilago CMC kemudian diaduk hingga homogen. Selanjutnya ditetaskan etanol 96% secukupnya hingga terbentuk masa kepal. Diayak masa kepal menggunakan mesh 12 hingga terbentuk granul dan simpan pada wadah yang datar. Dikeringkan granul menggunakan oven pada suhu 40° C selama 6 jam dan diayak kembali granul menggunakan mesh 16 (14,15).

Evaluasi Sediaan Granul Instan

Uji Organoleptik

Diamati granul dengan beberapa parameter seperti warna, bentuk, rasa dan aroma (8).

Uji Loss on Drying

Ditimbang sampel granul yang sudah kering sebanyak 2 gram, dimasukan ke dalam alat *moisture balance*. Ditunggu 3-5 menit, kemudian dicatat hasil yang tertera pada alat dengan syarat $\leq 3\%$ (16).

Uji laju alir

Ditimbang granul sebanyak 100 gram dan dimasukan ke dalam corong pada alat granul *flow tester*, dibuka penutup bawah corong dan dihitung waktu jatuhnya granul menggunakan *stopwatch* (17).

Uji kerapatan ruahan, kerapatan mampat dan indeks kompresibilitas

Dimasukan granul ke dalam gelas ukur 250 mL kemudian dicatat ketinggian awalnya, setelah itu diketukan gelas ukur perlahan sekitar 1250 kali dan dicatat volumenya. Setelah itu didapat bobot granul setelah mampat dan dihitung bj nyata dan mampat dengan rumus (18):

$$\text{Kerapatan nyata} = \frac{\text{Bobot Granul (g)}}{\text{Volume Granul (mL)}}$$

$$\text{Kerapatan mampat} = \frac{\text{Bobot Granul (g)}}{\text{Volume Mampat (mL)}}$$

$$\text{Indeks Kompresibilitas} = \frac{\text{Kerapatan mampat} - \text{Kerapat nyata}}{\text{Kerapatan mampat}} \times 100\%$$

Uji waktu larut

Ditimbang granul 10 gram kemudian dimasukan ke dalam *beaker glass* ditambahkan dengan air 250 mL, kemudian diamati hingga granul melarut sempurna, hitung waktu larut dengan menggunakan *stopwatch* dan dicatat hasil yang didapat (19,20).

Uji pH

Ditimbang granul sebanyak 4 gram dan dilarutkan menggunakan 150 mL air, kemudian diukur pH menggunakan alat pH meter dan dicatat nilai pH yang didapatkan (18).

Pengujian Aktivitas Antioksidan

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Dilarutkan ekstrak etanol daun kenikir dengan etanol kemudian ditotolkan dengan pipa kapiler diatas lempeng silika gel F₂₅₄. Setelah ditotol dielusi lempeng menggunakan

eluen yang tepat, selanjutnya disemprotkan larutan DPPH, kemudian dibiarkan lempeng selama beberapa menit untuk diamati munculnya bercak dan profil KLT pada sinar UV 254 nm dan 366 nm (21).

Uji Kadar Antioksidan (DPPH)

Pembuatan larutan DPPH

Ditimbang DPPH ditimbang 5 mg setelah itu dilarutkan menggunakan 50 mL metanol p.a pada labu ukur dikocok hingga homogen dan didapat konsentrasi 100 µg/mL. Kemudian diamkan dalam wadah yang gelap sambil ditutup dengan aluminium foil untuk segera bisa digunakan (22).

Pembuatan Larutan Blanko

Dibuat larutan blanko dengan cara dipipet sebanyak 1 mL metanol p.a lalu dimasukan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL larutan DPPH. Kemudian ditambahkan 2 mL metanol p.a diaduk homogen. Setelah itu diinkubasi larutan pada suhu 37° C selama kurang lebih 30 menit. Selanjutnya diukur serapan larutan blanko menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 515-520 nm (23).

Penentuan panjang gelombang DPPH

Diambil Larutan DPPH sebanyak 100 µg/mL dimasukan pada wadah yang sudah dilapisi dengan aluminium foil agar terlindung dari cahaya. Larutan DPPH baru harus dibuat untuk setiap pengujian. Dilihat serapannya dengan alat spektrofotometer UV-Vis untuk penentuan spektrum larutan pada panjang gelombang 400-800 nm. Rentang untuk panjang gelombang maksimum larutan DPPH pada rentang 515-520 nm (22).

Pembuatan larutan uji

Ditimbang ekstrak sebanyak 10 mg lalu dilarutkan dengan methanol p.a sebanyak 20 mL kemudian diaduk hingga homogen, konsentrasi yang didapatkan sebesar 500 µg/mL. Dibuat rangkaian konsentrasi larutan dengan konsentrasi 20, 30, 40, 50, 60 dan 70 µg/mL (22).

Penentuan larutan pembanding Vitamin C

Ditimbang vitamin C sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan methanol p.a sebanyak 20 mL menggunakan labu ukur pada konsentrasi 500 µg/mL. Kemudian disiapkan larutan dengan kisaran konsentrasi 5, 6, 7, 8, 9 dan 10 µg/mL (22).

Pengujian ekstrak antioksidan

Dipipet larutan pembanding dan larutan uji sebanyak 1 mL kemudian dimasukan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan sebanyak 2 mL methanol p.a dan larutan DPPH sebanyak 1 mL kemudian larutan diaduk hingga homogen. Diinkubasi larutan pada suhu

37° C selama 30 menit lalu diukur serapannya menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm (22).

Penentuan inhibisi dan nilai IC₅₀

Persen inhibisi dihitung dengan persamaan :

$$\%Inhibisi = \frac{Absorbansi\ Kontrol - Absorbansi\ Sampel}{Absorbansi\ Kontrol}$$

Nilai IC₅₀ secara persamaan regresi linear dari $y=bx+a$.

Keterangan:

x: Konsentrasi (µg/mL)

y: % inhibisi

Hasil

Penapisan Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak daun kenikir. Pengujian dilakukan secara kualitatif dengan melihat perubahan warna pada ekstrak yang telah ditambahkan reagen, yang diujikan meliputi uji flavonoid, alkaloid, saponin, kuinon, tannin dan steroid/alkaloid. Hasil pemeriksaan kandungan metabolit sekunder dapat dilihat pada **Tabel 2**. Hasil dari penapisan fitokimia ekstrak daun kenikir positif mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti Flavonoid, Alkaloid, Saponin, Kuinon, Tanin dan Steroid/Triterpenoid.

Tabel 2 Penapisan Fitokimia

Senyawa Fitokimia	Hasil Penapisan	
	Ekstrak	Referensi
Flavonoid	(+)	(+)
Alkaloid	(+)	(+)
Saponin	(+)	(+)
Kuinon	(+)	(+)
Tanin	(+)	(+)
Steroid/Triterpenoid	(+)	(+)

Uji Organoleptik

Beberapa parameter pengujian bahwa hasil formula PVP dan CMC tidak menunjukkan perbedaan dari mulai bentuk yang berbentuk granul, aroma yang tercium khas ekstrak daun kenikir, warna dari sediaan granul yang diformulasikan berwarna hijau, aroma khas ekstrak dan memiliki rasa pahit yang berasal dari ekstrak daun kenikir. Pemanis stevia masih memerlukan peningkatan konsentrasi untuk dapat menutupi rasa pahit.

Evaluasi Granul

Berdasarkan hasil evaluasi granul tanpa ekstrak (**Tabel 3**), PVP dengan dengan konsentrasi paling besar memiliki nilai kompresibilitas yang lebih baik dan PVP dengan konsentrasi tengah memiliki waktu larut yang lebih cepat. Pengikat CMC memberikan kompresibilitas dan waktu larut yang lebih baik dengan menggunakan konsentrasi terendah. Parameter LOD memberikan hasil tidak memiliki variasi yang berarti.

Tabel 3 Evaluasi Granul Tanpa Ekstrak

Jenis Pengikat	Formula	%LOD	Laju Alir (g/detik)	%Kompresibilitas	Waktu Larut (Menit)	pH
PVP	F1	1,31	6,8	16	0,30	6,5
	F2	1,13	6,2	9	0,19	6,9
	F3	1,81	7,4	8	0,28	7,3
	F4	1,39	7,4	10	0,41	7,6
CMC	F5	1,61	6,1	13	1,09	7,1
	F6	1,75	6,3	11	1,37	6,9

Hasil evaluasi granul menggunakan ekstrak dengan pengulangan secara triplo yang dapat dilihat pada tabel 4, hasil pengujian %LOD, menunjukkan bahwa pengikat PVP rata-rata 1,65% dan CMC didapatkan hasil 1,37%. Pengujian lajur alir, memperlihatkan formula dengan pengikat PVP memiliki hasil laju alir rata-rata 7,07 gram/detik dan formula dengan pengikat CMC memiliki hasil rata-rata 6,99 gram/detik. Pengujian indeks kompresibilitas didapatkan untuk formula PVP rata-rata 11,9 dengan kategori baik dan dengan pengikat CMC dari 3x pengulangan didapatkan rata-rata 9,2. Pengujian waktu larut menggunakan formula PVP memiliki rata-rata terlarut dalam 3,21 menit dan CMC terlarut dalam 3,35 menit. Hasil pengujian pH didapatkan hasil pH formula dengan pengikat PVP rata-rata 4,77 dan formula dengan pengikat CMC rata-rata 4,87.

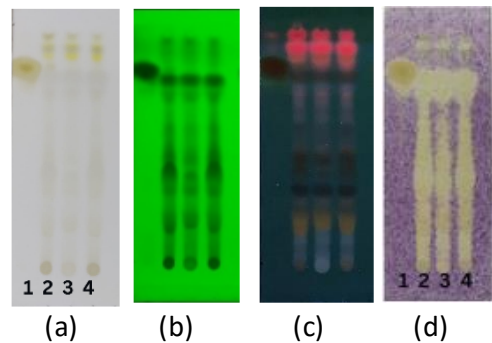
Tabel 4 Evaluasi Granul dengan Ekstrak

Formula	Kadar LOD (%)±SD	Kompresibilitas (%)±SD	Laju Alir (g/detik)±SD	Waktu Larut (Menit)±SD	pH±SD
PVP F2	1,65±0,05	11,9±0,50	7,07±0,11	3,21±0,02	4,77±0,03
CMC F4	1,37±0,05	9,2±0,11	6,99±0,06	3,35±0,01	4,87±0,05

Keterangan: Replikasi dilakukan sebanyak 3x

Pengujian Antioksidan

Dari hasil pengujian setelah disemprot penampak bercak menggunakan larutan DPPH 0,2% terjadi perubahan warna dengan latar ungu bercak yang terdapat pada plat KLT berubah menjadi warna kuning (pada **Gambar 1**).



Gambar 1 Hasil Uji KLT

Nilai aktivitas antioksidan yang didapatkan dari peresamaan regresi linier. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dapat dilihat pada **Tabel 5** yang menunjukkan nilai aktivitas antioksidan dari ekstrak daun kenikir sebesar 50,98µg/mL, sediaan granul instan dengan pengikat PVP sebesar 58,54 µg/mL dan sediaan granul instan dengan pengikat CMC sebesar 59,59 µg/mL. Pengujian antioksidan dengan kontrol positif menggunakan Vitamin C sebesar 8,15 µg/mL. Semua pengujian tersebut dilakukan dengan 3 kali pengulangan dengan nilai dari standar deviasi semua pengulangan <2%.

Tabel 5 Hasil Uji Antioksidan

Sampel	Nilai IC ₅₀
Vitamin C	8,15±0,01
Ekstrak Daun Kenikir	50,98±0,2
Granul Pengikat PVP	58,53±0,4
Granul pengikat CMC	59,59±0,2

Pembahasan

Penapisan Fitokimia

Hasil dari penapisan fitokimia yang dilakukan sejalan dengan penapisan fitokimia yang dilakukan oleh ayu, *et al.*, 2017 ; Al Kausar *et al.*, 2017 ; Safita *et al.*, 2015 ; Silvani *et al.*, 2023 ; yusuf, *et al.*, 2020; ekstrak daun kenikir positif mengandung Flavonoid, Alkaloid, Saponin, Kuinon, Tanin, Steroid/Triterpenoid (13,24–27). Dari hasil tersebut

ekstrak daun kenikir memiliki potensi sebagai antioksidan karena terdapat kandungan senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan (24).

Uji Organoleptik

Hasil pengujian secara organoleptik baik menggunakan pengikat PVP maupun CMC, formula tersebut belum mampu menutupi aroma dan rasa khas yang dimiliki oleh ekstrak. Hal ini dikarenakan tidak adanya variasi konsentrasi stevia sebagai pemanis dari F2 dan F4, sehingga hasil pengujian kedua formula tersebut memiliki rasa pahit. Munculnya rasa pahit pada ekstrak dengan menggunakan konsentrasi stevia yang tinggi, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kenikir memiliki rasa yang sangat pahit, sehingga perlu adanya kombinasi variasi pemanis yang dapat menutupi rasa pahit dari ekstrak.

Pembuatan Granul dan Evaluasi

Pada pembuatan granul pertama membuat formula tanpa ekstrak dengan memformulasikan formula tanpa tambahan zat aktif. Tujuan dari membuat formula tanpa zat aktif ini untuk melihat apakah variasi formula yang digunakan dapat membentuk sediaan granul. Evaluasi yang dilakukan meliputi uji LOD, laju alir, waktu larut, pH, indeks kompresibilitas, waktu larut dan pH. **Tabel 3** memperlihatkan hasil dari pengujian sediaan granul tanpa ekstrak.

Pada uji LOD dari hasil tersebut semua pengujian memenuhi syarat baik PVP formula 1-3 ataupun CMC formula 4-6, hal ini dikarenakan hasil yang didapat 1-2%, syarat untuk %LOD sediaan granul $\leq 3\%$ (Fatmawati *et al.*, 2020). Uji Laju alir dari hasil yang didapat semua formula masuk ke dalam kategori mudah mengalir karena masuk ke dalam rentang 4-10 g/detik (Murtini & Elisa, 2018). Pada pengujian indeks kompresibilitas didapatkan pada formula 2 dan 3 PVP serta formula 4 CMC memberikan hasil yang sangat baik, hal ini dikarenakan hasil tersebut $\leq 10\%$. Pada uji waktu larut granul mampu larut dalam waktu < 5 menit, hasil pengujian semua formula memenuhi syarat waktu larut. Pada uji pH, sediaan harus memiliki pH larutan dengan rentang 6-7, dari hasil pengujian semua formula memenuhi syarat. Hasil dari 6 formula yang dioptimasi, maka ditetapkan 2 formula yang akan digunakan dengan penambahan ekstrak yaitu formula 2 dan 4.

Granul yang dibuat dengan penambahan ekstrak juga dilakukan evaluasi. Evaluasi yang dilakukan sama halnya yang dilakukan pada evaluasi granul tanpa ekstrak. Pengujian LOD bertujuan untuk melihat kadar air yang terdapat pada granul. Terlalu banyak air yang ada pada sediaan memungkinkan sediaan dapat ditumbuhi oleh mikroba karena semakin banyak air yang terkandung dalam sediaan dapat dengan mudah ditumbuhi mikroba. Granul dengan nilai kadar air atau %LOD $\leq 5\%$ akan memiliki hasil yang stabil dalam penyimpanan dan bersifat baik (16).

Berdasarkan **Tabel 4**, menunjukkan bahwa menggunakan 2 jenis pengikat yang berbeda menghasilkan nilai %LOD $\leq 5\%$. Hal ini diakibatkan pada saat pengeringan menggunakan oven dengan suhu 40 °C selama 6 jam sehingga sediaan granul dapat

kering dengan merata serta kadar air yang terkandung dalam sediaan granul relatif rendah. Suhu dan waktu berperan penting pada saat pengeringan, karena terpapar oleh energi panas dalam waktu yang lama yang bisa menyebabkan granul menjadi kering.

Pengujian laju alir ini bertujuan untuk memastikan sediaan granul yang sudah dibuat apakah dapat mengalir dengan baik. Ketika granul memiliki laju alir yang baik akan memudahkan granul untuk mengalir pada *die*. Syarat untuk granul dikatakan dapat mengalir dengan baik yaitu masuk pada rentang 4-10 gram/detik (28).

Berdasarkan pengujian laju alir (**Tabel 5**), hasil tersebut baik formula dengan pengikat PVP dan formula dengan pengikat CMC memenuhi syarat laju alir dengan parameter masuk pada rentang 4-10 gram/detik yang dikategorikan mudah mengalir.

Uji kompresibilitas ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui apakah aliran granul baik atau tidak dan melihat apakah sediaan dapat stabil setelah diberikan tekanan. Berdasarkan hasil pengujian indeks kompresibilitas granul ekstrak daun kenikir sangat baik. Dari hasil tersebut mulai baik pengikat PVP ataupun pengikat CMC, kedua formula tersebut memenuhi syarat indeks kompresibilitas karena hasil $\leq 25\%$.

Pengujian waktu larut untuk melihat berapa lama sediaan granul instan dapat larut dalam air. Hasil pengujian yang didapat dengan menggunakan 2 jenis pengikat yaitu PVP dan CMC, memenuhi persyaratan dalam hal waktu larut dari sediaan granul karena < 5 menit (29).

Pengujian pH bertujuan untuk melihat kualitas sediaan dengan menggunakan alat pH meter. Hasil pengujian pH tidak memenuhi nilai pH yang dipersyaratkan pada larutan atau minuman yaitu 6-7. pH larutan pada pH 4, menandakan ekscipien tidak mempengaruhi sifat ekstrak. pH ekstrak yang digunakan memiliki nilai pH 4. Minuman yang memiliki pH cenderung asam berpotensi mengiritasi lambung dan cenderung menimbulkan rasa pahit (30).

Pengujian Antioksidan

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pengujian dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah untuk memastikan sediaan granul ekstrak daun kenikir memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Pada pengujian ini dilakukan pengujian terhadap sediaan ekstrak daun kenikir dan juga sediaan granul instan yang menggunakan pengikat PVP dan CMC.

Dari hasil pengujian terjadi perubahan warna yang meindikasikan memiliki aktivitas antioksidan. Perubahan warna menjadi kuning menunjukkan senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan pada sediaan (31). Ekstrak dari daun kenikir ini memiliki kandungan kuersetin. Dari hasil yang ditunjukan bahwa ekstrak daun kenikir memunculkan bercak yang sama dengan pembanding kuersetin (32). Setelah didapatkan hasil positif antioksidan pada ekstrak daun kenikir dan sediaan granul, dilakukan pengujian lanjutan untuk mengetahui seberapa besar nilai antioksidan yang terkandung dalam sediaan menggunakan spektrofotometri. Pengukuran nilai antioksidan dihitung menggunakan parameter nilai IC_{50} .

Uji Kadar Antioksidan (DPPH)

Pengujian menggunakan metode DPPH ini dilakukan terhadap ekstrak dan juga sediaan granul instan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dalam sediaan. Parameter yang dilihat untuk menunjukkan aktivitas antioksidan yaitu IC_{50} (*Inhibition Concentration*), yaitu besarnya sediaan yang dapat meredam radikal bebas sejumlah 50%. Aktivitas antioksidan yang terkandung dalam ekstrak maupun sediaan dikatakan tinggi jika nilai IC_{50} yang dihasilkan rendah, dan berbanding terbalik jika yang dihasilkan tinggi maka dikatakan lemah atau sangat lemah.

Panjang gelombang yang diperoleh adalah 519 nm, dimana hasil tersebut sesuai dengan literatur yang mengatakan bahwa panjang gelombang 515-520 nm tepat digunakan pada pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (23).

Proses pencampuran atau mereaksikan larutan DPPH dengan larutan sampel dengan perbandingan (1:1), pada proses ini dilakukan pada tempat gelap dan dimasukkan kedalam vial yang ditutupi aluminium foil. Pada proses pengukuran juga dilakukan pada tempat gelap hal ini untuk menghindari larutan DPPH yang mudah terurai dan teroksidasi oleh cahaya. Warna ungu dari larutan DPPH akan memudar jika senyawa yang direaksikan dengan larutan DPPH memiliki aktivitas antioksidan. Inkubasi dilakukan kurang lebih 30 menit setelah sampel direaksikan dengan larutan DPPH, pada proses ini terjadi pendonoran proton pada larutan DPPH dan sampel yang memiliki aktivitas antioksidan. Setelah diinkubasi kurang lebih 30 menit kemudian sampel diukur menggunakan panjang gelombang 519 nm.

Nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk membuat persamaan regresi linier ($y=bx+a$) untuk mengetahui aktivitas antioksidan dengan menghitung nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration* 50%) yang dihasilkan dari konsentrasi sampel dengan persen inhibisi. Dari persamaan tersebut “y” merupakan nilai peredaman 50% inhibisi dan “x” adalah hasil IC_{50} yang menunjukkan nilai dari aktivitas antioksidan suatu sediaan.

Pada penelitian ini dilakukan pengujian antioksidan terhadap ekstrak dari daun kenikir dan juga sediaan granul instan dari ekstrak daun kenikir dengan pengikat PVP dan CMC. Dilakukannya pengujian ini untuk melihat apakah ekstrak daun kenikir memiliki aktivitas antioksidan dan juga untuk memastikan bahwa sediaan yang dibuat masih memiliki aktivitas antioksidan.

Aktivitas antioksidan dikatakan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, dan dikatakan kuat apabila nilai IC_{50} masuk ke dalam rentang 50-100 $\mu\text{g/mL}$, dikatakan sedang jika masuk ke dalam rentang 100-150 $\mu\text{g/mL}$ dan dikatakan lemah jika nilai IC_{50} lebih dari 150 $\mu\text{g/mL}$. Dari data hasil yang didapat hasil dari aktivitas antioksidan ekstrak daun kenikir masuk ke dalam rentang kuat dengan masuk rentang 50-100 $\mu\text{g/mL}$ yang hampir masuk kedalam rentang sangat kuat dengan jika nilai IC_{50} ekstrak daun kenikir $<50 \mu\text{g/mL}$. Untuk sediaan granul instan dengan pengikat PVP maupun CMC semuanya masuk ke dalam rentang kuat karena masuk rentang nilai IC_{50} 50-100

µg/mL. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan sediaan granul instan ekstrak daun kenikir tidak terlalu jauh berbeda dari ekstrak daun kenikir sebelum diformulasikan, hasil tersebut menandakan bahwa pada proses formulasi dari setiap excipien yang digunakan tidak terlalu mempengaruhi ekstrak yang digunakan sebagai zat aktif sehingga aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} tersebut tidak menunjukkan perbedaan yang besar.

Kesimpulan

Hasil evaluasi granul instan ekstrak etanol daun kenikir dengan pengikat PVP dan CMC memenuhi syarat sifat fisik granul yang meliputi karakteristik uji %LOD ($\leq 5\%$), laju alir (4-10 g/detik), Indeks kompresibilitas ($< 25\%$) dan waktu larut (< 5 menit). Berdasarkan jenis pengikat yang digunakan pengikat CMC lebih baik dari pengikat PVP didasarkan pada hasil evaluasi.

Hasil KLT kedua formula memiliki aktivitas antioksidan yang ditunjukkan bahwa terdapat perubahan warna dari ungu menjadi kuning pada plat KLT. Sediaan granul ekstrak daun kenikir dengan pengikat PVP memiliki nilai IC_{50} $58,53 \pm 0,46$ µg/mL dan untuk granul dengan pengikat CMC memiliki nilai IC_{50} sebesar $59,59 \pm 0,27$ µg/mL. Dari hasil tersebut, maka kedua jenis pengikat pada sediaan granul memiliki aktivitas antioksidan kuat.

Daftar Pustaka

1. Fakriah, Kurniasih E, Rusydi. Sosialisasi Bahaya Radikal Bebas dan Fungsi Antioksidan Alami Bagi Kesehatan. *J Vokasi*. 2019;3(1):1–7.
2. Sari A. Antioksidan Alternatif Untuk Menangkal Bahaya Radikal Bebas Pada Kulit. *Elkawanie J Islam Sci Technol*. 2015;1(1):63–8.
3. Andarina R, Djauhari T. Antioxidant in dermatology. *J Kedokt dan Kesehat*. 2017;4(1):39–48.
4. Wulansari AN. Alternatif Cantigi Ungu (*Vaccinium varingifolium*) sebagai Antioksidan Alami: Review. *Farmaka*. 2018;16(2):419–29.
5. Aziz S. *Cosmos Caudatus*-Kenikir, Sayur Raja-Sayur Fungsional Dibudidayakan Berlandaskan Budidaya Yang Baik. Bogor: Departemen Agronomi dan Hortikultura–SEAFast IPB; 2013.
6. Widiyantoro A, Harlia. Antioxidant Activity of Leaves Extract of Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) With Various Extraction Methods. *IndoJPure App*. 2020;3(1):9–14.

7. Wahyuni WT, Darusman LK, Pitria AR. Analisis Kadar Flavonoid dan Antioksidan Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*), Rumput Mutiara (*Oldenlandia corymbosa*), dan Sirsak (*Annona muricata*) dengan Teknik Spektrometri. *Anal Anal Environ Chem*. 2018;3(1):38–46.
8. Sari LN. Optimasi Pembuatan Granul Instan Ekstrak Herba Pegagan (*Centella asiatica*) dengan Bahan Pengisi Maltodekstrin. *J Mhs Farm Fak Kedokt Untan*. 2022;6(1):1–7.
9. Pahlevi MR, Sopyan I, Gozali D. Technique Development in Improving the Solubility of Poorly Water Soluble Drugs (BCS II and IV): a Review Study. *Galen J Pharm*. 2023;9(2):147–64.
10. Pratama R, Roni A, Fajarwati K. Uji Sifat Fisik Granul Instan Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Menggunakan Metode Fluid Bed Dryer. *J Pharmacopolium*. 2022;5(3):299–304.
11. Pratama R, Melinda KN, Muhsinin S. Viability of *Lactobacillus acidophilus* in Effervescent Granules Prepared via Wet Granulation Method: In Vitro Study. *Sci Pharm*. 2023;2(4):22–36.
12. Ningsih AW, Hanifa I, Hisbiyah, A'yunil. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Rendemen dan Skrining Fitokimia. *J Pharm Care Anwar Med*. 2020;2(2):96–104.
13. Silvani I, Kurniawan K, Lestari IT. Uji Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) dan Daun Leunca (*Solanum nigrum* L) dengan Metode DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil). *J Ilm Glob Farm*. 2023;27–35.
14. Husni P, Fadhiilah ML, Hasanah U. Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Granul Instan Serbuk Kering Tangkai Genjer (*Limncharis flava* (L.) Buchenau.) sebagai Suplemen Penambah Serat. *J Ilm Farm Farmasyifa*. 2020;3(1):1–8.
15. Kartikasari R, Astuti I., Dwi H. Formula Granul Instan Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) dengan Kombinasi Gelatin dan Dekstrin. *Pharmacy*. 2009;6(1):86–100.
16. Fatmawati A, Emelda, Elvana A. Formula Optimization of Granul Paracetamol with Variation of Lactosa Fillers and Avicel pH 101 with Moisture Content and Loss on Drying Moisture Content Parameters. *J (Indonesian Pharm Nat Med Journal)*. 2020;4(1):25–32.
17. Soemarie Y., Sa'adah H, Fatimah N, Ningsih T. Uji Mutu Fisik Granul Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum americanum* L.) dengan Variasi Konsentrasi Explotab. *J Ilm Manuntung*. 2017;3(1):64–71.

18. Syaputri F., Saila S., Tugon TD., R.A P, Lestari D. Formulasi dan Uji Karakteristik Fisik Sediaan Granul Effervescent Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz.) sebagai Antidiabetes. *Lambung Farm J Ilmu Kefarmasian*. 2022;4(1):191–8.
19. Utami S., Ismaya N., Okta Ratnaningtyas TO, Yunarto N. Formulation of Functional Powdered Beverage Dosage Form A Combination of Corn Kernels (*Zea mays* L.) and Honey. *J Kefarmasian Indones*. 2022;12(2):109–17.
20. Putri Y., Warya S, Afdina M. Formulasi Granul Instan Antioksidan Ekstrak Etanol Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.) dengan Variasi Pengikat PVP K30. *J Sains Dan Teknol Farm Indones*. 2021;5(2).
21. Handayani V, Ahmad, Sudir M. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH. *Pharm Sci Res*. 2014;1(12):86–93.
22. Ghozaly MR, Utami YN. Antioxidant Activity Of Ethanol Extract From Kepok Banana Inflorescence (*Musa balbisiana* BBB) Using DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) Method. *Sainstech Farma*. 2017;10(2):12–6.
23. Molyneux P. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-Hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J Sci Technol*. 2004;26(2):212–9.
24. Ayu G, Tandji J, Nobertson R. Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) terhadap Penurunan Kadar Kolesterol pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia-Diabetes. *Farmakol J Farm*. 2017;14(2):111–7.
25. Kausar R Al, Abnurama LOA, Wulandari S. Phytochemical Screening and Inhibitory Test of Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) Leaf Extract Against *Staphylococcus aureus* Bacteria Using Disc Diffusion Method. *J Anal Farm*. 2023;8(1):77–89.
26. Safita G, Sakti ERE, Syafnir L. Uji Aktivitas Antibakteri Daun Kenikir(*Cosmos caudatus* Kunth.) dan Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.)S. Moore) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas auruginosa*. *Pros Penelit Spes Unisba*. 2015;1(2):421–8.
27. Yusuf M, Jaluri PDC, Irawan Y. Pengaruh Pemberian Sediaan Mikroemulsi Ekstrak Daun kenikir (*Cosmos caudatus*) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Tikus yang Di Induksi Hati Ayam. *J Borneo Cendekia*. 2020;4(1):67–77.
28. Murtini G, Elisa Y. *Teknologi Sediaan Solid*. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI; 2018.

29. Najihudin A, Rahmat D, Safira, Anwar ER. Formulation of Instant Granules from Ethanol Extract Of Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.) Leaves as Antioxidant. *Farm Bahari*. 2019;10(1):91–112.
30. Wardhana AE, Rani K., Pradana A., Jayani NIE. Formulasi Granul Minuman Fungsional Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava*) dan Ekstrak Etanol Biji Klabet (*Trigonella foenum-graecum*). *Media Pharm Indones*. 2021;3(4):235–44.
31. Yasmin N, Wahyu, Angga. Identifikasi Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Akar dan Batang Merung (*Coptosapelta tomentosa*) yang Memiliki Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode KLT Autografi. *Proceeding Mulawarman Pharm Conf*. 2019;10:10–5.
32. Salamah N, Widyasari E. Antioxidant Activity of Methanolic Extract of Longan (*Euphoria Longan* (L) Steud.) Leaves Using 2,2'diphenyl-1-Picrylhydrazyl Radical Scavenging Method. *Pharmacia*. 2015;5(1):25–34.

