



9 772686 250000

e-ISSN : 2686-2506



Uji Aktivitas Antioksidan Nano *Spray Gel* Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta*)

Mahirah Mardiyah, Lubna Khairunisa, Vina Oktaviany Nurjanah, Dessylva Maulud, Syifa Aulia Putri,
Fauzia Ningrum Syaputri*, Nurul Ambardhani

Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Muhammadiyah Bandung,
Bandung, Jawa Barat, Indonesia

*E-mail : fauzianingrums@umbandung.ac.id

(Submit 02/09/2024, Revisi 09/09/2024, Diterima 28/09/2024, Terbit 30/09/2024)

Abstrak

Daun singkong (*Manihot esculenta*) mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan. Antioksidan dapat dimanfaatkan sebagai sediaan kosmetika yang dapat mencegah penuaan pada kulit. Nano *spray gel* merupakan inovasi bentuk penghantaran dari sediaan gel dengan teknologi nano yang terbentuk dengan adanya penggabungan gel dan nanoemulsi. Nanoemulsi yang terdiri dari campuran minyak dan air yang ditambahkan surfaktan. Riset ini bertujuan untuk menentukan formulasi, evaluasi, dan aktivitas antioksidan dari sediaan nano *spray gel* yang mengandung ekstrak daun singkong. Metode pembuatan nano *spray gel* dilakukan dengan menggabungkan sediaan nanoemulsi berisi ekstrak daun singkong bervariasi konsentrasi ekstrak F1 0,5%; F2 0,75%; dan F3 1% pada nano gel dengan bantuan *homogenizer*. Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak daun singkong positif terhadap golongan flavonoid, alkaloid, saponin, triterpenoid, steroid, fenolik, dan tanin. Nano *spray gel* menghasilkan nilai IC_{50} F1 sebesar 46,341 $\mu\text{g/mL}$, F2 sebesar 65,984 $\mu\text{g/mL}$ dan F3 sebesar 71,984 $\mu\text{g/mL}$. Disimpulkan bahwa, F1 memiliki kategori antioksidan sangat kuat karena kurang dari 50.

Kata kunci: Antioksidan, *Manihot esculenta*, nano *spray gel*, nanoemulsi, nano gel

Pendahuluan

Proses penuaan dapat terjadi karena adanya kerusakan pada kulit, yang ditandai dengan timbulnya keriput, kulit terasa kering, tampak kusam, kulit akan menjadi lebih cepat terlihat lebih tua, serta muncul flek hitam. Salah satu proses yang terkait dengan penuaan dini adalah munculnya radikal bebas *Reactive Oxygen 2 Species* (ROS) akibat paparan sinar ultraviolet. Radikal bebas adalah molekul yang kehilangan elektron sehingga molekul tersebut menjadi tidak stabil dan berusaha mengambil elektron dari molekul atau sel lain (1,2).

Pada saat kulit terkena sinar matahari, radiasi sinar UV akan diserap oleh molekul-molekul kulit yang dapat menghasilkan senyawa berbahaya, yang disebut *Reactive Oxygen 2 Species* (ROS), hal tersebut mengakibatkan kerusakan oksidatif atau stress oksidatif yang mengganggu komponen seluler seperti dinding sel, membran lipid, mitokondria, dan DNA. ROS juga dapat menyebabkan peningkatan radikal bebas dalam sel diantaranya radikal hidroksil (OH) dan nitrat oksida (NO). Kedua radikal bebas tersebut sangat berbahaya bagi sel karena akan berdampak dalam mempercepat proses penuaan dan menunjukkan tanda-tanda penuaan dini (3).

Antioksidan adalah zat yang bisa memberi perlindungan endogen dan tekanan oksidatif eksogen dengan menangkap radikal bebas. Antioksidan mampu menghambat penuaan, memberikan perlindungan terhadap ROS akibat stres oksidatif dan sinar ultraviolet (4). Mekanisme kerja dari senyawa antioksidan yaitu dengan cara memberikan atom hidrogen atau proton pada senyawa radikal sehingga akan menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas tersebut serta menjadikan radikal bebas lebih stabil (5).

Banyak tanaman yang berkhasiat sebagai antioksidan, yaitu tanaman yang mengandung karotenoid dan polifenol terutama flavonoid salah satunya terdapat pada daun singkong yang di mana dapat diformulasikan sebagai antioksidan alami yang dapat dibuat dalam bentuk topikal sebagai produk perawatan kulit (4). Daun singkong mempunyai kandungan senyawa aktif flavonoid dan fenolik. Flavonoid dan fenolik merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman dan memiliki banyak fungsi, salah satunya sebagai antioksidan (6,7). Riset Malik dkk., (2020) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun singkong berpotensi sebagai antioksidan kuat karena memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} yaitu 84,23 $\mu\text{g/mL}$ (8). Riset Rachman dkk., (2016) menunjukkan bahwa antioksidan yang terkandung dalam daun singkong berupa vitamin C sebesar 275 mg. Setiap 100 gram vitamin C berfungsi sebagai antioksidan kuat yang melindungi kulit terhadap pengaruh negatif radikal bebas (9). Antioksidan dapat merangsang pembentukan dan meningkatkan produksi kolagen kulit yang akan menjaga kekenyalan, kelenturan, serta kehalusan kulit (*anti-aging*) (10).

Pemanfaatan antioksidan dari ekstrak daun singkong yang ditujukan pada kulit wajah akan lebih baik apabila diformulasikan dalam bentuk sediaan topikal dengan mempertimbangkan kemudahannya untuk diperoleh dan dibentuk dalam sediaan nano

spray gel. Nano *spray gel* merupakan salah satu inovasi bentuk penghantaran dari sediaan gel dengan teknologi nano yang terbentuk dengan adanya penggabungan gel dan nanoemulsi (11).

Menurut Sihombing dalam Cendana dkk., (2021), *Spray gel* adalah salah satu sediaan topikal yang merupakan pengembangan dari sediaan gel. Sediaan *spray* ini lebih praktis dalam pengaplikasian serta lebih aman karena tingkat kontaminasi mikroorganisme lebih rendah hal ini disebabkan pada penggunaannya dilakukan dengan cara disemprotkan tanpa kontak langsung dengan tangan seperti halnya sediaan topikal lainnya. Konsistensi gel yang memiliki daya lekat cukup tinggi membuat waktu kontak obat yang relatif lebih lama dibanding sediaan lainnya (12). Sedangkan, nanoemulsi memiliki keunggulan dibanding sediaan lainnya, yaitu diantaranya dapat meningkatkan kecepatan absorpsi, melindungi terjadinya oksidasi dan hidrolisis zat aktif pada nanoemulsi O/W, sebagai penghantaran obat lipofil yang telah dilarutkan, serta sebagai pembawa pada penghantaran obat secara topikal yang tidak menyebabkan toksik ataupun iritasi (13).

Pada pembentukan nanoemulsi penentuan jenis dan jumlah bahan yang digunakan sangat penting. Diantaranya, jenis surfaktan dan kosurfaktan, rasio dari keduanya, serta jenis minyak sangat berpengaruh terhadap penetrasi zat aktif melalui kulit. Selain itu, surfaktan dan kosurfaktan sangat mempengaruhi stabilitas nanoemulsi yang terbentuk, sehingga perlu dilakukan optimasi untuk memperoleh nanoemulsi yang baik (13). Disamping itu, menurut Indalifiany dkk., (2021), viskositas nanoemulsi yang rendah dapat membatasi penetrasi zat aktif melalui kulit. Oleh karenanya, inkorporasi nanoemulsi dalam matriks hidrogel diperlukan untuk mengatasi hal tersebut. Nano *spray gel* dapat memperpanjang waktu kontak sediaan pada kulit, sehingga dapat mengatasi keterbatasan aplikasi nanoemulsi yang memiliki kecenderungan untuk mengalir karena viskositas yang rendah. Sehingga, ekstrak daun singkong dalam sediaan nano *spray gel* dapat memungkinkan permeasi zat aktif yang lebih baik pada kulit (14).

Berdasarkan latar belakang di atas, dibuatlah sediaan nano *spray gel* yang mengandung zat aktif ekstrak daun singkong sebagai pemanfaatan antioksidan pada wajah yang diharapkan dapat meningkatkan penyerapan sediaan ke dalam kulit. Hal ini menjadi alternatif dalam penggunaan gel agar meningkatkan kemudahan pengguna kosmetik seperti remaja atau pun dewasa muda dalam mencegah atau mengurangi penuaan dini. Riset ini bertujuan untuk menentukan formulasi sediaan, stabilitas, dan aktivitas antioksidan sediaan nano *spray gel* yang mengandung ekstrak daun singkong.

Metode

Alat

Alat yang digunakan pada riset adalah alat gelas (Pyrex®), neraca analitik (Fujitsu®), seperangkat alat *rotary evaporator* (IKFR 10®), seperangkat alat maserasi, *waterbath*

(Memmert®), seperangkat alat penganalisis nanopartikel (Nano Horiba SZ-100), viskometer Brookfield (RVDVII+ PRO), dan spektrofotometer UV-Visible (PG Instruments-T60®).

Bahan

Bahan untuk riset ini berupa daun singkong, akuades, tween 80, minyak jarak, propilen glikol, karbopol 940, TEA (*Triethanolamine*), metil paraben, pH universal, amoniak (Merck®), asam sulfat pekat dan 2N (Merck®), etanol 96% (Bratachem®), FeCl₃ (Merck®), HCl (Merck®), metanol (Bratachem®), dan serbuk magnesium (Merck®).

Prosedur Rinci

Tahapan Riset

Pengambilan dan Pembuatan Simplisia. Sampel daun singkong dikumpulkan sebanyak 5 kg pada bulan Mei diambil dari Kompleks Pertamina, Jl. A.H. Nasution No.282, Cipadung Wetan, Kec. Panyileukan, Kota Bandung, Jawa Barat 40614 dan dideterminasi di Laboratorium Taksonomi Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati (SITH) Institut Teknologi Bandung (ITB). Sampel yang telah dikumpulkan disortasi basah. Selanjutnya, daun dicuci di bawah air mengalir, ditimbang, dan dikeringkan dengan oven khusus pengering simplisia. Kemudian dilakukan sortasi kering. Dilanjutkan dengan proses penyerbukan. Lalu, serbuk ditimbang dan dicatat massanya dilanjutkan dengan penyimpanan di wadah yang tertutup baik (6).

Ekstraksi. Serbuk daun singkong dimasukkan ke dalam toples kaca yang terhindar dari cahaya dan dilakukan maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% (3 x 24 jam) dengan maserasi tiap 1 x 24 jam, lalu dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. Setelah itu, dilakukan pemekatan ekstrak dan diwaterbath untuk mendapat hasil ekstrak yang maksimal (8).

Rendemen. Persentase rendemen dihitung untuk ekstrak kental etanol daun singkong hasil maserasi dengan persamaan berikut (15):

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Massa ekstrak yang diperoleh (g)}}{\text{Massa sampel (g)}} \times 100\%$$

Skrining Fitokimia

Uji Flavonoid. Sebanyak 2 tetes ekstrak ditambahkan dengan 5 mL metanol dan dipanaskan selama 5 menit di dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah beberapa tetes HCl pekat dan 2 mg bubuk magnesium. Adanya flavonoid ditandai dengan timbulnya warna merah yang kuat, kuning, atau pun jingga (16).

Uji Alkaloid. Sebanyak 2 tetes ekstrak ditambahkan dengan 10 mL kloroform. Campuran dilarutkan dan ditambahkan 5 mL amoniak. Larutan disaring ke dalam tabung reaksi dan filtrat ditambahkan 10-20 tetes H_2SO_4 2N. Kemudian dikocok dengan teratur selama 2-3 menit, dibiarkan beberapa hingga membentuk 2 lapisan. Lapisan atas diambil dan dimasukkan ke dalam tiga tabung reaksi masing-masing sebanyak 1 mL. Kemudian setiap tabung tersebut ditambahkan beberapa tetes pereaksi Mayer, Wagner dan *Dragendorff*. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan putih terhadap pereaksi Mayer, endapan coklat terhadap pereaksi Wagner, dan endapan jingga merah terhadap pereaksi *Dragendorff* (16).

Uji Saponin. Sebanyak 2 tetes ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan akuades hingga seluruh sampel terendam, dididihkan selama 2-3 menit, dan selanjutnya didinginkan, kemudian dikocok selama 1-2 menit. Adanya saponin ditunjukkan dengan adanya busa yang tidak hilang selama 5 menit (16).

Uji Triterpenoid dan Steroid. Sebanyak 2 tetes ekstrak ditambahkan asam asetat glasial sampai semua sampel terendam. Campuran dibiarkan selama 15 menit, kemudian 6 tetes larutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes H_2SO_4 pekat. Adanya triterpenoid ditunjukkan oleh terjadinya warna merah atau merah ungu, sedangkan jika warna yang ditunjukkan adalah hijau dan hijau biru menandakan adanya steroid (16).

Uji Fenolik. Identifikasi fenolik diawali dengan melarutkan 2 tetes ekstrak pada 2 mL metanol. Larutan kemudian ditambah 3 tetes larutan $FeCl_3$ hingga terbentuk warna hitam hijau kebiruan. Apabila warna tersebut tidak terbentuk maka sampel negatif fenolik (17).

Uji Tanin. Sebanyak 2 tetes ekstrak ditambah metanol hingga sampel terendam. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan $FeCl_3$ 1%. Hasil positif adanya tanin ditandai dengan terbentuknya warna hitam (16).

Pembuatan Sediaan Nanoemulsi Ekstrak Daun Singkong. Dalam pembuatan nanoemulsi dibuat fase minyak (tween 80 dan propilen glikol) dan fase air (minyak jarak dan etanol 96%) masing-masing dicampurkan menggunakan *magnetic stirrer* selama 10 menit, kemudian kedua fase dicampurkan menggunakan *magnetic stirrer* selama 10 menit dengan kecepatan 500 rpm kemudian ditambahkan akuades pada campuran dengan kecepatan 750 rpm sampai homogen selama 15 menit selanjutnya di *ultra-turrax* dengan kecepatan 8000 rpm selama 15 menit. Selanjutnya, ekstrak daun singkong dimasukkan perlahan-lahan sambil di *homogenizer* nanoemulsi hingga homogen dan terlihat sediaan nanoemulsi yang tetap bening (18).

Tabel 1. Tabel Formulasi Nanoemulsi Ekstrak Daun Singkong (19).

Nama bahan	Konsentrasi (b/b)			Kegunaan
	F1	F2	F3	
Ekstrak daun singkong	0,5%	0,75%	1%	Zat aktif
Minyak jarak	3%	3%	3%	Fase minyak
Tween 80	30%	30%	30%	Surfaktan
Etanol 96%	20%	20%	20%	Kosolven
Propilen glikol	20%	20%	20%	Kosurfaktan
Akuades	Ad 100 mL	Ad 100 mL	Ad 100 mL	Fase air (Pelarut)

Uji Karakterisasi Sediaan Nanoemulsi

Uji Transmitan Sediaan Nanoemulsi Ekstrak Daun Singkong. Pengujian persen transmitan digunakan sebagai respon dalam formula nanoemulsi. Sampel nanoemulsi minyak jarak sebanyak 1 mL dilarutkan dalam labu takar 100 mL dengan menggunakan akuades. Persen transmitan diukur pada panjang gelombang 650 nm menggunakan spektrofotometer UV-Visible dan akuades sebagai blanko formula. Persentase transmitan 90%-100% menunjukkan penampilan visual yang jernih dan transparan (20,21).

Uji PSA dan Zeta Potensial Nanoemulsi Ekstrak Daun Singkong. Ukuran yang dianjurkan sebesar 200-400 nm. Dilakukan pengukuran nanopartikel (*Particle Size Analyzer (PSA)*) dan penentuan zeta potensial menggunakan serangkaian alat analisis partikel nano. Nanoemulsi yang stabil memiliki nilai zeta potensial yang tinggi sebesar ± 30 mV (22).

Pembuatan Sediaan Nano Gel Ekstrak Daun Singkong. Dalam pembuatan nano gel dibuat basis gel terlebih dahulu dengan melarutkan karbopol 940 yang ditambahkan dengan akuades hingga terdispersi seluruhnya dan homogen membentuk basis gel. Ditambahkan 1 tetes TEA secara perlahan untuk menetralkan basis gel dan juga untuk meningkatkan kekentalan gel. Indikator capaian kegiatan ini berupa nano gel ekstrak daun singkong (22).

Tabel 2. Tabel Formulasi Nano Gel Ekstrak Daun Singkong

Nama bahan	Konsentrasi (b/b)			Kegunaan
	F1	F2	F3	
Nanoemulsi ekstrak daun singkong	0,5%	0,75%	1%	Zat aktif
Karbopol 940	0,12%	0,12%	0,12%	<i>Gelling agent</i>
TEA (<i>Triethanolamine</i>)	1 tetes	1 tetes	1 tetes	<i>Alkalizing agent</i>
Metil Paraben	0,4%	0,4%	0,4%	Pengawet
Propilen glikol	10%	10%	10%	<i>Enhancer</i>
Akuades	Ad 100 mL	Ad 100 mL	Ad 100 mL	Pelarut

Uji Evaluasi Sediaan Nano Gel

Uji Organoleptis Sediaan Nano Gel Ekstrak Daun Singkong. Uji organoleptis dilakukan agar dapat melihat wujud fisik dari sediaan. Uji organoleptis dilakukan dengan mengamati tekstur, warna, dan bau dari sediaan nano *spray gel*. Hasil yang baik menunjukkan sediaan yang terlihat jernih, warna tidak terlalu pekat, dan bau yang tidak terlalu menyengat (22).

Uji Homogenitas Sediaan Nano Gel Ekstrak Daun Singkong. Uji homogenitas dilakukan dengan diambil sejumlah tertentu sediaan lalu dioleskan pada kaca arloji, kemudian diamati di bawah sinar lampu. Hasil yang baik menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar (22).

Uji pH Sediaan Nano Gel Ekstrak Daun Singkong. Uji pH dilakukan dengan pH universal. Pengujian ini dilakukan agar dapat memastikan keamanan sediaan sehingga tidak mengiritasi kulit dengan hasil yang baik pada rentang pH antara 4,5-6,5 (22).

Uji Daya Sebar dan Daya Lekat Sediaan Nano Gel Ekstrak Daun Singkong. Uji daya sebar dan daya lekat dilakukan dengan menempatkan sediaan di tengah dua kaca preparat yang kemudian diletakkan beban. Setelah itu, didiamkan selama kurang lebih 5 menit lalu beban dilepaskan dan dicatat waktu yang dibutuhkan hingga preparat terlepas. Lalu, diukur diameternya untuk syarat nilai daya sebar. Hasil yang baik berupa waktu lekat antar 2-4 detik dan diameter 5-7 cm (22).

Uji Viskositas Sediaan Nano Gel Ekstrak Daun Singkong. Uji viskositas dilakukan dengan alat viskometer Brookfield. Pilih nomor spindel 3 dan kecepatan 30 rpm yang akan digunakan. Sediaan ditempatkan pada alat viskometer Brookfield sampai batas spindel masuk ke dalam sediaan. Jalankan viskometer Brookfield sampai nilai viskositas dari sediaan terbaca. Nilai viskositas yang terbaca akan dihitung untuk menentukan tipe aliran melalui grafik titik-titik viskositasnya (22).

Uji Pola Penyemprotan Sediaan Nano Gel Ekstrak Daun Singkong. Uji pola penyemprotan dilakukan dengan cara sediaan disemprotkan pada selebar plastik yang sudah diukur beratnya dan sudah diberi nomor dengan jarak 3, 5, 10, 15, dan 20 cm. Pada uji ini yang diamati adalah pola pembentukan semprotan, diameter pola semprot yang terbentuk, dan banyaknya sediaan yang keluar (gram) setiap semprotnya dengan jarak yang sama. Kriteria yang dapat diterima pada uji ini apabila sediaan dapat disemprotkan dan partikel yang terbentuk kecil (23).

Uji Antioksidan Sediaan Nano *Spray Gel* Ekstrak Daun Singkong. Uji antioksidan dilakukan dengan beberapa tahapan diantaranya dibuat terlebih dahulu larutan DPPH, dibuat larutan stok nano *spray gel* ekstrak daun singkong, dilakukan penetapan panjang gelombang maksimum DPPH, dilakukan penentuan absorbansi nano *spray gel* ekstrak daun singkong, dan penentuan aktivitas antioksidan (24).

Hasil

Berdasarkan massa sampel yang digunakan sebesar 300 gram dan massa ekstrak yang diperoleh setelah pemekatan dan *waterbath* sebesar 43,2941 gram, maka didapatkan perhitungan sebagai berikut.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{43,2941 \text{ gr}}{300 \text{ gr}} \times 100\% = 14,43\%.$$

Selanjutnya, hasil skrining fitokimia yang dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Singkong

Skrining Fitokimia	Reagen	Hasil
Flavonoid	Metanol + HCl (p) + Mg	Kuning jingga kemerahan (+)
Alkaloid	Mayer	Tidak ada endapan putih (-)
	Wagner	Tidak ada endapan cokelat (-)
	<i>Dragendorff</i>	Ada endapan jingga merah (+)
Saponin	Akuades	Busa stabil selama 5 menit (+)
Triterpenoid dan Steroid	Asam asetat glasial + H ₂ SO ₄ (p)	Triterpenoid: Merah hingga merah ungu sesaat (+)
		Steroid: Hijau hingga biru (+)
Fenolik	Metanol + FeCl ₃	Hitam kehijauan (+)
Tanin	Metanol + FeCl ₃	Hitam (+)

+ : hasil positif mengandung senyawa
- : hasil negatif mengandung senyawa

Nanoemulsi dibuat menjadi 3 formula dengan variasi konsentrasi ekstrak daun singkong sebagai zat aktif yang berfungsi sebagai antioksidan. Tujuan variasi konsentrasi ekstrak ini sebagai perbandingan efektivitas nilai antioksidan saat diformulasikan menjadi sediaan nano *spray gel*. Minyak jarak dengan konsentrasi sama, yaitu 3% berfungsi sebagai fase minyak. Tween 80 dengan konsentrasi 30% berfungsi sebagai surfaktan (emulgator) untuk menstabilkan emulsi dengan menurunkan tegangan antarmuka antara fase minyak dan fase air. Etanol 96% dengan konsentrasi 20% sebagai kosolven (pelarut bersama) yang membantu melarutkan minyak jarak. Propilen glikol dengan konsentrasi 20% sebagai kosurfaktan yang bekerja sinergis dengan tween 80 untuk meningkatkan stabilitas emulsi, dan akuades sebagai fase air seperti yang tertera dalam **Tabel 1**.

Berdasarkan riset yang telah dilakukan, didapatkan hasil evaluasi organoleptis sediaan nanoemulsi ekstrak daun singkong dengan variasi konsentrasi F1 0,5%; F2 0,75%; dan F3 1%. Sediaan pada formula F1 menghasilkan sediaan yang jernih dan transparan. Sedangkan F2 dan F3 transparan, tetapi warnanya pekat. Hal ini tergambarkan di daftar gambar dan tabel setelah daftar pustaka.

Berdasarkan riset yang telah dilakukan, didapatkan nilai persen transmittan, ukuran nanoemulsi, dan nilai zeta potensial pada 3 formula sediaan nanoemulsi ekstrak daun singkong. Hal tersebut dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Hasil Uji Karakterisasi Sediaan Nanoemulsi Ekstrak Daun Singkong terhadap 3 Formula

Formula	% Transmittan	Ukuran Nanoemulsi	Zeta Potensial
F1	22,9%	149,2 nm	-57,3 mV
F2	38%	170,8 nm	-56,4 mV
F3	25,8%	183,3 nm	-57,4 mV

Nano gel dibuat basis gel terlebih dahulu dengan melarutkan karbopol 940 yang ditambahkan dengan akuades panas bersuhu 80°C hingga terdispersi seluruhnya dan homogen membentuk basis gel. Ditambahkan 1 tetes TEA untuk menetralkan basis gel dan juga untuk meningkatkan kekentalan gel (22,25).

Kemudian pada formula nano gel digunakan *gelling agent* berupa karbopol 940 karena memiliki sifat alir sangat pendek bersifat biokompetibel, biogradable, bioadhesif, tidak terserap ke dalam tubuh dan tidak mengiritasi kulit, sehingga karbopol 940 menjadi polimer karbopol yang paling efisien dari pada karbopol lainnya dalam pembuatan *spray*. Selain itu, alasan lainnya karena memiliki stabilitas yang tinggi, tahan terhadap mikroba serta sudah digunakan secara luas di dunia farmasetika maupun kosmetik (25)

Berikutnya, hasil uji evaluasi nano gel ekstrak daun singkong terhadap 3 formula yang terlihat pada **Tabel 5**. Hasil uji evaluasi seluruhnya memenuhi persyaratan sehingga layak dijadikan sediaan nano *spray* gel. Sediaan nano *spray* gel diharapkan dapat meningkatkan spesifitas zat aktif ekstrak daun singkong sampai ke target aksi (wajah) (26).

Tabel 5. Hasil Uji Nano Gel Ekstrak Daun Singkong pada 3 Formula

Nama Uji	Syarat	Hasil Uji
Organoleptis	Aroma tidak menyengat, bening transparan, tekstur tidak terlalu kental	Aroma tidak menyengat, bening transparan, tekstur tidak terlalu kental (Memenuhi syarat)
Homogenitas	Homogen, tidak terdapat butiran-butiran kasar dengan warna yang merata	Homogen, tidak ada butiran kasar (Memenuhi syarat)
Daya Sebar	Diameter 5-7 cm	5 cm (Memenuhi syarat)
Daya lekat	Lebih dari 2-4 detik	2 detik (Memenuhi syarat)
pH	4,5-6,5	Berada pada rentang 4-5 dilihat dari warna pH universal dan pH 4,92 pada pH meter (Memenuhi syarat)

Pola Penyemprotan	Sediaan dapat disemprotkan dan partikel yang terbentuk kecil, bertahan di kulit selama 10 detik tanpa mengalir	Terbentuk partikel kecil, tidak mengalir pada kulit dan bertahan selama 10 detik (Memenuhi syarat)
Viskositas dan Reologi	Aliran Non-newton, nilai viskositas yang baik 500-5000 cPs	<ul style="list-style-type: none"> > Pada spindel 6.2 nilai rpm 30 = 938,7 cPs; nilai rpm 60 = 618,7 cPs > Pada spindel 6.3 nilai rpm 30 = 1003 cPs; nilai rpm 60 = 666,7 cPs <p>(Memenuhi syarat)</p>

Hasil nano *spray* gel dengan variasi konsentrasi ekstrak daun singkong pada tiap formula menampilkan hasil organoleptis sediaan yang berbeda. Hal ini terlihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Visualisasi Nano *Spray* Gel dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak Daun Singkong F1 0,5%; F2 0,75%; dan F3 1%

Nilai absorbansi linier yang mendekati 1 terdapat pada F1 diantara 3 formula. Untuk hasil IC_{50} masing-masing formula dapat dilihat pada **Tabel 6**. Yang dimana hasil tersebut dikatakan kurang baik.

Tabel 6. Hasil IC_{50} Nano *Spray* Gel Ekstrak Daun Singkong pada 3 formula

Formula	Nilai IC_{50}
F1	46,341 $\mu\text{g/mL}$
F2	65,984 $\mu\text{g/mL}$
F3	71,984 $\mu\text{g/mL}$

Pembahasan

Hasil rendemen menunjukkan kandungan senyawa aktif yang ada pada daun singkong termasuk tinggi. Hal ini dikarenakan nilainya memenuhi syarat % rendemen yang baik, yaitu > 10% (15).

Setelah menghitung rendemen, dilakukan skrining fitokimia. Skrining fitokimia bertujuan untuk mengidentifikasi ada atau tidaknya golongan metabolit sekunder pada daun singkong. Hasilnya dapat dilihat pada **Tabel 3**. Daun singkong teridentifikasi positif golongan flavonoid, alkaloid, saponin, triterpenoid, steroid, fenolik, dan tanin. Adanya flavonoid dan fenolik menunjukkan aktivitas antioksidan yang dapat dimanfaatkan sebagai *anti-aging* nantinya (15).

Pada uji flavonoid, hasil warna merah disebabkan oleh reaksi penambahan serbuk magnesium dan HCl pekat pada ekstrak. Serbuk magnesium dan HCl mereduksi inti benzopiron pada struktur flavonoid, sehingga terjadi perubahan warna menjadi kuning hingga kemerahan pada ekstrak daun singkong. Hal ini menunjukkan ekstrak daun singkong positif flavonoid (27).

Pada uji alkaloid, hasil positif ditandai dengan endapan jingga merah oleh pereaksi *Dragendorff*. Endapan tersebut merupakan kaliumalkaloid. Di mana nitrogen pada uji alkaloid dengan pereaksi *Dragendorff* digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam, sehingga muncul endapan warna jingga merah pada ekstrak daun singkong (27).

Pada uji saponin ditandai dengan busa (buih) pada ekstrak daun singkong setelah dikocok dan bertahan selama 5 menit. Busa saponin memiliki glikosil sebagai gugus polar serta gugus steroid atau triterpenoid sebagai gugus non polar sehingga bersifat aktif permukaan dan membentuk misel saat dikocok dengan akuades. Pada struktur misel gugus polar menghadap ke luar, sedangkan gugus non polar menghadap ke dalam. Keadaan inilah yang tampak seperti busa pada permukaan atas akuades (27).

Triterpenoid positif ditandai dengan warna merah hingga merah ungu, sedangkan steroid memberikan warna hijau hingga biru. Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat anhidrida. Perbedaan warna yang dihasilkan oleh triterpenoid dan steroid disebabkan perbedaan gugus pada atom C-4 (27).

Pada uji fenolik, hasil positif ditandai dengan warna hitam kehijauan. Fenolik bereaksi dengan $FeCl_3$ 1% membentuk warna merah, ungu, biru, atau hitam yang pekat karena $FeCl_3$ bereaksi dengan gugus $-OH$ aromatis. Kompleks berwarna yang terbentuk diduga sebagai besi (III) heksafenolat. Ion Fe^{3+} akan mengalami hibridisasi orbital $d^2 sp^3$ sehingga ion Fe^{3+} ($4s^0 3d^5$) memiliki 6 orbital kosong yang diisi oleh pendonor pasangan elektron, yaitu atom oksigen pada senyawa fenolik yang memiliki pasangan elektron bebas. Hal inilah yang nanti membentuk warna hitam kehijauan pada ekstrak daun singkong (27).

Pada uji tanin, hasil positif ditandai dengan warna hitam. Hal ini disebabkan reaksi FeCl_3 bereaksi dengan gugus $-\text{OH}$ aromatis. Senyawa tanin kemudian terhidrolisis dan mengalami pembentukan kompleks berwarna hitam pada ekstrak daun singkong (27,28).

Berdasarkan karakterisasi secara visual, nanoemulsi terlihat jernih dan transparan. Namun, semakin banyak jumlah ekstrak daun singkong yang dimasukkan pada nanoemulsi, semakin pekat warna nanoemulsinya. Hal ini juga bergantung pada kapasitas pengisian ekstrak daun singkong dalam nanoemulsi dan tingkat kelarutannya dalam campuran antara fase minyak, surfaktan, dan kosurfaktan (21,26).

Berdasarkan **Tabel 4**, hasil pengujian persen transmittansi nanoemulsi ekstrak daun singkong menghasilkan persen transmittansi yang tidak beraturan dan kurang dari syarat 90-100% rentang persen transmittansi nanoemulsi yang baik. Pada F1, dihasilkan sediaan jernih dan transparan senilai 22,9%. Sedangkan F2 senilai 38% dan F3 25,8% yang di mana keduanya terdapat pelet. Pelet terbentuk dikarenakan massa ekstrak yang ditambahkan semakin banyak. Hal ini menunjukkan bahwa semakin banyak ekstrak yang ditambahkan, semakin kecil persen transmittansi, semakin pekat juga warna sediaan nanoemulsi (21).

Pada **Tabel 4**, terdapat nilai zeta potensial dari masing-masing formula. Di mana F1 sebesar -57,3 mV; F2 sebesar -56,4 mV; dan F3 sebesar -57,4 mV. Hal ini menunjukkan nilai zeta potensial ketiganya tidak memenuhi nilai kestabilan nanoemulsi yang tepat. Karakterisasi nanoemulsi yang baik memenuhi nilai zeta potensial yang tinggi, yaitu melebihi 30 mV. Semakin tinggi nilai zeta potensial, semakin tolak menolak antar partikel sehingga menghasilkan dispersi sediaan yang stabil. Begitu pun sebaliknya. Adapun penyebab nilainya rendah ialah oleh pH yang tidak optimal, ketidakstabilan surfaktan, dan kurangnya pencampuran (29,30).

Berdasarkan **Tabel 4**, hasil uji PSA yang telah dilakukan terhadap 3 formula nanoemulsi berada pada rentang syarat sediaan nanoemulsi yang baik dengan rentang 20 – 400 nm, hal ini menunjukkan nilai ukurannya sudah termasuk nano (29). Berbeda dengan riset Handayani dkk., (2018), ukuran nanoemulsi yang didapatkan di rentang 21,0-150,5 nm (29).

Pada **Tabel 5**, didapatkan hasil organoleptis yang memenuhi persyaratan secara visual. Konsentrasi ekstrak F1 0,5% terlihat putih keruh, F2 0,75% putih bening kekuningan, dan F3 1% bening kekuningan. Semakin banyak konsentrasi ekstrak, semakin pekat warna sediaan. Hasil riset Rizal dkk., (2023), pada sediaan *spray gel* ekstrak pegagan F1 2%; F2 4%; dan F3 6% menyatakan perbedaan yang mencolok pada organoleptis sediaan di mana sediaan *spray gel* ekstrak pegagan memiliki warna yang semakin pekat pada konsentrasi yang semakin meningkat (31).

Hasil uji homogenitas pada 3 formula membuktikan secara visual tanpa ada butiran kasar sehingga sediaan nano gel homogen secara sempurna. Riset Rizal dkk., (2023), mendapatkan hasil yang sama. Lalu, daya sebar pada 3 formula ekstrak daun singkong menunjukkan sediaan nano gel menyebar lebih mudah pada kulit karena pemakaiannya lebih mudah dan nyaman pada kulit (31). Sedangkan, daya lekat menggambarkan

sediaan nano gel melekat pada kulit (32). Semakin lama daya lekat sediaan nano gel, maka semakin baik sediaan tersebut. Sedangkan riset Rizal dkk., (2023), daya sebar dan daya lekat yang didapatkan juga berada di rentang 5-7 cm dengan waktu 2-4 detik (31).

Hasil uji pH sediaan nano gel pada 3 formula menggunakan pH universal menunjukkan nilai rentang pH antara 4-5 dengan nilai pastinya menggunakan pH meter sebesar 4,92. Riset Rizal dkk., (2023) mendapatkan pH 5,7 pada formula *spray gel ekstrak pegagan* (31). Di mana rentang tersebut cocok dengan kulit dan memenuhi persyaratan sehingga meminimalkan iritasi pada kulit wajah (22).

Hasil pola penyemprotan yang telah dilakukan pada 3 formula memenuhi syarat sehingga menunjukkan sediaan nano gel yang diubah menjadi sediaan nano *spray gel* memiliki daya semprot yang baik. Pola penyemprotan berhubungan langsung dengan viskositas. Nilai viskositas yang memenuhi syarat terdapat pada **Tabel 5** yang menunjukkan rentang 618,7-1003 cPs. Semakin tinggi nilai viskositas, maka diameter semprot semakin kecil. Sedangkan daya semprot akan semakin besar (23). Untuk hasil viskositas riset Rizal dkk., (2023), juga sama dari ketiga formula memenuhi syarat dengan rentang 1650,75–1804,5 cPs.

Berdasarkan hasil sediaan nano *spray gel*, dihasilkan sediaan berupa cairan bersifat nano yang bekerja mengubah cairan menjadi partikel yang sangat kecil dalam beberapa detik sehingga nutrisi dan kadar oksigen dalam air dapat masuk ke dalam pori-pori kulit wajah. Mekanisme sediaan nano *spray gel ekstrak daun singkong* dapat diaplikasikan untuk mempercepat sistem penghantaran antioksidan dan berinteraksi lebih lama dengan kulit wajah (32).

Pada F1 dengan konsentrasi ekstrak 0,5% menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 46,341 $\mu\text{g/mL}$. Pada F2 dengan konsentrasi ekstrak sebesar 0,75% menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 65,984 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan, F3 dengan konsentrasi ekstrak 1% menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 71,984 $\mu\text{g/mL}$. Hubungan linier antara konsentrasi ekstrak dan nilai absorbansi formula menunjukkan semakin tinggi nilai konsentrasi ekstrak, semakin tinggi juga nilai IC_{50} . Namun, semakin lemah antioksidannya. Hasil uji nano *spray gel ekstrak daun singkong* menunjukkan potensi sebagai antioksidan dengan nilai absorbansi mendekati nilai 1 pada konsentrasi 800 ppm tepat pada F1 sebesar 0,928 A (24,33).

Besarnya aktivitas antioksidan pada tiap formula diperoleh dari konsentrasi ekstrak larutan sampel (formula) yang diperlukan untuk menghambat 50% radikal bebas DPPH. Reagen DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil*) berperan sebagai oksidator ketika bereaksi dengan senyawa antioksidan pada sampel (formula). Kategori antioksidan sangat kuat didapatkan dengan nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, kuat (50-100 ppm), dan lemah (151-200 ppm) (34). Hasil pengujian pada tiap formula menunjukkan bahwa F1 termasuk kategori sangat kuat dan F2 serta F3 termasuk kategori kuat. Berbeda dengan riset Malik, dkk., (2020) terhadap ekstrak daun singkong yang termasuk kategori kuat bernilai 84,23 $\mu\text{g/mL}$ (24,35).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil riset, didapatkan nilai IC_{50} pada F1 sebesar 46,341 $\mu\text{g/mL}$ memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Nilai IC_{50} yang semakin kecil menunjukkan semakin kuatnya aktivitas antioksidan.

Ucapan Terima Kasih

Atas terbitnya artikel ilmiah ini, kami mengucapkan terima kasih kepada BELMAWA KEMDIKBUDRISTEK selaku pemberi dana untuk kegiatan Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) 2024, terima kasih kepada Universitas Muhammadiyah Bandung selaku penyedia laboratorium, dan terima kasih kepada Poltekkes Bandung dan Universitas Padjajaran sebagai penyedia jasa uji antioksidan.

Daftar Pustaka

1. Thomas NA, Tungadi R, Latif MS, Sukmawati ME. Pengaruh Konsentrasi Carbopol 940 Sebagai Gelling Agent Terhadap Stabilitas Fisik Sediaan Gel Lidah Buaya (Aloe Vera). *Indones J Pharm Educ*. 2023;3(2):316–24.
2. Santosa IE, Harmita ANI. Pengukuran etilen hasil proses peroksidasi lipid pada biocream yang diinduksi sinar ultraviolet menggunakan detektor fotoakustik. *J Fis*. 2020;10(2):27–34.
3. Novalinda Ginting EC, Chiuman L. Perbandingan Potensi Antioksidan Pemerangkapan No Dan Oh Ekstrak Kulit Buah Naga Dengan Senyawa Kaempferol. *J Ilm METADATA*. 2020;2(2):93–9.
4. Haerani A, Chaerunisa AY, Subranas A. Artikel Tinjauan: Antioksidan untuk kulit. *Farmaka* [Internet]. 2018;16(2):135–51. Available from: <https://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/17789>
5. Riskianto, Kamal SE, Aris M. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap DPPH. *J Pro-Life*. 2021;8(2):168–77.
6. Hasim, Falah S, Dewi LK. Pengaruh Perebusan Daun Singkong (*Manihot esculenta crantz*) terhadap Kadar Total Fenol, Flavonoid dan Aktivitas Antioksidannya. *Curr Biochem* [Internet]. 2016;3(3):116–27. Available from: <http://biokimia.ipb.ac.id>
7. Fachriyah E, Haryanto IB, Kusriani D, Sarjono PR, Ngadiwiyana N. Antioxidant Activity of Flavonoids from Cassava Leaves (*Manihot esculenta Crantz*). *J Kim Sains dan Apl*. 2023;26(1):10–8.
8. Malik F, Suryani S, Ihsan S, Meilany E, Hamsidi R. Formulation Of Cream Body Scrub From Ethanol Extract Of Cassava Leaves (*Manihot esculenta*) As Antioxidant. *J Vocat Heal Stud*. 2020;4:21–8.

9. Rachman F, Hartati S, Sudarmonowati E, Simanjuntak P. Aktivitas Antioksidan Daun dan Umbi dari Enam Jenis Singkong (*Manihot utilissima* Pohl). *Biopropal Ind.* 2016;7(2):47–52.
10. Akhtari R, Rosalina L. Kelayakan Masker Biji Labu Kuning (*Cucurbita Moschata*) Untuk Perawatan Kulit Wajah Menua (Anti Aging). *J Pendidik Tambusai.* 2023;7(2):16754–61.
11. Marlina D, Fadly, Fathya Z. Formulation and Evaluation of Anti-Acne Spray Gel of Secang. *J Kesehat Pharmasi.* 2021;3(2):132–8.
12. Cendana Y, Adrianta KA, Suena NMDS. Formulasi Spray Gel Minyak Atsiri Kayu Cendana (*Santalum album* L.). *J Ilm Medicam.* 2021;7(2):84–9.
13. Hajrin W, Subaidah WA, Juliantoni Y. Formulation And Characterization of Nanoemulsion from *Brucea javanica* Seed Extract. *Indones J Pharm Sci Technol J Homepage [Internet].* 2024;11(1):117–25. Available from: <http://jurnal.unpad.ac.id/ijpst/>
14. Indalifiany A, Malaka MH, Sahidin, Fristiohady A, Andriani R. Formulasi Dan Uji Stabilitas Fisik Nanoemulgel Formulation And Physical Stability Test Of Nanoemulgel Containing *Petrosia Sp* . *J Farm Sains dan Prakt.* 2021;7(3):321–31.
15. Subaryanti, Meianti DSD, Manalu RT. Potensi Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Urticastrum decumanum* (Roxb.) Kuntze) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. *Sainstech Farma.* 2022;15(2):93–102.
16. Dwiyanto, Harlis, Budiarti RS. Pengaruh konsentrasi ekstrak daun singkong gajah (*Manihot utilissima* pohl var. Gajah) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* untuk pengayaan materi pada praktikum mata kuliah mikrobiologi. *Biospesies.* 2017;3–13.
17. Sayakti PI, Anisa N, Ramadhan H. Antioxidant activity of methanol extract of cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz) using CUPRAC method. *J Ilm Farm.* 2022;97–106.
18. Mulia K, Putri GA, Krisanti E. Encapsulation of mangosteen extract in virgin coconut oil based nanoemulsions: Preparation and characterization for topical formulation. *Mater Sci Forum.* 2018;929:234–42.
19. Prasetyo BE, Karsono, Maruhawa SM, Laila L. Formulation and physical evaluation of castor oil based nanoemulsion for diclofenac sodium delivery system. *Res J Pharm Technol.* 2018;11(9):3861–5.
20. Firmansyah F, Wulandari W, Muhtadi WK, Nofriyanti N. Optimasi Formula Nanoemulsi Antioksidan Minyak Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan Metode Box Behnken Design. *J Mandala Pharmacon Indones.* 2022;8(2):294–306.

21. Lina NWM, Maharani T, Sutharini MR, Wijayanti NPAD, Astuti KW. Karakteristik Nanoemulsi Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.). *J Farm Udayana*. 2017;6(1):6–10.
22. Setiawan PA, Rahmawanty D, Sari DI. Formulasi dan Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Serum Wajah Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta*) dengan Variasi Konsentrasi Xanthan Gum. *J Pharmascience*. 2023;10(2):394–404.
23. Zubaydah WOS, Indalifiany A, Aspadih V, Rusyid MK. Formulasi Sediaan Spray Gel dari Ekstrak Etanol Batang Bambu-bambu (*Polygonum pulchrum* Blume) Menggunakan Basis Gel Viskolam®. *Pharmauho J Farm Sains, dan Kesehat [Internet]*. 2022;8(2):5–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.33772/pharmauho.v8i2.7>
24. Hidayati S, Masykuroh A. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bunga Pulutan (*Urena Lobata* L.) Menggunakan Metode Dpph. *J Komunitas Farm Nas*. 2023;3(1):494–508.
25. Montella C, Noval, Kurniawati D. Formulasi dan Evaluasi Nano Spray Gel Ekstrak Buah Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk .) dengan Variasi Konsentrasi Carbopol 940. *J Surya Med*. 2024;10(2):117–28.
26. Pratiwi MW, Wijaya TH, Sumayyah S, Kurniawan DW. Narrative Review: Herbal Nanospray Sebagai Anti-Aging. *Maj Farmasetika*. 2023;8(3):267–82.
27. Habibi AI, Firmansyah RA, Setyawati SM. Skrining fitokimia ekstrak n-Heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*). *Indones J Chem Sci*. 2018;7(1):1–4.
28. Megawati S, Nur'aini, Kurniasih D. Uji Efektivitas Gel Ekstrak Etanol 96% Daun Singkong (*Manihot esculenta* Crantz.) Pada Penyembuhan Luka Sayat Kelinci Jantan Galur New Zealand White. *J Farmagazine*. 2020;7(1):1–12.
29. Handayani FS, Nugroho BH, Munawiroh SZ. Optimization of low energy nanoemulsion of Grape seed oil formulation using D-Optimal Mixture Design (DMD). *J Ilm Farm [Internet]*. 2018;14(1):17–34. Available from: <http://journal.uui.ac.id/index.php/JIF>
30. Desbrianto D, Ulfa AM, Lestari YE. Uji Stabilitas Formulasi Spray Nanoemulsi Variasi Polietilen Glikol 400 Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Sebagai Tabir Surya. *J Farm Malahayati*. 2024;7(1):132–45.
31. Rizal R, Salman S, Maharani V. Formulasi sediaan spray gel ekstrak etanol pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dan uji daya tabir surya. *J Sains Farm Dan Kesehat [Internet]*. 2023;01(01):48–59. Available from: <https://jurnal.itcc.web.id/index.php/jfkes/article/view/83%0Ahttps://jurnal.itcc.web.id/index.php/jfkes/article/download/83/83>
32. Karlina DW, Noval, Yuwindry I. Formulasi dan Evaluasi Nano Spray Gel dengan Ekstrak Daun Sirih Merah (*piper crocatum* Ruiz & Pav) Sebagai Antioksidan dengan Variasi Konsentrasi Carbopol 940 Optimization Formulation and Evaluation of Nano Spray Gel with Red Betel Leaf Extract (*piper cro*. *J Surya Med*. 2024;10(2):288–301.

33. Tristantini D, Ismawati A, Pradana BT, Gabriel J. Pengujian Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH pada Daun Tanjung (*Mimusops elengi* L). Univ Indones. 2016;2.
34. Septian MT, Wahyuni FD, Nora A. Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Metabolit Sekunder pada Daging Ubi Jalar dari Berbagai Daerah di Indonesia. *J Kim dan Pendidik Kim*. 2022;4(2):185–96.
35. Rusydi SH, Indrawati T, Djamil R. Formulasi Spray Gel Antioksidan Kombinasi Ekstrak Daun Jambu Air dan Ekstrak Daun Mangga. *Maj Farmasetika*. 2022;7(2):141–52.

