

## Formulasi Serum Nanopartikel Ekstrak Etanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*) Sebagai Antioksidan

Arinda Nur Cahyani<sup>1</sup>, Feri Kanti Rahayu<sup>\*2</sup>, Ngafifah<sup>3</sup>

<sup>1,3</sup>Prodi S1 Farmasi, STIKes Ibnu Sina Ajibarang, Indonesia

<sup>2</sup>Prodi D3 Analis Farmasi dan Makanan, STIKes Ibnu Sina Ajibarang, Indonesia

e-mail: <sup>\*2</sup>[ferikantirahayu@gmail.com](mailto:ferikantirahayu@gmail.com)

### Article Info

#### Article history:

Submission September 2024

Review Oktober 2024

Accepted Januari 2025

### Abstrak

Antioksidan adalah senyawa yang mampu untuk menghentikan reaksi oksidasi sehingga dapat menghambat kerusakan sel dalam tubuh. Kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) mengandung polifenol dan flavonoid yang berfungsi sebagai penangkal radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak etanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) dapat diformulasikan sebagai sediaan serum nanopartikel dan memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi, Instrumen, dan Teknologi Farmasi STIKes Ibnu Sina Ajibarang. Jenis penelitian ini adalah deskriptif eksperimental yaitu karakterisasi ekstrak etanol kulit buah kakao dengan spektrofotometri UVVis, pembuatan sediaan serum nanopartikel; evaluasi fisik melalui uji organoleptik, homogenitas, pH, viskositas dan cycling test serta uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Hasil karakterisasi nanopartikel didapatkan panjang gelombang maksimum 430 nm dengan absorbansinya 0,353 pada konsentrasi 5 ppm menunjukkan ukuran partikel 50-60 nm. Hasil evaluasi fisik sediaan menunjukkan bahwa semua formulasi F0, FI, FII, dan FIII memenuhi persyaratan uji sifat fisik dan uji stabilitas, sehingga dapat dinyatakan bahwa ekstrak kulit buah kakao dapat diformulasikan sebagai sediaan serum nanopartikel. Hasil uji aktivitas antioksidan F0, FI, FII, dan FIII berturut-turut 5,12 ppm; 4,62 ppm; 4,28 ppm ; 3,16 ppm. Sehingga dapat disimpulkan bahwa sediaan serum nanopartikel yang paling efektif adalah FIII dengan konsentrasi ekstrak 3%.

**Kata kunci:** Antioksidan, Serum, Nanopartikel, Kakao, DPPH

### Ucapan terima kasih:

Terima kasih kepada STIKes Ibnu Sina Ajibarang, Pembimbing dan penguji serta semua pihak yang telah membantu penulis dalam melaksanakan penelitian ini.

### Abstract

Antioxidants are compounds that are able to stop oxidation reactions so that they can inhibit cell damage in the body. Cocoa pods (*Theobroma cacao L.*) contain polyphenols and flavonoids that function as free radical antidotes. This study aims to determine whether ethanol extract of cacao fruit peel (*Theobroma cacao L.*) can be formulated as a nanoparticle serum preparation and has antioxidant activity. This research was conducted at the Pharmacognosy, Instrument, and Pharmaceutical Technology Laboratory of STIKes Ibnu Sina Ajibarang. This type of research is descriptive experimental, namely characterisation of ethanol extract of cacao fruit skin with UV-Vis spectrophotometry, preparation of serum nanoparticles; physical evaluation through organoleptic test, homogeneity, pH, viscosity and cycling test and antioxidant activity test with DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method. The results of nanoparticle characterisation obtained a maximum wavelength of 430 nm with an absorbance of 0.353 at a concentration of 5 ppm showed a particle size of 50-60 nm. The results of the physical evaluation of the preparation showed that all formulations F0, FI, FII,

*and FIII met the requirements of the physical properties test and stability test, so it can be stated that cocoa fruit peel extract can be formulated as a nanoparticle serum preparation. The antioxidant activity test results of F0, F1, FII, and FIII were 5.12 ppm; 4.62 ppm; 4.28 ppm; 3.16 ppm, respectively. So it can be concluded that the most effective nanoparticle serum preparation is FIII with 3% extract concentration.*

**Keywords:** Antioxidant, Serum, Nanoparticles, Cocoa, DPPH

DOI ....

©2024 Politeknik Harapan Bersama Tegal

---

Alamat korespondensi:  
Prodi DIII Farmasi Politeknik Harapan Bersama Tegal  
Gedung A Lt.3. Kampus 1  
Jl. Mataram No.09 Kota Tegal, Kodepos 52122  
Telp. (0283) 352000  
E-mail: [parapemikir\\_poltek@yahoo.com](mailto:parapemikir_poltek@yahoo.com)

**p-ISSN: 2089-5313**  
e-ISSN: 2549-5062

## A. Pendahuluan

Radikal bebas adalah atom bersifat tidak stabil karena satu elektronnya tidak berpasangan [1]. Banyak faktor yang menyebabkan terjadinya radikal bebas seperti polusi, asap rokok, sinar inframerah dan sinar ultraviolet. Radiasi sinar UV yang diserap oleh kulit dapat menyebabkan bahaya pada kulit yang disebut *Reactive Oxygen 2 Species* (ROS). Radikal bebas yang meningkat pada sel radikal lain seperti radika hidroksil (OH) dan nitrat oksida (NO) sangat berbahaya karena menyebabkan penuaan dini yang cepat. ROS akan menyebabkan kerusakan oksidatif yang dapat mengganggu bagian dinding sel, membran lipid, mitokondria, dan DNA [2].

Radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan kolagen pada kulit, hiperpigmentasi, peradangan dan dehidrasi serta merusak komponen kulit seperti meningkatnya garis halus pada kulit, kerutan, dan bintik hitam kulit yang dapat mengganggu penampilan. Radikal bebas menyebabkan masalah yang rentan terhadap kulit sebagai organ terbesar dalam tubuh. Oleh karena itu, penting untuk menggunakan antioksidan sebagai perlindungan terhadap serangan radikal bebas dan untuk mengurangi dampak negatif yang diakibatkannya [3].

Antioksidan menjadi suatu senyawa yang dapat menangkal dengan menyumbangkan elektron ke senyawa pengoksidasi dan menghentikan proses reaksi berantai yang dapat menghasilkan radikal bebas. Antioksidan memiliki kemampuan untuk melindungi dan mengurangi efek buruk dari oksidan yang ada didalam tubuh [4].

Tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) adalah salah satu tanaman alami yang paling kaya akan antioksidan. Tanaman ini mengandung flavonoid dan polifenol yang berfungsi sebagai sumber antioksidan. Tanaman kakao (*Theobroma cacao* L.) telah diuji secara in vitro. Hasilnya menunjukkan bahwa tanaman kakao mengandung senyawa yang memiliki kandungan antioksidan dan antiradikal [5]. Penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) mengandung senyawa flavonoid sebesar 22,42 + 0,98 mg rutin ekivalen/g sehingga dapat dimanfaatkan dalam obat atau kosmetika [6].

Salah satunya dapat diterapkan pada pembuatan sediaan kosmetik yang

mengandung nanopartikel. Nanopartikel merupakan komponen nano yang memiliki ukuran partikel berdiameter 10-100 nm yang dapat membantu menghantarkan zat aktif dari sediaan. Nanopartikel memiliki sifat *biocompatible* (mampu menyesuaikan diri) dalam sediaan kosmetika yang bertujuan untuk mengatasi permasalahan penuaan dini [1].

Pada penelitian ini dilakukan untuk memformulasikan dan melakukan uji antioksidan serum nanopartikel dari ekstrak etanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.).

## B. Metode

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental dibuktikan dengan pembuatan sediaan serum nanopartikel dari ekstrak etanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.). Pengujian sifat fisik sediaan serum ini meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji viskositas, uji daya sebar, uji pH, dan uji stabilitas dengan rancangan untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) dengan menggunakan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH).

## Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu labu ukur, pH meter tipe-510 (*Eutech Instrument*, Singapura), waterbath (*Memmert*, Hongkong), rotary evaporator (*IKA RV 10 digital*), viskometer brookfield (*Brookfield RV*, USA), wadah serum, timbangan analitik (*Matrix*®), kaca objek, spektrofotometri UV-Vis (*D-Lab*®), inkubator, pipet volume, pipet tetes, mikropipet (*Mettler Toledo*, USA), tabung reaksi dan rak reaksi, corong kaca (*Herma*®), beakerglass, kertas saring, sudip, batang pengaduk, gelas ukur (*Herma*®), erlenmeyer (*Herma*®), penggaris, mortir dan stemper, blender, dan ayakan.

Bahan yang digunakan adalah aquadest, kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.), BHT, etanol 70% (Bratachem), etanol p.a, karbopol, metil paraben (Merck), *Trietanolum* (TEA) (Merck), propilen glikol (Bratachem), propil paraben, kitosan, asam asetat, natrium tripolifosfat (NaTPP), vitamin C (Sigma-Aldrich) dan DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) (Sigma-Aldrich).

## Prosedur Kerja

### Preparasi dan pembuatan simplisia

Simplisia yang digunakan adalah bagian kulit dari buah kakao. Tanaman kulit buah kakao kemudian dideterminasi di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Kulit buah kakao disortasi basah ditiriskan, kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari langsung dengan ditutupi kain hitam. Selanjutnya dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk. Simplisia disimpan dalam wadah kering tertutup rapat dalam ruangan yang terlindung dari cahaya matahari.

### Metode Ekstraksi

Serbuk simplisia sebanyak 600 gr diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10. Simpan dalam ruangan yang terhindar dari sinar matahari langsung selama 3 hari. Selama dilakukan perendaman dolaukan pengadukan selama 6 jam sekali. Kemudian setelah perendaman, dilakukan penyaringan. Hasil maserat diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan dipekatan kembali menggunakan *waterbath* dengan suhu 70°C [7].

### Pembuatan Nanopartikel Ekstrak Etanol Kulit Buah Kakao

Pembuatan nanopartikel Ekstrak etanol kulit buah kakao dimulai dengan membuat larutan stok kitosan konsentrasi 0,2% b/v dalam asam asetat 1% b/v dan larutan stok NaTPP konsentrasi 0,1% b/v dalam aquadestilata, serta larutan stok ekstrak etanol kulit buah kakao dengan 300 mg dalam 1 mL etanol 70%. Kemudian 6 mL larutan stok kitosan dicampur dengan 1 mL larutan stok NaTPP dan 1 mL larutan ekstrak etanol kulit buah kakao [8]. Dilakukan pengadukan selama 10 menit dengan menggunakan *magnetic stirrer* pada kecepatan 1500 rpm. Selanjutnya dilakukan sonikasi selama 10-15 menit untuk memecah molekul polimer menjadi berukuran kecil [9].

### Karakterisasi Sistem Nanopartikel Ekstrak Etanol Kulit Buah Kakao

Karakteristik sistem nanopartikel menggunakan sampel ekstrak etanol kulit buah kakao dalam volume 3 mL yang dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian dilakukan pembacaan menggunakan alat Spektrofotometri UV-Vis yang mengukur panjang gelombang nanopartikel. Panjang gelombang maksimum nanopartikel berkisar antara 400-500 nm [10].

## Pembuatan Formulasi Serum Nanopartikel

Tabel 1. Formulasi Serum Nanopartikel

Bahan	Konsentrasi (% b/v)			
	F0	FI	FII	FIII
Ekstrak nanopartikel kulit buah kakao	0	1	2	3
Carbopol	0,5	0,5	0,5	0,5
TEA	0,5	0,5	0,5	0,5
BHT	0,05	0,05	0,05	0,05
Propilen glikol	7,5	7,5	7,5	7,5
Metil Paraben	0,9	0,9	0,9	0,9
Propil Paraben	0,001	0,001	0,001	0,001
Air Suling ad	50	50	50	50

Keterangan :

F0 : Basis Tanpa Ekstrak

FI : Formulasi dengan Konsentrasi 1%

FII : Formulasi dengan Konsentrasi 2%

FIII : Formulasi dengan Konsentrasi 3%

## Evaluasi Sediaan Serum Nanopartikel

### 1. Uji Organoleptik

Pengujian pada serum nanopartikel dengan melihat warna, aroma, dan sensasi kulit setelah menggunakan serum nanopartikel ekstrak kulit buah kakao. Pengujian dapat mencakup warna, aroma, dan sensasi pada kulit [11]

### 2. Uji Homogenitas

Pengujian homogenitas dilakukan dengan mengoleskan 0,5 gram sediaan serum nanopartikel pada preparat kaca objek. Setelah itu, diamati apakah bahan-bahan yang digunakan dalam sediaan tersebar merata pada lempeng kaca [12]. Tidak adanya partikel pada gel menunjukkan sampel memiliki homogenitas yang baik [13].

### 3. Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan dengan sediaan dimasukkan ke dalam viscometer hingga spindle terendam. Spindel diatur pada kecepatan 30 rpm [14]. Sediaan serum nanopartikel ekstrak kulit buah kakao yang dimasukkan dalam alat viscometer Brookfield menggunakan rotor nomor 2 suhu 25°C [15]. Menurut SNI 16-4399-1996, viskositas sediaan serum dinyatakan dalam literatur viskositas sebesar 400-50.000 mPas/cP.

### 4. Uji Daya Sebar

Uji daya sebar dilakukan dengan ditambahkan 0,5 gr serum nanopartikel ekstrak kulit buah kakao pada bagian tengah kaca daya sebar. Kemudian, berikan beban sebesar 150 gr selama 1 menit dan diukur

diameter penyebarannya[16]. Nilai standar daya sebar serum memiliki rentang yaitu 5-7 cm[17].

#### 5. Uji pH

Pengujian pH dilakukan dengan menggunakan 0,5 gram serum nanopartikel ekstrak kulit buah kakao dicampur dengan 5 ml aquadest. Kemudian selama 1 menit pH meter dicelupkan. Nilai pH sediaan ditunjukkan oleh perubahan warna stik pH[18]. Standar pH sediaan serum adalah antara 4-8[15].

#### 6. Uji Stabilitas

Selama 24 jam, sampel serum disimpan pada suhu 4°C dan 40°C dilakukan selama 6 siklus. Selanjutnya perubahan fisik dalam sediaan serum nanopartikel ekstrak kulit buah kakao diamati, termasuk pengamatan organoleptik, homogenitas, pH, viskositas, dan daya sebar[18].

### Uji Aktivitas Antioksidan

#### 1. Pembuatan Larutan Induk DPPH

Menimbang 10 mg DPPH, gunakan labu ukur 100 ml (100 ppm), kemudian larutkan DPPH dalam etanol *p.a* hingga tanda batas. Kocok hingga homogen dan tutup dengan aluminium foil sampai tidak ada bagian yang terpapar cahaya.

#### 2. Pembuatan dan Penentuan $\lambda$ Maksimal Larutan Blanko DPPH

Larutan DPPH dipipet sebanyak 1 ml ke dalam labu ukur 5 ml. Melarutkan larutan DPPH dengan etanol *p.a* hingga tanda dan dihomogenkan. Selanjutnya, diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 400 – 750 nm hingga diperoleh  $\lambda$  maksimal.

#### 3. Uji Aktivitas Antioksidan Larutan Uji

Ditimbang sampel serum nanopartikel ekstrak kulit buah kakao sebanyak 50 mg. Dilarutkan dengan etanol *p.a* dalam labu ukur 50 ml selanjutnya di vortex selama 2 menit. Didapat larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dibuat seri konsentrasi yaitu 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm, dan 300 ppm dengan memipet masing-masing 0,5 ml, 0,75 ml, 1 ml, 1,25 ml, dan 1,5 ml, kemudian volume etanol *p.a* ditambahkan sampai tanda batas dalam labu ukur (5 ml). Kemudian, 1 ml dari masing-masing konsentrasi diambil, masukkan ke dalam tabung reaksi dengan menambah 2 ml larutan DPPH dan dilakukan sebanyak 3 replikasi. Adanya perubahan dari warna ungu ke kuning

menunjukkan bahwa penangkal radikal bebas bekerja dengan baik. Setelah diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan, pengukuran absorbansi dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

#### 4. Pembuatan Larutan Perbandingan /Kontrol Positif

50 mg vitamin C ditimbang. Gunakan labu ukur (50 ml) dilarutkan dengan etanol *p.a* dan diperoleh larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm. Dibuat pengenceran 5 seri konsentrasi larutan perbandingan vitamin C yaitu 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm, dan 30 ppm. Masing-masing dipipet 0,05 ml, 0,075 ml, 0,1 ml, 0,125 ml, dan 0,15 ml masing-masing dicukupkan dengan etanol *p.a* dalam labu ukur (5 ml). Selanjutnya, 1 ml untuk setiap konsentrasi diambil dan ditambahkan 2 ml larutan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Kemudian, absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm.

### Analisis Data

#### 1. Nilai IC<sub>50</sub>

Persentase aktivitas antioksidan diperoleh dengan membandingkan absorbansi kombinasi ekstrak yang diperoleh dengan absorbansi DPPH. Persentase aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ aktivitas antioksidan} = \frac{Ac - Ab}{Ac} \times 100\%$$

Keterangan :

Ac = Nilai Absorbansi Blanko

Ab = Nilai Absorbansi Sampel

Data hasil penentuan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dihitung nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibitory Concentration*) dengan menggunakan persamaan regresi linier  $Y = aX + b$  dimana konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai basis (sumbu X) dan nilai % inhibisi (antioksidan) digunakan sebagai ordinat (sumbu Y). Nilai IC<sub>50</sub> dari perhitungan pada saat % inhibisi sebesar 50%. Nilai IC<sub>50</sub> untuk menentukan kategori kekuatan antioksidan [19].

#### 2. Analisis Data

Data dianalisis menggunakan Uji *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan menggunakan SPSS. Dilakukan pengujian data normalitas kemudian homogenitas sebagai syarat analisis

data sebelum melakukan uji ANOVA. Tujuan uji normalitas data adalah untuk mengetahui apakah data mengikuti sebaran normal atau tidak. Uji data homogenitas digunakan untuk menguji apakah masing-masing kelompok memiliki kesamaan varian rata-rata. Hasilnya dianggap signifikan dengan taraf signifikansi ( $\alpha = 0,05$ ). Jika data tidak memenuhi syarat uji *One Way Anova* maka dilakukan uji non parametrik *Post Hoc LSD* kemudian dianalisis uji T-test berpasangan.

### C. Hasil dan Pembahasan

Determinasi kulit buah kakao dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto. Tujuan determinasi untuk mengetahui ketepatan spesies yang akan digunakan dalam penelitian. Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang diuji benar *Theobroma cacao* L.

**Tabel 2. Hasil Susut Pengeringan Simplisia**

Simplisia kerng (g)	Simplisia basah (g)	Susut pengeringan (%)
600	3000	80%

Pada tabel 2 menunjukkan serbuk simplisia kulit buah kakao yang dihasilkan sebanyak 600 gram dengan susut pengeringan sebanyak 80%.

**Tabel 3. Hasil Randemen Ekstrak**

Bobot Serbuk (g)	Bobot Ekstrak (g)	Randemen (%)
600	62,94	10,49

Pada tabel 3. menunjukkan ekstrak kulit buah kakao yang dihasilkan sebanyak 62,94% dengan % randemen ekstra sebanyak 10,49%. Randemen adalah perbandingan antara hasil metabolit yang didapatkan setelah proses ekstraksi dengan berat sampel. Hasil randemen tersebut sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia Edisi II dimana ekstrak kulit buah kakao lebih dari 10% [20].

**Tabel 4. Karakteristik Sistem Nanopartikel**

Konsentrasi (ppm)	$\lambda$ (nm)	Absorbansi
5	430	0,353

Pada tabel 4 menunjukkan pada konsentrasi 5 ppm memiliki nilai absorben sebesar 0,353 yang dapat menyerap cahaya pada panjang gelombang 430 nm. Nilai tersebut masuk kedalam rentang panjang gelombang pada pengukuran nanopartikel yang umumnya sekitar 400-500. Dimana pada rentang panjang gelombang tersebut ukuran

partikel yang dihasilkan sebesar 50-60 nm [21].

### Pembuatan Sediaan Serum Nanopartikel

Dalam pembuatan serum nanopartikel, ada beberapa hal yang harus diperhatikan. Salah satunya adalah metode pembuatan, dan bagaimana memilih basis gel yang terdiri dari bahan pembentuk gel, humektan, pengawet, dan air. Dalam pembuatan serum nanopartikel bahan dicampurkan menggunakan *magnetik stirrer*  $\pm 10$  menit dengan kecepatan 70 rpm sampai homogen. Basis yang digunakan adalah carbopol. Carbopol dipilih sebagai bahan dasar formulasi karena kesesuaiannya dengan semua bahan yang terkandung dalam formulasi dan membuatnya nyaman digunakan pada kulit [22].

**Tabel 5. Hasil Uji Organoleptik Sebelum Cycling test**

Sampel	Bentuk	Warna	Bau
F0	Agak kental	Bening	Tidak berbau
FI	Agak kental	Putih tulang	Khas
FII	Agak kental	Coklat muda	Khas
FIII	Agak kental	Coklat	Khas

**Tabel 6. Hasil Uji Organoleptik Sesudah Cycling test**

Sampel	Bentuk	Warna	Bau
F0	Agak kental	Bening	Tidak berbau
FI	Agak kental	Putih tulang	Khas
FII	Agak kental	Coklat muda	Khas
FIII	Agak kental	Coklat	Khas

Pada tabel 5 dan 6 menunjukkan bahwa sediaan serum nanopartikel memiliki bau khas, bentuk agak kental, dan warna yang terdapat sedikit perbedaan karena konsentrasi zat aktif yang semakin tinggi. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak kulit buah kakao, maka semakin kuat bau dan warna serum nanopartikel yang dihasilkan semakin pekat. Hasil pemeriksaan organoleptik pada sediaan serum nanopartikel sesudah dilakukan penyimpanan menunjukkan hasil bahwa sediaan stabil tidak berubah warna, bau dan bentuknya yang agak kental pada tiap formulasi.

**Tabel 7. Hasil Uji Homogenitas Serum Nanopartikel**

Sampel	Sebelum <i>Cycling test</i>	Sesudah <i>Cycling test</i>
F0	Homogen	Homogen
FI	Homogen	Homogen
FII	Homogen	Homogen
FIII	Homogen	Homogen

Pada tabel 7. Hasil uji homogenitas baik sebelum dan sesudah penyimpanan menunjukkan bahwa sediaan serum nanopartikel menunjukkan hasil yang homogen ditandai dengan tidak adanya butiran kasar [23].

**Tabel 8. Hasil Uji pH Serum Nanopartikel**

Sampel	Sebelum <i>Cycling test</i>	Sesudah <i>Cycling test</i>
F0	5	6
FI	5	6
FII	5	6
FIII	5	6

Pada tabel 8. Hasil yang diperoleh pada F0, FI, FII, dan FIII sebelum penyimpanan memiliki pH 5 dan sesudah penyimpanan memiliki pH 6. Hasil tersebut masih memenuhi persyaratan pH dengan nilai standar sediaan serum yaitu rentang 4-8 [24].

**Tabel 9. Hasil Uji Daya Sebar Serum Nanopartikel**

Sampel	Rata-rata Diameter Daya Sebar (cm) ± SD	
	Sebelum <i>Cycling Test</i>	Sesudah <i>Cycling test</i>
F0	5,6 ± 0,2	6,5 ± 0,3
FI	6,7 ± 0,1	6,8 ± 0,1
FII	6,3 ± 0,3	5,4 ± 0,3
FIII	6,4 ± 0,1	4,5 ± 0,2

Pada tabel 9. Hasil uji daya sebar serum nanopartikel menunjukkan bahwa diameter penyebaran serum nanopartikel dikatakan baik dengan rata-rata diameter sebelum dan sesudah penyimpanan yaitu 4,3 cm sampai 6,9 cm dimana hasil tersebut masih sesuai dengan persyaratan uji daya sebar serum yaitu 5-7 cm [25]. Semakin tinggi nilai diameter penyebarannya, semakin cepat serum menyebar ketika diaplikasikan secara ringan pada kulit [26].

**Tabel 10. Hasil Uji Viskositas Serum Nanopartikel**

Sampel	Rata-rata Dianeter Viskositas (mPas) ± SD	
	Sebelum <i>Cycling test</i>	Sesudah <i>Cycling test</i>
F0	773 ± 137,8	351,3 ± 93,62
FI	434,6 ± 8,386	411 ± 30,80
FII	600,3 ± 63,26	923 ± 233,1

FIII 514,6 ± 45,52 1451 ± 370,5

Tabel 10. Menunjukkan hasil pada F0 sesudah *cycling test* mengalami penurunan yaitu 351,3 mPas sedangkan pada F0 sebelum *cycling test* dan FI, FII, FIII sebelum serta sesudah *cycling test* menunjukkan hasil yang baik yaitu 411 – 1.451 mPas dimana pada nilai tersebut sesuai dengan persyaratan nilai viskositas serum menurut SNI 16-4399-1996 yaitu 400-50.000 mPas. Perubahan nilai viskositas dapat dipengaruhi seperti perubahan suhu, pH, kualitas sediaan, konsentrasi dari bahan baku serta lama waktu penyimpanan. Semakin besar nilai viskositas maka semakin besar tingkat kekentalan sediaan dan semakin besar viskositas maka semakin kecil daya sebar [27].

Setelah didapatkan sediaan serum selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dari sediaan serum nanopartikel ekstrak etanol kulit buah kakao. Analisis aktivitas antioksidan pada sediaan serum nanopartikel ekstrak etanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) menggunakan metode perendaman terhadap DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) yang dianalisis dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm [28]. Alasan penggunaan spektrofotometer UV-Visibel adalah karena spektrofotometri UV-Visibel dapat menganalisis banyak zat organik anorganik secara selektif, dan analisis dapat dilakukan dengan cepat dan akurat dengan kesalahan relatif yang tinggi antara 1% hingga 3%..

Dalam analisis aktivitas antioksidan, vitamin C dalam bentuk murninya digunakan sebagai pembanding karena merupakan antioksidan alami yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan mengurangi radikal bebas dengan harga yang relatif murah dan mudah untuk didapatkan [29].

Persen inhibisi adalah kemampuan suatu bahan untuk menghambat aktivitas radikal bebas yang berhubungan dengan konsentrasi pada suatu sampel. Semakin kecil nilai absorbansinya maka akan semakin besar nilai persen inhibisi. Hal ini dikarenakan bahwa semakin tinggi konsentrasi maka aktivitas antioksidan juga semakin tinggi [30]. Hasil persen inhibisi yang didapatkan kemudian digunakan untuk menghitung nilai IC<sub>50</sub> sebagai parameter utama dalam aktivitas antioksidan.

Nilai IC<sub>50</sub> menjadi parameter yang dapat digunakan untuk menginterpretasikan hasil

dari uji aktivitas antioksidan. Nilai  $IC_{50}$  yang didapatkan akan diklasifikasikan menggunakan klasifikasi antioksidan yaitu sangat kuat jika nilai kurang dari 50 ppm, kuat untuk  $IC_{50}$  bernilai 50-100 ppm, sedang untuk  $IC_{50}$  bernilai 150-200 ppm, dan lemah untuk  $IC_{50}$  bernilai lebih dari 200 ppm.

**Tabel 11. Hasil Absorbansi, Persen Inhibisi, dan Nilai  $IC_{50}$  Serum Nanopartikel**

Formulasi	Rata-rata Absorbansi	% inhibisi	$IC_{50}$ (ppm)
F0	0,535	17,94	5,12
	0,476	26,99	
	0,446	31,59	
	0,386	40,79	
	0,325	50,15	
F1	0,471	27,70	4,62
	0,442	32,15	
	0,399	38,80	
	0,340	47,80	
	0,319	50,97	
FII	0,535	17,89	4,28
	0,467	28,27	
	0,404	37,98	
	0,327	49,84	
	0,294	54,85	
FIII	0,457	29,80	3,16
	0,375	42,43	
	0,330	49,28	
	0,274	57,87	
	0,242	62,83	

Pada tabel 11. Menunjukkan bahwa dengan peningkatan konsentrasi dari larutan uji maka absorbansi semakin rendah dan persen penghambatan semakin tinggi. Persamaan regresi linear yang dihasilkan pada semua formulasi dinyatakan baik karena mendekati angka 1. Nilai  $IC_{50}$  sediaan serum nanopartikel ekstrak kulit buah kakao pada setiap formulasi menunjukkan aktivitas antoksidan yang sangat kuat yang ditunjukkan dengan nilai  $IC_{50} < 50$ .

**Tabel 12. Hasil Absorbansi, Persen Inhibisi, dan Nilai  $IC_{50}$  Vitamin C**

Absorbansi	% Inhibisi	$IC_{50}$ (ppm)
0,431	33,895	8,32
0,417	35,940	
0,412	36,809	
0,383	41,359	
0,375	42,382	

Tabel 12. Menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi dari vitamin C, semakin rendah nilai absorbansi dan semakin tinggi persen penghambatannya. Untuk persamaan regresi linear dari vitamin C, didapatkan nilai

r menunjukkan hasil yang baik karena mendekati angka 1. Nilai  $IC_{50} < 50$  menunjukkan bahwa vitamin C memiliki antioksidan yang sangat kuat.

Berdasarkan uji normalitas masing-masing nilai  $IC_{50}$  terdistribusi normal menunjukkan nilai signifikansi yaitu  $> 0.05$ . Dan pada pengujian uji homogenitas menunjukkan nilai signifikansi yaitu 0,146 ( $> 0,05$ ). kemudian, dilanjutkan pengujian analisis parametrik *One Way ANOVA*.

Berdasarkan hasil analisis data pengujian data parametrik *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa nilai signifikansi yaitu 0,005 ( $< 0,05$ ). Selanjutnya, untuk mengetahui apakah ada perbedaan signifikan antara setiap formulasi, maka uji *Post Hoc LSD* dilakukan.

Berdasarkan hasil analisis data uji *Post Hoc LSD* menunjukkan bahwa konsentrasi F0, F1, dan FII menunjukkan tidak berbeda bermakna namun pada FIII menunjukkan perbedaan bermakna. Selanjutnya dilanjutkan uji T-test berpasangan digunakan untuk membandingkan perbedaan rata-rata dua sampel yang saling berpasangan.

Berdasarkan hasil analisis data uji t-test berpasangan (*paired t-test*) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara sampel sebelum *cycling test* dan sesudah *cycling test* yang ditunjukkan dengan signifikansi uji daya sebar 0,167 dan uji viskositas 0,233 dengan nilai signifikansi ( $p > 0,05$ ).

#### D. Simpulan

Dari hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

1. Ekstrak etanol kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) dapat diformulasikan sebagai zat aktif dalam sediaan serum nanopartikel yang memenuhi persyaratan yang ditunjukkan dengan uji sifat fisik dan uji stabilitas yang menunjukkan sediaan stabil.
2. Serum nanopartikel ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) untuk F1, FII, dan FIII memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Didapatkan hasil paling baik pada aktivitas antioksidan adalah FIII dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 3,16 ppm.

#### Pustaka

- [1] A. N. Pratama and H. Busman, Potensi Antioksidan Kedelai (*Glycine Max* L)

- Terhadap Penangkapan Radikal Bebas, *J. Ilm. Kesehat. Sandi Husada*, vol. 11, no. 1, pp. 497–504, 2020, doi: 10.35816/jiskh.v11i1.333.
- [2] R. Radi, Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxy nitrite: Redox pathways in molecular medicine, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 115, no. 23, pp. 5839–5848, 2018, doi: 10.1073/pnas.1804932115.
- [3] Elmitra, R. Yenti, and W. Chandra, “Formulasi Sediaan Gel Serum Dari Ekstrak Etanol Kulit Batang Menteng (*Baccaurea macrocarpa*) sebagai Antioksidan, *J. Akad. Farm. Pray.*, pp. 1–21, 2022.
- [4] M. H. Amin, I. B. Pidada, and C. S. Utami, Imunotoksitas pewarna makanan terhadap histopatologi Peyer’s patch goblet mencit (The immunotoxicity of food additive on histopatology of mice Peyer’s patch goblet), *J. Bios Logos*, vol. 3, no. 1, pp. 18–23, 2013, doi: 10.35799/jbl.3.1.2013.14504.
- [5] Q. P. Arnanda, R. F. Nuwarda, P. Studi, S. Farmasi, F. Farmasi, and U. Padjadjaran, Penggunaan Radiofarmaka Teknesium-99m Dari Senyawa Glutation Dan Senyawa Flavonoid Sebagai Deteksi Dini Radikal Bebas Pemicu Kanker, *J. Farmaka*, vol. 17, pp. 236–243, 2019.
- [6] Euis Reni Yuslianti, *Pengantar Radikal Bebas Dan Antioksidan*. Yogyakarta :Deepublish, 2017.
- [7] A. M. Ulfa, D. Chusniasih, and A. D. Bestari, Pemanfaatan Potensi Antioksidan Dari Limbah Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Dalam, Vol. 2, No. 1, Pp. 33–40, 2019.
- [8] N. K. Y. Dwipayanti, G. P. G. Putra, and L. Suhendra, Karakteristik Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*) sebagai Sumber Antioksidan pada Perlakuan Perbandingan Bahan dengan Pelarut dan Waktu Maserasi, vol. 8, no. 2, pp. 210–222, 2020.
- [9] D. A. Ananta, G. P. G. Putra, and I. W. Arnata, Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*), vol. 9, no. 2, pp. 186–197, 2021.
- [10] Y. Liu and M. Guo, Studies on Transition Metal-Quercetin Complexes Using Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry, *molecules*, pp. 8583–8594, 2015, doi: 10.3390/molecules20058583.
- [11] S. E. Priani and T. M. Fakhri, ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia Identifikasi Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase Senyawa Turunan Flavonoid pada Kulit Buah Cokelat (*Theobroma cacao L.*) secara In Silico, *J. Penelit. Kim.*, vol. 17, no. 2, pp. 168–176, 2021, doi: 10.20961/alchemy.17.2.45317.168-176.
- [12] A. A. Karim, A. Azlan, A. Ismail, P. Hashim, S. Salwa, and A. Gani, Phenolic composition, antioxidant, anti-wrinkles and tyrosinase inhibitory activities of cocoa pod extract, vol. 14, no. 1, pp. 1–13, 2014, doi: 10.1186/1472-6882-14-381.
- [13] L. Tiara Putri, Y. Syukri, and S. Werdyani, Aplikasi Gold Nanopartikel dengan Bahan Alam sebagai Kosmetik Pemutih Wajah: Tinjauan Sistematis, *J. Sains Farm. Klin.*, vol. 8, no. 2, p. 116, 2021, doi: 10.25077/jsfk.8.2.116-127.2021.
- [14] S. Kaul, N. Gulati, D. Verma, S. Mukherjee, and U. Nagaich, Role of Nanotechnology in Cosmeceuticals: A Review of Recent Advances, vol. 2018, 2018.
- [15] T. B. Karya, *Pedoman Bertanam Cokelat*. Yrama Widya, 2013. [Online]. Available: [http://opac.utu.ac.id/index.php?p=show\\_detail&id=1623](http://opac.utu.ac.id/index.php?p=show_detail&id=1623)
- [16] T. H. Siregar, S. Riyadi, and L. Nuraeni, *Budidaya Cokelat*. Jakarta Penebar Swadaya, 2014. [Online]. Available: <http://katalogarpusdakabsemarang.perpusnas.go.id/detail-opac?id=25431>
- [17] B. Martono, Morphological Characteristics And Germplasm Activities In Cacao, *Balai Penelit. Tanam. Ind. Dan Penyegar*, pp. 15–28, 2013.
- [18] P. T. Wahyudi, T.R. Panggabean, *Panduan Lengkap Kakao*. Niaga Swadaya, 2017.
- [19] N. Mita, Formulasi Krim Dari Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Berkhasiat Antioksidan, *J. Trop. Pharm. Chem.*, vol. 3, pp. 12–21, 2015.
- [20] Z. Oktoba, A. Nafisah, T. Adjeng, P. R. A. Sangging, and A. Irawan, Pemanfaatan Ekstrak Kulit Ari Biji Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Dalam Pembuatan Krim Lulur Skripsi Program Studi Agroindustri, *J. Pengabd. Masy.*, vol. 7, no. 1, pp. 83–88, 2023.
- [21] chia ling Lee, hsin wei Kuo, chin chyuan Chang, and W. Cheng, Injection of an extract of fresh cacao pod husks into *litopenaeus vannamei* upregulates immune

- responses via innate immune signaling pathways, *fish Shellfish Immunol.*, vol. 104, pp. 545–556, 2020, [Online]. Available: <http://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.05.070>
- [22] I. K. W. Putra, G. P. G. Putra, and L. P. Wrsiati, Pengaruh Perbandingan Bahan dengan Pelarut dan Waktu Maserasi terhadap Ekstrak Kulit Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai Sumber Antioksidan, vol. 8, no. 2, pp. 167–176, 2020.
- [23] Sartini, R. M. Asri, and Ismail, Pengaruh pra perlakuan sebelum pengeringan sinar matahari dari kulit buah kakao terhadap kadar komponen fenolik dalam ekstrak, *J. Biol. Makassar*, vol. 2, pp. 15–20, 2017.
- [24] P. M. Miranda, G. P. G. Putra, and L. Suhendra, Karakteristik Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) sebagai Sumber Antioksidan pada Perlakuan Konsentrasi Pelarut dan Ukuran Partikel, *J. Rekayasa dan Manaj. Agroindustri*, vol. 8, no. 1, pp. 28–38, 2020.
- [25] L. Daniswara and M. Mujibburoman, *Isolasi Senyawa Flavonoid dari Limbah Kulit Buah Kakao dengan Variabel Mesh Partikel dan Suhu Evaporasi*. Jl. Kartasura, Pabelan Surakarta, 2020.
- [26] Jusmiati, R. Rusli, and L. Rijai, Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Kakao Masak dan Kulit Buah Kakao Muda, *J. Sains dan Kesehat.*, vol. 1, no. 1, pp. 34–39, 2015.
- [27] M. N. Haliza, W. Aananti, and J. & Santoso, Formulasi Sediaan Serum Spray Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* L.) Sebagai Anti Aing alami, *Parapemikir*, vol. 7, no. 1, pp. 1–6, 2020, [Online]. Available: <http://ejournal.poltektegal.ac.id/index.php/parapemikir>
- [28] F. Ariem, P. V. Y. Yamlean, and J. S. Lebang, Formulations And Antioxidant Efficacy The Cream Leaf Extract Of The Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.) Formulasi Dan Uji Efektivitas Antioksidan Sediaan Krim, Vol. 9, No. November, 2020.
- [29] D. K. Membri, A. Yudistira, and S. Sumantri, Antioxidant Activity Test Of Liosina Paradoxa Sponge Ethanol Extract Collected From Mantehage Islands Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Spons Liosina Paradoxa Yang, Vol. 10, pp. 774–779, 2021.
- [30] Y. Febriani, S. H. Lubis, F. Annisa, F. Farmasi, U. Tjut, and N. Dhien, Formulasi Sediaan Serum Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz & Pav.*) Sebagai Antioksidan Formulation Of Red Betel Leaf Extract Serum (*Piper Crocatum Ruiz & Pav.*) As Antioxidant, vol. 5, no. 1, pp. 120–127, 2022.