

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Sampel dalam penelitian ini dipilih menggunakan metode *purposive sampling*, di mana sampel dipilih sesuai kriteria yang telah ditetapkan. Berdasarkan survey pendahuluan, diperoleh 5 produk krim *anti-aging* mengandung vitamin C yang memenuhi kriteria tersebut dan tidak memiliki izin BPOM yang diberi kode sampel A, B, C, D, dan E.

1. Uji Organoleptis

Pengujian organoleptis dilakukan melalui pengamatan terhadap warna, aroma, dan tekstur pada sampel untuk mengetahui karakteristik fisik dari sampel krim yang dianalisa. Hasil uji organoleptis dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Hasil Uji Organoleptis

Sampel	Organoleptis		
	Warna	Aroma	Tekstur
Sampel A	Kuning	Wangi	Homogen, halus
Sampel B	Putih	Wangi	Homogen, halus
Sampel C	Putih	Wangi	Homogen, halus
Sampel D	Putih	Wangi	Homogen, halus
Sampel E	Putih	Wangi	Homogen, halus

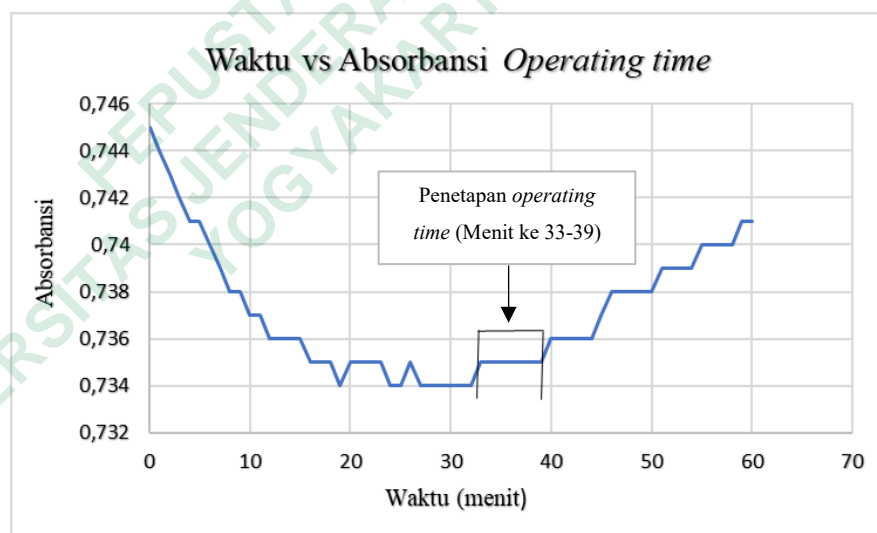
2. Uji aktivitas antioksidan

a) Penetapan panjang gelombang maksimal DPPH

Penetapan panjang gelombang maksimal DPPH dilakukan untuk menentukan serapan pada panjang gelombang yang memberikan absorbansi paling tinggi. Untuk menentukan panjang gelombang maksimal dilakukan melalui pengukuran larutan DPPH pada rentang 400-600 nm, dan didapatkan puncak stabil DPPH berada pada 515 nm, yang sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kusmanto & Qonitah (2020).

b) Penentuan *operating time* DPPH

Operating time adalah lamanya waktu larutan uji bereaksi sempurna dengan DPPH, sehingga terbentuk senyawa yang stabil. *Operating time* ditentukan melalui pengukuran absorbansi larutan Vitamin C yang direaksikan dengan larutan DPPH, kemudian dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 515 nm dengan rentang waktu 0-60 menit dan interval pengukuran satu menit hingga didapatkan hasil absorbansi yang stabil. Dari pengujian *Operating time* didapatkan hasil absorbansi yang stabil pada menit ke 33 hingga 39 dengan nilai absorbansi 0,735, dari hal ini dapat disimpulkan bahwa pada menit ke 33 reaksi antara larutan sampel dan DPPH telah stabil dan mencapai titik kesetimbangan. Data waktu dan absorbansi *operating time* dapat dilihat pada lampiran 4.



Gambar 10. Grafik Penetapan *Operating Time*

c) Penetapan aktivitas antioksidan Vitamin C dan sampel krim

Penetapan aktivitas antioksidan pada sampel krim *anti-aging* yang mengandung Vitamin C, menggunakan pembanding yaitu Vitamin C. Untuk menentukan nilai IC_{50} pada sampel,

dilakukan perhitungan % Penangkapan radikal menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Penangkapan radikal} = \frac{\text{Abs larutan blanko} - \text{Abs sampel}}{\text{Abs larutan blanko}} \times 100\%$$

Data hasil perhitungan %penangkapan radikal yang diperoleh, kemudian dibuat persamaan regresi linier yang menghubungkan antara %penangkapan radikal dengan konsentrasi sehingga diperoleh persamaan regresi linier $y = bx + a$.

Untuk memperoleh nilai IC_{50} dilakukan dengan mensubstitusikan angka 50 ke dalam nilai y pada persamaan regresi linier (Rumondor *et al.*, 2024). Setelah diperoleh nilai IC_{50} dari tiap sampel kemudian dikategorikan berdasarkan kekuatan aktivitas antioksidan, yang ditentukan oleh besar kecilnya nilai IC_{50} . Semakin rendah nilai IC_{50} , semakin tinggi kemampuan antioksidan yang dimiliki oleh sampel, dan sebaliknya. Berdasarkan Kholifah *et al.* (2023), klasifikasi aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} dapat dibagi menjadi lima kategori yaitu: sangat kuat (kurang dari 50 ppm), kuat (50-100 ppm), sedang (100-150 ppm), lemah (150-200 ppm), dan sangat lemah (lebih dari 200 ppm). Hasil perhitungan nilai IC_{50} sampel diurutkan berdasarkan nilai IC_{50} secara *ascending* (dari nilai terendah hingga tertinggi) dan dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Tabel 5. Hasil IC_{50} Vitamin C dan Sampel Krim

Sampel	IC_{50}	Kategori Antioksidan
Vitamin C	$35,70703 \pm 13,2944$	Sangat kuat
Sampel B	$3097,428 \pm 306,3048$	Sangat lemah
Sampel A	$5424,138 \pm 2473,566$	Sangat lemah
Sampel E	$7730,467 \pm 1186,126$	Sangat lemah
Sampel D	$9129,161 \pm 6284,994$	Sangat lemah
Sampel C	$10144,99 \pm 4949,559$	Sangat lemah

Keterangan: Nilai dinyatakan sebagai $IC_{50} \pm SD$

Dari data yang tercantum pada Tabel 4, Vitamin C memiliki nilai $IC_{50} < 50$ ppm, sehingga masuk dalam kategori antioksidan

sangat kuat. Sedangkan pada seluruh sampel krim diklasifikasikan sebagai antioksidan sangat lemah dengan nilai $IC_{50} > 200$ ppm.

d) Analisis Data

Keseluruhan data nilai IC_{50} dianalisis secara statistik dengan perangkat lunak SPSS *statistic 25*. Langkah awal yaitu dilakukan uji normalitas dengan metode *Shapiro-wilk* mengingat jumlah sampel yang dianalisis relatif kecil (< 50). Pada hasil pengujian nilai IC_{50} pada seluruh sampel menunjukkan nilai signifikansi $> 0,05$ sehingga data terdistribusi normal.

Selanjutnya dilakukan uji homogenitas untuk melihat homogenitas data, dari varian sampel data nilai IC_{50} Vitamin C, sampel krim A hingga Sampel krim E menggunakan uji *Levene*. Data dapat diasumsikan homogen apabila memiliki nilai signifikansi $> 0,05$. Berdasarkan hasil uji homogenitas diperoleh nilai signifikansi 0,004 yang mengindikasikan bahwa data tidak homogen.

Berdasarkan uji homogenitas diketahui bahwa data tidak memenuhi asumsi untuk dilakukan uji One-Way ANOVA. Sehingga perlu dilakukan pengujian dengan metode uji non parametrik *Kruskal-Wallis* dan diperoleh nilai signifikansi 0,027 ($< 0,05$), yang mengindikasikan adanya variansi data serta perbedaan signifikan pada sampel krim.

Dengan demikian, diperlukan analisis lanjutan menggunakan uji *Post Hoc Games Howell* untuk mengidentifikasi sampel yang menunjukkan perbedaan signifikan (**Lampiran 9**). Hasil uji *Post Hoc* menunjukkan nilai signifikansi $< 0,05$ pada Vitamin C dengan sampel B, dan Vitamin C sampel E yang mengindikasikan adanya perbedaan signifikan diantara kelompok sampel tersebut. Sementara itu, pada kelompok sampel lain (sampel A, C, dan D) diperoleh nilai signifikansi $> 0,05$ yang berarti tidak

terdeteksi perbedaan yang signifikan diantara kelompok tersebut. Data hasil uji statistika dapat dilihat pada **Tabel 6 dan 7**.

Tabel 6. Data Uji Statistika Antioksidan Pada Sampel

Sampel	Antioksidan (IC ₅₀)		
	Normalitas (>0,05)	Homogenitas (>0,05)	Kruskal-Wallis (>0,05)
Vitamin C	0,602		
Sampel A	0,794		
Sampel B	0,794	0,004	0,027
Sampel C	0,483		
Sampel D	0,244		
Sampel E	0,743		

Tabel 7. Data Uji Statistika *Post Hoc*

Kode sampel	Kode sampel	Nilai sig
Vitamin C	Sampel A	0,212
	Sampel B	0,012*
	Sampel C	0,236
	Sampel D	0,399
	Sampel E	0,028*
Sampel A	Vitamin C	0,212
	Sampel B	0,657
	Sampel C	0,700
	Sampel D	0,907
	Sampel E	0,710
Sampel B	Vitamin C	0,012*
	Sampel A	0,657
	Sampel C	0,407
	Sampel D	0,643
	Sampel E	0,062
Sampel C	Vitamin C	0,236
	Sampel A	0,700
	Sampel B	0,407
	Sampel D	1,000
	Sampel E	0,940
Sampel D	Vitamin C	0,399
	Sampel A	0,907
	Sampel B	0,643
	Sampel C	1,000
	Sampel E	0,997
Sampel E	Vitamin C	0,028*
	Sampel A	0,710
	Sampel B	0,062
	Sampel C	0,940
	Sampel D	0,997

Keterangan: Sig < 0,05 (*Terdapat perbedaan yang signifikan)

B. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan krim *anti-aging* mengandung Vitamin C menggunakan metode DPPH. Sampel terdiri dari lima produk yang dipilih melalui *purposive sampling* dari *e-commerce* Shopee berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi. Karena jumlah produk yang memenuhi kriteria sangat terbatas, seluruh populasi yang lolos seleksi digunakan sebagai sampel penelitian. Analisis aktivitas antioksidan kemudian dilakukan pada lima sampel krim dengan Vitamin C sebagai standar pembanding karena memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat (Nilai $IC_{50} < 50$ ppm) berdasarkan studi terdahulu yang dilakukan oleh Maesaroh *et al.* (2018). Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menangkal radikal bebas, yang merupakan molekul tidak stabil yang berpotensi merusak sel serta mempercepat penuaan. Dengan menetralkan radikal bebas, antioksidan mampu mengurangi stres oksidatif pada sel, sehingga memperlambat degradasi kolagen, mencegah munculnya keriput, dan mengurangi penurunan fungsi sel akibat penuaan (Sari *et al.*, 2019). Untuk mengetahui apakah suatu sampel mengandung senyawa antioksidan atau tidak adalah melalui uji aktivitas antioksidan, yang bertujuan menilai kemampuan sampel dalam menangkap radikal bebas. Dalam penelitian ini, aktivitas antioksidan dianalisis menggunakan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

Uji aktivitas antioksidan metode DPPH didasarkan pada kemampuannya dalam menangkap radikal bebas. Pengujian dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengukur absorbansi. Aktivitas antioksidan dinilai dari persen peredaman dan nilai IC_{50} , di mana secara teoritis, semakin rendah nilai IC_{50} maka potensi antioksidannya semakin kuat. Dalam penelitian ini, Vitamin C digunakan sebagai standar pembanding karena dikenal efektif dalam menetralkan radikal bebas dan memutus reaksi berantai oksidasi (Pullar *et al.*, 2017).

Larutan DPPH dibuat dengan melarutkan serbuk DPPH dalam metanol *p.a.* Pelarut metanol *p.a.* dipilih karena serbuk DPPH mudah larut dengan pelarut polar seperti metanol. Pembuatan larutan induk DPPH dilakukan di tempat gelap dimana alat gelas yang digunakan dilapisi menggunakan kertas aluminium, agar larutan terlindung dari paparan cahaya secara langsung. Hal ini karena DPPH

bersifat sensitif terhadap cahaya sehingga dapat menyebabkan larutan DPPH tidak stabil, bahkan mudah rusak (Permatasari *et al.*, 2023).

Tahap selanjutnya adalah penetapan panjang gelombang maksimum DPPH pada rentang 400-600 nm dan didapatkan puncak absorbansi paling tinggi pada panjang gelombang 515 nm, hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Kusmanto & Qonitah (2020). Secara teoritis, panjang gelombang pada serapan maksimum untuk larutan DPPH yaitu 515 hingga 517 nm (Salamah *et al.*, 2015). Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui titik serapan maksimum DPPH yang menghasilkan nilai absorbansi paling tinggi untuk memastikan sensitivitas tertinggi, sehingga hasil penilaian aktivitas antioksidan menjadi lebih akurat.

Setelah diperoleh panjang gelombang maksimum DPPH, tahap selanjutnya pencarian *operating time*, dimana diukur absorbansi DPPH setiap interval 1 menit selama 60 menit, dan didapatkan hasil *operating time* DPPH pada menit ke 33-39, hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Saputri & Sa'ad, (2023). Dalam metode DPPH, pencarian *operating time* bertujuan untuk mengetahui waktu pengukuran absorbansi yang paling optimal, yaitu saat reaksi antara sampel dan DPPH telah stabil dan mencapai titik kesetimbangan (Suharyanto & Prima, 2020).

Setelah diperoleh panjang gelombang maksimum dan *operating time* DPPH, kemudian dilakukan pembacaan absorbansi pada Vitamin C dan sampel krim menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimum yaitu 515 nm. Nilai absorbansi kemudian dihitung sebagai %penangkapan radikal dan persamaan regresi linier dibuat di mana konsentrasi berada pada sumbu x dan % penangkapan radikal berada pada sumbu y. Persamaan regresi linier yang didapatkan, kemudian digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} dengan menggantikan nilai y menjadi 50, sehingga diperoleh nilai IC_{50} .

Pada penelitian ini, krim *anti-aging* yang dianalisis menunjukkan nilai IC_{50} yang sangat tinggi (> 200 ppm), dengan urutan nilai IC_{50} terendah hingga tertinggi: Sampel B (3097,428 ppm), Sampel A (5424,138 ppm), Sampel E (7730,467 ppm), Sampel D (9129,161 ppm), dan Sampel C (10144,99 ppm), yang

mengindikasikan aktivitas antioksidan sangat lemah. Sedangkan pada Vitamin C diperoleh nilai IC_{50} sebesar 35,70703 ppm yang menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat (< 50 ppm). Hasil nilai IC_{50} ini tidak berbeda jauh dengan penelitian oleh Johnson *et al.*, (2017) yang melaporkan nilai IC_{50} Vitamin C sebesar 37,5 ppm, yang memperkuat bukti bahwa Vitamin C termasuk antioksidan sangat kuat. Setelah diperoleh nilai IC_{50} , data dianalisis secara statistik menggunakan SPSS melalui uji normalitas dan homogenitas, yang menunjukkan bahwa data terdistribusi normal namun tidak homogen. Selanjutnya uji *Kruskal-Wallis* dan *Post Hoc Games Howell* dan diperoleh hasil bahwa terdapat variansi dan perbedaan yang signifikan terutama pada Vitamin C dengan Sampel B, dan Vitamin C dengan Sampel E, sedangkan kelompok sampel lainnya tidak menunjukkan perbedaan signifikan.

Berdasarkan hasil analisa data, terdapat keterbatasan dalam penelitian yang dilakukan yaitu data pada Vitamin C dan semua sampel krim tidak memenuhi rentang data yang seharusnya. Hal ini disebabkan oleh rendahnya konsentrasi sampel yang digunakan, akibat belum dilakukan optimasi terhadap konsentrasi larutan sampel. Selain itu, pada penelitian ini juga dilakukan perhitungan nilai CV dari tiap sampel. Nilai CV merupakan parameter penting untuk menilai presisi suatu metode. Berdasarkan AOAC, syarat CV pada Vitamin C (konsentrasi 2-10 ppm) adalah $<8\%$, sedangkan pada sampel (konsentrasi 240-1200 ppm) syarat CV yang diperbolehkan adalah 3-4% (AOAC *International*, 2013). Namun dalam penelitian ini, nilai CV yang diperoleh pada Vitamin C maupun sampel krim berada pada rentang 9,889% - 68,858%, dimana nilai CV tersebut masih melebihi syarat CV yang diperbolehkan. Nilai CV yang relatif tinggi mengindikasikan rendahnya presisi pengukuran, yang dapat disebabkan oleh beberapa salah satunya yaitu penggunaan konsentrasi sampel yang belum teroptimasi serta adanya variabilitas dalam proses analisis, sehingga akurasi dan konsistensi data tidak dapat dipastikan.

Pada prinsipnya, IC_{50} diartikan sebagai konsentrasi yang dapat menghambat 50% radikal DPPH. Pada data penelitian ini hasil absorbansi DPPH berkisar antara 0,854-0,928, sehingga nilai yang setara dengan 50% dari absorbansi DPPH adalah 0,427-0,464. Namun apabila dilihat pada **Lampiran 6**, data

absorbansi Vitamin C maupun sampel A, B, C, D dan E berkisar antara 0,657-0,871, sehingga nilai absorbansi sampel hanya setara $\pm 14\%$ dari absorbansi DPPH, yang menunjukkan bahwa tidak ada satupun sampel yang memenuhi 50% dari absorbansi DPPH. Hal inilah yang disebut dengan data ekstrapolasi, sehingga diperlukan adanya penelitian kembali dengan konsentrasi yang lebih besar karena pada uji DPPH semakin besar konsentrasi maka absorbansinya semakin menurun. Sehingga diharapkan data yang diperoleh tidak ekstrapolasi dan memenuhi kaidah 50% penghambatan radikal DPPH.

Untuk memperoleh hasil yang lebih akurat, pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan optimasi konsentrasi larutan sampel sehingga diharapkan data yang dihasilkan akan berada dalam rentang yang valid. Selain itu, presisi data dapat ditingkatkan melalui pelatihan teknik pipetting yang tepat serta peningkatan jumlah pengulangan eksperimen. Dengan langkah-langkah ini, diharapkan penelitian selanjutnya dapat memberikan hasil yang lebih konsisten dan valid.