



e-ISSN : 2621-4660, p-ISSN : 1979-004X

Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada

Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi

Home page : https://ejurnal.universitas-bth.ac.id/index.php/P3M_JKBTH/index



Formulasi Serum *Anti-aging* Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sirih Cina (*Peperomia pellucida* L.) Yang Terdekolorisasi

Anti-aging Serum Formulation And Antioxidant Activity Of Decolorized Chinese Betel Leaf (Peperomia pellucida L.) Extract

Risma Innayatulloh, Lilis Tuslinah*, Ade Yeni Aprillia

Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Bakti Tunas Husada

Jl. Cilolohan No.36, Kahuripan, Tawang, Tasikmalaya, Jawa Barat

*e-mail korespondensi: innayarisma@gmail.com

ABSTRAK

Radikal bebas merupakan salah satu pemicu stres oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan penuaan dini pada kulit. Daun sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) diketahui memiliki kandungan metabolit sekunder berupa flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan alami. Ekstrak daun sirih cina umumnya memiliki warna gelap akibat kandungan klorofil yang dapat menurunkan nilai estetika jika diformulasikan ke dalam sediaan kosmetik seperti serum, sehingga diperlukan proses dekolorisasi. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan nilai IC_{50} antioksidan ekstrak etanol daun sirih cina sebelum dan sesudah dekolorisasi, memformulasikan ekstrak tersebut ke dalam sediaan serum anti-aging, serta mengevaluasi stabilitas fisik dan aktivitas antioksidannya. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%, dilanjutkan dengan proses dekolorisasi metode ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut n-heksana, dan pengeringan beku (*freeze drying*). Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH dan FRAP. Ekstrak hasil dekolorisasi kemudian diformulasikan ke dalam basis serum dengan konsentrasi 0,10% (F1), 0,16% (F2), dan 0,21% (F3). Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses dekolorisasi mampu meningkatkan aktivitas antioksidan ekstrak dengan nilai IC_{50} DPPH sebesar 104,77 ppm (sedang) dan FRAP sebesar 184,85 ppm (lemah). Evaluasi fisik menunjukkan Formula 3 (F3) merupakan formula terbaik yang memenuhi syarat mutu organoleptik, homogenitas, daya sebar, pH, viskositas, dan rheologi. Namun, setelah diformulasikan menjadi serum, aktivitas antioksidan F3 menurun menjadi sangat lemah (IC_{50} 295,19 ppm), yang diduga akibat paparan proses formulasi dan peningkatan pH sediaan. Proses dekolorisasi dapat meningkatkan potensi antioksidan ekstrak, dan sediaan serum F3 memenuhi kriteria stabilitas fisik yang baik meski aktivitas penangkal radikal bebasnya menurun.

Kata Kunci : DPPH, FRAP, flavonoid, dekoloriasi, radikal bebas.

ABSTRACT

Free radicals are one of the triggers of oxidative stress that can cause cell damage and premature skin aging. Chinese betel leaf (*Peperomia pellucida* L.) is known to contain secondary metabolites in the form of flavonoids which have the potential to act as natural antioxidants. Chinese betel leaf extract generally has a dark color due to chlorophyll content which can reduce aesthetic value when formulated into cosmetic preparations such as serums, thus a decolorization process is required. This study aims to compare the IC_{50} value of the antioxidant activity of the ethanol extract of Chinese betel leaf before and after decolorization, formulate the extract into an anti-aging serum preparation, and evaluate its physical stability and antioxidant activity. Extraction was carried out using the maceration method with 70% ethanol, followed by a decolorization process via liquid-liquid extraction using n-hexane, and freeze drying. Antioxidant activity tests were performed using the DPPH and FRAP

methods. The decolorized extract was then formulated into a serum base at concentrations of 0.10% (F1), 0.16% (F2), and 0.21% (F3). The results showed that the decolorization process increased the antioxidant activity of the extract with a DPPH IC₅₀ value of 104.77 ppm (moderate) and FRAP of 184.85 ppm (weak). Physical evaluation showed that Formula 3 (F3) was the best formulation fulfilling the quality requirements for organoleptics, homogeneity, spreadability, pH, viscosity, and rheology. However, after formulation into a serum, the antioxidant activity of F3 decreased to very weak (IC₅₀ 295.19 ppm), which is suspected to be due to exposure to the formulation process and an increase in the pH of the preparation. In conclusion, decolorization can increase the antioxidant potential of the extract, and the F3 serum preparation meets the criteria for good physical stability although its free radical scavenging activity decreases.

Keywords: DPPH, FRAP, flavonoids, de-chlorophyll, free radicals.

Diterima: 25 Juni 2026

Direview: 08 Juli 2026

Diterbitkan: 10 Agustus 2026

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki kekayaan keanekaragaman hayati yang sangat berlimpah dan berpotensi besar untuk dikembangkan menjadi obat-obatan maupun kosmetik berbahan dasar alam. Salah satu tanaman liar yang pemanfaatannya masih terbatas namun memiliki khasiat tinggi adalah sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) (Kanedi, 2022; Wirasisya et al., 2023). Tanaman ini diketahui mengandung beragam senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin, dan polifenol yang memiliki aktivitas farmakologis, termasuk sebagai antioksidan. Antioksidan ini sangat krusial dalam melindungi sel-sel tubuh, terutama sel kulit, dari paparan radikal bebas yang dapat memicu stres oksidatif dan penuaan dini (aging) (Agung et al., 2022; Ayu et al., 2024).

Dalam upaya mencegah kerusakan kulit akibat radikal bebas, diperlukan antioksidan eksogen yang dapat diaplikasikan melalui sediaan kosmetik, seperti serum. Serum merupakan sediaan perawatan kulit berbasis air atau gel yang mengandung konsentrasi bahan aktif yang tinggi, ringan, tidak lengket, dan mampu menghantarkan zat aktif menembus lapisan kulit secara optimal (Mursyid & Waris, 2021; Suwardi, 2020). Namun terdapat kendala dalam pemanfaatan ekstrak daun sirih cina dalam sediaan kosmetik yaitu tingginya kandungan klorofil yang memberikan warna gelap kecoklatan hingga kehitaman, sehingga dapat menurunkan nilai estetika dan penerimaan konsumen terhadap produk (Fossati et al., 2025).

Untuk mengatasi masalah tersebut, dapat digunakan teknik dekolorisasi. Dekolorisasi menggunakan pelarut non-polar seperti n-heksana melalui ekstraksi cair-cair mampu menghilangkan pigmen klorofil tanpa merusak senyawa aktif utama yang bersifat polar, seperti fenolik dan flavonoid (Olatunde et al., 2018). Berkurangnya klorofil yang rentan terhadap oksidasi juga diharapkan mampu meningkatkan stabilitas serta konsentrasi relatif senyawa antioksidan di dalam ekstrak tersebut. Evaluasi terhadap kekuatan antioksidan ini dapat dilakukan secara komprehensif menggunakan metode *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) yang mengukur donasi hidrogen, dan *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) yang mengukur kemampuan reduksi ion besi (Theafelicia & Wulan, 2023).

Meskipun penelitian mengenai pemanfaatan daun sirih cina sebagai agen antioksidan telah banyak dilaporkan, sebagian besar studi terdahulu hanya berfokus pada pengujian ekstrak kasar (*crude ekstrak*). Penggunaan ekstrak kasar ini menyisakan tantangan besar dalam formulasi kosmesetikal topikal, terutama terkait tingginya kandungan pigmen klorofil yang menyebabkan sediaan akhir memiliki visualisasi warna yang kurang menarik serta risiko terjadinya *optical noise* yang menginterferensi akurasi evaluasi aktivitas biologisnya. Hingga saat ini, penerapan metode dekolorisasi untuk mengeliminasi klorofil pada ekstrak daun sirih cina serta analisis dampaknya ke dalam basis serum anti-aging masih sangat terbatas dan belum dikaji secara komprehensif. Akibatnya, informasi mengenai pengaruh proses pemurnian warna tersebut terhadap stabilitas fisik sediaan dan potensi antioksidannya masih menjadi sebuah kesenjangan ilmiah.

Oleh karena itu, kebaruan dari penelitian ini terletak pada komparasi aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun sirih cina sebelum dan sesudah proses dekolorisasi, serta mengkaji pengaruh formulasi serum terhadap parameter stabilitas fisik dan potensi anti-aging sediaan akhir.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan meliputi Alat-alat Laboratorium (Pyrex®, Corning Inc., AS), spektrofotometer UV-Vis (Genesy 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, AS), mikropipet (DragonLab, Scilogex LLC, AS), timbangan analitik (Mettler Toledo, Swiss), oven (Memmert GmbH, Jerman), ayakan mesh No 40 (ABM, Indonesia), pH meter (Ohaus Corp., AS), homogenizer (IKA-Werke GmbH, Jerman), magnetic stirrer (MS-H280-PRO, DLAB MS-H280-PRO), sonikator (Skymen Cleaning Equipment Co., Ltd., Tiongkok), viskometer brookfield (DV-I Prime, AMETEK Brookfield, AS), dan rotary evaporator (RV 10 digital, IKA-werke GmbH, Jerman). Peralatan pendukung lainnya meliputi plat tetes, tabung reaksi, pipet tetes, perangkat destilasi azeotrop, botol vial coklat, dan *object glass*.

Bahan utama yang digunakan adalah daun sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) segar yang didapatkan dari wilayah Langkaplancar, Pangandaran. Bahan-bahan kimia beredrajaat analitis (*pro analysis/p.a.*) meliputi etanol p.a (Merck kGaA, Jerman), metanol p.a (Merck kGaA, Jerman), Vitamin C (Merck kGaA, Jerman), DPPH (Sigma-Aldrich, Merck kGaA, Jerman), TPTZ (Sigma-Aldrich, Merck kGaA, Jerman), HCl Pekat p.a (Merck kGaA, Jerman), dan FeCl₃ (Merck kGaA, Jerman). Bahan kimia berderjat teknis meliputi etanol 70%, N-Heksan, amoniak, kloroform, H₂SO₄, serbuk Mg, HCl, amil alkohol, gelatin 1%. NaOH, asam asetat anhidrat, natrium asetat, karbopol 940, trietanolamin, gliserin, DMDM Hydantoin, dan Ethoxy diglycol (seluruh bahan teknis diperoleh dari Brataco Chemical, Indonesia). Bahan penyaring yang digunakan adalah kertas saring (Whatman No. 41, Cytiva, Inggris) dan air yang digunakan adalah akuades (Laboratorium Farmasi).

Prosedur Penelitian

Preparasi Sampel

Tahap preparasi diawali dengan determinasi spesimen di Laboratorium Universitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya untuk memvalidasi identitas tanaman yang digunakan. Bahan baku berupa 5 kg daun sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) yang diperoleh dari wilayah Langkaplancar, Pangandaran, diproses melalui tahapan sortasi basah untuk memisahkan bagian batang serta mengklasifikasikan daun berdasarkan usia, daun yang dipilih untuk proses selanjutnya adalah daun usia muda hingga dewasa (daun ke-3 hingga ke-6 dari pucuk batang) yang berwarna hijau cerah. Sedangkan daun tua yang sudah berwarna kekuningan atau layu dipisahkan. Proses pemilahan dan *grading* ini bertujuan untuk menyeragamkan bentuk serta ukuran partikel, yang secara langsung akan memengaruhi kualitas dan karakteristik sensoris simplisia (Prawira-Atmaja, et al., 2019). Selanjutnya, sampel dikeringkan menggunakan lemari pengering pada rentang suhu 60°C hingga mencapai kadar air tidak lebih dari 10% (Kementerian Kesehatan RI., 2017). Simplisia kering yang dihasilkan kemudian dihaluskan dan disaring menggunakan ayakan *mesh* 40, lalu disimpan di dalam wadah tertutup rapat untuk menjaga stabilitas sediaan (Sadik et al., 2025).

Ekstraksi Sampel

Proses ekstraksi daun sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% pada rasio perbandingan simplisia dan pelarut sebesar 1:10. Pemilihan metode maserasi didasarkan pada karakteristik metod ekstraksi dingin yang efektif untuk menghindari kerusakan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioskidan alami seperti flavonoid dan fenolik (Maskura et al., 2023). Sementara etanol 70% dipilih karena memiliki efisiensi tinggi dalam menarik senyawa metabolit sekunder target melalui keseimbangan tingkat kepolaran air dan etanol (Dharma Yanti et al., 2023). Sebanyak 200 gram simplisia kering dimaserasi di dalam 2 Liter etanol 70%, disertai pengadukan secara berkala menggunakan batang pengaduk, lalu didiamkan selama 24 jam dalam wadah tertutup rapat yang terlindung dari cahaya menggunakan lapisan aluminium foil. Setelah periode tersebut, filtrat dipisahkan melalui proses penyaringan. Ekstraksi dilakukan secara remaserasi sebanyak tiga kali dengan prosedur yang sama (Ramadhan et al., 2020). Seluruh filtrat yang terkumpul kemudian dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental, yang selanjutnya ditimbang untuk dihitung persentase rendemennya.

Dekolorisasi Sampel

Dekolorisasi dilakukan menggunakan teknik ekstraksi cair-cair. Prosedur diawali dengan mencampurkan 70 mL ekstrak cair dan 30 mL aqua DM di dalam corong pisah, lalu ditambahkan 100 mL pelarut n-heksana. Setelah dikocok dengan hati-hati dan didiamkan hingga memisah menjadi dua lapisan, fraksi air diisolasi dari fraksi n-heksana. Fraksi air tersebut selanjutnya diekstraksi ulang menggunakan pelarut n-heksana yang baru. Prosedur ini terus diulang hingga kandungan klorofil pada lapisan n-heksana tereliminasi sepenuhnya (Tzima et al., 2020).

Freeze Drying Ekstrak

Ekstrak cair daun sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) hasil dekolourisasi dibekukan terlebih dahulu menggunakan penambahan nitrogen cair. Selanjutnya, sampel dikeringkan menggunakan metode *freeze drying* selama 24 jam pada suhu -85°C dan tekanan 75 mTorr. Kondisi tekanan rendah tersebut diterapkan agar kandungan air di dalam matriks ekstrak dapat langsung menguap melalui proses sublimasi (Tzima et al., 2020; Wati et al., 2023).

Evaluasi Parameter Mutu Simplisia dan Ekstrak

Pemeriksaan parameter mutu simplisia daun sirih cina dilakukan dengan uji mikroskopik dan makroskopik, penetapan kadar air, kadar sari larut air, dan kadar sari larut etanol.

Uji Makroskopik

Pengamatan organoleptik ekstrak berupa bentuk, warna, bau, dan rasa (Andasari et al., 2021).

Uji Mikroskopik

Pengujian mikroskopik dilakukan dengan meletakkan serbuk simplisia pada kaca objek yang telah ditetesi reagen kloralhidrat. Preparat tersebut kemudian ditutup menggunakan kaca penutup (*deck glass*) dan diamati di bawah mikroskop untuk mengidentifikasi fragmen pengenalnya (Kementerian Kesehatan RI., 2017).

Penetapan Kadar Air

Campurkan 200 mL toluen dan 2 mL air suling di dalam labu alat bulat. pasang alat destilasi azeotrop dan dididihkan selama 2 jam. Hentikan pemanasan dan biarkan labu mendingin pada suhu ruang selama 30 menit. Baca volume air di tabung penerima (sebagai volume awal). Kemudian sebanyak 5 gram simplisia dimasukkan ke dalam labu alas bulat, lalu dipanaskan secara perlahan selama 15 menit. Saat toluen mulai mendidih, laju penyulingan diatur pada kecepatan 2 tetes/detik dan selanjutnya ditingkatkan menjadi 4 tetes/detik. Dinding pendingin kemudian dibilas dengan toluen menggunakan sikat kecil, dan proses penyulingan dilanjutkan selama 5 menit. Setelah tabung penerima dibiarkan hingga mencapai suhu ruang dan fase air terpisah sempurna dari fase toluen, volume air yang tertampung diukur untuk menghitung persentase kadar air terhadap bobot awal simplisia (Kementerian Kesehatan RI., 2017). Seluruh prosedur pengujian kadar air dilakukan sebanyak tiga kali replikasi (triplo).

$$\text{Kadar air (V/B)} = \frac{V.\text{air yang terukur}}{\text{bobot awal (g)}} \times 100 \%$$

Kadar Sari Larut Air

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia ke dalam labu bersumbat yang ditambahkan dengan 100 mL air kloroform. Campuran tersebut dikocok secara berkala selama 6 jam pertama, dan dibiarkan proses maserasinya berlangsung selama 18 jam. Setelah campuran disaring, sebanyak 20 mL filtrat dipipet dan diuapkan pada suhu 105°C hingga mencapai bobot konstan (Kementerian Kesehatan RI., 2017). Seluruh rangkaian pengujian ini dilakukan sebanyak tiga kali replikasi (triplo). Persentase kadar sari larut air kemudian dihitung berdasarkan bobot residu akhir yang diperoleh dengan persamaan berikut:

$$\text{Kadar sari larut air} = \frac{\text{massa sari (g)}}{\text{massa sampel (g)}} \times 100\%$$

Kadar Sari Larut Etanol

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia di dalam labu bersumbat menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 100 mL. Campuran tersebut dikocok secara intermiten selama 6 jam pertama, lalu didiamkan selama 18 jam. Setelah itu, campuran disaring dan filtratnya diambil sebanyak 20 mL untuk diuapkan pada suhu kurang dari 78°C hingga diperoleh bobot yang konstan (Kementerian Kesehatan RI., 2017). pengujian ini dilakukan dalam tiga kali replikasi (triplo). Persentase kadar sari larut etanol dihitung terhadap bobot awal sampel menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Kadar sari larut etanol} = \frac{\text{massa sari (g)}}{\text{massa sampel (g)}} \times 100\%$$

Skrining Fitokimia

Flavonoid

0,5 gram sampel uji dipanaskan di dalam 50 mL air panas selama 5 menit. Filtrat yang diperoleh dipipet sebanyak 5 mL ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan berturut-turut dengan 0,1 gram serbuk Mg, 10 tetes larutan HCl pekat, serta 2 mL amil alkohol. Setelah proses pengocokan dan pendiaman hingga terbentuk sistem dua lapis, hasil positif flavonoid diindikasikan oleh perubahan warna pada lapisan amil alkohol menjadi jingga pucat hingga jingga tua (Karlina et al., 2022).

Alkaloid

10 mL amonia dan 10 mL kloroform ditambahkan ke dalam simplisia dan ekstrak. Setelah disaring, filtrat direaksikan dengan 10 tetes H₂SO₄ 2N, dikocok kuat, dan didiamkan hingga terbentuk sistem dua lapis. Lapisan atas dipisahkan masing-masing sebanyak 1 mL ke dalam tiga tabung uji berbeda untuk ditambahkan pereaksi spesifik. Hasil positif alkaloid diindikasikan secara visual oleh presipitasi berupa endapan putih dengan pereaksi Mayer, endapan coklat dengan pereaksi Wagner, dan endapan jingga dengan pereaksi Dragendorff (Mangalu et al., 2022).

Polifenol

0,5 gram sampel ditambahkan 5 mL, dipanaskan, kemudian disaring. Setelah melalui tahap penyaringan, filtrat ditambahkan dengan pereaksi FeCl₃ 5%. Hasil positif terhadap kandungan polifenol diindikasikan secara visual oleh terbentuknya warna biru pekat hingga kehitaman pada larutan (Wardani, 2025).

Tanin

larutan gelatin 1% ditambahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi ekstrak. Terbentuknya endapan berwarna putih menunjukkan hasil positif (Fadhli et al., 2025).

Triterpenoid/Steroid

Ekstrak direaksikan dengan pereaksi lieberman burchard. Hasil positif terdapat senyawa steroid ditunjukkan dengan munculnya warna biru atau ungu, sedangkan senyawa triterpenoid ditandai dengan perubahan warna menjadi merah kecoklatan (Fadhli et al., 2025).

Saponin

0,5 gram sampel diekstraksi menggunakan 10 mL air panas dan dikocok selama 10 detik. Selanjutnya, 1 mL campuran tersebut diencerkan ke dalam 10 mL air dan dikocok kuat selama 10 menit. Hasil positif terhadap kandungan saponin diindikasikan secara visual oleh terbentuknya busa persisten setinggi 1–10 cm yang tetap stabil meskipun telah direaksikan dengan penambahan satu tetes HCl (Dharma Yanti et al., 2023).

Antosianin

Sampel dipanaskan dalam pelarut HCl pada suhu 100°C selama 2 menit. Stabilitas warna merah pasca-pemanasan menjadi indikator awal keberadaan antosianin. Konfirmasi selanjutnya dilakukan melalui penambahan NaOH 2M tetes demi tetes ke dalam campuran uji. Sampel dinyatakan positif mengandung antosianin apabila terjadi perubahan warna menjadi hijau kebiruan yang memudar seiring waktu (Fitriani et al., 2024).

Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak

Metode DPPH (1,1-dyphenyl-2-picrylhydrazyl)

Uji aktivitas antioksidan kuantitatif dilakukan melalui metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) menggunakan vitamin C sebagai standar pembanding. Prosedur diawali dengan pembuatan larutan stok ekstrak (500 ppm), larutan vitamin C (50 ppm), serta larutan pereaksi DPPH (1000 ppm) yang dilarutkan dalam metanol dan etanol p.a. Setelah penentuan panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan penetapan waktu inkubasi optimum atau *operating time*, pengujian dilanjutkan dengan mereaksikan variasi konsentrasi ekstrak (50–150 ppm) dan vitamin C (1–6 ppm) bersama larutan DPPH (Roro et al., 2018; Rusli et al., 2023; Tuslinah et al., 2022). Absorbansi campuran diukur, dan persentase peredaman radikal dihitung menggunakan persamaan:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi DPPH} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi DPPH}} \times 100 \%$$

Potensi antioksidan dinyatakan dalam nilai IC_{50} yang dikalkulasi berdasarkan persamaan regresi linier $y = bx + a$, di mana substitusi nilai $y = 50$ digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} (Chaves et al., 2020).

Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Metode pengujian antioksidan ekstrak lain yang digunakan Adalah metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) dengan vitamin C sebagai standar pembanding. Persiapan diawali dengan pembuatan reagen FRAP melalui pencampuran larutan dapar asetat pH 3,6, TPTZ (*2,4,6-tripiryridyl-s-triazine*), dan $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ dengan rasio volume 10:1:1 (Farah et al., 2023). Komponen tersebut dibuat dengan melarutkan natrium asetat dan asam asetat untuk dapar, TPTZ dalam pelarut HCl, serta serbuk $FeCl_3$ bersama HCl dan aquades (Chaves et al., 2020). Larutan stok ekstrak dan pembanding vitamin C dilarutkan secara homogen menggunakan pelarut etanol p.a. Sebelum pengukuran inti, parameter panjang gelombang maksimum pada rentang 400–800 nm dan waktu inkubasi stabil (*operating time*) ditetapkan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengujian aktivitas dilakukan dengan mereaksikan 1 mL sampel uji (ekstrak dan seri konsentrasi vitamin C 3–9 ppm) bersama 3 mL larutan FRAP. Nilai absorbansi yang diukur kemudian diplot ke dalam kurva kalibrasi dengan persamaan regresi linier $y = bx + a$ untuk menentukan kadar antioksidannya (Chaves et al., 2020; Rusli et al., 2023).

Formulasi Sediaan Serum

Formulasi sediaan serum anti-aging pada penelitian ini dibuat dalam empat variasi, yaitu F0 (basis serum tanpa zat aktif dan sebagai kontrol negatif), FI (0,10%), FII (0,16%), dan FIII (0,21%). Variasi formula hanya dilakukan pada komponen zat aktif dengan konsnetrasi yang bertingkat adalah untuk mengisolasi dan mengevaluasi secara spesifik pengaruh serta efektivitas linear dari peningkatan zat aktif terhadap mutu fisik, stabilitas, dan aktivitas antioksidan sediaan. Dengan mempertahankan konsentrasi komponen basis dalam jumlah yang konstan pada setiap formula, maka setiap perubahan karakteristik fisik sediaan maupun perubahan persen peredaman radikal bebas yang terjadi murni disebabkan oleh pengaruh konsentrasi zat aktif saja.

Karbopol 940 didispersikan ke dalam aquades hangat, yang kemudian dinetralkan menggunakan penambahan Trietanolamin (TEA) secara konstan hingga mengembang dan membentuk basis gel. Pada wadah terpisah, DMDM Hydantoin dilarutkan dalam aquades lalu dihomogenkan ke dalam basis gel tersebut. Selanjutnya, gliserin dan *ethoxydiglycol* diinkorporasikan secara bertahap sambil diaduk perlahan. Ekstrak etanol daun sirih cina yang sebelumnya telah dilarutkan dalam air hangat kemudian dicampurkan ke dalam basis hingga terdispersi merata. Volume akhir sediaan digenapkan hingga 100 mL menggunakan *aquademinalisata*. Sediaan serum yang dihasilkan selanjutnya didistribusikan ke dalam tiga wadah berbeda untuk keperluan evaluasi mutu fisik, uji stabilitas, serta pengujian aktivitas antioksidan (Bainunniza et al., 2024).

Tabel 1. Formula Serum

Komposisi	Konsentrasi Bahan (%b/v)				Fungsi
	F0	F1	FII	FIII	
Ekstrak <i>de-chlorophyll</i> daun sirih cina	-	0,10	0,16	0,21	Zat aktif
Karbopol 940	0,2	0,2	0,2	0,2	Basis
Trietanolamin	0,1	0,1	0,1	0,1	Penetral pH
Gliserin	6	6	6	6	Humektan
DMDM Hydantoin	0,03	0,03	0,03	0,03	Pengawet
Ethoxy diglycol	2	2	2	2	Penetran
Aquadest	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Pelarut

Evaluasi Sediaan Serum

Uji Organoleptik

Pemeriksaan organoleptik dilakukan melalui pengamatan secara visual meliputi warna, aroma, dan tekstur dari masing-masing formula sediaan serum ekstrak daun sirih cina (Aprilliani et al., 2022).

Uji Homogenitas

Sebanyak 0,1 mL sediaan serum diletakkan pada dua buah kaca objek kemudian diratakan. Sediaan serum dinyatakan homogen apabila tidak terdapat butiran kasar atau bahan yang menggumpal (Yuniarsih & Haryani, 2018).

Uji pH

Evaluasi pH sediaan serum dilakukan menggunakan instrumen pH meter yang sebelumnya telah dikalibrasi dengan larutan dapar pH 7 (netral) dan pH 4 (asam). Setelah elektroda dibilas dengan aquades dan dikeringkan, instrumen dicelupkan ke dalam 5 mL sampel serum. Pengukuran dilakukan dengan membiarkan elektroda terendam hingga layar menunjukkan angka pH yang konstan. Nilai pH yang dihasilkan selanjutnya dievaluasi kesesuaiannya terhadap standar fisiologis kulit wajah berdasarkan SNI 16-4399-1996, yaitu pada rentang 4,5–6,5 (Hanifah et al., 2024)

Uji Daya Sebar

Sebanyak 0,5 gram sampel diletakkan di bagian tengah pelat kaca, kemudian ditimpa menggunakan kaca transparan lain (seperti cawan petri) sebagai beban konstan. Setelah didiamkan selama 1 menit untuk memaksimalkan penyebaran, diameter sebaran sediaan diukur secara presisi. Parameter daya sebar dikategorikan baik apabila diameter yang dihasilkan berada pada rentang 5–7 cm (Raharjeng et al., 2021).

Uji Stabilitas Fisik

Evaluasi stabilitas sediaan dilakukan untuk mengetahui ketahanan fisik serum selama masa penyimpanan pada suhu ruangan. Pengujian ini berfokus pada pengamatan perubahan fisik sediaan yang mencakup parameter bentuk, warna, bau, serta konsistensinya. Seluruh formula serum yang telah diuji akan dipantau secara berkala meliputi parameter organoleptik, homogenitas, daya sebar, nilai pH, dan viskositasnya selama 14 hari masa penyimpanan pada suhu kamar (Loe Wahyuni, et al., 2022).

Uji Viskositas dan Rheologi

Pengukuran viskositas sediaan serum dilakukan menggunakan instrumen viskometer Stormer. Sampel serum dimasukkan ke dalam *cup*, lalu posisinya disesuaikan hingga bagian *bob* tercelup sepenuhnya. Pengujian diawali dengan memberikan beban sebesar 50–100 gram, kemudian waktu yang dibutuhkan oleh *bob* untuk mencapai 25 putaran dicatat menggunakan *stopwatch*. Penambahan beban dilakukan secara bertahap hingga diperoleh 11 titik pengamatan. Data yang didapatkan selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai *revolutions per minute* (rpm) dan viskositas serum ekstrak daun sirih cina. Sebagai parameter mutu, viskositas sediaan serum berbasis gel yang ideal disyaratkan berada pada rentang 2000–4000 cPs (Tandipare, 2024).

Uji Aktivitas Antioksidan

Evaluasi aktivitas antioksidan sediaan serum dianalisis secara kuantitatif melalui metode DPPH dengan menggunakan basis serum (F0) sebagai blanko atau pembanding. Pengujian diawali dengan preparasi larutan induk serum (500 ppm) dan larutan blanko F0 (dibuat dari 1 gram sediaan), yang dilarutkan di dalam metanol p.a, dihomogenkan, dan disaring untuk mendapatkan filtrat uji. Pengujian menggunakan larutan reagen DPPH 1000 ppm dalam metanol p.a, yang kemudian diencerkan menjadi 50 ppm guna menentukan panjang gelombang serapan maksimum pada spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas antioksidan diukur dengan mereaksikan 2 mL larutan DPPH 50 ppm bersama seri konsentrasi sediaan serum (100–500 ppm) serta seri konsentrasi blanko F0 (1.000–40.000 ppm). Setelah melalui waktu inkubasi yang ditetapkan, absorbansi campuran diukur untuk mengkalkulasi persentase inhibisi radikal melalui persamaan:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi DPPH} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi DPPH}} \times 100 \%$$

Potensi antioksidan akhir dinyatakan dalam parameter IC_{50} , yang dihitung berdasarkan persamaan kurva regresi linier $y = bx + a$, dengan mensubstitusikan nilai $y = 50$ untuk memperoleh nilai IC_{50} (Chaves et al., 2020).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Validasi taksonomi merupakan tahapan krusial dalam standarisasi bahan baku untuk menjamin mutu produk akhir. Hasil determinasi yang dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Bakti Tunas Husada secara sah mengidentifikasi bahwa spesimen tanaman asal Langkaplancar, Pangandaran yang digunakan adalah benar spesies sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) dengan nomor sertifikat 122/LT-UBTH/HU/XII/2025 (Handayani, 2024). Autentikasi botani ini sangat penting untuk memastikan sediaan terhindar dari pemalsuan galur tanaman yang dapat memengaruhi profil dan efektivitas farmakologisnya secara keseluruhan.

Pada tahapan preparasi, daun segar segera melalui proses sortasi basah untuk mengeliminasi material pengotor organik maupun anorganik, sekaligus mereduksi beban mikroba awal. Selanjutnya, dilakukan proses pengeringan menggunakan oven bersuhu terkontrol 40°C selama 5 jam. Parameter suhu ini diaplikasikan secara spesifik guna menjaga stabilitas struktural senyawa metabolit sekunder yang termolabil, khususnya flavonoid, tanin, dan polifenol. Pengeringan pada suhu tersebut juga sangat efektif menekan kadar air secara perlahan, sehingga menghentikan reaksi enzimatik dan meminimalisasi risiko pertumbuhan mikroorganisme patogen selama masa penyimpanan (Manoj et al., 2025).

Secara makroskopik, paparan termal selama pengeringan memicu terjadinya degradasi pigmen fotosintetik daun. Molekul klorofil melepaskan ion Mg^{2+} pada pusat cincin porfirinnya dan bertransisi membentuk senyawa feofitin. Reaksi biokimia tersebut mengubah warna daun dari hijau terang menjadi hijau kecokelatan. Perubahan ini murni merupakan efek fisikokimia pada pigmen dan terbukti tidak merusak mutu senyawa aktif simplisia (Saleh & Halidun, 2022). Tahap akhir preparasi ditutup dengan proses sortasi kering untuk menyeleksi pengotor pasca-pengeringan, diikuti dengan pengecilan ukuran partikel menggunakan ayakan *mesh* 40. Pemilihan spesifikasi derajat kehalusan ini didasarkan pada prinsip kinetika ekstraksi; yaitu untuk memperluas area permukaan kontak antara serbuk simplisia dan molekul pelarut penyari, sehingga laju difusi dan transfer massa selama proses maserasi berjalan jauh lebih optimal tanpa menyulitkan tahap filtrasi akhir. Melalui keseluruhan proses ini, diperoleh serbuk simplisia homogen dengan bobot akhir sebesar 349,11 gram.



Gambar 1. Daun Sirih Cina Sesudah Dikeringkan

Ekstraksi dan Dekolorisasi Sampel

Proses ekstraksi daun sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Sifat semi-polar dari pelarut ini mampu menarik beragam metabolit sekunder secara optimal (Komala & Husni, 2021). Mengingat daun sirih cina memiliki kandungan senyawa termolabil seperti flavonoid, tanin, steroid, dan saponin, metode maserasi dipilih untuk mencegah degradasi zat aktif. Metode ini terbukti mampu menghasilkan kadar fenol total yang lebih tinggi dibandingkan metode refluks (Suhendy et al., 2021; Togelang et al., 2023).

Ekstraksi terhadap 200 gram serbuk simplisia menghasilkan 29,25 gram ekstrak kental dengan nilai rendemen sebesar 14,71%. Persentase tersebut menunjukkan efisiensi penyarian yang baik karena telah memenuhi standar Farmakope Herbal Indonesia, yakni tidak kurang dari 13,1% (Afifah et al., 2023; Kementerian Kesehatan RI., 2017). Selanjutnya, ekstrak melalui tahapan dekolorisasi (*de-chlorophyll*) menggunakan metode ekstraksi cair-cair (ECC) dengan pelarut n-heksana. Mengingat klorofil sangat rentan teroksidasi dan terdegradasi, eliminasinya diperlukan untuk meningkatkan proporsi senyawa polifenol di dalam ekstrak (Tagrida & Benjakul, 2021). Berdasarkan hukum difusi Fick dan prinsip koefisien partisi, klorofil yang memiliki rantai fitol hidrofobik akan berdifusi dan terpartisi secara spesifik ke dalam fase n-heksana (non-polar). Sebaliknya, senyawa fenolik dan flavonoid dengan gugus hidroksil (-OH) yang polar akan tetap terisolasi pada fase etanol-air (Pebriana et al., 2021; Sitarek et al., 2026).

Freeze Drying Ekstrak

Ekstrak cair *de-chlorophyll* daun sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) diubah menjadi wujud padat melalui teknik *freeze drying* yang dioperasikan pada suhu -80°C dan tekanan 75 °F selama 24 jam. *Freeze drying* ini dipilih untuk menghindari paparan suhu tinggi yang dapat merusak struktur metabolit sekunder termolabil. Melalui mekanisme sublimasi pada suhu rendah, metode *freeze drying* terbukti efektif dalam menjaga integritas senyawa fenolik dan flavonoid, menekan risiko degradasi oksidatif, serta meminimalisasi kadar air demi mengoptimalkan stabilitas ekstrak selama masa penyimpanan (Darshini, 2024). Proses pengeringan ini menghasilkan serbuk ekstrak kering dengan bobot akhir mencapai 12,76 gram.

Evaluasi Parameter Mutu Simplisia

Uji Makroskopik

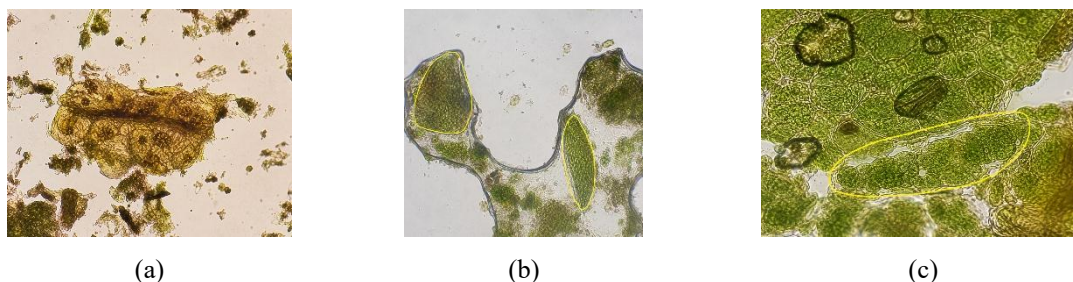
Pengujian makroskopik dilakukan secara visual dan sensoris meliputi bentuk, warna, aroma, dan rasa untuk mengevaluasi perubahan karakteristik fisik sediaan akibat tahapan pengolahan (Veninda et al., 2023). Hasil pengamatan pada **Tabel 2** memperlihatkan adanya transformasi fisik yang signifikan antar tahapan. Simplisia awal yang berbentuk serbuk halus berwarna hijau berubah menjadi ekstrak kental berwarna cokelat kehitaman pasca-ekstraksi dan pemekatan. Proses pemekatan ini mengonsentrasikan metabolit sekunder yang secara langsung berdampak pada peningkatan intensitas warna dan konsistensi sediaan. Selanjutnya, proses *de-chlorophyll* menggunakan n-heksana memodifikasi wujud ekstrak menjadi larutan berwarna cokelat bening. Tingkat kejernihan ini meningkat karena klorofil, yang memiliki rantai fitol hidrofobik, lebih mudah terpartisi ke dalam pelarut non-polar, sementara senyawa bioaktif seperti fenolik dan flavonoid tetap bertahan di fase polar. Meskipun variasi kadar air dan proses penguapan memengaruhi bentuk dan kekentalannya, seluruh sampel secara konsisten mempertahankan aroma khas yang kuat dan rasa pahit, mengindikasikan retensi senyawa metabolit sekunder yang baik di dalam ekstrak (Ebrahimi et al., 2023).

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Makroskopik Simplisia dan Ekstrak

Parameter	Hasil		
	Simplisia	Ekstrak Kental	Ekstrak <i>de-chlorophyll</i>
Bentuk	Serbuk Halus	Kental padat	Larutan
Aroma	Khas Kuat	Khas Kuat	Khas Kuat
Warna	Hijau	Coklat Kehitaman	Coklat Bening
Rasa	Pahit	Pahit	Pahit

Uji Mikroskopik Simplisia

Evaluasi mikroskopik pada serbuk simplisia daun sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) bertujuan untuk mengidentifikasi fragmen pengenal spesifik penyusun anatomi tanaman (Handayani, 2024). Berdasarkan hasil pengamatan (**Gambar 2**), ditemukan tiga fragmen utama yang bersesuaian dengan standar literatur Farmakope Herbal Indonesia, yakni epidermis dengan kristal kalsium oksalat bentuk roset, epidermis atas bersistolit dan stomata, serta jaringan epidermis bawah. Keberadaan fragmen kristal kalsium oksalat roset pada lapisan epidermis atau sel idioblas mengindikasikan terjadinya proses biomineralisasi di dalam vakuola, yang berfungsi esensial sebagai penyimpan ion kalsium dan pelindung seluler (Lawrie et al., 2023). Selanjutnya, fragmen epidermis atas yang dilengkapi stomata dan sistolit berperan krusial dalam regulasi pertukaran gas (CO₂) dan laju transpirasi, sekaligus mengoptimalkan penyebaran cahaya ke jaringan yang lebih dalam untuk fotosintesis. Fragmen ketiga berupa epidermis bawah yang tersusun rapat dan berlapis kutikula bertindak sebagai barier mekanik untuk melindungi jaringan daun dari infeksi patogen maupun tekanan lingkungan yang ekstrem (Bestari & Riawan, 2024; Nunes et al., 2022)



Gambar 2. Hasil pemeriksaan uji mikroskopik daun sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) pada pembesaran 400×. (a) Epidermis dengan kristal kalsium oksalat bertuk roset, (b) Epidermis atas dengan stomata dan sistolit, dan (c) Epidermis bawah.

Penetapan Kadar Air, Kadar Sari Larut Air, Kadar Sari Larut Etanol Simplisia Dan Ekstrak

Evaluasi kadar air dilakukan sebagai parameter krusial untuk menjamin stabilitas sediaan dari risiko degradasi mikrobiologis (Azizah et al., 2022). Berdasarkan data pada **Tabel 3**, persentase kadar air simplisia tercatat sebesar $5,97 \pm 0,02\%$, sedangkan ekstrak sebesar $5,01 \pm 0,85\%$. Kedua nilai tersebut telah memenuhi kriteria keberterimaan Farmakope Herbal Indonesia, yakni kurang dari 10% untuk simplisia dan kurang dari 15,2% untuk ekstrak. Perbedaan kadar air di antara kedua sampel ini disebabkan oleh proses pengolahannya. Simplisia masih mempertahankan struktur jaringan matriks utuh seperti selulosa, hemiselulosa, lignin, dan pati yang mampu menjebak air bebas maupun air terikat melalui ikatan hidrogen pada gugus hidroksil polifenol (Ndhlala et al., 2025). Sebaliknya, proses ekstraksi dan evaporasi pelarut pada pembuatan ekstrak secara signifikan menguapkan sebagian besar air, menghasilkan sediaan dengan kadar air yang relatif lebih rendah. Rendahnya kadar air pada kedua bentuk sediaan ini berimplikasi positif terhadap penurunan nilai aktivitas air (*water activity*), yang pada gilirannya menekan proliferasi mikroorganisme perusak. Hal ini mencegah mikroba memetabolisme nutrisi sediaan (karbohidrat, protein, dan lipid), sehingga penurunan kadar senyawa aktif dan perubahan karakteristik visual dapat dihindari (X. Chen et al., 2020).

Tabel 3. Hasil Karakterisasi Mutu Fisikokimia Simplisia dan Ekstrak

Parameter Uji	Sampel Uji	Hasil Uji (% $\pm$ SD)	Syarat
Kadar Air	Simplisia	5,97 $\pm$ 0,02	< 10%
	Ekstrak	5,01 $\pm$ 0,85	< 15,2%
Kadar Sari Larut Air	Simplisia	9,77 $\pm$ 0,02	> 5%
	Ekstrak	12,66 $\pm$ 0,05	$\geq$ 10 – 20%
Kadar Sari Larut Etanol	Simplisia	11,28 $\pm$ 0,01	> 6,4%
	Ekstrak	13,73 $\pm$ 0,05	$\geq$ 5 – 15%

Keterangan: Syarat ketentuan berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia (FHI, 2017).

Parameter selanjutnya, penetapan kadar sari larut air, bertujuan untuk mengestimasi kuantitas senyawa polar dalam bahan uji yang mampu terekstraksi oleh pelarut air (Plaskova & Mlcek, 2023). Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa nilai kadar sari larut air pada sediaan ekstrak (12,66 $\pm$ 0,05%) lebih tinggi dibandingkan dengan simplisia (9,77 $\pm$ 0,02%). Kedua perolehan nilai tersebut juga telah memenuhi kriteria standar mutu yang dipersyaratkan (>5% untuk simplisia dan rentang 10–20% untuk ekstrak). Peningkatan persentase kelarutan senyawa polar pada sediaan ekstrak ini membuktikan efektivitas proses penyarian dalam mendegradasi dinding sel tanaman. Kerusakan struktur seluler tersebut memfasilitasi pelepasan senyawa aktif secara lebih masif ke dalam pelarut. Sebaliknya, pada bentuk simplisia, metabolit sekunder masih terperangkap kuat di dalam matriks jaringan yang utuh, sehingga proses pelarutannya oleh air menjadi lebih terbatas (Lestari et al., 2023).

Selain pelarut polar, penetapan kadar sari larut etanol juga dilakukan untuk mengkuantifikasi kandungan metabolit sekunder yang mampu tersari oleh pelarut etanol, yang umumnya mencakup spektrum senyawa semi-polar hingga non-polar. Hasil karakterisasi memperlihatkan bahwa persentase kelarutan pada sediaan ekstrak (13,73 $\pm$ 0,05%) secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan bentuk simplisia (11,28 $\pm$ 0,01%). Kedua nilai ini secara sah memenuhi parameter standar mutu (>6,4% untuk simplisia dan rentang 5–15% untuk sediaan ekstrak). Peningkatan kadar sari terlarut pada ekstrak sangat dipengaruhi oleh proses penyarian menggunakan pelarut etanol 70%. Proses maserasi tersebut memfasilitasi pelarut untuk berpenetrasi menembus dinding sel dan membebaskan senyawa aktif dari matriks jaringan tanaman, sehingga terkonsentrasi menjadi bentuk yang lebih pekat. Di sisi lain, pada wujud simplisia, senyawa bioaktif tersebut masih terperangkap kuat di dalam struktur jaringan seluler yang kompleks, sehingga proses difusi dan pelarutannya tidak berjalan seoptimal pada sediaan ekstrak (Veninda et al., 2023).

Skrining Fitokimia

Uji skrining fitokimia dilakukan pada simplisia dan ekstrak daun sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) untuk mengidentifikasi keberadaan kelompok metabolit sekunder yang berperan penting dalam memberikan efektivitas farmakologis (Izza et al., 2023; Pangisian et al., 2022). Hasil pengujian yang diringkas pada **Tabel 4** mengonfirmasi adanya kandungan flavonoid, tanin, polifenol, steroid, saponin, dan antosianin pada kedua bentuk sediaan. Temuan ini sejalan dengan beberapa studi literatur terdahulu yang memvalidasi profil fitokimia tanaman tersebut (Afifah et al., 2023; Dharma Yanti et al., 2023).

Tabel 4. Hasil Skrining Fitokimia Simplisia dan Ekstrak

Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil Simplisia	Hasil Ekstrak	Kesimpulan
Flavonoid	Mg + HCl pekat + Amil alkohol	Jingga	Jingga	+
Tanin	Gelatin 1%	Endapan putih	Endapan putih	+
Polifenol	FeCl ₃ 5%	Biru kehitaman	Biru kehitaman	+
Steroid	Lieberman-Burchard	Hijau tua	Hijau muda	+
Saponin	Panaskan, kocok + HCl 2N	Buih setinggi 2 cm	Buih setinggi 2 cm	+
Antosianin	HCl / NaOH	Merah / Hijau	Merah / Hijau	+
Alkaloid	Wagner, Mayer, dan Dragendorff	Tidak ada perubahan warna	Tidak ada perubahan warna	-

Keterangan: (+) teridentifikasi mengandung senyawa,
 (-) tidak teridentifikasi mengandung senyawa.

Keberadaan golongan senyawa flavonoid ditandai oleh perubahan warna sediaan menjadi jingga setelah direaksikan dengan serbuk Mg dan HCl pekat, yang secara kimiawi memicu pembentukan garam flavilium (Ramayani, 2021). Keberadaan tanin dibuktikan melalui presipitasi berupa endapan putih pasca-penambahan gelatin 1%, di mana tanin bekerja mendenaturasi protein dari gelatin tersebut (Makatambah et al., 2020). Pengujian polifenol menggunakan pereaksi FeCl₃ 5% juga menunjukkan reaksi positif dengan terbentuknya warna biru kehitaman. Reaksi ini terjadi akibat reduksi ion besi oleh gugus hidroksil aromatis dari polifenol menjadi senyawa kompleks teroksidasi (Sriwijayanti et al., 2024).

Evaluasi lebih lanjut menunjukkan keberadaan senyawa steroid yang diidentifikasi melalui reagen Lieberman-Burchard. Reaksi asetilasi gugus hidroksil pada uji ini menghasilkan turunan gugus asetil yang memunculkan warna hijau terang (Nurjannah et al., 2022). Identifikasi saponin memberikan hasil positif yang sangat jelas, ditandai dengan terbentuknya busa stabil setinggi 2 cm yang persisten setelah penambahan HCl 0,1 N. Hal ini mengindikasikan terjadinya hidrolisis glikosida menjadi glukosa di dalam air (Yasser et al., 2022). Sementara itu, uji kualitatif antosianin menggunakan penambahan asam (HCl) dan basa (NaOH) menunjukkan perubahan spektrum warna dari merah ke hijau. Penambahan asam berfungsi untuk menghidrolisis ikatan glikosida menjadi bentuk aglikon yang stabil, sedangkan pengkondisian basa mengonfirmasi karakteristik spesifik perubahan warna antosianin (Tuslinah et al., 2025).

Berbeda dengan golongan senyawa lainnya, uji alkaloid pada simplisia maupun ekstrak menunjukkan hasil negatif. Ketidadaan endapan setelah direaksikan dengan pereaksi spesifik Mayer, Wagner, dan Dragendorff menunjukkan kegagalan pembentukan ikatan kovalen koordinasi antara atom nitrogen berpasangan elektron bebas dengan ion logam pereaksi (Nurul Yanti & Evelyn Chandra, 2021). Absennya alkaloid ini berkaitan erat dengan profil fitokimia alami *Peperomia pellucida* L. yang memang lebih didominasi oleh akumulasi senyawa polar dari golongan fenolik dan flavonoid (Ndhlala et al., 2025). Selain faktor genetik tanaman, fluktuasi biosintesis metabolit sekunder sangat dipengaruhi oleh variabel fisiologis dan kondisi lingkungan tumbuh, seperti umur tanaman serta intensitas paparan cahaya UV (Alves et al., 2022; de Moraes & Kato, 2021). Faktor sensitivitas uji juga turut berperan, apabila konsentrasi alkaloid di dalam sampel terlalu minim, pembentukan kompleks dengan pereaksi tidak akan mencukupi untuk menghasilkan presipitasi yang dapat teramati secara visual (Florensia & Andi Wijaya, 2023).

Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak

Metode DPPH (1,1-dyphenyl-2-picrylhydrazyl)

Evaluasi aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH untuk menilai kapasitas peredaman radikal bebas oleh ekstrak daun sirih cina (*Peperomia pellucida* L.). Potensi efektivitas ini direpresentasikan melalui parameter IC₅₀ (*Inhibitory Concentration* 50%), yakni konsentrasi sampel uji yang dibutuhkan untuk mereduksi 50% aktivitas radikal bebas DPPH (Rismawati, 2025). Semakin rendah nilai IC₅₀, semakin kuat kapasitas antioksidannya, dengan klasifikasi: < 50 ppm (sangat kuat), 50–100 ppm (kuat), 100–150 ppm (sedang), 150–200 ppm (lemah), dan > 200 ppm (sangat lemah) (Izazi et al., 2023). Penggunaan DPPH sangat relevan dengan hasil skrining fitokimia sebelumnya, di mana keberadaan golongan senyawa polar seperti flavonoid, tanin, polifenol, dan antosianin berperan krusial sebagai agen antioksidan. Gugus hidroksil (-OH) dari metabolit sekunder tersebut bertindak sebagai donor atom hidrogen yang akan ditangkap oleh radikal DPPH untuk mencapai bentuk stabil (Gulcin & Alwasel, 2023).

Tabel 5. Hasil Uji Antioksidan Ekstrak Metode DPPH

Baku dan Sampel	Persamaan Linear	r ²	IC ₅₀ (µg/mL)	Klasifikasi
Vitamin C	$y = 10,323x + 7,6344$	0,9956	$4,09 \pm 0,17$	Sangat Kuat
Ekstrak <i>de-chlorophyll</i>	$y = 0,5553x - 8,1795$	0,9966	$104,77 \pm 0,62$	Sedang
Ekstrak non <i>de-chlorophyll</i>	$y = 0,4652x - 1,3794$	0,9985	$110,44 \pm 1,00$	Sedang

Pengukuran serapan larutan DPPH pada panjang gelombang maksimum 517 nm (absorbansi 0,822). Seperti yang ditunjukkan pada **Tabel 5**, ekstrak *de-chlorophyll* menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih unggul ($IC_{50} = 104,77 \mu\text{g/mL}$) dibandingkan ekstrak kasar tanpa deklorofilasi ($IC_{50} = 110,44 \mu\text{g/mL}$), meskipun keduanya berada pada kategori sedang dan masih di bawah potensi vitamin C pembanding ($IC_{50} = 4,09 \mu\text{g/mL}$). Evaluasi dilakukan terhadap enam kelompok pengujian yang berbeda, dengan masing-masing parameter diukur dalam tiga kali replikasi untuk kemudian disajikan dalam bentuk nilai rata-rata serta standar deviasi ($mean \pm SD$). Hasil uji Independent Sample *t*-Test memperkuat temuan ini, dengan hasil IC_{50} kelompok non-*dechlorophyll* ($110,44 \pm 1,00 \mu\text{g/mL}$) berbeda signifikan dibandingkan kelompok *de-chlorophyll* ($104,77 \pm 0,62 \text{ ppm}$) dengan nilai $t(4) = 8,740$ dan $p=0,001$ ($p<0,05$). Penurunan nilai IC_{50} yang signifikan membuktikan bahwa proses *de-chlorophyll* dapat meningkatkan kapasitas penangkapan radikal bebas. Peningkatan kapasitas *scavenging* pada ekstrak *de-chlorophyll* ini dipengaruhi secara signifikan oleh eliminasi pigmen klorofil. Proses tersebut mampu meminimalkan noise berupa interferensi serapan klorofil pada Panjang gelombang 517 nm. Meskipun klorofil secara teoritis memiliki serapan maksimum di daerah merah dan biru, pigmen tersebut masih menunjukkan serapan ekor (*overlapping absorption spectrum*) yang signifikan di area 515 – 520 nm. Eliminasi klorofil mencegah terjadinya bias pembacaan absorbansi (positif palsu) pada pengukuran spektrofotometri DPPH dan meningkatkan proporsi dan konsentrasi relatif senyawa aktif (fenolik dan flavonoid) di dalam matriks ekstrak (Rumpf et al., 2023). Kondisi matriks yang lebih murni dan kaya akan metabolit sekunder aktif ini mengoptimalkan probabilitas donasi atom hidrogen (Marda et al., 2024). Fenomena peningkatan aktivitas antioksidan pada sampel yang lebih murni terjadi karena eliminasi komponen non-aktif (seperti pigmen klorofil, lilin dan lipid) menghilangkan efek penghalang sterik dan kompetisi spasial dalam larutan. Tanpa adanya interferensi dari makromolekul non-aktif tersebut, gugus hidroksil (-OH) dari senyawa fenolik dan flavonoid dalam ekstrak memiliki akseibilitas geometri yang jauh lebih tinggi untuk mendonasikan atom hydrogen langsung kepada radikal DPPH. Akibatnya, laju reaksi kinetika reduksi DPPH menjadi DPPH-H (bentuk tereduksi non-radikal/radikal DPPH yang lebih stabil) meningkat secara signifikan (Alara et al., 2020).

Metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

Evaluasi aktivitas antioksidan juga dianalisis menggunakan metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP). Metode ini didasarkan pada kemampuan senyawa aktif untuk mereduksi ion ferri (Fe^{3+}) menjadi ferro (Fe^{2+}) dalam bentuk kompleks *tripirydyltriazine* (TPTZ) pada kondisi lingkungan asam (pH 3,6). Proses reduksi ini ditandai secara visual oleh transisi warna kompleks dari kuning menjadi biru (Wardani, 2024). Pengukuran serapan spektrofotometri pada panjang gelombang maksimum 595 nm (absorbansi 0,049) menghasilkan parameter regresi linear dan nilai IC_{50} yang ditampilkan pada **Tabel 6**.

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metode FRAP

Baku dan Sampel	Persamaan Linear	r^2	$IC_{50} (\mu\text{g/mL})$	Klasifikasi
Vitamin C	$y = 4,4221x + 8,1619$	0,9982	$9,43 \pm 0,17$	Sangat Kuat
Ekstrak <i>de-chlorophyll</i>	$y = 0,2054x + 12,034$	0,9971	$184,85 \pm 0,97$	Lemah
Ekstrak non <i>de-chlorophyll</i>	$y = 0,2173x + 8,2047$	0,9968	$192,36 \pm 1,55$	Lemah

Berdasarkan **Tabel 6**, ekstrak *de-chlorophyll* menunjukkan kapasitas reduksi yang lebih baik dengan nilai IC_{50} sebesar $184,85 \mu\text{g/mL}$ dibandingkan ekstrak kasar tanpa deklorofilasi ($192,36 \mu\text{g/mL}$), meskipun keduanya masih berada pada klasifikasi antioksidan lemah (Sărăcin et al., 2024). Evaluasi dilakukan terhadap enam kelompok pengujian yang berbeda, dengan masing-masing parameter diukur dalam tiga kali replikasi untuk kemudian disajikan dalam bentuk nilai rata-rata serta standar deviasi ($mean \pm SD$). Hasil uji Independent Sample *t*-Test menunjukkan nilai IC_{50} kelompok non-*dechlorophyll* ($192,36 \pm 1,55 \mu\text{g/mL}$) berbeda signifikan dibandingkan kelompok dengan *de-chlorophyll* ($184,85 \pm 0,97 \mu\text{g/mL}$) dengan nilai $t(4) = 7,882$ dan $p = 0,001$ ($p < 0,05$). Penurunan nilai IC_{50} membuktikan bahwa proses *de-chlorophyll* mampu meningkatkan kapasitas dara reduksi dari ekstrak. Peningkatan efektivitas reduksi pada ekstrak *de-chlorophyll* ini berkaitan erat dengan proses purifikasi matriks. Pada sediaan ekstrak kasar, keberadaan komponen pengotor non-aktif seperti pigmen klorofil, lipid, dan lilin dapat menurunkan nilai kapasitas reduksi total sediaan secara signifikan. Berdasarkan prinsip metode FRAP yang mengukur potensi redoks sampel, keberadaan makromolekul

pengotor menimbulkan efek pengenceran matriks (*matrix dilution effect*), konsentrasi relative senyawa fenolik dan flavonoid yang memiliki potensial reduksi menjadi lebih kecil. Akibatnya, kemampuan termodinamika matriks untuk mendonasikan electron dalam mereduksi kompleks Ferri (Fe^{3+} -TPTZ) menjadi Ferro (Fe^{2+} -TPTZ) menjadi kurang optimal dibandingkan dengan ekstrak yang telah melalui proses dekolorisasi. Tersingkirnya klorofil secara signifikan meningkatkan konsentrasi relatif senyawa fenolik dan flavonoid dalam ekstrak. Dominasi senyawa dengan gugus hidroksil aktif ini mengoptimalkan probabilitas transfer elektron ke reagen FRAP, sehingga menghasilkan daya reduksi yang lebih kuat (Heckmann et al., 2024; Lisjak et al., 2026; Soural et al., 2022).

Perbandingan hasil antara metode DPPH dan FRAP memperlihatkan perbedaan profil aktivitas. Standar vitamin C terbukti lebih superior dalam menangkap radikal bebas DPPH (IC_{50} 4,09 $\mu\text{g/mL}$) dibandingkan kapasitasnya sebagai pereduksi ion besi pada metode FRAP (IC_{50} 9,43 $\mu\text{g/mL}$) (Angeli et al., 2023; Kiss et al., 2025). Hal serupa juga teramati pada ekstrak daun sirih cina (*Peperomia pellucida* L.), yang menunjukkan efektivitas penangkapan radikal bebas kategori "sedang" (metode DPPH) namun menunjukkan daya reduksi kategori "lemah" (metode FRAP). Perbedaan ini merepresentasikan perbedaan mekanisme fundamental dari kedua pengujian. Karakteristik senyawa bioaktif fenol dan flavonoid dalam *P. pellucida* L. terbukti lebih reaktif dan kompatibel bekerja melalui jalur donasi atom hidrogen secara cepat (*Hydrogen Atom Transfer* / HAT) untuk menetralkan radikal bebas, dibandingkan bekerja melalui jalur transfer elektron murni (*Single Electron Transfer* / SET) pada kondisi lingkungan asam yang diukur oleh metode FRAP (Timoshnikov et al., 2020; Vishal et al., 2025).

Formulasi Sediaan Serum

Sediaan serum *De-chlorophyll* Sirih Cina (DC-SC) telah berhasil diformulasikan sesuai dengan rancangan komposisi yang ditetapkan sebelumnya. Serbuk ekstrak hasil *freeze-drying* dicampurkan secara homogen ke dalam basis serum pada tiga tingkat konsentrasi yang berbeda, yaitu 0,10% (F1), 0,16% (F2), dan 0,21% (F3). Variasi konsentrasi ini diaplikasikan untuk mengevaluasi pengaruh jumlah zat aktif terhadap karakteristik fisikokimia sediaan, serta dikomparasikan dengan basis murni tanpa zat aktif (F0) sebagai kontrol negatif.

Secara makroskopik, keberhasilan proses formulasi ini divisualisasikan pada **Gambar 3**. Penambahan ekstrak *de-chlorophyll* memberikan pengaruh langsung terhadap intensitas warna sediaan jadi. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang ditambahkan, sediaan serum menunjukkan profil warna yang semakin pekat, mulai dari transparan pada basis (F0) hingga berwarna kecokelatan pada formula tertinggi (F3). Karakteristik visual yang homogen pada seluruh formula ini mengindikasikan bahwa ekstrak *de-chlorophyll* daun sirih cina memiliki kompatibilitas dan kelarutan yang sangat baik terhadap eksipien pembawa polar dalam sistem serum



Gambar 3. Serum *de-chlorophyll* Ekstrak Daun Sirih Cina

Evaluasi Sediaan Serum

Evaluasi karakteristik fisik sediaan dilakukan untuk memastikan bahwa formula serum *de-chlorophyll* sirih cina (DC-SC) yang dihasilkan memenuhi persyaratan mutu sediaan topikal. Berdasarkan pengujian organoleptik, penambahan serbuk ekstrak *de-chlorophyll* memberikan pengaruh langsung terhadap intensitas warna sediaan. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang ditambahkan (F1 menuju F3), warna serum berubah dari bening transparan menjadi kuning intens, tanpa mengubah

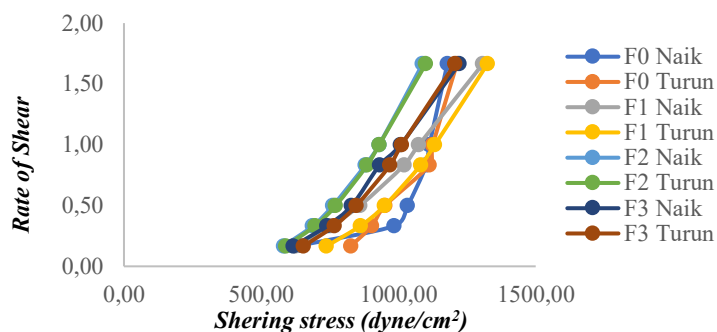
parameter aroma maupun teksturnya (Hikmah et al., 2024). Konsistensi tekstur yang ringan tersebut didukung oleh hasil uji homogenitas, di mana seluruh formula (F0–F3) terdispersi secara merata tanpa adanya butiran kasar, mengonfirmasi bahwa proses mekanik pencampuran sediaan telah berjalan secara optimal (Imansyah & Alam, 2021).

Tabel 6. Hasil Evaluasi Karakteristik Fisik Sediaan Serum DC-SC

Parameter Uji	F0 (Basis)	F1 (0,10%)	F2 (0,16%)	F3 (0,21%)	Syarat/Rentang
Warna	Bening	Kuning pucat	Kuning pucat	Kuning	-
Organoleptik	Aroma	Tidak berbau	Tidak berbau	Tidak berbau	-
	Tekstur	Ringan	Ringan	Ringan	-
Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Tidak ada butiran kasar
Daya Sebar (cm)	5,16 ± 0,15	5,46 ± 0,05	6,26 ± 0,05	6,91 ± 0,05	5 – 7 cm
pH	4,13 ± 0,01	6,04 ± 0,26	6,14 ± 0,31	6,34 ± 0,44	4,5 – 6,5
Viskositas (Cps)	1322 ± 0	1224 ± 1	1117,66 ± 0,57	1055,66 ± 0,57	230 – 3000 Cps

Dari aspek kenyamanan topikal, seluruh formula menunjukkan diameter daya sebar yang masuk ke dalam rentang ideal, yakni 5–7 cm (Raharjeng et al., 2021). Terjadi tren peningkatan daya sebar yang sejalan dengan peningkatan konsentrasi ekstrak ($F3 > F2 > F1 > F0$). Fenomena ini berkorelasi kuat dengan uji viskositas, di mana peningkatan konsentrasi ekstrak justru menurunkan nilai viskositas sediaan dari 1322 Cps (F0) menjadi 1055,66 Cps (F3) (Setiawan et al., 2023; Wibowo, 2024). Penurunan viskositas ini diakibatkan oleh interaksi gugus fungsional senyawa metabolit sekunder ekstrak dengan jaringan *gelling agent* Karbopol. Senyawa polifenol dan tanin yang kaya akan gugus hidroksil fenolik (-OH) sangat mudah membentuk ikatan hidrogen dengan gugus karboksilat dari Karbopol. Interaksi ini mengganggu hidrasi dan pembukaan rantai polimer, sehingga matriks gel tidak dapat mengembang secara maksimal, yang pada akhirnya menurunkan viskositas dan mempermudah sediaan menyebar di atas kulit (Berardi et al., 2022; C. Chen et al., 2022; Fauzi, Ahmad et al., 2023; Houllberghs et al., 2022). Profil daya sebar yang dipengaruhi oleh variasi konsentrasi ekstrak tanaman ini juga sejalan dengan beberapa temuan formulasi serum sebelumnya (Liandhanaji, 2022; Rianti, 2023).

Selain mempengaruhi viskositas, interaksi antara senyawa aktif dan Karbopol juga memodulasi derajat keasaman (pH) sediaan. Basis murni F0 memiliki pH yang sangat asam (4,13) akibat dominasi gugus karboksilat bebas (-COOH) dari polimer asam poliakrilat (Berardi et al., 2022). Namun, penambahan ekstrak daun sirih cina berhasil menaikkan pH sediaan hingga mencapai rentang fisiologis kulit (6,04 – 6,34). Kenaikan pH ini diinisiasi oleh keberadaan molekul saponin dan steroid di dalam ekstrak. Saponin yang berstruktur glikosida amfifilik bertindak sebagai surfaktan alami, memicu perubahan derajat ionisasi pada Karbopol. Akibatnya, gugus asam karboksilat (-COOH) berubah menjadi bentuk terionisasinya (-COO^-), yang secara sistemik menurunkan keasaman sediaan (Kanlayavattanukul et al., 2024). Keberadaan senyawa hidrofobik steroid juga mempengaruhi distribusi ionik pada jaringan dispersi Karbopol (Oelschlaeger et al., 2022).



Gambar 4. Rheogram Serum DC-SC

Untuk mengevaluasi profil aliran fluida, dilakukan analisis reologi yang menghubungkan tegangan geser (*shearing stress*) dengan kecepatan geser (*rate of shear*). Berdasarkan **Gambar 4**, kurva reogram menunjukkan bahwa sediaan serum DC-SC memiliki sifat aliran non-Newtonian tiksotropik pseudoplastik. Sifat ini ditandai dengan tidak adanya hubungan linear antara *shearing stress* dan *rate of shear*, serta terbentuknya *hysteresis loop* antara kurva naik dan kurva turun (Shyam & Palaniappan, 2025). Sediaan dengan profil aliran non-Newtonian tiksotropik pseudoplastik akan mempertahankan viskositas tertentu saat berada di dalam wadah (kondisi diam), namun akan segera mengalami penurunan viskositas menjadi lebih cair dan mudah diratakan ketika mendapatkan gaya mekanik berupa usapan jari pada permukaan kulit (Pan et al., 2023).

Uji Stabilitas Fisik

Evaluasi stabilitas fisik sediaan serum DC-SC diamati selama 15 hari pada suhu ruang sebagai tahapan uji pendahuluan (*preliminary stability test*). Pengujian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya transisi parameter fisikokimia seperti organoleptik, homogenitas, daya sebar, pH, viskositas, dan reologi yang berpotensi mendegradasi mutu sediaan sebelum dilanjutkan pada pengujian jangka panjang (Rini et al., 2023).

Tabel 7. Hasil Uji Stabilitas Serum DC-SC

Parameter	Hari ke-	Formula			
Organoleptik		F0	F1	F2	F3
	0	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
	3	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
	6	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
	9	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
	12	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
	15	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil
Homogenitas		F0	F1	F2	F3
	0	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
	3	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
	6	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
	9	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
	12	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
	15	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
Daya Sebar (cm)		F0	F1	F2	F3
	0	5,16 ± 0,15	5,46 ± 0,05	6,26 ± 0,05	6,93 ± 0,05
	3	5,17 ± 0,05	5,44 ± 0,05	6,25 ± 0,05	6,9 ± 0,05
	6	5,14 ± 0,15	5,47 ± 0,05	6,26 ± 0,05	6,92 ± 0,05
	9	5,17 ± 0,05	5,47 ± 0,05	6,27 ± 0,05	6,92 ± 0,05
	12	5,18 ± 0,05	4,46 ± 0,05	6,27 ± 0,05	6,91 ± 0,05
pH	15	5,16 ± 0,15	5,46 ± 0,05	6,26 ± 0,05	6,93 ± 0,05
		F0	F1	F2	F3
	0	4,11 ± 0,01	5,62 ± 0,00	5,64 ± 0,00	5,73 ± 0,00

	3	4,12 ± 0,05	5,87 ± 0,01	5,94 ± 0,01	6,10 ± 0,01
	6	4,12 ± 0,01	6,01 ± 0,05	6,13 ± 0,01	6,27 ± 0,05
	9	4,14 ± 0,01	6,14 ± 0,02	6,26 ± 0,02	6,4 ± 0,02
	12	5,12 ± 0,02	6,24 ± 0,04	6,35 ± 0,02	6,5 ± 0,01
	15	4,15 ± 0,02	6,34 ± 0,02	6,54 ± 0,02	7,06 ± 0,08
Viskositas		F0	F1	F2	F3
(Cps)	0	1322 ± 0,00	1224 ± 0,00	1118 ± 0,00	1055 ± 0,00
	3	1322 ± 0,00	1224 ± 0,00	1118 ± 0,00	1055 ± 0,00
	6	1322 ± 0,00	1214 ± 0,00	1118 ± 0,00	1055 ± 0,00
	9	1322 ± 0,00	1224 ± 0,00	1118 ± 0,00	1055 ± 0,00
	12	1322 ± 0,00	1224 ± 0,00	1118 ± 0,00	1055 ± 0,00
	15	1322 ± 0,00	1224 ± 0,00	1118 ± 0,00	1055 ± 0,00

Observasi makroskopik secara organoleptik menunjukkan bahwa seluruh formula mempertahankan konsistensi bentuk, warna, dan aroma secara persisten selama masa penyimpanan. Stabilitas warna ini secara langsung membuktikan efektivitas tahapan *de-chlorophyll* pada proses ekstraksi, yang sukses mengeliminasi pigmen klorofil yang sangat rentan mengalami reaksi oksidasi (Uzma et al., 2024). Tidak adanya pergeseran profil aroma juga mengonfirmasi terhambatnya degradasi zat aktif serta ketiadaan kontaminasi mikrobiologis di dalam sediaan. Secara mikroskopik, parameter homogenitas seluruh formula tetap terjaga tanpa adanya indikasi pemisahan fase (*syneresis*). Kondisi ini menegaskan bahwa polimer Karbopol memiliki kapasitas hidrasi dan retensi viskositas yang sangat baik dalam matriks, sehingga mampu mencegah sedimentasi dan menjaga dispersi partikel ekstrak tetap merata (Hamka, 2023).

Terjadi fluktuasi pada evaluasi daya sebar dan viskositas sediaan. Parameter viskositas mengalami sedikit tren penurunan, seluruh formula tetap memenuhi rentang spesifikasi daya sebar topikal yang ideal, yakni berkisar 5–7 cm (Raharjeng et al., 2021). Penurunan viskositas ini berkorelasi linear dengan pelebaran daya sebar, yang dipicu oleh degradasi ringan pada struktur ikatan polimer akibat paparan suhu, kontak oksigen, serta penguapan air di suhu ruang (Thomas et al., 2023).

Di sisi lain, parameter pH sediaan memperlihatkan tren peningkatan yang cukup konstan. Fenomena pergeseran ekuilibrium asam-basa ini didorong oleh interaksi lanjutan antara matriks Karbopol dengan metabolit sekunder ekstrak daun sirih cina seiring bertambahnya waktu kontak. Sifat amfifilik dan non-polar dari senyawa seperti saponin dan steroid secara bertahap merubah derajat ionisasi gugus karboksilat polimer (dari bentuk -COOH menjadi terionisasi -COO^-), yang secara sistemik menekan tingkat keasaman sediaan. Selain faktor interaksi biokimia internal tersebut, determinan lingkungan seperti suhu fluktuatif, paparan cahaya, dan oksidasi juga turut mengkatalisis perubahan nilai pH sediaan selama periode penyimpanan (Hamka, 2023). Secara keseluruhan, modifikasi karakteristik fisik sediaan ini masih dalam batas toleransi yang dapat diterima, sehingga sediaan serum dinilai memiliki profil stabilitas fisik yang reliabel.

Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan pasca-formulasi dilakukan menggunakan metode DPPH untuk memvalidasi persistensi kemampuan penangkapan radikal bebas dari metabolit sekunder setelah diinkorporasikan ke dalam sistem pembawa (Baliyan et al., 2022).

Tabel 8. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Serum Metode DPPH

Formula	Persamaan Linear	r^2	IC ₅₀	Klasifikasi Antioskidan
F0	$y = -0,00002x + 1,8956$	0,6005	-1945496,4	Tidak Ada
F1	$y = 0,1165x + 3,2441$	0,9981	401,18	Sangat Lemah
F2	$y = 0,1101x + 7,6642$	0,9979	384,39	Sangat Lemah
F3	$y = 0,1467x + 6,691$	0,9978	295,19	Sangat Lemah

Hasil karakterisasi menunjukkan adanya lonjakan nilai IC₅₀ yang signifikan pada sediaan jadi. Formula F1, F2, dan F3 mencatatkan nilai IC₅₀ berturut-turut sebesar 401,18 µg/mL, 384,39 µg/mL, dan 295,19 µg/mL. Jika dikomparasikan dengan nilai IC₅₀ ekstrak murni *de-chlorophyll* yang berada pada angka 104,77 µg/mL, data ini mengindikasikan terjadinya penurunan drastis pada efektivitas

antioksidan, di mana kapasitas peredaman radikal bebas seluruh sediaan turun menjadi kategori "sangat lemah" ($> 200 \mu\text{g/mL}$) (Baliyan et al., 2022; Izazi et al., 2023).

Degradasi kapasitas *scavenging* radikal ini dilatarbelakangi oleh multifaktor, dengan pergeseran derajat keasaman (pH) sebagai pemicu kimiawi utama. Sebagaimana dievaluasi sebelumnya, sediaan serum memiliki pH yang lebih basa dibandingkan basis murninya. Kondisi alkalin ini sangat mendestabilisasi senyawa fenolik dan flavonoid. Basa memicu deprotonasi gugus hidroksil fenolik menjadi ion fenolat yang sangat reaktif, sehingga mempercepat laju auto-oksidasi (Andrés et al., 2023). Proses oksidatif ini memaksa gugus hidroksil kehilangan atom hidrogennya, membentuk radikal fenoksil yang terus terdegradasi menjadi semikuinon dan kuinon. Transformasi struktural menjadi kuinon (karbonil) ini secara absolut mengeliminasi ketersediaan gugus fungsi pendonor elektron untuk menetralkan DPPH (Miličević, 2024). Pada senyawa flavonoid dan antosianin, peningkatan pH juga menginduksi transformasi molekuler kation flavilium yang semula stabil di rentang asam menjadi basa kuinonoidal dan karbinol pseudobasa, hingga akhirnya mengalami pembukaan cincin membentuk kalkon yang inaktif (Enaru et al., 2021).

Selain instabilitas imbas pH, faktor mekanik dan fisikokimia sistem sediaan juga mempengaruhi restriktif. Pemanjangan durasi rantai proses manufaktur meliputi ekstraksi, deklorofilasi, *freeze-drying*, hingga pencampuran sediaan meningkatkan akumulasi paparan metabolit aktif terhadap cekaman termal, fotolitik, dan oksigen yang memperparah laju degradasi total fenolik (Mrázková et al., 2023). Fenomena *entrapment* (penjeratan) senyawa di dalam matriks gel juga membatasi efektivitas uji. Senyawa aktif yang tadinya bebas bergerak di dalam larutan pelarut ekstrak kini terdispersi dan terikat di dalam jaringan polimer Karbopol. Kondisi ini menciptakan hambatan difusi sterik dan modifikasi kelarutan yang secara signifikan membatasi mobilitas serta probabilitas kontak antara metabolit aktif dengan radikal DPPH (Ekanayake et al., 2025).

Secara keseluruhan, meskipun paparan lingkungan, degradasi struktural akibat pH, dan hambatan matriks memicu pelemahan potensi antioksidan secara sistemik, penambahan konsentrasi ekstrak terbukti tetap berbanding lurus dengan retensi aktivitasnya. Formula F3 (0,21%) tampil sebagai sediaan dengan tingkat inhibisi paling moderat ($\text{IC}_{50} 295,19 \mu\text{g/mL}$) berkat ketersediaan residu senyawa antioksidan aktif yang secara kuantitatif paling tinggi dibandingkan formula lainnya.

KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa tahapan *de-chlorophyll* terbukti secara efektif mampu meningkatkan kapasitas aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun sirih cina (*Peperomia pellucida* L.) dibandingkan ekstrak kasarnya, yang dikonfirmasi melalui penurunan nilai IC_{50} pada pengujian metode DPPH dan FRAP. Dari keseluruhan variasi konsentrasi yang dikembangkan, Formula 3 (F3) ditetapkan sebagai formula sediaan serum terbaik karena berhasil memenuhi seluruh parameter evaluasi mutu fisikokimia topikal secara optimal. Meskipun F3 mencatatkan daya peredaman radikal bebas tertinggi di antara formula lainnya, aktivitas antioksidan sediaan secara keseluruhan mengalami penurunan drastis menjadi kategori sangat lemah ($\text{IC}_{50} > 200 \mu\text{g/mL}$) pasca-formulasi. Hal ini menunjukkan bahwa potensi efektivitas sediaan serum DC-SC sebagai produk fungsional *anti-aging* penangkal radikal bebas masih belum optimal pada rentang konsentrasi tersebut.

SARAN

Berdasarkan temuan penurunan aktivitas antioksidan pasca-formulasi, penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan optimasi bahan baku dengan meningkatkan rentang konsentrasi ekstrak *de-chlorophyll* daun sirih cina di dalam sediaan serum, melakukan proses fraksinasi lebih lanjut terhadap ekstrak daun sirih cina untuk mengisolasi sub-fraksi spesifik yang paling aktif sehingga didapatkan bahan baku dengan nilai IC_{50} yang jauh lebih kuat sebelum diformulasikan, menerapkan kendali mutu dan proteksi yang lebih ketat pada setiap tahapan manufaktur, mulai dari preparasi simplisia, ekstraksi, deklorofilasi, hingga pencampuran sediaan untuk meminimalisasi paparan faktor lingkungan yang memicu reaksi oksidasi dan degradasi senyawa aktif. sehingga integritas struktural metabolit sekunder dapat dipertahankan dan potensi efektivitas *anti-aging* sediaan menjadi lebih optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, N., Riyanta, A. B., & Amananti, W. (2023). Fitokimia Pada Ekstrak Daun Mangga Harum Manis (*Mangifera indica* L .). *Jurnal Crystal: Publikasi Penelitian Kimia dan Terapannya*, 5(1), 54–61.
- Agung, I. G., Kartika, A., Sinarsih, N. K., Made, N., Mara, D., & Nayaka, W. (2022). *Anti-Inflammatory Activities Of Peperomia Pellucida [L .] Kunth .: A Review*. 4(1), 39–44.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Olalere, O. A. (2020). Ethanolic extraction of flavonoids, phenolics and antioxidants from *Vernonia amygdalina* leaf using two-level factorial design. *Journal of King Saud University - Science*, 32(1), 7–16. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2017.08.001>
- Alves, N. S. F., Kaory Inoue, S. G., Carneiro, A. R., Albino, U. B., Setzer, W. N., Maia, J. G., Andrade, E. H., & da Silva, J. K. R. (2022). Variation in *Peperomia pellucida* growth and secondary metabolism after rhizobacteria inoculation. *PLoS ONE*, 17(1 January), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0262794>
- Andrés, C. M. C., Pérez de la Lastra, J. M., Juan, C. A., Plou, F. J., & Pérez-Lebeña, E. (2023). Polyphenols as Antioxidant/Pro-Oxidant Compounds and Donors of Reducing Species: Relationship with Human Antioxidant Metabolism. *Processes*, 11(9). <https://doi.org/10.3390/pr11092771>
- Angeli, L., Morozova, K., & Scampicchio, M. (2023). A kinetic-based stopped-flow DPPH• method. *Scientific Reports*, 13(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34382-7>
- Aprilliani et al. (2022). *Formulasi dan uji efektivitas antioksidan*. IX(1), 20–28.
- Ayu, I., Widiastriani, P., Nyoman, N., Udayani, W., & Putri, G. A. (2024). *Artikel Review : Peran Antioksidan Flavonoid dalam Menghambat Radikal Bebas*. 6, 188–197.
- Azizah, N. ., Samodra, G., & Silvia Fitriana, A. (2022). Pemeriksaan Kadar Air dan Skrining FitokimiaSimplisia dan Ekstrak Etil Asetat BatangKecombrang (*Etlingera Elatior* (Jack).R.M.Sm.). *Seminar Nasional Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (SNPPKM)*, 503–507.
- Bainunniza, A., Harjanti, R., Nilawati, A., & Antioksidan, K. (2024). *Formulasi Serum Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Matoa (Pometia Pinnata J . R Forst And G . Forst) Dengan Variasi Gelling Agent Carbopol 940 Antioxidant Serum Formulation Of Matoa Leaf Ethanol Extract (Pometia Pinnata J . R Forst And G . Forst) WITH VA*. 12(2), 258–270. <https://doi.org/10.52236/ih.v12i2.608>
- Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R. P., & Chang, C. M. (2022). Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27(4). <https://doi.org/10.3390/molecules27041326>
- Berardi, A., Perinelli, D. R., Bisharat, L., Sabbatini, B., Bonacucina, G., Tiboni, M., Palmieri, G. F., & Cespi, M. (2022). Factors affecting the rheological behaviour of carbomer dispersions in hydroalcoholic medium: Towards the optimization of hand sanitiser gel formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 616, 121503. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.121503>
- Bestari, I. A. P., & Riawan, I. M. O. (2024). Keanekaragaman Anatomi Epidermis Daun dan Indeks Stomata Jepun Cenana *Plumeria alba* var. cendana Berdasarkan Lingkungan Tumbuhnya di Bali Utara. *Jurnal Biologi UNAND*, 12(2), 106–113. <https://doi.org/10.25077/jbioua.12.2.106-113.2024>
- Chaves, N., Santiago, A., & Carlos, J. (2020). *Quantification of the Antioxidant Activity of Plant Extracts : Analysis of Sensitivity and Hierarchization Based on the Method Used*.
- Chen, C., Yang, H., Yang, X., & Ma, Q. (2022). Tannic acid: A crosslinker leading to versatile functional polymeric networks: A review. *RSC Advances*, 12(13), 7689–7711. <https://doi.org/10.1039/d1ra07657d>
- Chen, X., Li, H., Tian, L., Li, Q., Luo, J., & Zhang, Y. (2020). Analysis of the Physicochemical Properties of Acaricides Based on Lipinski's Rule of Five. *Journal of Computational Biology*, 27(9), 1397–1406. <https://doi.org/10.1089/cmb.2019.0323>
- Darshini, P. R. (2024). a Comprehensive Review on Lyophilization (Freeze-Drying) Technique. *Certified Journal | Selvi et al. European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 11(3), 461. www.ejpmr.com

- de Moraes, M. M., & Kato, M. J. (2021). Biosynthesis of Pellucidin A in *Peperomia pellucida* (L.) HBK. *Frontiers in Plant Science*, 12(March). <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.641717>
- Dharma Yanti, N. P. R., Cahya Anggreni, N. P. P., Puspa Pratiwi, K. A., Udayani, N. N. W., & Adrianta, K. A. (2023). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Sirih Cina (*Peperomia pellucida*) dengan Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(3), 489–496. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i3.22417>
- Ebrahimi, P., Shokramraji, Z., Tavakkoli, S., & Mihaylova, D. (2023). *Chlorophylls as Natural Bioactive Compounds Existing in Food By-Products : A Critical Review*. 1–12.
- Ekanayake, G., Wijayawardana, S., Jayanetti, M., Thambiliyagodage, C., Liyanaarachchi, H., & Mendis, A. (2025). In vitro release kinetics of bioactive compounds (gallic acid, ellagic acid, and eugenol) from chitosan polymer and the bioactivity of herb-loaded chitosan–CuO nanocomposites. *Scientific Reports*, 15(1), 1–34. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-19914-7>
- Enaru, B., Dreţcanu, G., Pop, T. D., Stănilă, A., & Diaconeasa, Z. (2021). Anthocyanins: Factors affecting their stability and degradation. *Antioxidants*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/antiox10121967>
- Fadhli, H., Tinggi, S., & Farmasi, I. (2025). *Jejak Fitokimia : Skrining & Mekanisme Reaksi Dalam Mengungkap*. (March).
- Farah, V., Nurhasanah, D., & Putra, N. (2023). *Peredaman Radikal Bebas Ekstrak Etanol Daun Rosella (Hibiscus sabdariffa L) Dengan Metode Frap (Ferric*. 1(1), 21–29.
- Fauzi, Ahmad et al. (2023). *Uji Aktivitas Antiinflamasi Estrak Sirih Cina (Peperomia Pellusida) Pada Tikus Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Karagenan 200-300 gram dipelihara dalam kandang tikus pada suhu ruang (Umar et al ., 2012)*. 1(3).
- FHI. (2017). Herbal Indonesia. In *Pocket Handbook of Nonhuman Primate Clinical Medicine* (Vol. 2).
- Fitriani, D., Novitasari, A. D., & Ariani, L. W. (2024). Uji Stabilitas Warna Antosianin Ekstrak Bunga Telang Pada Berbagai Ph Dan Uji Potensi Antibakteri. *Jurnal Buana Farma*, 4(4), 388–394. <https://doi.org/10.36805/jbf.v4i4.1188>
- Florensia, S., & Andi Wijaya. (2023). Pengaruh Perbedaan Pelarut terhadap Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.). *Jurnal Ilmiah Farmasi Simplisia*, 3(2), 128–134. <https://doi.org/10.30867/jifs.v3i2.402>
- Fossati, A., Cavalloro, V., Rossi, D., Collina, S., & Martino, E. (2025). *A practical and easy - to - scale protocol for removing chlorophylls from leaf extracts*. (February), 1–11. <https://doi.org/10.1002/aps3.70018>
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH Radical Scavenging Assay. *Processes*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/pr11082248>
- Hamka, N. (2023). Formulasi dan Evaluasi Sifat Fisik Dari Sediaan Face Wash Yang Mengandung Ekstrak Air Bunga Kesumba Turate (*Carthamus tinctorius* L.). (Formulation and Evaluation of The Physical Properties Face Wash Preparations That Contain Carthamus Water Extract). *As-Syifaa Jurnal Farmasi*, 15(2), 2085–4714.
- Handayani, R. P. et al. (2024). Journal of Holistic and Health Sciences V o l . 8 , N o . 1 , J a n u a r i - J u n i 2 0 2 4 | 25 Studi Anatomi Sirih Cina (*Peperomia pellucida*) Segar Yang Journal of Holistic and Health Sciences. *Journal of Holistic and Health Sciences*, 8(1), 25–31. <https://share.google/A2mq6AoADFVyPNhEH>
- Hanifah, R., Sukmawati, S., & Amalia, N. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan Serum Wajah Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) Dengan Metode Dpph. *Journal of Pharmacopolium*, 6(2), 27–40. <https://doi.org/10.36465/jop.v6i2.1204>
- Heckmann, M., Stadlbauer, V., Drotarova, I., Gramatte, T., Feichtinger, M., Arnaut, V., Atzmüller, S., Schwarzingner, B., Röhr, C., Blank-Landeshammer, B., & Weghuber, J. (2024). Identification of Oxidative-Stress-Reducing Plant Extracts from a Novel Extract Library—Comparative Analysis of Cell-Free and Cell-Based In Vitro Assays to Quantitate Antioxidant Activity. *Antioxidants*, 13(3). <https://doi.org/10.3390/antiox13030297>
- Hikmah, S. F., Sapri, & Meray, N. W. (2024). Formulasi Dan Evaluasi Stabilitas Fisik Serum Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium Cepa* L .) Sebagai Antioksidan Formulation And Evaluation Of Physical Stability Of Serum Red yang memenuhi stabilitas fisik serum dan untuk mengetahui aktivitas antioskidanny. *Jurnal Farmasi Pharmacia*, 1(2), 31–41.
- Houllberghs, M., Verheyden, L., Voorspoels, F., Chandran, C. V., Duerinckx, K., Radhakrishnan, S.,

- Martens, J. A., & Breynaert, E. (2022). Dispersing carbomers, mixing technology matters! *RSC Advances*, 12(13), 7830–7834. <https://doi.org/10.1039/d2ra00176d>
- Imansyah, M. Z., & Alam, G. (2021). Jurnal Kesehatan Yamasi Makassar. *Jurnal Kesehatan Yamasi Makassar*, 5(2), 121–127.
- Izazi, F., Hardiyono, H., & Kresnamurti, A. (2023). Antioxidant Activity and Phytochemical Profile of *Diadema paucispinum* from Sumenep-Madura, Indonesia. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 16(4), 2511–2520. <https://doi.org/10.13005/bpj/2825>
- Izza, A. R. F., Tambunan, F. M. A., & Maulina, D. (2023). Karakterisasi Dan Skrining Fitokimia Buah Lada Putih (*Piperis albi fructus*). *Indonesian Journal of Health Science*, 3(1), 1–6. <https://doi.org/10.54957/ijhs.v3i1.356>
- Kanedi, M. (2022). *Pharmacological benefits of plant extract of Peperomia pellucida growing wild in Suburb of Bandar Lampung, Indonesia*. 13(02), 519–522.
- Kanlayavattanukul, M., Mersni, D., & Lourith, N. (2024). Plant-derived saponins and their prospective for cosmetic and personal care products. *Botanical Studies*, 65(1). <https://doi.org/10.1186/s40529-024-00438-8>
- Karlina, V. R., Nasution, H. M., Muslim, U., & Al, N. (2022). *Skrining Fitokimia Dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix DC) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus Dan Escherichia Coli*. 1(April), 131–139.
- Kementerian Kesehatan RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia*. II.
- Kiss, A., Papp, V. A., Pál, A., Prokisch, J., Mirani, S., Toth, B. E., & Alshaal, T. (2025). *Comparative Study on Antioxidant Capacity of Diverse Food Matrices : Applicability , Suitability and Inter-Correlation of Multiple Assays to Assess Polyphenol and Antioxidant Status*. 1–21.
- Komala, P. T. H., & Husni, A. (2021). Pengaruh Suhu Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanolik *Eucheuma spinosum* Extraction Temperature Affect on Methanolic Extract Antioxidant Activity of *Eucheuma spinosum*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(1), 1–10.
- Lawrie, N. S., Cuetos, N. M., Sini, F., Salam, G. A., Ding, H., Vancolen, A., Nelson, J. M., Erkens, R. H. J., & Perversi, G. (2023). Systematic review on raphide morphotype calcium oxalate crystals in angiosperms. *AoB PLANTS*, 15(4), 1–16. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plad031>
- Lestari, P., Yusuf, F., & Fahdi, F. (2023). Karakterisasi Simplisia Dan Skrining Fitokimia Herba Suruhan (*Peperomia pellucida* H . B .& K .) Institut Kesehatan Deli Husada Deli Tua 2 Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Arjuna Lestari P , Yusuf F , Fahdi F : Karakterisasi Simplisia Dan Skrining Fitokimia He. *Biology Education Science & Technology*, 6(2), 990–996.
- Liandhanaji, et al. (2022). Karakteristik Dan Stabilitas Sediaan Serum Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia Calabura L.*) Dengan Variasi Konsentrasi. *Jurnal Farmamedika (Pharmamedica Journal)*, 7(1), 17–27. <https://doi.org/10.47219/ath.v7i1.140>
- Lisjak, M., Špoljarević, M., Ravlić, J., Lončarić, Z., & Galić, L. (2026). Phenolic Compounds and Antioxidant Activity: Analytical Methods and Current Knowledge—A Review. *Methods and Protocols*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/mps9020060>
- Loe Wahyuni, et al. (2022). *Formulasi Sediaan Serum Ekstrak Etanol Kayu Secang (Caesalpinia sappan L.) sebagai Antioksidan*. 11(2), 177–183.
- Makatambah, V., Fatimawati, F., & Rundengan, G. (2020). Analisis Senyawa Tannin Dan Aktifitas Antibakteri Fraksi Buah Sirih (*Piper betle* L) Terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal MIPA*, 9(2), 75. <https://doi.org/10.35799/jmuo.9.2.2020.28922>
- Mangalu, M. A., Herny, E. I., & Suoth, E. J. (2022). *Standarisasi Parameter Spesifik Ekstrak Buah Pinang Yaki (Areca vestiaria)*. 5(1), 20–26.
- Manoj, M., Premananthan, P., & Campus, G. (2025). *a Study on Drying Methods for*. 3(6), 221–233.
- Marda, M., Naid, T., & Rahmawati, R. (2024). Antioxidant Activity of Dechlorophyllation of Kejibeling Leaf (*Strobilanthes crispus* L.) Extract Using the Free Radical Reduction Method. *Pharmaceutical Reports*, 3(1), 6–11. <https://doi.org/10.33096/pharmrep.v3i1.285>
- Maskura, N., Hakim, A. R., & Rizali, M. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth) Berdasarkan Perbedaan Konsentrasi Pelarut Etanol. *Jurnal Farmasi SYIFA*, 1(1), 13–16. <https://doi.org/10.63004/jfs.v1i1.112>
- Miličević, A. (2024). Flavonoid Oxidation Potentials and Antioxidant Activities-Theoretical Models Based on Oxidation Mechanisms and Related Changes in Electronic Structure. *International*

- Journal of Molecular Sciences*, 25(9), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms25095011>
- Mrázková, M., Sumczynski, D., & Orsavová, J. (2023). Influence of Storage Conditions on Stability of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity Values in Nutraceutical Mixtures with Edible Flowers as New Dietary Supplements. *Antioxidants*, 12(4). <https://doi.org/10.3390/antiox12040962>
- Mursyid, A. M., & Waris, R. (2021). *Research Article Formulation And Evaluation Of Pharmaceutically Stable Serum Of D . Indica (Arbeban)*. 6(1), 38–42.
- Ndhala, A. R., Ngoben, G. T., Mulaudzi, R., & Lebelo, S. L. (2025). Different Temperature Storage Conditions and Packaging Types Affects Colour Parameters, Amino Acid Composition, Microbial Contamination, and Key Bioactive Molecules of Moringa oleifera Lam. Powder. *Molecules*, 30(20). <https://doi.org/10.3390/molecules30204048>
- Nunes, T. D. G., Slawinska, M. W., Lindner, H., & Raissig, M. T. (2022). Quantitative effects of environmental variation on stomatal anatomy and gas exchange in a grass model. *Quantitative Plant Biology*, 3. <https://doi.org/10.1017/qpb.2021.19>
- Nurjannah, I., Mustariani, B. A. A., & Suryani, N. (2022). Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Ekstrak Kombinasi Daun Jeruk Purut (Citrus Hystrix) Dan Kelor (Moringa Oleifera L.) Sebagai Zat Aktif Pada Sabun Antibakteri. *Spin Jurnal Kimia & Pendidikan Kimia*. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:282128931>
- Nurul Yanti, S., & Evelyn Chandra, V. (2021). Journal Of Pharmaceutical And Sciences (JPS) Study of Secondary Metabolites in Jeruk Sambal Juice (Citrus microcarpa Bunge) From Desa Kalimas, Kalimantan Barat Kajian Metabolit Sekunder dalam Air Perasan Jeruk Sambal (Citrus microcarpa Bunge) yang Berasal. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 4(2), 105–110. <https://www.journal-jps.com>
- Oelschlaeger, C., Marten, J., Péridont, F., & Willenbacher, N. (2022). Imaging of the microstructure of Carbopol dispersions and correlation with their macroelasticity: A micro- and macrorheological study. *Journal of Rheology*, 66(4), 749–760. <https://doi.org/10.1122/8.0000452>
- Olatunde, O. O., Benjakul, S., & Vongkamjan, K. (2018). Antioxidant and antibacterial properties of guava leaf extracts as affected by solvents used for prior dechlorophyllization. *Journal of food biochemistry*, 42(5), Not Available. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12600>
- Pan, P., Svirskis, D., Waterhouse, G. I. N., & Wu, Z. (2023). Hydroxypropyl Methylcellulose Bioadhesive Hydrogels for Topical Application and Sustained Drug Release: The Effect of Polyvinylpyrrolidone on the Physicomechanical Properties of Hydrogel. *Pharmaceutics*, 15(9), 1–20. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15092360>
- Pangisian, J., Sangi, M. S., & Kumaunang, M. (2022). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Aktivitas Antioksidan serta Antibakteri Biji Buah Pangi (Pangium edule Reinw). *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi*, 7(1), 11–19.
- Pebriana, R. B., Lukitaningsih, E., & Khasanah, S. M. (2021). Deklorofilasi Ekstrak Metanolik daun Kenikir (Cosmos caudatus Kunth.), Daun Mengkudu (Morinda citrifolia), dan daun Mangga (Mangifera indica L.) dengan Teknik Elektrokoagulasi. *Traditional Medicine Journal*, 22(3), 190–198.
- Plaskova, A., & Mlcek, J. (2023). New insights of the application of water or ethanol-water plant extract rich in active compounds in food. *Frontiers in Nutrition*, 10(March). <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1118761>
- Prawira-Atmaja, et al. (2019). *Grade Teh Hijau Berpengaruh Terhadap Total Polifenol , Rasio Rehidrasi dan Warna Seduhan Teh*. 3(2), 159–169.
- Raharjeng, S. W., Ikhdha, C., Hamidah, N., & Pangestuti, Z. (2021). *Formulasi Dan Evaluasi Serum Anti Jerawat Berbasis Minyak Atsiri Curcuma zedoaria*. 406–415.
- Ramadhan, H., Andina, L., Vebruati, V., Nafila, N., Yuliana, K., Baidah, D., & Lestari, N. (2020). Perbandingan Rendemen Dan Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Etanol 96% Daun, Buah Dan Kulit Buah Terap (Artocarpus odoratissimus Blanco). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11, 103. <https://doi.org/10.52434/jfb.v11i2.876>
- Ramayani, S. L. (2021). *Pengaruh Perbedaan Pelarut Terhadap Kadar Total Fenolik dan kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun Kitolod (Isotoma longiflora (L.))*. 6(September).
- Rianti, N. A. et al. (2023). Formulasi Dan Evaluasi Sediaan Serum Gel Ekstrak Bunga Melati (Jasminum sambac L.). *Journal Pharmaceutical Care and Sciences*, 3(2), 93–108.

- <https://doi.org/10.33859/jpcs.v3i2.248>
- Rini, I. W., Budi, S., & Tumanggor, A. H. U. (2023). Formulation and Evaluation of Serum Gel from Sengkubak Leaf Extract (*Pycnarrhena Cauliflora* Diels). *Journal Pharmaceutical Care and Sciences*, 4(1), 99–108. <https://doi.org/10.33859/jpcs.v4i1.459>
- Rismawati, et al. (2025). Statistical Validation of The Microplate Reader for Antioxidant Activity Measurement using The DPPH Assay. *Chimica et Natura Acta*, 13(3), 207–214. <https://doi.org/10.24198/cna.v13.n3.61575>
- Roro, R., Alicia, A., Wardhani, K., & Akhyar, O. (2018). *Skrining Fitokimia , Aktivitas Antioksidan , Dan Buah Tanaman Galam Rawa Gambut (Melaleuca cajuputi ROXB) Screening of Phytochemical , Antioxidant Activity and Total Phenolic- Flavonoid of Leaves and Fruit Extract of Galam Rawa Gambut (Melaleuca cajupu. 9(2), 133–143.*
- Rumpf, J., Burger, R., & Schulze, M. (2023). Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 233(February). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123470>
- Rusli et al. (2023). *Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Meistera chinensis dengan. 9(1), 43–48.* <https://doi.org/10.35311/jmpi.v9i1.296>
- Sadik, F., Anwar, M., & Nasir, M. (2025). *jurnal β eta kimia The Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Chinese Betel Leaf (Peperomia pellucida) using the DPPH Method with Potential as an Antidiabetic Agent. 5(1), 28–36.*
- Saleh, I., & Halidun, W. O. N. S. (2022). Identifikasi Pigmen Klorofil Dan Celah Energi Pada Daun Cincau (*Cyclea Barbata*) Sebagai Fotosensitizer Alami Untuk Aplikasi Dssc. *Jurnal Kumparan Fisika*, 5(1), 31–36. <https://doi.org/10.33369/jkf.5.1.31-36>
- Sărăcin, I. A., Obretin, I., Constantinescu, E., Glodeanu, M., Sărăcin, P.-A., & Sărăcin, I. (2024). *Studies On The Determination Of Ic50 Values Of Ethanolic And Methanolic Extracts From The Species Amaranthus Retroflexus L (Amarantaceae)-Spontaneous Flora. LXVII(2), 602–609.*
- Setiawan, P. A., Rahmawanty, D., & Sari, D. I. (2023). *Formulasi dan Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Serum Wajah Ekstrak Daun Singkong (Manihot esculenta) dengan Variasi Konsentrasi Xanthan Gum. 10(2), 394–404.*
- Shyam, R., & Palaniappan, A. (2025). 4 - Rheological characterization of hydrogel and implications towards biomedical applications. In R. Jayakumar & A. K. Rajendran (Ed.), *Hydrogel Tissue Analogues* (hal. 65–83). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-29260-6.00012-3>
- Sitarek, M., Jakub, A., Paweł, D., & Jarosław, O. (2026). Balancing yield and stability : optimizing leaf pigment extraction to minimize chlorophyll degradation. *Planta*, 263(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s00425-025-04868-x>
- Soural, I., Švestková, P., Híc, P., & Balík, J. (2022). Different values obtained by the FRAP method for the determination of slowly and rapidly reacting phenols. *Acta Alimentaria*, 51(1), 84–92. <https://doi.org/10.1556/066.2021.00168>
- Sriwijayanti, Apriningtias, Situmeang, B., Yulianti, N., Susvira, D., & Widiyanto, H. (2024). *jurnal β eta kimia Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Buah. Beta Kimia, 4(1), 77–84.* <https://ejurnal.undana.ac.id/index.php/jbk/article/view/15487>
- Suhendy, H., Kusradiawan, W., & Anggita, D. D. (2021). Pengaruh Metode Maserasi Dan Refluks Terhadap Total Fenol Dan Flavonoid Dari Dua Varietas Umbi Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.). *Pharmacoscrypt*, 4(1), 89–99. <https://doi.org/10.36423/pharmacoscrypt.v4i1.592>
- Suwardi, F. (2020). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Bawang Merah (Allium ascalonicum L .). 1(1), 117–120.*
- Tagrida, M., & Benjakul, S. (2021). Betel (: *Piper betle* L.) leaf ethanolic extracts dechlorophyllized using different methods: antioxidant and antibacterial activities, and application for shelf-life extension of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) filets. *RSC Advances*, 11(29), 17630–17641. <https://doi.org/10.1039/d1ra02464g>
- Tandipare, A. C. (2024). *Formulasi Sediaan Antijerawat Ekstrak Buah Nanas (Ananas Comosus) Dalam Bentuk Gel.*
- Theafelicia, Z., & Wulan, S. N. (2023). *Antioksidan (DPPH , ABTS DAN FRAP) Pada Teh Hitam (Camellia Comparison of Various Methods for Testing Antioxidant Activity (DPPH , ABTS , and FRAP) on Black Tea (Camellia sinensis). 24(1), 35–44.*

- Thomas, N. A., Tungadi, R., Hiola, F., & S. Latif, M. (2023). Pengaruh Konsentrasi Carbopol 940 Sebagai Gelling Agent Terhadap Stabilitas Fisik Sediaan Gel Lidah Buaya (Aloe Vera). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(2), 316–324. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i2.18050>
- Timoshnikov, V. A., Kobzeva, T. V., Polyakov, N. E., & Kontoghiorghes, G. J. (2020). Redox interactions of vitamin c and iron: Inhibition of the pro-oxidant activity by deferiprone. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(11), 1–16. <https://doi.org/10.3390/ijms21113967>
- Togelang, A. V., Simbala, H. E. I., & Abdullah, S. S. (2023). Uji Toksisitas Ekstrak Sirih Cina (*Peperomia pellucida*) Dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test. *Pharmakon*, 12(3), 268–275.
- Tuslinah, L., Elkanawati, R. Y., & Dewi, R. (2022). Pengaruh Proses Fermentasi Bawang Putih Lanang (*Allium Sativum L.*) Terhadap Aktivitas Antioksidan Menggunakan. 5(3), 251–261.
- Tuslinah, L., Widyastuti, L. R., & Fathurohman, M. (2025). Validation of the Use of Anthocyanin as Indicators for Acid-Base Titration. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 28(2), 53–61. <https://doi.org/10.14710/jksa.28.2.53-61>
- Tzima, K., Brunton, N. P., & Rai, D. K. (2020). Evaluation of the impact of chlorophyll removal techniques on polyphenols in rosemary and thyme by-products. *Journal of Food Biochemistry*, 44(3), e13148. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13148>
- Uzma, N. S., Budi, S., & Rahmadani, R. (2024). Pengaruh Kombinasi Basis Karbopol 940 dan HPMC Terhadap Evaluasi Dan Stabilitas Sediaan Spray Gel Ekstrak Daun Sembung (*Blume balsamifera (L.)*). *Journal Pharmaceutical Care and Sciences*, 4(2), 239–250. <https://doi.org/10.33859/jpcs.v4i2.496>
- Veninda, H. R., Belinda, A. M., Khairunnisa, K. Q., Muhaimin, M., & Febriyanti, R. M. (2023). Karakterisasi Simplisia dan Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Daun Bebuas (*Premna serratifolia L.*). *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*, 3(2), 63. <https://doi.org/10.24198/ijbp.v3i2.43576>
- Vishal, S., Vaidehi, P., Shubham, P., Aakanksha, S., Nikita, S., & Priti, P. (2025). Overview Of In Vitro – Antioxidant Models. 2(3), 606–611.
- Wardani, et al. (2024). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Biji dan Buah Bakau (*Xylocarpus granatum J.Koenig*) dengan Metode DPPH dan FRAP. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 11(1), 86–98. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v11i1.9426>
- Wardani, et al. (2025). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Biji dan Buah Bakau (*Xylocarpus granatum Judul Naskah*. 11(1), 86–98. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v11i1.9426>
- Wati, S., Bukit, M., & Sutaji, H. I. (2023). Kajian Awal Spektrum Serapan Senyawa Hasil Ekstraksi Daun Sirih (*Piper betle l.*) Asal Kota Kupang. 3(1), 203–209.
- Wibowo, D. N. (2024). Formulasi dan Evaluasi emulgel Celecoxib dengan Tween 80 dan Lesitin untuk Penghantaran Obat Transdermal. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 11(2), 243–252. <https://doi.org/10.24198/ijpst.v11i2.48498>
- Wirasisya, D. G., Szemer, N., & Spengler, G. (2023). *Indonesian Euphorbiaceae: Ethnobotanical Survey, In Vitro*.
- Yasser, M., Ilham, N. M., Amri, Herman, B., Ninin, A., & Ririn, U. S. (2022). Skrining Fitokimia Senyawa Flavonoid, Alkaloid, Saponin, Steroid Dan Terpenoid Dari Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata L.*). *Bidang Ilmu Teknik Kimia, Kimia Analisis, Teknik Lingkungan, Biokimia Dan Bioproses*, 90–94.
- Yuniarsih, N., & Haryani, A. (2018). Formulasi Dan Uji Stabilitas Fisik Serum Wajah Ekstrak Krokot (*Portulaca oleracea Linn*). 6–10.