Eduproxima: Jurnal Ilmiah Pendidikan IPA
http://jurnal.stkippgritulungagung.ac.id/index.php/eduproxima

PENETAPAN KANDUNGAN TOTAL FENOLIK DAN FLAVONOID SERTA UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI FORMULA SEDIAAN CAIR *SPIRULINA*

Sudarman Rahman *[1)], Yahya Febrianto [2)], Thathit Suprayogi [3)], Rokiy Alfanaar [4)], Awalul Fatiqin [5)]
[1,2)]Prodi Farmasi, FMIPA, Universitas Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia.
[3)]Prodi Fisika, FMIPA, Universitas Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia.
[4)]Prodi Kimia, FMIPA, Universitas Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia.
[5)]Prodi Biologi, FMIPA, Universitas Palangka Raya, Kalimantan Tengah, Indonesia.
[*]*Penulis Korespondensi*
e-mail : sudarmanrahman@mipa.upr.ac.id [*1)], yahyafebri15@mipa.upr.ac.id [2)], shesanthi.citrariana@mipa.upr.ac.id [3)], vitatani0905@gmail.com [4)], desindriagalangrizdho@gmail.com [5)], muafa.purwa@mipa.upr.ac.id [6)], thathit.suprayogi@mipa.upr.ac.id [7)], rokiy.alfanaar@mipa.upr.ac.id [8)], fatiqin@mipa.upr.ac.id [9)]

Article history:
Submitted: Jan. 18th, 2026; Revised: Feb. 20th, 2026; Accepted: March 25th, 2026; Published: July 12th, 2026

ABSTRAK

Spirulina platensis merupakan mikroalga dari kelompok Cyanobacteria yang dikenal sebagai sumber biomolekul aktif yang bermanfaat dalam bidang farmasi. Mikroalga ini mengandung senyawa fitokimia seperti fenolik dan flavonoid. Tujuan penelitian yaitu mengetahui kandungan total fenolik dan flavonoid ekstrak *Spirulina*, pembuatan formula, serta penentuan aktivitas antioksidan formula sediaan cair *Spirulina*. Metode ekstraksi dilakukan dengan maserasi menggunakan pelarut etanol absolut dan pemekatan ekstrak menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak kental yang diperoleh diuji kandungan total fenolik dan flavonoid, kemudian dibuat lima formula sediaan cair (F1–F5) dengan komposisi ekstrak *Spirulina*, etanol, propilen glikol, sorbitol, gliserin, nipagin, dan akuades. Penentuan aktivitas antioksidan tiap formula dilakukan menggunakan metode DPPH pada variasi konsentrasi 5, 10, 20, 40, dan 80 mg/L dilakukan replikasi triplo dengan persamaan regresi linier untuk menentukan nilai IC_{50} . Hasil penelitian diperoleh ekstrak kental sebanyak 15,027 g dengan rendemen 30,0054%. Kandungan total fenolik sebesar 74,088 mg GAE/g dan flavonoid 52,115 mg QE/g. Perbedaan komposisi sorbitol dan propilen glikol memengaruhi aktivitas antioksidan sediaan cair *Spirulina.* Nilai IC_{50} menunjukkan Formula 5 (39,0915 mg/L) memiliki aktivitas sangat kuat, Formula 1, 2, dan 4 tergolong kuat, sedangkan Formula 3 sedang. Nilai IC_{50} asam askorbat pembanding adalah 2,77387 mg/L. Formulasi cair *Spirulina* berpotensi dikembangkan sebagai kandidat produk nutraseutikal antioksidan alami.
Kata Kunci : *Spirulina*; formulasi; DPPH; antioksidan; IC_{50}

PENDAHULUAN

Spirulina platensis merupakan mikroalga biru-hijau dari kelompok *Cyanobacteria*, dimana *S. plantesis* telah lama dikenal sebagai sumber biomolekul aktif yang bermanfaat dalam bidang pangan, farmasi, dan kosmetik (Hidhayati *et al*., 2022). *Spirulina* mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti fenolik, flavonoid, karotenoid, serta pigmen fikosianin yang memiliki aktivitas antioksidan (Gabr *et al*., 2020). Senyawa-senyawa ini berperan dalam menetralkan radikal bebas, dimana radikal bebas yaitu kelompok senyawa atau unsur yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan, sehingga sangat reaktif terhadap komponen seluler diantaranya protein, DNA, dan lipid (El-Bahr, 2013). Ketidakseimbangan antara pembentukan radikal bebas dan kemampuan sistem

antioksidan tubuh dalam menetralkannya akan menyebabkan stres oksidatif, suatu kondisi yang berkontribusi terhadap kerusakan jaringan dan perkembangan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, aterosklerosis, serta penuaan dini (Lushchak, 2015).

Aktivitas antioksidan pada *Spirulina* telah banyak dikaitkan dengan tingginya kandungan total fenolik dan flavonoidnya (Bellahcen *et al*., 2020; Stunda-Zujeva *et al*., 2023). Penelitian sebelumnya terkait *Spirulina platensi* yang dikultivasi di perairan Indonesia mengonfirmasi keberadaan kedua senyawa tersebut, dimana ekstrak etil asetat menunjukkan kandungan flavonoid total tertinggi (49,764 mg QE/g ekstrak) dan fenolik total tertinggi (25,5 mg GAE/g ekstrak) (Ghaisani *et al*., 2025). Sejalan dengan itu, penelitian lain melaporkan bahwa ekstrak air spirulina memiliki aktivitas antioksidan (penangkapan radikal DPPH) hingga 81,1%, yang berkorelasi positif dengan kandungan fenolik totalnya sebesar 40,45 mg GAE/g (Andrianto *et al*., 2024). Aktivitas antioksidan dari *Spirulina* mampu melindungi sel dari stres oksidatif yang dapat memicu penyakit kronis. Potensi antioksidan yang tinggi dan kestabilan senyawa bioaktifnya sehingga *Spirulina* berpotensi untuk dikembangkan dalam berbagai bentuk sediaan, termasuk formulasi cair yang mudah diaplikasikan dan diserap oleh tubuh.

Formulasi sediaan cair berbasis *Spirulina* memiliki potensi tinggi dalam aplikasi nutraseutikal dan farmasetika karena kestabilan dan kemudahan penggunaannya (Ashoush *et al*., 2015). Penelitian oleh Karray *et al*., (2021) menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak Spirulina dengan bahan lain dapat meningkatkan stabilitas formulasi kosmetik dan memperkuat aktivitas antioksidan total. Beberapa penelitian telah melaporkan kandungan total fenolik, flavonoid, serta aktivitas antioksidan ekstrak *Spirulina*, beberapa diantaranya berfokus pada ekstrak, bukan dalam bentuk formulasi sediaan. Hingga saat ini, belum banyak penelitian yang secara khusus mengevaluasi bagaimana perbedaan komposisi eksipien, khususnya sorbitol dan propilen glikol, dapat memengaruhi aktivitas antioksidan dalam formulasi cair *Spirulina*. Berdasarkan penjelasan di atas, maka kami melakukan penelitian terkait penetapan kandungan total fenolik dan flavonoid dari formula sediaan cair *Spirulina* serta uji aktivitas antioksidan.

METODE

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah spektrofotometer Uv-Vis doubel beam (Barcov), *Vacuum rotary evaporator* (Eyela), corong buchner (Buchner Funnel), Water bath (AS ONE smart), satu set alat maserasi, kaca arloji, pipet ukur (Pyrex®), pipet volume (Pyrex®), gelas kimia (Pyrex®), gelas ukur (Pyrex®), labu ukur (Pyrex®), corong kaca, batang pengaduk, spatula, rak dan tabung reaksi, ultrasonik (Notale), pipet tetes, mikropipet (Dragon Med), blue dan yellow tip (ONEMED).

Adapun bahan dalam penelitian ini meliputi *Spirulina platensis*, etanol absolut (EMSURE®), asam askorbat (USP Grade), 2,2-difenil-1-pikrihidrazil (sigma.Co), kuersetin (Sigma Aldrich®), asam galat (Sigma Aldrich®), natrium karbonat (Na_2CO_3), aluminium klorida ($AlCl_3$), natrium hidroksida (NaOH), kalium asetat (KCH_3COO), reagen folin ciocalteu, larutan kloroform (Sigma

Aldrich®), gliserin, propilen glikiol, nipagin, sorbitol, besi (III) klorida, magnesium, kertas saring, aluminium foil, dan akuades dan akuabidestilata.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi *S. plantesis*

Sebanyak 50 gram serbuk *Spirulina* diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol absolut 500 mL hingga seluruh bahan terendam. Proses maserasi dilakukan selama 4 × 24 jam dengan penggantian pelarut setiap 24 jam. Pada setiap 24 jam, filtrat etanol dipisahkan dan dikumpulkan. Residu kemudian dimaserasi kembali menggunakan etanol absolut segar hingga diperoleh filtrat yang jernih atau tidak lagi berwarna. Seluruh filtrat hasil maserasi (pertama hingga keempat) digabungkan, kemudian diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* untuk memperoleh ekstrak etanol pekat. Kemudian dilakukan penentuan rendemen ekstrak *Spirulina* menggunakan persamaan :

$$Rendemen\ (\%) = \frac{Berat\ ekstrak\ kental\ (gr)}{Berat\ sampel\ (gr)} \text{ ….. (Persamaan I)}$$

Uji Kandungan Total Fenolik *S. plantesis*

Kadar fenolik total dianalisis menggunakan metode spektrofotometri sebagaimana dilaporkan oleh (Chun *et al*., 2003). Beberapa zat uji ditimbang dan dilarutkan menggunakan gelas kimia serta dipindahkan ke labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan 400 µL reagen Folin-Ciocalteu hingga bereaksi selama lima sampai delapan menit. Setelah itu, larutan ditambahkan 4 mL larutan Na_2CO_3 7% dan diencerkan dengan akuabidestilata hingga mencapai volume akhir. Campuran diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruang, kemudian absorbansinya diukur dengan panjang gelombang 765 nm menggunakan blanko yang terdiri atas akuabidestilata dan pereaksi Folin-Ciocalteu. Kandungan fenolik total dihitung berdasarkan kurva baku yang dibuat menggunakan asam galat sebagai standar. Penentuan kandungan total fenolik menggunakan persamaan berikut :

$$F = \frac{C\ x\ V\ x\ Fp}{massa\ sampel\ (gr)} \text{…..(Persamaan II)}$$

Keterangan :

F = Kandungan Total Fenolik (mg EAG/g) atau (mg GAE/g)

C = Konsentrasi (mg/L)

V = Volume Sampel (L)

Fp = Faktor Pengenceran

Uji Kandungan Total Flavonoid *S. plantesis*

Kadar flavonoid total dianalisis menggunakan metode spektrofotometri sebagaimana dikemukakan oleh (Zou *et al*., 2004). Beberapa zat uji ditimbang dan dilarutkan menggunakan gelas kimia serta dipindahkan ke labu ukur 10 mL, kemudian dilakukan penambahan 4.000 µL akuades dan 300 µL larutan kalium asetat 10%, lalu dibiarkan bereaksi selama 6 menit. Setelah itu, 0,3 mL larutan $AlCl_3$ 10% ditambahkan dan campuran diinkubasi selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan 4 mL larutan NaOH 10% dan akuades hingga volume akhir 10 mL. Nilai absorbansi ditentukan menggunakan panjang gelombang 510 nm, terlebih dahulu larutan didiamkan hingga 15 menit. Penetapan kadar flavonoid total dilakukan berdasarkan kurva standar yang dibuat dari kuersetin. Penentuan kandungan total flavonoid menggunakan persamaan berikut :

$$F = \frac{C\ x\ V\ x\ Fp}{massa\ sampel\ (gr)} \text{ …..(Persamaan III)}$$

Keterangan :

F = Kandungan Total Flavonoid (mg EK/g) atau (mg QE/g)

C = Konsentrasi (mg/L)
V = Volume Sampel (L)
Fp = Faktor Pengenceran

Formulasi Sediaan Cair *S. plantesis*

Formula sediaan cair *Spirulina* diformulasikan dalam beberapa variasi komposisi untuk memperoleh formula yang paling stabil serta hasil organoleptik terbaik. Setiap formula mengandung zat aktif *Spirulina* dan zat eksipien yang meliputi etanol, gliserin, propilen glikol, sorbitol, nipagin, dan akuades, dalam penelitian ini dibuat sebanyak 5 formula. Tahap pembuatan dimulai dengan melarutkan gliserin dan bahan pengawet ke dalam akuades yang dipanaskan hingga kurang lebih 60°C. Setelah larutan homogen dan didinginkan sampai suhu ruang, nipagin dan akuades ditambahkan secara bertahap sambil dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*.

Selanjutnya Formula sediaan cair (F1-F5) dilakukan uji fisik meliputi warna, bau, kelarutan, dan homogenitas yang dilakukan mulai dari hari ke 0 hingga 14 hari. Uji warna menujukkan perubahan intensitas/kekeruhan, Bau menunjukkan perubahan bau atau adanya bau tengik, kelarutan menunjukkan ada atau tidaknya endapan selama penyimpanan, serta penyimpanan kelima formula dilakukan pada suhu ruang (±25-28^{o}C) selama 14 hari.

Uji Aktivitas Antioksidan Formula Sediaan Cair *S. plantesis*

Sebanyak 3,94 mg serbuk DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ditimbang dan dilarutkan dalam 100 mL etanol absolut, lalu dihomogenkan sehingga diperoleh larutan DPPH 0,1 mM. Larutan ini disimpan dalam botol gelap dan terlindung dari cahaya karena DPPH sensitif terhadap cahaya. Sejumlah 1.000 µL reagen DPPH 0,1 mili Molar dimasukkan ke dalam labu takar 5 mL dan diencerkan dengan etanol absolut hingga tanda tera. Panjang gelombang maksimum 516 nm merupakan rentang untuk menentukan nilai absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Larutan asam askorbat digunakan sebagai larutan standar, dimana sebanyak 10 mg asam askorbat dilarutkan dalam 10 mL etanol absolut untuk menghasilkan larutan stok 1000 µg/mL, kemudian dibuat seri konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm, dan 5 ppm dalam 10 mL. Sedangkan untuk larutan sampel (formula sediaan cair) dalam pengujiannya menggunakan konsentrasi larutan induk 1000 µg/mL dan larutan seri konsentrasinya yaitu 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, dan 80 ppm dalam 10 mL. Pengujian aktivitas antioksidan larutan standar dan sampel dilakukan dengan mengambil 1 mL larutan standar dan sampel kemudian menambahkan 1 mL reagen DPPH dan 4 mL etanol absolut. Larutan uji diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 516 nm. Setiap pengujian baik larutan standar dan sampel dilakukan replikasi sebanyak 3 klai (n=3).

Penentuan nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) asam askorbat dan formula *Spirulina* menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh dari kurva hubungan antara konsentarsi uji dan persentase penghambatan radikal bebas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

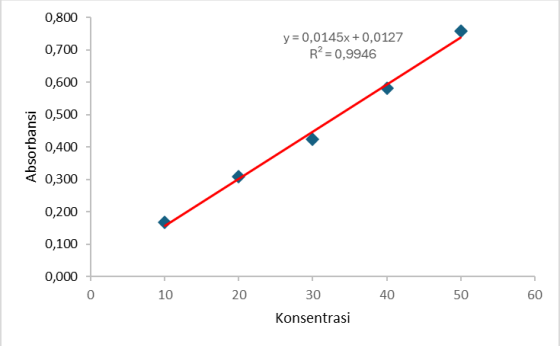
Teknik ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi dingin yaitu maserasi. Proses maserasi dilakukan selama 4 × 24 jam (96 jam) pada suhu ruang (25±2°C) dengan pengadukan secara berkala untuk mengoptimalkan difusi senyawa bioaktif dari biomassa ke dalam pelarut (Jovanović et al., 2017). Pemilihan metode maserasi

digunakan karena metode ini mampu mencegah terjadinya penguraian senyawa yang bersifat labil terhadap pemanasan. Pelarut yang digunakan yaitu etanol absolut dengan kadar 99,5%, pemilihan etanol absolut dikarenakan pelarut ini mampu menembus jaringan tanaman untuk melarutkan dan menarik senyawa yang terdapat dalam suatu bahan alam (Najib, 2018; Saravanabavan *et al*., 2020). Setelah proses maserasi selesai, campuran disaring untuk memisahkan filtrat dari residu padat. Hasil maserasi dapat dilihat pada tabel 1.

S. platensis (gr)	Volume filtrat (mL)	Ekstrak kental (gr)
50	550	15,027
	520	
	480	
	430	

Berdasarkan tabel 1. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C dan tekanan rendah untuk menghindari kerusakan senyawa akibat panas berlebih dan diperoleh ekstrak kental yang telah dievaporasi sebanyak 15,027 g dan diperoleh rendemen sebesar 30,0054%.

Selanjutnya dilakukan pengujian kandungan total fenolik dan flavonoid *Spirulina*, pembuatan formula sediaan cair, serta aktivitas antioksidan dari kelima formula sediaan cair. Aktivitas antioksidan dari spirulina kemungkinan berasal dari senyawa fenolik yang terdapat pada sampel *Spirulina* (Taiana *et al*., 2015). Sehingga, penting untuk dilakukan penetapan total fenolik dengan tujuan mengetahui hubungan aktivitas antioksidan dan kadar total fenolik (Machu *et al*., 2015). Penetapan kandungan fenolik total mengikuti metode yang dilakukan oleh Chun *et al*., (2003) dengan menggunakan spektrofotometri dengan pereaksi Folin Ciocalteau (FC) dan asam galat sebagai senyawa fenolik standar. Asam galat adalah asam dengan 3 gugus hidroksil fenolik dalam kemurnian tinggi dan stabil. Pengujian dilakukan pada sampel dan standar asam galat dengan spektrofotometri daerah 765 nm. Persamaan regresi linear kurva baku asam galat digunakan untuk menentukan kandungan fenolik total dalam *Spirulina* sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 1. Kemudian kurva baku asam galat digunakan untuk menentukan kadar fenolik total *Spirulina*. Selanjutnya dilakukan penentuan absorbansi *Spirulina*, dimana pengukuran dilakukan daerah panjang gelombang yang identik dengan larutan standar yaitu 765 nm dan diperoleh nilai Absorbansi yang disajikan pada Tabel 2.



Gambar 1. Kurva baku asam galat

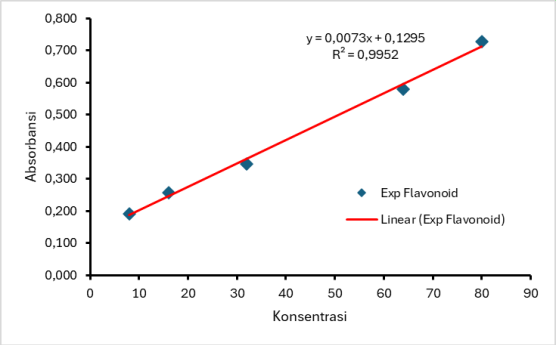
Tabel 2. Absorbansi *Spirulina*

Absorbansi			Absorbansi rata-rata
I	II	III	
0,551	0,550	0,548	0,550

Berdasarkan Gambar 1. Diperoleh data, semakin tinggi konsentrasi larutan asam galat diperoleh absorbansi yang semakin besar, hal ini sesuai dengan hukum persamaan Lambeer-Bert, dimana A = ε x b x C, dimana dengan peningkatan konsentrasi larutan uji maka absorbansi larutan uji akan semakin besar [29]. Persamaan regresi linier diperoleh y = 0,0145x + 0,0127 dengan nilai koefisien regresi linier (R^2) = 0,9946. Nilai R^2 =

0,9946 yang mendekati 1 menunjukkan adanya korelasi antara konsentrasi dan absorbansi yang diperoleh (Gandjar dan Rohman, 2014). Tabel 2 menunjukkan nilai Absorbansi dari spirulina dengan nilai 0,550, nilai pengukuran nilai absorbansi dilakukan secara *triplo*. Penentuan kandungan total fenolik menggunakan rumus persamaan II, dengan memperhatikan persamaan regresi linier dari kurva baku standar asam galat dan diperoleh nilai kandungan fenolik total sebesar 74,088 mg GAE/g. Berdasarkan nilai kandungan total fenolik dapat disimpulkan bahwa dalam setiap 1 gram spirulina, terdapat senyawa fenolik dengan kemampuan antioksidan yang setara dengan 74,088 miligram asam galat murni.

Pengukuran aktivitas antioksidan seperti aktivitas penangkapan radikal DPPH, dapat dikorelasikan dengan kandungan flavonoid totalnya untuk melihat kontribusi senyawa flavonoid pada aktivitas antioksidan yang dihasilkan (Muflihah *et al*., 2021). Oleh karena itu, perlu dilakukan penentuan kandungan flavonoid total untuk mengetahui korelasi antara aktivitas antioksidan dengan kadar flavonoid totalnya (Asem *et al*., 2020). Penetapan kadar fenolik total mengacu pada metode Zou *et al*., (2004) menggunakan spektrofotometer, dengan prinsip kompleksitas senyawa yaitu senyawa fenolik dan Al^{3+} yang menghasilkan warna kuning, kemudian ditambahkan NaOH sehingga terbentuk warna merah muda dengan intensitas yang sebanding dengan kadar fenolik. Penentuan absorbansi sampel dan standar rutin dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 510 nm. Pada penentuan kandungan flavonoid total dalam sampel digunakan persamaan regresi linear kurva baku rutin sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 2. Kemudian kurva baku rutin digunakan untuk menentukan kadar flavonoid total *Spirulina*. Selanjutnya dilakukan penentuan absorbansi *Spirulina*, dimana pengukuran dilakukan dengan panjang gelombang yang sama dengan larutan standar yaitu 510 nm dan diperoleh nilai Absorbansi yang disajikan pada tabel 3.



Gambar 2. Kurva baku kuersetin

Tabel 3. Absorbansi *Spirulina*

Absorbansi			Absorbansi rata-rata
I	II	III	
0,509	0,510	0,510	0,510

Berdasarkan Gambar 2. Diperoleh data, semakin tinggi konsentrasi larutan asam galat diperoleh absorbansi yang semakin besar, hal ini sesuai dengan hukum persamaan Lambeer-Bert, dimana A = ε x b x C, dimana dengan peningkatan konsentrasi larutan uji maka absorbansi larutan uji akan semakin besar [29]. Persamaan regresi linier diperoleh y = 0,0073x + 0,1295, dimana koefisien regresi linier (R^2) = 0,9952. Nilai R^2 = 0,9952 yang mendekati 1 menunjukkan adanya korelasi antara konsentrasi dan absorbansi yang diperoleh (Gandjar dan Rohman, 2014). Tabel 3 menunjukkan nilai Absorbansi dari spirulina dengan nilai 0,550, nilai pengukuran nilai absorbansi dilakukan secara *triplo*. Penentuan kandungan total flavonoid menggunakan rumus persamaan III, dengan memperhatikan persamaan regresi linier

dari kurva baku standar kuersetin dan diperoleh nilai kandungan flavonoid total sebesar 52,115 mg QE/g. Berdasarkan nilai kandungan total flavonoid dapat disimpulkan bahwa dalam setiap 1 gram spirulina, terdapat senyawa flavonoid dengan kemampuan antioksidan yang setara dengan 52,115 miligram asam galat murni.

Pembuatan formulasi sedian cair menggunakan zat aktif *Spirulina* dan basis formula yang terdiri dari etanol, gliserin, sorbitol, propilen glikol (PG), nipagin dan akuades, hal ini berdasarkan *High Internal Phase Emulsions* (HIPEs). HPE adalah teknologi khusus yang memungkinkan menarik zat aktif agar larut dalam jumlah besar (Gao *et al.*, 2021). Hal ini sangat cocok untuk senyawa dari *Spirulina* (seperti fikosianin) atau kurkumin yang sulit larut dalam air. Dengan menggunakan HPE, formula dalam sediaan cair dapat menjadi produk yang lebih stabil dengan kandungan nutrisi tinggi (Kim & Kim, 2024). Hasil formula dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Formulai sediaan cair *Spirulina*

Nama Bahan	Formula (F)				
	F1	F2	F3	F4	F5
Spirulina	100 mg				
Etanol	8	8	8	8	8
Gliserin	25	25	25	25	25
Sorbitol	6	9	12	15	18
PG	24	21	18	15	12
Nipagin	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Akuades	Add 100 mL				

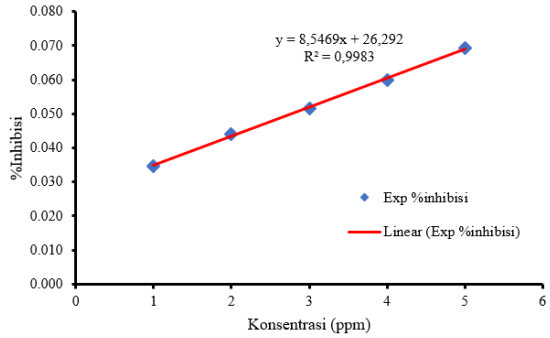
Berdasarkan Tabel 4. Bahan-bahan yang digunakan dalam formulasi adalah *Spirulina* (100 mg), Etanol (8 mL), Gliserin (25 mL), Nipagin (0,1 g), dan Akuades yang ditambahkan hingga volume total 100 mL, sedangkan komposisi Sorbitol dan Propilen Glikol (PG) bervariasi antar formula: F1 (sorbitol 6 g; PG 24 g), F2 (sorbitol 9 g; PG 21 g), F3 (sorbitol 12 g; PG 18 g), F4 (sorbitol 15 g; PG 15 g), dan F5 (sorbitol 18 g; PG 12 g).

Pengujian fisik dalam penelitian ini meluputi uji bau, warna, dan kelarutan. Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa kelima formula memiliki bau yang tidak menyengat selama proses penyimpanan. Namun, perbedaan stabilitas fisik mulai terlihat pada hari ke-14. Formula 3 menunjukkan penurunan stabilitas yang ditandai dengan perubahan warna menjadi lebih coklat dan terdapat sedikit endapan, sedangkan formula 1,2, dan 4 relatif lebih stabil. Sebaliknya, Formula 5 menunjukkan stabilitas fisik lebih baik selama hari ke-14 pengamatan. Warna sediaan tetap stabil (hijau), bau tetap khas (tidak menyengat), serta tidak ditemukan endapan (kelarutan). Sehingga, Formula 5 sebagai formula optimal tidak hanya didasarkan pada nilai aktivitas antioksidan (IC_{50}) dan didukung hasil uji stabilitas fisik yang lebih baik dibandingkan formula lainnya.

Perbedaan formulasi dalam kelima formula sediaan cair terdapat pada sorbitol dan propilien glikol (PG), dimana sorbitol berperan sebagai humektan dan penstabil yang mampu mempertahankan kelembapan serta meningkatkan viskositas sediaan sehingga dapat menghambat sedimentasi selama penyimpanan. Selain itu, kemampuannya mengikat air dan memodifikasi aktivitas air berkontribusi dalam meningkatkan stabilitas fisik dan warna sediaan farmasi (Pierrat *et al*., 2016). Propilen glikol berfungsi sebagai kosolven dan humektan yang meningkatkan kelarutan serta stabilitas senyawa aktif, termasuk senyawa fenolik antioksidan. Sifat higroskopisnya

membantu mencegah pengendapan dan mempertahankan stabilitas fisik, warna, serta bau selama penyimpanan (Rowe *et al.*, 2015).

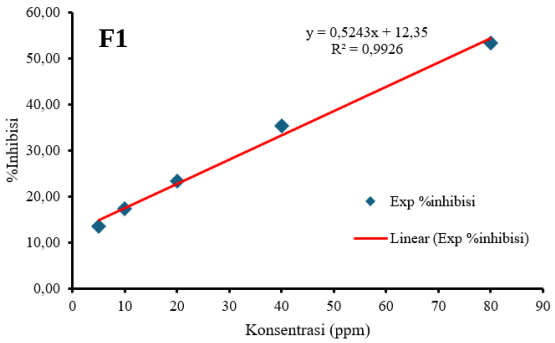
Reagen DPPH digunakan untuk menentukan nilai aktivitas antioksidan sediaan cair spirulina dan asam askorbat diukur dengan panjang gelombang 516 nm, dimana pada panjang gelombang tersebut terjadi perubahan warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning yang menandakan terjadi serapan optimum pada larutan DPPH (Pokorny, 2001). Pengujian sediaan cair dan asam askorbat (kontrol pembanding) bertujuan mengetahui aktivitas antioksidan pada sampel dan asam askorbat dengan parameter nilai IC_{50} (*inhibitory concentration* 50%), dimana IC_{50} merupakan konsentrasi persentase aktivitas inhibisi DPPH dengan nilai 50% dibanding kontrol (Arina dan Rohman, 2010). Nilai IC_{50} ditentukan dengan menggunakan persamaan regresi linier, dimana persamaan regresi ini diperoleh dari hubungan antara konsentrasi dan persentase penangkap radikal bebas (Sridhar & Charles, 2019). Hasil uji penangkap radikal DPPH dan nilai IC_{50} asam askorbat (kontrol pembanding) dapat dilihat pada Gambar 3**.**



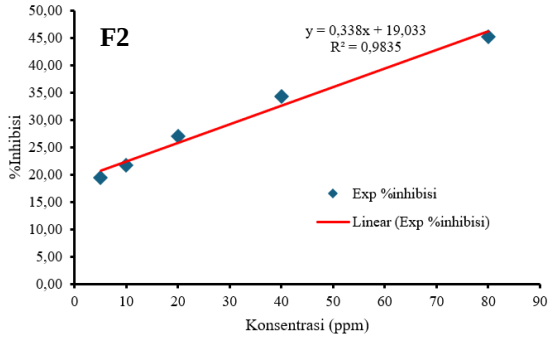
Gambar 3. Kurva inhibisi (%) terhadap konsentrasi (asam askorbat)

Berdasarkan Gambar 3 diperoleh data, semakin tinggi konsentrasi larutan asam akorbat maka absorbansi diperoleh semakin kecil dengan persentase penangkapan radikal bebas yang meningkat, hal ini sesuai dengan hukum persamaan Lambeer-Bert, dimana A = ε x b x C, dimana dengan peningkatan konsentrasi larutan uji maka absorbansi larutan uji akan semakin besar (Gandjar dan Rohman, 2014). Persamaan regresi linier diperoleh y = 8,5469x + 26,292 dengan nilai koefisien regresi linier (R^2) = 0,9983. Nilai R^2 = 0,9983 yang mendekati 1 menunjukkan adanya korelasi antara konsentrasi dan absorbansi yang diperoleh (Gandjar dan Rohman, 2014). Hasil persamaan regresi linier selanjutnya digunakan untuk menentukan nilai IC_{50}. nilai IC_{50} asam askorbat sebesar 2,77287 mg/L dengan kategori antioksidan sangat kuat.

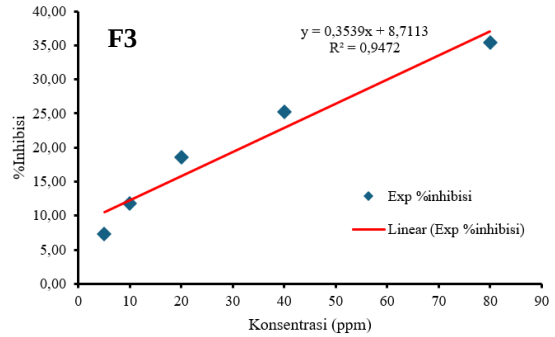
Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dari kelima formula sediaan cair. Uji aktivitas antioksidan diukur pada panjang gelombang yang sama dengan larutan kontrol asam askorbat (Panjang gelombang maksimum). Hasil uji aktivitas antioksidan kelima formula dapat dilihat pada Gambar 4, 5, 6, 7, 8.



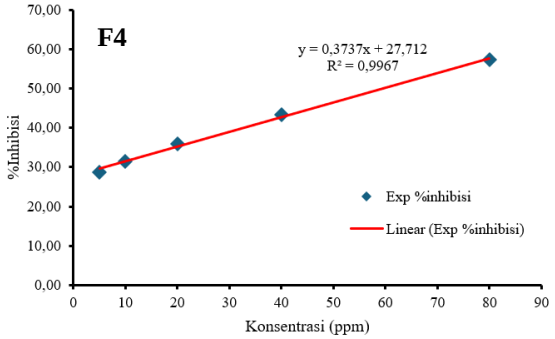
Gambar 4. Kurva inhibisi (%) terhadap konsentrasi (F1)



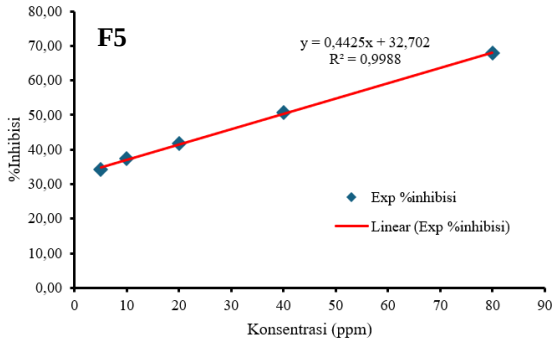
Gambar 5. Kurva inhibisi (%) terhadap konsentrasi (F2)



Gambar 6. Kurva inhibisi (%) terhadap konsentrasi (F3)



Gambar 7. Kurva inhibisi (%) terhadap konsentrasi (F4)



Gambar 8. Kurva inhibisi (%) terhadap konsentrasi (F5)

Berdasarkan Gambar 4 (F1), 5 (F2), 6 (F3), 7 (F4), dan 8 (F5), diperoleh data semakin tinggi konsentrasi sediaan cair (F1-F5) maka absorbansi diperoleh semakin kecil dengan persentase penangkapan radikal bebas yang semakin meningkat, hal ini sesuai dengan hukum persamaan Lambeer-Bert, dimana A = ε x b x C, dimana dengan peningkatan konsentrasi larutan uji maka absorbansi larutan uji akan semakin besar (Gandjar dan Rohman, 2014). Persamaan regresi linier diperoleh untuk kelima formula masing-masing Formula 1 (F1) y = 0,5243x + 12,35 dengan nilai koefisien regresi linier (R^2) = 0,9926; Formula 2 (F2) y = 0,338x + 19,033 dengan nilai koefisien regresi linier (R^2) = 0,9835; Formula 3 (F3) y = 0,3539x + 8,7113 dengan nilai koefisien regresi linier (R^2) = 0,9474; Formula 4 (F4) y = 0,3737x + 27,712 dengan nilai koefisien regresi linier (R^2) = 0,9967; Formula 5 (F5) y = 0,4425x + 32,702 dengan nilai koefisien regresi linier (R^2) = 0,9988. Nilai R^2 yang mendekati 1 menunjukkan adanya korelasi antara konsentrasi dan absorbansi yang diperoleh (Gandjar dan Rohman, 2014). Berdasarkan persamaan regresi linier dari formula 1-5 diperoleh nilai IC_{50}, dimana nilai IC_{50} F1 = 71,81 mg/L; F2 = 91,531 mg/L; F3 = 116,668 mg/L; F4 = 59,64 mg/L; F5 = 39,0915 mg/L. Pengklasifikasian nilai IC_{50} terhadap aktivitas antioksidan tersebut didasarkan pada penelitian (Boly *et al*., 2016) yang dapat dilihat pada

Tabel 5. Klasifikasi aktivitas antioksidan terhadap *Inhibitory concentration* (IC_{50})

Inhibitory concentration (IC_{50}) (ppm)	Klasifikasi aktivitas antioksidan
<50	sangat kuat
50-100	kuat
100-150	sedang
150-200	lemah
>200	sangat lemah

Berdasarkan **Tabel 5**, Formula 5 merupakan antioksidan dengan kategori sangat kuat, Formula 1, 2, dan 4 merupakan antioksidan dengan kategori kuat, sedangkan Formula 3 merupakan antioksidan dengan kategori antioksidan sedang. Peningkatan konsentrasi sampel sediaan cair (F1-F5) menunjukkan persentase inhibisi yang semakin besar. Namun, jika dengan konsentrasi yang sama asam askorbat memiliki persentase inhibisi yang lebih besar. Hal ini disebabkan karena asam askorbat telah terbukti memiliki kemampuan yang poten sebagai antioksidan (penangkap radikal DPPH) (Boulebd, 2020; Rudiana *et al*., 2021). Beberapa penelitian sebelumnya, Ghaisani *et al*., (2025) melaporkan kandungan flavonoid total 49,764 mg QE/g dan fenolik total 25,5 mg GAE/g pada ekstrak *Spirulina* dari perairan Indonesia, sedangkan Andrianto *et al*., (2024) melaporkan kandungan fenolik total 40,45 mg GAE/g dengan aktivitas penangkapan radikal DPPH hingga 81,1%.

Perbedaan nilai fenolik, flavonoid, dan IC_{50} dapat dipengaruhi oleh jenis pelarut dan kondisi pertumbuhan *Spirulina*. Pelarut seperti etanol absolut umumnya mengekstraksi senyawa fenolik lebih optimal dalam menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi (Agustiar *et al*., 2022). Selain itu, faktor lingkungan seperti intensitas cahaya, media kultur, dan waktu panen juga memengaruhi biosintesis senyawa bioaktif pada *Spirulina* sehingga berdampak pada aktivitas antioksidan yang dilaporkan (Hidayati *et al*., 2022).

Kemampuan sediaan formula cair dalam meredam radikal bebas DPPH diduga karena adanya golongan-golongan senyawa metabolit sekunder. Kandungan metabolit sekunder golongan polifenol dan flavonoid diduga memberikan aktivitas tersebut, karena adanya subtituen gugus hidroksi (-OH) yang bersifat sangat reaktif yang dapat mendonorkan atom Hidrogen, sehingga dapat menyebabkan radikal bebas (DPPH) yang kehilangan proton menjadi lebih stabil (Fessenden & Fessenden, 1994; Treml & Šmejkal, 2016).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan kandungan fenolik dan flavonoid total *Spirulina* diperoleh nilai sebesar 74,088 mg GAE/g dan 52,115 mg QE/g. Zat aktif dan basis sediaan cair yaitu digunakan dalam formulasi adalah *Spirulina* (100 mg), etanol (8 mL), gliserin (25 mL), nipagin (0,1 g), dan akuades yang ditambahkan hingga volume total 100 mL, sedangkan komposisi sorbitol dan propilen glikol (PG) bervariasi antar formula: F1 (sorbitol 6 g; PG 24 g), F2 (sorbitol 9 g; PG 21 g), F3 (sorbitol 12 g; PG 18 g), F4 (sorbitol 15 g; PG 15 g), dan F5 (sorbitol 18 g; PG 12 g). Selama penyimpanan hingga hari ke-14, seluruh formula memiliki bau tidak menyengat, namun terdapat perbedaan stabilitas fisik. Formula 3 menunjukkan perubahan warna dan sedikit endapan, sedangkan Formula 1, 2, dan 4 relatif stabil, dan Formula 5 paling stabil dengan warna tetap hijau serta tanpa pemisahan fase maupun endapan.

Hasil uji aktivitas antioksidan asam askorbat dan kelima formula sediaan cair diperoleh nilai *inhibitory concebtration* 50% (IC_{50}) asam askorbat sebesar 2,77387 mg/L, sedangkan nilai IC_{50} kelima formula secara berturut-turut adalah F1 = 71,81 mg/L; F2 = 91,531 mg/L; F3 = 116,668 mg/L; F4 = 59,64 mg/L; F5 = 39,0915 mg/L. Berdasarkan kategori antioksidan nilai IC_{50} asam askorbat termasuk antioksidan sangat kuat. Formula 5

merupakan antioksidan dengan kategori sangat kuat, Formula 1, 2, dan 4 merupakan antioksidan dengan kategori kuat, sedangkan Formula 3 merupakan antioksidan dengan kategori antioksidan sedang. Hasil ini menunjukkan bahwa formulasi cair Spirulina berpotensi dikembangkan sebagai kandidat produk nutraseutikal atau kosmetik antioksidan alami.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Palangka Raya atas bantuan pendanaan melalui program hibah bersaing untuk pelaksanaan penelitian.

REFERENSI

Agustiar, A. A., Rairat, T., Zeng, M., & Praiboon, J. (2022). Effect of different extracting solvents on antioxidant activity and inhibitory effect on diabetic enzymes of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis*. *Journal of Fisheries and Environment*, *46*(3), 10–26

Andrianto, D., Safithri, M., & Tarman, K. (2024). Total Phenolic Content and Proliferation Activity of Spirulina Extract in Lymphocyte Cell. *BIO Web of Conferences*, *92*, 02009. https://doi.org/10.1051/bioconf/20249202009

Arina, N. B.,& Rohman, A.(2013). The phenolic contents and antiradical activity of Indonesian Phyllantus urinaria L. International Food Research Journal, 20(3), 1119-1124

Asem, N., Abdul Gapar, N. A., Abd Hapit, N. H., & Omar, E. A. (2020). Correlation between total phenolic and flavonoid contents with antioxidant activity of Malaysian stingless bee propolis extract. *Journal of Apicultural Research*, *59*(4), 437–442. https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1684050

Ashoush, I. S., Mahmoud, S. H., & M., M. R. (2015). Immunomodulatory and Antioxidant Activity of Pomegranate Juice Incorporated with Spirulina and Echinacea Extracts Sweetened, *8*(2), 161–174. https://doi.org/10.12816/0030719

Bellahcen, T. O., AAmiri, A., Touam, I., Hmimid, F., Amrani, A. E., Cherif, A., & Cherki, M. (2020). Evaluation of Moroccan microalgae: *Spirulina platensis* as a potential source of natural antioxidants. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, *17*(3), 20190036. https://doi.org/10.1515/jcim-2019-0036

Boly, R., Lamkami, T., & Guissou, I. (n.d.). *DPPH free radical scavenging activity of two extracts from agelanthus dodoneifolius (Loranthaceae) leaves*.

Boulebd, H. (2020). Comparative study of the radical scavenging behavior of ascorbic acid, BHT, BHA and Trolox: Experimental and theoretical study. *Journal of Molecular Structure*, *1201*, 127210. https:// doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127210

Chun, O. K., Kim, D.-O., & Lee, C. Y. (2003). Superoxide Radical Scavenging Activity of the Major Polyphenols in Fresh Plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(27), 8067–8072. https://doi.org/10.1021/jf034740d

El-Bahr, S. M. (2013). Biochemistry of Free Radicals and Oxidative Stress. *Science International*, *1*(5), 111–

117. https://doi.org/10.5567/sciintl.2013.111.117

Fessenden, R. J., & Fessenden, J. S. (1994). *Kimia organik* (Jilid I, Edisi ke-3; A. Hadyana Pudjaatmaka, Penerjemah). Jakarta: Penerbit Erlangga

Gabr, G. A., El-Sayed, S. M., & Hikal, M. S. (2020). Antioxidant Activities of Phycocyanin: A Bioactive Compound from Spirulina platensis. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 73–85. https://doi.org/10.9734/jpri/2020/v32i230407

Gao, H., Ma, L., Cheng, C., Liu, J., Liang, R., Zou, L., Liu, W., & McClements, D. J. (2021). Review of recent advances in the preparation, properties, and applications of high internal phase emulsions. *Trends in Food Science & Technology*, *112*, 36–49. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.041

Gandjar, I. G., & Rohman, A. (2014). *Kimia farmasi analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.

Ghaisani, A. D., Setyaningsih, I., & Hardiningtyas, S. D. (2025). The effect of extraction methods on phenolic content, antioxidant activity, and compound identification of Spirulina platensis: Pengaruh metode ekstraksi terhadap kandungan total fenol, aktivitas antioksidan dan identifikasi senyawa pada Spirulina platensis. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, *28*(7), 618–632. https://doi.org/10.17844/jphpi.v28i7.64276

Hidhayati, N., Agustini, N. W. S., Apriastini, M., & Diaudin, D. P. A. (2022). Bioactive Compounds from Microalgae Spirulina platensis as Antibacterial Candidates Against Pathogen Bacteria. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, *25*(2), 41–48. https://doi.org/10.14710/jksa.25.2.41-48

Jovanović, A. A., Đorđević, V. B., Zdunić, G. M., Pljevljakušić, D. S., Šavikin, K. P., Gođevac, D. M., & Bugarski, B. M. (2017). Optimization of the extraction process of polyphenols from Thymus serpyllum L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques. *Separation and Purification Technology*, *179*, 369–380. https:// doi.org/10.1016/j.seppur.2017.01.055

Karray, A., Krayem, N., Saad, H. B., & Sayari, A. (2021). Spirulina platensis, Punica granatum peel, and moringa leaves extracts in cosmetic formulations: An integrated approach of in vitro biological activities and acceptability studies. *Environmental Science and Pollution Research*, *28*(7), 8802–8811. https://doi.org/10.1007/s11356-020-11156-6

Kim, H. J., & Kim, Y. H. (2024). Exploring Acne Treatments: From Pathophysiological Mechanisms to Emerging Therapies. *International Journal of Molecular Sciences*, *25*(10), 5302. https://doi.org/10.3390/ijms25105302

Machu, L., Misurcova, L., Vavra Ambrozova, J., Orsavova, J., Mlcek, J., Sochor, J., & Jurikova, T. (2015). Phenolic Content and Antioxidant Capacity in Algal Food Products. *Molecules*, *20*(1), 1118–1133. https://doi.org/10.3390/molecules200111118

Muflihah, Y. M., Gollavelli, G., & Ling, Y.-C. (2021). Correlation Study of Antioxidant Activity with Phenolic

and Flavonoid Compounds in 12 Indonesian Indigenous Herbs. *Antioxidants*, *10*(10), 1530. https ://doi.org/10.3390/antiox10101530

Najib, Ahmad. (2018). *Ekstraksi Senyawa Bahan Alam*. Deepublish.

Pierrat, P., Kereselidze, D., Lux, M., Lebeau, L., Pons, Françoise. (2016). Water activity and physical stability in pharmaceutical formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, *511*(1), 1–8. https: //doi.org/10.1016/j.ijpharm.2016.07. 012

Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. (2001). Antiokxidants in Food: Pratical Applications. Food Science, Technology, and Nutrition

Rowe, R.C., Sheskey, P.J., & Quinn, M.E. (2015). Role of pharmaceutical excipients in stability of dosage forms. *Pharmaceutical Development and Technology*, *20*(5), 543–550. https://doi.org/10.3109/10837450.20 14.882939

Rudiana, Indiatmoko DD, & Rohim D. (2021). Aktivitas Antioksidan dan Profil Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kulit Batang Alkesa (Pouteria campechiana). *Chimica et Natura Acta*, *9*(1). https://doi.org/ 10.24198/cna.v9.n1.33567

Saravanabavan, N., Salwe, K. J., Sudar Codi, R., & Kumarappan, M. (2020). Herbal extraction procedures: Need of the hour. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, *9*(7), 1135. https://doi.org/ 10.18203/ 2319-2003.ijbcp20202566

Sridhar, K., & Charles, A. L. (2019). In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH and ABTS assays: Estimation methods for EC50 using advanced statistical programs. *Food Chemistry*, *275*, 41–49. https://doi.org/ 10.1016/j.foodchem.2018.09.040

Stunda-Zujeva, A., Berele, M., Lece, A., & Šķesters, A. (2023). Comparison of antioxidant activity in various spirulina containing products and factors affecting it. *Scientific Reports*, *13*(1), 4529. https://doi. org/10.1038/s41598-023-31732-3

Taiana, D. D. S., Luciana, P., Michele, M. D. S., & Eliana, B. F. (2015). Profile, antioxidant potential, and applicability of phenolic compounds extracted from Spirulina platensis. *African Journal of Biotechnology*, *14*(41), 2903–2909. https:// doi.org/10.5897/AJB2015.14926

Treml, J., & Šmejkal, K. (2016). Flavonoids as Potent Scavengers of Hydroxyl Radicals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *15*(4), 720–738. https://doi. org/10.1111/1541-4337.12204

Vasyl Stefanyk Precarpathian National University, Ivano-Frankivsk, Ukraine, & Lushchak, V. I. (2015). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stresses and their classifications. *The Ukrainian Bio chemical Journal*, *87*(6), 11–18. https://doi.org/10.15407/ubj87.06.01 1

Zou, Y., Lu, Y., & Wei, D. (2004). Antioxidant Activity of a Flavonoid-Rich Extract of *Hypericum perforatum* L . in Vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(16), 5032–5039. https://doi.org/ 10.1021/jf049571r