

ISSN 1693-8666

available at <http://journal.uii.ac.id/index.php/JIF>

*Scientific Journal of Pharmacy*

**JIF** **JURNAL  
ILMIAH  
FARMASI**

**JIF | Edisi 1 | Januari-Juli 2018 | Hal. 1-57**



**UNIVERSITAS  
ISLAM  
INDONESIA**

Jurusan Farmasi FMIPA UII  
Jl. Kaliurang Km. 14,4  
Yogyakarta 55584  
Telp. (0274) 896439 ext. 3047  
Email. [jif@uui.ac.id](mailto:jif@uui.ac.id)

**JURNAL ILMIAH FARMASI**  
(SCIENTIFIC JOURNAL OF PHARMACY)

**PIMPINAN UMUM/ PENANGGUNG JAWAB**  
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia

**WAKIL PIMPINAN UMUM/ WAKIL PENANGGUNG JAWAB**  
Ketua Jurusan Farmasi FMIPA UII

***Editor in Chief***

Dr. Arba P. Ramadani, M.Sc., Apt

***Managing Editors***

Annisa Fitria, M.Sc., Apt.

Cynthia Astiti Putri, M.Si., Apt.

Diesty Anita Nugraheni, M.Sc.Apt.

***Editorial Board***

Pinus Jumaryatno, M.Phil., PhD., Apt

Prof. Dr. Is Fatimah

Prof. Dr. Abdul Rohman, M.Si., Apt.

Dr. rer. nat. Ronny Martien, M.Si.

Prof. Patrick A Ball

Dr. Hana Morissey

Assoc. Prof. Muhammad Taher

Assoc. Prof. Che Suraya Zin

Assoc. Prof. Deny Susanty

Dr. Matthew Bertin

Dr. Mohammed Hada

Dr. Tommy Julianto

***Reviewers***

Dr. Vitarani Dwi Ananda Ningrum, Apt.

Suci Hanifah, PhD., Apt.

Dr. Farida Hayati, Apt

Dr. Lutfi Chabib, Apt

Dr. Siti Zahliyatul Munawiroh, Apt.

Saepudin, PhD., Apt.

Dr. Asih Triastuti, Apt

Dr. Yandi Syukri, M.Si., Apt.

Dr. Noor Fitri

**Penerbit**

Jurusan Farmasi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia

**Alamat Penerbit**

Jurusan Farmasi FMIPA UII  
Jl. Kaliurang Km. 14,4 Yogyakarta 55584  
Telp. (0274) 896439 ext. 3047  
Email: [jif@uii.ac.id](mailto:jif@uii.ac.id)  
<https://journal.uui.ac.id/index.php/JIF>

## DAFTAR ISI

|                             |     |
|-----------------------------|-----|
| Susunan Redaksi             | i   |
| Daftar Isi                  | ii  |
| Pengantar Dari Dewan Editor | iii |

### Farmasi Sains

|   |           |
|---|-----------|
| Fomulation <i>Self Nano Emulsifying Drug Delivery System</i> (SNEDDS)<br>Ekstrak Daun Karamunting ( <i>Rhodomyrtus tomentosa</i> (Ait.) Hassk)<br><b>Bambang Hernawan Nugroho, Nilam Permata Sari</b> | hal 1-8   |
| Uji Efek Antihiperlikemia Ekstrak Etanol 70% Daun<br>Kecombrang ( <i>Etlingera Elatior</i> ) pada Tikus Sprague Dawley<br>dengan Penginduksi Aloksan<br><b>Afra Fitrianita, Yardi, Ahmad Musir</b>    | hal 9-16  |
| Optimasi Formulasi Nanoemulsi Minyak Biji Anggur Energi Rendah<br>dengan <i>D-Optimal Mixture Design</i> (DMD)<br><b>Fatimah Siyam Handayani, Bambang H. Nugroho, Siti Zahliyatul Munawiroh</b>       | hal 17-34 |
| Uji Inhibisi Aktivitas Enzim Tirosinase beberapa jenis tumbuhann Zingiberaceae<br><b>Arini Aprilliani, Asep Gana Suganda, Rika Hartati</b>  | hal 46-58 |

### Farmasi Klinik

|  |           |
|--|-----------|
| Respon Pengobatan Pada Pasien Diare Spesifik Rawat Inap<br>di Rumah Sakit Swasta Provinsi Banten<br><b>Chyntia Pradifita Sari, Hilda Yunita Indriani, Yosi Febrianti</b> | hal 35-45 |
|--|-----------|

## **PENGANTAR DEWAN EDITOR**

Alhamdulillah, puji syukur ke hadirat Allah Ta'ala yang telah menganugerahkan kesempatan dan kekuatan, sehingga Jurnal Ilmiah Farmasi (JIF) Vol. 14 No. 1 Tahun 2018 dapat diterbitkan. Pada edisi ini dimuat empat artikel yang terdiri dari tiga artikel pada kelompok Farmasi Sains dan satu artikel pada kelompok Farmasi Klinis. Artikel yang disajikan pada kelompok Farmasi Klinis mengulas tentang topik efektivitas terapi pada pasien di rumah sakit. Sedangkan artikel pada kelompok Farmasi Sains diantaranya mengetengahkan topik formulasi sediaan obat dari bahan alam.

Besar harapan kami semua artikel yang disajikan dalam edisi ini dapat memberikan manfaat dan menambah wawasan pembaca mengenai perkembangan penelitian dan wacana di bidang farmasi dan kesehatan. Saran dan kritik membangun dari pembaca kami harapkan. Begitu pula, kami mengundang pembaca untuk berpartisipasi mengirimkan artikel untuk dimuat dalam jurnal ini. Bagi pembaca yang berminat, dapat mencermati aturan pengiriman artikel yang sudah ditetapkan dan segera mengirimkannya ke alamat redaksi.

Akhirnya, kami ucapkan selamat membaca dan selamat mencermati, dan tak lupa kami mohon maaf apabila terdapat kesalahan dan kelalaian dalam penerbitan edisi ini.

Yogyakarta, Juli 2018  
**Dewan Editor**

## Formulation of Self Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Karamunting Leaf Extract (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk)

### Fomulasi *Self Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS) Ekstrak Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk)

\*Bambang Hernawan Nugroho, Nilam Permata Sari

Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Indonesia, Jl. Kaliurang Km 14,5, Sleman DI Yogyakarta  
\*Corresponding author. Email: bambang.hernawan@uui.ac.id

---

#### Abstract

**Background:** One of the plants containing flavonoids is leaves of karamunting. However, karamunting leaf extract has a low solubility, so the extract of the karamunting leaves needs to be formulated into SNEDDS preparations to improve solubility.

**Objective:** This study aimed to make a SNEDDS preparation formulation from karamunting leaf extract.

**Method:** SNEDDS of karamunting leaf extract was prepared formulas with capryol 90 as the oil phase, tween 20 and tween 80 as the surfactant, and PEG 400 as the co-surfactant using low energy technique. Evaluation of the preparation consisted of particle size, polydispersity Index, zeta potential, and % transmittance.

**Result:** SNEDDS of karamunting leaf extract was put on a ternary A diagram with a larger area because of  $\leq 200$  nm particle size,  $\leq 0.7$  polydispersity index (PI),  $\geq 30$  mV zeta potential  $\geq 30$  mV, and 70-100 % transmittance.

**Conclusion:** The results of evaluation of particle size from several formulations with a ratio of surfactants namely tween 20 and tween 80, that the greater the concentration of surfactant used will reduce the particle size. It makes the SNEDDS formulation of the karamunting leaf extract increase its solubility.

**Keyword:** Karamunting Leaf, SNEDDS, Capryol 90, Tween 20, PEG 400

#### Intisari

**Latar Belakang:** Salah satu tanaman yang mengandung senyawa flavonoid yaitu daun karamunting. Namun ekstrak daun karamunting memiliki kelarutan yang rendah, sehingga ekstrak daun karamunting perlu diformulasikan menjadi sediaan SNEDDS untuk memperbaiki kelarutan.

**Tujuan :** Untuk membuat formulasi sediaan SNEDDS dari ekstrak daun karamunting.

**Metode:** Dalam pembuatan SNEDDS ekstrak daun karamunting dibuat dengan capryol 90 sebagai fase minyak, tween 20 dan tween 80 sebagai surfaktan, dan PEG 400 sebagai co-surfaktan menggunakan teknik *low energy*. Evaluasi terhadap sediaan berupa ukuran partikel, indeks polidispersitas (IP), potensial zeta, dan % transmittan.

**Hasil:** Pada penelitian ini didapatkan formulasi sediaan SNEDSS ekstrak daun karamunting diambil pada diagram ternary A yang memiliki daerah wilayah lebih luas karena memiliki ukuran partikel  $\leq 200$  nm, indeks polidispersitas (IP)  $\leq 0.7$ , potensial zeta  $\geq 30$  mV dan % transmittan 70-100%.

**Kesimpulan:** Hasil evaluasi ukuran partikel dari beberapa formulasi dengan perbandingan surfaktan yaitu tween 20 dan tween 80. Penggunaan tween 20 sebagai surfaktan menghasilkan daerah nanoemulsi yang lebih luas dan ukuran partikel yang lebih kecil

**Kata Kunci:** Daun Karamunting, SNEDDS, Capryol 90, Tween 20, PEG 400

---

## 1. Pendahuluan

Nanoteknologi akhir-akhir ini telah banyak menarik perhatian bagi peneliti, ilmuwan, karena diyakini mempunyai banyak kegunaan dan memiliki prospek ekonomi yang besar. Tujuan utama dalam merancang nanopartikel sebagai sistem pengiriman untuk mengontrol ukuran partikel, sifat permukaan dan pelepasan agen farmakologis aktif sehingga obat

mencapai target spesifik pada tingkat kerasionalan. Partikel nano adalah sistem pengiriman obat terbaru yang dapat meningkatkan tingkat pengiriman obat ke reseptor (Anindhita & Oktaviani, 2016). Di pengembangan sistem pengiriman obat berdasarkan teknologi farmasi, suatu formulasi yang bisa meningkatkan kemampuan senyawa aktif untuk menembus sangat dibutuhkan, salah satunya adalah Self Nano Emulsifying Drug Delivery System. Adapun keuntungan dari SNEDDS termasuk memiliki kemampuan untuk memberikan obat dalam bentuk terlarut dalam lumen saluran pencernaan (GI), dengan demikian menyediakan area antarmuka yang lebih besar untuk penyerapan obat. Nanoemulsion adalah transparan, tembus cahaya sistem emulsi dan merupakan dispersi minyak air yang distabilkan dengan lapisan film surfaktan atau surfaktan molekul, memiliki ukuran tetesan 100 nm - 500 nm (Martien R et al., 2017).

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang melimpah, ada sekitar 40.000 jenis tumbuhan dan 1.300 diantara jenis tumbuhan tersebut dapat dikembangkan sebagai tanaman obat yang sangat potensial. Terlebih lagi saat ini masyarakat Indonesia mulai melakukan *Trend Back to Nature* dalam pengobatan karena obat yang berasal dari tanaman atau obat herbal lebih mudah didapat, relatif murah, dan memiliki efek samping yang relatif rendah (Arnida et al., 2016). Salah satu penggunaan obat tradisional yang digunakan untuk diabetes melitus adalah daun karamunting. Karamunting merupakan tumbuhan liar yang tidak memerlukan perlakuan khusus. Dimana karamunting banyak sekali terdapat di Kalimantan (borneo) yang memiliki banyak manfaat selain tumbuhan pasak bumi, tabat barito, bawang dayak, sarang semut dan kayu kuning (Rafe, 2017). Daun karamunting mempunyai golongan senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan, antimikroba, antibakteri, antijamur, antivirus, hepatoprotektif, antiinflamasi, antidiabetes (Iskandar & Sinata, 2017).

*Self Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS) adalah sediaan yang terdiri dari minyak, surfaktan, dan co-surfaktan dengan komposisi yang sesuai sehingga mampu menciptakan campuran isotropik yang stabil. Pembuatan formulasi bahan alam salah satunya adalah dengan teknik *Self Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS), metode ini digunakan untuk dapat meningkatkan ketersediaan hayati zat aktif di dalam tubuh, menambah kelarutan, laju disolusi dan absorpsi zat aktif di dalam tubuh terutama untuk obat-obat yang memiliki kelarutan rendah di dalam air (Anindhita & Oktaviani, 2016). Ekstrak daun karamunting merupakan konstituen zat aktif yang sukar larut di dalam air sehingga sesuai dibuat dalam bentuk sediaan *Self Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEEDS) untuk meningkatkan kelarutan zat aktif. Sehingga dengan adanya konsep tersebut, dapat meningkatkan produktivitas pemanfaatan daun karamunting di Indonesia (Sinata & Arifin, 2016).

Berdasarkan latar belakang tersebut yang telah dipaparkan, maka dilakukan penelitian tentang Pembuatan formulasi sediaan *Self Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS) dari ekstrak daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) yang memberikan modifikasi terbaru untuk memperbaiki kelarutan, sehingga dapat memperbaiki ketersediaan hayati zat aktif di dalam tubuh. Dalam penelitian ini, dilakukan perbandingan kombinasi surfaktan yaitu tween 20 dan tween 80 dilakukan dalam upaya untuk meningkatkan kelarutan ekstrak daun karamunting. Diharapkan dengan adanya kombinasi surfaktan dapat melihat kelarutan yang optimal dalam sediaan SNEDDS.

## 2. Metodologi penelitian

### 2.1. Uji kelarutan ekstrak daun karamunting dalam minyak, surfaktan, dan kosurfaktan

Pada pengujian kelarutan ekstrak daun karamunting dalam memilih minyak (Capryol 90 dan *Virgin Coconut Oil*), surfaktan (Tween 20, Tween 80 dan Cremophor RH) dan kosurfaktan (Propilen Glikol dan PEG 400) yang sesuai dengan menggunakan perbandingan rasio.

### 2.2. Pembuatan *Self Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS)

Ekstrak daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) dicampurkan pada fase minyak kemudian diaduk dengan bantuin magnetik stirrer dengan 400 rpm selama 5 menit, kemudian ditambahkan surfaktan lalu diaduk lagi dengan kecepatan 400 rpm selama 5 menit dan ditambahkan kosurfaktan lalu diaduk dengan kecepatan 400 rpm.

### 2.3. Ukuran partikel, Indeks Polidispersitas (IP), potensial zeta dan persen transmitan

Formulasi sediaan *Self Nano Emulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS) ekstrak daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) didispersikan dalam aquabidest dengan perbandingan 1:250, kemudian larutan nanoemulsi hasil dispersikan dibaca ukuran partikel, indeks polidispersitas (IP) dan potensial zeta pada *Particle Size Analyzer* (PSA) kemudian diukur persen transmitannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 650 nm.

## 3. Hasil dan pembahasan

### 3.1. Hasil uji kelarutan ekstrak daun karamunting dalam minyak, surfaktan, dan kosurfaktan

**Tabel 1.** Hasil uji kelarutan ekstrak daun karamunting dalam minyak, surfaktan, kosurfaktan

| No | Komponen     | Bahan                           | Kelarutan* |
|----|--------------|---------------------------------|------------|
| 1  | Minyak       | <i>Virgin Coconut Oil</i> (VCO) | 1 : 17     |
|    |              | Capryol 90                      | 1 : 10     |
| 2  | Surfaktan    | tween 20                        | 1 : 10     |
|    |              | tween 80                        | 1 : 10     |
|    |              | Cremophor RH                    | 1 : 18     |
| 3  | Ko-surfaktan | PEG 400                         | 1 : 13     |

Propilen Glikol (PG)

1 : 15

\*perbandingan ekstrak dengan komponen yang ditambahkan (b/b)

Pada pengujian kelarutan ekstrak daun karamunting secara kuantitatif didapatkan basis formula berdasarkan perbandingan rasio terkecil sehingga menggunakan capryol 90 sebagai fase minyak, tween 20 dan tween 80 sebagai fase surfaktan dan PEG 400 sebagai fase kosurfaktan. Komponen yang dioptimasi dan diskriminasi kelarutannya secara kuantitatif dengan menambahkan sejumlah komponen kedalam ekstrak (b/b).

### 3.2. Hasil Pembacaan Ukuran Partikel, indeks polidispersitas (IP), potensial zeta dan % transmitan

**Tabel 2.** Minyak: Campuran Surfaktan (1:9)

| No | Cap<br>90 | T<br>20 | PEG<br>400 | Size<br>(nm) | IP<br>(Đ)   | %<br>Transmitan | potensial zeta<br>(mV) |
|----|-----------|---------|------------|--------------|-------------|-----------------|------------------------|
| 1  | 10        | 80      | 10         | 12.73 ± 1.33 | 0.54 ± 0.04 | 98.53 ± 0.0009  | -16.2 ± 3.02           |
| 2  | 10        | 70      | 20         | 11.33 ± 2.06 | 0.42 ± 0.24 | 97.50 ± 0.0023  | -39.57 ± 0.68          |
| 3  | 10        | 60      | 30         | 11.9 ± 1.61  | 0.86 ± 0.34 | 97.71 ± 0.0047  | -42.97 ± 1.42          |
| 4  | 10        | 50      | 40         | 10.57 ± 0.29 | 0.50 ± 0.11 | 96.41 ± 0.017   | -32.77 ± 4.16          |
| 5  | 10        | 40      | 50         | 15.53 ± 0.68 | 0.98 ± 0.74 | 95.26 ± 0.0198  | -40.4 ± 0.72           |

**Tabel 3.** Minyak: Campuran Surfaktan (2:8)

| No | Cap<br>90 | T<br>20 | PEG<br>400 | Size<br>(nm)  | IP<br>(Đ)   | %<br>Transmitan | potensial zeta<br>(mV) |
|----|-----------|---------|------------|---------------|-------------|-----------------|------------------------|
| 1  | 20        | 70      | 10         | 10.9 ± 0.42   | 0.28 ± 0.08 | 95.85 ± 0.0009  | -31.33 ± 0.25          |
| 2  | 20        | 60      | 20         | 62.33 ± 1.27  | 0.47 ± 0.01 | 96.11 ± 0.0016  | -33.17 ± 0.35          |
| 3  | 20        | 50      | 30         | 62.87 ± 54.46 | 0.29 ± 0.25 | 96.07 ± 0.0009  | -27.63 ± 1.81          |
| 4  | 20        | 40      | 40         | 93.37 ± 2.61  | 0.44 ± 0.05 | 92.88 ± 0.0149  | -35.47 ± 0.40          |
| 5  | 20        | 30      | 50         | 563.6 ± 24.7  | 0.48 ± 0.02 | 90.99 ± 0.0443  | -24.43 ± 0.40          |

**Tabel 4.** Minyak: Campuran Surfaktan (3:7)

| No | Cap<br>90 | T<br>20 | PEG<br>400 | Size<br>(nm)  | IP<br>(Đ)   | %<br>Transmitan | potensial zeta<br>(mV) |
|----|-----------|---------|------------|---------------|-------------|-----------------|------------------------|
| 1  | 30        | 60      | 10         | 154 ± 5.47    | 0.55 ± 0.06 | 78.83 ± 0.0293  | -35.87 ± 0.72          |
| 2  | 30        | 50      | 20         | 398.77 ± 5.46 | 0.55 ± 0.04 | 44.25 ± 0.0206  | -31.3 ± 0.17           |
| 3  | 30        | 40      | 30         | 306.03 ± 5.29 | 0.51 ± 0.02 | 28.25 ± 0.0551  | -34.23 ± 0.47          |
| 4  | 30        | 30      | 40         | 672.7 ± 4.56  | 0.49 ± 0.09 | 1.15 ± 0.0000   | -35.57 ± 0.29          |
| 5  | 30        | 20      | 50         | n.d           | n.d         | 1.78 ± 0.0000   | -40.43 ± 0.45          |

**Tabel 5.** Minyak: Campuran Surfaktan (4:6)



| No | Cap 90 | T 20 | PEG 400 | Size (nm)      | IP (Đ)        | % Transmittan | Zeta Potensial (mV) |
|----|--------|------|---------|----------------|---------------|---------------|---------------------|
| 1  | 40     | 50   | 10      | 132.2 ± 65.67  | 4 ± 2.36      | 1.06 ± 0      | -26.97 ± 0.91       |
| 2  | 40     | 40   | 20      | 206.9 ± 48.14  | 1.72 ± 0.14   | 0.48 ± 0      | -26.37 ± 0.21       |
| 3  | 40     | 30   | 30      | 208.8 ± 8.70   | 2.54 ± 1.08   | 0.73 ± 0.0009 | -34.63 ± 0.15       |
| 4  | 40     | 20   | 40      | 148.9 ± 79.77  | 1.34 ± 1.47   | 1.28 ± 0.0577 | -33.9 ± 1           |
| 5  | 40     | 10   | 50      | 206.3 ± 142.32 | 23.18 ± 35.35 | 2.85 ± 0.0008 | -36.77 ± 0.65       |

Tabel 6. Minyak: Campuran Surfaktan (1:9)

| No | Cap 90 | T 80 | PEG 400 | Size (nm)    | IP (Đ)      | % Transmittan  | potensial zeta (mV) |
|----|--------|------|---------|--------------|-------------|----------------|---------------------|
| 1  | 10     | 80   | 10      | 18.17 ± 1.99 | 3.06 ± 2.79 | 97.57 ± 0.0058 | -47.6 ± 15.84       |
| 2  | 10     | 70   | 20      | 13.23 ± 0.51 | 0.07 ± 0.05 | 97.64 ± 0.0062 | -29.67 ± 0.29       |
| 3  | 10     | 60   | 30      | 15.57 ± 1.10 | 0.22 ± 0.22 | 97.68 ± 0.0191 | -32.83 ± 1.43       |
| 4  | 10     | 50   | 40      | 15.57 ± 0.40 | 0.28 ± 0.14 | 97.03 ± 0.0054 | -50.43 ± 0.55       |
| 5  | 10     | 40   | 50      | 53.63 ± 0.29 | 0.64 ± 0.03 | 97.36 ± 0.0072 | -36.77 ± 4.10       |

Tabel 7. Minyak: Campuran Surfaktan (2:8)

| No | Cap 90 | T 80 | PEG 400 | Size (nm)     | IP (Đ)      | % Transmittan  | potensial zeta (mV) |
|----|--------|------|---------|---------------|-------------|----------------|---------------------|
| 1  | 20     | 70   | 10      | 272.27 ± 8.85 | 0.49 ± 0.03 | 85.78 ± 0.0117 | -31.33 ± 0.25       |
| 2  | 20     | 60   | 20      | 284.17 ± 3.84 | 0.52 ± 0.02 | 90.47 ± 0.0049 | -33.17 ± 0.35       |
| 3  | 20     | 50   | 30      | 334.97 ± 2.70 | 0.38 ± 0.18 | 77.54 ± 0.0098 | -27.63 ± 1.81       |
| 4  | 20     | 40   | 40      | 271.1 ± 5.57  | 0.42 ± 0.02 | 76.67 ± 0.0041 | -35.47 ± 0.40       |
| 5  | 20     | 30   | 50      | 668.9 ± 23.89 | 0.45 ± 0.02 | 70.35 ± 0.0597 | -24.43 ± 0.40       |

Tabel 8. Minyak: Campuran Surfaktan (3:7)

| No | Cap 90 | T 80 | PEG 400 | Size (nm)      | IP (Đ)      | % Transmittan  | potensial zeta (mV) |
|----|--------|------|---------|----------------|-------------|----------------|---------------------|
| 1  | 30     | 60   | 10      | 262.9 ± 5.10   | 0.52 ± 0.02 | 59.56 ± 0.0095 | -26.17 ± 0.15       |
| 2  | 30     | 50   | 20      | 332.23 ± 1.70  | 0.44 ± 0.06 | 51.20 ± 0.0112 | -29.23 ± 0.51       |
| 3  | 30     | 40   | 30      | 430.57 ± 16.05 | 0.52 ± 0.03 | 43.30 ± 0.0128 | -28.7 ± 0.35        |
| 4  | 30     | 30   | 40      | 189.8 ± 19.19  | 1.50 ± 0.22 | 10.90 ± 0.0018 | -29.83 ± 0.71       |
| 5  | 30     | 20   | 50      | n.d            | n.d         | 5.05 ± 0.0140  | -29.27 ± 0.25       |

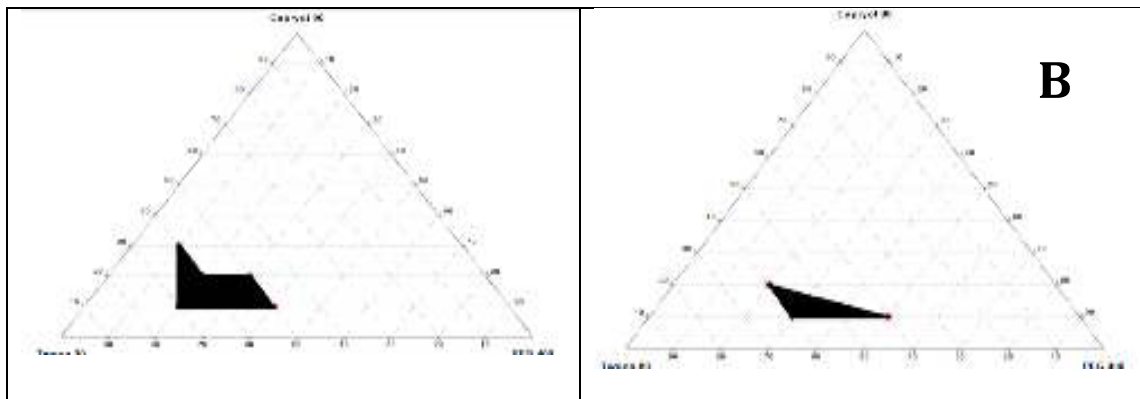
Tabel 9. Minyak: Campuran Surfaktan (4:6)

| No | Cap 90 | T 80 | PEG 400 | Size (nm)      | IP (Đ)        | % Transmittan  | potensial zeta (mV) |
|----|--------|------|---------|----------------|---------------|----------------|---------------------|
| 1  | 40     | 50   | 10      | 168.1 ± 9.01   | 1.37 ± 0.25   | 10.09 ± 0.0262 | -35.17 ± 0.06       |
| 2  | 40     | 40   | 20      | 212.1 ± 5.54   | 0.59 ± 0.39   | 1.68 ± 0.0009  | -34.2 ± 1.76        |
| 3  | 40     | 30   | 30      | 222.43 ± 26.83 | 20.57 ± 13.60 | 2.58 ± 0.0006  | -28.57 ± 0.31       |
| 4  | 40     | 20   | 40      | 149.53 ± 16.91 | 0.84 ± 0.16   | 0.96 ± 0.0009  | -26.33 ± 0.25       |
| 5  | 40     | 10   | 50      | 170.13 ± 53.49 | 3.49 ± 2.37   | 0.59 ± 0       | -28.43 ± 0.38       |

Tabel 10. Formulasi Sediaan terpilih berdasarkan proses skrining pemilihan surfaktan

| M:<br>Smix | Cap<br>90 | T<br>20 | PEG<br>400 | Size<br>(nm)  | P.I.<br>(Đ) | %<br>Transmitan | potensial zeta<br>(mV) |
|------------|-----------|---------|------------|---------------|-------------|-----------------|------------------------|
| 1:9        | 10        | 70      | 20         | 11.33 ± 2.06  | 0.42 ± 0.24 | 97.50 ± 0.0023  | -39.57 ± 0.68          |
|            | 10        | 50      | 40         | 10.57 ± 0.29  | 0.50 ± 0.11 | 96.41 ± 0.017   | -32.77 ± 4.16          |
| 2:8        | 20        | 60      | 20         | 62.33 ± 1.27  | 0.47 ± 0.01 | 96.11 ± 0.0016  | -33.17 ± 0.35          |
|            | 20        | 50      | 30         | 62.87 ± 54.46 | 0.29 ± 0.25 | 96.07 ± 0.0009  | -27.63 ± 1.81          |
| 3:7        | 30        | 60      | 10         | 154 ± 5.47    | 0.55 ± 0.06 | 78.83 ± 0.0293  | -35.87 ± 0.72          |

Pada **Tabel 2-9** menunjukkan hasil untuk formulasi sediaan SNEDDS ekstrak daun karamunting menggunakan surfaktan yang berbeda dalam minyak dan kosurfaktan. Pemilihan formulasi sediaan SNEDDS ekstrak daun karamunting dievaluasi berdasarkan ukuran partikel, indeks polidispersitas (IP), potensial zeta, dan % transmitan. Kriteria dari sediaan SNEDDS memiliki ukuran partikel  $\leq 200$  nm, *indeks* polidispersitas (IP)  $\leq 0.7$ , potensial zeta  $\geq 30$  mV dan % transmitan 70-100%.



**Gambar 1.** Diagram Ternar pembentukan zona nanoemulsi, tween 20 memiliki area pembentukan daerah nanoemulsi yang lebih luas dibandingkan tween 80.

Pada **Gambar 1.** Diagram Ternar pembentukan area yang lebih luas yaitu pada gambar A dengan menggunakan tween 20 sebagai surfaktan dari pada tween 80, sehingga dihasilkan formulasi sediaan SNEDDS dengan menggunakan capryol 90 sebagai fase minyak, tween 20 sebagai fase surfaktan, dan PEG 400 sebagai fase kosurfaktan karena memenuhi kriteria keberterimaan sediaan SNEDDS yang baik yaitu memiliki ukuran partikel  $\leq 200$  nm, *indeks polidispersitas (IP)*  $\leq 0.7$ , potensial zeta  $\geq 30$  mV dan % transmitan 70-100%.

### 3.3. Formulasi SNEDDS ekstrak daun karamunting

Pembuatan sediaan SNEDDS ekstrak daun karamunting dilakukan evaluasi ukuran partikel, indeks polidispersitas, zeta potensial dan % transmitta. Ukuran partikel akan memperbaiki kelarutan, semakin kecil ukuran akan meningkatkan kelarutan zat aktif jika dibuat SNEDDS. Indeks polidispersitas adalah ukuran distribusi massa molekul dalam sampel tertentu.

Nilai ini menunjukkan hasil perhitungan berat rata-rata molekul dibagi dengan jumlah rata-rata berat molekul. Semakin dekat ke nol berarti semakin baik distribusinya. Sedangkan zeta potensial adalah perbedaan potensial antara lapisan permukaan partikel. Muatan listrik yang tinggi pada partikel permukaan akan mencegah agregasi nanopartikel karena gaya tolak yang kuat antara partikel dapat mencegah adanya agregasi antar partikel. Nilai zeta potensial baik menunjukkan bahwa formulasi sediaan memiliki nilai zeta potensial yang tinggi yang dapat mencegah agregasi mengakibatkan stabilitas sediaan menjadi lebih stabil. Hasil formulasi sediaan SNEDSS ekstrak daun karamunting diambil pada diagram ternary A (gambar.1) yang memiliki daerah pembentukan nanoemulsi yang lebih luas dengan menggunakan surfaktan tween 20, berat molekul dan rendahnya viskositas dapat membantu terbentuknya daerah nanoemulsi yang lebih luas dengan ukuran partikel yang lebih kecil. Formulasi campuran yang digunakan antara lain, ekstrak daun karamunting, minyak, surfaktan dan kosurfaktan dengan perbandingan 1:9, 2:8, dan 3:7 memiliki ukuran partikel  $\leq 200$  nm, indeks polidispersitas (IP)  $\leq 0.7$ , potensial zeta  $\geq 30$  mV dan % transmitan 70-100%. Formulasi terpilih SNEDDS dapat dilihat pada **Tabel 10**.

#### **4. Kesimpulan**

Berdasarkan Hasil penelitian didapatkan formulasi sediaan Self Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDSS) ekstrak daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) penggunaan tween 20 sebagai surfaktan menghasilkan daerah pembentukan nanoemulsi lebih luas dengan perbandingan campuran minyak, surfaktan dan kosurfaktan dengan perbandingan 1:9, 2:8, dan 3:7, memenuhi syarat ukuran partikel  $\leq 200$  nm, indeks polidispersitas (IP)  $\leq 0.7$ , potensial zeta  $\geq 30$  mV dan % transmitan 70-100%. Pengembangan metode SNEDDS sederhana, cepat, dan akurat. Hasil pengujian ukuran partikel menggunakan beberapa formula adalah semakin besar konsentrasi surfaktan yang digunakan dapat menghasilkan ukuran partikel yang lebih kecil. Tween 20 sebagai surfaktan dapat digunakan dalam pembuatan makanan, obat-obatan, kosmetik dan produk farmasi lainnya.

#### **Ucapan Terima Kasih**

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Islam Indonesia, dan Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia.

#### **Daftar Pustaka**

Anindhita, M.A., Oktaviani, N., (2016). Formulasi Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) ekstrak daun Pepaya (*Carica papaya* L.) dengan Virgin Coconut Oil (VCO) sebagai minyak pembawa. *Pena Med. J. Kesehat.* (6).

- Arnida, A., Hernawati, F., & Yuwono, M. (2016). Kajian farmakognistik simplisia daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) asal Pelaihari Kalimantan Selatan. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 4(1): 38-50.
- Iskandar, D., Sinata, N., (2017). Uji Aktivitas fraksi dari ekstrak etanol Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.) terhadap kadar glukosa darah mencit diabetes. *J. Farm. Galen.* (4): 1-11.
- Martien R, et al. Perkembangan Teknologi nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat. [cited 2017 Nov 6]; Available from: [http://mf.farmasi.ugm.ac.id/files/235.Ronny\\_Martien.pdf](http://mf.farmasi.ugm.ac.id/files/235.Ronny_Martien.pdf)
- Poovitha, S., Sai, M. S., & Parani, M. (2017). Protein extract from the fruit pulp of *Momordica dioica* shows anti-diabetic, anti-lipidemic and antioxidant activity in diabetic rats. *Journal of Functional Foods.* (33): 181-187.
- Rafe, M.R., (2017). A review of five traditionally used anti-diabetic plants of Bangladesh and their pharmacological activities. *Asian Pac. J. Trop. Med.*
- Rupina, W., Trianto, H. F., & Fitrianingrum, I. (2016). Efek salep ekstrak etanol 70% Daun Karamunting terhadap re-epitelisasi luka insisi kulit tikus Wistar. *eJournal Kedokteran Indonesia*, 4(1): 26-30.
- Sinata, N., Arifin, H., (2016). Antidiabetes dari fraksi air daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.) terhadap kadar glukosa darah mencit diabetes. *J. Sains Farm. Klin.* (3): 72-78.

## Antihyperglycemic Effect of 70% Ethanolic Extract of Kecombrang (*Etligeria elatior*) Leaves on Alloxan-Induced Sprague Dawley Rats

### Uji Efek Antihiperqlikemia Ekstrak Etanol 70% Daun Kecombrang (*Etligeria elatior*) pada Tikus Sprague Dawley dengan Penginduksi Aloksan

Afra Fitrianita, Yardi\*, Ahmad Musir

Jurusan Farmasi FKIK UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Jalan Kertamukti No.5 Pisangan, Ciputat 15412, Jakarta.

\*Corresponding author. Email: [yardi@uinjkt.ac.id](mailto:yardi@uinjkt.ac.id)

---

#### Abstract

**Background:** *Etligeria elatior* has been known to have activity as an  $\alpha$ -glucosidase inhibitor in vitro.

**Objective:** This study aimed to investigate the anti-hyperglycemic effect of 70% ethanolic extract of *Etligeria elatior* leaves in alloxan-induced diabetic rats.

**Methods:** Rats were induced by administration of alloxan monohydrate (150 mg/kgBW i.p), and the ethanolic extract of *E. elatior* at a dose of 1, 10, and 100 mg/kgBW was administered once daily to diabetes-induced rats for a period of 21 days.

**Results:** The statistical data from the alloxan induction assay indicated that the treatment with various doses was significantly different from the negative-control ( $p < 0.05$ ) but insignificantly different from the positive-control ( $p < 0.05$ ). The maximum reduction of blood glucose level in alloxan-induced diabetic rats was indicated by the dose of 100 mg/kgBW with 76.62%.

**Conclusion:** These results suggest that *Etligeria elatior* extract has a blood glucose lowering effect on alloxan-induced diabetic rats.

**Keywords:** *Etligeria elatior*, antihyperglycemic, alloxan, ethanolic extract

#### Intisari

**Latar belakang:** Kecombrang telah diketahui memiliki aktivitas sebagai inhibitor  $\alpha$ -glukosidase secara in vitro.

**Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas penurunan kadar glukosa darah dengan metode induksi aloksan ekstrak etanol 70% daun kecombrang.

**Metode:** Pada metode induksi aloksan, hewan uji diinduksi aloksan dengan dosis 150 mg/kg BB secara intraperitoneal. Ekstrak etanol 70% daun kecombrang diberikan dengan variasi dosis yaitu 1 mg/kg BB, 10 mg/kg BB, dan 100 mg/kg BB selama 21 hari.

**Hasil:** Hasil statistik pada uji dengan metode induksi aloksan menunjukkan kelompok dosis 1, 10 dan 100 mg/kg BB berbeda secara bermakna dengan kontrol negatif ( $p \leq 0,05$ ) dan tidak berbeda secara bermakna dengan kontrol positif ( $p \leq 0,05$ ). Ekstrak etanol 70% daun kecombrang dosis 100 mg/kg BB menunjukkan penurunan kadar glukosa darah yang terkuat dibandingkan dosis 1 dan 10 mg/kg BB dengan presentase penurunan glukosa darah mencapai 76,62% pada hari ke-21.

**Kesimpulan:** Hal ini menunjukkan ekstrak etanol 70% daun kecombrang memiliki kemampuan menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi aloksan.

**Kata kunci :** Kecombrang, antihiperqlikemik, aloksan, ekstrak etanol

---

## 1. Pendahuluan

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit gangguan metabolisme yang terjadi akibat insufisiensi produksi hormon insulin ataupun karena insensitifitas insulin sehingga menghasilkan manifestasi klinis yang khas berupa peningkatan kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia)(Dipiro *et al.*, 2008). Pada tahun 2017 terdapat 425 juta jiwa penderita diabetes

melitus di dunia dan diperkirakan jumlah ini akan terus meningkat hingga mencapai 629 juta penderita di tahun 2045(International Diabetes Federation. 2017). Disamping angka penderitanya yang kian bertambah, obat-obat antidiabetes sintetis yang tersedia saat ini terbilang mahal, ditambah lagi dengan pengobatan diabetes melitus yang membutuhkan terapi jangka panjang. Hal ini tentunya akan memberatkan pasien dari segi ekonomi. Oleh karena itu, banyak masyarakat yang saat ini mencurahkan perhatiannya pada terapi herbal sebagai terapi pendamping untuk penanganan diabetes mellitus. Keadaan ini didukung oleh kondisi alam di Indonesia. Indonesia sendiri tercatat sebagai negara mega biodiversitas pertama didunia apabila keanekaragaman hayati darat dan lautnya diakumulasikan[3]. Tentunya Indonesia memiliki banyak sekali tumbuhan potensial. Penelitian ilmiah diperlukan untuk menjamin khasiat dan keamanan dari tumbuhan obat potensial tersebut

Salah satu tumbuhan potensial yang berasal dari Indonesia adalah tumbuhan kecombrang. Tumbuhan kecombrang efektif sebagai inhibitor enzim  $\alpha$ -glukosidase secara in vitro(Kementerian Riset dan Teknologi. 2010). Selain itu, kecombrang diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang paling kuat diantara famili Zingiberaceae dan kemampuan antioksidannya paling tinggi terletak pada bagian daunnya(P. Puttarak, *et al.*, 2014). Kandungan pada daunnya didominasi oleh senyawa asam klorogenat dan flavonoid quercetin(Chan, *et al.*, 2007). Asam klorogenat diketahui terlibat dalam metabolisme glukosa dan flavonoid quercetin memiliki efek menurunkan kadar glukosa dalam darah dikarenakan kemampuan antioksidannya(Chan, 2009)(Shengxi, *et al.*, 2013). Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antihiperlipidemia ekstrak etanol 70% daun kecombrang terhadap tikus yang diinduksi aloksan.

## **2. Metodologi penelitian**

### *2.1. Alat dan Bahan Penelitian*

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut : Alat-alat gelas (Pyrex), blender (Maspion), kapas, kertas saring (membran selulosa ukuran pori 0,45  $\mu$ m), aluminium foil, timbangan analitik (KERN), alkoholmeter, *vacuum rotary evaporator* (EYELA), lemari pendingin (Liebherr Medline), *freezer* (General Gensui), oven (Mommert), tanur (Thermolyne), krus porselen, botol timbang, pipet, kertas perkamen, cawan penguap, *hot plate* (Cimarec), lumpang-alu, vortex (Hettich Eba 20), timbangan hewan (AND GH-202), kandang tikus beserta tempat makan dan minum, sonde oral, gunting bedah, jarum suntik (Terumo), glukometer (GlucoDr), *strip glukometer* (GlucoDr).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut : daun kecombrang (*Etlingera elatior*), etanol 96% (Brataco), aquades, Na CMC, aloksan (Sigma Aldrich), Salin (NaCl 0,9%), glukosa, eter, glibenklamid (Indofarma), akar bosa (Bayer), FeCl<sub>3</sub> 10%, pereaksi Meyer,

Dragendroff, Lieberman Burchard, serbuk Mg, HCl 2N, dan amonia encer. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur Sprague dawley yang berumur 2-3 bulan dengan berat 150-200 g.

### 2.2. Ekstraksi *Simplisia Daun Kecombrang*

Daun kecombrang segar dikumpulkan dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatika Bogor (Balittro), dideterminasi di Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Kebun Raya Bogor, kemudian disortasi basah, dicuci, dikering-anginkan, disortai kembali, dihaluskan sehingga diperoleh serbuk simplisia daun kecombrang.

Serbuk simplisia tersebut kemudian dimaserasi dengan etanol 70%. Maserasi dilakukan berulang kali hingga tidak ada lagi senyawa yang terekstrak yang ditandai dengan warna maserat yang tampak jernih. Maserat lalu difiltrasi menggunakan kapas dan kertas saring kemudian filtratnya dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental daun kecombrang yang telah diperoleh kemudian diuji kualitatif terhadap adanya senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, steroid/triterpenoid, antrakuinon, dan fenol. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995)(Darmawi, *et al.*, 2015)(Tiwari, P., *et al.*, 2011)(Ayoola, GA., *et al.*, 2008)

### 2.3. *Pengelompokan Hewan Uji*

Hewan yang digunakan pada uji ini berjumlah 30 ekor, yang dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok berjumlah 5 ekor. Kelompok 1(Kontrol Normal : Na CMC 0,5% p.o), Kelompok 2(Kontrol Negatif: Na CMC 0,5% p.o), Kelompok (Kontrol positif : Glibenklamid 5 mg/kg BB p.o), Kelompok 4 (Dosis rendah : Ekstrak 1 mg/kg BB p.o), Kelompok 5 (Dosis sedang : Ekstrak 10 mg/kg BB p.o), Kelompok 6 (Dosis tinggi: Ekstrak 100 mg/kg BB p.o).

### 2.4. *Pengujian Antidiabetes secara In Vivo*

Induksi diabetes menggunakan aloksan yang dilarutkan dalam salin dan diberikan pada kelompok 2-6 dengan dosis 150 mg/kg BB secara i.p Larutan aloksan harus diberikan dalam kondisi segar dan dipreparasi sebelum induksi. Hewan uji yang akan diinduksi aloksan harus dipuasakan selama 12 jam terlebih dahulu karena hewan yang dipuasakan lebih rentan terhadap aloksan. Hewan uji diberikan larutan glukosa 5% pada botol minumannya selama 24 jam pasca induksi untuk mencegah hipoglikemia setelah induksi. Setelah 72 jam pasca induksi, kadar glukosa darah puasa hewan diperiksa dan hewan dengan kadar glukosa darah puasa > 140 mg/dL dinyatakan memenuhi kriteria hiperglikemia dan dapat digunakan pada penelitian. Hewan uji diberi perlakuan dengan frekuensi pemberian satu kali sehari secara peroral selama 21 hari sesuai dengan kelompok perlakuannya masing-masing. Pemeriksaan kadar glukosa darah puasa dilakukan pada hari perlakuan ke 7, 14 dan 21. Seluruh hewan uji kemudian diterminasi dengan inhalasi eter setelah 21 hari perlakuan berakhir (Radenkovic, *et al.*, 2015).

Kadar glukosa darah diperiksa dengan mengambil darah pada ekor tikus dengan menggantung ujung ekor tikus. Tetesan darah kemudian ditempatkan pada strip yang sudah dipasangkan pada alat glukometer. Data kadar glukosa darah yang diperoleh dinyatakan dalam satuan mg/dL. Data selisih penurunan kadar glukosa darah dihitung dan kadar glukosa darah diolah secara statistik yang terlebih dahulu diuji normalitas dan homogenitasnya. Jika data terdistribusi normal dan homogen dianalisis dengan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil untuk melihat adanya perbedaan antar kelompok yang berbeda signifikan. Namun, jika data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen dianalisis dengan uji Kruskal wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney. Kelayakan etik didapatkan dari komisi etik fakultas kedokteran dan ilmu kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.

### 3. Hasil dan pembahasan

Tabel 1. menunjukkan hasil ekstraksi daun kecombrang segar. Dari 6 kg daun segar didapatkan ekstrak kental dengan rendemen sebesar 12,89%. Pengujian fitokimia menunjukkan bahwa daun kecombrang positif mengandung antrakuinon, saponin, fenol, flavonoid, steroid/triterpenoid (tabel 2).

**Tabel 1.** Hasil Ekstraksi daun kecombrang dengan etanol 70%

| No. | Jenis                 | Hasil  |
|-----|-----------------------|--------|
| 1   | Daun kecombrang segar | 6 kg   |
| 2   | Serbuk simplisia      | 900 g  |
| 3   | Ekstrak kental        | 116 g  |
| 4   | Rendemen              | 12,89% |

**Tabel 2.** Hasil Uji Penapisan Fitokimia

| Identifikasi         | Metode              | Hasil  | Keterangan |
|----------------------|---------------------|--|------------|
| Alkaloid             | Dragendorf          | Tidak terdapat endapan berwarna jingga       | -          |
|                      | Mayer               | Terbentuk kabut awan putih                   | -          |
| Antrakuinon          |                     | Terbentuk warna hijau pada lapisan kloroform | +          |
| Saponin              | Busa                | Terbentuk busa yang stabil                   | +          |
| Fenol                | FeCl <sub>3</sub>   | Terbentuk warna hijau kehitaman              | +          |
| Flavonoid            | Shinoda (Mg)        | Terbentuk warna kuning                       | +          |
| Steroid/Triterpenoid | Liebermann-Burchard | Terbentuk warna hijau                        | +          |

Keterangan: (+) Memberikan hasil positif, (-) Memberikan hasil negatif

Hasil yang dilaporkan Handayani (2014) juga menemukan bahwa pada daun kecombrang juga terdapat senyawa alkaloid (Handayani, 2014)). Namun, pada penapisan fitokimia ini alkaloid tidak terdeteksi. Hal ini kemungkinan karena adanya variasi tempat tumbuh yang menyebabkan



jenis dan jumlah kandungan fitokimia berbeda pada tumbuhan yang tumbuh disuatu daerah tertentu dengan daerah lainnya.

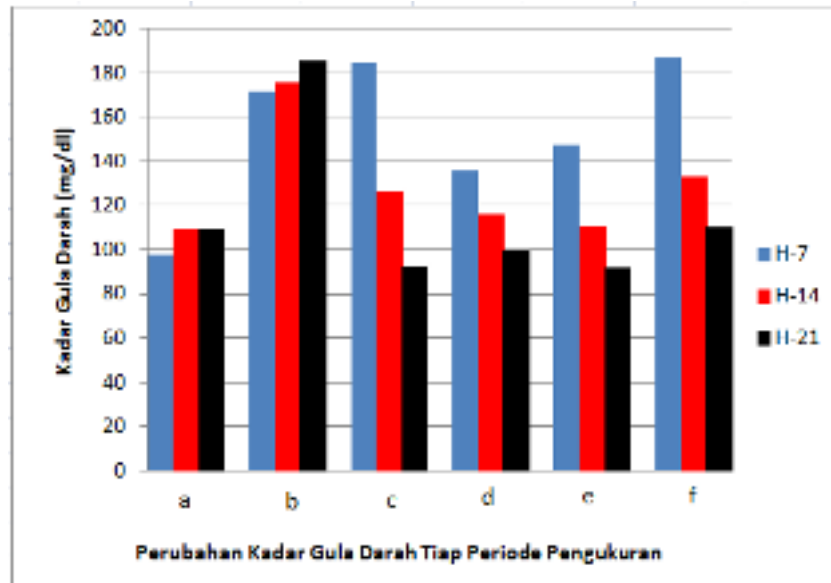
Induksi aloksan pada dosis 150 mg/kgBB tikus berhasil membuat kondisi hiperglikemia pada semua kelompok tikus uji yakni kelompok kontrol positif, kontrol negatif, dan kelompok dosis uji yang ditandai dengan kadar glukosa darah puasa > 140 mg/dL (tabel 3). Hal ini semakin mengkonfirmasi bahwa aloksan pada dosis 150 mg/kgBB dapat menyebabkan kondisi hiperglikemia pada tikus seperti yang telah dilaporkan oleh penelitian sebelumnya (Yakubu, *et al.*, 2010). Kadar glukosa darah puasa hewan uji pasca induksi aloksan menunjukkan peningkatan yang nyata dibandingkan kadar glukosa darah pra-induksi. Kadar glukosa darah puasa hewan uji pasca induksi aloksan berkisar antara 140 hingga 450 mg/dL. Kadar glukosa darah yang bervariasi ini kemungkinan disebabkan karena adanya perbedaan respon fisiologis pada masing-masing tikus terhadap aloksan meskipun aloksan diberikan dalam dosis yang sama.

**Tabel 3.** Rerata  $\pm$  SD kadar glukosa darah puasa tikus sebelum dan setelah induksi aloksan

| Kelompok                    | Pra-induksi (mg/dL) | Pasca Induksi (mg/dL) |
|-----------------------------|---------------------|-----------------------|
| Kontrol Normal              | 103,8 $\pm$ 16,07   | 107 $\pm$ 16,35       |
| Kontrol Negatif             | 114,4 $\pm$ 6,06    | 165,8 $\pm$ 26,73     |
| Kontrol Positif             | 117 $\pm$ 9,11      | 442,8 $\pm$ 96,03     |
| Dosis 1 mg/kg bb (rendah)   | 115,8 $\pm$ 7,42    | 155 $\pm$ 18,06       |
| Dosis 10 mg/kg bb (sedang)  | 104,2 $\pm$ 24,93   | 196,8 $\pm$ 26,37     |
| Dosis 100 mg/kg bb (tinggi) | 106,2 $\pm$ 11,98   | 472,2 $\pm$ 91,22     |

Gambar 1 memperlihatkan bahwa terdapat penurunan kadar glukosa rata-rata pada 4 kelompok yakni kelompok kontrol positif dan semua kelompok dosis uji dari waktu ke waktu. Kecendrungan berbeda terjadi pada kelompok kontrol negatif dan kelompok normal dimana tidak terjadi penurunan kadar glukosa darah selama periode pengujian.

Berdasarkan analisa secara statistik dengan uji Man-Whitney menunjukkan adanya perbedaan kadar glukosa darah yang bermakna ( $p < 0,05$ ) antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan dosis rendah, sedang dan tinggi setelah masa perlakuan selama 21 hari. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol 70% daun kecombrang pada dosis rendah, sedang dan tinggi mampu menurunkan kadar glukosa darah pada hewan uji yang diinduksi aloksan secara bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun kecombrang pada dosis uji yang digunakan, memiliki potensi untuk menurunkan kadar gula darah.



Keterangan: kelompok normal (a), negatif (b), positif (c), dosis rendah (d), dosis sedang (e), dosis tinggi (f)

**Gambar 1.** Grafik penurunan kadar glukosa darah tikus

Selain itu, pada uji Man-Whitney juga menunjukkan kadar glukosa darah antara kelompok kontrol positif dengan kelompok dosis rendah, sedang dan tinggi pada hari ke-7, 14 dan 21 tidak berbeda secara bermakna ( $p > 0,05$ ). Hal tersebut menunjukkan bahwa antara kelompok kontrol positif dengan kelompok dosis rendah, sedang dan tinggi mempunyai efek yang sebanding dalam menurunkan kadar glukosa darah. Meskipun antara kelompok kontrol positif dengan kelompok dosis uji memiliki efek penurunan kadar glukosa darah yang sebanding namun berdasarkan presentase penurunan kadar glukosa darah setelah perlakuan selama 21 hari diketahui bahwa kelompok kontrol positif menunjukkan penurunan kadar glukosa darah yang paling besar diantara kelompok dosis uji.

Diantara kelompok dosis uji, kelompok dosis tinggi (100 mg/kg BB) menunjukkan penurunan kadar glukosa darah paling besar dengan presentase sebesar 76,62% pada hari ke-21, kemudian diikuti kelompok dosis sedang (10 mg/kg BB) dan terakhir kelompok dosis rendah (1 mg/kg BB) dengan presentase masing-masing sebesar 53,45% dan 35,74 %. Hal tersebut menunjukkan efek penurunan kadar glukosa darah pada ekstrak etanol 70% daun kecombrang bergantung pada dosis (*dose-dependent*), dimana semakin besar dosis ekstrak maka efeknya dalam menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi aloksan juga semakin besar.

Mekanisme ekstrak etanol 70% daun kecombrang dalam menurunkan kadar glukosa darah tidak diketahui secara pasti. Namun, diduga kemampuannya ini berasal dari keterlibatan senyawa utama yang dikandungnya. Kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun kecombrang didominasi oleh asam klorogenat dan flavonoid quersetin (Chan, *et al.*, 2007). Asam klorogenat terlibat dalam metabolisme glukosa dengan cara memperbaiki mekanisme seluler

dalam proses uptake glukosa ke dalam sel, menghambat kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase, meningkatkan konsentrasi GIP (peptida insulinotropik yang responsif terhadap glukosa), mengaktivasi AMPK sehingga dapat meningkatkan ekspresi dan translokasi GLUT-4 yang dapat meningkatkan uptake glukosa di jaringan perifer, dan menghambat ekspresi dan aktivitas glukosa-6-fosfatase hepatic sehingga menurunkan glukoneogenesis di hati (Chan, 2009).

Quersetin juga memiliki aktivitas dalam menurunkan kadar glukosa darah dikarenakan daya antioksidannya yang dapat mengikat dan menetralkan senyawa radikal bebas (Shengxi, *et al.*, 2013). Pada kondisi hiperglikemia akan terjadi pembentukan spesi oksigen reaktif (senyawa radikal bebas) dengan jumlah yang melebihi kapasitas antioksidan endogen sehingga menyebabkan stres oksidatif yang dapat mengganggu apoptosis dan disfungsi sel beta pankreas (Yakubu, *et al.*, 2010). Tidak hanya itu, stres oksidatif juga dapat menyebabkan kerusakan multiorgan yang dapat memicu terjadinya komplikasi pada diabetes mellitus (Hosseini, *et al.*, 2015). Terapi quersetin diketahui mampu mempertahankan integritas sel beta pankreas melalui stimulasi sel-sel progenitor di pankreas untuk berdiferensiasi membentuk sel pulau langerhans baru (Wei wei, *et al.*, 2009).

Senyawa-senyawa kimia lainnya pada daun kecombrang yang terlarut dalam pelarut etanol 70% tidak menutup kemungkinan juga memiliki peran dalam menurunkan kadar glukosa darah. Meski dengan mekanisme aksi yang berbeda, senyawa-senyawa tersebut kemungkinan secara sinergis terlibat dalam menurunkan kadar glukosa darah.

**Tabel 5.** Presentase penurunan kadar glukosa darah pada hari ke-21

| <b>Kelompok Perlakuan</b> | <b>Presentase penurunan kadar glukosa darah pada hari ke-21</b> |
|---------------------------|---|
| Kontrol Positif           | 79,04%  |
| Dosis rendah 1 mg/kg BB   | 35,74 %   |
| Dosis sedang 10 mg/kg BB  | 53,45%  |
| Dosis tinggi 100 mg/kg BB | 76,62%  |

#### **4. Kesimpulan**

Ekstrak etanol 70% daun kecombrang dosis 1, 10 dan 100 mg/kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah hewan uji yang diinduksi aloksan, dengan presentase penurunan glukosa darah paling besar dihasilkan oleh dosis 100 mg/kg BB sebesar 76,62% pada hari ke-21. Ekstrak etanol 70% daun kecombrang memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi obat anti diabetes.

## Daftar pustaka

- Abdelmoaty, et al. (2010). *Confirmatory studies on the antioxidant and antidiabetic effect of quercetin in rats. Indian Journal of Clinical Biochemistry.* **25**(2): 188-192.
- Ayoola, GA., et al., (2008). Phytochemical Screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* **7**(3): 1019-1024.
- Chan, et al., (2007). Antioxidant and antibacterial activity of leaves of Etlingera species (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia. *Food Chemistry.* (104): 1586-1593.
- Chan, E.W.C., (2009). *Bioactivities and chemical constituents of leaves of some Etlingera species (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia.* Tesis Monash University Sunway Campus, Malaysia.
- Darmawi, et al., (2015). Aktivitas antihiperглиkemia dari ekstrak etanol dan n-heksan daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia* A. Gray) pada tikus putih jantan. *Jurnal Kimia Mulawarman.* **12**(2).
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Materia Medika Indonesia Jilid VI.*
- Dipiro, et al., (2008). *Pharmacotherapy: a pathophysiologic approach 7th Edition.* New York: McGraw Hill.
- Handayani, (2014). Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol bunga dan daun Patikala (Etlingera elatior (Jack) R.M.Sm) menggunakan metode DPPH. *Pharm Sci Res.* **1**(2): 86-93.
- Hosseini, A., et al., (2015). Pancreatic beta cell protection or regeneration with phytotherapy. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.* **51**(1).
- International Diabetes Federation. (2017). *IDF Diabetes Atlas Eighth Edition.* International Diabetes Federation.
- Kementerian Riset dan Teknologi. (2010). *Direktori penelitian asing di Indonesia.* Jakarta: Kementerian Riset dan Teknologi.
- Mohamed, et al., (2013). Evaluation of -Glucosidase inhibitory effect of 50% ethanolic standardized extract of Orthosiphon stamineus Benth in normal and Streptozotocin-induced diabetic rats. *Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.*
- P. Puttarak, et al., (2014). Anti a-glucosidase, anti a-amylase, anti-oxidation, and anti-inflammation activities of Etlingera elatior rhizome. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.* **6**(12): 885-891.
- Radenkovic, et al., (2015). Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods.*
- Rifaai, RA., et al., (2012). Effect of quercetin on the endocrine pancreas of the experimentally induced diabetes in male albino rats: a histological and immunohistochemical study. *Diab Metab.* **3**(3):1-11.
- Shengxi, et al., (2013). *Roles of Chlorogenic Acid on regulating glucose and lipid metabolism: a review.* Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.
- Tiwari, P., et al., (2011). Phytochemical screening and extraction: A review. *International Pharmaceutical Sciencia.* **1**(1); 98-106.
- Wei wei, et al., (2009). Oxidative stress, diabetes, and diabetic complications. Hemoglobin. **33**(5): 370-377.
- Yakubu, et al., (2010). Anti-diabetic activity of aqueous extract of Cochlospermum planchonii root in allxan-induced diabetic rats. *Cameron Journal of Experimental Biology.* **6**: 91-100.

## Optimization of low energy nanoemulsion of Grape seed oil formulation using D-Optimal Mixture Design (DMD)

### Optimasi Formulasi Nanoemulsi Minyak Biji Anggur Energi Rendah dengan D-Optimal Mixture Design (DMD)

Fatimah Siyam Handayani<sup>1</sup>, Bambang H. Nugroho<sup>1,2</sup>, Siti Zahliyatul Munawiroh<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Indonesia, Jl. Kaliurang Km 14,5, Sleman DIY

<sup>2</sup>Nanopharmacy Research Center, Laboratorium Teknologi Farmasi, Jurusan Farmasi, FMIPA UII

\*Corresponding author. Email: sitizahliyatul@uui.ac.id

---

#### Abstract

Low energy nanoemulsion preparation is an effective method in nanosized droplets formation. The composition and ratio of each phase played key role in formulation of low energy nanoemulsion. This present work is aimed to optimize, formulate and evaluate low-energy nanoemulsions using D-Optimal Mixture Design (DMD). The independent variables were grape seed oil as oil phase ( $X_1$ ) and Tween 80:PEG ( $X_2$ ) as surfactant-cosurfactant (S-mix) and water as aqueous phase ( $X_3$ ). The response (dependent) variables were particles size ( $Y_1$ ), polydispersity index (PDI) ( $Y_2$ ) and zeta potential ( $Y_3$ ). The low energy nanoemulsions were prepared using Phase Inversion Composition (PIC). The obtained data experiments were analyzed by ANOVA analyses showed a significant model for particle size response following the quadratic model. Three optimum formulas were obtained and verification between prediction and observation of the responses bias (%) was less than 10%. The low-energy nanoemulsion of grape seed oil can be optimized using D-Optimal Mixture Design (DMD) and prepared using Phase Inversion Composition (PIC) technique.

**Keywords:** low energy nanoemulsion, Phase Inverse Composition (PIC), D-Optimal Mixture Design (DMD)

#### Intisari

Pembuatan nanoemulsi dengan energi rendah adalah metode yang efektif dalam pembentukan tetapan emulsi yang berukuran nano. Komposisi dan rasio setiap fase memainkan peran penting dalam pembentukan nanoemulsi dengan energi rendah. Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan, merumuskan dan mengevaluasi nanoemulsi energi rendah menggunakan D-Optimal Mixture Design (DMD). Variabel bebas yang digunakan adalah minyak biji anggur sebagai fasa minyak ( $X_1$ ) dan Tween 80: PEG ( $X_2$ ) sebagai surfaktan-cosurfaktan (campuran S) dan air sebagai fasa air ( $X_3$ ). Variabel respon (dependen) adalah ukuran partikel ( $Y_1$ ), indeks polidispersitas (PDI) ( $Y_2$ ) dan potensial zeta ( $Y_3$ ). Nanemulsi berenergi rendah disiapkan menggunakan teknik *Phase Inversion Composition* (PIC). Eksperimen data yang diperoleh dianalisis dengan analisis ANOVA menunjukkan model yang signifikan untuk respon ukuran partikel mengikuti model kuadrat. Tiga formula optimal diperoleh dan dilakukan verifikasi antara prediksi dan pengamatan pada 3 respon ( $Y_1$ ,  $Y_2$  dan  $Y_3$ ) menunjukkan nilai bias (%) kurang dari 10%. Nanemulsi energi rendah dari minyak biji anggur dapat dioptimalkan menggunakan *D-Optimal Design* (DMD) dan disiapkan menggunakan teknik *Phase Inversion Composition* (PIC).

---

## 1. Pendahuluan

Emulsi dengan ukuran droplet yang berada pada skala nanometrik (20-200 nm) disebut dalam literatur sebagai mini emulsi, nanoemulsi, ultrafine emulsi, submikron emulsi dan lain sebagainya (Solans, dkk, 2005) dapat menjadi alternatif penyelesaian masalah pada ketersediaan hayati dari obat-obatan yang berada pada *BCS (Biopharmaceutical Classification System) Class II* yakni obat-obat yang mempunyai permeabilitas tinggi namun kelarutan yang

rendah (Pouton, 2006). Nanoemulsi ini juga tidak stabil secara termodinamika dan secara umum terdiri dari bagian minyak, surfaktan dan air (Mason, dkk, 2006; Sonnneville-Aubrun, dkk., 2004; Tadros, dkk, 2004). Namun untuk dapat memperkecil ukuran droplet hingga berskala nano, biasanya ditambahkan ko-surfaktan (Kozlom & Helfrich, 1992).

Dilihat dari jumlah energi yang terlibat, pembuatan nanoemulsi bisa dilakukan dengan menggunakan energi rendah atau menggunakan energi tinggi. Pembuatan nanoemulsi dengan energi rendah bisa menggunakan metode pembalikan fase (Phase Inversion Composition (PIC)), temperature pembalikan fase (Phase Inversion Temperature (PIT)) dan juga emulsifikasi spontan (Anton, dkk, 2008; Anton & Vandamme, 2009; McClements & Rao, 2011). Pada metode energi rendah, pembentukan nanoemulsi ini sangat tergantung dari kondisi lingkungan (komposisi, temperature dan pengadukan) yang kemudian bisa membentuk kondisi metastabil (Rao & McClements, 2010; Sadurní, dkk, 2005). Ada beberapa kelebihan dari metode energi rendah ini di antaranya lebih efektif dalam membentuk droplet dengan ukuran yang sangat kecil, tidak membutuhkan peralatan yang spesifik dan hemat energi, serta sederhana untuk dilakukan. Dalam pembuatan nanoemulsi, faktor yang berpengaruh adalah komposisi campuran minyak, surfaktan-kosurfaktan dan air. Sehingga untuk menghasilkan sediaan yang optimal, studi optimasi dilakukan untuk mendapatkan rasio minyak, surfaktan-kosurfaktan yang tepat.

Pada penelitian ini akan dilakukan optimasi pembuatan nanoemulsi dari minyak biji anggur dengan surfaktan tween 80 dan kosurfaktan Polietilen Glikol 400 (PEG 400) dengan energi rendah (PI) dengan D-optimal Mixture Design (DMD) untuk optimasi formula.

## 2. Metodologi Penelitian

### 2.1. Alat dan Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak biji anggur (*pharmaceutical/ food grade* Henan Kunhua Biological Technology Co., Ltd., Cina), tween 80 (kualitas farmasetis Brataco, Indonesia), polietilen glikol 400 (PEG 400) (kualitas farmasetis Brataco, Indonesia, dan aquades (kualitas pro analisa Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Islam Indonesia).

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *blue tip*, *yellow tip*, botol kaca 2,5 mL, peralatan gelas (Pyrex dan Iwaki), mikropipet (Terumo Scientific dan Finnippipe), pH-meter (Molab WTW series), *safe-lock mikrofuge tube* 2 mL (Eppendorf), ultrasonik homogenizer model 300 VT (BioLogics, Inc., Manassas, VA), viskometer *Brookfield DV-2T* (Brookfield Enggining Laboratories, USA), vortex, dan *Particle Size Analyzer* (HORIBA SZ 100).

## 2.2. Cara penelitian

### 2.2.1. Metode Energi Rendah (PIC)

#### 2.2.1.1. Pembuatan Diagram Fase Terner

Diagram fase semu terner yang terdiri dari minyak (minyak biji anggur), smix (campuran surfaktan (Tween 80) dan ko-surfaktan (propilen glikol)) dan aquadestilata (air). Tween 80 dan propilen glikol dicampur (Smix) dan diobservasi dalam rasio volume yang berbeda (1:0, 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1, 4:1, dst). Minyak dan rasio Smix tertentu sebanyak 1 mL dicampur dengan bantuan vortex dalam rasio volume mulai dari 1:9 sampai 1:1 untuk mendapatkan 9 kombinasi yang berbeda seperti 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1. Aquadestilata digunakan sebagai fase air. Fase air ditambahkan perlahan-lahan. Penambahan air yang bervariasi dilakukan untuk menghasilkan konsentrasi air yang berkisar 5% - 95% dari volume total dengan interval penambahan air sebanyak 5% (Shafiq-un-Nabi, dkk, 2007). Pada setiap penambahan air dihomogenkan dengan bantuan vortex. Setiap penambahan fase air, keadaan fisik dari campuran dilihat apakah jernih atau keruh. Keberadaan zona nanoemulsi dapat diilustrasikan dengan membangun diagram semu fase terner menggunakan software *Triplot 4.1.2*. Ditentukan pula batas bawah dan batas atas dari masing-masing komponen untuk kemudian digunakan dalam membuat eksperimen desain dengan menggunakan *software Design Expert*.

#### 2.2.1.2. Studi Optimasi dengan D-Optimal Mixture Design (DMD)

Batas bawah dan batas atas yang diperoleh dari Desain percobaan yang digunakan pada studi optimasi ini adalah *D-optimal Mixture Design* (DMD) dengan bantuan *Design Expert software* (version 10.0). Pada desain ini, variabel independennya adalah jumlah minyak ( $X_1$ , %), jumlah Smix ( $X_2$ , %) dan jumlah air ( $X_3$ , %). Sedangkan variabel dependennya adalah ukuran partikel ( $Y_1$ ), indeks polidispersitas ( $Y_2$ ) dan zeta potensial ( $Y_3$ ).

Persamaan polinomial yang dihasilkan oleh desain eksperimental ini adalah sebagai berikut:

$$y = A_0 + A_1X_1 + A_2X_2 + A_3X_3 + A_4X_1X_2 + A_5X_2X_3 + A_6X_1X_3 + A_7X_1^2 + A_8X_2^2 + A_9X_3^2 + E \quad (3.1)$$

Di mana  $A_0 - A_9$  adalah koefisien - koefisien dari masing-masing variabel dan interaksi, dan E adalah error.

Model yang digunakan dipilih berdasarkan kebermaknaan dari nilai p-value model, ketidakbermaknaan dari nilai Lack of Fit dan mempertimbangkan nilai Adj-R<sup>2</sup> dan R<sup>2</sup>.

Optimasi numerik dilakukan untuk mengetahui formulasi yang optimal dengan kriteria jumlah minyak ( $X_1$ ) yang tinggi, Smix ( $X_2$ ) yang rendah, dan air ( $X_3$ ) pada renang tertentu,

ukuran partikel rata-rata (Y1) dan indeks polidispersitas (PDI) (Y2) yang rendah namun zeta potensial (Y3) yang tinggi. Hasil formula optimal diverifikasi selanjutnya formula optimal yang menghasilkan bias respon antara prediksi dan hasil observasi yang paling rendah (<10%) akan dibandingkan dengan formula optimal dari energi tinggi dengan analisis statistik ANOVA.

### *2.2.2. Evaluasi Sediaan Nanoemulsi*

#### *2.2.2.1 Organoleptis*

Diamati terjadinya perubahan bentuk, warna, dan bau. Pemeriksaan dilakukan setiap 1 minggu selama 4 minggu. Sediaan diamati secara visual apakah terjadi perubahan secara visual atau terjadi pemisahan fase atau tidak.

#### *2.2.2.2. Uji pH*

Uji pH dilakukan dengan menggunakan pH meter pada suhu ruang. Pertama-tama elektroda dikalibrasi dengan dapar standar pH 4, pH 7 dan pH 9, kemudian elektroda dibilas dengan aquades dan dikeringkan menggunakan tisu dan di ulangi pada semua standar pH 4, pH 7 dan pH 9. Elektroda dicelupkan kedalam sediaan hingga nilai pH muncul pada alat. Hasil pH dicatat dan dilakukan 3 kali replikasi.

### *2.2.3. Karakterisasi Nanoemulsi*

#### *2.2.3.1. Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas*

Sediaan nanoemulsi diambil sebanyak 1 mL diencerkan dengan aqua pro injeksi sebanyak 250 ml. Pada penggunaan *Particle Size Analyzer* (PSA), sampel nanoemulsi yang telah diencerkan dimasukkan kedalam kuvet, kemudian dilakukan pengukuran ukuran globul dan PDI.

#### *2.2.3.2. Zeta Potensial*

Zeta potensial di ukur dengan menggunakan PSA. Pengukuran zeta potensial dilakukan pada suhu 25°C. Sebanyak 1 mL nanoemulsi diencerkan dalam air sebanyak 250 mL, lalu dimasukkan ke dalam kuvet kemudian dilakukan pengukuran terhadap zeta potensial. Suatu formulasi nanoemulsi dikatakan stabil apabila memiliki nilai zeta potensial yang tinggi yaitu diatas  $\pm 30$  mV (Eid, dkk, 2013).

## **3. Analisis Hasil**

Data yang diperoleh dianalisis dengan secara statistik ANOVA untuk mendapatkan model respon yang digunakan untuk mendapatkan formula optimal. Formula optimal

### *3.1. Hasil dan Pembahasan*

#### *3.1.1. Pembuatan Diagram Fase*

Pembuatan diagram fase bertujuan untuk menentukan area nanoemulsi dari campuran antara minyak biji anggur, smix (Tween 80 dan PEG 400) dan fase air. Metode titrasi dengan



penambahan fase air pada rentang 5 – 95%. Hasil yang didapatkan dari pembuatan diagram fase dapat dilihat pada tabel 1

**Tabel 1.** Hasil pembuatan diagram fase

| Perbandingan<br>smix (Tween 80:PEG 400) | Perbandingan minyak:<br>smix |     |     |     |     |     |     |     |     |
|---|------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|   | 1:9                          | 1:8 | 1:7 | 1:6 | 1:5 | 1:4 | 1:3 | 1:2 | 1:1 |
| 1:1                                     | NE                           | NE  | E   | NE  | E   | E   | E   | E   | E   |
| 1:2                                     | E                            | E   | E   | E   | E   | E   | E   | E   | E   |
| 1:3                                     | E                            | E   | E   | E   | E   | E   | E   | E   | E   |
| 1:4                                     | E                            | E   | E   | E   | E   | E   | E   | E   | E   |
| 1:5                                     | E                            | E   | E   | E   | E   | E   | E   | E   | E   |
| 5:1                                     | NE                           | NE  | NE  | NE  | NE  | NE  | E   | E   | E   |
| 4:1                                     | NE                           | NE  | NE  | NE  | NE  | NE  | E   | E   | E   |
| 3:1                                     | NE                           | NE  | NE  | NE  | NE  | NE  | E   | E   | E   |
| 2:1                                     | NE                           | NE  | NE  | NE  | NE  | E   | E   | E   | E   |
| 4:3                                     | NE                           | NE  | NE  | E   | E   | E   | E   | E   | E   |
| 3:4                                     | E                            | E   | E   | E   | E   | E   | E   | E   | E   |
| 3:2                                     | NE                           | NE  | NE  | E   | E   | E   | E   | E   | E   |
| 2:3                                     | E                            | E   | E   | E   | E   | E   | E   | E   | E   |

Keterangan : E : Emulsi; NE: Nano Emulsi

Pada saat optimasi diagram fase, akhir titrasi ditandai dengan penambahan fase air sebanyak 95%. Luas wilayah nanoemulsi yang terbentuk akan ditandai dengan larutan yang tetap jernih dan transparan dari awal hingga akhir titrasi berdasarkan pengamatan visual (Abd-Allah, dkk., 2010). Menurut Shafiq-un formula yang baik adalah formula yang menghasilkan area terbesar dari diagram fase atau secara visual menghasilkan sediaan yang jernih mulai dari penambahan fase air awal hingga akhir (Shafiq-un-Nabi, dkk., 2007).

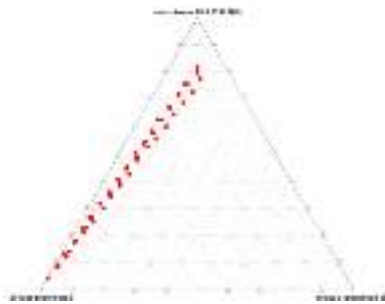
Dari tabel 1 didapatkan bahwa terbentuk nanoemulsi pada perbandingan minyak dan smix 1:4 dengan maksimal minyak yang dapat digunakan adalah 18,18%. Semakin besar perbandingan minyak dan smix yang digunakan (1:9) semakin banyak pula terbentuk area nanoemulsi pada beberapa perbandingan smix yang digunakan dan sebaliknya akan tetapi semakin besar perbandingan yang digunakan maka konsentrasi smix yang digunakan semakin besar pula. Pada perbandingan smix didapatkan bahwa jumlah Tween 80 yang lebih besar atau sama dibandingkan dengan PEG 400 akan membentuk area nanoemulsi, akan tetapi jumlah Tween 80 dan PEG 400 dengan perbandingan sama hanya terjadi pada perbandingan 1:9, 1:8 dan 1:6 dan untuk jumlah PEG 400 yang lebih besar pada semua perbandingan yang digunakan tidak terbentuk area nanoemulsi. Terjadi peningkatan viskositas (fase bikontinyu) ditengah tengah penitrasi yang menyerupai gel, hal ini dapat disebabkan karena terjadi perubahan dari sistem nanoemulsi a/m ke m/a, namun dengan penambahan fase air yang semakin banyak fase gel yang terbentuk lama-lama menghilang dan pada akhirnya terbentuk dispersi nanoemulsi dengan viskositas rendah, jernih dan transparan (Abd-Allah, dkk., 2010), Peningkatan viskositas ini terjadi pada perbandingan 1:9 (5:1), 1:8 (4:1); 1:5 (5:1, 2:1); 1:4 (5:1). Visualisasi diagram fase dibuat dengan *software Triplot* dan dapat dilihat pada gambar 4.1 (titik merah: nanoemulsi dan hijau : bikontinyu).

Pada gambar 1 didapatkan bahwa perbandingan smix 3:1 (C) didapatkan area nanoemulsi yang paling luas dan tidak terjadi fase bikontinyu pada prosesnya dan hasil yang didapatkan jernih secara visual dari awal hingga akhir titrasi. Luas wilayah nanoemulsi tergantung pada kemampuan surfaktan atau smix dalam melarutkan fase minyak. Hal ini disebabkan komposisi Tween 80 yang lebih banyak akan semakin menurunkan tegangan antarmuka dua cairan yang tidak saling bercampur dan dibantu dengan adanya penambahan PEG 400 akan lebih membantu menurunkan tegangan antarmuka melalui peningkatan fluiditas antarmuka sehingga meningkatkan entropi sistem. Peningkatan fluiditas dan entropi ini membantu dalam pembentukan nanoemulsi yang stabil secara termodinamika (Elnaggar, dkk., 2009). Surfaktan atau smix dapat meningkatkan dispersi entropi, menurunkan tegangan antar muka, meningkatkan luas area nanoemulsi sehingga menurunkan energi bebas sistem ke nilai yang paling rendah akan menghasilkan nanoemulsi yang stabil dan menghasilkan nanoemulsi yang stabil dan menghasilkan wilayah nanoemulsi yang luas (Baboota, dkk., 2007).

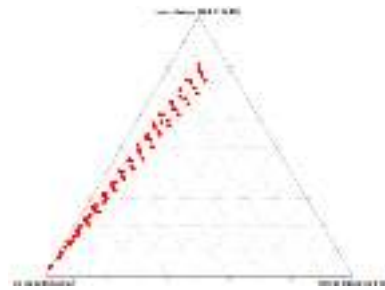
**Tabel 2.** Batas atas dan bawah untuk metode energi rendah

| Komponen   | Batasan Bawah | Batasan Atas |
|------------|---------------|--------------|
| Minyak (%) | 0,95          | 18,8         |
| Smix (%)   | 3,81          | 72,73        |
| Air (%)    | 9,09          | 95,24        |

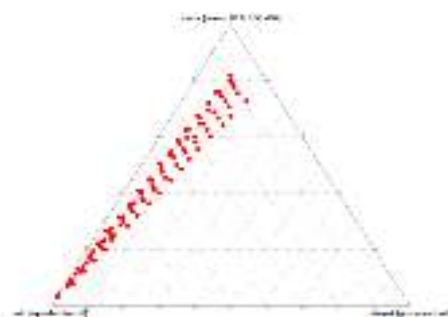
Dari gambar 1 dapat dilihat daerah yang menunjukkan terbentuknya area nanoemulsi dengan titik berwarna merah dan terbentuk area bikontinyu dengan warna hijau. Sehingga dari gambar visualisasi diagram fase dapat digunakan untuk menentukan batas atas dan batas bawah konsentrasi minyak, smix (Tween 80 dan PEG 400) dan air yang dapat dimasukkan kedalam *software Design Expert (D-Optimal Mixture Design)* untuk pembuatan nanoemulsi dengan menggunakan metode energi rendah.



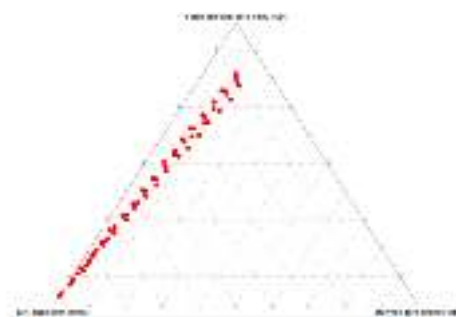
A smix (1:1)



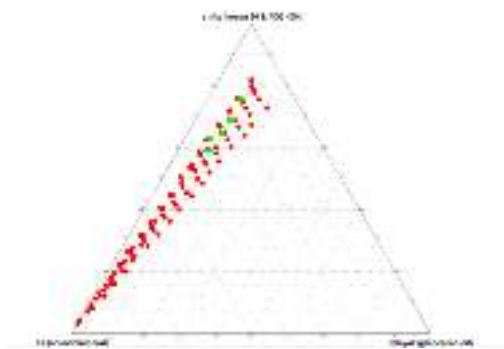
B smix (2:1)



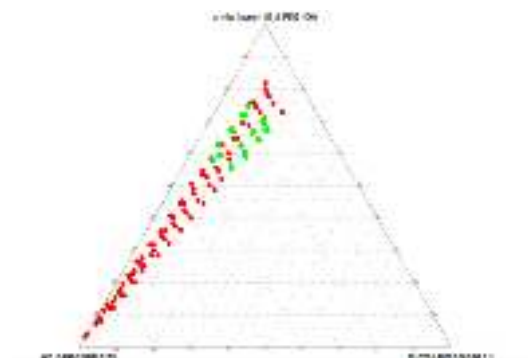
C smix (3:1)



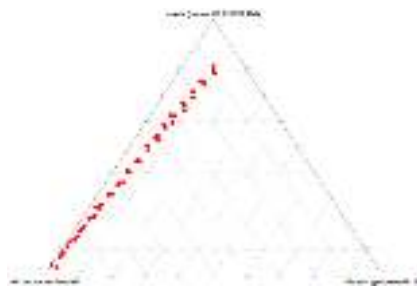
D smix (3:2)



E smix (4:1)



F smix (5:1)



E smix (4:3)

**Gambar 1.** Diagram Fase

### 3.1.2. Metode Energi Rendah

#### 3.1.2.1. Optimasi Dengan *D-Optimal Mixture Design (DMD)*

Optimasi pendahuluan dilakukan untuk mengetahui pengaruh variabel independen. Berdasarkan data yang telah dihasilkan dari pembuatan diagram terner didapatkan batas atas dan batas bawah konsentrasi minyak, smix dan air yang akan dimasukkan kedalam *Software* pada tabel 2. setelah batas batas konsentrasi dimasukkan kedalam *Software Design Expert* dengan model desain *D-Optimal Mixture Design* didapatkan 12 percobaan seperti pada tabel 3 beserta hasil respon karakterisasi yang didapat.

**Tabel 3.** Desain formula energi rendah dan hasil respon yang didapat

| Run | Minyak (%) | Smix (%) | Air (%) | Ukuran Partikel (nm) | PDI   | Zeta Potensial (mV) |
|-----|------------|----------|---------|----------------------|-------|---------------------|
| 1   | 18,18      | 47,26    | 34,56   | 123,20               | 0,544 | -35,2               |
| 2   | 8,03       | 34,1     | 57,87   | 116,53               | 0,654 | -37,9               |
| 3   | 0,95       | 22,08    | 76,97   | 21,90                | 0,389 | -32,6               |
| 4   | 0,95       | 70,6     | 28,45   | 22,80                | 0,515 | -28,9               |
| 5   | 0,95       | 52,04    | 47,01   | 21,00                | 0,496 | -29,3               |
| 6   | 16,03      | 3,81     | 80,16   | 105,30               | 0,333 | -38,2               |
| 7   | 11,57      | 72,73    | 15,70   | 117,00               | 0,580 | -35,9               |
| 8   | 11,57      | 72,73    | 15,70   | 150,50               | 0,473 | -24,1               |
| 9   | 8,01       | 34,10    | 57,89   | 103,75               | 0,440 | -42,8               |
| 10  | 18,18      | 58,89    | 22,93   | 118,20               | 0,398 | -35,3               |
| 11  | 8,01       | 34,1     | 57,89   | 133,75               | 0,542 | -49,4               |
| 12  | 0,95       | 3,81     | 95,24   | 102,60               | 0,662 | -43,5               |

Dari hasil preparasi yang dilakukan sesuai dengan desain yang dibuat didapatkan nanoemulsi minyak biji anggur dengan respon ukuran partikel antara 21,0 nm – 150,5 nm, PDI antara 0,389 – 0,662, Zeta Potensial antara -24,1mV sampai 49,6 mV, dengan komposisi minyak antara 0,95 % - 18,18%, Smix 3,81% - 72,73%, dan air 15,7% - 95,24%. *D-Optimal Mixture Design* adalah suatu rancangan dimana dapat menentukan model penelitian agar mendapatkan suatu rancangan yang optimal dengan respon yang diinginkan, keuntungan *D-Optimal* adalah memperkecil hasil optimasi formula, dapat menginformasikan secara statistik antara variabel dan respon.

### 3.1.3. Analisis Statistik Nanoemulsi Metode Energi Rendah

Data eksperimen yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) untuk menentukan model yang terbaik dari tiga variabel independen. Analisis statistik nilai parameter, termasuk penyesuaian nilai *F*, nilai *P*, koefisien korelasi berganda ( $R^2$ ), dan *lack of fit*, yang dihasilkan oleh *software Design Expert* digunakan untuk mengevaluasi dan memilih model terbaik terhadap respon.

Parameter yang dianalisis dengan ANOVA menunjukkan nilai yang signifikan dan valid. Untuk nilai ukuran partikel ( $Y_1$ ) nilai *P value* < dibanding tingkat signifikansi (0,05) menandakan model yang signifikan dimana respon ukuran partikel dipengaruhi oleh komponen nanoemulsi (%minyak, % smix dan % air).  $R^2$  dengan nilai 0,8745 menunjukkan kecocokan yang baik dari polinomial yang dihasilkan untuk data respon. Nilai *lack of fit* model adalah 0,5753 yang tidak signifikan menunjukkan bahwa model yang diusulkan sesuai. *Design Expert* menyarankan model Quadratic untuk ukuran partikel dengan nilai  $F = 1,63$  mengartikan model yang signifikan.

**Tabel 4.** *Analysis of Variance* (ANOVA) metode energi rendah

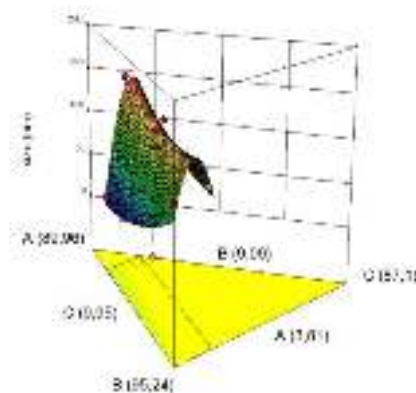
| Respon                    | <i>F value</i> | <i>P value</i>               | $R^2$  | <i>Lack of fit</i>           | Model            |
|---------------------------|----------------|------------------------------|--------|------------------------------|------------------|
| Ukuran Partikel ( $Y_1$ ) | 1,63           | 0,0112<br>(signifikan)       | 0,8745 | 0,5753<br>(tidak signifikan) | Quadratic        |
| PDI ( $Y_2$ )             | 1,96           | 0,3653<br>(tidak signifikan) | 0,6264 | 0,3556<br>(tidak signifikan) | Special<br>Cubic |
| Zeta Potensial ( $Y_3$ )  | 0,76           | 0,1162<br>(tidak signifikan) | 0,3802 | 0,6724<br>(tidak signifikan) | Linier           |

Untuk mengevaluasi kontribusi dari masing-masing tiga komponen dan efek kuantitatif dari proporsi yang berbeda dan variabel formulasi pada respon ukuran partikel ( $Y_1$ ), model respon

permukaan dikalkulasi dengan software Design Expert. Persamaan akhir dari model menggambarkan ukuran partikel nanoemulsi dapat ditulis sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{Ukuran Partikel (Y}_1\text{)} = & +11,94(\text{A}) +83,33(\text{B}) -3919,34(\text{C}) -86,90(\text{AB}) +5722,78(\text{AC}) \\ & +5062,59(\text{BC}) \end{aligned} \quad (4.1)$$

Dimana A merupakan jumlah smix, B merupakan jumlah air dan C merupakan jumlah minyak. Nilai positif dari masing-masing komponen dalam persamaan regresi merepresentasikan efek yang menguntungkan dalam optimasi karena bersifat sinergis, sementara nilai negatif menunjukkan hubungan antagonis antara faktor dan respon (Elnaggar, dkk., 2009). Berdasarkan hasil dari persamaan untuk ukuran partikel, didapatkan bahwa konsentrasi air dan smix memiliki efek sinergis atau meningkatnya konsentrasi dari air dan smix akan menurunkan nilai ukuran partikel sementara nilai minyak memiliki nilai antagonis terhadap respon atau semakin meningkat konsentrasi minyak maka akan semakin besar ukuran partikel yang dihasilkan. Untuk visualisasi optimalisasi nanoemulsi, analisis respon diplotkan dalam model grafik 3D seperti gambar 2.



**Gambar 2.** Diagram 3D mengilustrasikan pengaruh komposisi nanoemulsi terhadap ukuran partikel

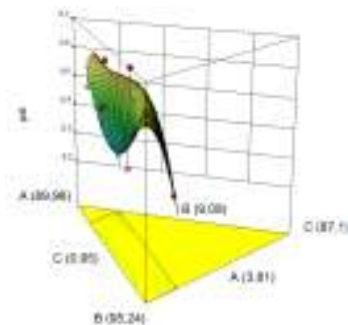
Bioavailabilitas dari sediaan berbasis lemak akan meningkat dengan menurunnya ukuran partikel suatu sediaan. Terdapat beberapa kemungkinan yang dapat meningkatkan bioavailabilitas ini, pertama ukuran partikel yang kecil memiliki luas permukaan yang lebih besar dan oleh karena itu dapat mempercepat pencernaan oleh enzim sehingga isi dapat segera terlepas dan lebih mudah untuk diabsorpsi, kedua ukuran partikel yang kecil dapat dengan mudah melakukan penetrasi ke membran mukosa pada epitelium, ketiga ukuran partikel yang

sangat kecil dapat melewati membran mukosa dengan mekanisme *paracellular* dan *transcellular*, keempat semakin kecilnya ukuran partikel maka akan meningkatkan absorpsinya.

Untuk nilai PDI ( $Y_2$ ) nilai p value > dibanding tingkat signifikansi (0,05) menandakan model yang tidak signifikan dimana PDI tidak dipengaruhi oleh variabel komposisi nanoemulsi (% minyak, % smix dan % air).  $R^2$  dengan nilai 0,6264 menunjukkan kecocokan yang kurang baik dari polinomial yang dihasilkan untuk data respon. Nilai *lack of fit* model adalah 0,3556 yang tidak signifikan menunjukkan bahwa model yang diusulkan sesuai. *Design Expert* menyarankan model *special cubic* untuk PDI dengan nilai  $F=1,96$  mengartikan model yang signifikan. Persamaan akhir dari model menggambarkan ukuran partikel dan PDI nanoemulsi dapat ditulis sebagai berikut:

$$PDI (Y_2) = +0,83(A) + 0,63(B) - 4,23(C) - 1,13(AB) + 2,52(AC) + 3,82(BC) + 16,01(ABC) \quad (4.2)$$

Dimana A merupakan jumlah smix, B merupakan jumlah air dan C merupakan jumlah minyak. Berdasarkan hasil dari persamaan untuk PDI, didapatkan bahwa konsentrasi smix dan air memiliki efek sinergis, sementara nilai konsentrasi minyak memiliki efek antagonis terhadap respon. Untuk visualisasi optimalisasi nanoemulsi, analisis respon diplotkan dalam model grafik 3D seperti gambar 3



**Gambar 3** Diagram 3D mengilustrasikan pengaruh komposisi nanoemulsi terhadap PDI

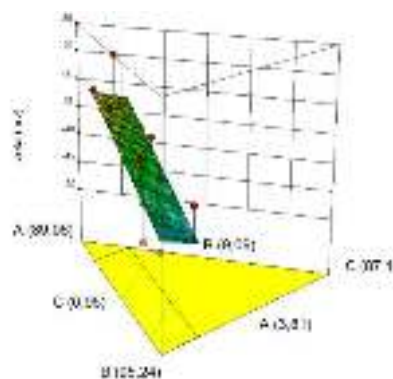
Nilai indeks polidispersitas kurang dari 0,3 bersifat monodispersi, yaitu menunjukkan bahwa ukuran partikel mempunyai satu bentuk yang seragam dan distribusi partikel yang sempit. Nilai indeks polidispersitas dari 0,3 – 0,7 bersifat polidispersi yaitu, menunjukkan bahwa ukuran partikel seragam tetapi memiliki bentuk yang berbeda dan distribusi partikel yang lebar, sedangkan nilai indeks polidispersitas lebih dari 0,7 bersifat superdispersi, yaitu

menunjukkan bahwa ukuran partikel tidak seragam dan bentuk yang berbeda serta distribusi partikel yang menyebar. Nilai indeks polidispersitas sangatlah penting karena berhubungan dengan keseragaman ukuran dari nanoemulsi, nilai indeks polidispersitas yang kecil menunjukkan keseragaman ukuran yang semakin baik, beberapa peneliti menganggap nilai indeks polidispersitas dibawah 0,3 menunjukkan monodispersitas atau keseragaman ukuran yang baik (Das & Chaudhury, 2011).

Untuk nilai ( $Y_3$ ) nilai p value > dibanding tingkat signifikansi (0,05) menandakan model yang tidak signifikan dimana zeta potensial tidak dipengaruhi oleh komposisi dalam nanoemulsi (% minyak, % smix dan % air).  $R^2$  dengan nilai 0,3802 menunjukkan kecocokan yang kurang baik dari polinomial yang dihasilkan untuk data respon. Nilai *lack of fit* model adalah 0,6725 yang tidak signifikan menunjukkan bahwa model yang diusulkan sesuai. *Design Expert* menyarankan model *linier* untuk zeta potensial dengan nilai  $F=0,76$  mengartikan model yang signifikan. Persamaan akhir dari model menggambarkan zeta potensial nanoemulsi dapat ditulis sebagai berikut:

$$\text{Zeta Potensial } (Y_3) = -0,24496(A) -42243(B) -0,57742(C) \quad (4.3)$$

Dimana A merupakan jumlah smix, B merupakan jumlah air dan C merupakan jumlah minyak. Berdasarkan hasil dari persamaan untuk zeta potensial, koefisien A, B dan C menunjukkan hubungan antagonis atau memberikan efek yang tidak sinergis terhadap nilai zeta potensial. Untuk visualisasi optimalisasi nanoemulsi, analisis respon diplotkan dalam model grafik 3D seperti gambar 4.



**Gambar 4.** Diagram 3D mengilustrasikan pengaruh komposisi nanoemulsi terhadap Zeta Potensial.



Nilai zeta potensial menunjukkan keseluruhan muatan suatu partikel dalam suatu media yang spesifik, stabilitas dari sistem nanodispersi dapat diprediksi dengan menggunakan nilai zeta potensial. Tingginya nilai zeta (negatif atau positif) dapat menjaga dari agregasi partikel dengan gaya tolak menolak dari partikel terdispersi sehingga dapat menstabilkan diri, pada kasus yang lain rendahnya nilai zeta potensial menyebabkan semakin mudah terjadinya flokulasi (agregasi atau sedimentasi) antar partikel. Nilai zeta potensial  $-30\text{mV}$  sudah cukup untuk mempertahankan stabilitas dari sistem dispersi nanoemulsi (Das & Chaudhury, 2011).. Rentang nilai zeta potensial yang dapat memprediksi stabilitas penyimpanan sediaan yaitu, nilai potensial zeta  $> 30\text{mV}$  menunjukkan bahwa sediaan memiliki stabilitas elektrostatik yang baik,  $5 - 15\text{mV}$  menunjukkan limited flocculation, dan  $3 - 5\text{mV}$  menunjukkan maximum flocculation (Heurtault, 2003).

Muatan atau potensial zeta partikel atau globul ditentukan melalui pengukuran kecepatan saat partikel bergerak dikarenakan elektroforesis. Partikel yang memiliki potensial zeta akan berpindah tempat menuju elektroda yang bermuatan berlawanan. Kecepatan gerakan partikel sebanding dengan kekuatan medan dan potensial zetanya. Apabila kekuatan medan listrik diketahui, maka hanya perlu mengukur kecepatan gerakan menggunakan sinar Dropper electrophoresis dan kemudian menerapkan teori-teori yang ditetapkan untuk menghitung zeta potensial (Fanun, 2010). Potensial zeta mempunyai penerapan praktis dalam kestabilan sistem yang mengandung partikel-partikel terdispersi karena potensial inilah yang mengatur derajat tolak menolak antara partikel-partikel terdispersi yang bermuatan sama dan saling berdekatan (Martin, dkk., 1993).

Faktor faktor yang mempengaruhi nilai zeta potensial adalah adanya perubahan pH, konduktivitas, dan perubahan konsentrasi karena adanya penambahan zat tambahan seperti surfaktan ionik atau polimer. Faktor penting yang paling mempengaruhi potensial zeta adalah pH, nilai pH yang rendah akan menghasilkan nilai zeta potensial bernilai positif dan apabila nilai pH tinggi akan menghasilkan nilai zeta potensial rendah atau negatif. Zeta potensial juga dipengaruhi oleh komponen dalam nanoemulsi khususnya surfaktan yang berlokasi pada antarmuka dua cairan yang saling tidak bercampur. Pada penelitian ini menggunakan surfaktan Tween 80 yang merupakan surfaktan nonionik sehingga cenderung menurunkan nilai zeta potensial (Fanun, 2010). Kebanyakan partikel yang terdispersi dalam air menjadi bermuatan negatif karena adsorpsi yang lebih menyukai ion hidroksil (Martin, dkk., 1993).

#### 3.1.4. Formula optimal

Dari hasil optimasi *D-Optimal Mixture Design* kemudian dilakukan pembuatan formula optimal yang didapat dari software dengan kriteria yang ditetapkan seperti pada tabel 5, diambil 3 formula optimal dan dilakukan 3 kali replikasi pada tiap formula dan dilakukan karakterisasi berupa ukuran partikel, PDI dan zeta potensial.

**Tabel 5.** Kriteria desain formula optimal *D-Optimal Mixture Design*

| Varibel Independen dan Dependen   | Kriteria        |
|-----------------------------------|-----------------|
| Minyak (A)                        | <i>Minimize</i> |
| Smix (B)                          | <i>Minimize</i> |
| Air (C)                           | <i>In range</i> |
| Ukuran partikel (Y <sub>1</sub> ) | <i>Minimize</i> |
| PDI (Y <sub>2</sub> )             | <i>Minimize</i> |
| Zeta Potensial (Y <sub>3</sub> )  | <i>Maximize</i> |

**Tabel 6.** Formula optimal metode energi rendah

| Formula | Komposisi formula |          |         |
|---------|-------------------|----------|---------|
|         | Minyak (%)        | Smix (%) | Air (%) |
| 1       | 9,4               | 54,8     | 35,8    |
| 2       | 9,1               | 51,6     | 39,3    |
| 3       | 8,6               | 46,2     | 46,2    |

Formula optimal ditentukan dengan menganalisis efek dari variabel independen terhadap respon. Kriteria yang digunakan adalah ukuran partikel yang kecil, nilai PDI yang kecil dan nilai zeta potensial diatas -25mV dengan menggunakan *Design Expert* didapatkan 3 formula optimal dipilih berdasarkan nilai *desirability* yang paling besar dan dengan prediksi respon yang telah disiapkan. Nilai dari prediksi formula optimal dibandingkan nilai dengan sebenarnya yang didapat dan hitung simpangan yang dihasilkan, nilai simpangan yang baik adalah < 10%. Nilai simpangan dilihat pada tabel 6.

**Tabel 7.** Hasil verifikasi formula optimal metode energi rendah

| Formula | Target          | Hasil observasi | Bias       |       |
|---------|-----------------|-----------------|------------|-------|
| 1       | Ukuran partikel | 60,4            | 59,6±5,08  | 1,32% |
|         | PDI             | 0,613           | 0,634±0,05 | 3,42% |
|         | Zeta Potensial  | -29,9           | -28,8±3,4  | 3,6%  |
| 2       | Ukuran partikel | 68,5            | 70,4±12,5  | 1,9%  |
|         | PDI             | 0,491           | 0,540±0,02 | 9,9%  |
|         | Zeta Potensial  | -32,81          | 29,7±1,94  | 9,4%  |
| 3       | Ukuran partikel | 68,5            | 66,06±1,68 | 3,5%  |
|         | PDI             | 0,491           | 0,597±0,09 | 8,75% |

|                |      |           |      |
|----------------|------|-----------|------|
| Zeta potensial | 32,8 | 32,7±1,50 | 0,3% |
|----------------|------|-----------|------|

Pemilihan formula optimal didasarkan pada nilai bias <10%, pada hasil verifikasi didapatkan hasil semua formula memiliki bias dibawah 10% sehingga semua formula bisa dikatakan optimal, dipilih 1 formula yang memiliki tingkat bias paling rendah atau ketepatan yang mendekati target yang akan digunakan sebagai formula optimal yang akan dibandingkan dengan formula dari metode energi tinggi. Digunakan formula 1 dengan ukuran partikel 59,6 dengan bias 1,32%, PDI 0,634 dengan bias 3,42% dan zeta potensial -28,8 dengan bias 3,6% sebagai formula metode energi rendah yang akan digunakan sebagai perbandingan formula.

3.1.5. Karakterisasi formula optimal

Evaluasi organoleptis dilakukan untuk mengetahui kondisi fisik sediaan nanoemulsi minyak biji anggur, pengamatan organoleptis dilakukan tepat setelah sediaan dibuat. Evaluasi organoleptis didasarkan pada proses pengindraan, evaluasi organoleptis ini dilakukan dengan mengamati sediaan nanoemulsi secara makroskopik menggunakan panca indra untuk mendiskripsikan bentuk, warna dan bau dari sediaan nanoemulsi. Hasil sediaan nanoemulsi dapat dilihat pada gambar 5 dan pada tabel 8.



(Formula 1 )



(Formula 2)



(Formula 3)

Gambar 5. Sediaan Nanoemulsi Metode Energi Rendah

Tabel 8. Hasil uji Organoleptis Formula Energi rendah

| Formulasi | Parameter Organoleptis |       |     |
|-----------|------------------------|-------|-----|
|           | Bentuk                 | Warna | Bau |

|   |        |                       |               |
|---|--------|-----------------------|---------------|
| 1 | Cairan | Transparan kekuningan | Khas Tween 80 |
| 2 | Cairan | Transparan kekuningan | Khas Tween 80 |
| 3 | Cairan | Transparan kekuningan | Khas Tween 80 |

Keterangan: Formula 1 mengandung minyak biji anggur sebanyak 9,4%, Smix sebanyak 54,8% dan air sebanyak 35,8%  
 Formula 2 mengandung minyak biji anggur sebanyak 9,1%, Smix sebanyak 51,6% dan air sebanyak 39,3%  
 Formula 3 mengandung minyak biji anggur sebanyak 8,6%, Smix sebanyak 46,2% dan air sebanyak 46,2%

Berdasarkan hasil evaluasi sediaan nanoemulsi minyak biji anggur formula 1, 2 dan 3 memperlihatkan bahwa sediaan nanoemulsi memiliki bentuk berupa cairan, berwarna dan berbau khas Tween 80. Evaluasi sediaan nanoemulsi yang dibuat pada semua formula menunjukkan hasil berupa sediaan yang transparan dan satabil karena tidak terjadi pemisahan fase pada formula yang dibuat. Nanoemulsi dengan ukuran kecil (nm) akan menghasilkan sediaan yang jernih atau transparan atau sedikit berkabut, sehingga sangat cocok untuk digunakan dalam industri baik makanan ataupun obat (McClements, 2011).

### 3.2. Hasil Evaluasi pH Metode Energi Rendah

Evaluasi pH dilakukan bertujuan untuk mengetahui tingkat keasaman sediaan nanoemulsi minyak biji anggur. Evaluasi pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi.

**Tabel 9.** Nilai pH nanoemulsi minyak biji anggur formula energi rendah

| Formula | Replikasi | Nilai pH*  |
|---------|-----------|------------|
| 1       | 1         | 6,35±0,943 |
|         | 2         | 6,72±1,120 |
|         | 3         | 6,71±0,363 |
| 2       | 1         | 6,74±0,837 |
|         | 2         | 6,7±0,149  |
|         | 3         | 7,13±0,896 |
| 3       | 1         | 7,08±1,940 |
|         | 2         | 7,05±0,141 |
|         | 3         | 7,09±0,00  |

Keterangan: \*= X±SD; X: 3 replikasi

Formula 1 mengandung minyak biji anggur sebanyak 9,4%, Smix sebanyak 54,8% dan air sebanyak 35,8%

Formula 2 mengandung minyak biji anggur sebanyak 9,1%, Smix sebanyak 51,6% dan air sebanyak 39,3%

Formula 3 mengandung minyak biji anggur sebanyak 8,6%, Smix sebanyak 46,2% dan air sebanyak 46,2%

Pada tabel 8 Menunjukkan bahwa formula 1 memiliki nilai pH paling rendah dan termasuk dalam asal lemah, sedangkan untuk pH 2 pada replikasi 1 dan 2 menunjukkan hasil pH formula

adalah asam lemah, dan pada formula 3 menunjukkan bahwa pH netral. Perbedaan ini mungkin disebabkan karena variasi surfaktan (Tween 80) yang digunakan sehingga mempengaruhi nilai pH sediaan. Tween 80 memiliki pH dalam rentang 6-8 sehingga semakin semakin meningkat konsentrasi Tween 80 maka akan meningkatkan pH sediaan.

#### 4. Kesimpulan

Nanoemulsi minyak biji Anggur (*Vitis vinifera L.*) energi rendah dapat dibuat dengan teknik pembalikan fase komposisi (PIC). *D-Optimal Design* (DMD) dapat digunakan untuk optimasi formula nanoemulsi minyak biji Anggur.

#### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Hibah AIPT Universitas Islam Indonesia atas dukungan finansial terselenggaranya penelitian ini.

#### Daftar pustaka

- Abd-Allah F.I., Dawaba H.M. & Ahmed A.M. (2010). Development of a microemulsion-based formulation to improve the availability of poorly water-soluble drug. *Drug Discov Ther.* 4:257-66.
- Anton, N., & Vandamme, T. F. (2009). The universality of low-energy nano-emulsification. *International Journal of Pharmaceutics.* 377(1-2):142-147.
- Anton, N., Benoit, J., & Saulnier, P. (2008). Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates: a review. *Journal of Controlled Release.* 128(3): 185-199.
- Baboota, S., Shakeel, F., Ahuja, A., Ali, J., & Shafiq, S. (2007). Design, development and evaluation of novel nanoemulsion formulations for transdermal potential of celecoxib. *Acta pharmaceutica.* 57(3): 315-332.
- Das S., & Chaudhury A. (2011). Recent Advances in Lipid Nanoparticle Formulations with Solid Matrix for Oral Drug Delivery. *AAPS PharmSciTech.* 12(1): 62-76.
- Eid, A. M. M., Elmarzugi, N. A., & El-Enshasy, H. A. (2013). Preparation and evaluation of olive oil nanoemulsion using sucrose monoester. *International Journal of Pharmacy Pharmaceutical Science.* 5, 434-440.
- Elnaggar, Y. S., El-Massik, M. A., & Abdallah, O. Y. (2009). Self-nanoemulsifying drug delivery systems of tamoxifen citrate: design and optimization. *International journal of pharmaceutics.* 380(1): 133-141.
- Fanun, M. (Ed.). (2010). *Colloids in drug delivery* (Vol. 150). CRC Press.
- Heurtault, B. (2003). Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. *Biomaterials.* 24(23): 4283-300.
- Kozlov, M.M. & Helfrich, W. (1992). Effects of a cosurfactant on the stretching and bending elasticities of a surfactant monolayer, *Langmuir.* 8:2792-2797.
- Martin A, James, S. & Arthur C. (1993). *Farmasi Fisik: Dasar-Dasar Kimia Fisik Dalam Ilmu Farmasetik* Jilid 2 diterjemahkan oleh Yoshita. Jakarta: UI-Press; 1993. 972-990 p.
- Mason, T. G., Wilking, J. N., Meleson, K., Chang, C. B., & Graves, S. M. (2006). Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics-Condensed Matter,* 18(41): 635-666.

- McClements DJ. (2011). Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance. *Soft Matter*. **7**(6): 2297-316.
- McClements, D. J., & Rao, J. (2011). Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **51**(4): 285-330.
- Pouton, C. W. (2006). Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: Physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. **29**(3-4): 278-287.
- Rao, J. J., & McClements, D. J. (2010). Stabilization of phase inversion temperature nanoemulsions by surfactant Displacement. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **58**(11): 7059-7066.
- Shafiq-un-Nabi, S., Shakeel, F., Talegaonkar, S., Ali, J., Baboota, S., Ahuja, A., Rop, K., & Ali, M. (2007). Formulation development and optimization using nanoemulsion technique: a technical note. *AAPS pharmscitech*, **8**(2): 12-17.
- Solans, C., Garcia-Dominguez, J. J., & Friberg, S. E. (1981). *Proc. Jornadas CED, XII*, 509.
- Tadros, T., Izquierdo, R., Esquena, J., & Solans, C. (2004). Formation and stability of nanoemulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*. **108**(09): 303-318.

## Treatment Response of Diarrhea Specific Inpatients at Private Hospital Banten Province

### Respon Pengobatan Pada Pasien Diare Spesifik Rawat Inap di Rumah Sakit Swasta Provinsi Banten

Chynthia Pradiftha Sari\*, Hilda Yunita Indriani, Yosi Febrianti

Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Indonesia, Jl. Kaliurang Km 14,5, Sleman DI Yogyakarta  
\*Corresponding author. Email: [pradiftha@uui.ac.id](mailto:pradiftha@uui.ac.id)

---

#### Abstract

**Background:** Specific diarrhea is one of the digestive system diseases that occurs in 1.8 million of the world's population characterized by the frequency of defecation, with liquid consistency, blood velocity.

**Objective:** to invite the response of diarrhea excavation in patients with specific diarrhea hospitalization in Banten Province Private Hospital

**Method:** The study was conducted in a retrospective descriptive manner with cross-sectional design. Data was taken from 105 inpatients taken in medical records from 2013-2014. Subject data were taken from adult patients 18-60 years with a specific diagnosis in the inpatient ward of Banten Province Private Hospital.

**Results:** Distribution of subjects with the highest diarrhea age > 40 years in both men and women, > 30% of positive mucous blood stools about leukocytes. The most antidiarrheal types consisted of electrolyte fluid (71.4% Ringer Lactate), single anti diarrhea (attapulgit 52.38%), combination anti diarrhea (attapulgit and loperamide 18.09%), quinolone antibiotic (ciprofloxacin 21.9%). Treatment given to diarrhea patients.

**Conclusion:** The treatment used is Ringer Lactate (RL), attapulgit, combination of attapulgit and loperamide, and ciprofloxacin responding well to the comparison of the frequency of diarrhea in patients with specific diarrhea in Banten Province Private Hospital.

**Keywords:** Response to treatment, specific diarrhea, decrease frequency of diarrhea

#### Intisari

**Latar belakang:** Diare spesifik merupakan salah satu penyakit sistem pencernaan yang terjadi pada 1,8 juta penduduk dunia ditandai dengan meningkatnya frekuensi buang air besar, dengan konsistensi cair, disertai darah.

**Tujuan:** Menilai respon pengobatan diare pada pasien diare spesifik rawat inap di RS Swasta provinsi Banten

**Metode:** Penelitian dilakukan secara deskriptif *retrospektif* dengan rancangan potong-lintang. Data diambil dari 105 pasien rawat inap yang tercantum dalam rekam medik tahun 2013-2014. Data subjek uji yang diambil meliputi usia pasien dewasa 18-60 tahun dengan diagnosa diare spesifik di bangsal rawat inap RS Swasta provinsi Banten.

**Hasil:** Distribusi subjek uji diare spesifik terbanyak usia >40 tahun baik pada laki-laki dan perempuan, > 30% positif feses berlendir berdarah terdapat leukosit. Jenis antidiare terbanyak yang digunakan berupa cairan elektrolit (Ringer Laktat 71.4%), antidiare tunggal (attapulgit 52,38%), antidiare kombinasi (attapulgit dan loperamide 18,09%), antibiotik kuinolon (siprofloksasin 21,9%). Pengobatan yang diberikan pada pasien diare spesifik berespon baik terhadap penurunan frekuensi diare diamati dari mulai pasien masuk rumah sakit hingga pasien menyelesaikan pengobatan.

**Kesimpulan:** Pengobatan yang digunakan yaitu Ringer Laktat (RL), attapulgit, kombinasi attapulgit dan loperamide, serta siprofloksasin berespon baik terhadap penurunan frekuensi diare pada pasien diare spesifik di RS Swasta Provinsi Banten.

**Kata kunci:** Respon pengobatan, diare spesifik, penurunan frekuensi diare

---

## 1. Pendahuluan

Diare spesifik didefinisikan sebagai pengeluaran feses lebih dari 3 kali perhari berbentuk cair, berlendir berdarah disertai dengan tanda infeksi lainnya akibat bakteri, virus dan parasit (World Health Organization, 2018). Angka mortalitas diseluruh dunia mencapai 1,8 juta sedangkan di provinsi Banten menempati urutan ke 4 di Indonesia sekitar 8%, setelah Aceh (10,2%), Papua (9,6%), DKI Jakarta (8,9%), Sulawesi Selatan (8,1%) (Riset Kesehatan Dasar, 2013). Tngginya angka kejadian diare di Indonesia maupun di Banten disebabkan oleh kurangnya budaya hidup bersih dan sehat di masyarakat yang menyebabkan infeksi dapat menyebar melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi minuman, penanganan dehidrasi yang belum sesuai, dan kesesuaian pengobatan yang belum 100% diterima pasien.

Data kesesuaian pengobatan di Yogyakarta menunjukkan pemberian rehidrasi 71,4% sesuai indikasi, antibiotik 35,7% sesuai indikasi, 100% sesuai pasien. Kesesuaian dosis obat pada 97,3% pemberian zinc melebihi dosis lazimnya (overdosis) dan 92,9% pada pemberian lactobasillus achidopilus dengan dosis dibawah dosis lazimnya (subdosis) (Anonim, 2007). Penelitian di salah satu RS India menunjukkan tiga perempat resep pengobatan yang didapat pasien adalah oral rehidrasi, setengah resep terdapat pengobatan dengan Furazolidone dan metronidazole, dan cotrimoksasol diresepkan setengah dari total resep di RS (Rao & Kabra, 2010). Sebuah penelitian yang dilakukan di India mengungkapkan bahwa hanya dalam kasus 20% mendapat pilihan obat antidiare dengan benar (Parek, et al., 2004). Sebuah studi menjelaskan penggunaan terapi rehidrasi tidak berpengaruh terhadap perbaikan durasi, keparahan, atau frekuensi diare, tetapimikronutrien, probiotik, atau antidiare lain dapat bermanfaat (Faure, 2013).

Pemilihan terapi yang tidak sesuai banyak terjadi akibat ketidaktepatan pemilihan obat, indikasi pemilihan obat tanpa didukung bukti ilmiah, seringkali obat yang diganti dengan obat lain karena alasan persediaan habis, frekuensi dan lama pemberian yang tidak sesuai. Dampak tersebut dialami beberapa pasien diare yang dilaporkan mengalami peningkatan frekuensi diare dan penurunan respon pengobatan (Firmansyah & Murdani, 2013). Laporan penggunaan obat dan respon pengobatan belum ditemukan di RS Banten, sehingga melatarbelakangi peneliti untuk mengevaluasi respon penggunaan terapi pada pasien diare spesifik terhadap penurunan frekuensi diare di Rumah Sakit Swasta Provinsi Banten.

## 2. Metodologi penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif *retrospektif* dengan rancangan *potong lintang*. Data diambil dari catatan rekam medik tahun 2013-2014 rawat inap pasien dewasa yang menjalani rawat inap di RS Swasta Provinsi Banten. Kriteria inklusi subjek uji yang terlibat dalam penelitian meliputi: pasien laki-laki dan perempuan dewasa usia 18-60 tahun, diagnosa



utama diare spesifik (infeksi), pemeriksaan laboratorium lengkap (hematologi, makroskopis feses, mikroskopis feses). Pasien yang memiliki riwayat penyakit HIV (Human Immunodeficiency Virus. Hipertiroid, IBD (Irritable Bowel Disease) serta jumlah kunjungan lebih dari satu kali dalam setahun dieksklusikan dari penelitian ini karena dapat mengganggu tercapainya tujuan penelitian ini. Populasi pasien diare selama di RS sebanyak 482, jumlah sampel yang memenuhi kriteria inklusi sebanyak 105 pasien, dalam rentang waktu pengambilan data selama kurang lebih 4 bulan. Hasil pengambilan data yang didapatkan, dianalisis secara deskriptif dan disajikan dalam bentuk persentase dan tabel. Data karakteristik pasien meliputi: usia, jenis kelamin, lama rawat inap, pemeriksaan hamatologi dan makroskopis/mikroskopis feses. Jenis pengobatan yang diterima pasien dituliskan secara lengkap, berupa terapi rehidrasi, antidiare dan antibiotik. Penilaian terhadap respon terapi dilihat dari berkurang atau tidaknya frekuensi buang air besar dari awal pasien datang kerumah sakit sampai keluar rumah sakit.

### 3. Hasil dan pembahasan

Penelitian di RS Swasata Provinsi Banten melibatkan 105 pasien yang memenuhi kriteria inklusi bertujuan mengevaluasi respon pengobatan diare yang diterima pasien. Hasil penelitian berupa data arakteristik pasien yang diperoleh dari data rekam medik didistribusikan berdasarkan kelompok usia, jenis kelamin, lama perawatan, dan kondisi kepulangan pasien dapat dilihat dari keterangan Tabel 1.

Berdasarkan Tabel 1 terlihat semakin bertambah usia maka kejadian diare semakin meningkat, kasus terbanyak terjadi pada usia 41-50 tahun (48,6%). Hal ini dapat disebabkan oleh penurunan sistem imun dan fungsi organ, proses penuaan mengakibatkan terganggunya berbagai organ di dalam tubuh seperti sistem gastrointestinal (World Gastreterology Organisation, 2008). Prevalensi laki-laki yang mengalami diare lebih banyak 50,47%, data tersebut sesuai dengan beberapa penelitian serupa yaitu adanya kasus KLB diare pada tahun 2010 pada laki-laki (51%) dan perempuan (49%). Tahun 2011, tidak ada perbedaan yang signifikan kasus KLB diare antara perempuan 31(51%) dengan laki-laki (49%). Namun, berdasarkan penelitian tersebut belum ada bukti yang cukup untuk menyimpulkan bahwa angka kejadian diare terkait dengan jenis kelamin (Xiao-Huan, *et al.*, 2018). Lamanya rawat inap pada pasien diare di RS Swasta Provinsi Banten rata- rata 3 hari (akut), hal ini sebagai salah satu pertimbangan jenis antidiare yang diterima pasien, elektrolit, serta perlu tidaknya antibiotik. Pemeriksaan darah pada pasien dilakukan untuk melihat tanda infeksi, yaitu terjadi peningkatan neutrofil, penurunan monosit, dan penurunan kadar leukosit (*leukopenia*). Pada pemeriksaan feses ditemukan 94 kasus disertai lendir dan 7 diantaranya dengan darah, yang menandakan terjadi reaksi inflamasi akut pada usus kecil maupun usus besar, terdapat leukosit di feses dan seringnya okultisme atau darah kotor yang dapat disebabkan oleh infeksi seperti *Salmonella*,

*Shigella*, *Campylobacter*, *E.Coli*, *C.Difficile*, *E.Histolytica*, dan *Yersinia E.* (Beaugerie & Sokol, 2013).

**Tabel 1.** Karakteristik pasien diare di bangsal rawat inap RS Swasata Provinsi Banten

| Karakteristik     | Keterangan         | N Pasien | Persentase (%) |
|-------------------|--------------------|----------|----------------|
| Usia              | 18 – 20            | 6        | 5.7            |
|                   | 21 – 30            | 21       | 20             |
|                   | 31 – 40            | 27       | 25.7           |
|                   | 41 – 60            | 51       | 48.6           |
| Jenis kelamin     | Laki-laki          | 52       | 49.52          |
|                   | Perempuan          | 53       | 50.48          |
| Lama rawat inap   | ≤ 3hari            | 59       | 56.19          |
|                   | > 3 hari           | 46       | 43.81          |
| Hematologi        | HB ↑               | 63       | 37.5           |
|                   | HB ↓               | 5        | 2.98           |
|                   | Leukosit ↑         | 53       | 31.55          |
|                   | Leukosit ↓         | 7        | 4.17           |
| Makroskopis feses | Hematokrit ↑       | 30       | 17.86          |
|                   | Hematokrit ↓       | 10       | 5.95           |
|                   | <u>Konsistensi</u> |          |                |
|                   | cair               | 22       | 10.78          |
| Mikroskopis feses | encer              | 44       | 21.57          |
|                   | lembek             | 37       | 18.14          |
|                   | Lendir             | 94       | 46.08          |
|                   | Darah              | 7        | 3.43           |
|                   | <u>Warna</u>       |          |                |
|                   | Cokelat            | 65       | 32.5           |
|                   | Kuning             | 23       | 11.5           |
|                   | Hijau              | 7        | 3.5            |
|                   | Hitam              | 2        | 1              |
|                   | Leukosit Feses     | 34       | 17             |
| Eritrosit Feses   | 28                 | 14       |                |
| Kista             | 41                 | 20.50    |                |

**Tabel 2.** Profil terapi antidiare pasien diare di bangsal rawat inap RS Swasta Provinsi Banten

| No        | Jenis Antidiare Tunggal                                | N Resep | (%)   |
|-----------|--|---------|-------|
| Tunggal   |  |         |       |
| 1         | Activated Coloidal Attapulgite                         | 55      | 52.38 |
| 2         | Loperamide HCl   | 17      | 16.19 |
| Kombinasi |  |         |       |
| 1         | Kombinasi Attapulgite + Loperamide HCl                 | 19      | 18.09 |
| 2         | Kombinasi Attapulgite+Lactobacillus Reuterii           | 9       | 8.57  |
| 3         | Kombinasi Attapulgite + Loperamide HCl + Lactobacillus | 4       | 3.80  |
| 4         | Kombinasi Loperamide + Lactobacillus Reuterii          | 1       | 0.90  |
| Jumlah    |  | 105     | 100   |

Berdasarkan gambaran karakteristik pasien diare di RS Swasta provinsi Banten terapi yang diperlukan untuk menurunkan frekuensi dan durasi diare berupa antidiare, elektrolit untuk mencegah dehidrasi dan antibiotik untuk pengatasan infeksi. Berikut terkait rincian terapi antidiare yang diterima pasien terjadi pada Tabel 2.

Pada Tabel 2, terlihat pengobatan tunggal yang digunakan pada pasien diare yaitu activated colloidal attapulgite (52.38%) dan loperamid HCl, (16.19%). Kombinasi antidiare yang diberikan kepada pasien mayoritas. adalah Attapulgite dan atau Loperamide HCl serta penambahan probiotik pada beberapa kasus. Attapulgite merupakan golongan adsorbent yang tidak diserap tetapi dapat mengikat air, sehingga air difeses akan berkurang dan konsistensi fese menjadi normal. Pada penelitian eksperimental menunjukkan attapulgite dapat menyerap racun, bakteri, rotavirus dan baik sebagai barrier pada epitel usus, tetapi efek tersebut diabaikan pada usus orang dewasa pada dosis tertentu. Attapulgite secara signifikan lebih baik daripada plasebo dalam mengurangi keparahan dan durasi diare dalam hal frekuensi gerak dan konsistensi feses ( $p < 0,01$ ), keparahan dehidrasi ( $p < 0,01$ ) dan dalam mengurangi jumlah ORS yang dikonsumsi ( $p < 0,05$ ) (Zaid, et al., 1995). Beberapa ahli merekomendasikan sebagai agen tambahan selain ORS (oral rehidrasi solution) untuk pengobatan diare akut ringan hingga sedang. Studi perbandingan adsorben dilaporkan memiliki efikasi sama dengan loperamide, tetapi tanpa kontrol kelompok plasebo, seperti periode pra-perawatan yang panjang, penilaian efikasi terlambat atau penggunaan dosis loperamide yang salah. Secara keseluruhan, terlepas dari sedikitnya risiko penggunaan adsorben, hasil terapi maksimal dapat terlihat pada pasien dewasa dengan diare akut (Wingate, et al., 2001).

Loperamide oral merupakan pilihan terbaik pada pasien diare, yang efektif dalam menghilangkan gejala tetapi memiliki risiko merugikan yang tidak diinginkan, seperti tidak direkomendasikan pada kasus disentri disertai infeksi dan demam, karena dapat memperparah kondisi pasien, kontraindikasi pada anak dibawah 2 tahun, pemberian dosis harus sesuai kondisi kronik pasien (Wingate, et al., 2001). Penelitian sejenis terkait kombinasi loperamid dengan antidiare lain dimana kombinasi tersebut memberikan hasil lebih cepat dan dalam perbaikan diare nonspesifik sifatnya akut, serta memperbaiki konsistensi feses lebih cepat (Wendy & Andrew, 2014). Terapi loperamid dapat diberikan untuk mengurangi durasi diare dan meningkatkan peluang untuk sembuh melalui produksi kontraksi segmen usus sehingga memperlambat pergerakan cairan intraluminal dan penghambatan sekresi mukosa dalam motilitas usus (Mark, et al., 2016). Penelitian lebih jauh mengenai efektivitas terapi kombinasi loperamid dengan attapulgite, belum ditemukan. Probiotik semakin banyak digunakan untuk pencegahan dan pengobatan diare pada anak-anak dibandingkan orang dewasa (Guarino, et al., 2015).

Hasil pengamatan pengobatan di RS Provinsi Banten, selain terapi antidiare pasien juga mendapatkan terapi elektrolit untuk mencegah terjadinya dehidrasi. Profil pengobatan dengan elektrolit tesaji pada Tabel 3 berikut ini.

**Tabel 3.** Profil terapi elektrolit pasien diare di bangsal rawat inap RS Swasta Provinsi Banten

| No | Jenis Elektrolit  | N Resep | (%)   |
|----|---|---------|-------|
| 1  | Ringer laktat (RL)<br>Asering*                                      | 75      | 71.40 |
| 2  | (Na 130 mEq, Cl 109 mEq, Ca 3 mEq, K 4 mEq,<br>Asetat/garam 28 mEq) | 25      | 23.80 |
| 3  | Kombinasi Asering+RL  | 4       | 3.80  |
| 4  | Kombinasi RL+Kalium Clorida (KCL)                                   | 1       | 0.9   |
|    | Jumlah  | 105     | 100   |

Pada kondisi diare, seorang pasien akan mengalami asidosis metabolik hiper/hipokalemik dengan dehidrasi, sehingga memerlukan penambahan elektrolit yang kaya sodium, bikarbonat dan kalium. Tujuan utama rehidrasi yaitu pengembalian cairan badan ke volume normal, osmolaritas yang efektif dan komposisi yang tepat untuk keseimbangan asam basa. Mayoritas pasien akan membaik dengan ORS, tetapi beberapa pasien dengan diare berat dan syok memerlukan cairan elektrolit intravena untuk mengatasi dehidrasi yang dialami. Pada Tabel 3 penggunaan RL 71.40% banyak diberikan pada pasien diare dan paling cocok untuk memperbaiki dehidrasi. RL akan dikonversi menjadi bikarbonat oleh hati, seperti RL bikarbonat juga cairan yang disukai dalam diare.

Pada penelitian ini kondisi pasien dengan diare spesifik, selain memerlukan terapi antidiare dan elektrolit, tentunya antibiotik diperlukan untuk memperbaiki kondisi infeksi pasien. Antibiotik dapat menyebabkan efek samping samping, dan menyebabkan risiko resistensi sehingga perlu diperhatikan dalam penggunaannya. Berikut adalah profil antibiotik yang diterima pasien dalam upaya penanganan diare tersaji pada Tabel 4.

Berdasarkan Tabel 4, penggunaan antibiotik terbanyak golongan kuinolon (siprofloksasin) 21,9%. Pada subjek uji penelitian ini pemeriksaan kultur tidak dilakukan, tetapi didasarkan pada pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis feses. Secara empiris, siprofloksasin dan co-trimoxazol banyak digunakan untuk pengobatan diare akut yang disertai tanda infeksi, walaupun adanya laporan efek samping dan resistensi cukup berkembang pada beberapa penelitian terkini (Jones & Farthing, 2004). Pada pasien dengan diare yang berat ditandai infeksi sistemik, disentri, atau kelompok berisiko tinggi, pertimbangkan manfaat antibiotik lebih besar daripada risiko. Tujuan terapi diare spesifik adalah memperbaiki atau mencegah dehidrasi dan ketidakseimbangan elektrolit, jadi fokus harus pada pemberian Garam/ larutan Rehidrasi Oral atau cairan IV, bukan inisiasi terapi antibiotik (Malik, 2017). Metronidazole adalah antiprotozoa,

yang paling sering diresepkan pada pasien di beberapa rumah sakit di dunia, dikombinasikan dengan ciprofloksasin untuk penanganan disentri amoeba (Rao & Kabra, 2010).

**Tabel 4.** Profil antibiotik pada pasien diare rawat inap di RS Swasta Provinsi Banten

| No                            | Golongan Antibiotik                                       | Jenis Antibiotik  | N          | %          |
|-------------------------------|---|---|------------|------------|
| <b>Tunggal</b>                |   |   |            |            |
| 1                             | Kuinolon  | Siprofloksasin  | 23         | 21.9       |
|                               |   | Levofloksasin   | 12         | 11.4       |
|                               |   | Ofloksasin  | 2          | 1.9        |
| 2                             | Sefalosporin  | Sefixime  | 4          | 3.8        |
|                               |   | Sefadroxil  | 1          | 0.9        |
| 3                             | Kotrimokasazol  | Trimethoprim/sulfamethoxazole                               | 2          | 1.9        |
| 4                             | (Metronidazole)   | Metronidazole   | 7          | 6.6        |
| <b>Kombinasi 2 antibiotik</b> |   |   |            |            |
| 1                             | Kuinolon+Metronidazole                                    | Levofloksadin+Metronidazole                                 | 13         | 12.3       |
|                               |   | Siprofloksasin+Metronidazole                                | 9          | 8.5        |
| 2                             | Sefalosporin+Kuinolon                                     | Sefixime+Siprofloksasin                                     | 2          | 1.9        |
| 3                             | Sefalosporin+Metronidazole                                | Sefixime + Metronidazole                                    | 2          | 1.9        |
|                               |   | Seftriaksone+Metronidazole                                  | 5          | 4.7        |
| 4                             | Sefalosporin  | Sefixime+Seftriaksone                                       | 5          | 4.7        |
| 5                             | Kotrimoksazol+Metronidazole                               | Kotrimoksazol+Metronidazole                                 | 1          | 0.9        |
| 6                             | Kuinolon+Karbapenem                                       | Levofloksasin+ Meropenem                                    | 1          | 0.9        |
| <b>Kombinasi 3 antibioik</b>  |   |   |            |            |
| 1                             | Sefalospoin+Sefalosporin+<br>Metronodazol                 | Sefixime+ Seftriaksone+Metronidazol                         | 9          | 8.5        |
| 2                             | Kuinolon+Metronidazole+<br>Sefalosporin                   | Levofloxacin+Metronidazole+<br>Seftriaksone                 | 2          | 1.9        |
|                               |   | Levofloxacin+Metronidazole+ Sefixime                        | 2          | 1.9        |
| 3                             | Sefalosporin+Kuinolon+<br>Kuinolon                        | Sefixime+Siprofloksasin+<br>Levofloksasin                   | 1          | 0.9        |
| <b>Kombinasi 4 antibiotik</b> |   |   |            |            |
| 1                             | Kuinolon + Metronidazole +<br>Sefalosporin + Sefalosporin | Levofloksasin+ Metronidazole +<br>Seftriaksone + Cefadroxil | 1          | 0.9        |
| 2                             | Kuinolon + Metronidazole +<br>Sefalosporin + Karbapenem   | Levofloksasin+ Metronidazole +<br>Seftriaksone + Meropenem  | 1          | 0.9        |
| <b>Jumlah</b>                 |   |   | <b>105</b> | <b>100</b> |

Terapi yang diterima pasien berupa antidiare, elektrolit dan antibiotik dapat memperbaiki kondisi diare tandai dengan berkurangnya kejadian buang air besar (BAB). Berkurangnya frekuensi yang dialami oleh pasien dari awal kondisi pasien masuk rumah sakit sampai kondisi pasien setelah mendapatkan terapi antidiare, merupakan suatu keterkaitan yang menandakan seberapa efektif pengobatan antidiare tersebut bagi pasien diare. Profil antidiare dalam memperbaiki frekuensi BAB dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Profil respon pengobatan diare terhadap frekuensi BAB di bangsal rawat inap RS Swasta Provinsi Banten

| No | Terapi yang diberikan                 | Frekuensi Buang Air Besar (BAB) |       |        |       |        |      | Respon pengobatan |
|----|---------------------------------------|---------------------------------|-------|--------|-------|--------|------|-------------------|
|    |                                       | BAB (-)                         | %     | BAB 1x | %     | BAB 2x | %    |                   |
| 1  | Attapulgite                           | 17                              | 16.19 | 31     | 29.52 | 7      | 6.66 | membaik           |
| 2  | Loperamid HCL                         | 8                               | 7.62  | 7      | 6.6   | 3      | 2.85 | membaik           |
| 3  | Loperamide HCl+ Attapulgite           | 4                               | 3.80  | 6      | 5.71  | 9      | 8.57 | membaik           |
| 4  | Attapulgite+lactobacillus             | 1                               | 0.90  | 5      | 4.76  | 3      | 2.85 | membaik           |
| 5  | Attapulgite+Loperamide+ Lactobacillus | 0                               | 0     | 1      | 0.90  | 3      | 2.85 | membaik           |
| 6  | Loperamide+ Lactobacillus             | 1                               | 0.90  | 0      | 0     | 0      | 0    | membaik           |

Pada Tabel 5. terdapat informasi bahwa terapi yang diberikan kepada pasien memberikan perbaikan dalam penurunan frekuensi diare, nampak 100% pasien yang dirawat di RS Swasta provinsi Banten mengalami penurunan BAB dan dinyatakan sembuh ketika keluar dari Rumah sakit. Penggunaan attapulgite menempati urutan terbanyak dengan hasil pasien tidak lagi mengalami BAB setelah menggunakan attapulgite (16,19%). Attapulgite tidak memiliki efek samping yang berarti karena tidak diserap secara langsung dan bekerja lokal di dalam usus. Attapulgite diberikan saat timbul gejala pertama pada pasien dan pemakaian dosisnya dapat dikurangi setelah dirasa adanya perbaikan dalam feses pasien. Penggunaan attapulgite dinilai efektif dan banyak digunakan untuk pengobatan diare infeksi pada dewasa karena dilihat adanya penurunan frekuensi kejadian diare yang dialami oleh pasien dan pasien dinyatakan sembuh setelah mendapat terapi pengobatan selama rawat inap (World Health Organization, 2005).

Terapi antidiare dengan loperamide efektif untuk mengobati pasien dengan diagnosa diare infeksi pada pasien dewasa dilihat dari penurunan frekuensi diare pada pasien diare yang menjalani rawat inap sebanyak 7,62% pasien. Kombinasi antara loperamide dan attapulgite ditujukan untuk mengurangi *side effect* yang ditimbulkan dari penggunaan loperamide secara tunggal, karena attapulgite berfungsi dapat menyerap racun didalam saluran pencernaan dengan dosis penggunaan 600mg tujuh kali sehari selama masa perawatan sampai gejala dirasa telah berkurang (World Gastroenterology Organisation, 2008). Loperamide banyak disarankan pada pasien dengan disentri dan diberikan secara monoterapi atau terapi tambahan dikombinasikan dengan antibiotik pada orang dewasa yang imunokompeten tanpa penyakit komplikasi. Hal ini terbukti mengurangi frekuensi dan durasi diare tanpa risiko komplikasi yang parah (Douma & Smulders, 2015).

Penggunaan probiotik juga memiliki efek samping karena probiotik mengandung mikroorganisme yang dapat mengganggu mikroorganisme asli di dalam pencernaan. Hal ini dapat

terjadi karena probiotik tidak bertahan lama di dalam sistem lambung saat proses metabolisme obat dan kurang efektif digunakan pada pasien dewasa. Hal ini terlihat dari 4 pasien yang menggunakan kombinasi ketiga obat ini, dimana penurunan frekuensi bab 2x lebih banyak dibanding penurunan frekuensi bab 1x bahkan penurunan frekuensi bab (-) tidak terjadi pada pasien.

Hasil penelitian ini memiliki keterbatasan berupa respon pengobatan yang dilihat melalui frekuensi BAB. Perhitungan *balance* cairan yang diberikan kepada pasien tidak dapat dianalisis lebih lanjut, karena ketidaklengkapan dokumentasi pengobatan pasien.

#### 4. Kesimpulan

Pengobatan diare yang banyak diterima pasien di RS Swasta provinsi Banten meliputi Elektrolit Ringer Laktat 71,40%, antidiare berupa attapulgit 52,38% dan antibiotik siprofloksasin 21,9% selama periode tahun 2013-2014. Hasil respon pengobatan pasien dewasa rawat inap ditandai dengan adanya penurunan frekuensi diare/ buang air besar dilihat dari kondisi awal pasien masuk RS sampai keluar rumah sakit dengan pengobatan Ringer Laktat, Attapulgit dan siprofloksasin.

#### Daftar pustaka

- Abdullah M., Firmansyah MA. (2013). Clinical approach and management of chronic diarrhea. *Acta Med Indones.* **45**(2):157-165.
- Beaugerie, L., Sokol, H. (2012). Acute infectious diarrhea in adults: epidemiology and management. *Presse Med.* **42**(1):52-59.
- Douma, J.A., Smulders, Y.M. (2015). Loperamide for acute infectious diarrhoea. *Ned Tijdschr Geneesk.* 159.
- Faure, C. (2013). Clinical Approach and Management of Chronic Diarrhea. *International Journal of Pediatrics.* 2013:14.
- Guarino, A., Guandalini, S., Lo, A. V. (2015). Treating acute diarrhoea in adults. *J Clin Gastroenterol.* 2015 Nov-Dec:49
- Jones, A.C.C., Farthing, M.J.G. (2004). Management of infectious diarrhoea. *British Medical Journal (BMJ).* 53: 296-305.
- Malik, O.A.A. (2017). Role of antimicrobials in the treatment of adult patients presenting to the emergency department with acute gastroenteritis - A mini review. *Pakistan Journal of Medical Sciences.* **33**(2): 488-492.
- Mark S.R., Herbert LD., Bradley A.C. (2016). ACG Clinical Guideline: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Acute Diarrheal Infections in Adults. *Am J Gastroenterol.* 111: 602-622.
- Parek, P., Gandhi, P., Nadkarni, J. (2004). Knowledge and Perception of Practising Doctors in The Management of Acute Watery. *Indian J Community Med.* **29**(2).
- Riset Kesehatan Dasar. (2013). *Pedoman Pewawancara Petugas Pengumpul Data.* Jakarta : Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
- Rao, P. H., Kabra, S. G. (2010). Use of Drugs and Cost of Treatment of Diarrhea in Secondary Level Government Hospitals in Maharashtra. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences.* **72** (3):404-408.
- Wendy, B., Andrew, S. (2014). Acute Diarrhea in Adults. *Jonal American Family Physician.* **89**(3):180-189.

- Wingate D., Phillips SF, Lewis SJ, Malagelada JR, Speelman P, Steffen R, Tytgat GN. (2001). Guidelines for adults on self-medication for the treatment of acute diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther.* **15**(6):773-782.
- World Health Organization. (2005). *The Treatment of Diarrhoea (A manual for physicians and other senior health workers)*. Geneva: World Health Organization
- World Health Organization. (2018). *Diarrhoea*. Geneva: World Health Organization
- World Gastroenterology Organisation. (2008). *WGO Practice Guideline - Acute Diarrhea*. Milwaukee: World Gastroenterology Organisation
- Xiao-Huan Gong, Huan-Yu Wu, Jian Li, Wen-Jia Xiao, Xi Zhang, Min Chen, Zheng Teng, Hao Pan, Zheng-An Yuan. Epidemiology, etiology and seasonality of infectious diarrhoea in adult outpatients through active surveillance in Shanghai, China, 2012–2016: a cross-sectional study. *BMJ Open.* 8.
- Zaid, M.R.B., Hasan, M. and Khan, A.K.A. (1995). Guidelines for adults on self-medication for the treatment of acute diarrhoea. *Journal of diarrhoeal diseases researc.* 13: 44-46.



## Inhibition test of tyrosinase activity from Zingiberaceae

### Uji inhibisi aktivitas enzim tirosinase beberapa jenis tumbuhan Zingiberaceae

Arini Aprilliani\*, Asep Gana Suganda, Rika Hartati

Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung

\*Corresponding author. Email: [arini.aprilliani25@gmail.com](mailto:arini.aprilliani25@gmail.com)

---

#### Abstract

**Background:** Long-term continuous exposure to ultraviolet will cause hyperpigmentation. One of the methods to prevent hyperpigmentation is by inhibiting tyrosinase activity. A number of Zingiberaceae, such as turmeric, galangal, and bangle hantu, can inhibit tyrosinase activity.

**Objective:** This study aimed to test the inhibition of tyrosinase activity by the rhizomes of several Zingiberaceae plants. In addition, the fractions of selected plants were also tested.

**Methods:** Extraction by maceration used 96% ethanol, and fractionation used n-hexane and ethyl acetate. In vitro tyrosinase inhibition test employed alpha-arbutin as the positive control.

**Results:** Test on 19 samples showed the presence of tyrosinase inhibitory activity. The ethanolic extracts of kecombrang, kunci pepet, bangle hitam, temu giring, and red ginger provided the highest level of inhibition against tyrosinase activity with the percentage of inhibition at  $22.50 \pm 1.46\%$ ,  $20.75 \pm 0.04\%$ ,  $19.96 \pm 0.03\%$ ,  $18.85 \pm 0.11\%$ , and  $18.63 \pm 0.06\%$ , respectively. The  $IC_{50}$  of kecombrang extract ( $761.75 \pm 23.1$  mg/L) was higher than that of n-hexane ( $575.37 \pm 4.1$  mg/L), ethyl acetate ( $542.39 \pm 12.4$  mg/L), and water fraction ( $587.40 \pm 2.6$  mg/L).

**Conclusion:** The three fractions had better levels of  $IC_{50}$  than the extract. The ethyl acetate fraction had a significantly higher level of tyrosinase inhibition than the water fraction and n-hexane fraction of kecombrang rhizome.

**Keywords:** tyrosinase, Zingiberaceae, alpha-arbutin, kecombrang

#### Intisari

**Latar belakang:** Paparan sinar UV secara terus menerus dalam jangka lama akan menyebabkan hiperpigmentasi pada kulit. Salah satu pencegahan hiperpigmentasi adalah dengan penghambatan aktivitas tirosinase. Beberapa suku Zingiberaceae seperti kunyit, lengkuas dan bangle hantu dapat menghambat aktivitas tirosinase.

**Tujuan:** Tujuan penelitian adalah untuk menguji inhibisi aktivitas enzim tirosinase dari rimpang beberapa jenis tumbuhan anggota suku Zingiberaceae. Selain itu, dilakukan pula terhadap hasil fraksinasi tumbuhan terpilih.

**Metode:** Ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96 % dan fraksinasi menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat. Uji penghambatan tirosinase secara *in vitro* dengan kontrol positif menggunakan alpha-arbutin.

**Hasil:** Hasil uji terhadap 19 sampel tumbuhan menunjukkan adanya aktivitas inhibisi tirosinase. Ekstrak etanol rimpang kecombrang, kunci pepet, bangle hitam, temu giring dan jahe merah memberikan nilai inhibisi tertinggi terhadap aktivitas tirosinase dengan persen inhibisi masing-masing sebesar  $22,50 \pm 1,46$  %,  $20,75 \pm 0,04$  %,  $19,96 \pm 0,03$  %,  $18,85 \pm 0,11$  %,  $18,63 \pm 0,06$  %.  $IC_{50}$  ekstrak rimpang kecombrang ( $761,75 \pm 23,1$  mg/L) lebih tinggi dibandingkan  $IC_{50}$  yang dihasilkan oleh fraksi n-heksana rimpang kecombrang ( $575,37 \pm 4,1$  mg/L), fraksi etil asetat rimpang kecombrang ( $542,39 \pm 12,4$  mg/L) dan fraksi air rimpang kecombrang ( $587,40 \pm 2,6$  mg/L).

**Kesimpulan:** Sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiga hasil fraksi memiliki  $IC_{50}$  lebih baik dibandingkan ekstrak. Fraksi etil asetat rimpang kecombrang memiliki penghambatan tirosinase lebih baik secara signifikan dibandingkan fraksi air rimpang kecombrang dan fraksi n-heksana rimpang kecombrang.

**Kata kunci:** tirosinase, Zingiberaceae, alpha-arbutin, kecombrang.

---

## 1. Pendahuluan

Kulit merupakan bagian terluar pada tubuh manusia yang berperan penting dalam proteksi tubuh. Salah satu fungsi kulit adalah melindungi tubuh dari paparan sinar UV. Paparan sinar UV secara terus menerus dalam jangka lama akan menyebabkan hiperpigmentasi pada kulit. Hiperpigmentasi adalah gangguan pada pigmen kulit yang disebabkan karena adanya peningkatan produksi melanin dan pendistribusian melanin yang tidak merata, pada kondisi ini akan menyebabkan penggelapan pada kulit dan timbulnya noda-noda hitam pada bagian tertentu (Adhikari dkk., 2008). Salah satu pencegahan hiperpigmentasi adalah dengan menghambat pembentukan melanin dengan cara melakukan penghambatan aktivitas tirosinase (Woolery-Lloyd & Kammer, 2011).

Tirosinase adalah enzim yang berperan mengkatalisis dua reaksi utama dalam biosintesis melanin, yaitu hidroksilasi L-tirosin menjadi L-dopa dan oksidasi L-dopa menjadi dopakuinon selanjutnya dopakuinon akan berpolimerisasi membentuk dopakrom yang kemudian menjadi melanin (Chang dkk., 2005). Penghambat tirosinase yang telah populer di masyarakat adalah hidrokuinon dan asam kojat. Namun hidrokuinon dan asam kojat diketahui bersifat karsinogenik (Germanas dkk., 2007; Miyazawa & Tamura, 2007). Maka sekarang ini banyak yang berupaya mencari senyawa baru penghambat enzim tirosinase.

Di Indonesia secara turun-temurun kunyit digunakan sebagai bahan dasar lulur jawa (Jumarani, 2009). Wanita Nepal juga menggunakan kunyit dan jahe secara topikal untuk mengatasi bintik-bintik gelap (Adhikari dkk., 2008). Selain itu beberapa penelitian telah melaporkan aktivitas penghambatan enzim tirosinase dari suku zingiberaceae seperti daun kunyit, daun bangle hantu, rimpang dan daun lengkuas (Shirota dkk., 1994; Batubara dkk., 2016).

Berdasarkan pendekatan taksonomi dipilihlah Sembilan belas tumbuhan dari suku zingiberaceae yang akan diuji dalam penghambatan enzim tirosinase, yaitu sebagai berikut: Lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vieill.) K.Schum.), Temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.), Temu giring (*Curcuma heyneana* Valetton & Zijp), Temu mangga (*Curcuma mangga* Valetton & Zijp), Temu putri (*Curcuma petiolata* Roxb), Temu pinggang (*Curcuma purpurascens* Blume), Temu glenyeh (*Curcuma soloensis* Valetton), Temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.), kunyit putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe), Kapulaga (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton), Kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm.), Kencur (*Kaempferia galanga* L.), Kunci pepet (*Kaempferia rotunda* L.), Lempuyang pahit (*Zingiber amaricans* Blume), Lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* L.), Bangle (*Zingiber montanum* (J.Koenig) Link ex A.Dietr.), Jahe merah (*Zingiber officinale* Roscoe), Bangle hitam (*Zingiber ottensii* Valetton), Lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji inhibisi aktivitas enzim tirosinase dari rimpang beberapa jenis tumbuhan anggota suku zingiberaceae. Selain itu, dilakukan pula terhadap hasil fraksinasi tumbuhan terpilih.

## 1. Metode penelitian

### 1.1. Bahan

Bahan yang digunakan adalah Lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vieill.) K.Schum.), Temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.), Temu giring (*Curcuma heyneana* Valetton & Zijp), Temu mangga (*Curcuma mangga* Valetton & Zijp), Temu putri (*Curcuma petiolata* Roxb), Temu pinggang (*Curcuma purpurascens* Blume), Temu glenyeh (*Curcuma soloensis* Valetton), Temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.), kunyit putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe), Kapulaga (*Eletaria cardamomum* (L.) Maton), Kecombrang (*Etingera elatior* (Jack) R.M.Sm.), Kencur (*Kaempferia galanga* L.), Kunci pepet (*Kaempferia rotunda* L.), Lempuyang pahit (*Zingiber amaricans* Blume), Lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* L.), Bangle (*Zingiber montanum* (J.Koenig) Link ex A.Dietr.), Jahe merah (*Zingiber officinale* Roscoe), Bangle hitam (*Zingiber ottensii* Valetton), Lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.), etanol 96%, n-heksana, etil asetat, air suling, kalium dihidrogen fosfat, natrium hidroksida, L-dopa, *tyrosinase from mushroom* (sigma Aldrich), arbutin, dimetil sulfoksida, amonia, kloroform, bismuth subnitrat, asam nitrat, kalium iodida, hidrogen klorida, merkuriium (II) klorida, kalium iodida, serbuk magnesium, amil alkohol, besi (III) klorida, formaldehid, asam klorida, natrium asetat, gelatin, eter, asam asetat anhidrat, asam sulfat.

### 1.2. Alat

Alat yang digunakan adalah oven, alat penggiling simplisia, timbangan analitik, seperangkat alat maserasi, *rotavapor*, penangas air, tabung reaksi, pipet tetes, cawan porselin, *freeze dryer*, *well-microtiter plate*, *microplate reader*, mikropipet, batang pengaduk, vial, corong, mortar, corong pisah, dan alat-alat gelas lain yang umum digunakan.

### 1.3. Penyiapan Bahan

Penyiapan bahan meliputi pengumpulan tumbuhan. Tumbuhan dipilih berdasarkan pendekatan taksonomi. Sebanyak tujuh belas tumbuhan diperoleh dari Kebun Percobaan Tumbuhan Obat Manoko Lembang, Kabupaten Bandung Barat, Provinsi Jawa barat kemudian dilakukan sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering dan penggilingan. Dua tumbuhan diperoleh dari Toko Jamu dan Rempah Babah Kuya berupa simplisia meliputi kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) dan kunci pepet (*Kaempferia rotunda*), kemudian dilakukan sortasi kering dan penggilingan.

### 1.4. Ekstraksi

Sebanyak 20 gram simplisia diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 100 ml. Dilakukan perendaman selama 6 jam pertama sambil sekali-sekali diaduk, kemudian didiamkan selama 18 jam lalu maserat dipisahkan. Proses penyarian diulangi sebanyak satu kali dengan jenis pelarut yang sama dengan volume pelarut sebanyak 50 ml. Maserat lalu dipekatkan menggunakan penguap vakum putar. Ekstrak kental selanjutnya dikeringkan dengan pengering beku dan siap digunakan untuk bahan uji.

#### 1.5. Uji penghambatan aktivitas tirosinase secara *in vitro*

Uji penghambatan aktivitas tirosinase secara *in vitro* menggunakan metode Chan dkk, (2008).

##### 1. Pembuatan Larutan uji

###### a. Pembuatan dapar fosfat pH 6,8

Untuk menyiapkan 1 liter dapar fosfat, kalium dihidrogen fosfat ditimbang 6,8 gram dimasukan kedalam labu ukur 250 ml, ditambahkan air suling hingga garis batas. Lalu kocok hingga homogen, kemudian natrium hidroksida ditimbang 2 gram dimasukan ke labu ukur 250 ml, ditambahkan air suling hingga garis batas, dikocok hingga homogen. Larutan kalium dihidrogen fosfat dimasukan ke beaker glass 1 liter yang telah dikalibrasi. Kemudian pH dicek menggunakan pH meter. 20 ml larutan natrium hidroksida ditambahkan kedalam beaker glass yang berisi larutan kalium dihidrogen fosfat dan ditambahkan air suling mendekati 1 liter. Natrium hidroksida ditetesi terus menerus hingga diperoleh pH 6,8.

###### b. Pembuatan larutan L-dopa

Sebanyak 39,438 mg L-dopa dilarutkan dalam 10 ml dapar fosfat sehingga konsentrasi L-dopa 20 mM. Lalu diencerkan hingga konsentrasi 10 mM.

###### c. Pembuatan Larutan Tirosinase

Enzim dalam kemasan adalah 25 KU (tyrosinase sigma T3824). Total unit 25.000 Unit. Unit/mg Solid dalam CoA = 2687 U/mg (berat dalam vial 9,3 mg). Serbuk Enzim 25 KU dilarutkan dalam 10 ml dapar fosfat. Sehingga konsentrasi yang didapatkan 2500 U/ml. Selanjutnya untuk uji inhibisi aktivitas tirosinase dibuat larutan enzim dengan konsentrasi 31 U/ml.

###### d. Pembuatan larutan kontrol positif (*arbutin*)

Dibuat larutan induk 1000 ppm dengan cara 10 mg arbutin dilarutkan dalam 10 ml dapar fosfat. Kemudian diencerkan menjadi 900, 700, 500, 300, 100 ppm.

Pengujian penghambatan aktivitas tirosinase dilakukan oleh 19 ekstrak kering. Larutan uji dibuat konsentrasi 500 ppm dalam dimetil sulfoksida 10% dengan cara 5 mg ekstrak ditambah 1 ml dimetil sulfoksida kemudian ditambah 9 ml dapar fosfat. Sejumlah 80 µL larutan buffer fosfat, 40 µL larutan uji, 40 µL larutan enzim tirosinase dan 40 µL larutan L-dopa dimasukan kedalam *well-microtiter plate*. Masing masing sampel dibuat kontrol dimana tidak

ditambahkan larutan L-dopa. Kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Campuran diukur absorbansinya menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 410 nm.

**Tabel 1** Prosedur uji penghambatan aktivitas tirosinase

| Bahan                    | Plate (µL)     |                |                |                |                |                |
|--------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                          | S <sub>1</sub> | S <sub>0</sub> | B <sub>1</sub> | B <sub>0</sub> | A <sub>1</sub> | A <sub>2</sub> |
| Laruta buffer fosfat     | 80             | 120            | 120            | 160            | 80             | 120            |
| Larutan Uji              | 40             | 40             | -              | -              | -              | -              |
| Larutan arbutin          | -              | -              | -              | -              | 40             | 40             |
| Larutan enzim tirosinase | 40             | 40             | 40             | 40             | 40             | 40             |
| Larutan L-dopa           | 40             | -              | 40             | -              | 40             | -              |

Inkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit

**Keterangan :**

- S<sub>1</sub> : larutan uji  
 S<sub>0</sub> : kontrol larutan uji  
 B<sub>1</sub> : blanko  
 B<sub>0</sub> : kontrol blanko  
 A<sub>1</sub> : arbutin (kontrol positif)  
 A<sub>0</sub> : kontrol arbutin

Uji penghambatan aktivitas tirosinase ditentukan dengan mengukur absorbansi menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang optimum. Absorbansi yang terukur merupakan absorbansi pembentuk dopakrom (Chan dkk., 2008). Dari absorbansi pengukuran ini dapat dihitung persentase inhibisi tirosinase menurut metode Chang dkk. (2005) dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Inhibisi tirosinase} = \frac{(B_1 - B_0) - (S_1 - S_0)}{(B_1 - B_0)} \times 100 \quad (1)$$

**Keterangan:**

- B<sub>1</sub> = absorbansi blanko  
 B<sub>0</sub> = absorbansi kontrol blanko  
 S<sub>1</sub> = absorbansi larutan uji  
 S<sub>0</sub> = absorbansi kontrol larutan uji

### 1.6. Uji IC<sub>50</sub> Tumbuhan terpilih

Nilai IC<sub>50</sub> adalah nilai yang menunjukkan besarnya konsentrasi bahan uji yang dapat menghambat aktivitas tirosinase sebesar 50 %. IC<sub>50</sub> diuji dengan menggunakan persamaan

regresi linear, konsentrasi sampel (dalam logaritma) sebagai sumbu x dan persen penghambatan (% inhibisi) sebagai sumbu y. Dari persamaan  $y = a+bx$  dapat dihitung nilai  $IC_{50}$ .

Lima sampel terpilih masing-masing dibuat konsentrasi 100, 300, 500, 700 dan 900 ppm. Arbutin digunakan sebagai kontrol positif. Ekstrak terpilih yang memiliki Nilai  $IC_{50}$  terbaik kemudian difraksinasi menggunakan metode ekstraksi cair-cair. kemudian masing-masing fraksi dilakukan pengujian Nilai  $IC_{50}$ .

#### 1.7. *Penapisan Fitokimia Tumbuhan Terpilih*

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap golongan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, dan steroid/triterpenoid.

#### 1.8. *Alkaloid*

Sebanyak 2 g sampel digerus dalam mortar bersama dengan amonia 25%. Selanjutnya ditambahkan 20 mL kloroform ke dalam mortar lalu digerus dengan kuat. Campuran kemudian disaring dan filtrat yang diperoleh diteteskan pada kertas saring lalu ditetesi pereaksi Dragendorff. Warna jingga yang teramati menunjukkan adanya alkaloid pada sampel. Sisa filtrat diesktraksi sebanyak 2 kali dalam corong pisah dengan HCl 10%. Lapisan air dipisahkan dari lapisan organik. Lapisan air diambil lalu dimasukkan ke tabung reaksi untuk diuji dengan pereaksi Mayer dan Dragendorff. Hasil positif apabila terdapat endapan putih dengan pereaksi Mayer dan endapan merah dengan pereaksi Dragendorff (Juarna, 2018).

#### 1.9. *Flavonoid*

Sebanyak 2 g sampel dipanaskan dalam 100 mL air selama 15 menit kemudian disaring dan filtratnya ditampung (filtrat A). Sebanyak 5 mL filtrat A diambil kemudian ditambahkan dengan 0,1 g serbuk magnesium, 1 mL HCl, 5 mL amil alkohol, lalu dikocok dan dibiarkan memisah. Flavonoid positif bila terbentuk warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (Juarna, 2018).

#### 1.10. *Saponin*

Sebanyak 10 ml filtrat A dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tabung dikocok kuat selama 10 detik, jika terbentuk busa yang dapat bertahan selama 1 menit diduga mengandung saponin. Kemudian diteteskan larutan HCl 2 N ke dalam tabung reaksi. Apabila busa tidak hilang maka hal tersebut menunjukkan bahwa sampel positif mengandung saponin (Juarna, 2018).

#### 1.11. *Tanin*

Dimasukkan filtrat A masing-masing sebanyak 5 mL ke dalam tiga buah tabung reaksi. Pada tabung pertama, sampel diuji dengan larutan  $FeCl_3$  kemudian diamati adanya warna hijau biru yang menjadi tanda keberadaan senyawa golongan fenol. Pada tabung kedua ditambahkan gelatin sebagai pereaksi spesifik untuk tanin. Terbentuknya endapan putih menandakan keberadaan tanin dalam sampel. Pada tabung ketiga ditambahkan pereaksi Stiasny kemudian dipanaskan selama 10 menit. Terbentuknya endapan merah muda menunjukkan adanya tanin

katekat Endapan disaring, filtrat ditambahkan natrium asetat hingga jenuh dan ditambahkan beberapa tetes larutan besi (III) klorida, terbentuk warna biru hitam menunjukkan adanya senyawa tanin galat (Juarna, 2018).

#### 1.12. *Kuinon*

Sebanyak 5 ml filtrat A dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan dengan 1 tetes NaOH 6 N. Terbentuknya warna merah menunjukkan hasil positif terhadap pengujian kuinon (Juarna, 2018)

#### 1.13. *Steroid/triterpenoid*

Sebanyak 1 g sampel dimaserasi dengan 20 ml n-heksana selama 2 jam kemudian disaring lalu filtratnya ditampung. Sebanyak 5 ml filtrat diuapkan di cawan penguap. Pereaksi Liebermann-Burchard ditambahkan ke dalam residu hasil penguapan. Terbentuknya warna hijau menunjukkan adanya steroid dan terbentuknya warna merah sampai violet menunjukkan adanya triterpenoid dalam sampel (Juarna, 2018).

## 2. Hasil dan pembahasan

### 2.1. *Penyiapan Bahan*

Tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas 19 jenis tumbuhan anggota suku zingiberaceae yang dipilih berdasarkan pendekatan taksonomi. Sebanyak tujuh belas tumbuhan diperoleh dari Kebun Percobaan Tumbuhan Obat Manoko Lembang, Kabupaten Bandung Barat, Provinsi Jawa barat, meliputi Lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vieill.) K.Schum.), Temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.), Temu giring (*Curcuma heyneana* Valetton & Zijp), Temu mangga (*Curcuma mangga* Valetton & Zijp), Temu putri (*Curcuma petiolata* Roxb), Temu pinggang (*Curcuma purpurascens* Blume), Temu glenyeh (*Curcuma soloensis* Val.), Temu lawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.), Kapulaga (*Eletaria cardamomum* (L.) Maton), Kecombrang (*Etingera elatior* (Jack) R.M.Sm.), Kencur (*Kaempferia galanga* L.), Lempuyang pahit (*Zingiber amaricans*), Lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* L.), Bangle (*Zingiber montanum* (J.Koenig) Link ex A.Dietr.), Jahe merah (*Zingiber officinale* Roscoe), Bangle hitam (*Zingiber Ottensii* Val.), Lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.) dan dua tumbuhan diperoleh dari Toko Jamu dan Rempah Babah Kuya berupa simplisia kering meliputi kunyit putih (*Curcuma zedoaria* (Christm.) Roscoe), dan Kunci pepet (*Kaempferia rotunda* L.), Pengumpulan tumbuhan dilakukan pada bulan Desember 2017, kemudian dilakukan sortasi basah pada 17 simplisia yang didapatkan dari Kebun Percobaan Tumbuhan Obat Manoko Lembang untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Misalnya pada simplisia yang dibuat dari rimpang, bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, serta pengotor-pengotor lainnya harus dibuang.

Setelah dilakukan sortasi basah 17 simplisia dicuci guna menghilangkan tanah dan pengotor lainnya yang melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih yang mengalir. Perajangan bahan simplisia dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan dan penggilingan. Pengeringan bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu lama. Sortasi kering dilakukan pada 19 simplisia untuk memisahkan benda-benda asing dan pengotor-pengotor lain yang masih ada dan tertinggal pada simplisia kering. Simplisia kemudian diperkecil dengan cara penggilingan menggunakan *hammer mill* dan serbuk yang diperkecil disimpan dalam wadah kering, tertutup rapat pada suhu kamar untuk digunakan pada tahap penelitian selanjutnya.

## 2.2. Ekstraksi

Simplisia diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Metode maserasi merupakan ekstraksi cara dingin yang dilakukan dalam suhu ruang dan relatif aman digunakan untuk senyawa yang tahan atau tidak tahan terhadap pemanasan, metode ini dipilih karena senyawa yang terkandung dalam simplisia belum diketahui komponennya, sehingga belum diketahui kestabilan komponennya. Dipilihnya etanol 96% sebagai pelarut karena etanol 96% merupakan salah satu pelarut pilihan utama untuk mengekstraksi metabolit sekunder yang belum diketahui strukturnya, pelarut ini memiliki *extracting power* (daya ekstraksi) sehingga dapat menyari hampir semua metabolit sekunder (Saifudin, 2014).

## 2.3. Uji penghambatan tirosinase secara *in vitro*

Uji penghambatan aktivitas tirosinase dilakukan dengan menggunakan arbutin sebagai kontrol positif. Arbutin digunakan karena merupakan senyawa yang umum digunakan sebagai agen pemutih kulit dan penghambat enzim tirosinase yang sering juga dipakai sebagai kontrol positif untuk perbandingan kekuatan inhibisi aktivitas enzim tirosinase (Parvez dkk., 2007). Dari hasil pengujian persentase inhibisi pada **tabel 2** didapatkan lima tumbuhan yang memiliki penghambatan enzim tirosinase tertinggi yaitu rimpang kecombrang ( $22.50 \pm 1.456\%$ ), rimpang kunci pepet ( $20.75 \pm 0.040\%$ ), rimpang bangle hitam ( $19.96 \pm 0.035\%$ ), rimpang temu giring ( $18.85 \pm 0.112\%$ ) dan rimpang jahe merah ( $18.63 \pm 0.060\%$ ). kelima tumbuhan terpilih masing-masing dibuat konsentrasi 100, 300, 500, 700 dan 900 ppm untuk selanjutnya di uji  $IC_{50}$ .

Pada tabel 2 dan tabel 3 dapat dilihat bahwa tumbuhan kecombrang memiliki persentase inhibisi aktivitas tirosinase tertinggi dibandingkan tumbuhan lainnya dengan nilai penghambatan sebesar (22.50%) dan memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar  $761.75 \pm 23.13$  ppm, hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa daun kecombrang memiliki aktivitas inhibisi tirosinase yang kuat. Telah dilaporkan juga beberapa penelitian yang membuktikan bahwa suku zingiberaceae lainnya berpotensi dalam menghambat aktivitas tirosinase yaitu rimpang dan daun lengkuas, rimpang dan daun temu kunci, daun temu ireng, rimpang dan daun kunyit, daun temu lawak, daun kunyit putih, daun dan buah kapulaga,



rimpang dan daun jahe emprit (Batubara dkk., 2016, Kamkaen dkk., 2007, Khanom dkk., 2003 dan Panich dkk., 2010)

**Tabel 2** Persentase inhibisi aktivitas tirosinase rimpang 19 jenis tumbuhan anggota suku zingiberace

| <b>Nama Simplisia</b>     | <b>% Inhibisi ± SD</b> |
|---------------------------|------------------------|
| Lengkuas merah            | 11.68 ± 0.16           |
| Temu hitam                | 13.98 ± 1.24           |
| Temu giring               | 18.85 ± 0.11           |
| Temu mangga               | 11.08 ± 0.28           |
| Temu putri                | 15.27 ± 0.13           |
| Temu pinggang             | 17.59 ± 0.08           |
| Temu gleyeh               | 13.14 ± 0.32           |
| Temu lawak                | 15.51 ± 0.22           |
| Kunyit putih              | 13.67 ± 2.12           |
| Kapulaga                  | 12.34 ± 0.45           |
| Kecombrang                | 22.50 ± 1.46           |
| Kencur                    | 14.16 ± 0.55           |
| Kunci pepet               | 20.75 ± 0.04           |
| Lempuyang pahit           | 16.37 ± 0.96           |
| Lempuyang wangi           | 14.68 ± 1.23           |
| Bangle                    | 15.06 ± 0.58           |
| Jahe merah                | 18.63 ± 0.06           |
| Bangle hitam              | 19.96 ± 0.03           |
| Lempuyang gajah           | 17.18 ± 0.77           |
| Arbutin (control positif) | 61.52 ± 0.36           |

**Tabel 3** IC<sub>50</sub> Ekstrak etanol Lima tumbuhan terpilih

| <b>Nama Simplisia</b>     | <b>IC<sub>50</sub> (ppm)</b> |
|---------------------------|------------------------------|
| Kecombrang                | 761.76 ± 23.13               |
| Kunci pepet               | 907.98 ± 42.63               |
| Bangle hitam              | 900.62 ± 17.80               |
| Temu giring               | 777.13 ± 24.85               |
| Jahe merah                | 940.71 ± 19.37               |
| Arbutin (kontrol positif) | 436.30 ± 18.78               |

#### 2.4. Fraksinasi dan uji IC<sub>50</sub> fraksi tumbuhan terpilih

Ekstrak rimpang kecombrang difraksinasi dengan cara ekstraksi cair-cair (ECC) secara berturut turut menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat. Sebanyak 50 gram ekstrak etanol kering dilarutkan dalam 500 ml air suling panas, kemudian ditambahkan 500 ml n-heksana dan dikocok secara perlahan menggunakan corong pisah sampai terbentuk dua lapisan, yaitu lapisan air dan n-heksana. Selanjutnya lapisan n-heksana dipisahkan, ECC menggunakan pelarut n-heksana diulang sebanyak dua kali dengan pelarut dan volume yang sama, lapisan n-heksana yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan penguap vakum putar. Selanjutnya 500 ml etil asetat ditambahkan pada lapisan air dan dikocok secara perlahan. Kemudian lapisan

etil asetat dipisahkan, ECC menggunakan pelarut etil asetat diulang sebanyak dua kali dengan pelarut dan volume yang sama kemudian dipekatkan menggunakan penguap vakum putar dan lapisan air yang diperoleh dikeringkan dengan alat pengering beku. Kemudian terhadap fraksi n-heksana rimpang kecombrang (FNRK), Fraksi etil asetat rimpang kecombrang (FERK) dan Fraksi air rimpang kecombrang (FARK) dilakukan uji  $IC_{50}$ , dengan hasil sbb:

**Tabel 4**  $IC_{50}$  Fraksi N-heksana, Fraksi Etil asetat dan Fraksi air rimpang kecombrang

| Sampel | $IC_{50}$ (mg/L)         |
|--------|--------------------------|
| FNRK   | 575,37±4,1 <sup>a</sup>  |
| FERK   | 542,39±12,4 <sup>b</sup> |
| FARK   | 587,40±2,6 <sup>a</sup>  |

Dari hasil uji  $IC_{50}$  fraksi pada **tabel 4** dapat dilihat bahwa fraksi etil asetat rimpang kecombrang memiliki penghambatan tirosinase lebih baik secara signifikan dibandingkan fraksi air rimpang kecombrang dan fraksi n-heksana rimpang kecombrang.

### 2.5. Penapisan Fitokimia Tumbuhan Terpilih

Penapisan fitokimia bertujuan mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan. Hasil penapisan fitokimia simplisia kecombrang mengandung senyawa senyawa flavonoid, fenol, tanin dan kuinon. Senyawa golongan flavonoid merupakan penghambat kuat terhadap aktivitas tirosinase seperti kaempferol, kuarsetin, kurarinon dan kushnol (Parvez dkk., 2007).

Tabel 5. Penapisan fitokimia simplisia kecombrang

| Golongan             | Simplisia |
|----------------------|-----------|
| Flavonoid            | +         |
| Fenol                | +         |
| Tanin katekat        | +         |
| Tanin galat          | -         |
| Kuinon               | +         |
| Saponin              | -         |
| Alkaloid             | -         |
| Steroid/Triterpenoid | +         |

**Keterangan:** (+): Terdeteksi, (-): Tidak terdeteksi

### 3. Kesimpulan

Hasil uji terhadap 19 sampel tumbuhan menunjukkan adanya aktivitas inhibisi tirosinase. Ekstrak etanol rimpang kecombrang, kunci pepet, bangle hitam, temu giring dan jahe merah

memberikan nilai inhibisi tertinggi terhadap aktivitas tirosinase dengan persen inhibisi masing-masing sebesar  $22,50 \pm 1,46 \%$ ,  $20,75 \pm 0,04 \%$ ,  $19,96 \pm 0,03 \%$ ,  $18,85 \pm 0,11 \%$ ,  $18,63 \pm 0,06 \%$ .  $IC_{50}$  ekstrak rimpang kecombrang ( $761,75 \pm 23,1$  mg/L) lebih tinggi dibandingkan  $IC_{50}$  yang dihasilkan oleh fraksi n-heksana rimpang kecombrang ( $575,37 \pm 4,1$  mg/L), fraksi etil asetat rimpang kecombrang ( $542,39 \pm 12,4$  mg/L) dan fraksi air rimpang kecombrang ( $587,40 \pm 2,6$  mg/L) sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiga hasil fraksi memiliki  $IC_{50}$  lebih baik dibandingkan ekstrak. Fraksi etil asetat rimpang kecombrang memiliki penghambatan tirosinase lebih baik secara signifikan dibandingkan fraksi air rimpang kecombrang dan fraksi n-heksana rimpang kecombrang. Simplisia rimpang kecombrang mengandung golongan senyawa flavonoid, kuinon, fenol, tanin katekat dan steroid/triterpenoid.

### Daftar pustaka

- Adhikari, A., Devkota, H.P., Takano, A., Masuda, K., Nakane, T., Basnet, P., dan Skalko-Basnet, N. (2008): Screening of Nepalese crude drugs traditionally used to treat hyperpigmentation in vitro tyrosinase inhibition, *International Journal of Cosmetic Science*, **30**, 353 – 360.
- Batubara, I., Kartika, Y., dan Darusman, L.K. (2016): Relationship between zingiberaceae leaves compounds and its tyrosinase activity, *Biosaintifika*, **8** (3), 370 – 376.
- Chan, E.W.C., Lim, Y.Y., Wong, L.F., Lianto, F.S, Wong, S.K., Lim, K.K., Joe, C.E., Lim, T.Y. (2008): Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species, *Food Chemistry*, **109**, 477-483.
- Chang, T.S., Ding, H.Y., dan Lin, H.C. (2005): Identifying 6,7,4'-Trihydroxyisoflavone as a potent tyrosinase inhibitor, *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, **69**, 1999 – 2001.
- Germanas, J.P., Wang, S., Miner, A., Haob, W., dan Ready, J. M. (2007): Discovery of small-molecule inhibitors of tyrosinase. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, **17**, 6871-6875.
- Juarna, K.S. (2018) : *Antioxidant Activities Of Green Bean And Roasted Bean Arabica Coffee (Coffea Arabica L.) From Three Regions In Indonesia Using Dpph And Frap Methods*, Tesis Program Megister, Institut Teknologi Bandung, 18-20.
- Jumarani, L. (2009): *The essence of Indonesian spa (spa Indonesia gaya Jawa dan Bali)*, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, 27.
- Kamkaen, N., Mulsri, N., dan Treesak, C. (2007): Screening of Some Tropical Vegetables for Anti-tyrosinase Activity, *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal*, **2** (1), 15-19.
- Khanom, F., Kayahara, H., Hirota, M., dan Tadasa, K. (2003): Super Scavenging and Tyrosinase Inhibitory Active Compound in Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe), *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **6** (24), 1997-2000.
- Miyazawa, M., dan Tamura, N. (2007): Inhibitory Compound of Tyrosinase Activity from the Sprout of *Polygonum hydropiper* L. (Benitade), *Journal Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **30**(3) 595—597.
- Parvez, S., Kang, M., Chung, H., dan Bae, H. (2007): Naturally occurring tyrosinase inhibitors mechanism and applications in skin health, cosmetics and agriculture industries, *Phytotherapy Research*, **21**, 805 – 816.
- Panich, U., Kongtaphan, K., Onkoksoong, T., Jaemsak, K., Phadungrakwittaya, R., Thaworn, A., Akarasereenont, P., dan Wongkajornsilp, A. (2010): Modulation of antioxidant defense by *Alpinia galangal* and *Curcuma aromatica* extracts correlates with their inhibition of UVA-induced melanogenesis, *Cell Biol Toxicol*, **26**, 103-116.
- Saifudin, A. (2014): *Senyawa alam metabolit sekunder teori, konsep, dan teknik pemurnian*, Penerbit Deepublish, Yogyakarta, 46.

- Shirota, S., Miyazaki, K., Aiyama, R., Ichiko, M., dan Yokokura, T. (1994): Tyrosinase inhibitors from crude drugs, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **17** (2), 266 – 269.
- Woolery-Lloyd, H. dan Kammer, J. N. (2011): Treatment of hyperpigmentation, *Seminar In Cutaneous Medicine and Surgery*, **30**, 171-175.

