

# Formulasi Mikroemulsi Ekstrak Bawang Hutan dan Uji Aktivitas Antioksidan

Evi Sulastri<sup>1</sup>, Cristadeolia Oktaviani<sup>2</sup>, Yusriadi<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Prodi Farmasi FMIPA, Universitas Tadulako

Email: *evisulas3@gmail.com*

## ABSTRAK

Bawang hutan mengandung senyawa metabolit sekunder golongan naftokuinon (*elecanacin, eleutherin, elutherol, eleutherinon*) yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Beberapa penelitian telah melaporkan tentang aktivitas antioksidan ekstrak yang diformulasi dalam bentuk sediaan tablet dan krim. Penelitian ini bertujuan mengembangkan formula dalam bentuk mikroemulsi sebagai penghantaran yang efektif untuk mempertahankan aktivitas antioksidan ekstrak bawang hutan. Mikroemulsi dibuat dengan menggunakan *virgin coconut oil* (VCO) sebagai fasa minyak, Tween 80 sebagai surfaktan dan gliserin sebagai kosurfaktan. Uji stabilitas fisik yang dilakukan terhadap sediaan meliputi uji organoleptik, pH, viskositas, sentrifugasi dan ukuran globul. Uji aktivitas antioksidan dilakukan secara *in-vitro* menggunakan metode peredaman DPPH dan menggunakan asam askorbat sebagai kontrol positif. Data hasil pengukuran dianalisis secara statistik menggunakan metode *t-student*. Hasil penelitian menunjukkan mikroemulsi dengan tampilan visual yang jernih dan ukuran globul < 5 µm. Meskipun sediaan mengalami perubahan pH dan viskositas tapi tidak terjadi pemisahan fase pada penyimpanan selama 28 hari. Hasil uji aktivitas antioksidan mikroemulsi ekstrak secara berturut-turut pada penyimpanan suhu 33°C dan 40°C: pada hari ke-1 menunjukkan nilai IC50 sebesar 101,167 µg/mL dan 89,956 µg/mL sedangkan hari ke-35 sebesar 127,254 µg/mL dan 101,996 µg/mL. Berdasarkan hasil tersebut, aktivitas antioksidan ekstrak bawang hutan masuk dalam kategori kuat sampai sedang.

**Kata kunci :** Mikroemulsi, ekstrak bawang hutan (*Eleutherine bulbosa* (Mill.)Urb.), mutu fisik, antioksidan.

## ABSTRACT

*Bawang hutan have contain secondary metabolite naftokuinon class (elecanacin, eleutherin, elutherol, eleutherinon) which known have antioxidant activities. Some of research reported antioxidant activity of extract which formulated in tablet and cream dosage form. The aim of this study was to developed effectively delivery system of bawang hutan in microemulsion for maintenance its antioxidant activity. A microemulsion was prepared using an oil phase of Virgin Coconut Oil (VCO), a surfactant of tween 80 and a cosurfactant of gliserin. Evaluation of physical stability the microemulsions included analysis of organoleptic, viscosity, centrifugation and globul size. The antioxidant activities was evaluated by in vitro experiments using scavenging assasy of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radicals and using ascorbic acid as positif control. The evaluation result were statistically analyzed using the t-student. The results indicated that a clear microemulsion and the globul size was < 5 µm. Even though, the pH and viscosity were not*

*stable but there are not separated phase after centrifugation on 28 day storage. The antioxidant activity of microemulsion at 33°C dan 40°C storage respectively showed that IC<sub>50</sub> values on day 1 is 101.167 µg/mL and 89.956 µg/mL, on day 35 is 127.254 µg/mL and 101.996 µg/mL. According to the result, antioxidant activity of bawang hutan extract is categorized into the powerful to moderate antioxidants.*

**Keywords :** *Microemulsion, Eleutherine bulbosa extract (bawang hutan), Physical stability, Antioxidant.*

## I. LATAR BELAKANG

Bawang hutan merupakan tanaman yang umumnya digunakan oleh masyarakat pedalaman sebagai obat atau ramuan tradisional. Tanaman ini mempunyai ciri spesifik yaitu umbi tanaman berwarna merah menyala dan berbentuk kerucut dengan permukaan yang sangat licin. Bawang hutan sudah secara turun temurun (secara empiris) dipergunakan masyarakat Sulawesi Tengah sebagai tanaman obat berbagai jenis penyakit seperti kanker payudara, obat penurun darah tinggi (hipertensi), penyakit kencing manis (diabetes melitus), menurunkan kolesterol, obat bisul, kanker usus dan mencegah stroke. Kandungan yang terdapat dalam bawang hutan terdiri dari senyawa alkaloid, glikosida, flavonoid, fenolik, saponin, triterpenoid, tannin, steroid dan kuinon (Firdaus, 2006; Galingging, 2010; Sharon, 2013). Dari beberapa penelitian, bawang hutan diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder golongan naftokuinon (elecanacin, eleutherin, elutherol, eleutherinon) yang diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Kuntorini,

2013). Penelitian sebelumnya membuktikan adanya aktivitas antioksidan yang kuat pada ekstrak etanol bulbus bawang hutan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 25,3339 µg/ml (Kuntorini & Astuti, 2010). Pengujian secara *in vivo* telah dilakukan terhadap struktur mikroanatomi tubulus seminiferus testis tikus dan pada gambaran histopatologis paru-paru tikus yang dipapar asap rokok dan telah membuktikan bahwa ekstrak etanol bulbus bawang hutan dapat memberikan efek antioksidan (Nurliani dan Ernawati, 2012).

Antioksidan merupakan senyawa yang menghambat, mencegah atau menghilangkan kerusakan oksidatif pada molekul target. Antioksidan dapat berupa molekul kompleks seperti superoksida dismutase, katalase dan peroksiredoksin, atau bisa berupa senyawa sederhana yaitu asam urat dan glutathion, vitamin (misalnya vitamin E, C, A, dan β-karoten), dan senyawa lain (misalnya flavonoid, albumin, bilirubin, seruloplasmin, dan lain-lain). (Gutteridge dan Halliwell, 2010). Disamping antioksidan yang bersifat enzimatis, ada juga antioksidan non-enzimatis yang dapat berupa senyawa

nutrisi maupun non-nutrisi. Antioksidan non-enzimatis banyak ditemukan dalam sayuran maupun buah-buahan, biji-bijian, serta kacang-kacangan (Winarsi, 2007). Senyawa kimia yang tergolong dalam kelompok antioksidan dan dapat ditemui pada tanaman antara lain berasal dari golongan polifenol, bioflavonoid, asam askorbat, vitamin E, betakaroten, katekin, dan lain sebagainya.

Pada beberapa penelitian terdahulu mengenai formulasi ekstrak bawang hutan dalam bentuk sediaan seperti tablet dan krim, menghasilkan sediaan dengan aktivitas antioksidan yang mengalami penurunan aktivitas yang signifikan selama penyimpanan. Sehingga pada penelitian ini dikembangkanlah metode penghantaran obat dalam bentuk mikroemulsi. Penggunaan sistem mikroemulsi dalam bidang farmasi dan kosmetik telah banyak dilakukan. Mikroemulsi merupakan suatu sistem dispersi minyak dan kosurfaktan dengan air yang distabilkan oleh lapisan antar muka dari molekul surfaktan. Mikroemulsi dikembangkan dari sediaan emulsi, tetapi karakteristik sediaan mikroemulsi memiliki banyak kelebihan dibandingkan dengan emulsi biasa yaitu bersifat lebih stabil secara termodinamika, jernih, transparan, viskositasnya rendah, serta mempunyai tingkat solubilisasi yang tinggi (Bakan, 1995; Lawrence *et al*, 2000; Ping Li *et al*, 2005). Mikroemulsi dapat

dibuat untuk pemberian perkutan, peroral, topikal, transdermal, okular dan parenteral (Paul *et al*, 2001). Sediaan mikroemulsi lebih disukai karena bersifat transparan dan stabilitasnya lebih baik. Penelitian ini tidak hanya fokus pada usaha pengembangan formula obat dalam bentuk sediaan mikroemulsi tapi juga mempertahankan stabilitas ekstrak bawang hutan dalam sediaan sehingga aktivitas antioksidannya terjaga.

## II. BAHAN DAN METODE

### A. BAHAN

Bawang hutan (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) diperoleh dari kelurahan Donggala Kodi, Kecamatan Ulujadi Sulawesi Tengah., etanol absolut pro analisis, etanol 96%, akuades, asam askorbat (asam askorbat), tween 80, gliserin, VCO (*Virgin Coconut Oil*), minyak zaitun, kertas saring, alumunium foil, serbuk Mg, asam klorida pekat, FeCl<sub>3</sub> 1%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N, pereaksi dragendorf, kloroform.

### B. METODE

#### 1. Ekstraksi umbi bawang hutan

Sebanyak 1500 g serbuk simplisia bawang hutan diekstraksi menggunakan etanol 96% secukupnya dengan direndam selama 3 x 24 jam dalam wadah maserasi dan dilakukan pengadukan secara berkala kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh

diapkan menggunakan *rotary evaporator* (rotavapor) sehingga diperoleh ekstrak kental.

## 2. Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia meliputi pemeriksaan alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, steroid, dan tanin.

## 3. Evaluasi aktivitas antioksidan ekstrak bawang hutan

Sebanyak 10 mg ekstrak bawang hutan dilarutkan dengan etanol p.a. hingga 10 ml. Dipipet 0,4 ml, 0,8 ml, 0,12 ml, 0,16 ml kemudian masing-masing dimasukkan dalam labu ukur 10 ml. Ke dalam tiap labu ukur ditambahkan 1,5 ml larutan DPPH blanko kemudian di cukupkan dengan etanol pa hingga didapat konsentrasi 40 µg/mL, 80 µg/mL, 120 µg/mL, 160 µg/mL. Dari masing-masing konsentrasi dipipet 4 ml lalu didiamkan selama 30 menit kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Asam askorbat digunakan sebagai standar.

## 4. Formulasi mikroemulsi

### Optimasi Basis

Optimasi basis dilakukan untuk menentukan kondisi percobaan dan komposisi bahan yang sesuai untuk menghasilkan sediaan mikroemulsi yang jernih dan stabil. Pada optimasi ini,

mikroemulsi dibuat dengan memvariasikan minyak, surfaktan dan kosurfaktan. Basis mikroemulsi meliputi: VCO digunakan sebagai fasa minyak, tween 80 sebagai surfaktan, gliserin dan etanol sebagai kosurfaktan. Pengadukan dilakukan pada kecepatan rendah menggunakan magnetik stirrer dengan waktu pengadukan 30 menit pada suhu ruang.

### Formula mikroemulsi dan emulsi ekstrak bawang hutan

Berdasarkan hasil optimasi basis yang telah dilakukan, dipilih formula yang menghasilkan mikroemulsi yang jernih dan stabil kemudian pada formula terpilih tersebut ditambahkan ekstrak etanol bawang hutan sebanyak 0,71% lalu ditambahkan tween 80 kemudian diaduk dengan menggunakan magnetik stirrer dengan kecepatan rendah selama 10 menit. Setelah itu ditambahkan VCO ke dalam campuran tersebut dan dihomogenkan. Selanjutnya ditambahkan gliserin dan air suling, lalu dihomogenkan. Sediaan mikroemulsi yang diperoleh dimasukkan ke dalam wadah tertutup rapat.

Dalam penelitian ini dibuat juga sediaan emulsi dengan bahan yang sama, namun tidak menggunakan kosurfaktan. Emulsi dibuat untuk dijadikan suatu pembanding terhadap sediaan mikroemulsi.

### 5. Evaluasi stabilitas sediaan mikroemulsi ekstrak bawang hutan

Stabilitas fisik mikroemulsi bawang hutan dilakukan pada suhu ruang dan suhu 40°C pada hari ke-0, 7, 14, 21 dan 28. Parameter yang diuji yaitu organoleptik, pengujian sentrifugasi, pengukuran pH, viskositas, ukuran partikel/ globul dan aktivitas antioksidan sediaan.

### 6. Evaluasi aktivitas antioksidan sediaan mikroemulsi ekstrak bawang hutan

Uji aktivitas mikroemulsi antioksidan ekstrak bawang hutan dilakukan selama 28 hari penyimpanan. Sebanyak 10 mg mikroemulsi dilarutkan dalam etanol hingga volumenya 10 ml, dimana konsentrasi yang diperoleh adalah 1.000 µg/mL. Lalu dipipet 0,4 ml, 0,8 ml, 1,2 ml dan 1,6 ml dilarutkan dengan etanol hingga 10 ml didapatkan konsentrasi 40 µg/mL, 80 µg/mL, 120 µg/mL dan 160 µg/mL. Masing-masing larutan sampel dipipet sebanyak 2 ml ditambahkan 2 ml DPPH blanko lalu didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Mikroemulsi asam askorbat digunakan sebagai pembanding.

### 7. Analisis data

Semua data yang ditampilkan disajikan dalam bentuk rata-rata±simpangan baku (SB). Pengambilan data dilakukan secara triplo ( $n = 3$ ). Analisis statistik dilakukan menggunakan uji *t-student* berpasangan.

## III. HASIL

### A. Ekstraksi dan penapisan fitokimia

Simplisia bawang hutan diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Maserasi merupakan metode ekstraksi dingin yaitu proses penyarian simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruang, sehingga zat-zat yang terkandung di dalam simplisia relatif lebih aman jika dibandingkan dengan penggunaan ekstraksi panas.

Hasil ekstrak kental etanol bawang hutan yang diperoleh sebanyak 52,4 gram dengan rendamen 3,49%.

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dalam simplisia uji, yang meliputi pemeriksaan golongan alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, dan steroid. Hasil penapisan fitokimia simplisia ditunjukkan pada Tabel I berikut ini.

**Tabel I.** Hasil penapisan fitokimia terhadap ekstrak bawang hutan

Komponen	Hasil
Flavonoid	+
Fenolik	+
Saponin	+
Triterpenoid	+
Alkaloid	+
Tanin	+

Keterangan : + =Positif mengandung senyawa yang diuji

### B. Evaluasi aktivitas antioksidan ekstrak bawang hutan

Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman DPPH dengan menghitung  $IC_{50}$  dari ekstrak etanol bawang hutan dan dibandingkan dengan asam askorbat. Aktivitas inhibisi DPPH ditampilkan dalam bentuk persen rasio penurunan absorbansi sampel pada panjang gelombang 517 nm seperti ditunjukkan tabel II.

**Tabel II.** Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak bawang hutan dan asam askorbat (rata-rata  $\pm$  SB,  $n=3$ )

Sampel	Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	% peredaman	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Ekstrak bawang hutan	40	41,44 $\pm$ 0,31	70,993
	80	60,19 $\pm$ 0,58	
	160	62,26 $\pm$ 0,86	
Asam askorbat	4	47,21 $\pm$ 2,32	4,33
	8	57,74 $\pm$ 0,16	
	16	61,87 $\pm$ 0,12	

### C. Optimasi basis dan formulasi mikroemulsi ekstrak bawang hutan

Dari hasil optimasi basis optimum yang diperoleh dapat ditentukan komposisi sediaan mikroemulsi yang menghasilkan sediaan dengan penampilan jernih yaitu tween 80

sebesar 40%, gliserin sebesar 35%, minyak kelapa murni (VCO) 15% (tabel III). Sedangkan komposisi sediaan emulsi yang digunakan sebagai pembanding adalah tween 80 sebesar 20%, minyak kelapa murni (VCO) 30% dan air suling sampai 100% (gambar 1).

**Gambar 1.** Penampilan Fisik mikroemulsi (kiri) dan emulsi konvensional (kanan) dengan konsentrasi ekstrak bawang hutan yang sama.**Tabel III.** Optimasi Basis Mikroemulsi

Bahan Baku (b/b)	Basis			
	F1	F2	F3	F4
Tween 80	30%	35%	35%	40%
Gliserin	30%	30%	35%	35%
VCO	30%	30%	25%	15%
Air Suling	10%	5%	5%	10%
Penampilan	Keruh	Keruh	Keruh	Jernih

Keterangan: F4 dipilih sebagai basis yang optimum

### D. Evaluasi stabilitas sediaan mikroemulsi ekstrak bawang hutan

Untuk mempelajari stabilitas fisik sediaan mikroemulsi selama penyimpanan dilakukan pengamatan terhadap organoleptik, pengujian sentrifugasi, pengukuran pH, viskositas, ukuran partikel/ globul dan aktivitas antioksidan sediaan selama 28 hari. Hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel IV dan tabel V.

**Tabel IV.** Hasil evaluasi stabilitas fisik mikroemulsi ekstrak bawang hutan

Suhu	Parameter	Pengamatan Hari ke-			
		1	7	14	28
Suhu Ruang	Warna	Merah	Merah	Merah	Merah
	Bau	Khas Aromatik	Khas Aromatik	Khas Aromatik	Khas Aromatik
	Pertumbuhan mikroba (visual)	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
	Sentrifugasi	Tidak ada pemisahan fase	Tidak ada pemisahan fase	Tidak ada pemisahan fase	Tidak ada pemisahan fase
	Kejernihan	Jernih	Jernih	Jernih	Jernih
	Ukuran globul	<5 $\mu\text{m}$	<5 $\mu\text{m}$	<5 $\mu\text{m}$	<5 $\mu\text{m}$
	Suhu 40°C	Warna	Merah	Merah	Merah
Bau		Khas Aromatik	Khas Aromatik	Khas Aromatik	Khas Aromatik
Pertumbuhan mikroba (visual)		Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
Sentrifugasi		Tidak ada pemisahan fase	Tidak ada pemisahan fase	Tidak ada pemisahan fase	Tidak ada pemisahan fase
Kejernihan		Jernih	Jernih	Jernih	Jernih
Ukuran globul		<5 $\mu\text{m}$	<5 $\mu\text{m}$	<5 $\mu\text{m}$	<5 $\mu\text{m}$

#### E. Evaluasi aktivitas antioksidan sediaan mikroemulsi ekstrak bawang hutan

Pengukuran aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman DPPH dengan menghitung  $IC_{50}$  dari sediaan mikroemulsi ekstrak bawang hutan dan dibandingkan dengan kontrol positif yaitu asam askorbat yang juga dibuat dalam sediaan yang sama. Berdasarkan Tabel 6, dapat disimpulkan bahwa potensi hambatan radikal dari ekstrak pada DPPH meningkat dengan peningkatan konsentrasi ekstrak bawang hutan.

Penentuan konsentrasi hambatan radikal 50% ( $IC_{50}$ ) ekstrak dan pembanding asam askorbat dilakukan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak yang menyebabkan aktivitas hambatan terhadap DPPH sebesar 50%. Berdasarkan

persamaan garis kurva aktivitas antioksidan, didapatkan pada hari ke 1 menunjukkan  $IC_{50}$  mikroemulsi ekstrak bawang hutan pada suhu ruang, mikroemulsi ekstrak bawang hutan pada suhu 40°, mikroemulsi asam askorbat pada suhu ruang dan mikroemulsi asam askorbat pada suhu 40° berturut-turut adalah 101,167  $\mu\text{g/mL}$ , 89,956  $\mu\text{g/mL}$ , 45,176  $\mu\text{g/mL}$  dan 43,51  $\mu\text{g/mL}$ . Setelah penyimpanan selama 35 hari, aktivitas antioksidan sediaan menurun dan menunjukkan  $IC_{50}$  mikroemulsi ekstrak bawang hutan pada suhu ruang, mikroemulsi ekstrak bawang hutan pada suhu 40°, mikroemulsi asam askorbat pada suhu ruang dan mikroemulsi asam askorbat pada suhu 40° berturut-turut sebesar 127,254  $\mu\text{g/mL}$ , 101,996  $\mu\text{g/mL}$ , 106,138  $\mu\text{g/mL}$  dan 108,771  $\mu\text{g/mL}$ .

Walaupun terjadi penurunan aktivitas pada sediaan, namun sediaan mikroemulsi ini tetap memiliki efek antioksidan karena memiliki nilai  $IC_{50} < 200 \mu\text{g/ml}$  (Blois, 1958).

**Tabel 5.** Hasil pengukuran aktivitas antioksidan mikroemulsi ekstrak bawang hutan dan mikroemulsi asam askorbat (rata-rata  $\pm$  SD,  $n=3$ ).

Sediaan	Suhu Pengujian	Konsentrasi	% peredaman	
			Hari ke-1	Hari ke-35
Mikroemulsi ekstrak bawang hutan	Suhu ruang	40	49,34 $\pm$ 0,00	47,50 $\pm$ 0,00
		80	49,53 $\pm$ 0,05	49,31 $\pm$ 0,10
		120	50,26 $\pm$ 0,05	49,91 $\pm$ 0,00
		160	50,81 $\pm$ 0,08	50,59 $\pm$ 0,05
	Suhu 40°C	40	49,42 $\pm$ 0,00	47,94 $\pm$ 0,00
		80	49,83 $\pm$ 0,00	50,20 $\pm$ 0,05
		120	50,48 $\pm$ 0,00	50,47 $\pm$ 0,05
		160	50,73 $\pm$ 0,00	51,19 $\pm$ 0,05
Mikroemulsi asam askorbat	Suhu ruang	40	50,13 $\pm$ 0,5	48,21 $\pm$ 0,00
		80	50,29 $\pm$ 0,12	49,97 $\pm$ 0,05
		120	50,40 $\pm$ 0,00	50,17 $\pm$ 0,00
		160	51,51 $\pm$ 0,05	51,69 $\pm$ 0,00
	Suhu 40°C	40	49,69 $\pm$ 0,05	48,83 $\pm$ 0,00
		80	50,86 $\pm$ 0,12	49,82 $\pm$ 0,09
		120	51,03 $\pm$ 0,05	49,91 $\pm$ 0,00
		160	51,38 $\pm$ 0,00	50,89 $\pm$ 0,00

## IV. DISKUSI

### A. Ekstraksi dan penapisan fitokimia

Bawang hutan diekstraksi secara remaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Maserasi merupakan metode ekstraksi dingin yaitu proses penyarian simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruang, sehingga zat-zat yang terkandung di dalam simplisia relatif lebih aman jika dibandingkan dengan penggunaan ekstraksi panas. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan

pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya. Metode ini paling sederhana dan tidak memerlukan biaya yang besar. Prinsip kerja metode ini yaitu cairan penyarian akan masuk ke dalam dinding sel dan rongga sel yang di dalamnya terkandung zat aktif, zat aktif akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel maka larutan yang pekat didesak keluar hingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel yaitu dengan cara dikocok atau diaduk. Cairan penyarian yang



digunakan adalah etanol. Pemilihan pelarut didasarkan pada tingkat keamanan dan kemudahan saat diuapkan. Dalam hal ini etanol lebih aman digunakan dan mempunyai sifat dapat menarik metabolit sekunder dalam simplisia dan efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal (Voight, 1994).

Hasil penapisan fitokimia pada uji pendahuluan menunjukkan bahwa ekstrak etanol bawang hutan mengandung alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin, steroid dan tanin (lampiran 3). Penapisan ini dilakukan untuk mengetahui berbagai macam kandungan kimia yang terdapat di dalam jaringan tanaman.

### **B. Evaluasi aktivitas antioksidan ekstrak bawang hutan.**

Sebelum dibuat sediaan mikroemulsi, ekstrak etanol bawang hutan terlebih dahulu diuji aktivitas antioksidannya dengan menggunakan metode peredaman DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil). DPPH adalah senyawa radikal bebas berwarna ungu. Apabila direaksikan dengan senyawa peredam radikal bebas, maka intensitas warna ungu akan berkurang. Berdasarkan hasil yang diperoleh ekstrak etanol bawang hutan memiliki aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) yang kuat yaitu sebesar 70,993  $\mu\text{g/ml}$ . Dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kuntorini

dan Astuti (2010), ekstrak etanol bawang hutan memiliki aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) yang jauh lebih kuat yaitu 25,3339  $\mu\text{g/ml}$ . Perbedaan nilai  $IC_{50}$  ini dapat disebabkan karena usia tanaman yang masih muda dan juga tempat tumbuh yang berbeda.

### **C. Optimasi basis dan formulasi mikroemulsi ekstrak bawang hutan**

Mikroemulsi terdiri dari fase minyak, air, surfaktan dan kosurfaktan. Dalam penelitian ini mikroemulsi yang dibuat adalah mikroemulsi m/a, dimana minyak adalah fase dalam dan air adalah fase luar. Karakteristik sistem mikroemulsi adalah konsentrasi surfaktan yang tinggi. Tween 80 tergolong surfaktan hidrofilik yang memiliki HLB sebesar 14-16 (Rowe, 2009). Tween 80 juga tergolong surfaktan nonionik sehingga memiliki toleransi yang baik jika digunakan secara topikal, tidak menimbulkan iritasi dan toksisitas rendah (Padmini, 2011). Surfaktan nonionik diketahui kurang terpengaruh oleh pH dan kekuatan ionik, secara umum aman dan biokompatibel jika dibandingkan dengan surfaktan ionik (Azeem dkk., 2009).

Berdasarkan hasil optimasi basis maka rasio minyak, surfaktan dan kosurfaktan yang digunakan selanjutnya untuk formula mikroemulsi ekstrak bawang hutan adalah sebesar 40% tween 80: 35% gliserin: 15% VCO terhadap

jumlah sediaan yang diproduksi yang menunjukkan tampilan visual yang jernih.

Pada umumnya, penggunaan surfaktan saja tidak cukup dalam menurunkan tegangan permukaan pada pembuatan mikroemulsi sehingga diperlukan molekul rantai pendek amfifilik yang berfungsi sebagai kosurfaktan. Kosurfaktan akan berpenetrasi diantara molekul surfaktan pada film globul dan mengganggu fase kristalin cair yang terbentuk ketika film surfaktan yang dihasilkan terlalu rigid sehingga dapat meningkatkan fluiditas lapisan antarmuka. Penggunaan gliserin sebagai kosurfaktan pada beberapa formulasi mikroemulsi disebabkan karena sifatnya tidak rentan terhadap oksidasi pada penyimpanan serta dapat digunakan sebagai peningkat penetrasi untuk sediaan topikal (Rowe, 2009).

Dalam sistem mikroemulsi kecepatan pengadukan yang sesuai diperlukan untuk dapat membentuk mikroemulsi yang stabil. Energi pengadukan berfungsi sebagai sumber energi permukaan serta menimbulkan efek turbulensi pada medium sehingga akan menghamburkan globul-globul yang terbentuk. Kecepatan pengadukan divariasikan antara kecepatan rendah dan kecepatan tinggi dengan menggunakan magnetik stirrer. Pengadukan pada kecepatan rendah dapat membentuk

mikroemulsi yang jernih, sedangkan dengan kecepatan tinggi terbentuk mikroemulsi yang keruh.

#### **D. Evaluasi stabilitas sediaan mikroemulsi ekstrak bawang hutan**

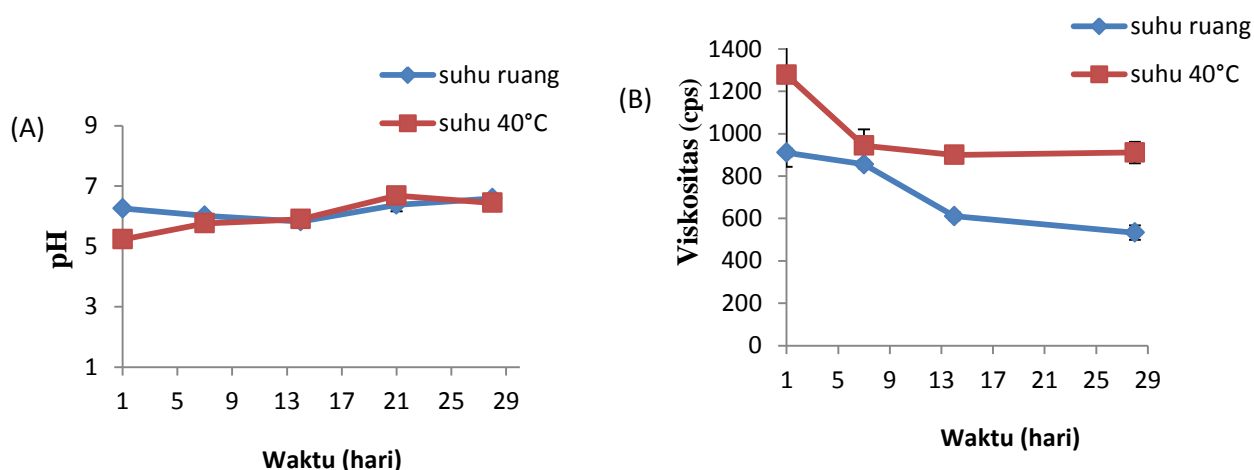
Hasil pengamatan organoleptik sediaan mikroemulsi selama penyimpanan pada suhu ruang dan suhu 40°C secara keseluruhan memiliki konsistensi/bentuk yang kental, tetap memiliki bau khas ekstrak bawang hutan dan sedikit berbau minyak kelapa. Pengamatan warna secara visual menunjukkan bahwa sediaan mikroemulsi tidak mengalami perubahan warna selama 28 hari penyimpanan.

Uji sentrifugasi dilakukan untuk mengetahui kestabilan mikroemulsi selama pendistribusian dan penyimpanan. Mikroemulsi ekstrak bawang hutan disentrifugasi dengan kecepatan 3750 rpm selama 5 jam dengan pengamatan setiap 15 menit. Uji sentrifugasi ini menggambarkan kestabilan sediaan karena pengaruh gravitasi bumi yang setara dengan satu tahun.

Nilai pH sediaan mikroemulsi pada penyimpanan suhu ruang menunjukkan tidak adanya perubahan yang bermakna selama 7 hari penyimpanan, namun setelah hari ke 7 sampai hari ke 28 penyimpanan, terlihat adanya perubahan yang bermakna. Pada pengamatan suhu 40°C menunjukkan tidak adanya perbedaan selama 14 hari

penyimpanan, namun setelah hari ke 14 terlihat perubahan yang signifikan. Hasil pengukuran pH menunjukkan terjadinya penurunan pH pada hari ke-14 penyimpanan dan mengalami peningkatan kembali pada hari ke-28 (gambar 3A).

Nilai viskositas sediaan berdasarkan hasil analisis *paired samples T test* terlihat terjadi perubahan bermakna selama penyimpanan pada suhu ruang, sedangkan pada pengamatan suhu 40°C tidak terjadi perubahan yang bermakna



Gambar 3. Grafik pengaruh lama penyimpanan terhadap (A) pH mikroemulsi ekstrak bawang hutan dan (B) Viskositas mikroemulsi ekstrak bawang hutan pada suhu ruang dan suhu 40°C (rata-rata + SB,  $n=3$ ).

Pengukuran ukuran globul mikroemulsi dilakukan dengan menggunakan mikroskop optik yang telah dipasang alat mikrometer dan telah dikalibrasi. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan perbesaran 100 kali. Hasil yang diperoleh secara kualitatif yaitu <math><5 \mu\text{m}</math>, karena ukuran mikroemulsi yang

selama penyimpanan (gambar 3B). Dilihat dari karakteristiknya, mikroemulsi memiliki viskositas yang rendah, namun dalam penelitian ini kosurfaktan yang digunakan yaitu gliserin dapat meningkatkan viskositas dari sediaan karena gliserin mampu mengikat air sehingga dapat meningkatkan ukuran unit molekul. Meningkatnya ukuran unit molekul akan meningkatkan tahanan untuk mengalir dan menyebar (Patrick, 2006).

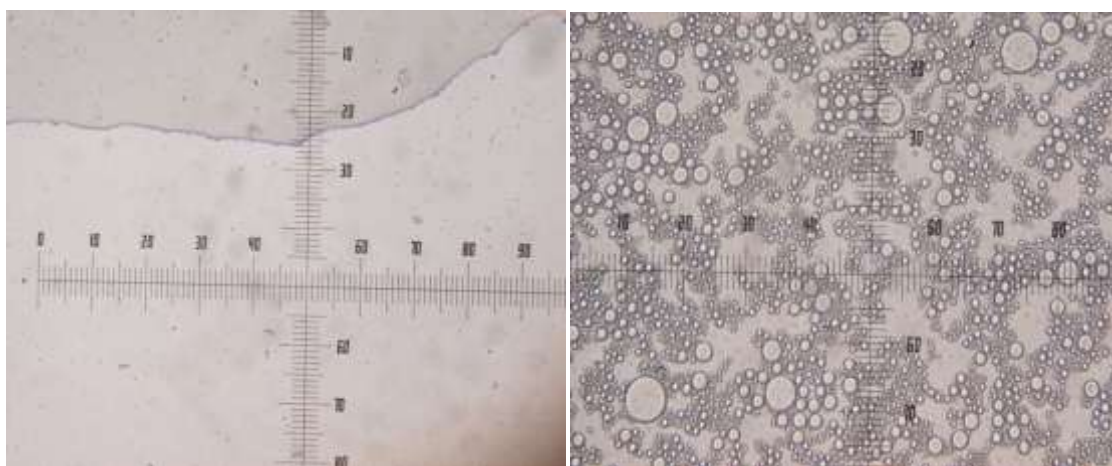
sangat kecil dan tidak dapat terlihat dibawah mikroskop.

Pada penelitian ini dibuat juga sediaan emulsi (konvensional) ekstrak yang digunakan sebagai pembandingan. Pada tabel 6 dapat dilihat bahwa ukuran globul sediaan emulsi jauh lebih besar ( $12,5 \mu\text{m}$ - $175 \mu\text{m}$ ) dibandingkan sediaan mikroemulsi. Sediaan akhir mikroemulsi

dengan ukuran globul sekitar  $<5 \mu\text{m}$  membuat penampilan fisik sediaan jernih.

Ukuran tetesan dan distribusi ukuran merupakan parameter yang mempengaruhi stabilitas mikroemulsi. Saito dkk. melaporkan bahwa tetesan kecil cenderung lebih stabil terhadap

pembentukan koalesens daripada tetesan yang lebih besar. Tentu saja ukuran tetesan yang kecil dari mikroemulsi memberikan stabilitas terhadap kriming dan sedimentasi karena pergerakan brownian yang tinggi.



Gambar 4. Morfologi globul mikroemulsi (kiri) dan emulsi (kanan) ekstrak bawang hutan hasil pengamatan menggunakan mikroskop optik (Perbesaran 100 kali).

#### **E. Evaluasi aktivitas antioksidan sediaan mikroemulsi ekstrak bawang hutan**

Metode pengujian aktivitas antioksidan mikroemulsi yang dilakukan dalam penelitian ini sama dengan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak bawang hutan yaitu dengan metode peredaman DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil di mana warna DPPH berubah dari ungu menjadi kuning bila kadarnya berkurang baik melalui proses donasi hidrogen ataupun donasi elektron. Senyawa yang memiliki aktivitas tersebut dapat dianggap sebagai antioksidan, dengan demikian disebut sebagai

penangkap radikal bebas. Aktivitas hambatan pada DPPH telah diketahui memiliki korelasi yang baik dengan kapasitas hambatan radikal bebas dari senyawa uji (Liu dkk., 2007). Aktivitas inhibisi DPPH ditampilkan dalam bentuk persen rasio penurunan absorbansi sampel pada panjang gelombang 517 nm.

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui  $IC_{50}$  dari sediaan mikroemulsi antioksidan yang telah dibuat. Nilai  $IC_{50}$  adalah suatu konsentrasi yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Dalam penelitian ini digunakan asam askorbat sebagai pembanding yang juga diformulasi dalam sediaan mikroemulsi

agar lebih mudah untuk dibandingkan. Dari hasil pengukuran, terlihat adanya penurunan aktivitas yang signifikan selama 35 hari penyimpanan pada suhu ruang maupun suhu 40°C. Tapi peneliti hanya mengambil dua titik pemeriksaan sehingga tidak diketahui pasti kapan penurunan aktivitas mulai terjadi. Walaupun terjadi penurunan aktivitas pada sediaan, namun sediaan mikroemulsi ini tetap memiliki efek antioksidan karena memiliki nilai  $IC_{50} < 200 \mu\text{g/ml}$  (Blois, 1958).

## V. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa formula dengan rasio 40% tween 80: 35% gliserin: 15% VCO dapat membentuk sistem mikroemulsi yang menunjukkan tampilan visual yang jernih dan memiliki stabilitas fisik yang relatif baik selama 14 hari penyimpanan (mengalami penurunan aktivitas setelahnya). Mikroemulsi ekstrak bawang hutan memiliki aktivitas antioksidan dengan  $IC_{50}$  pada hari ke-1 sebesar 101,167 ppm dan hari ke-35 sebesar 127,254 ppm.

## DAFTAR PUSTAKA

Azeem, A., (2009): Nanoemulsion Components Screening and Selection: A Technical Note, *AAPS PharmSciTech*, 10(1), 69-76.

- Bakan, J.A., 1995, *Microemulsion, Encyclopedia of pharmaceutical technology*, Volume Marcel Dekker Inc, New York.
- Blois, M.S., 1958, *Antioxidant Determinations By The Use Of A Stable Free Radical*, *Nature*, 181 : 1199-1200.
- Firdaus, R. 2006, *Telaah Kandungan Kimia Ekstrak Metanol Umbi Bawang Tiwai (Eleutherine americana (Aubl.) Merr.)*, Skripsi, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Galingging, Y, R, 2010, *Bawang dayak (eleutherine palmifolia) Sebagai Tanaman Obat Multifungsi*, <http://kalteng.litbang.deptan.go.id/data/bawang-dayak.pdf>, diakses 15 November 2013.
- Gutteridge, J.M., Halliwell, B. (2010): Antioxidants: Molecules, Medicines, and Myths, *Biochemical and Biophysical Research Communication* **393** 561-564
- Karmini, 2014, *Formulasi Tablet Antioksidan Ekstrak Bawang Hutan (Eleutherine bulbosa (Mill.) Urb.)*, Skripsi, Prodi Farmasi, FMIPA, Universitas Tadulako, Palu.
- Kuntorini, E.M dan Astuti, M.D, 2010, *Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (Eleutherine americana Merr.)*, FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.
- Kuntorini, E.M, 2013, *Kemampuan Antioksidan Bulbus Bawang Dayak (Eleutherine americana Merr) Pada Umur Berbeda*, FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.
- Lawrence, M.J & G.D. Rees, 2000, Microemulsion-based media as novel drug delivery systems, *Advance Drug Delivery Reviews*, 45:89-121.
- Liu, X., Zhao, M., Wang, J., Yang, B., Jiang, Y., 2007, *Antioxidant activity of methanolic extract of emblica fruit (Phyllanthus emblica L.) from six regions in China*, *Journal of Food*

- Composition and Analysis 21 (2008) 219–228
- Nurliani, A dan Ernawati, 2012, *Efek Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (Eleutherine americana Merr.) Terhadap Struktur Mikroanatomi Tubulus Seminiferus Testis Tikus yang Dipapar Asap Rokok*, Sains dan Terapan Kimia, Vol.6, No.2: 93-100, Kalimantan Selatan.
- Padmini, R., (2010): Microemulsions for Topical Use-A Review, *Ind J Pharm Edu Res*, **45(1)**.
- Pitopang, R., 2013, *Determinasi Bawang Hutan (Eleutherine Bulbosa (Mill.) Urb.)*, UPT. Sumber Daya Hayati, Sulawesi Tengah.
- Ping Li, A., Gosh, R.F., Wagner, S.Krill, Y.M. Joshi, A.T.M. Serajuddin, 2005, *Effect of combined use of nonionic surfactant on formation of oil-in-water microemulsions*, *International Journal of Pharmaceutics*, 288 (1): 27-34.
- Paul, B.K., S.P. Moulik, 2001, *Uses and applications of microemulsions*, *Current Science*. 80 (8): 990-1001.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., and Owen, S.C, 2009, *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 6th edition, Pharmaceutical Press, London.
- Sharon, N., Anam, S., Yuliet., 2013, *Formulasi Krim Antioksidan Ekstrak Etanol Bawang Hutan (Eleutherine palmifolia L. Merr)*, *Online Jurnal of Natural Science*, Vol 2 (3) : 111-122.
- Patrick J.S., 2006, *Martin's Physical Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Fifth ed, Lippicott Williams & Wilkins, Baltimore
- Winarsi, H., 2007, *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*, Kanisius, Jakarta