



## FORMULASI MIKROEMULSI EKSTRAK TERPURIFIKASI DAUN BAYAM MERAH (*Amaranthus tricolor* L.) SEBAGAI SUPLEMEN ANTIOKSIDAN

## MICROEMULSION FORMULATIONS OF PURIFIED EXTRACT OF RED LEAVES SPINACH (*Amaranthus tricolor* L.) AS ANTIOXIDANT SUPPLEMENTS

**Dwi Lestari Handayani\***, Yusriadi, Ririen Hardani

Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Tadulako, Palu.

Received 9 Juni 2016/Accepted 4 Oktober 2016

### ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian mengenai formulasi mikroemulsi ekstrak terpurifikasi daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) sebagai suplemen antioksidan dengan tujuan untuk dapat mengetahui formula yang dapat membentuk sediaan mikroemulsi yang memenuhi stabilitas mutu fisik dan mengetahui aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) dari sediaan. Ekstrak dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% kemudian selanjutnya dilakukan purifikasi menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat, setelah itu diuji aktivitas antioksidannya. Formula yang dapat membentuk mikroemulsi ekstrak terpurifikasi daun bayam merah yang jernih adalah menggunakan minyak kelapa murni (VCO) sebesar 15%, tween 80 sebesar 40%, dan gliserin sebesar 35%. Uji stabilitas fisik yang dilakukan meliputi uji organoleptis, pengukuran diameter globul, uji pH, uji viskositas dan uji sentrifugasi. Uji aktivitas antioksidan dilakukan secara *in-vitro* menggunakan metode peredaman DPPH dan menggunakan Vitamin C sebagai kontrol positif. Data hasil pengukuran dianalisis secara statistik menggunakan metode *paired samples T test*. Hasil uji aktivitas antioksidan mikroemulsi ekstrak terpurifikasi daun bayam merah menunjukkan nilai  $IC_{50}$  pada hari ke-1 sebesar 1,83 ppm dan hari ke-28 sebesar 3,71 ppm. Sedangkan mikroemulsi vitamin C menunjukkan nilai  $IC_{50}$  pada hari ke-1 sebesar 0,24 ppm dan hari ke-28 sebesar 2,51 ppm. Meskipun mengalami penurunan aktivitas antioksidan, namun masing-masing sediaan masuk dalam kategori antioksidan yang sangat kuat.

Kata kunci : Mikroemulsi, *Amaranthus tricolor* L, stabilitas fisik, DPPH.

### ABSTRACT

A research has conducted about the microemulsion formulation of purified extract of red spinach leaves (*Amaranthus tricolor* L.) as an antioxidant supplement with the aim to be able to know the formula to form a microemulsion which meet the physical quality stability and determine antioxidant activity ( $IC_{50}$ ) of the preparation. Extracts prepared by maceration method using ethanol 96% and then later do the purification using solvent n-hexane and ethyl acetate, after it tested its antioxidant activity. Formula to form a microemulsion purified extract of red spinach leaves clear is to use virgin coconut oil (VCO) by 15%, tween 80 for 40%, 35% glycerin and 10% distilled water. Physical stability test was conducted on the organoleptic test, measuring the diameter of globules, pH test, test and test viscosity centrifugation. Test of antioxidant activity *in vitro* using DPPH method and using Vitamin C as a positive control. Measurement data were statistically analyzed using paired samples T test. The test results of antioxidant activity microemulsion purified extracts of spinach leaves, red show  $IC_{50}$  values on day 1 was 1.83 ppm and the 28th day amounted to 3.71 ppm. While vitamin C microemulsion shows  $IC_{50}$  values on day 1 of 0.24 ppm and the 28th day of 2.51 ppm. Despite the decreased antioxidant activity, but each of the stocks included in the category of very powerful antioxidants.

Keyword : Microemulsion, *Amaranthus tricolor* L, physic stability, DPPH.

\*Corresponding Author: Dwi Lestari Handayani [anhiinonk@gmail.com](mailto:anhiinonk@gmail.com) (ph: +62-823-9570-2333)

## PENDAHULUAN

Mikroemulsi merupakan suatu sistem dispersi yang dikembangkan dari sediaan emulsi. Mikroemulsi adalah dispersi isotropik yang terdiri dari fase minyak dan fase air yang distabilkan oleh molekul surfaktan dan atau ko-surfaktan pada lapisan antar muka (Volkov, 2001). Bila dibandingkan dengan emulsi, banyak karakteristik dari mikroemulsi yang membuat sediaan ini menarik untuk digunakan sebagai salah satu sistem penghantaran obat, antara lain mempunyai kestabilan dalam jangka waktu yang lama secara termodinamika, kenampakan jernih dan transparan, memiliki viskositas rendah, tegangan antarmuka rendah, terbentuk secara spontan, mempunyai daya larut yang tinggi serta mempunyai kemampuan penetrasi yang baik.

Adapun komponen pembentuk mikroemulsi yang digunakan terdiri dari fase minyak yaitu VCO, surfaktan yaitu tween 80 dan kosurfaktan gliserin. *Virgin Coconut Oil (VCO)* kaya asam lemak rantai medium terutama asam laurat, berpotensi sebagai fase minyak pada pembuatan mikroemulsi *o/w* serta memiliki aktivitas antioksidan. Tween 80 merupakan surfaktan nonionik yang memiliki toksisitas rendah sehingga dapat digunakan untuk penggunaan oral dan parenteral (Marina, dkk, 2009) nilai HLBnya 14,9 (Ansel, 2008). Gliserin digunakan dalam berbagai formulasi farmasi termasuk oral, topikal, dan parenteral. Gliserin digunakan sebagai kosurfaktan pada beberapa formulasi mikroemulsi karena tidak rentan terhadap oksidasi pada penyimpanan serta dapat digunakan sebagai peningkat viskositas (Rowe, 2009).

Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai antioksidan adalah bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.). Adapun senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan yaitu flavanoid, antosianin dan vitamin C (Supriyatna, dkk., 2014). Jenis ini sering digunakan sebagai obat alami, secara empiris untuk mencegah osteoporosis, mengobati penyakit kuning, alergi, menjaga kesehatan mata dan kulit, meningkatkan kadar hemoglobin dalam darah dan mengobati luka bakar. Ekstrak terpurifikasi yaitu suatu hasil ekstraksi selektif yang hanya menyari senyawa-senyawa yang berguna dan membatasi sekecil mungkin zat yang tidak dibutuhkan ikut tersari seperti komponen zat ballast (Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Pascapanen Pertanian).

## METODE PENELITIAN

### BAHAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun bayam (*Amaranthus tricolor* L.), koran, tween 80, gliserin, VCO, akuades, etanol pro analisis, vitamin C, etanol 96%, etil asetat, n-hexana, DPPH, dan aluminium foil.

### METODE

#### Pengambilan Sampel

Bayam merah terlebih dahulu dipisahkan dari akar dan batangnya, selanjutnya dicuci dengan air mengalir sampai bersih dan ditiriskan. Kemudian dirajang kecil-kecil, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dalam ruangan, setelah itu disortasi kering dan diblender.

#### Ekstraksi Sampel

Sebanyak 1000 g serbuk kering daun bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) direndam dengan etanol secukupnya selama 3 x 24 jam dalam wadah maserasi dan dilakukan pengadukan setiap hari kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* (rotavapor) sehingga diperoleh ekstrak kental.

#### Pembuatan Ekstrak Terpurifikasi Daun Bayam Merah

Sebanyak 20 g ekstrak etanol dilarutkan dalam etanol 96% sampai larut, kemudian ditambahkan 40 ml air suling, dimasukkan ke dalam corong pisah, lalu ditambahkan 100 ml n-heksana, lalu dikocok, dan didiamkan sampai terdapat 2 lapisan yang terpisah. Lapisan n-heksana (lapisan atas) diambil dengan cara dialirkan, dan fraksinasi dilakukan sampai lapisan n-heksana jernih. Lapisan n-heksana yang dikumpulkan disimpan dalam wadah. Kemudian pada residu (sisa) ditambahkan 100 ml etilasetat, lalu dikocok, didiamkan sampai terdapat 2 lapisan yang terpisah, lapisan etilasetat (lapisan atas) diambil dengan cara dialirkan, dan fraksinasi dilakukan sampai lapisan etilasetat jernih. Lapisan etilasetat yang dikumpulkan disimpan dalam wadah. Lapisan air (sisa) diambil dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapat fraksi air (Bassett, *et al.*, 1994).

#### Identifikasi Senyawa

##### a. Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 mg ekstrak terpurifikasi daun bayam merah ditambahkan serbuk Mg 2 mg,

lalu tambahkan 3 tetes HCl pekat. Larutan berwarna orange menunjukkan positif flavanoid (Harbone, 1987).

- b. Uji Antosianin  
Sebanyak 0,5 g ekstrak terpurifikasi daun bayam merah ditambahkan HCl 2M sebanyak 5 ml kemudian dipanaskan hingga suhu 100°C selama 5 menit. Hasil positif bila timbul warna merah (Harbone, 1987).
- c. Uji Vitamin C  
Sebanyak 2 ml ekstrak terpurifikasi daun bayam merah ditambahkan 4 tetes larutan biru metilen P, panaskan hingga suhu 40°C. Hasil positif bila warna biru tua yang dalam waktu 3 menit berubah menjadi biru muda atau hilang (Depkes, 1979).

#### **Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Terpurifikasi Daun Bayam (Molyneux, 2004)**

- a. Pembuatan Larutan Induk DPPH (0,5 mM)  
Ditimbang 4,929 mg DPPH, masukkan dalam labu ukur 25 ml, ditambah etanol pro analisis sampai tanda batas dan kocok.
- b. Pembuatan Larutan Blanko  
Dipipet sebanyak 5 ml larutan DPPH induk, dimasukkan ke dalam labu ukur lalu ditambahkan etanol pro analisis hingga 25 ml.
- c. Pengukuran Serapan Blanko  
Dipipet 4 ml larutan blanko, kemudian dihomogenkan dan dibiarkan selama 30 menit selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 517 nm.
- d. Larutan Perbandingan Vitamin C  
Ditimbang vitamin C pro analisis sebanyak 10 mg. Dilarutkan dengan air bebas CO<sub>2</sub> secukupnya, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml lalu ditambahkan etanol pro analisis hingga 10 ml, sehingga konsentrasi yang diperoleh yaitu 1000 ppm. Selanjutnya lakukan pengenceran bertingkat, dipipet 1 ml dari masing-masing pengenceran dan masukkan ke dalam labu ukur 10 ml. Ke dalam tiap labu ukur ditambahkan 1,5 ml larutan DPPH blanko kemudian dicukupkan dengan etanol pro analisis hingga didapat konsentrasi 0,001 ppm, 0,01 ppm, 1 ppm, 10 ppm. Dari masing-masing konsentrasi dipipet 4 ml lalu didiamkan selama 30 menit kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm.
- e. Pembuatan Larutan Uji  
Ditimbang 10 mg ekstrak. Dilarutkan dengan air bebas CO<sub>2</sub> secukupnya, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, sehingga konsentrasi yang diperoleh yaitu

1000 ppm. Selanjutnya lakukan pengenceran bertingkat, dipipet 1 ml dari masing-masing pengenceran dan masukkan ke dalam labu ukur 10 ml. Ke dalam tiap labu ukur ditambahkan 1,5 ml larutan DPPH blanko kemudian dicukupkan dengan etanol pro analisis hingga didapat konsentrasi 0,001 ppm, 0,01 ppm, 1 ppm, 10 ppm. Dari masing-masing konsentrasi dipipet 4 ml didiamkan selama 30 menit kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm.

#### **Formulasi**

- a. Orientasi Basis  
Orientasi basis dilakukan untuk menentukan komposisi bahan yang sesuai untuk menghasilkan sediaan mikroemulsi yang jernih. Pada orientasi ini, mikroemulsi dibuat dengan memvariasikan fase minyak, surfaktan dan kosurfaktan serta kecepatan pengadukan. Dimana basis mikroemulsi yang digunakan berupa VCO sebagai fase minyak (15% - 30%), tween 80 sebagai surfaktan (20% - 40%) dan gliserin sebagai kosurfaktan (15% - 35%) serta kecepatan pengadukan yang digunakan yaitu kecepatan rendah dan tinggi.
- b. Formula  
Berdasarkan orientasi yang dilakukan, dipilih basis yang menghasilkan mikroemulsi yang jernih dan transparan kemudian pada formula terpilih tersebut ditambahkan ekstrak terpurifikasi daun bayam merah sebanyak 0,1 %.
- c. Cara Pembuatan  
Sediaan mikroemulsi yang dibuat sebanyak 100 ml. Masukkan ekstrak terpurifikasi daun bayam merah ke dalam cawan porselin, dilarutkan dengan tween 80, kemudian diaduk hingga homogen. Kemudian masukkan VCO ke dalam gelas kimia, lalu ditambahkan campuran ekstrak terpurifikasi daun bayam merah dan tween 80, kemudian diaduk dengan menggunakan magnetik stirer dengan kecepatan rendah selama 10 menit. Selanjutnya tambahkan gliserin ke dalam campuran tersebut lalu diaduk kembali dengan kecepatan rendah menggunakan magnetik stirer selama 10 menit. Setelah itu tambahkan akuades ke dalam campuran tersebut dengan pengadukan konstan menggunakan magnetik stirer kecepatan rendah hingga 30 menit. Selanjutnya hasil yang diperoleh dimasukkan ke dalam wadah dan ditutup rapat.

### Uji Stabilitas Sediaan Mikroemulsi

- a. Pemeriksaan Organoleptis  
Pemeriksaan organoleptis meliputi konsistensi, warna dan bau yang diamati secara visual (Depkes RI, 1995).
- b. Pengukuran Diameter Globul  
Pengukuran ini dilakukan dengan mikroskop optik, dimana mikroemulsi diletakkan pada kaca objek dan ditutup dengan kaca penutup. Pengamatan ini dilakukan pada pembesaran tertentu. Distribusi ukuran partikel dapat diamati dengan mikrometer yang telah dikalibrasi (Oktaviani, 2014).
- c. Uji pH  
Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. Pengukuran dilakukan selama 4 minggu setiap 1 minggu sekali (Jufri, 2004).
- d. Uji Viskositas  
Pengukuran dilakukan dengan viskometer Brookfield. Pengamatan viskositas mikroemulsi dilakukan selama 4 minggu setiap 1 minggu sekali (Jufri, 2004).
- e. Uji Sentrifugasi  
Sediaan mikroemulsi dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi kemudian dilakukan pengocokan atau sentrifugasi pada kecepatan 3750 rpm selama 5 jam dengan pengamatan tiap 15 menit (Jufri, 2004).
- f. Pengukuran Penurunan Aktivitas Antioksidan dengan metode peredaman DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)  
Sebanyak 10 mg mikroemulsi dilarutkan dalam etanol pro analisis hingga volumenya menjadi 10 ml, dimana konsentrasi yang diperoleh adalah 1000 ppm. Selanjutnya lakukan pengenceran bertingkat, dipipet 1 ml dari masing-masing pengenceran dan masukkan ke dalam labu ukur 10 ml. Ke dalam tiap labu ukur ditambahkan 1,5 ml larutan DPPH blanko kemudian dicukupkan dengan etanol pro analisis hingga didapat konsentrasi 0,001 ppm, 0,01 ppm, 1 ppm, 10 ppm. Dari masing-masing konsentrasi dipipet 4 ml didiamkan selama 30 menit kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Uji penurunan aktivitas antioksidan mikroemulsi ekstrak daun bayam dilakukan sebanyak 2 kali selama 28 hari penyimpanan yaitu hari ke-1 dan hari ke-28.

### Analisis Data

Data yang diperoleh pada pengamatan organoleptis, uji sentrifugasi, pengukuran diameter globul dan uji aktivitas antioksidan mikroemulsi selama 28 hari penyimpanan dibandingkan secara deskriptif sehingga dapat diketahui sediaan mikroemulsi yang stabil. Dimana pengukuran aktivitas antioksidan mikroemulsi dilakukan dengan menggunakan metode DPPH dan untuk menentukan besarnya aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) menggunakan metode persamaan garis regresi linear dengan rumus  $Y = aX + b$ . Sedangkan *paired sample T test* digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan pH dan viskositas dengan selang waktu 1, 7, 14, 21 dan 28 hari.

### HASIL

#### Hasil Identifikasi Tumbuhan

Identifikasi tumbuhan dilakukan di UPT. Sumber Daya Hayati Sulawesi, Universitas Tadulako menyatakan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) yang diperoleh dari Kelurahan Balaroa, Kecamatan Palu Barat, Sulawesi Tengah.

#### Hasil Pembuatan Ekstrak Terpurifikasi Daun Bayam Merah

Simplisia sebanyak 1000 g diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 15 Liter. Hasil ekstrak kental etanol daun bayam merah yaitu 120,26 g, sedangkan hasil ekstrak terpurifikasi daun bayam merah yaitu 41,34 g sehingga rendemen yang diperoleh yaitu 34,37%.

Tabel 1. Hasil identifikasi senyawa

No.	Komponen	Hasil
1	Flavonoid	+
2	Antosianin	+
3	Vitamin C	+

Tabel 2. Hasil pengujian antioksidan ekstrak terpurifikasi daun bayam merah

Sampel	IC <sub>50</sub> rata-rata (ppm) ± SD (n=3)
EkstrakEtanoldaun bayam merah	6,85 ± 0
Ekstrak terpurifikasidaun bayam merah	3,44 ± 0,12
Vitamin C	0,9 ± 0,03

Tabel 3. Hasil orientasi basis

Bahan Baku	Konsentrasi							
	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8
VCO	30%	30%	25%	25%	20%	20%	15%	15%
Tween 80	25%	25%	30%	30%	35%	35%	40%	40%
Gliserin	15%	20%	20%	25%	25%	30%	30%	35%
Akuades	30%	25%	25%	20%	20%	15%	15%	10%
	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh	Jernih

Tabel 4. Formula mikroemulsi

Bahan	Fungsi	Konsentrasi (%)
Ekstrak terpurifikasi daun bayam merah	Zat aktif	0,1
VCO	Fase minyak	15
Tween 80	Surfaktan	40
Gliserin	Kosurfaktan	35
Akuades	Fase air	Ad 100

### Hasil Pengujian Stabilitas Sediaan Mikroemulsi

Tabel 5. Hasil pengamatan organoleptis sediaan mikroemulsi

Formula Mikroemulsi	Selang Waktu	Tekstur	Warna	Bau
Basis	Hari ke-1	Kental	Kuning Muda	Khas Minyak
	Hari ke-7	Kental	Kuning Muda	Khas Minyak
	Hari ke-14	Kental	Kuning Muda	Khas Minyak
	Hari ke-21	Kental	Kuning Muda	Khas Minyak
	Hari ke-28	Kental	Kuning Muda	Khas Minyak
Ekstrak Terpurifikasi Daun Bayam Merah	Hari ke-1	Kental	Jingga	Khas Minyak
	Hari ke-7	Kental	Jingga	Khas Minyak
	Hari ke-14	Kental	Jingga	Khas Minyak
	Hari ke-21	Kental	Jingga	Khas Minyak
	Hari ke-28	Kental	Jingga	Khas Minyak
Vitamin C	Hari ke-1	Kental	Kuning	Khas Minyak
	Hari ke-7	Kental	Kuning	Khas Minyak
	Hari ke-14	Kental	Kuning	Khas Minyak
	Hari ke-21	Kental	Kuning	Khas Minyak
	Hari ke-28	Kental	Kuning	Khas Minyak

Tabel 6. Hasil pengukuran diameter globul sediaan mikroemulsi

Formula Mikroemulsi	Ukuran Globul ( $\mu\text{m}$ )	
	Hari ke-1	Hari ke-28
Basis Ekstrak terpurifikasi daun bayam merah Vitamin C	<5	<5

Tabel 7. Hasil pengujian sentrifugasi sediaan

Formula Mikroemulsi	Hasil
Basis Ekstrak terpurifikasi daun bayam merah Vitamin C	Tidak terjadi pemisahan fase

Tabel 8. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan sediaan mikroemulsi

Formula Mikroemulsi	IC <sub>50</sub> rata-rata (ppm) $\pm$ SD (n=3)	
	Hari ke-1	Hari ke-28
Basis Ekstrak terpurifikasi daun bayam merah Vitamin C	13,93 $\pm$ 0,17	15,15 $\pm$ 1,06

## PEMBAHASAN

Pengujian antioksidan dilakukan terhadap ekstrak terpurifikasi daun bayam merah yang diformulasi dalam sediaan mikroemulsi. Bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.) yang digunakan diperoleh dari kelurahan Balaroa, Kecamatan Palu Barat, Sulawesi Tengah. Untuk memastikan jenis bayam merah yang digunakan maka dilakukan identifikasi tumbuhan di UPT Sumber Daya Hayati Sulawesi dan hasilnya menunjukkan bahwa tumbuhan yang digunakan adalah bayam merah (*Amaranthus tricolor* L.). Bayam merah diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% dan diperoleh ekstrak kental etanol sebanyak 120,26 g, selanjutnya dipurifikasi dengan menggunakan pelarut n-heksan dan etil asetat sehingga

diperoleh ekstrak terpurifikasi sebanyak 41,34 g dengan rendemen sebesar 34,37%. Etanol 96% digunakan sebagai larutan penyari karena bersifat semipolar sehingga dapat menarik senyawa-senyawa yang bersifat antioksidan, tidak menimbulkan toksik, dan banyak digunakan secara umum sebagai penyari. Adapun proses purifikasi dilakukan bertujuan untuk menyari senyawa-senyawa yang berguna dan membatasi sekecil mungkin zat yang tidak dibutuhkan ikut tersari seperti komponen zat ballast (karbohidrat, protein, lemak, resin, klorofil). Pelarut n-heksan dan etil asetat digunakan dalam proses purifikasi untuk menarik senyawa non polar dan semi polar yang terkandung dalam ekstrak daun bayam merah.

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak terpurifikasi daun bayam merah dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dan menggunakan pembanding vitamin C. DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil, dimana warna DPPH berubah dari ungu menjadi kurang berwarna apabila kadarnya berkurang baik melalui proses donasi hidrogen maupun donasi elektron (Widyastuti, 2010). Senyawa yang memiliki aktivitas tersebut dianggap sebagai antioksidan yang adalah penangkap radikal bebas. Vitamin C merupakan antioksidan non enzimatis yang berperan sebagai reduktor untuk berbagai radikal bebas. Selain itu juga meminimalkan terjadinya kerusakan yang disebabkan oleh stres oksidatif serta vitamin C telah diketahui secara umum merupakan salah satu sumber antioksidan (Foyer, 1993). Berdasarkan hasil yang diperoleh ekstrak etanol daun bayam merah, ekstrak terpurifikasi daun bayam merah dan vitamin C memiliki aktivitas antioksidan (IC<sub>50</sub>) yang sangat kuat dengan nilai berturut-turut sebesar 6,85 ppm, 3,44 ppm dan 0,88 ppm. Menurut Blois (2003) aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC<sub>50</sub>nya, yaitu dapat dikelompokkan dalam beberapa kategori sangat kuat <50 ppm, kuat (50-100 ppm), sedang (101-250 ppm), lemah (250-500 ppm) dan tidak kuat >500 ppm.

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. Tujuan dibuat mikroemulsi minyak dalam air yaitu untuk melindungi ekstrak terpurifikasi daun bayam merah agar aktivitasnya tidak berubah dan tetap berada dalam fase minyak karena adanya lapisan antar muka yang

kuat dari surfaktan dan kosurfaktan. Mikroemulsi tipe minyak dalam air dapat menutupi bau atau rasa yang tidak enak dari fase minyak dan juga mudah dicuci atau dibersihkan sehingga nyaman untuk digunakan. Minyak tidak mudah larut di dalam saluran pencernaan maka dari itu diformulasikan menjadi sediaan mikroemulsi minyak dalam air.

Mikroemulsi tersusun dari misel-misel yang dapat meningkatkan kelarutan ekstrak terpurifikasi daun bayam merah di dalam saluran pencernaan sehingga dengan cepat siap untuk diabsorpsi. Misel adalah sistem koloidal yang terbentuk dengan penyusunan sendiri (*self assembling*). Inti misel dapat mensolubilisasi agen lipofilik, sedangkan bagian luar hidrofilik berperan sebagai penstabil antarmuka untuk melindungi inti hidrofobik dari lingkungan eksternal air. Proses miselisasi berperan meminimalisasi energi bebas dari sistem, bagian hidrofobik molekul tersembunyi dan ikatan hidrogen dibangun diantara bagian hidrofilik dalam air. Misel merupakan calon pembawa obat yang menarik untuk penghantaran obat dengan kelarutan buruk. Misel dapat mensolubilisasi suatu obat pada konsentrasi yang jauh lebih besar dari kelarutan intrinsik bahan yang akan menyebabkan peningkatan ketersediaan hayati dan menurunkan toksisitas.

Formulasi mikroemulsi diawali dengan orientasi basis sediaan yang terdiri dari VCO sebagai fase minyak, Tween 80 sebagai surfaktan dan Gliserin sebagai kosurfaktan. Fase minyak yang digunakan adalah minyak kelapa murni (VCO) dengan konsentrasi 15%. Surfaktan yang digunakan yaitu tween 80 dengan konsentrasi 40%. Kosurfaktan yang digunakan adalah gliserin dengan konsentrasi 35%. Minyak kelapa murni (VCO) digunakan sebagai fase minyak karena tidak mudah berbau tengik dan mengandung asam lemak jenuh yang tinggi sehingga tidak mudah untuk teroksidasi (Setiaji, 2006). Tween 80 digunakan sebagai surfaktan karena merupakan surfaktan nonionik yang memiliki toksisitas rendah sehingga aman untuk digunakan (Ansel, 2008). Tween 80 memiliki nilai HLB yang tinggi yaitu 14,9, dimana untuk menghasilkan mikroemulsi m/a dibutuhkan surfaktan yang memiliki rentang HLB 8-20%, adapun nilai HLB ini menunjukkan sifat dari surfaktan untuk dapat bercampur dengan air. Gliserin digunakan sebagai kosurfaktan pada beberapa formulasi mikroemulsi karena tidak rentan terhadap oksidasi pada penyimpanan serta

dapat digunakan sebagai peningkat viskositas (Rowe, 2009).

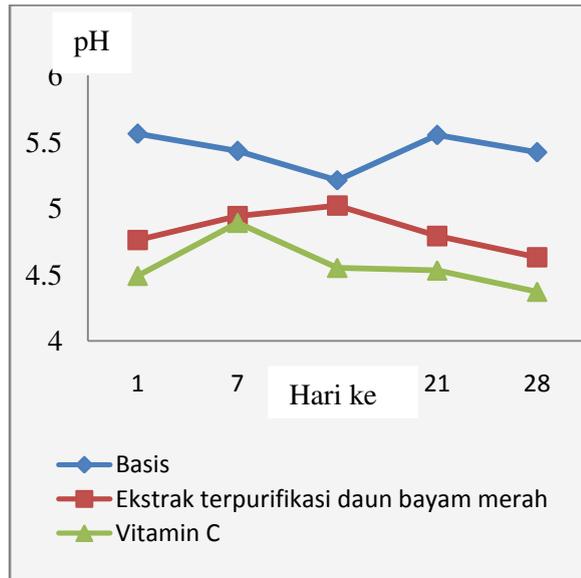
Pemilihan surfaktan dan kosurfaktan merupakan tahap yang sangat penting dalam pembuatan mikroemulsi. Surfaktan yang digunakan harus dapat menurunkan tegangan permukaan antara dua fase sehingga kedua fase tersebut dapat terdispersi dengan baik dan kosurfaktan membantu melapisi globul mikroemulsi yang telah dilapisi surfaktan sehingga lebih rapat dan menghasilkan mikroemulsi yang lebih stabil. Pembentukan globul mikroemulsi diperoleh dari pengadukan dan pembentukan film kompleks pada antarmuka air dan minyak oleh surfaktan dan kosurfaktan. Hal tersebut akan menyebabkan reduksi antarmuka antara minyak dan air menuju nilai paling rendah (Swarbrick, 1994). Ukuran globul yang kecil menghasilkan sediaan yang jernih dan transparan. Dengan ukuran partikel yang lebih kecil, maka sediaan dapat memberikan efisiensi absorpsi yang tinggi pada berbagai rute pemberian. Berdasarkan hasil orientasi, basis yang menghasilkan tampilan visual yang jernih dan transparan yaitu B8, kemudian dibuatlah sediaan mikroemulsi dengan konsentrasi zat aktif yaitu ekstrak terpurifikasi daun bayam merah sebesar 0,1%.

Evaluasi stabilitas sediaan yang dilakukan meliputi pengamatan organoleptik, ukuran globul, pH, viskositas dan sentrifugasi. Stabilitas sediaan farmasi merupakan salah-satu faktor yang penting untuk menghasilkan hasil produksi yang baik. Ketidakstabilan partikel obat dapat mengakibatkan penurunan sampai hilangnya khasiat obat. Obat dapat berubah menjadi toksik atau terjadi perubahan penampilan sediaan (warna, bau, rasa dan konsistensi). Berdasarkan hasil evaluasi organoleptik selama 28 hari, dapat diamati bahwa mulai dari basis mikroemulsi, mikroemulsi ekstrak terpurifikasi daun bayam merah dan mikroemulsi vitamin C tidak mengalami perubahan selama masa penyimpanan.

Penentuan ukuran globul dilakukan untuk mengetahui ukuran globul pada sediaan mikroemulsi karena sediaan mikroemulsi yang memiliki ukuran partikel yang kecil dapat mempengaruhi kejernihan sediaan mikroemulsi. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan mikroskop optik yang telah dipasang alat mikrometer yang telah dikalibrasi. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan perbesaran 40 kali. Hasil yang diperoleh dari ketiga formula didapatkan ukuran globul kurang

dari 5  $\mu\text{m}$ . Karena alat ukur hanya bisa mengukur partikel dengan ukuran minimal  $\pm 5 \mu\text{m}$ , sehingga ukuran mikroemulsi secara tepat belum bisa ditentukan dengan alat ini.

Hasil pengukuran pH sediaan mikroemulsi menunjukkan pada basis mikroemulsi, mikroemulsi ekstrak ekstrak terpurifikasi daun bayam merah dan mikroemulsi vitamin C tetap stabil selama penyimpanan ( $p > 0,05$ , uji t berpasangan).

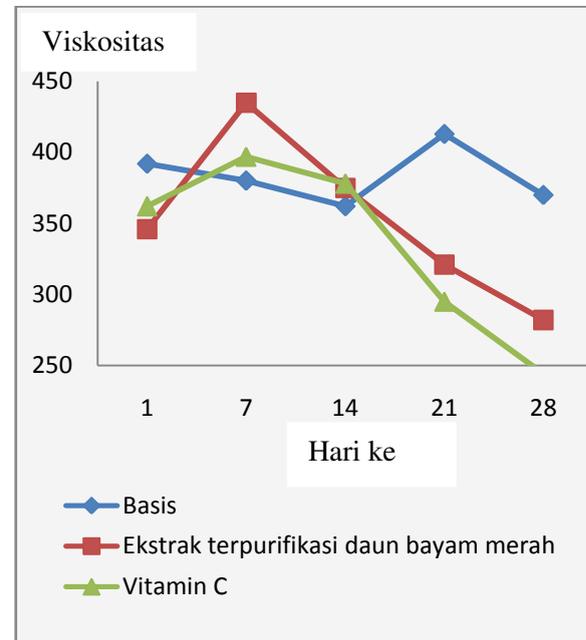


Gambar 1. Grafik pengaruh lama penyimpanan terhadap ph mikroemulsi

Hasil pengukuran viskositas mikroemulsi pada mikroemulsi ekstrak terpurifikasi daun bayam merah tidak mengalami perubahan yang signifikan selama penyimpanan ( $p > 0,05$ ; uji t berpasangan), sedangkan untuk nilai viskositas pada basis mikroemulsi menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada penyimpanan hari ke-7 dan hari ke-14 dan sediaan mikroemulsi vitamin C pada penyimpanan hari ke-28 ( $p < 0,05$ ; uji t berpasangan). Perbedaan ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor yaitu faktor formulasi seperti komposisi bahan maupun penyimpanan seperti suhu dan tempat penyimpanan.

Uji sentrifugasi dilakukan untuk mengetahui kestabilan mikroemulsi. Mikroemulsi disentrifugasi dengan menggunakan kecepatan 3750rpm selama 5 jam dengan pengamatan tiap 30 menit. Uji sentrifugasi ini menggambarkan kestabilan sediaan selama proses pendistribusian ataupun selama penyimpanan karena adanya pengaruh gravitasi

bumi. Setelah pengujian, terlihat bahwa sediaan mikroemulsi tidak terjadi pemisahan. Hal ini berarti bahwa sediaan ini stabil selama 1 tahun karena adanya pengaruh gravitasi bumi (Octaviani, 2014).



Gambar 2. Grafik pengaruh lama penyimpanan terhadap viskositas mikroemulsi

Metode pengujian aktivitas antioksidan mikroemulsi yang dilakukan dalam penelitian ini sama dengan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak terpurifikasi daun bayam merah yaitu dengan metode DPPH (2,2-diphenil-1-picrilhidrazil). Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui  $IC_{50}$  dari sediaan mikroemulsi yang telah dibuat. Nilai  $IC_{50}$  adalah suatu konsentrasi yang dapat meredam radikal bebas sebanyak 50%. Dalam penelitian ini digunakan vitamin C murni sebagai pembanding yang juga diformulasi dalam sediaan mikroemulsi agar lebih mudah untuk dibandingkan. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan sediaan mikroemulsi cenderung tidak mengalami perubahan yang signifikan selama penyimpanan ( $p > 0,05$ ; uji t berpasangan) dan memiliki efek antioksidan yang sangat kuat, dimana pada hari pertama nilai  $IC_{50}$  basis mikroemulsi sebesar 14 ppm, mikroemulsi ekstrak terpurifikasi daun bayam sebesar 1,83 ppm sedangkan mikroemulsi vitamin C sebesar 0,24 ppm. Setelah penyimpanan selama 28 hari, aktivitas antioksidan sediaan mikroemulsi menurun dan menunjukkan  $IC_{50}$  basis mikroemulsi sebesar 16,05 ppm, mikroemulsi

ekstrak terpurifikasi daun bayam sebesar 3,27 ppm sedangkan IC<sub>50</sub> mikroemulsi vitamin C sebesar 2,51 ppm.

Ekstrak terpurifikasi daun bayam merah memiliki kemampuan untuk melindungi kerusakan sel oleh radikal bebas. Pada penelitian secara *in vitro*, antioksidan melindungi DNA dari kerusakan oksidatif, menonaktifkan hidrogen peroksidase dan nitrogen dioxide serta melindungi limfosit dari nitrogen dioksida (NO) yang dapat merusak membran sel (Black, 1998).

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih saya ucapkan kepada Kanda Iyam Santoso dan Istigfarin selaku laboran yang telah membantu selama penelitian.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ansel, H. C., 2008, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, Edisi ke-4, UI Press, Jakarta.
- Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. *Tanaman Obat*. Teknologi Pascapanen Tanaman Obat. Bogor.
- Bassett, J., et.al., 1994, *Buku Ajar Vogel: Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*, Edisi 4, EGC, Jakarta.
- Black HS. Radical intereception by carotenoids and effects on UV carcinogenesis. *Nutr Cancer* 1998;31(3);212-7.
- Blois, 2003, *Comparison of Antioxidant Activities of Kudzu Root, JFS*.
- Depkes RI, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Depkes RI, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Foyer, C., 1993, *Ascorbic Acid. In "Antioxidants in Higher Plants"*, CPC Press. Boca Raton, FL.
- Harbone, J. B., 1987, *Metode Fitokimia*, ITB, Bandung. Dalam Skripsi Cristadeolia
- Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Tadulako, Palu.
- Jufri, M., dkk., 2004, *Formulasi Gameksan Dalam Bentuk Mikroemulsi*, Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol. I, No.3, Desember 2006, 160-714.
- Marina, A. M., Che Man, Y. B., Nazimah, S. A. H., & Amin, I. (2009). Chemical properties of virgin coconut oil. *Jour-nal of the American Oil Chemists' Society* 86: 301-307.
- Molyneux, P., 2004, The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. Dalam Skripsi Cristadeolia Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Tadulako, Palu.
- Oktaviani, C., 2014, *Formulasi Mikroemulsi Ekstrak Bawang Hutan (Eleutherine bulbosa (Mill.)Urb.)Sebagai Antioksidan*, Skripsi Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Tadulako, Palu.
- Rowe, R. C., et. al, 2009, *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 6<sup>th</sup> edition, Pharmaceutical Press, London.
- Setiaji, B. Dan Prayugo, S., 2006, *Membuat VCO Berkualitas Tinggi*, Penerbit Swadaya, Jakarta.
- Supriyatna, dkk., 2014, *Suplemen Herbal dan Makanan Super*, Deepublish, Yogyakarta.
- Swarbrick, J. dan Boylan J. C., 1994, *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, Marcel Dekker Inc., New York.
- Volkov, A. G., 2001, *Liquid Interfaces in Chemical, Biological and Pharmaceutical Applications*, Marcel Dekker Inc., New York.
- Widyastuti, N., 2010, *Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Menggunakan Metode CUPRAC, DPPH dan FRAP Serta Kolerasinya dengan Fenol dan Flavanoid dari Enam Tanaman*, Departemen Kimia, IPB, Bogor.