SKRIPSI

FORMULASI SEDIAAN TOPIKAL MIKROEMULSI EKSTRAK *HERBA* PEGAGAN (*Centella asiatica* (L) Urban) DENGAN VARIASI KADAR TWEEN 80

Yang diajukan oleh :

FITRI AMALIYA HIDAYANTI
07613154

Telah disetujui oleh :

Pembimbing utama,	Pembimbing Pendamping,
Dra. Suparmi, M.Si., Apt.	**Bambang Hernawan N, S. Farm.,Apt.**

SKRIPSI

FORMULASI SEDIAAN TOPIKAL MIKROEMULSI EKSTRAK *HERBA* PEGAGAN (*Centella asiatica* (L) Urban) DENGAN VARIASI KADAR TWEEN 80

Oleh :

Fitri Amaliya Hidayanti
07613154

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Yogyakarta

Tanggal : 05 Agustus 2011

1. Ketua Penguji : Dra. Suparmi, M.Si., Apt. (.....)
2. Anggota Penguji : Bambang. H. N, S.Farm., Apt. (.....)
3. Anggota Penguji : Drs. Mimiek. M, SU., Apt. (.....)
4. Anggota Penguji : T.N. Saifullah, M.Si., Apt. (.....)

Mengetahui,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA ★ YOGYAKARTA ★ FAKULTAS MIPA

Yandi Syukri, M.Si., Apt.

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) merupakan tumbuhan liar yang banyak tumbuh di Indonesia. Masyarakat Jawa Barat dan Thailand mengenal tanaman ini sebagai lalapan. Dalam bidang pengobatan pegagan dapat digunakan untuk membersihkan darah, melancarkan peredaran darah, peluruh kencing (diuretika), penurun panas (antipiretika), menghentikan pendarahan (haemostatika), meningkatkan syaraf memori, antibakteri, tonik, antispasma, antiinflamasi, hipotensif, insektisida, antialergi dan stimulan[(1)].

Dalam penelitian ini golongan senyawa yang digunakan adalah golongan terpenoid. Berdasarkan uji pra klinis yang telah dilakukan oleh Suratman dkk terpenoid dalam pegagan terbukti dapat menyembuhkan luka terbuka atau luka bakar dan keloid [(2)]. Mekanisme yang dimiliki dengan cara menurunkan fibrosis pada luka sehingga dapat mencegah pembentukan bekas luka baru. Mekanisme aksi lainnya dilakukan dengan meningkatkan sintesis kolagen dan asam mukopolisakarida, serta menghambat fase inflamasi[(3)].

Ekstrak *herba* pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dapat dibuat dalam berbagai bentuk sediaan farmasetika. Saat ini, ekstrak *herba* pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) tersedia dalam bentuk sediaan krim, gel, dan salep, namun sebagian besar belum menunjukkan hasil stabilitas yang bagus dari sediaan yang telah dibuat[(2)]. Hal ini mendorong peneliti untuk membuat sediaan topikal yang memiliki stabilitas sifat fisik yang lebih bagus serta dapat meningkatkan peremeasi zat aktif ke kulit yaitu dalam bentuk mikroemulsi.

Mikroemulsi merupakan salah satu teknik dalam peningkatan permeasi zat aktif ke kulit. Mikroemulsi memiliki karakteristik yang lebih baik, dilihat dari aspek bentuk sediaan dan kestabilannya selama penyimpanan dibandingkan dengan sediaan topikal lainnya. Mikroemulsi merupakan suatu sistem dispersi yang dikembangkan dari sediaan emulsi. Bila dibandingkan dengan emulsi,

banyak karakteristik dari mikroemulsi yang membuat sediaan ini menarik untuk digunakan sebagai salah satu sistem penghantaran obat (*drug delivery system*)[4,5].

Mikroemulsi mempunyai kestabilan dalam jangka waktu lama secara termodinamika, jernih dan transparan, mempunyai daya kelarutan dan pemeasi yang tinggi serta mempunyai kemampuan berpenetrasi dan absorbsi yang baik. Karakteristik tersebut membuat mikroemulsi mempunyai peranan penting sebagai alternatif dalam formula untuk zat aktif yang tidak larut[5].

B. Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak *herba* pegagan dapat dibuat dalam bentuk sediaan mikroemulsi?
2. Bagaimana pengaruh variasi kadar tween 80 terhadap kestabilan fisik mikroemulsi ekstrak *herba* pegagan?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui ekstrak *herba* pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dapat dibuat dalam bentuk sediaan mikroemulsi.
2. Mengetahui pengaruh variasi kadar tween 80 terhadap stabilitas sifat fisik mikroemulsi.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk menghasilkan suatu sediaan yang stabil yaitu sediaan mikroemulsi dengan ekstrak *herba p*egagan (*Centella asiatica* (L) Urban) sebagai zat aktif.

BAB II
STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Uraian Tanaman Pegagan

a. Nama daerah :

Sumatera	: Faun kaki kuda, daun aga , pegagan, pegaga, rumput kaki kuda, pagago, ambun, pugago.
Jawa/sunda	: Pegagan, antanan gede, gagan-gagan, ganggagan, kerok, batok, pantegowang, panigowang, rending, calingan rambat, cowet gompeng.
Sulawesi	: Pagagan, daun tungke-tungke, wisu-wisu, cipubalawo, kisu-kisu.
Maluku	: Kolotidi menorah, sarowati.
Halmahera	: Kori-kori.
Nusa tenggara	: Bebele, paiduh, penggaga, kedai lere[(6)].

b. Deskripsi Tanaman

Pegagan tumbuh liar di padang rumput, tepi selokan, sawah atau di tanam sebagai penutup tanah di perkebunan dan di pekarangan sebagai tanaman sayur. Pegagan berasal dari asia tropik, menyukai tanah yang agak lembab, cukup sinar matahari, atau agak terlindung, dapat ditemukan di daerah dataran rendah sampai daerah dengan ketinggian 2500 m dpl[(6)]. Tumbuhan menahun, tidak berbatang, mempunyai rimpang pendek dan stolon-stolon yang menyerap, panjang 10-80 cm, akar keluar dari setiap buku-buku, banyak percabangan yang membentuk tumbuhan baru. Daun tunggal bertangkai panjang, tersusun dalam roset akar yang terdiri dari 2-10 helai daun. Helaian daun berbentuk ginjal, tepi bergerigi atau beringgit, kadang agak berambut dengan diameter 1-7 cm. Bunga tersusun dalam karangan berupa payung, tunggal atau 3-5 bunga bersama-sama keluar dari ketiak daun, berwarna merah muda atau putih. Buah kecil, bergantung, berbentuk lonjong, pipih, panjang 2-2,5 mm, baunya wangi dan rasanya pahit[(6)].



Gambar 1. Daun pegagan (*Centella asiatica* (L) urban).

c. Klasifikasi

Klasifikasi tanaman pegagan (*Centella asiatica* (L) urban) dalam sistematika tumbuhan adalah sebagai berikut[6]:

Division	: *Spermatophyta*
Subdivision	: *Angiospermae*
Kelas	: *Dicotyledonae*
Anak kelas	: *Archiclamidae*
Bangsa	: *Apiales*
Suku	: *Umbelliferae (Apiaceae)*
Marga	: *Centella*
Spesies	*: Centella asiatica* (L) Urban

d. Kandungan kimia

Beberapa kandungan kimia dari pegagan dikelompokkan dalam kelompok utama termasuk minyak esensial, derivat flavon, steroid triterpenik, asam triterpenik, dan triterpenik asam gula ester atau saponin. Pegagan juga mengandung berbagai konstituen penting untuk penggunaan klinis dan farmasi[7]. Bahan kimia sebelumnya di teliti dari pegagan adalah asam brahmik, brahminoside, sentellik, sentelloside, hidrokotilin, 3-glukosil kaempferol, 3-glukosil-quercetin, indocentellosid, asam isobrahmik, isothankunik asam, isothankunisid, asam madasiatik, madekassol, mesoinositol, oxiasiaticoside, asam thankunic, alkaloid, asam lemak, flavonol, polifenol, saponin, sterol, gula, tannin,

terpenoid, triterpen[8]. Mengandung garam-garam mineral (seperti garam kalium, natrium, magnesium, kalsium, besi), zat pahit vellarin, dan zat samak. Diduga senyawa terpenoid yang berperan dalam berbagai aktivitas penyembuhan penyakit, salah satunya dalam menyembuhkan luka bakar[6]. Asiatikosid, madekossosid, dan asam madekassid adalah kandungan aktif dalam pegagan yang memiliki potensi untuk dipromosikan sebagai produk komersial.

Tabel I. Kandungan nutrisi daun pegagan [9]

	%	***Nutrient composition of edible portion (E.P).***					
	E.P	***Per 100 g sample***					
		Proximate composition *					
		Kcl *Energy*	g *Water*	g *Protein*	g *Fat*	g CHO	g *Fiber*	g *Ash*
Indian Pennywort (Pegaga); *Hydrocotyle Asiatica*		37	87,7	2,0	0,2	6,7	1,6	1,8
		Vitamin**						
	44	µg *Retinol*	µg *Carotene*	µg RE	mg B1	mg B2	mg *Niacin*	mg C
		0	2649	442	0,09	0,19	0,1	48,5
		Mineral**						
		mg Ca	mg P	mg Fe	mg Na	mg K	-	-
		171	32	5,6	21	391	-	-

Sources : ** Nutrients of Composition of Malaysian Foods (Tee et. Al., 1997)*
*** Nutrients of Composition of Malaysian Foods(Tee et. Al., 1988)*

Note : *RE (Total Vitamin A activity is expressed as retinol equivalents and calculated as µg retinol+(µg retinol/6)*

e. Khasiat

Pegagan telah dikenal sebagai obat untuk berbagai penyakit. Terpenoid, saponin yang ada menghambat produksi jaringan bekas luka yang berlebihan serta menghambat terjadinya keloid. Senyawa triterpenoid glikosida yang disebut *asiaticoside* dan senyawa sejenis yang berkhasiat sebagai anti lepra (kusta) dan juga berkhasiat meningkatkan daya ingat dan kecerdasan otak dengan cara meningkatkan suplai oksigen dan nutrisi ke otak. Alkaloid yang terkandung berkhasiat menyediakan energi untuk otak. Secara umum pegagan berkhasiat sebagai hepatoprotektor yaitu melindungi sel hati dari berbagai kerusakan akibat racun dan zat berbahaya[(6)].

f. Terpenoid

Merupakan golongan senyawa yang mengandung saponin dan sapogenin sebanyak kurang lebih 40% terkandung dalam pegagan terutama pada bagian daunnya. Triterpenoid adalah senyawa turunan dari terpenoid yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik, yaitu skualena. Triterpenoid dapat dipilah sekurang-kurangnya menjadi empat gol senyawa, yaitu triterpena sebenarnya, steroid, saponin, dan glikosida jantung. Kedua gol terakhir sebenarnya triterpena atau steroid yang terutama terdapat sebagai glikosida[(10)].

g. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati menggunakan pelarut organik yang cocok, kemudian hampir semua atau semua pelarut diuapkan dan massa serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan, sebagian besar ekstrak dibuat dengan mengekstraksi bahan obat secara perkolasi[(11)].

h. Metode pembuatan ekstrak

(1) Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian yang biasanya digunakan untuk menyari senyawa kandungan aktif yang larut air dari bahan-bahan nabati. Hasil sari yang

didapat tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Sehingga sari yang di peroleh dari cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam[11].

(2) Maserasi

Maserasi adalah proses mengekstrak simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan, secara teknologi termasuk ekstraksi dengan metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik artinya dilakukan pengadukan yang kontinyu. Sedangkan remaserasi dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya[11].

(3) Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru hingga sempurna *(exhaustive extraction)* biasa dilakukan pada temperatur ruangan. Proses ini terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak yang disebut perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan[12].

(4) Destilasi uap

Destilasi uap dapat digunakan untuk menyari serbuk simplisia yang mengandung komponen yang mempunyai titik didih tinggi pada tekanan udara normal[12].

(5) Sokletasi

Merupakan alat yang digunakan untuk memisahkan bahan dengan cara meneteskan uap dari larutan penyari pada bahan. Ekstraksi dengan alat Soxhlet merupakan metode penyarian yang mengacu pada pemisahan perkolasi dari maserasi. Bahan yang akan diekstraksi diletakkan dalam sebuah kantung ekstraksi (kertas saring dan karton) dibagian dalam alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinyu (perkolator) [13].

Keuntungan penyarian dengan Soxhlet adalah penyari yang digunakan dalam jumlah sedikit dan secara langsung diperoleh hasil yang lebih pekat, serbuk simlisia disari oleh cairan penyari yang murni, sehingga dapat menyari zat aktif yang lebih banyak.Kerugiannya adalah larutan dipanaskan terus - menerus, sehingga zat aktif yang tidak tahan pemanasan akan terurai[13].

i. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis tipis merupakan metode kromatografi cair yang paling sederhana dibandingkan dengan beberapa jenis kromatografi lainnya. KLT dapat dipakai untuk dua tujuan. Pertama, dipakai selayaknya sebagai metode kualitatif, kuantitatif, atau preparatif. Kedua, dipakai untuk menjajaki sistem pelarut dan sistem penyangga yang dipakai dalam kromatografi cair kinerja tinggi. Pada hakikatnya KLT melibatkan dua peubah yaitu fase diam atau sifat lapisan, dan sifat fase gerak atau campuran pengembang[(14)]. Kromatografi lapis tipis adalah salah satu prosedur kromatografi dengan metode pemisahan komponen-komponen atas dasar perbedaan adsorbsi atau partisi oleh fase diam dibawah gerakan pelarut pengembang atau pelarut pengembang campuran. Campuran yang didapat dipisahkan kemudian di totolkan pada plat KLT yang digunakan. Dimasukkan ke dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang. Pemisahan senyawa terjadi selama proses pengembangan. Senyawa dapat bergerak pada fase diam karena adanya gaya kapilaritas pada pengembangan secara menaik (*ascending*) atau pengaruh gravitasi pada pengembangan secara menurun[(14)].

Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penyerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30 μm. semakin kecil ukuran rata-rata partikel fasa diam dan semakin sempit kiasaran ukuran fase diam maka semakin baik kinerja dari KLT dalam hal efisiensinya dan resolusinya. Fase diam yang sering digunakan adalah silika gel, alumina, Kieselguhr, pati dan Sphadex[(14)]. Proses aplikasi sampel dimulai dengan larutan dari sampel ditotolkan pada fase diam dalam bentuk spot atau bercak kecil. Dilakukan secara manual menggunakan mikropipet atau pipa kapiler. Untuk teknik penotolan sampel ini dapat dikembangkan dengan berbagai cara, tentunya untuk menghasilkan pemisahan yang sempurna. Penotolan dalam jumlah besar, diperlukan beberapa kali penotolan berulang pada tempat yang sama, akan tetapi perlu diperhatikan untuk melebarnya totolan sampel yang akan mengakibatkan interaksi dengan fase diam ataupun senyawa lain[(15)]. Identifikasi bercak senyawa pada kromatogram dapat dilakukan dengan tiga cara, yaitu[(15)] :

(a) Menyemprot lempeng mengandung gugus fungsional tertentu sehingga bercak menjadi berwarna.

(b) Non-destruktif (sinar UV), yaitu dengan mengamati lempeng dibawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm atau 366 nm untuk menampakkan solute sebagai bercak gelap atau bercak yang berfluorosensi, mendeteksi adanya cincin aromatis, ikatan rangkap terkonjugasi yang dapat mengabsorbsi sinar UV. Spot kelihatan ungu gelap dengan latar belakang hijau kekuningan.

(c) Destruktif (pereaksi semprot), yaitu menggunakan pereaksi semprot yang dapat menyebabkan kompenen senyawa menjadi rusak. Pereaksi yang digunakan ada dua jenis yaitu pereaksi umum dan pereaksi khusus.

(d) Memaparkan lempeng dengan uap iodium dalam *chamber* tertutup.

(e) Melakukan scanning pada permukaan lempeng densitometer, suatu instrument yang dapat mengukur intesitas radiasi yang direfleksikan dari permukaan lempeng ketika disinari dengan lampu UV. Solut-solut yang mampu menyerap sinar akan dicatat sebagai puncak (*peak*) dalam pencatat (*recorder*). Harga Rf dapat di definisikan sebagai berikut ini:

$$Rf = \frac{jarak\ yang\ di\ tempuh\ analit}{jarak\ yang\ ditempuh\ fase\ gerak} \quad \text{.....(1)}$$

Harga Rf untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga-harga standar. Perlu diperhatikan bahwa harga Rf diperoleh hanya berlaku untuk campuran tertentu dari pelarut dan penyerap yang digunakan. Angka Rf berada antara 0,00 dan 1,00 dan hanya dapat ditentukan dua desimal, hRf ialah angka Rf dikali faktor 100 menghasilkan nilai antara 0 sampai 100. Tetapi karena Rf merupakan faktor, angka ini dianggap sebagai petunjuk saja, harga Rf lah yang dicantumkan untuk menunjukkkan letak suatu senyawa pada kromatogram[18].

2. Mikroemulsi

a. Defenisi

Konsep mikroemulsi pertama kali diperkenalkan oleh Hoar dan Schulman pada tahun 1943. Dalam pembuatan mikroemulsi, Hoar dan Schulman

mendispersikan minyak dalam larutan surfaktan berair dan menambahkan alkohol sebagai kosurfaktan sehingga didapatkan sediaan yang transparan secara visual dan stabil[19]. Menurut Attwood“ mikroemulsi adalah sistem air, minyak, dan senyawa *amphiphilic* (surfaktan dan kosurfaktan) yang transparan, bersifat *isotropic* dan stabil secara termodinamika”[19]. Menurut Gao, mikroemulsi mempunyai kestabilan dalam jangka lama secara termodinamika, jernih, dan transparan, serta dapat disterilkan secara filtrasi, biaya pembuatan murah, mempunyai daya larut tinggi serta kemampuan berpenetrasi yang baik[20]. Mikroemulsi adalah suatu sistem dispersi minyak dengan air yang distabilkan oleh lapisan antarmuka dari molekul surfaktan. Surfaktan yang digunakan dapat tunggal, campuran, atau kombinasi dengan zat tambahan lain[21]. Mikroemulsi merupakan salah satu teknik solubilisasi dalam sistem penghantaran obat (*drug delivery system*) yang dibuat dengan tujuan untuk meningkatkan bioavailabilitas obat-obat yang bersifat hidrofobik, yang dikembangkan dari sediaan emulsi. Karakteristik dari mikroemulsi memiliki banyak kelebihan dibandingkan dengan sediaan emulsi biasa. Karakteristik tersebut antara lain stabil, jernih, transparan, viskositas rendah, tingkat solubilisasi tinggi sehingga dapat meningkatkan biovailabilitas dalam tubuh[22]. Pembuatan fase minyak dan fase air secara terpisah kemudian kedua fase tersebut dicampurkan hingga homogen.

b. Karakteristik mikroemulsi

Karakterisasi dari sediaan mikroemulsi yang dihasilkan dapat dianalisis secara fisika. Metode pengukuran untuk mengidentifikasi bentuk globul dapat dilakukan menggunakan mikroskop elektron dengan ukuran globul pada mikroemulsi berkisar antara 10-200 nm, semakin kecil ukuran globul daya kelarutan obat semakin meningkat. Sedangkan pengukuran *droplet* digunakan penghamburan cahaya *(Light scattering)* sehingga sistem dispersi yang terbentuk transparan secara visual. Identifikasi sifat *rheologic* pada umumnya menggunakan viskometer Brookfield digital yang terdiri atas adaptor berukuran kecil dan ukuran *spindle* nomor 21 (kecepatan rotasi *spindle* 0-100 rpm)[23,24]. Pengujian kelarutan dari zat aktif pada sediaan mikroemulsi dilakukan dengan cara sediaan

mikroemulsi yang dihasilkan dienapkan pada beberapa temperatur yang berbeda (temperatur rendah, temperatur ruangan, dan temperatur tinggi) selama 72 jam[25]. Kemudian disetrifugasi dengan menggunakan kecepatan 5000 rpm selama 30 menit. Supernatan yang didapat difiltrasi menggunakan membran filter berukuran 0,45µm. kemudian filtrat yang didapat di ukur absorbansinya sesuai panjang gelombang dari zat aktif. Penentuan nilai pH menggunakan alat pH meter dengan *range* nilai pH antara 4-7[25].

Penentuan sifat *isotropic*, identifikasi dilakukan dengan *cross-polarized light microscopy*. *Isotropic* pada mikroemulsi tampak kontras seperti *anisotropic liquid crystal*. Metode pengukuran lainnya adalah *electric conduktivity* dan pengukuran persen transmittance[25]. Mikroemulsi tidak akan mengalami koalesen karena adanya gerakan brown dalam sistem yang mencegah globul-globul mikroemulsi bersatu menghasilkan creaming[25] .

Sediaan mikroemulsi cenderung menunjukkan aliran pseudoplastis dan mendekati aliran Newton. Hal ini dikarenakan sediaan mikroemulsi mengandung ukuran partikel yang kecil seperti suatu larutan tunggal sehingga kekentalan sediaan cukup rendah. Pada sifat aliran pesudoplastis adanya peningkatan *shearing stress* mengakibatkan viskositas berkurang secara kontinyu[25].

c. Formulasi mikroemulsi

Dalam formulasi mikroemulsi umumnya terdiri dari kombinasi tiga sampai lima komponen yang terdiri dari fase eksternal, fase internal, dan fase interfasial. Fase eksternal atau pendispersi merupakan bagian cairan dengan jumlah yang lebih banyak dimana fase internal akan terdispersi didalamnya. Biasanya fase internal berupa cairan minyak dengan jumlah yang lebih sedikit dibandingkan fase eksternal. Tipe mikroemulsi yang terbentuk adalah tipe M/A (minyak dalam air). Fase interfasial adalah sebagai penstabil mikroemulsi, berupa surfaktan. Surfaktan dapat dikombinasikan dengan zat tambahan lain yang disebut kosurfaktan. Tujuannya untuk meningkatkan fluiditas pada antarmuka dari molekul yang terbentuk dari dua fase yang tidak dapat saling campur sehingga dapat meningkatkan entropi sistem serta dapat meningkatkan mobilitas ekor

hidrokarbon sehingga penetrasi minyak pada bagian ekor menjadi lebih besar[25]. Surfaktan yang sering digunakan adalah surfaktan jenis nonionik seperti golongan polisorbat dan golongan sorbitan ester.

Pada penelitian Lawrence yang melibatkan kombinasi surfaktan tween dan span menyebutkan bahwa semakin tinggi temperatur maka surfaktan tersebut akan semakin bersifat lipofilik karena gugus polioksietilen yang berfungsi sebagai gugus polar (bagian kepala) akan mengalami dehidrasi dengan meningkatnya temperatur. Untuk mengatasi masalah tersebut surfaktan nonionic dikombinasikan dengan span utnuk memperluas wilayah mikroemulsi pada fase diagram[23]. Bahan tambahan lainnya adalah kosolven yang berfungsi untuk meningkatkan kelarutan obat dalam fase air dan fase minyak dan dapat menurunkan tegangan anwtar muka dengan cara menstabilkan lapisan yang terbentuk diantara dua fase[23]. Jika digunakan surfaktan dalam formulasi obat, maka kecepatan pelarutan obat tergantung jumlah dan jenis surfaktan yang digunakan. Pada umumnya dengan adanya penambahan surfaktan dalam suatu formula akan menambah kecepatan pelarutan bahan obatnya[23].

d. Teori pembentukan mikroemulsi

Teori film campuran *(mixed-film),* yang menyatakan bahwa mikroemulsi dapat terbentuk karena adanya pembentukan lapisan film campuran pada daerah antarmuka dan tegangan antarmuka yang dihasilkan sangat rendah[25]. Teori *Microemulsion Glasses*, menyebutkan bahwa fase minyak dan fase air yang terpisah pada temperatur rendah, dapat diubah dengan menambahkan molekul surfaktan *amphiphilic* seperti sabun atau lipid. struktur homogen kompleks yang terjadi tergantung pada sifat surfaktan dan fraksi volumenya. Hal ini disebabkan karena adanya kompetisi perlawanan antara fase air dan minyak yang tidak dapat bercampur membentuk suatu fase yang kental dengan ukuran globul yang tidak seragam secara mikroskopik, sehingga dengan adanya penambahan surfaktan fenomena tersebut dapat terhindarkan. Pada teori *Microemulsion Glasses*, menunjukkan bahwa kecenderungan pemisahan *microphase* di mikroemulsi mengarah pada pembentukan *glassy* akibat adanya korelasi kuat antara daerah

kutub dan hidrofob. *Glassy* diperkirakan akan terjadi di atas fraksi volume kritis surfaktan, yang ditentukan oleh panjang dari molekul *amphiphilic*[26].

e. Kelebihan dan manfaat mikroemulsi di bidang farmasi

Secara klinik, obat-obat hidrofobik menjadi tidak efisien dengan rendahnya daya kelarutan akibatnya penetrasi obat menjadi rendah. Dengan adanya mikroemulsi dapat meningkatkan kelarutan obat-obat hidrofobik[25]. Mikroemulsi lebih stabil secara termodinamika sehingga penggunaannya oleh pasien bisa lebih diterima dan menyenangkan karena rasa dan bau yang tidak enak dapat tertutupi terutama dalam bantuk sediaan oral, berbentuk transparan sehingga memiliki nilai estetika yang lebih yang dapat menarik minat konsumen. Selain oral sediaan mikroemulsi dapat dibuat dalam bentuk topikal, intradermal, pulmonal, okular, dan intramuskular[27]. Dalam penelitian sebelumnya disebutkan bahwa mikroemulsi diterapkan sebagai salah satu sistem penghantaran obat (*drug delivery system*) untuk zat aktif seperti steroid, hormon, insulin, vasopressin, dan immunosupresi[28]. Secara umum, di bidang farmasi mikroemulsi telah digunakan sebagai pembawa obat untuk administrasi perkutan, okular, oral dan parenteral[29]. Selain bermanfaat sebagai pembawa dalam penghantaran obat, mikroemulsi juga bermanfaat sebagai lubrikan, *cutting oils*, penghambat korosi, *textile finishing*, pembawa bahan bakar, membran liquid, dan berbagai manfaat lainnya[30].

3. Surfaktan

Surfaktan merupakan suatu molekul yang sekaligus memiliki gugus hidrofilik dan gugus lipofilik sehingga dapat mempersatukan campuran yang terdiri dari air dan minyak. Surfaktan adalah bahan aktif permukaan. Aktifitas surfaktan diperoleh karena sifat ganda dari molekulnya. Molekul surfaktan memiliki bagian polar yang suka akan air (hidrofilik) dan bagian non polar yang suka akan minyak/lemak (lipofilik). Bagian polar molekul surfaktan dapat bermuatan positif, negatif atau netral. Sifat rangkap ini yang menyebabkan surfaktan dapat diadsorbsi pada antar muka udara-air, minyak-air dan zat padat-air, membentuk lapisan tunggal dimana gugus hidrofilik berada pada fase air dan

rantai hidrokarbon ke udara, dalam kontak dengan zat padat ataupun terendam dalam fase minyak. Umumnya bagian non polar (lipofilik) adalah merupakan rantai alkil yang panjang, sementara bagian yang polar (hidrofilik) mengandung gugus hidroksil[31].

Penggunaan surfaktan sangat bervariasi, seperti bahan deterjen, kosmetik, farmasi, makanan, tekstil, plastik dan lain-lain. Beberapa produk pangan seperti margarin, es krim, dan lain-lain menggunakan surfaktan sebagai salah satu bahannya. Syarat agar surfaktan dapat digunakan untuk produk pangan yaitu bahwa surfaktan tersebut mempunyai nilai *Hydrophyle Lypophyle Balance* (HLB) antara 2-16, tidak beracun, serta tidak menimbulkan iritasi[32]. Penggunaan surfaktan terbagi atas tiga golongan, yaitu sebagai bahan pembasah (*wetting agent*), bahan pengemulsi (*emulsifying agent*) dan bahan pelarut (*solubilizing agent*). Penggunaan surfaktan ini bertujuan untuk meningkatkan kestabilan emulsi dengan cara menurunkan tegangan antarmuka, antara fasa minyak dan fasa air. Surfaktan dipergunakan baik berbentuk emulsi minyak dalam air maupun berbentuk emulsi air dalam minyak. Gugus hidrofilik pada surfaktan bersifat polar dan mudah bersenyawa dengan air, sedangkan gugus lipofilik bersifat non polar dan mudah bersenyawa dengan minyak. Di dalam molekul surfaktan, salah satu gugus harus lebih dominan jumlahnya. Bila gugus polarnya yang lebih dominan, maka molekul-molekul surfaktan tersebut akan diabsorpsi lebih kuat oleh air dibandingkan dengan minyak. Akibatnya tegangan permukaan air menjadi lebih rendah sehingga mudah menyebar dan menjadi fase kontinyu[32]. Demikian pula sebaliknya, bila gugus non polarnya lebih dominan, maka molekulmolekul surfaktan tersebut akan diabsorpsi lebih kuat oleh minyak dibandingkan dengan air. Akibatnya tegangan permukaan minyak menjadi lebih rendah sehingga mudah menyebar dan menjadi fase kontinyu[32].

Penambahan surfaktan dalam larutan akan menyebabkan turunnya tegangan permukaan larutan. Setelah mencapai konsentrasi tertentu, tegangan permukaan akan konstan walaupun konsentrasi surfaktan ditingkatkan. Bila surfaktan ditambahkan melebihi konsentrasi ini maka surfaktan mengagregasi membentuk misel. Konsentrasi terbentuknya misel ini disebut *Critical Micelle*

Concentration (CMC). Tegangan permukaan akan menurun hingga CMC tercapai. Setelah CMC tercapai, tegangan permukaan akan konstan yang menunjukkan bahwa antar muka menjadi jenuh dan terbentuk misel yang berada dalam keseimbangan dinamis dengan monomernya[33]. Klasifikasi surfaktan berdasarkan muatannya dibagi menjadi empat golongan yaitu:

(1) Surfaktan anionik yaitu surfaktan yang bagian alkilnya terikat pada suatu anion. Contohnya adalah garam alkana sulfonat, garam olefin sulfonat, garam sulfonat asam lemak rantai panjang.

(2) Surfaktan kationik yaitu surfaktan yang bagian alkilnya terikat pada suatu kation. Contohnya garam alkil trimethil ammonium, garam dialkil-dimethil ammonium dan garam alkil dimethil benzil ammonium.

(3) Surfaktan nonionik yaitu surfaktan yang bagian alkilnya tidak bermuatan. Contohnya ester gliserin asam lemak, ester sorbitan asam lemak, ester sukrosa asam lemak, polietilena alkil amina, glukamina, alkil poliglukosida, mono alkanol amina, dialkanol amina dan alkil amina oksida.

(4) Surfaktan amfoter yaitu surfaktan yang bagian alkilnya mempunyai muatan positif dan negatif. Contohnya surfaktan yang mengandung asam amino, betain, fosfobetain[34].

Sebagian besar surfaktan mampu berperan dalam solubilisasi. Surfaktan yang dipergunakan untuk membuat sediaan farmasi dan kosmetika untuk pemakaian luar harus secara farmakologis non-agresif dan non-toksik pada kulit. Oleh karena alasan tersebut maka di dalam banyak penelitian digunakan surfaktan dari golongan non-ionik yang tidak toksik[35].

Tabel II. Klasifikasi Surfaktan[33]

Tipe	Contoh
Anionic	*Alcohol ether sulfates*
	Alkyl sulfates (30-40)
	Soap (12-20)
	Sulfosuccinates
Cationic	*Quartenery ammonium coumpound (30)*
	Alkyl betaine derivates
Zwitterionic	*Fatty amine sulfates*
Amphoteric	*Difatty alkyl triethanolamine derivates (16-17)*
	Lanolin alcohol
	Polyoxyethylated (POE) alkyl phenol (12-13)
Non-ionic	*POE fatty amine*
	POE alcohol ather
	POE ester
	Poloxamer (7-9)
	POE glycol monoether (13-6)
	Polysorbate (10-17)
	Sorbitan ester (2-9)

Tabel III. Estimasi HLB surfaktan pada kemampuan terdispersi dalam air[34]

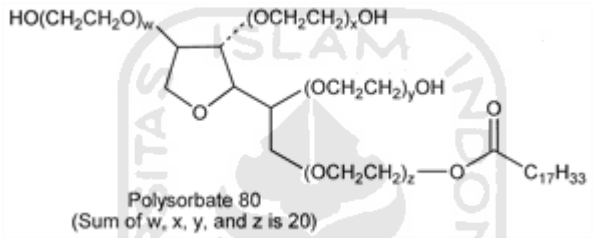
Range HLB	Kemampuan terdispersi dalam air
1-4	Tidak terdispersi
3-6	Sulit terdispersi
6-8	Terdispersi seperti susu setelah pengadukan kuat
8-10	Dispersi stabil seperti susu
10-13	Tembus cahaya atau disperse bening
>13	*Solution* bening

4. Monografi Bahan

(a) Tween 80 (Polisorbat 80)

Rumus molekul : C64H124O26, sinonim : *Polyoxyethylene* (20) *sorbitan monooleate, (x) sorbitan mono-9-octadecenoate poly (oxy-1,2-ethanediyl)*.Polisorbat 80 adalah cairan berwarna kuning yang larut air. Bagian hidrofilik terdiri dari polieter yang dikenal dengan *polyoxyethilen* yang merupakan polimer dari ethylen oxide. Polisorbat merupakan bagian lipofil yang terdiri dari asam oleat. Kelarutan : sangat larut dalam air dan larut dalam etanol. Viskositas 300-400 centristrokes pada suhu 250C, HLB 15.,0[36].

Rumus struktur Tween 80 ditampilkan pada gambar dibawah ini.

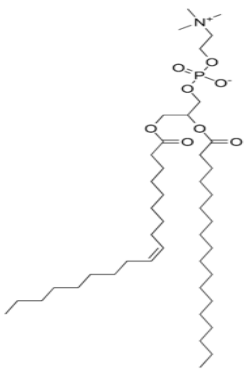


Gambar 2. Struktur tween 80[36].

(b) Lesitin

Lesitin merupakan campuran dari glikolipid, trigliserida dan phospholipid. Lesitin adalah suatu fosfolipid yang komponen utamanya fraksi phosphate yang diisolasi dari kuning telur atau kacang kedelai. Termasuk surfaktan non-toksik dan direkomendasikan oleh FDA untuk dikonsumsi. [37].

Rumus struktur dari lesitin adalah sebagai berikut:



Gambar 3. Struktur lesitin[37].

c) Isopropil Miristat

Pemerian transparan, tidak berwarna, hampir tidak berbau, $CH_3(CH_2)_{12}COOCH(CH_3)_2$, cairan encer dengan rasa lemah, terdiri dari ester isopropil alkohol, asam lemak jenuh, BM tinggi yaitu 270,45 dengan rantai utama asam miristat. Kelarutan larut dalam 3 bagian alkohol 90% pada suhu 20^0C. Tidak larut dalam air, gliserin, dan propilen glikol. Memiliki viskositas 7 cps pada suhu 25^0C, pada titik lebur 153,5^0C. Kegunaan sebagai fase minyak, pelarut dan emolient. Keamanan studi toksisitas akut menunjukkan ketoksikan yang sangat lemah. Isopropil miristate lebih bisa ditoleransi daripada sesami dan minyak zaitun. Penyimpanan dalam wadah tertutup rapat dengan temperatur terkendali[36].

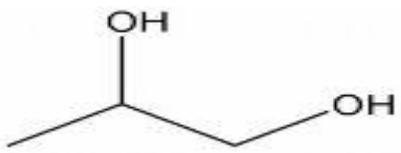
Struktur Kimia Isopropyl myristate:



Gambar 4. Struktur isopropil miristat[36].

d) Propilen Glikol

Propilen glikol memiliki nama lain 1,2-propnadiol, dengan berat molekul 76,09, mengandung tidak kurang dari 99,5% $C_3H_8O_2$. Pemerian cairan kental, jernih, tidak berwarna, rasa khas, praktis tidak berbau, menyerap air pada udara lembab. Kelarutan dapat bercampur dengan air, dengan aseton, dan dengan kloroform, larut dalam eter dan dalam beberapa minyak esensial, tetapi tidak dapat bercampur dengan minyak lemak. Wadah dan penyimpanan dalam wadah tertutup rapat[36].



Gambar 5. Struktur propilenglikol[36].

e) Etanol

Etanol memiliki rumus struktur C_2H_6O dengan berat molekul 46,07. Memiliki nama lain etil alkohol. Etanol mengandung tidak kurang dari 92,3% b/b dan tidak lebih dari 96,0% v/v. C_2H_5OH pada suhu $15,56^0$ pemerian mudah menguap, jernih, tidak berwarna, bau khas dan menyebabkan rasa terbakar pada lidah. Mudah menguap walaupun pada suhu rendah dan mendidih pada suhu 78^0. Mudah terbakar, kelarutan bercampur dengan air dan praktis bercampur dengan semua pelarut organik. Wadah dan penyimpanan dalam wadah tertutup rapat, jauh dari api[(36)].

f) Aquadest

Aquadestilata adalah air yang sudah dimurnikan yang diperoleh dengan destilata. Memiliki rumus struktur H_2O. Berat molekul 18, diperoleh dengan menggunakan penukar ion, osmosis balik, atau proses lain yang sesuai. Dibuat dari air yang memenuhi persyaratan air minum. Tidak mengandung zat tambahan. Pemerian cairan jernih, tidak berwarna, tidak berbau, pH antara 5,0 dan 7,0. Wadah dan penyimpanan dalam wadah tertutup rapat[(37)].

B. Landasan Teori

Pegagan adalah salah satu tanaman yang digunakan masyarakat sebagai obat. Mengandung senyawa golongan terpenoid seperti saponin yang berperan dalam berbagai aktivitas penyembuhan penyakit. Salah satu khasiatnya adalah dapat menyembuhkan luka terbuka atau luka bakar[(2)]. Pada penelitian sebelumnya, tanaman pegagan telah dibuat dalam bentuk sediaan krim, gel, dan salep, namun sebagian besar belum menunjukkan hasil stabilitas yang bagus dari sediaan yang telah dibuat[(2)]. Oleh karena itu penelitian ini, bertujuan untuk menghasikan suatu sediaan yang memiliki stabilitas lebih bagus.

Mikroemulsi merupakan sistem dispersi minyak dengan air yang distabilkan oleh lapisan antarmuka dari molekul surfaktan. Penggunaannya bisa secara oral ataupun topikal[(4,5)]. Penggunaan secara topikal yang dapat meningkatkan kelarutan minyak dan ukuran partikel yang sangat kecil semakin mempercepat mikroemulsi menembus lapisan-lapisan kulit manusia[(4)].

Kombinasi surfaktan tween 80 dan lesitin dapat membentuk lapisan film yang menghubungkan antara kedua fase sehingga dapat meningkatkan kelarutan dan kestabilan ekstrak pegagan[4]. Sediaan mikroemulsi yang dibuat akan menghasilkan karakteristik sifat fisik yang stabil dan dapat meningkatkan permeasi zat aktif ke dalam kulit[4].

C. Hipotesis

Ekstrak *herba* pegagan dapat dibuat dalam bentuk sediaan topikal mikroemulsi dengan variasi kadar surfaktan tween 80 yang memiliki stabilitas sifat fisik yang bagus selama penyimpanan 4 minggu.

BAB III
METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan baku *herba* pegagan (Desa Maknorejo Kecamatan Pakem), Tween 80 (Merck, kualitas farmasetis), lesitin (Merck, kualitas farmasetis), air suling (kualitas farmasetis laboratorium farmasi UII), Isopropil miristat (Merck, kualitas farmasetis), propilen glikol (Merck, kualitas farmasetis), etanol (Merck, kualitas farmasetis).

2. Alat

Seperangkat alat gelas, neraca analitik (Metler toledo® tipe PL303), *hot plate* (Heidolph® Mr 3001K), homogenizer (Ultra turrak®), viskometer Brookfield (DV-I Prime®), pH meter (Metler toledo®), mikroskop elektron (Olympus®), *rotary evaporator* (Heidolph® laborota 4000 efficient)

B. Cara Penelitian

1. Formula mikemulsi ekstrak *herba* pegagan

Tabel IV. Rancangan Formulasi Sediaan Mikroemulsi[38].

Bahan % b/v (g)	Formula I	Formula II	Formula III	Formula IV
Ekstrak herba pegagan	0,3	0,3	0,3	0,3
Isopropil miristat	9	9	9	9
Tween 80	35	36	37	-
Lesitin	5	5	5	5
Etanol	3	3	3	3
Propilen glikol	2,5	2,5	2,5	2,5
Air suling	55,2	54,2	53,2	90,2

2. Determinasi bahan

Determinasi *herba* pegagan (*Centella asiatica* [L] Urban) di lakukan di laboratorium Biologi Farmasi Universitas Islam Indonesia menggunakan buku *Flora of java*. Determinasi dilakukan dengan mencocokkan sifat-sifat morfologi tanaman pegagan dengan kunci-kunci determinasi sesuai petunjuk literatur *Flora of java*[(36)].

3. Penyiapan Bahan

Daun pegagan yang akan digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari desa Maknorejo Kecamatan Pakem. Sebelum dimaserasi *herba* pegagan dibersihkan dari pasir, debu, dan kotoran lain dengan cara sortasi. Setelah itu dicuci dengan alkohol 70% dan kemudian dikeringkan

4. Proses ekstraksi *herba* pegagan

Simplisia *herba* pegagan yang telah memenuhi syarat organoleptis dan telah dicuci dengan alkohol 70% dikeringkan terlebih dahulu. Setelah kering lalu diserbuk. Serbuk di maserasi dengan penyari etanol 96%. Dipilih penyari etanol karena terkait dengan polaritas zat aktif dan terbukti efektif. Cairan penyari dituangkan perlahan-lahan sampai sari menjadi basah dan diatas permukaan massa masih tergenang dengan cairan penyari. Didiamkan dalam bejana tertutup selama 24 jam. Cairan penyari harus selalu ditambahkan sehingga terjaga adanya lapisan cairan penyari diatas permukaan massa. Setelah tiga hari disaring dengan beberapa tahap penyaringan menggunakan penyaring dengan ukuran pori-pori dari tahap ke tahap penyaringan semakin kecil, tujuannya adalah agar cairan yang tersaring semakin selektif sehingga yang diperoleh merupakan cairan yang dikehendaki. Sari yang dihasilkan berupa ekstrak cair yang masih mengandung pelarut sehingga pelarutnya harus dihilangkan dengan cara dievaporasi dengan *rotary evaporator* agar pelarutnya terpisah dan diperoleh ekstrak cair bebas kandungan pelarut. Ekstrak cair yang dihasilkan lalu diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental [(11)].

5. Pembuatan mikroemulsi

Pembuatan sediaan mikroemulsi dilakukan dengan cara menyiapkan fase minyak dan fase air. Untuk fase air, tween 80 dicampurkan dengan propilen glikol lalu dilarutkan dalam air suling dengan pengadukan konstan menggunakan *heater stirrer* pada suhu 50^0C. Dilakukan pengadukan sampai didapatkan larutan yang jernih. Pembuatan fase minyak dilakukan dengan melarutkan ekstrak *herba* pegagan dalam etanol. Ekstrak *herba* pegagan yang telah larut dalam etanol dicampurkan dengan lesitin yang telah didispersikan dalam larutan isopropil miristat. Dilakukan pencampuran fase air dan minyak dengan cara menuangkan sedikit demi sedikit fase minyak ke dalam fase air sambil dilakukan pengadukan menggunakan homogenizer dengan kecepatan 1600 rpm sampai di dapatkan sediaan mikroemulsi yang jernih[(19)].

6. Uji sifat fisik ekstrak pegagan

a. Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis meliputi : bentuk, warna, rasa, dan bau[(10)].

b. Uji kualitatif dengan KLT

Dipipet sampel ekstrak sebanyak 5 ml kemudian ditambahkan 5 ml hexan yang distirer selama 15 menit. Larutan yang didapat disentrifugasi selama 3 menit. Fase hexan diambil dan dievaporasikan. selanjutnya ditotolkan sebanyak 10 µl pada plat silikagel 60 GF_{254}. Penotolan dilakukan beberapa kali, dimana penotolan berikutnya dilakukan setelah penotolan yang pertama benar-benar kering untuk menghindari adanya bercak yang mengekor *(tailing)*. Setelah kering kromatogram kemudian dimasukkan dalam *chamber glass* dan dijenuhi dengan fase gerak (toluen: etil asetat = 93: 7) lalu dikeringkan selama 10 menit. Setelah kering disemprot dengan pereaksi vanillin-asam sulfat. Dipanaskan pada suhu 110^0C selama 2 menit. Setelah itu, dimasukkan dideteksi menggunakan lampu UV-Vis. Dihitung nilai Rf[(31)]. Pembanding standar yang digunakan adalah terpineol.

7. Uji sifat fisik mikroemulsi

a. Stabilitas fisik mikroemulsi

Sediaan mikroemulsi dievaluasi pada suhu kamar (25^0C), suhu tinggi (60^0C), dan pada suhu rendah (4^0C) yang meliputi evaluasi warna, bau, dan homogenitas sediaan selama penyimpanan 4 minggu dengan pengamatan setiap 1 minggu. Mikroemulsi yang baik adalah mikroemulsi yang tidak mengalami perubahan warna, bau, dan homogenitas selama penyimpanan.

b. Homogenitas

Pengamatan homogenitas dilakukan secara visual. Dilakukan dengan cara mengambil sejumlah sediaan dan dioleskan diatas kaca arloji.

c. Ukuran globul mikroemulsi

Pengukuran dilakukan dengan menggunakan mikroskop elektron. Mikroemulsi yang baik adalah yang mempunyai ukuran diameter globul kurang dari 0,1 mikrometer.

d. Viskositas

Sediaan mikroemulsi yang sudah dibuat diamati viskositasnya dengan menggunakan Viskometer Brookfield. Mikroemulsi diletakkan dalam gelas *beaker* selanjutnya dicari nomor rotor yang sesuai (64), setelah rotor di pasang pada tempatnya lalu diatur *speed* (20 rpm) dan dicari persentase kecepatan berputarnya rotor yang paling stabil dan dicatat nilai viskositas yang tertera di monitor.

e. Uji pH

Dilakukan dengan cara memindahkan secukupnya sediaan mikroemulsi ke dalam *cup* yang akan dicelupkan pH meter. Nilai pH dapat langsung dilihat pada monitor yang terdapat pada pH meter. Sebelum dan sesudah menggunakan pH meter perlu dilakukan kalibrasi pH pada pH meter yaitu dengan cara elektroda dicuci dan dibilas dengan air suling, lalu dikeringkan menggunakan tisu. Kalibrasi alat menggunakan larutan dapar standar pH 4 dan pH 7.

C. Analisa Hasil

Untuk mengetahui stabilitas sifat fisik sediaan mikroemulsi yang dibuat yaitu dianalisis secara statistik menggunakan *one way anova* dari hasil pengujian sifat fisik meliputi uji stabilitas mikroemulsi, ukuran globul mikroemulsi, homogenitas, viskositas, dan uji pH dan dilanjutkan dengan *t-test* (taraf kepercayaan 95%) untuk pengujian viskositas sediaan selama 4 minggu penyimpanan.

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi tanaman dan hasil ekstraksi

1. Determinasi tanaman pegagan

Penelitian ini menggunakan *herba* pegagan, yang diperoleh dari desa Maknorejo kecamatan Pakem, Sleman, Yogyakarta. Tanaman pegagan telah diidentifikasi secara makroskopik di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas MIPA jurusan Farmasi Universitas Islam Indonesia melalui pengamatan organ tanaman berupa daun, batang, akar yang kemudian disesuaikan berdasarkan pada literatur determinasi dari buku *Flora of Java*. Determinasi tanaman dilakukan bertujuan untuk memastikan kebenaran tanaman dan untuk menghindari kesalahan dalam penggunaannya. Hasil determinasi tanaman pegagan adalah sebagai berikut :

1b-2b-3b-4b-6b-9b-10a-(Gol 7/ daun tersusun dalam roset)-92b-100b-103b-105b-106b-107b-108b-Familia = Umbelliferae-1b-2b-Centella-*Centella asiatica* [L] Urban.

Berdasarkan hasil determinasi diatas menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar-benar tanaman pegagan dengan nama latin *Centella asiatica* [L] Urban.



Gambar 8. Tanaman pegagan secara makroskopik[(6)].

2. Hasil ekstraksi daun pegagan

Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi selama 3x24 jam. Dalam penelitian ini sebanyak 500 g simplisia kering dibutuhkan 1 liter cairan penyari etanol 96%. Setelah dilakukan penyaringan replikasi 3x ekstrak cair yang dihasilkan adalah 625 ml. Kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* selama ± 4 jam menghasilkan 10 gram ekstrak kental herba pegagan.

Nilai rendemen dapat dilihat pada perhitungan dibawah ini :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\textit{herba}\ \text{pegagan}}{\text{Ekstrak kental}} = \frac{0{,}5\ \text{kg}}{0{,}01\text{kg}} = 50\%$$

B. Uji sifat fisik ekstrak

Ekstrak cair yang dihasilkan kemudian diuji sifat fisik ekstrak. Tujuannya untuk memperoleh kriteria-kriteria fisik dari ekstrak *herba* pegagan yang dihasilkan sehingga dapat diformulasikan menjadi sediaan mikroemulsi. Kriteria-kriteria tersebut nantinya akan menjadi acuan sifat fisik ekstrak *herba* pegagan pada produksi sediaan mikrogel selanjutnya. Hasil uji sifat fisik ekstrak *herba* pegagan antara lain:

1. Pemeriksaan organoleptis

Bertujuan untuk memastikan bahwa ekstrak yang dihasilkan memenuhi persyaratan karakteristik ekstrak pegagan. Pemeriksaan organoleptis dilakukan dengan menggunakan panca indera manusia dalam mendeskripsikan bentuk, warna, bau dan rasa dari ekstrak. Menurut Suratman dkk, ekstrak pegagan adalah berwarna hijau kehitaman dengan bau yang khas dan rasa yang pahit[(2)]. Dari hasil pengujian yang tersaji pada tabel V, ekstrak *herba* pegagan yang dihasilkan berupa cairan kental berwana hijau kehitaman dengan bau yang khas jamu dan rasa yang pahit. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak yang diperoleh sesuai dengan literatur yang ada.

Adapun hasil uji organoleptis ekstrak daun pegagan yang tercantum pada tabel berikut :

Tabel V. Data hasil uji organoleptis ekstrak daun pegagan

Parameter organoleptik ekstrak	Deskripsi
Bentuk	Cairan agak kental
Warna	Hijau kehitaman
Bau	Khas jamu
Rasa	Pahit

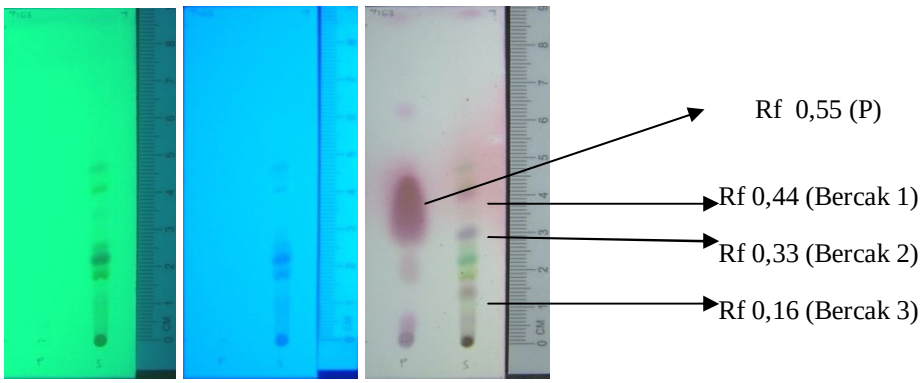
2. Uji Kadar air ekstrak

Pengujian kadar air ekstrak pegagan bertujuan untuk mengetahui seberapa besar kandungan air dalam ekstrak pegagan. Hal ini terkait dengan tumbuhnya mikroorganisme seperti jamur ataupun bakteri yang dapat tumbuh didalam ekstrak pegagan. Berdasarkan hasil uji kadar air sebanyak lima kali replikasi diperoleh nilai persentase kadar air rata-rata sebesar 18,34% ± 0,422. Kadar air ekstrak pada umumnya adalah 30-70%[13]. Hal ini mengindikasikan bahwa kadar air yang terkandung dalam ekstrak pegagan tidak berlebihan. Kadar air yang berlebihan dapat mengakibatkan ekstrak mudah ditumbuhi jamur dan dapat mempengaruhi sediaan yang akan dibuat.

3. Uji kualitatif dengan KLT

Uji kualitatif dengan KLT bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya kandungan senyawa terpenoid yang terkandung dalam ekstrak pegagan. Uji yang dilakukan hanya bersifat kualitatif yaitu hanya untuk mengetahui keberadaan senyawa terpenoid dalam ekstrak pegagan. Pada uji KLT menggunakan fase diam yang digunakan adalah silikagel 60 GF_{254} dan pada fase gerak menggunakan toluen:etil asetat (93:7).

Hasil uji kualitatif kandungan terpenoid ekstrak pegagan, dapat dilihat pada gambar 9 berikut :



Gambar 9. Hasil KLT terpenoid.

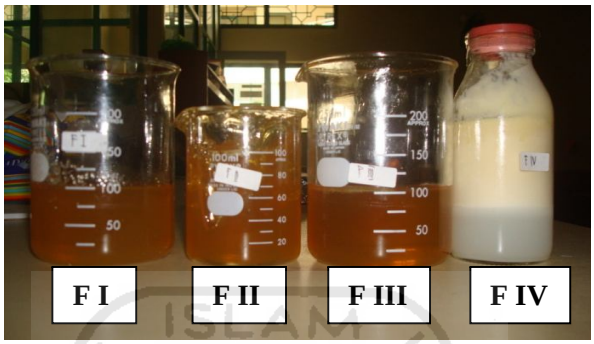
Keterangan : a. UV_{254}, b. UV_{365}, c. *Visible*
S : Ekstrak *herba* pegagan
P : Komparator terpineol
Fase diam : Silikagel 60 F_{254}
Fase gerak : Toluen : Etil asetat (93 : 7)

Berdasarkan hasil uji kualitatif kandungan terpenoid yang tersaji pada gambar 9; pada lampu UV_{254}, UV_{365} dan *Visible* menunjukkan bahwa terpenoid dapat terdeteksi pada lampu UV_{254} dan pada UV_{365} serta dalam lampu *visible* ditunjukkan dengan spot merah violet. Hal ini ditandai dengan adanya silikagel sebagai fase diam yang berfluorosensi sehinga dapat menunjukan warna merah violet pada lampu *visible* setelah direaksikan dengan pereaksi semprot vanillin-asam sulfat.

Range nilai Rf terpenoid yaitu 0,2-0,8 ditandai dengan terbentuknya warna merah jingga atau violet[39]. Berdasarkan hasil uji senyawa terpenoid ekstrak pegagan, pada lampu *visible* nilai Rf yang terdeteksi sebesar 0,16 (bercak 1); 0,33 (bercak 2) dan 0,44 (Bercak 3) yaitu jarak spot yang digerakkan senyawa dari titik asal masing-masing 1,44; 3 dan 4 cm dibandingkan dengan jarak jarak yang ditempuh oleh pelarut sebesar 9 cm. Hal ini mengindikasikan bahwa dalam ekstrak pegagan tersebut mengandung golongan senyawa terpenoid.

C. Hasil pembuatan mikroemulsi *herba* pegagan (*Centella asiatica* [L] Urban)

Mikroemulsi *herba* pegagan dengan variasi kadar surfaktan tween 80 (35, 36 dan 37%, tanpa tween) ditunjukkan pada gambar dibawah ini :



Gambar 10. Hasil formula mikrogel ekstrak herba pegagan.

Keterangan : mikroemulsi *herba* pegagan *(Centella asiatica* [L] Urban)
Formula I : Kadar surfaktan Tween 80; 35%
Formula II : Kadar surfaktan Tween 80; 36%
Formula III : Kadar surfaktan Tween 80; 37%
Formula IV : Tanpa Tween 80

D. Hasil uji sifat fisisk mikroemulsi *herba* pegagan (*Centella asiatica* [L] Urban)

1. Stabilitas fisik mikroemulsi

Uji stabilitas fisik mikroemulsi dilakukan pada suhu kamar (25^0C), suhu tinggi (60^0C), dan pada suhu rendah (4^0C) selama penyimpanan 4 minggu dengan pengamatan satu minggu sekali. Tujuan pengujian stabilitas terbatas untuk mengetahui karakteristik organoleptis sediaan (warna, bau dan homogenitas) dan pengaruh suhu selama peyimpanan terhadap sifat fisik dari sediaan mikroemulsi. Suhu merupakan salah satu faktor lingkungan yang berpengaruh pada stabilitas sediaan mikroemulsi ekstrak *herba* pegagan.

a. Suhu kamar (25^0C)

Hasil pengamatan pada suhu kamar (25^0C) dapat dilihat pada tabel dibawah ini sebagai berikut :

Tabel VI. Hasil pengamatan stabilitas fisik pada suhu kamar (25^0C)

Minggu Ke-	F 1		
	Warna	Bau	Homogenitas
0	Kuning jernih	Khas	Homogen
1	Kuning jernih	Khas	Homogen
2	Kuning jernih	Khas	Homogen
3	Kuning jernih	Khas	Homogen
4	Kuning jernih	Khas	Homogen
Minggu Ke-	F 2		
	Warna	Bau	Homogenitas
0	Kuning jernih	Khas	Homogen
1	Kuning jernih	Khas	Homogen
2	Kuning jernih	Khas	Homogen
3	Kuning jernih	Khas	Homogen
4	Kuning jernih	Khas	Homogen
Minggu Ke-	F 3		
	Warna	Bau	Homogenitas
0	Kuning jernih	Khas	Homogen
1	Kuning jernih	Khas	Homogen
2	Kuning jernih	Khas	Homogen
3	Kuning jernih	Khas	Homogen
4	Kuning jernih	Khas	Homogen
Minggu Ke-	F 4		
	Warna	Bau	Homogenitas
0	Putih susu	Khas	Tidak Homogen
1	Putih susu	Khas	Tidak Homogen
2	Putih susu	Khas	Tidak Homogen
3	Putih susu	Khas	Tidak Homogen
4	Putih susu	Khas	Tidak Homogen

Keterangan : F1 (tween 80, 35%), F2 (tween 80, 37%), F3 (tween 80, 38%), F4 (tanpa tween)

Berdasarkan hasil yang tersaji pada tabel VI diatas ketiga sediaan (F1, F2, dan F3) memiliki warna kuning jernih yang berasal dari penggunaan komponen surfaktan tween 80 dan lesitin dalam jumlah yang besar sehingga menyebabkan

sediaan menjadi berwarna kuning dikarenakan monografi tween 80 dan lesitin yang berwarna kuning[36,37], bau yang khas disebabkan karena penggunaan lesitin yang memiliki monografi dengan bau yang khas[37] dan memiliki homogenitas yang baik ditandai dengan tidak terbentuknya endapan, penggumpalan dan tidak pecah[19]. Sedangkan pada formula 4 memiliki warna putih susu serta terbentuknya dua fase di bagian atas adalah fase minyak sedangkan bagian bawah fase air (tipe Winsor IV), berbau khas yang berasal dari lesitin dan tidak homogen karena terbentuk gumpalan pada bagian atas dalam sediaan.

Adanya ketidakseimbangan pada sistem mikroemulsi menyebabkan terbentuknya globul-globul berukuran besar sehingga tampak seperti emulsi. Penggunaan lesitin tunggal pada F4 tidak mampu membentuk suatu sistem mikroemulsi sehingga antara fase minyak dan fase air yang terbentuk tidak dapat bercampur akibatnya partikel-partikel cenderung untuk bergabung membentuk suatu ikatan antar partikel yang lebih rapat yang mengakibatkan sediaan menjadi berwarna putih susu[40].

Karakteristik suatu mikroemulsi adalah transparan, jernih dan tidak terjadi endapan, penggumpalan dan tidak pecah[23]. Secara organoleptis menunjukkan bahwa ketiga formula tersebut tidak ada perubahan dari segi warna dan bau selama masa penyimpanan. Pada sediaan mikroemulsi, sistem mikroemulsi yang dibuat memiliki tipe M/A (minyak dalam air) sehingga sangat rentan untuk tumbuhnya jamur. Selama penyimpanan 4 minggu ketiga sediaan (F1, F2, F3) tidak ditumbuhi adanya jamur.

Hal tersebut diatas menunjukkan bahwa ketiga formula (F1, F2, F3) memiliki stabilitas yang cukup baik selama penyimpanan 4 minggu pada suhu kamar yang tetap dan sediaan tersimpan dalam wadah tertutup rapat, sehingga membuat mikroemulsi stabil serta tidak dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu dan tidak tumbuhnya mikroorganisme seperti jamur. Untuk penyimpanan yang lebih lama sebaiknya pada sediaan ditambahkan dengan pengawet.

b. Suhu tinggi (60^0C)

Hasil pengamatan stabilitas pada suhu tinggi (60^0C) diperoleh tersaji pada tabel VII:

Tabel VII. Hasil pengamatan stabilitas fisik pada suhu kamar (60^0C)

Minggu Ke-	F 1		
	Warna	Bau	Homogenitas
1	Kuning jernih	Khas	Homogen
2	Kuning jernih	Khas	Homogen
3	Kuning jernih	Khas	Homogen
4	Kuning jernih	Khas	Homogen
Minggu Ke-	F 2		
	Warna	Bau	Homogenitas
1	Kuning jernih	Khas	Homogen
2	Kuning jernih	Khas	Homogen
3	Kuning jernih	Khas	Homogen
4	Kuning jernih	Khas	Homogen
Minggu Ke-	F 3		
	Warna	Bau	Homogenitas
1	Kuning jernih	Khas	Homogen
2	Kuning jernih	Khas	Homogen
3	Kuning jernih	Khas	Homogen
4	Kuning jernih	Khas	Homogen
Minggu Ke-	F 4		
	Warna	Bau	Homogenitas
1	Putih susu	Khas	Tidak homogen
2	Putih susu	Khas	Tidak homogen
3	Putih susu	Khas	Tidak homogen
4	Putih susu	Khas	Tidak homogen

Keterangan : F1 (tween 80, 35%), F2 (tween 80, 37%), F3 (tween 80, 38%), F4 (tanpa tween)

Pada penyimpanan suhu tinggi (60^0C) kekentalan mikroemulsi mengalami penurunan. Hal ini berkaitan dengan struktur molekul dalam sediaan tersebut;

ketika diberi panas atau adanya peningkatan temperatur, jarak antar molekul yang dihubungkan dengan ikatan hidrogen akan menjadi agak renggang karena ikatan tersebut dapat dipecahkan oleh adanya peningkatan temperatur akibatnya molekul yang pada awalnya terbentuk rapat menjadi "kurang padat" (viskositas berkurang). Suhu sangat berpengaruh terhadap stabilitas fisik dari sediaan mikroemulsi, salah satunya adalah viskositas (kekentalan).

Secara teori, menurut Arhenius hubungan antara temperatur dan viskositas adalah berbanding terbalik. Semakin tinggi temperatur maka semakin menurun viskositasnya. Adanya peningkatan suhu dapat mengakibatkan kekentalan yang menurun, sehingga dapat mengurangi stabilitas sediaan. Hubungan antara temperatur dengan viskositas dinyatakan pada persamaan kinetika kimia Arhenius berikut ini[35]:

$$\acute{\eta} = Ae^{Ev/RT} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (2)$$

Dapat disimpulkan bahwa sediaan mikroemulsi yang disimpan pada suhu 60^0C memiliki stabilitas yang kurang bagus dilihat dari viskositas. Sedangkan secara penampilan tidak terjadi perubahan warna, bau maupun homogenitas dari sediaan mikroemulsi.

c. Suhu rendah (4^0C)

Hasil pengamatan stabilitas pada suhu 4^0C diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel VIII. Hasil pengamatan stabilitas fisik pada suhu kamar (4^0C)

Minggu Ke	F 1		
	Warna	Bau	Homogenitas
1	Kuning jernih	Khas	Homogen
2	Kuning jernih	Khas	Homogen
3	Kuning jernih	Khas	Homogen
4	Kuning jernih	Khas	Homogen
Minggu Ke	F 2		
	Warna	Bau	Homogenitas
1	Kuning jernih	Khas	Homogen
2	Kuning jernih	Khas	Homogen
3	Kuning jernih	Khas	Homogen
4	Kuning jernih	Khas	Homogen

Tabel VIII (lanjutan)

Minggu Ke	F 3		
	Warna	Bau	Homogenitas
1	Kuning jernih	Khas	Homogen
2	Kuning jernih	Khas	Homogen
3	Kuning jernih	Khas	Homogen
4	Kuning jernih	Khas	Homogen
Minggu Ke	F 4		
	Warna	Bau	Homogenitas
1	Kuning jernih	Khas	Tidak Homogen
2	Kuning jernih	Khas	Tidak Homogen
3	Kuning jernih	Khas	Tidak Homogen
4	Kuning jernih	Khas	Tidak Homogen

Keterangan : F1 (tween 80, 35%), F2 (tween 80, 37%), F3 (tween 80, 38%), F4 (tanpa tween)

Penyimpanan pada suhu rendah (4^0C) ketiga formulasi mikroemulsi tidak menunjukkan adanya perubahan seperti pengendapan, pecah atau terjadinya gumpalan. Berdasarkan hasil pengamatan yang tersaji pada tabel VIII, secara visual karakteristik sediaan mikroemulsi tidak mengalami perubahan yang berarti memiliki warna kuning jernih, bau khas dan homogenitas yang baik seperti sebelum ditempatkan pada suhu 4^0C. Kesetimbangan sistem mikroemulsi yang terbentuk tetap stabil dimana fase minyak dan fase air tidak mengalami pemisahan karena adanya penggunaan surfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan yang terbentuk.

Hal ini mengindikasikan bahwa ketiga formulasi sediaan mikroemulsi memiliki stabilitas fisik yang baik selama penyimpanan 4 minggu serta suhu rendah (4^0C) tidak mempengaruhi stabilitas sediaan mikroemulsi.

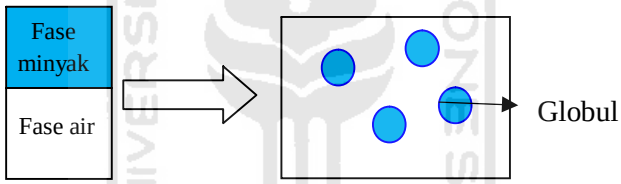
Pada uji stabilitas sifat fisik pada sediaan mikroemulsi menggunakan suhu kamar (25^0C), suhu tinggi (60^0C) dan suhu rendah (4^0C) mikroemulsi pada penyimpanan suhu 60^0C terjadi perubahan viskositas yang cenderung menurun disebabkan karena adanya pemanasan menyebabkan air yang terkandung didalam

sediaan mikroemulsi mengalami penguapan sehingga dapat mempengaruhi sistem kesetimbangan yang terbentuk pada suhu 4^0C.

2. Penentuan ukuran globul

Tujuan penentuan ukuran globul yaitu untuk memastikan bahwa sediaan yang dihasilkan adalah benar sediaan mikroemulsi yang memiliki ukuran globul 0,01-0,1 µm (10-100 nm). Sediaan mikroemulsi yang dibuat menggunakan campuran dua fase yaitu fase minyak dan air. Pencampuran fase minyak dan fase air akan menyebabkan terbentuk globul – globul dalam sistem mikroemulsi dari dua fase tersebut yang tidak dapat saling campur.

Pada penelitian ini sediaan mikroemulsi yang dibuat memiliki fase air yang lebih banyak sehingga fase minyak terdispersi di didalam fase air (pendispersi). Globul-globul yang terbentuk terdispersi didalam fase pendispersinya, seperti terlihat pada gambar 11 berikut ini :

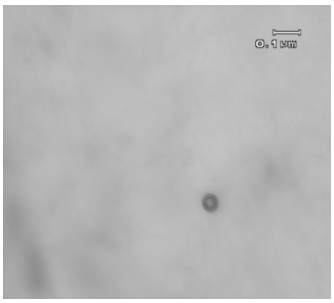


Gambar 11. Proses terbentuk globul[31].

Dengan adanya penambahan kombinasi surfaktan tween 80 dan lesitin dapat menurunkan tegangan permuakaan akibatnya kedua fase dapat menyatu, namun ukuran globul yang terbentuk masih berukuran besar. Sehingga perlu perlakuan dengan pengadukan kecepatan tinggi yang bertujuan untuk memperkecil ukuran globul[40]. Sediaan mikroemulsi yang terbentuk secara makroskopik tampak satu fase (monofase) tetapi secara mikroskopik globul tidak benar-benar menyatu[31].

Penentuan ukuran globul dilakukan dengan menggunakan mikroskop elektron. Pada mikroskop elektron di*setting* dengan ukuran globul yang akan dideteksi 10-100 nm, sehingga globul-globul yang terdeteksi adalah benar berukuran 10-100 nm. Berdasarkan gambar 13, 14 dan 15; masing-masing sediaan

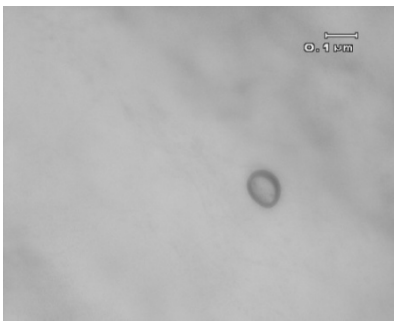
mikroemulsi yang dibuat didapatkan ukuran globul dengan diameter globul kurang dari 0,01-0,1 µm (10-100 nm), seperti terlihat pada gambar berikut ini :



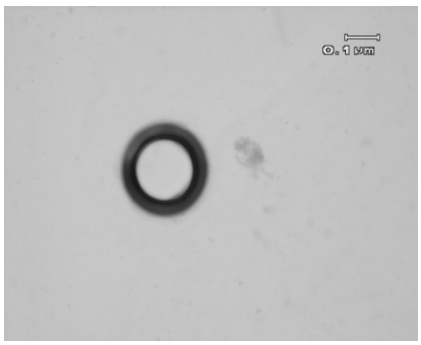
Gambar 12. Ukuran globul formula 1 (Tween80 35%).

Ukuran globul pada formulasi 1 menggunakan komposisi tween 80 sebesar 35% seperti tampak pada gambar 12 memiliki ukuran globul antara 0,01- 0,1 µm. globul yang terbentuk disebabkan karena adanya pengadukan sehingga dapat membantu membentuk *micelles*. Pengadukan dapat memecah kedua fase baik fase minyak maupun fase air menjadi globul-globul yang lebih kecil.

Tampak pada gambar 13, bahwa ukuran globul relatif lebih besar dibandingkan dengan ukuran globul pada gambar 12 serta relatif lebih kecil dibandingkan ukuran globul pada gambar 13. Adanya penambahan komposisi tween 80 menyebabkan kemampuan untuk membentuk ukuran globul yang kecil semakin menurun atau disebut juga *critical micelle concentration*.

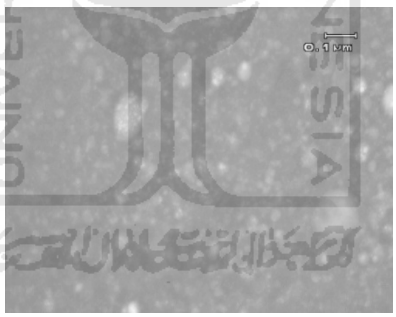


Gambar 13. Ukuran globul formula 2 (Tween80 36%).



Gambar 14. Ukuran globul formula 3 (Tween80 37%).

Pada formulasi 4 yang didalamnya tidak menggunakan tween 80 sebagai surfaktan tidak membentuk globul seperti pada gambar 14. Hal ini disebabkan karena penggunaan lesitin secara tunggal hanya mampu menurunkan tegangan antarmuka namun tidak dapat mencampurkan fase minyak dan fase air. Akibatnya tidak terbentuk *micelle* dan terbentuk sistem yang tidak homogen.



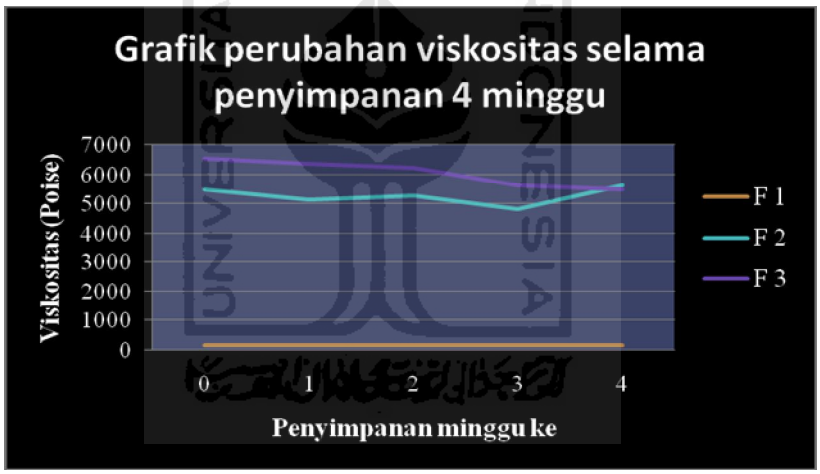
Gambar 15. Ukuran globul formula 4 (tanpa tween 80).

Sediaan dikatakan mikroemulsi karena memiliki ukuran globul yang kecil seperti pada mikroemulsi. Salah satu syarat mikroemulsi yang bagus adalah mikroemulsi yang memiliki ukuran globul antara 0,01-0,1 μm (10-100 nm)[31]. Ukuran globul yang kecil akan meningkatkan permeasi ke dalam kulit[27]. Dapat disimpulkan bahwa untuk sediaan mikroemulsi F1, F2 dan F3 ukuran globul yang terbentuk memenuhi ketentuan ukuran globul yang telah ditetapkan pada mikroemulsi. Sedangkan pada F4 bukanlah suatu sistem mikroemulsi.

3. Penentuan Viskositas

Uji viskositas bertujuan untuk mengetahui kekentalan dari sediaan mikroemulsi *herba* pegagan. Alat yang digunakan adalah viskometer Brookfield. Hasil pengukuran viskositas setiap minggu menunjukkan bahwa nilai viskositas mengalami kenaikan dan penurunan. Berdasarkan data besarnya viskositas mikroemulsi *herba* pegagan selama penyimpanan 4 minggu yang tersaji pada gambar 16 menunjukan bahwa pada F1, F2 dan F3 mengalami penurunan viskositas pada minggu ke-1 hingga minggu ke-3 serta cenderung mengalami peningkatan viskositas setelah minggu ke-3.

Berikut ini adalah grafik perubahan hasil pengukuran viskositas pada suhu kamar (25^0C) :



Gambar 16. Grafik perubahan viskositas selama penyimpanan 4 minggu

Berdasarkan grafik diatas dilihat bahwa perubahan viskositas yang terjadi tiap minggu cukup stabil, artinya bahwa kenaikan ataupun penurunan yang terjadi pada masing-masing formula relatif stabil dikarenakan selisih nilai perubahan tiap minggu tidak begitu besar. Viskositas suatu sediaan akan berpengaruh terhadap pelepasan zat aktif dari sediaan tersebut. Nilai viskositas yang terlalu besar menyebabkan zat aktif sulit untuk lepas dari sediaan, akibatnya efek farmakologi menjadi kurang optimal. Semakin tinggi konsentrasi surfaktan yang digunakan maka semakin besar pula viskositas suatu sediaan[(40)]. Nilai viskositas yang besar

disebabkan karena semakin tinggi jumlah surfaktan tween 80 yang digunakan akibatnya pada F2 dan F3 memiliki konsistensi yang terlalu tinggi sehingga sediaan menjadi tidak mudah dituang dan akan berpengaruh terhadap pelepasan zat aktif dari sediaan. Dari ketiga formula, formula 1 yang memiliki viskositas paling bagus dibandingkan F2 dan F3 dengan konsistensi yang tidak terlalu besar.

Hasil uji statistik yang bertujuan untuk melihat ada pengaruhnya ataukah tidak terhadap variasi tween 80. Digunakan analisa non parametrik Kolmogorov-Smirnov menunjukkan nilai sig (0,492) > α (0,05) yang berarti Ho diterima, dan dapat dinyatakan data viskositas terdistribusi normal. Hasil uji statistik terhadap viskositas menggunakan analisa ANAVA satu arah menunjukkan nilai sig (0,000) < α (0,05) yang berarti Ho ditolak. Hal ini mengindikasikan bahwa adanya variasi konsentrasi tween 80 menyebabkan adanya perbedaan nilai viskositas yang bermakna pada tiap formula mikroemulsi. Dilanjutkan dengan uji *t-test* untuk mengetahui formula yang memiliki nilai viskositas yang paling berbeda secara signifikan dengan adanya variasi tween 80. Dari ketiga formula mikroemulsi, formula 1 (tween 80; 35%) memiliki perbedaan yang paling signifikan dibandingkan formula 2 dan formula 3 dengan nilai signifikansi hasil perbandingan dengan formula 2 dan 3 berturut-turut adalah 0,027 dan 0,01 > 0,05.

4. Uji pH

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter dan pemeriksaan dilakukan selama 4 minggu. Uji pH bertujuan untuk mengetahui nilai pH yang dihasilkan dari sediaan mikroemulsi yang dibuat. pH merupakan salah satu parameter stabilnya obat dalam suatu sediaan, terutama pada sediaan topikal pH menjadi sangat penting karena pH yang dihasilkan harus memenuhi persyaratan pH kulit 4-10[(4)].

a. Suhu kamar (25^0C)

Berdasarkan tabel IX yang tersaji, selama penyimpanan 4 minggu nilai pH dari ketiga formula sediaan mikroemulsi mengalami kenaikan maupun penurunan yang relatif kecil. Perubahan nilai pH yang terjadi berada pada *range* nilai pH antara 4-6. Hal ini mengindikasikan bahwa nilai pH yang terbentuk sesuai dengan

persyaratan nilai pH yang dapat digunakan pada kulit, yaitu antara 4-10[4]. pH yang terlalu asam dapat menyebabkan iritasi kulit. Hasil pengukuran pH pada penyimpanan suhu kamar dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel IX. Hasil pengamatan pH pada suhu kamar (25^0C)

Minggu Ke-	pH (suhu 25^0C)			
	F 1	F 2	F 3	F 4
0	5, 84	5, 77	5, 81	6, 22
1	5, 76	5, 75	6, 61	6, 98
2	5, 73	6, 03	5, 57	4, 67
3	5, 73	5, 02	5, 40	5, 63
4	5, 30	5, 26	5, 45	4, 67

Dilakukan uji statistik ANAVA satu arah dengan taraf kepercayaan 95%, pertama dilakukan uji Kolmogorov-Smirnov dengan nilai sig 0,492 > α 0,05 menunjukkan bahwa data telah terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji ANAVA satu arah dengan nilai sig 0,724 > α 0,05 hal ini menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan nilai pH yang signifikan dari masing-masing formula terhadap peningkatan kadar tween 80. Tiap formula tidak terjadi perbedaan yang signifikan sehingga disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi tween 80 pada sediaan mikroemulsi tidak memberikan pengaruh yang signifikan pada kestabilan nilai pH.

b. Suhu tinggi (60^0C)

Hasil pengukuran pH pada penyimpanan suhu tinggi (60^0C) sebagai berikut:

Tabel X. Hasil pengamatan pH pada suhu tinggi (60^0C)

Minggu Ke-	pH (suhu 60^0C)			
	F 1	F 2	F 3	F 4
1	5, 34	5, 55	5, 54	5, 75
2	5, 19	5, 15	5, 10	5, 78
3	5, 19	5, 34	5, 40	5, 70
4	5, 19	5, 40	5, 40	5, 72

Hasil uji statistik, menggunakan uji kolmogorov – smirnov menunjukkan bahwa data terdistribusi normal kemudian dilanjutkan dengan uji ANAVA satu arah pada penyimpanan suhu 60^0C . hal ini mengindikasikan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan dari ketiga formula dengan nilai sig 0,162 > 0,05, sehingga dapat dikatakan adanya variasi konsentrasi tween 80 tidak mempengaruhi kestabilan nilai pH dari ketiga sediaan mikroemulsi.

Perubahan pH yang terjadi pada formula 2 (F2) dan formula 3 (F3) relatif kecil dan masih berada pada *range* nilai pH 4-10. Secara umum dari ketiga formulasi (F1, F2 dan F3) mengalami penurunan pH pada minggu ke-2. Sedangkan F4 mengalami penurunan pH pada minggu ke-3. Sedangkan pada formulasi (F2, F3, F4) minggu ke-4 mengalami kenaikan pH. Nilai pH yang cukup konstan dimiliki oleh formula 1 dengan nilai 5,19 dari minggu ke 2 – 4.

c. Suhu rendah (4^0C)

Hasil pengukuran pH pada penyimpanan suhu kamar dapat dilihat pada tabel XI :

Tabel XI. Hasil pengamatan pH pada suhu kamar (4^0C)

Minggu Ke-	pH (suhu 4^0C)			
	F 1	F 2	F 3	F 4
1	5, 65	5, 67	5, 49	5, 86
2	6, 01	5, 35	5, 46	5, 84
3	6, 07	5, 08	5, 27	5, 84
4	6, 10	5, 51	5, 51	5, 87

Berdasarkan uji statistik kolmogorov-smirnov tes nilai sig 0,668 > 0,05 data nilai pH selama penyimpanan 4 minggu terdistribusi normal. Dilanjutkan dengan ANAVA satu arah yang bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh atau tidak dari penggunaan variasi tween 80. Nilai sig yang didapat 0,06 > 0,05 hal ini menunjukan bahwa penambahan tween 80 tidak mempengaruhi kestabilan pH pada penyimpanan suhu 4^0C.

Penyimpanan pada suhu 4^0C pH ketiga formula sediaan mikroemulsi relatif stabil tetapi kurang stabil jika dibandingkan dengan penyimpanan pada suhu 60^0C. hal ini dikarenakan pada penyimpanan suhu 60^0C nilai pH berada pada

nilai 5 sedangkan pada penyimpanan suhu 4^0C nilai pH berada pada range 5-6 sepeerti tampak pada formula 1. Dari keempat formulasi sediaan mikroemulsi yang tampak pada gambar 20, formulasi 1 (F1) dan formulasi 2 (F2) relatif lebih stabil dibandingkan pada formulasi 3(F3) dan formulasi 4 (F4).

Peningkatan suhu menyebabkan tween 80 akan bersifat semakin lipofilik, hal ini dikarenakan gugus polioksietilen yang berfungsi sebagai gugus polar yang dimiliki oleh tween 80 mengalami dehidrasi seiring dengan meningkatnya temperature, tetapi tidak mempengaruhi nilai pH[25]. Secara keseluruhan berdasarkan uji statistik yang dilakukan menyatakan bahwa dengan adanya penambahan variasi konsentrasi tween 80 tidak mempengaruhi perubahan nilai pH yang terjadi tiap minggunya. Terjadi perubahan pH dapat disebabkan adanya reaksi kimia baik yang ditimbulkan oleh wadah tempat penyimpanan ataupun antara bahan-bahan yang terkandung dalam sediaan, namun perubahan nilai pH yang relatif kecil menandakan bahwa tidak terjadi reaksi kimia yang berarti.

BAB V
KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

3. Ekstrak *herba* pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban) dapat dibuat dalam bentuk sediaan mikroemulsi yang memiliki ukuran globul kurang dari 0,1µm.
4. Adanya variasi kadar tween 80, mempengaruhi nilai viskositas yang semakin meningkat seiring dengan penambahan tween 80, tetapi tidak memberikan pengaruh yang bermakna secara statistik terhadap kestabilan warna, bau, homogenitas, ukuran globul dan pH.

B. SARAN

Perlu dilakukan uji penetapan kadar ekstrak *herba* pegagan pada sediaan mikroemulsi yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

(1) Zheng, C.J., Qin L.P., 2007. Chemical Components of Centella asiatica and Their Bioactivities, *J. Chin Integr Med*., 5(3): 348-351.

(2) Suratman., Sumiwi, S., Gozali, D., 1996. Pengaruh Ekstrak Antanan dalam Bentuk Salep, Krim dan *Jelly* Terhadap Penyembuhan Luka Bakar, *Laporan Penelitian*, Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Bandung, 18: 31-36.

(3) Anonim, 2000, *Departemen Kesehatan Republik Indonesia*, Acuan Sediaan Herbal, Jakarta, 121-125.

(4) Gao, Z.G., 1998, Physicoshemical Characterization and Evaluation of a Microemulsion System for Oral Delivery Cylosporin, *Int. J. Pharm*, 183-186.

(5) Sukandar, E.Y., 2007, Tren dan Paradigma Dunia Farmasi: Industri-Klinik Teknologi Kesehatan, *Laporan penelitian*, Fakultas Farmasi Institut Teknologi Bandung, Bandung.

(6) Dalimartha, S., 2000, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia jilid 2*. Jakarta, Trubus Agrywidya, 149-151, 153-155.

(7) Brikhaus, B., Lindner, M., Schuppan, D., and Hahn, E.G., 2000, Chemical Pharmacological and Clinical Profile Of The East Asian Medical Plant Centella Asiatica : Review Article. *Phytomedicine*., 7 (5): 427-448.

(8) Bonte, F., Dumas, M., Chaudagne, C., and Meybeck, A., 1994, Influence Of Asiatic Acid, Madecassic Acid and Asiaticoside On Human Collagen I Synthesis. *PlantaMedica*., 60: 133-135.

(9) Saniah, B.K., 2005, The Effect Of Heat Processing On Triterpene Glycosidas And Antioxydant Activity Of Herba Pegagan *(Centella asitica* (L) Urban*)* : Drink *Thesis*, Submitted In Fulfillment Of For The Award Of The Degree Of Master Engineering (Bioprocess University Teknologi Malaysia).

(10) Ling, A.P.K., Marziah, M., and Tan, S.E., 2000, Triterpenoids Distribution In Whole Plant And Callus Cultures Of Centella Asiatica, Accessions.

Proceeding Of The 16th National Seminar On Natural Products, Selangor, 165-168.

(11) Anonim, 1979. *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, XXX, 4.

(12) Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia Edisi Empat.* Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 5,12,69,112,404,413,488,519,529.

(13) Anonim, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Dan makanan*, Cetakan Pertama, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Direktorat Jendral Pengawasan Makanan dan Obat, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional: Jakarta. 2000, 3-6.

(14) Cazes, J., and Scott, R., 2002, *Chromatography Theory*, Marcel Dekker, Inc : New York Basael, 3-17.

(15) Rohards, K., Haddad, P.R., and Jackson, P.E., 1994, *Principle and Practice Of Modern Chromatographic Method*. Academic Press, London, 208-209.

(16) Gandjar, I.G., dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Cetakan kedua, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 353-354, 359, 362.

(17) Hoar, T.P., and Schulman, J.H., 1994, Transparent water in oil dispersions: the oleopathic hydromicelle, *Nature* 152: 102 – 103.

(18) Attwood, D., 1994, *Microemulsions in Colloidal drug delivery systems* (J. Kreuter ed.), Marcel Dekker, New York.

(19) Jufri, M., Binu, A., Rahmawati, dan Julia, 2004, Formulasi Gameksan Dalam Bentuk Mikroemulsi, *Majalah Ilmu Kefarmasian* , I (3) : 160-174.

(20) Bakan, J.A., 1994. *Microemulsions Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* ,Vol 9. Marcel Dekker Inc, New York, 375-421.

(21) Ping, Li., A. Gosh., R.F, Wagner., S, Krill., Y.M, Joshi., and A.T.M, Serajuddin, 2005, Effect of combined use of nonionic surfactant on formation of oil-in-water micro-emulsions, *Int. J. Pharm.*, 288 (1):27-34.

(22) Meng, Z.M. And Zheng, Y.N., 1988. Determination Of Asiaticoside Contained In Sanjinplan. *Zhonggtuo Yaoke Daxue Xuebao*. 19: 205-206.

(23) Lawrence, M., Jayne, R., Gareth. D., 2000, Microemulsion based media as Novel Drug Delivery Systems, Advanced Drug Delivery *Reviews*, 45:1:89-121.

(24) Nandi, I., M. Bari, H., and Joshi., 2003, Study of isopropyl myristate microemulsion systems containing cyclodextrins to improve the solubility of 2 model hydrophobic drugs. *AAPS Pharm. Sci. Tech*. 4(1): artikel 10.

(25) Fathy, I., Abd-Allah., Hamdy M. Dawaba., Ahmed, M. S., Ahmed., 2010, Preparation, characterization, and stability studies of piroxicam loaded microemulsions in topical formulations, *Drug Discoveries & Therapeutics*, 4(4):267-275.

(26) El-Maghraby, G. M., 2008, Transdermal Delivery Of Hydrocortisone from Eucaliptus Oil Microemulsion : Effect Of Cosurfactant, *Int. J. Pharm*., 355: 285-292.

(27) Santos, P., Watkinson., A.C., Hadgraft. J., and Lane, M.E, 2008, Application of microemulsions in dermal and transdermal drug delivery. *Skin Pharmacol Physiol*, 21(5) : 246-59.

(28) Paul, K., Moulik, P., and Bidyut, 2001, Use and Aplication Of Microemulsion, *Curent Science*, 80 (8).

(29) Rosen, M.J., 2004, *Surfactants And Interfacial phenomena*, Third edition, A John Wiley and Sons, Inc., Publication.

(30) Marchaban, 2005, Kemampuan solubilisasi surfaktan karena perbedaan panjang rantai lipofil dan hidrofil, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 16 (2), 105 – 109.

(31) Tabibi, S.E., and Rhodes, C.T., 2003, *Disperse System*, Modern Pharmaceutics, Marcel Dekker, New York, p. 299-310.

(32) Pradakar, A., Rani., Shoha, R.H., Peivera and Prandeep, 2005, Bioavailability Assesment Of Ketopfren Incorporated In Gelled Self Emulsyfiying Formulation, A Technical Note, *AAPS Pharm. Sci. Tech* 6 (I) E – 9 – E 19.

(33) Martin, A., Swarbrick, J., dan Cammarata, 1983, *Physical Chemical Principle In The Pharmaceutical Science*, Diterjemahkan oleh Joshita, UI Press, Jakarta.

(34) Mycek., dkk, 2006, *Handbook Of Pharmaceutical Excipients*, American Pharmaceutical Associationn, Washington DC, USA, 148, 241.

(35) Anonim, 2007, *USP 30-NF 25*, The United State Pharmacopeial Convention, Twinbrook Parkway, Rockville.

(36) Becker, C. A., Van Den Brink, R. C. B, 1965, *Flora Of Java*, II, IV, VI P., Horordhoff Groningen, The Netherlands.

(37) Kartning, T., 1988, *Clinical application of centella asiatica*: Cracker, L. E, and simon J. E, Eds Herb, Spices and medical plants: recent advance in botany horticulture ang pharmacology, phoenix: Oryx Press.145-178.

(38) Shisu., R, Sunita., and Kamalpreet., 2009, Development Of Novel Microemulsion-Based Topical Formulations Of Acyclovir For The Treatment Of Cutaneous Herpetic Infections, *AAPS Pharm. Sci. Tech*., 10 (2) : 559-565

(39) Yusuf, S., 2010. Isolasi dan penentuan struktur molekul senyawa terpenoid dari kulit batang kayu api-api betina (*Avicennia Marina Neesh*), *Jurnal penelitian sains*, 13 (2C)1325. 23-26.

(40) Yati, K., 2010. Formulasi mikroemulsi minyak kelapa murni *(Virgin coconut oil)* dengan tween 80 sebagai surfaktan, *Laporan penelitian*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan alam Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka, Jakarta. 22-26.