

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini telah dilakukan rangkaian pengujian untuk membuat sediaan mikroemulsi yang mengandung ekstrak buah mentimun (*Cucumis sativus* L.) dan uji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas DPPH. Pada penelitian terdapat 4 (empat) tahapan pengujian yang telah dilakukan diawali dengan pengumpulan, ekstraksi dan standarisasi mutu ekstrak, kemudian dilakukan orientasi formula basis dan diakhiri dengan pembuatan sediaan mikroemulsi.

Buah mentimun segar (*Cucumis sativus* L.) dari Manoko, Lembang di determinasi di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung. Hasilnya menunjukkan bahwa benar sampel merupakan buah mentimun dengan nama spesies *Cucumis sativus* L, yang termasuk ke dalam keluarga *cucurbitaceae*. Hasil dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

Buah mentimun segar yang telah dikumpulkan kemudian disortasi kering dan dibersihkan. Pembersihan dan pencucian buah mentimun ini dimaksudkan untuk menghilangkan pengotor yang dapat menimbulkan kontaminasi dan mengganggu proses penetapan parameter-parameter ekstrak. Kemudian dilakukan perajangan buah mentimun tanpa bagian biji dari isinya dengan tujuan untuk memperkecil ukuran partikel dan memperbesar luas permukaan sehingga pada saat dilakukan proses ekstraksi, luas permukaan yang besar akan membuat pelarut masuk ke dalam simplisia dan dapat menarik semua zat aktif yang ada didalamnya

secara maksimal. Simplisia yang digunakan merupakan simplisia segar sehingga tidak dilakukan proses pengeringan, dengan tujuan agar mengurangi hilangnya senyawa yang dibutuhkan akibat pemanasan pada saat proses pengeringan.

Selanjutnya simplisia segar sebanyak 2,5 kg yang di ekstraksi menggunakan metode maserasi. Metode maserasi digunakan karena buah mentimun mengandung senyawa yang tidak tahan terhadap panas, yaitu flavonoid dan tanin. Pertama-tama simplisia segar di tempatkan pada wadah kemudian diberi sebagian pelarut dan didiamkan selama 24 jam, dengan beberapa kali pengadukan.

Kemudian dilakukan penyaringan untuk memisahkan residu dan filtrat. Residu yang didapat di rendam kembali dengan pelarut baru dilakukan sampai 3 kali maserasi untuk mendapatkan hasil maserat yang maksimal mengandung senyawa yang diharapkan. Kemudian maserat tersebut dikentalkan dengan evaporasi, ekstrak kental diperoleh sebanyak 50,3183 gram sehingga rendemennya 20,13% .

Ekstrak yang didapat selanjutnya di karakterisasi dengan penetapan kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, dan kadar abu larut air.

**Tabel V. 1** Hasil penetapan karakteristik ekstrak

<b>Karakteristik simplisia</b>	<b>Hasil penelitian (%)</b>	<b>Pustaka (%)</b>
<b>Kadar Air</b>	7,9	< 10
<b>Kadar Abu Total</b>	3,8	-
<b>Kadar Abu Tidak Larut Asam</b>	1,35	-
<b>Kadar Abu Larut Air</b>	2,458	-

**Keterangan:**

(-) = tidak ditemukan persyaratan dalam pustaka

Pustaka yang digunakan sebagai rujukan batasan parameter standar adalah Farmakope Indonesia, Edisi IV. Parameter kadar air dilakukan untuk memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air dalam bahan (Depkes, 2000). Penetapan batas minimal kandungan air bertujuan untuk menjaga kualitas ekstrak dari pertumbuhan mikroba atau jamur selama proses penyimpanan. Berdasarkan **Tabel V.I**, ekstrak buah mentimun ini memenuhi persyaratan untuk digunakan dalam sediaan obat pada penelitian ini. Hasil perhitungan kadar air dapat dilihat pada **lampiran 2**.

Parameter kadar abu digunakan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak (Depkes, 2000:17). Selain itu, penetapan kadar abu total juga bertujuan untuk memberikan profil senyawa logam atau cemarannya yang dapat mempengaruhi mutu dan khasiat dari senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia tersebut. Berdasarkan **Tabel V.1** diketahui kadar abu total dari ekstrak buah mentimun yang telah distandarisasi berdasarkan literatur belum ditemukan sehingga hasil yang diperoleh pada pengujian kadar abu tidak larut asam tidak bisa dibandingkan dengan literaturnya tidak memenuhi persyaratan pada pustaka. Hasil perhitungan kadar abu total terdapat pada **Lampiran 3: Tabel 1**.

Penetapan kadar abu tidak larut asam dilakukan dengan melarutkan hasil abu yang diperoleh dari kadar abu sebelumnya dalam larutan asam. Penetapan kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk mengetahui pengotor seperti debu dan pasir dari simplisia sudah tidak ada. Kadar abu tidak larut asam ekstrak buah mentimun yang telah distandarisasi berdasarkan literatur belum ditemukan

sehingga hasil yang diperoleh pada pengujian kadar abu tidak larut asam tidak bisa dibandingkan dengan literturnya. Hasil perhitungan kadar abu tidak larut asam terdapat pada **Lampiran 3: Tabel 2**.

Penetapan kadar abu larut air bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal yang berasal dari proses awal hingga terbentuknya ekstrak (Depkes RI, 2000:17). Hasil kadar abu larut air ekstrak buah mentimun yang telah distandarisasi berdasarkan literatur belum ditemukan sehingga hasil yang diperoleh pada pengujian kadar abu larut air tidak bisa dibandingkan dengan literturnya. Hasil perhitungan kadar abu larut air terdapat pada **Lampiran 3: Tabel 3**.

Selanjutnya dilakukan penapisan fitokimia untuk melihat golongan-golongan senyawa yang terkandung pada ekstrak kental buah mentimun yang didapat **Tabel V. 2**.

**Tabel V. 2** Hasil penapisan fitokimia

Golongan Senyawa	Ekstrak	Pustaka
Alkaloid	-	-
Kuinon	√	√
Tanin	√	√
Saponin	√	√
Fenol & Polifenol	√	√
Flavonoid	√	√
Steroid/Triterpenoid	√	√

Pada penelitian terdahulu mengatakan bahwa ekstrak buah mentimun mengandung saponin, tannin, kuinon, fenol dan polifenol, flavonoid, dan steroid/triterpenoid (Adeliana, 2012). Sama seperti penelitian terlebih dahulu

penelitian kali ini ekstrak mengandung senyawa-senyawa yang sama dengan pustaka.

Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH terhadap ekstrak buah mentimun. Hasil uji aktivitas ini menggambarkan kemampuan ekstrak untuk menangkal radikal bebas. Hal ini terlihat dari penurunan nilai absorbansi DPPH setelah penambahan sampel. Nilai absorbansi tersebut digunakan untuk mendapatkan nilai persen inhibisi.

Penentuan  $IC_{50}$  dilakukan dengan melihat nilai persen inhibisi dari berbagai konsentrasi larutan uji.  $IC_{50}$  adalah konsentrasi substrat yang merendam radikal bebas DPPH sebanyak 50%.  $IC_{50}$  akan berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan substrat. Semakin kuat aktivitas antioksidan substrat, nilai  $IC_{50}$  nya akan semakin kecil. Sebagai pembanding yang digunakan dalam penelitian kali ini adalah vitamin C. Vitamin C telah diketahui memiliki sifat sebagai antioksidan.

**Tabel V. 3** Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak mentimun

Replikasi Sampel Ekstrak Mentimun	IC 50
1	845,28
2	824,83
3	836,11
rata-rata	835,41 ± 8,36

Berdasarkan uji aktivitas antioksidan diperoleh konsentrasi ekstrak yang ditambahkan dalam sediaan adalah  $835,41 \pm 8,36$  ppm atau sebanyak 0,0835 % yang kemudian dikali 10 kalinya menjadi 0,835 % karena konsentrasi ekstrak terlalu kecil, yang kemudian dibulatkan menjadi 1%. Penetapan konsentrasi

ekstrak yang digunakan tidak dibandingkan dengan vitamin C, karena nilai  $IC_{50}$  ekstrak mentimun yang besar. Aktivitas antioksidan dari ekstrak buah mentimun adalah 1/167 kali lebih rendah dari vitamin C, sehingga ekstrak buah mentimun dapat dikatakan mempunyai aktivitas antioksidan yang rendah.

Sebelum membuat mikroemulsi, dilakukan terlebih dahulu orientasi basis mikroemulsi untuk menentukan konsentrasi fase minyak. Orientasi basis mikroemulsi meliputi optimasi fase minyak serta optimasi konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan. Fase minyak yang dipakai pada penelitian kali ini adalah VCO. VCO digunakan karena minyak ini mempunyai beberapa kelebihan diantaranya mampu melembabkan kulit dan mengaluskan kulit. VCO sendiri mempunyai aktivitas antioksidan sehingga diharapkan menunjang aktivitas antioksidan buah mentimun. Orientasi dilakukan untuk mengetahui kemampuan menampung fase minyak yang banyak dengan konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan yang paling rendah, sehingga bisa didapatkan sediaan mikroemulsi yang stabil selama penyimpanan.

Dibuat basis mikroemulsi dengan beberapa konsentrasi fase minyak yaitu 5, 7, 9, dan 11%. Selanjutnya dilihat secara organoleptis basis dengan konsentrasi fase minyak mana yang menghasilkan basis mikroemulsi yang jernih. Hasil dapat dilihat pada **Tabel V. 4**. Basis dengan konsentrasi fase minyak 5% kemudian di uji sentrifugasi selama 5 jam dengan kecepatan 2000 rpm. Hasil sentrifugasi menunjukkan bahwa basis yang mengandung konsentrasi fase minyak 5% tetap stabil. Hasil dapat dilihat pada **Tabel V. 5**.

**Tabel V. 4** Hasil optimasi fase minyak

Bahan / Formula	Konsentrasi (%)			
	F1	F2	F3	F4
Virgin coconut oil	5	7	9	11
Tween 80	30	30	30	30
Gliserin	20	20	20	20
Propilen glikol	10	10	10	10
Hasil	Jernih	Keruh	Keruh	Keruh

**Tabel V. 5** Hasil uji sentrifugasi F1

Jam ke-	5%
1	Stabil
2	Stabil
3	Stabil
4	Stabil
5	Stabil

Terhadap formula basis F1 tersebut, selanjutnya dilakukan optimasi lanjutan untuk menentukan konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan yang digunakan. Tujuan dilakukan optimasi ini adalah untuk menurunkan resiko iritasi sediaan akibat tingginya konsentrasi surfaktan. Selanjutnya dilihat secara organoleptis basis dengan konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan mana yang menghasilkan basis mikroemulsi yang jernih. Hasil dapat dilihat pada **Tabel V.6**. Diketahui bahwa basis dengan konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan 30% yang menghasilkan basis yang jernih diuji sentrifugasi selama 5 jam dengan kecepatan 2000 rpm. Hasil uji sentrifugasi konsentrasi surfaktan 30 %, gliserin 20% dan propilenglikol 10% sebagai kosurfaktan dapat dilihat pada **Tabel V.7**.

**Tabel V. 6** Hasil optimasi konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan

Bahan / Formula	Konsentrasi (%)			
	F1 A	F1 B	F1 C	F1 D
Virgin coconut oil	5	5	5	5
Tween 80	30	28	26	24
Gliserin	20	20	20	20
Propilen glikol	10	10	10	10
Hasil	Jernih	Keruh	Keruh	Keruh

**Tabel V. 7** Hasil uji sentrifugasi F1 A

Jam ke-	30%
1	Stabil
2	Stabil
3	Stabil
4	Stabil
5	Stabil

Berdasarkan **Tabel V.7** di atas konsentrasi surfaktan yang dipilih adalah konsentrasi 30%, konsentrasi gliserin 20% dan propilenglikol 10% sebagai kosurfaktan. Kemudian dibuat formulasi mikroemulsi antioksidan ekstrak buah mentimun.

**Tabel V. 8** Formulasi sediaan

Bahan / Formula	F1 A1 (%)
Ekstrak buah mentimun	1
Virgin coconut oil	5
Tween 80	30
Gliserin	20
Propilenglikol	10
Metil paraben	0,18
Propil paraben	0,02
Tokoferol asetat	0,03
Aquades tilata ad	100

Zat aktif dalam sediaan ini adalah ekstrak buah mentimun yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan. Dibuat formula dengan konsentrasi ekstrak yaitu



1%. Konsentrasi 1% diperoleh dari hasil uji aktivitas antioksidan pada ekstrak buah mentimun. Fase minyak yang digunakan adalah VCO, karena VCO diharapkan dapat menunjang aktivitas antioksidan ekstrak buah mentimun. Surfaktan yang digunakan adalah surfaktan non ionik yaitu tween 80, karena surfaktan non ionik tidak bersifat iritan. Kosurfaktan yang digunakan adalah gliserin dan propilenglikol. Kemudian ditambahkan kombinasi zat pengawet yaitu metil paraben dan propil paraben. Tokoferol ditambahkan kedalam sediaan untuk mencegah terjadinya reaksi oksidasi pada fase minyak.

Selanjutnya dilakukan evaluasi terhadap sediaan berupa uji organoleptik, homogenitas, viskositas, dan penentuan pH. Selain itu dilakukan uji stabilitas dipercepat dimana sediaan di simpan pada suhu tinggi yaitu suhu 40 °C, kemudian diamati organoleptik, viskositas dan pH sediaan selama 28 hari. Pada sediaan dilakukan juga uji sentrifugasi dan uji *Freeze-thaw*, untuk melihat stabilitas fisik sediaan mikroemulsi ekstrak buah mentimun.

Untuk uji organoleptik meliputi pengamatan terhadap perubahan warna, bau dan homogenitas dari sediaan. Pengujian dilakukan pada suhu 40°C. Hasil dapat dilihat pada **Tabel V. 9**.

**Tabel V. 9** Hasil uji organoleptik sediaan mikroemulsi ekstrak buah mentimun pada suhu 40°C

Formula	Pengujian	Hari ke-1	Hari ke-7	Hari ke-14	Hari ke-21	Hari ke-28
F1	Bau	Khas VCO	Khas VCO	Khas VCO	Khas VCO	Khas VCO
	Warna	Kuning	Kuning	Kuning	Kuning	Kuning
	Homogenitas	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen

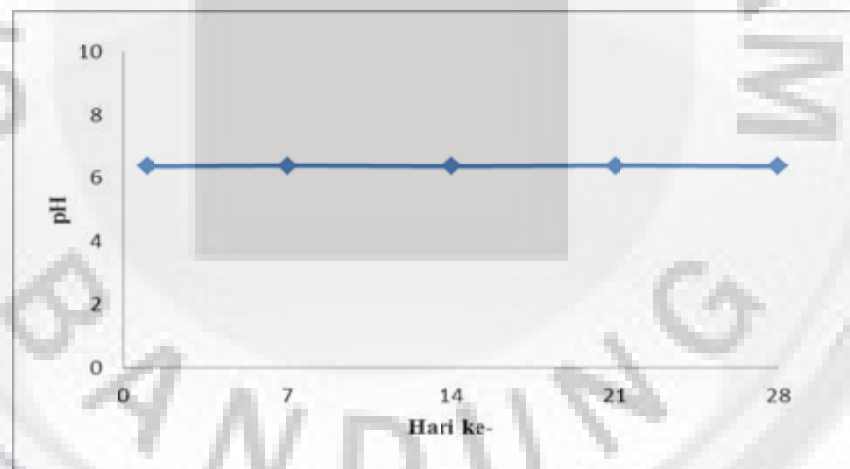
Berdasarkan **Tabel V.9**, warna dari sediaan dengan kadar ekstrak 1% berwarna kuning kecoklatan. Gambar dapat dilihat pada **Lampiran 5**. Warna tidak berubah selama diuji 28 hari. Untuk bau sediaan mempunyai bau yang khas,

bau tersebut dihasilkan dari bau minyak VCO nya. Sediaan homogen atau tercampur merata ditandai dengan tidak adanya bintik-bintik atau campuran zat yang tidak merata pada saat pengujian.

Untuk pengujian pH dilakukan menggunakan pH meter, dilakukan pada hari ke- 1 sampai hari ke- 28. pH yang diperbolehkan untuk digunakan pada kulit manusia adalah 4,5-6,5 (Tranggono, 2007: 78). Hasil dapat dilihat pada **Tabel V.10** .

**Tabel V.10** Hasil uji pH sediaan mikroemulsi ekstrak buah mentimun pada suhu 40°C

Formula	pH Hari ke-				
	1	7	14	21	28
F1	6,396 ± 0,027	6,377 ± 0,022	6,369 ± 0,009	6,382 ± 0,032	6,357 ± 0,024

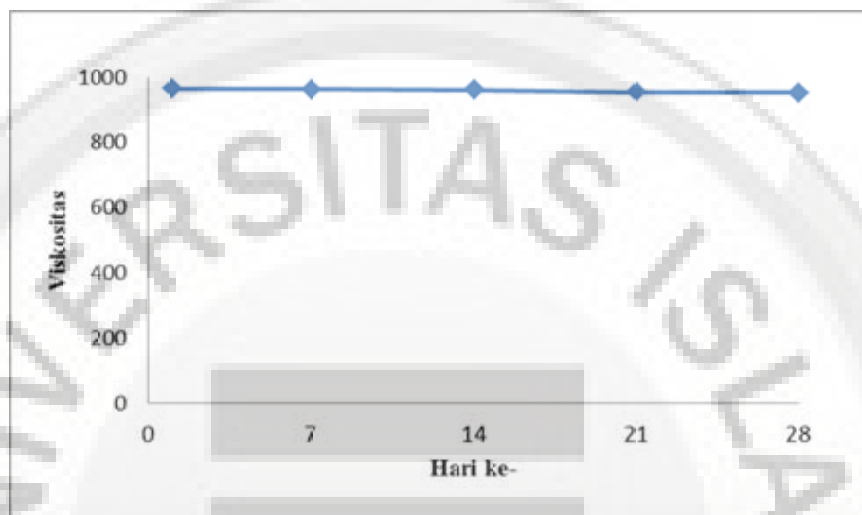


**Gambar V. I** Grafik pengamatan pH sediaan pada suhu 40°C

Untuk pengujian viskositas, pengukuran viskositas dilakukan pada hari 1 sampai hari ke- 28 dengan menggunakan viskometer *Brookfield* RVT dengan spindle 15 dan kecepatan 100 rpm, dengan hasil pada tabel di bawah ini.

**Tabel V. 11** Hasil uji viskositas sediaan mikroemulsi ekstrak buah mentimun pada suhu 40°C

Formula	Viskositas Hari ke- (cps)				
	1	7	14	21	28
F1	965 ± 0,027	963 ± 0,021	961 ± 0,011	955 ± 0,032	953 ± 0,024

**Gambar V.2** Grafik pengamatan viskositas sediaan pada suhu 40°C

Berdasarkan grafik di atas viskositas sediaan dengan kadar ekstrak 1% pada suhu 40°C mengalami sedikit penurunan selama penyimpanan, penurunan terjadi karena kemungkinan lama penyimpanan. Akan tetapi penurunan viskositas tersebut tidak menyebabkan pemisahan fasa dari sediaan mikroemulsi yang dihasilkan.

Selanjutnya dilakukan uji sentrifugasi terhadap sediaan mikroemulsi. Uji ini dilakukan untuk melihat kestabilan mikroemulsi karena pengaruh gravitasi, dengan hasil pada **Tabel V.12**.

**Tabel V. 12** Hasil pengujian sentrifugasi selama 5 jam hari ke-1

Jam ke-	F1 A1
1	Stabil
2	Stabil
3	Stabil
4	Stabil
5	Stabil

Berdasarkan **Tabel V.12** sediaan mikroemulsi diketahui stabil selama uji sentrifugasi. Kestabilan ditandai dengan tidak terbentuknya pemisahan fase pada sediaan mikroemulsi ekstrak buah mentimun. Jadi dapat disimpulkan bahwa sediaan akan stabil dari pemisahan fasa akibat gaya gravitasi selama 1 tahun, gambar hasil sentrifuga dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

Uji *freeze thaw*, juga dilakukan untuk mengetahui pengaruh perubahan suhu terhadap kestabilan sediaan dengan hasil pada **Tabel V.13** dibawah ini

**Tabel V. 13** Hasil uji *freeze thaw* sediaan mikroemulsi ekstrak buah mentimun

Uji <i>freeze thaw</i>	F1 A1
Siklus 1	Stabil
Siklus 2	Stabil
Siklus 3	Stabil
Siklus 4	Stabil
Siklus 5	Stabil

Berdasarkan **Tabel V.13** diatas, hasil uji pada siklus 1 hingga siklus ke 5 sediaan mikroemulsi ekstrak buah mentimun tidak mengalami pemisahan fase. Hal tersebut menunjukkan bahwa sediaan mikroemulsi ekstrak buah mentimun stabil selama pengujian *freeze thaw*. Sehingga perubahan suhu ekstrim tidak mempengaruhi kestabilan fisik sediaan.

Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada sediaan mikroemulsi ekstrak buah mentimun yang bertujuan untuk memastikan bahwa sediaan juga memiliki aktivitas antioksidan dalam bentuk sediaan mikroemulsi, ekstrak masih memberikan efek antioksidan.

**Tabel V. 14.** Nilai Absorbansi dan % Inhibisi Ekstrak Buah Mentimun

Konsentrasi Ekstrak	Ekstrak Buah Mentimun	
	Absorbansi $\pm$ SD	% Inhibisi $\pm$ SD
1	0,442	80,71
	0,432	79,19
	0,417	79,86
rata-rata	0,43 $\pm$ 0,012	27,183 $\pm$ 2,129

**Tabel V. 15.** Nilai Absorbansi dan % Inhibisi Mikroemulsi Mengandung Ekstrak Buah Mentimun

Konsentrasi Ekstrak	Mikroemulsi Mengandung Ekstrak Buah Mentimun	
	Absorbansi $\pm$ SD	% Inhibisi $\pm$ SD
1	0,352	40,44
	0,355	39,93
	0,365	38,24
rata-rata	0,357 $\pm$ 0,007	39,536 $\pm$ 1,151

Kemudian dilakukan pengujian aktivitas antioksidan sediaan dengan menggunakan 4 sampel yaitu ekstrak 800 ppm (kel.uji 1), sediaan tanpa ekstrak 1% (kel.uji 2), sediaan yang mengandung ekstrak 1% (kel.uji 3), basis mengandung vitamin C 1% (kel.uji 4).

Berdasarkan **Tabel V.14** dan **Tabel V.15** nilai % Inhibisi sediaan mikroemulsi yang mengandung ekstrak buah mentimun lebih besar dibandingkan dengan ekstrak mentimun. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa komponen dari basis yaitu VCO, dapat meningkatkan aktivitas antioksidan ekstrak buah mentimun dalam sediaan. Kemudian dilakukan uji statistik ANOVA. Hasil dapat dilihat pada **Lampiran 9**.

Berdasarkan hasil ANOVA, dengan memperhatikan nilai signifikansi, terlihat dari output nilai signifikansi yang didapat 0,000 , karena  $0,000 < 0,05$  maka  $H_0$  ditolak. Jadi dapat dinyatakan bahwa ada perbedaan bermakna antara

kelompok uji 1(ekstrak), kelompok uji 2 (sediaan tanpa ekstrak), kelompok uji 3 (sediaan mengandung ekstrak), dan kelompok uji 4 (basis mengandung vitamin C)

