

**FORMULASI MIKROEMULSI EKSTRAK ETANOL KULIT
PISANG KEPOK (*Musa balbisiana* Colla) SERTA UJI
ANTIINFLAMASI TERHADAP STABILISASI
MEMBRAN SEL DARAH MERAH**

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Melaksanakan Penelitian dalam Rangka
Penulisan Skripsi pada Program Sarjana Fakultas Ilmu Kesehatan-Universitas
Baiturrahmah



**Oleh :
AIFA DWI LARASATI
NMP : 2110070150037**

**PROGRAM STUDI FARMASI KLINIS
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS BAITURRAHMAH
PADANG
2025**

KATA PENGANTAR

Puji dan Syukur kehadiran Allah SWT, karena dengan Rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyusun skripsi dengan judul “Formulasi Mikroemulsi Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana* Colla) serta Uji Antiinflamasi terhadap Membran Sel Darah Merah”. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada program sarjana Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Baiturrahmah. Penulis menyadari sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sejak penyusunan proposal sampai dengan terlaksananya skripsi ini. Dalam kesempatan ini penulis juga menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Ibu Dr. Sevilla Ukhtil Huvaidd, SKM, M.Kes selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Baiturrahmah.
2. Ibu apt. Eka Desnita, M.Farm selaku Ketua Program Studi Farmasi Klinis Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Baiturrahmah.
3. Ibu apt. Siska Ferilda, M.Farm selaku dosen pembimbing akademik.
4. Ibu apt. Wida Ningsih, M.Farm selaku dosen pembimbing I dan Ibu apt. Elsa Marsellinda, M.Farm selaku dosen pembimbing II yang dengan sabar telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing saya dalam penyusunan skripsi ini.
5. Bapak apt. Yahdian Rasyadi selaku dosen penguji I dan Ibu apt. Fitri Wahyuni, M.Farm selaku dosen penguji II yang telah bersedia meluangkan

waktunya untuk mengarahkan dan memberikan masukan kepada penulis dalam penulisan skripsi ini.

6. Bapak dan ibu dosen pengajar beserta civitas akademik Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Baiturrahmah.
7. Ibunda tersayang yang penuh dengan kesabaran, selalu memberikan doa dan dukungan kepada penulis agar dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. Kakak dan adik yang selalu memberikan dukungan kepada penulis selama menempuh pendidikan di Universitas Baiturrahmah.
9. Teman-teman farmasi Hidralizin (angkatan 2021) yang telah berjuang bersama-sama serta berbagi suka dan duka.
10. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan selama masa penelitian dan penyusunan skripsi ini.
11. Aifa Dwi Larasati, *last but not least*. Apresiasi sebesar-besarnya pada diri sendiri karena telah bertanggung jawab untuk menyelesaikan apa yang telah dimulai. Terimakasih telah bertahan sampai sejauh ini dan senantiasa menikmati setiap proses yang dapat dikatakan tidak mudah. Mari ikhkhaskan segala sesuatu yang tidak dapat diubah baik yang sudah terselesaikan maupun yang belum.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dari penulisan skripsi ini, baik dari materi maupun teknik penyajian, mengingat kurangnya pengetahuan dan pengalaman penulis. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang sifatnya membangun. Akhirnya penulis berharap semoga hasil ini dapat

bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dimasa yang akan datang.

Aamiin Yan Rabbal'Alaamiin.

Padang, 11 Agustus 2025

Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Deskripsi Konseptual.....	6
2.1.1 Variabel Terikat	6
2.1.2 Variabel Bebas	6
2.1.3 Klasifikasi Pisang Kepok	6
2.1.4 Morfologi.....	7
2.1.5 Kandungan Senyawa Alami dalam Kulit Pisang Kepok.....	7
2.2 Ekstraksi	8
2.2.1 Pengertian Ekstraksi.....	8
2.2.2 Metode Ekstraksi	9
2.2.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	11
2.3 Anatomi Fisiologi Kulit	12
2.3.1 Gambaran Umum Kulit	12
2.3.2 Rute Penetrasi Obat Melalui Kulit	13
2.4 Mikroemulsi	14
2.4.1 Defenisi	14
2.5 Inflamasi.....	16
2.5.1 Definisi	16
2.5.2 Jenis Inflamasi	16

2.5.3 Mekanisme Inflamasi	17
2.5.4 Obat Antiinflamasi	18
2.5.5 Metode Uji Antiinflamasi	19
2.6 Metode Pengujian Efek Antiinflamasi	23
2.6.1 Metode Stabilisasi Membran Sel Darah	23
2.7 Spektrofotometer UV-Vis	24
2.7.1 Prinsip Dasar	25
2.8 Kerangka Teori	27
2.9 Kerangka Konsep	28
2.10 Hipotesis	28
BAB III METODE PENELITIAN	29
3.1 Jenis Penelitian	29
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	29
3.3 Populasi dan Sampel	29
3.4 Teknik Pengumpulan Data	30
3.4.1 Alat	30
3.4.2 Bahan	30
3.4.3 Jenis Data	31
3.4.4 Cara Kerja	31
3.5 Evaluasi Sediaan Mikroemulsi Ekstrak Kulit Pisang Kepok	36
3.6 Uji Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Stabilisasi Membran Sel Darah Merah	38
3.6.1 Pembuatan Larutan yang Diperlukan	38
3.6.2 Pembuatan Suspensi Sel Darah Merah	39
3.7 Pengujian Aktivitas Mikroemulsi Ekstrak Kulit Pisang (<i>Musa balbisiana</i> Colla) terhadap Stabilisasi Membran Sel Darah Merah	40
3.8 Analisis Data	41
3.9 Etika Penelitian	42
3.10 Definisi Operasional	42
BAB IV HASIL PENELITIAN	44
4.1 Hasil Ekstrak Kulit Pisang Kepok (<i>Musa Balbisiana</i> Colla)	44

4.1.1 Identifikasi Tanaman.....	44
4.1.2 Pembuatan Simplisia	44
4.1.3 Hasil Ekstrasi Simplisia.....	44
4.2 Pemeriksaan Ekstrak.....	44
4.3 Skrining Fitokimia	45
4.4 Hasil Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	46
4.5 Pembuatan Sediaan Mikroemulsi	46
4.6 Hasil Evaluasi Sediaan Mikroemulsi Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok ..	46
4.7 Uji Aktivitas Antiinflamasi	48
4.7.1 Hasil Uji Stabilisasi Membran Sel Darah Merah Mikroemulsi Ekstrak Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i> Colla) Secara <i>In-Vitro</i>	48
4.8 Hasil Analisa Data Statistik Uji Aktivitas Antiinflamasi.....	50
BAB V PEMBAHASAN	51
5.1 Pembuatan Simplisia dan Hasil Ekstraksi.....	51
5.2 Pemeriksaan Ekstrak.....	52
5.3 Skrining Fitokimia	53
5.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	54
5.5 Pembuatan Sediaan Mikroemulsi	55
5.6 Hasil Evaluasi Sediaan Mikroemulsi	56
5.6.1 Uji Organoleptis.....	56
5.6.2 Uji pH.....	56
5.6.3 Uji Viskositas.....	57
5.6.4 Uji Berat Jenis.....	57
5.6.5 Uji Stabilitas dengan Sentrifugasi.....	57
5.6.6 Uji Stabilitas dengan Metode <i>Heating Stability</i>	58
5.6.7 Penentuan Ukuran Partikel	58
5.7 Uji Aktivitas Antiinflamasi	59
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	66
6.1 Kesimpulan.....	66
6.2 Saran	66
DAFTAR PUSTAKA.....	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Buah Pisang Kepok.....	7
Gambar 2.2 Struktur Penampang Kulit.....	12
Gambar 2.4 Diagram Skematik Spektrofotometer Uv-Vis	25
Gambar 2.5 Kerangka Teori.....	27
Gambar 2.6 Kerangka Konsep	28
Gambar 4.1 Hasil uji organoleptis Mikroemulsi ekstrak kulit pisang kepok (<i>Musa balbisiana</i> Colla).....	47
Gambar 4.2 Grafik Hasil Uji Stabilisasi Membran Sel Darah Merah Mikroemulsi Ekstrak Kulit Pisang Kepok dan Kontrol Positif Terhadap Induksi Larutan Hipotonik.....	49

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Formula Mikroemulsi	35
Tabel 3.2 Definisi Operasional	42
Tabel 4.1 Hasil Pembuatan Simplisia Kulit Pisang Kepok.....	44
Tabel 4.2 Hasil Rendemen Simplisia Kulit Pisang Kepok	44
Tabel 4.3 Hasil Uji Organoleptis	44
Tabel 4.4 Hasil Pemeriksaan Susut Pengeringan	45
Tabel 4.5 Hasil Pemeriksaan Kadar Abu	45
Tabel 4.6 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok.....	45
Tabel 4.7 Formula Sediaan Mikroemulsi	46
Tabel 4.8 Hasil Uji Organoleptis	46
Tabel 4.9 Hasil Uji pH	47
Tabel 4.10 Hasil Uji Viskositas	47
Tabel 4.11 Hasil Uji Berat Jenis	47
Tabel 4.12 Hasil Uji Stabilitas dengan Sentrifugasi	48
Tabel 4.13 Hasil Uji Stabilitas dengan Metode Heating Stability	48
Tabel 4.14 Hasil Penentuan Ukuran Partikel Mikroemulsi.....	48
Tabel 4.15 Stabilisasi membran sel darah merah dari mikroemulsi ekstrak kulit pisang kepok dan kontrol positif terhadap induksi larutan hipotonik ..	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Identifikasi Tanaman.....	72
Lampiran 2. Surat Keterangan Lulus Kaji Etik	73
Lampiran 3. Alur Kerja Penelitian.....	74
Lampiran 4. Skema Pembuatan dan Pemeriksaan pada Ekstrak.....	75
Lampiran 5. Pemeriksaan Ekstrak	76
Lampiran 6. Skrining Fitokimia	78
Lampiran 7. Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	80
Lampiran 8. Hasil <i>Particle Analysis Size</i>	81
Lampiran 9. <i>Certificate of Analysis</i>	93
Lampiran 10. Skema Formulasi Mikroemulsi.....	100
Lampiran 11. Skema Pembuatan Suspensi Sel Darah Merah	101
Lampiran 12. Pengujian Aktivitas Antiinflamasi Mikroemulsi Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i> Colla) terhadap Membran Sel Darah Merah.....	102
Lampiran 13. Penentuan Stabilitas Membran Sel Darah Merah Terhadap Mikroemulsi Ekstrak Kulit Pisang Kepok (<i>Musa balbisiana</i> Colla)	103
Lampiran 14. Penetapan Stabilisasi Membran Sel Darah Merah terhadap Kontrol Positif (Natrium Diklofenak) pada Konsentrasi 100 ppm	105
Lampiran 15. pengolahan Data Secara Statistik (ANOVA) satu arah dilanjutkan Uji DUNCAN	106

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara dengan tingkat keanekaragaman hayati yang sangat tinggi. Salah satu contoh keanekaragaman hayati yang terkenal di Indonesia adalah pisang kepok. Pisang kepok (*Musa balbisiana* Colla), yang termasuk dalam keluarga musaceae, adalah salah satu varietas pisang yang paling banyak diproduksi (Prasetyo, 2022). Masyarakat Indonesia umumnya memanfaatkan pisang kepok sebagai bahan makanan atau mengonsumsinya secara langsung. Namun saat ini, pemanfaatan pisang kepok masih terbatas pada daging buahnya saja. Sementara itu, kulit pisang kepok memiliki potensi untuk dimanfaatkan lebih lanjut. Salah satu kemungkinan pemanfaatan kulit pisang kepok adalah sebagai agen antiinflamasi.

Menurut beberapa penelitian terdahulu kulit pisang kepok mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Senyawa flavonoid diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi. Penelitian ini menunjukkan bahwa kulit pisang mengandung zat yang berkontribusi dalam proses penyembuhan luka, yaitu saponin dan flavonoid (Mayangsari *et al.*, 2023). Pada penelitian lain juga menyebutkan bahwa kulit pisang kepok mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan triterpenoid

yang memiliki potensi untuk aktivitas antiinflamasi, khususnya flavonoid, tanin, dan saponin (Nifinluri *et al.*, 2019).

Inflamasi atau radang adalah respon perlindungan yang terjadi akibat trauma fisik, bahan kimia yang merusak, atau mikroorganisme yang menyerang jaringan. Inflamasi merupakan salah satu mekanisme tubuh untuk menetralkan atau menghancurkan organisme patogen, menghilangkan zat-zat yang mengiritasi, serta mengatur proses perbaikan jaringan. Proses peradangan ini dapat menyebabkan reaksi seperti pembengkakan, peningkatan suhu, rasa sakit, kemerahan, dan gangguan fungsi pada jaringan yang terkena peradangan (Wahdaniah *et al.*, 2023).

Umumnya obat-obatan yang sering digunakan untuk mengatasi inflamasi adalah golongan non-steroid, seperti indometasin, asam mefenamat, fenilbutazon, ibuprofen, dan natrium diklofenak. Namun, penggunaan obat AINS dalam jangka panjang dapat mengakibatkan penurunan fungsi organ pencernaan, hati, ginjal, dan jantung (Wahdaniah *et al.*, 2023).

Obat-obat yang memiliki kelarutan rendah, menyebabkan efek samping pada saluran pencernaan, dan mengalami metabolisme lintas pertama. Oleh karena itu, diperlukan pencarian rute alternatif yang tidak mengurangi efek farmakologis obat tersebut. Salah satu metode penghantaran obat selain secara oral adalah sediaan topikal, yang memanfaatkan kulit sebagai jalur masuk obat. Untuk itu, dibuat sediaan

dalam bentuk mikroemulsi yang digunakan secara topikal untuk mengurangi efek samping yang mungkin timbul (Sari *et al.*, 2024).

Mikroemulsi memiliki kemampuan untuk menjaga obat dalam bentuk terlarut, dan tetesan kecil yang terbentuk menyediakan area antarmuka yang luas untuk menyerap obat. Keberadaan lipid dalam formulasi mikroemulsi dapat membantu meningkatkan permeabilitas obat, sehingga efikasi AINS dapat meningkat. Selain itu, sediaan ini tidak memerlukan peningkatan penetrasi tambahan, karena komponen-komponen penyusunnya dalam formulasi sudah dapat meningkatkan penetrasi obat ke dalam kulit (Shadab *et al.*, 2020).

Dalam penelitian sebelumnya mengenai potensi antiinflamasi gel ekstrak kulit pisang kepok terhadap tikus yang diinduksi keragenan 1% dengan konsentrasi 2%, 4% dan 8%, diperoleh hasil berturut-turut 28%, 42,9% dan 50% dengan kontrol positif menggunakan Natrium Diklofenak gel menunjukkan hasil 61,3%. Hal ini menunjukkan bahwa adanya efek antiinflamasi dalam kulit pisang kepok (Mayangsari *et al.*, 2023).

Metode yang digunakan untuk pengujian antiinflamasi yaitu menggunakan metode stabilisasi sel darah merah secara *in-vitro*. Metode ini diterapkan karena sel darah merah dianggap sebagai analog dari membran lisosom yang dapat mempengaruhi proses inflamasi. Dengan menjaga stabilitas sel darah merah, stabilitas membran lisosom juga akan terjaga, sehingga aktivitas antiinflamasi dapat diukur (Sari *et al.*, 2024).

Berdasarkan latar belakang di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan formula mikroemulsi dari ekstrak kulit pisang kepok. Setelah pembuatan formula mikroemulsi, dilakukan uji antiinflamasi terhadap sediaan mikroemulsi ekstrak kulit pisang kepok dengan menggunakan metode stabilisasi sel darah merah secara *in-vitro*. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan sediaan obat antiinflamasi yang lebih efektif dan aman.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak kulit pisang kepok dapat diformulasikan dalam bentuk mikroemulsi ?
2. Apakah terdapat aktivitas antiinflamasi pada mikroemulsi ekstrak kulit pisang kepok ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menilai apakah ekstrak kulit pisang kepok dapat diformulasikan menjadi sediaan mikroemulsi.
2. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi dan mengidentifikasi aktivitas antiinflamasi yang ada dalam mikroemulsi ekstrak kulit pisang kepok.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi ilmiah mengenai uji antiinflamasi mikroemulsi ekstrak etanol kulit pisang kepok dengan menggunakan metode stabilisasi membran sel darah merah.

2. Penelitian ini dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang pemanfaatan kulit pisang kepok menjadi mikroemulsi serta potensi efek antiinflamasi yang dimilikinya.
3. Penelitian ini dapat dijadikan landasan untuk penelitian selanjunya dalam bidang yang sama.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Konseptual

2.1.1 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah pengujian antiinflamasi menggunakan metode stabilisasi membran sel darah merah.

2.1.2 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak kulit pisang kepok yang digunakan dalam sediaan mikroemulsi.

2.1.3 Klasifikasi Pisang Kepok

Menurut Departemen Pertanian Amerika Serikat (USDA : 2015), taksonomi tanaman pisang kepok (*Musa balbisiana* Colla) dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kerajaan	: Plantae
Sub kerajaan	: Tracheobionta
Sub divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Subkelas	: Zingiberidae
Orde	: Zingiberal

Famili	: Musaceae
Genus	: Musa L
Spesies	: <i>Musa balbisiana</i> Colla



Gambar 2. 1 Buah Pisang Kepok

2.1.4 Morfologi

Berdasarkan literatur, *Musa balbisiana* Colla memiliki ciri-ciri morfologi khas seperti warna batang semu sedikit atau tidak berbintik, bentuk kanal petiol tepi tertutup dan membentuk batang yang rapat, gulungan braktea jantung tidak menggulung saat terbuka, bentuk braktea berbentuk seperti telur dan tidak meruncing, ujung braktea tumpul, warna braktea ungu kecoklatan di luar, merah tua cerah di dalam, pemuaran warna di dalam jantung warna tetap hingga pangkal, mahkota bunga jantan sangat jarang bergelombang, warna bunga jantan merah muda, warna stigma krem, kuning pucat atau merah muda (Dwivany, 2021).

2.1.5 Kandungan Senyawa Alami dalam Kulit Pisang Kepok

2.1.5.1 Flavonoid

Flavonoid memiliki struktur umum C₆-C₃-C₆ yang dihubungkan oleh rantai tiga karbon. Flavonoid berperan sebagai agen antiinflamasi

dengan cara mengatur molekul yang menyebabkan peradangan, seperti enzim COX-2 dan sitokin proinflamasi seperti IL-1 β (Aysar, 2024).

Flavonoid utama dalam pisang kepok adalah kuersetin, yang bertanggung jawab atas peran pentingnya dalam menghentikan jalur sinyal pro-inflamasi. Peran ini terkait dengan kemampuan kuersetin untuk mengurangi perekrutan neutrofil, stres oksidatif, dan COX-2 (Ferraz *et al.*, 2020).

2.1.5.2 Tanin

Tanin dapat menstabilkan membran sel darah merah dengan cara mengikat ion dan molekul besar pada membran, sehingga mencegah sel darah merah pecah dan membantu mengurangi peradangan.

2.1.5.3 Saponin

Saponin bekerja sebagai antiinflamasi dengan berinteraksi pada berbagai membran lipid, termasuk fosfolipid. Fosfolipid merupakan komponen utama membran sel yang berfungsi sebagai sumber asam arakidonat. Ketika terjadi rangsangan inflamasi atau cedera, enzim fosfolipase A2 akan mengaktifkan dan memecah membran asam fosfolipid menjadi asam arakidonat. Selanjutnya asam arakidonat diubah oleh enzim siklooksigenasi (COX) menjadi prostaglandin (Zaputri *et al.*, 2022).

2.2 Ekstraksi

2.2.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pengambilan senyawa aktif yang dapat larut dari simplisia, baik simplisia nabati maupun hewani, yang diproses

menjadi simplisia kering sehingga menyerupai serbuk. Proses ini dilakukan dengan menggunakan zat pelarut yang sesuai, sehingga bahan aktif yang digunakan berupa ekstrak dalam sediaan cair, kental, atau padat. Proses ekstraksi mencakup separasi, pemurnian, penguapan atau pemekatan, dan pengeringan.

Menurut (Depkes RI : 2000) “metode ekstraksi dapat dilakukan dalam berbagai cara, seperti cara dingin melalui maserasi dan perkolasi, atau cara panas melalui refluks, infus, soxhlet, digesti, dan dekok”.

2.2.2 Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut bisa melalui beberapa cara, yaitu:

1. Ekstraksi cara dingin

- a. Maserasi: Maserasi adalah proses ekstraksi bahan dengan menambahkan pelarut ke simplisia, kemudian direndam, dan pengadukan pada suhu ruangan. Setelah itu, dilakukan remaserasi, atau penambahan pelarut kembali, selama 24 jam setelah penyaringan maserat pertama.
- b. Perkolasi: Perkolasi adalah proses ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna, biasanya dilakukan pada suhu ruangan. Proses ini melalui tahapan pengaliran (tetesan) yang terus menerus sampai ekstrak (perkolat) dihasilkan.

2. Ekstraksi cara panas

- a. Refluks: Refluks adalah proses ekstraksi di mana pendingin balik terjadi dan pelarut ditetapkan pada suhu titik didih selama waktu tertentu. Untuk mendapatkan proses ekstraksi yang sempurna, biasanya proses diulang tiga hingga lima kali pada residu pertama.
- b. Infus: Proses ekstraksi pelarut air dengan menggunakan temperatur penangas air/waterbath. Ini terjadi dengan mencelupkan bejana infus ke dalam air mendidih pada suhu 96–98 derajat Celcius selama 15–20 menit.
- c. Soxhlet: Proses ekstraksi Soxhlet menggunakan pelarut yang selalu baru sehingga terjadi ekstraksi kontinu atau terus-menerus. Proses ini biasanya menggunakan alat khusus yang disebut ekstraktor Soxhlet, yang memiliki jumlah pelarut konstan karena pendingin balik.
- d. Digesti: Digesti adalah proses maserasi kinetik pada suhu lebih tinggi dari ruangan. Selama proses ini, pengadukan terus-menerus terjadi pada 40-50 °C.
- e. Dekok: Dekok adalah proses ekstraksi yang mirip dengan infus, tetapi membutuhkan waktu yang lebih lama, yaitu tiga puluh menit, hingga suhunya mencapai 90 hingga 100 derajat Celcius (Depkes RI, 2000).

2.2.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi dapat diartikan sebagai metode pemisahan zat terlarut yang melibatkan dua fase atau lebih. Prinsip dasar dari pemisahan dalam kromatografi lapis tipis terletak pada perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa, yang mencakup kecenderungan molekul untuk larut dalam cairan, kecenderungan untuk menguap, serta kecenderungan untuk menempel pada permukaan. Pemilihan pelarut untuk senyawa yang akan di analisis menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) harus memenuhi beberapa kriteria, yaitu mampu melarutkan analit secara optimal, memiliki sifat mudah menguap, viskositas yang rendah, serta dapat membasahi lapisan penyerap dengan baik.

Identifikasi senyawa-senyawa yang terpisah dalam kromatografi lapis tipis dapat dilakukan dengan menggunakan nilai R_f (Retardation Factor), yang menunjukkan perbandingan jarak yang dicapai oleh suatu komponen terhadap jarak total yang dicapai oleh pelarut. Nilai R_f didefinisikan sebagai jarak yang dicapai oleh senyawa dari titik awal dibagi dengan jarak yang dicapai oleh pelarut, yaitu :

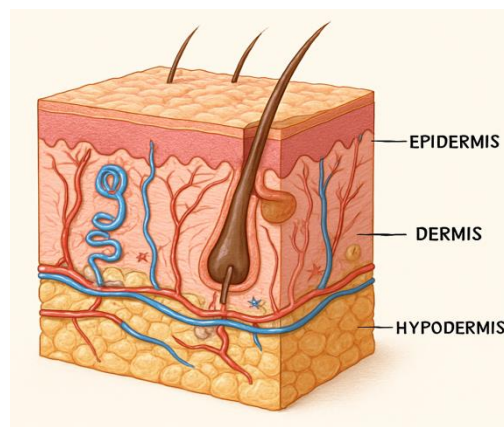
$$R_f = \frac{\text{jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{jarak garis depan dari titik awal}}$$

Nilai R_f dipengaruhi oleh beberapa faktor, termasuk struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan, sifat penyerap, jenis eluen yang digunakan, serta jumlah cuplikan yang dianalisis (Farika Nikmah, 2022).

2.3 Anatomi Fisiologi Kulit

2.3.1 Gambaran Umum Kulit

Kulit berfungsi sebagai 'selimut' yang melapisi permukaan tubuh dan memiliki peran utama sebagai pelindung dari berbagai gangguan dan rangsangan dari luar. Kulit terbagi menjadi tiga lapisan utama: lapisan terluar yang disebut epidermis, yang mengandung stratum korneum; lapisan tengah yang dikenal sebagai dermis; dan lapisan terdalam yang disebut hipodermis, seperti yang ditunjukkan pada **Gambar 2.2** berikut (Alkilani *et al.*, 2015) :



Gambar 2. 2 Struktur Penampang Kulit

2.3.1.1 Epidermis

Epidermis merupakan lapisan paling luar dari kulit yang ketebalannya bervariasi, sekitar 0,8 mm pada telapak tangan dan telapak kaki. Lapisan ini terdiri dari area sel epitel yang berlapis-lapis dan epidermis yang masih hidup, yang sering disebut sebagai lapisan epidermis di bawah lapisan korneum. Stratum korneum adalah lapisan paling halus dari epidermis, di mana sel-sel di dalamnya sebagian besar

terdiri dari keratin yang tidak larut (70%) dan lipid (20%) (Alkilani *et al.*, 2015).

2.3.1.2 Dermis

Dermis adalah lapisan yang bersifat hidrofilik dan mengandung pembuluh darah, serta terdiri dari jaringan serat padat yang terdiri dari kolagen dan elastin, yang memberikan kekuatan mekanis pada kulit. Setiap zat yang mencapai dermis dapat masuk ke dalam sirkulasi sistemik. Ketebalan dermis berkisar antara 2-3 mm dan terdiri dari serat kolagen (70%) dan elastin, yang memberikan kekuatan dan elastisitas pada kulit (Alkilani *et al.*, 2015).

2.3.1.3 Hipodermis

Lapisan hipodermis, yang juga dikenal sebagai subkutan, adalah lapisan terdalam dari kulit yang terdiri dari jaringan sel lemak. Hipodermis berfungsi sebagai penghubung antara kulit dan jaringan di bawahnya, seperti otot dan tulang. Oleh karena itu, fungsi utama hipodermis meliputi perlindungan terhadap tekanan fisik, isolasi panas, serta memberikan dukungan dan konduksi sinyal vaskular dan saraf pada kulit (Alkilani *et al.*, 2015).

2.3.2 Rute Penetrasi Obat Melalui Kulit

Kulit memiliki berbagai fungsi, salah satunya adalah sebagai saluran untuk penetrasi obat, yang memungkinkan pengiriman obat secara terus-menerus ke dalam sistem peredaran darah dan memberikan kenyamanan yang lebih bagi pasien. Selain itu, metode ini juga dapat mengurangi

beberapa efek samping yang mungkin timbul dari pemberian obat secara oral dan parenteral. Terdapat dua jalur yang mungkin untuk menembus obat melalui kulit yang utuh, yaitu jalur trans-epidermal dan jalur trans-appendageal.

Pada jalur trans-epidermal, zat yang menembus kulit melewati ruang trans-seluler dan paraseluler, di mana molekul dapat bergerak secara transeelular atau antar sel. Jalur ini melibatkan penetrasi molekul melalui stratum korneum yang memiliki penghalang berlapis-lapis dan terdiri dari banyak sel. Rute trans-appendageal mencakup penetrasi melalui folikel rambut atau saluran keringat, yang memutus kontinuitas stratum korneum, sehingga juga dikenal sebagai jalur folikuler (Alkilani *et al.*, 2015).

2.4 Mikroemulsi

2.4.1 Defenisi

Hoar dan Schulman pertama kali membahas mikroemulsi pada tahun 1943. Menurut Attwood, “mikroemulsi adalah sistem air, minyak, dan senyawa *amphiphilic* (surfaktan dan kosurfaktan) yang transparan, bersifat isotropic, dan stabil secara termodinamika. Mikroemulsi adalah sistem yang jernih dan stabil secara termodinamik, bersifat isotropik, di mana dua cairan yang tidak dapat bercampur (seperti udara dan minyak) digabungkan untuk membentuk fase tunggal dengan bantuan surfaktan atau campuran surfaktan yang sesuai. Kehadiran surfaktan dan ko-surfaktan dalam sistem ini menurunkan tegangan antarmuka secara signifikan (Yuniar, 2021).

Mikroemulsi dan emulsi adalah dua sistem yang berbeda. Mikroemulsi merupakan larutan yang stabil secara termodinamika dan bersifat bening, berupa campuran isotropik dari minyak, air, serta surfaktan yang sering dipadukan dengan kosurfaktan. Sedangkan emulsi adalah sediaan yang terdiri dari dua fase cair, di mana salah satu fase cair terdispersi dengan sangat halus dan merata dalam fase cair lainnya, biasanya distabilkan oleh zat pengemulsi. Perbedaan lainnya terletak pada stabilitas kedua sistem, meskipun emulsi menunjukkan stabilitas kinetik, mereka tidak stabil secara termodinamik dan dapat mengalami perpecahan fase seiring waktu. Sebaliknya, mikroemulsi stabil secara termodinamik dan dapat terbentuk secara spontan (atau dengan sedikit masukan energi) dalam kondisi yang sesuai (Yuniar, 2021).

Komponen yang terlibat dalam formulasi mikroemulsi umumnya mencakup fase minyak, fase air yang mengandung bahan aktif hidrofilik (termasuk bahan pengawet dan buffer), surfaktan dan kosurfaktan. Surfaktan non-ionik biasanya dipilih karena memiliki toleransi yang baik terhadap kulit serta potensi iritasi dan toksisitas yang lebih rendah. Mikroemulsi dapat diformulasikan dengan menggunakan surfaktan rantai tunggal atau surfaktan rantai ganda. Surfaktan rantai tunggal tidak cukup efektif dalam menurunkan tegangan antarmuka antara air dan minyak, sehingga diperlukan kosurfaktan.

Mikroemulsi dalam formulasi topikal telah terbukti dapat meningkatkan penyerapan obat-obatan, baik yang larut dalam lemak

(lipofilik) maupun yang larut dalam air (hidrofilik), dibandingkan dengan metode konvensional seperti emulsi, minyak murni, dan larutan berair. Dalam sistem mikroemulsi, zat aktif biasanya lebih larut, yang menciptakan perbedaan konsentrasi yang lebih besar pada kulit. Komponen amfifilik dalam mikroemulsi membantu meningkatkan penetrasi zat aktif, dan mobilitas zat tersebut dalam pembawa juga berkontribusi pada efektivitas mikroemulsi dalam mengantarkan obat melalui kulit (Yuniar, 2021).

2.5 Inflamasi

2.5.1 Definisi

Inflamasi atau peradangan adalah respon jaringan terhadap berbagai rangsangan yang dapat mengakibatkan perubahan atau kerusakan pada jaringan tersebut. Rangsangan ini bisa berasal dari faktor fisik (seperti trauma, bahan kimia, panas, dan radiasi), infeksi (termasuk virus, bakteri, dan parasit lainnya), serta fenomena lainnya. Rangsangan tersebut memicu pecahnya sel mast, yang kemudian melepaskan mediator-mediator peradangan dan enzim lisosom yang berperan dalam proses inflamasi (Asfitri, 2020).

2.5.2 Jenis Inflamasi

1. Inflamasi Akut

Peradangan akut adalah respons awal tubuh terhadap rangsangan berbahaya yang berlangsung selama beberapa hari. Proses peradangan akut yang terjadi secara bersamaan dapat menyebabkan peradangan kronis, yang dapat bertahan selama berbulan-bulan. Pada peradangan akut, respon

tubuh terjadi secara langsung sebagai reaksi terhadap kerusakan sel atau jaringan, melibatkan sistem vaskular lokal, sistem imun, dan berbagai jenis sel. Tanda-tanda khas dari proses peradangan akut meliputi, kemerahan, pembengkakan, panas dan sakit atau nyeri (Asfitri, 2020).

2. Inflamasi Kronis

Inflamasi kronis disebabkan oleh kerusakan jaringan yang berlangsung lama. Peradangan ini terjadi ketika proses inflamasi berlangsung selama periode yang panjang (beberapa bulan hingga bertahun-tahun), dan terjadi perubahan progresif dalam jenis sel yang hadir di area luka. Peradangan kronik melibatkan peran sel darah putih, terutama sel mononuklear (seperti monosit, makrofag dan limfosit) serta peran fibroblas.

2.5.3 Mekanisme Inflamasi

Inflamasi adalah reaksi tubuh terhadap iritasi atau kerusakan. Proses ini dimulai ketika jaringan terluka, yang menyebabkan sel mast melepaskan zat-zat yang memicu peradangan. Akibatnya, pembuluh darah di area yang terkena melebar, sehingga aliran darah meningkat. Ketika lebih banyak darah mengalir ke kapiler dan venula, sel-sel dinding pembuluh darah meregang dan menjadi lebih permeabel, hal ini memungkinkan protein dari darah keluar dan menyebabkan pembengkakan (edema). Selanjutnya, sel-sel darah putih (leukosit) bergerak ke lokasi peradangan. Proses ini terjadi sebagai respons tubuh terhadap ancaman atau kerusakan, sehingga neutrofil dapat melakukan tugasnya untuk melindungi dan menyembuhkan tubuh (Asfitri, 2020).

2.5.4 Obat Antiinflamasi

Obat-obat antiinflamasi adalah kelompok obat yang berfungsi untuk menekan atau mengurangi peradangan. Aktivitas ini dapat dicapai melalui berbagai cara, seperti menghambat pembentukan mediator radang prostaglandin, menghalangi migrasi sel-sel leukosit ke daerah yang meradang, dan menghambat pelepasan prostaglandin dari sel-sel yang memproduksinya. Berdasarkan cara kerjanya, obat antiinflamasi dibagi menjadi beberapa golongan, sebagai berikut:

a. Antiinflamasi-Steroid (SAID)

Obat golongan antiinflamasi steroid bekerja dengan menghambat enzim fosfolipase A₂, yang mencegah pelepasan asam arakidonat zat awal yang dibutuhkan untuk membuat prostaglandin dan zat peradangan lain sehingga SAID memberikan efek meredakan peradangan yang lebih luas dan lebih kuat dibanding NSAID (Mardiana & Yuniati, 2021). Beberapa obat yang termasuk dalam golongan antiinflamasi steroid adalah prednison, hidrokortison, deksametason, dan betametason. Obat-obat ini sering digunakan untuk mengatasi berbagai kondisi inflamasi dan autoimun karena kemampuannya untuk mengurangi peradangan dan menekan respon imun.

b. Antiinflamasi Non-Steroid (NSAID)

Obat golongan antiinflamasi non-steroid (NSAID) bekerja dengan menghambat enzim siklooksigenase (COX-1 dan COX-2), sehingga mengurangi produksi prostaglandin, yaitu zat yang menyebabkan

peradangan dan rasa sakit. Enzim siklooksigenase berperan penting dalam memacu pembentukan prostaglandin dan tromboksan dari asam arakidonat. Prostaglandin adalah molekul pembawa pesan yang terlibat dalam proses inflamasi (Mardiana & Yuniati, 2021).

Beberapa obat yang termasuk dalam golongan antiinflamasi non-steroid adalah ibuprofen, natrium diklofenak, aspirin, indometasin, asam mefenamat. Obat-obat ini sering digunakan untuk mengurangi rasa sakit, peradangan dan demam, namun penggunaanya harus dilakukan dengan hati-hati mengingat potensi efek samping yang dapat terjadi.

2.5.5 Metode Uji Antiinflamasi

Manifestasi inflamasi ditandai oleh gejala seperti peningkatan suhu, keluarnya cairan dari pembuluh darah, pembengkakan, dan rasa nyeri. Gejala ini disebabkan oleh pergerakan sel darah putih ke area yang meradang, pertumbuhan jaringan baru dan pengerutan jaringan. Untuk menguji potensi antiinflamasi dari suatu senyawa, ada beberapa metode yang bisa digunakan (Asfitri, 2020).

Terdapat dua jenis metode yang digunakan, yaitu:

1. Metode in-vivo
 - a. Metode pembentukan edema buatan

Metode ini fokus pada pengukuran volume edema buatan dengan membandingkan volume sebelum dan sesudah pemberian zat uji. Beberapa iritan yang digunakan untuk menginduksi edema meliputi

formalin, ragi dan dekstran (Asfitri, 2020). Salah satu iritan yang paling umum digunakan dan memiliki sensitivitas tinggi adalah karagen.

b. Teknik pembentukan kantong granuloma

Pada metode ini, bagian punggung hewan uji dicukur dan diinfeksi. Selanjutnya, 20 ml air disuntikkan ke bagian tengah kulit punggung untuk membentuk kantong udara. Kemudian, ke dalam kantong tersebut diinjeksikan 1,5 ml minyak kroton 1% yang dicampur dengan minyak wijen, sambil memastikan tidak terjadi kebocoran udara. Setelah 48 jam, udara dalam kantong dikeluarkan. Sejak pembentukan kantong, hewan uji diberikan senyawa uji atau senyawa standar secara oral atau subkutan setiap hari. Pada hari ke-4 atau ke-5, hewan uji akan dikorbankan. Kantong udara kemudian dibuka dan eksudat yang dihasilkan diambil dan diukur volumenya. Dalam metode ini minyak kroton digunakan sebagai penginduksi, namun dapat juga digantikan dengan karagen.

c. Uji radang telapak kaki

Pada metode ini, senyawa uji atau ekstrak tanaman diberikan secara oral satu jam sebelum pemberian senyawa penginduksi inflamasi, atau 30 menit sebelumnya dapat diberikan secara intraperitoneal. Aktivitas menghambat radang telapak kaki menunjukkan adanya aktivitas antiinflamasi. Edema atau radang disebabkan karena menginjeksikan senyawa agonis (seperti karagen, dekstran, kaolin, formalin atau albumin telur) secara subplantar pada

telapak kaki kiri hewan uji. Volume cairan edema diukur menggunakan plotismometer segera setelah penyuntikan dan pengukuran diulang setelah 3 dan 6 jam.

2. Metode *in-vitro*

a. Stabilisasi membran sel darah merah

Membran sel darah merah manusia atau eritrosit mirip dengan membran lisosomal. Jika ekstrak yang diuji dapat menstabilkan membran sel darah merah, maka ekstrak tersebut juga dapat menstabilkan membran lisosomal. Stabilisasi membran lisosomal penting untuk membatasi respons peradangan dengan mencegah pelepasan zat-zat dari lisosom neutrofil yang aktif, seperti enzim yang membunuh bakteri dan protease. Jika zat-zat ini dilepaskan berlebihan, mereka dapat menyebabkan peradangan dan kerusakan jaringan lebih lanjut. Eritrosit sering digunakan sebagai model untuk mempelajari interaksi obat dengan membran. Beberapa obat, seperti anestesi, obat penenang, dan steroid antiinflamasi, dapat menstabilkan membran eritrosit dan mencegah hemolisis (pecahnya sel darah merah) yang disebabkan oleh kondisi hipotonik. Dengan mencegah pelepasan hemoglobin, obat-obat ini menunjukkan potensi dalam mengurangi efek merugikan dari peradangan dan kerusakan jaringan.

b. Penghambatan denaturasi protein

Penghambatan denaturasi protein merupakan salah satu metode untuk menyaring awal aktivitas antiinflamasi. Denaturasi protein adalah

salah satu parameter yang dapat terjadi selama proses inflamasi dan rematik. Oleh karena itu, penggunaan agen yang dapat mencegah denaturasi protein sangat bermanfaat dalam pengembangan obat antiinflamasi. Bovine serum albumin (BSA) adalah salah satu protein yang sering digunakan dalam uji antiinflamasi. Dalam metode ini, larutan BSA dalam tris-buffer saline dengan pH 6,3 dicampurkan dengan larutan sampel yang telah dilarutkan dalam metanol. Campuran tersebut kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu sekitar 25°C. Setelah inkubasi, larutan dipanaskan dalam waterbath selama 5 menit pada suhu yang sama, kemudian diamkan selama 25 menit pada suhu ruang. Setelah proses ini, larutan dijelaskan menggunakan spektrofotometri UV untuk mengukur serapan. Pengukuran ini dilakukan untuk mengetahui tingkat denaturasi protein yang terjadi. Dengan menggunakan persamaan yang sesuai, dapat dihitung persentase penghambatan denaturasi protein, yang menunjukkan potensi aktivitas antiinflamasi dari sampel yang diuji. Metode ini memberikan gambaran awal tentang kemampuan suatu senyawa dalam mengurangi efek inflamasi melalui penghambatan denaturasi protein.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{abs.kontrol negatif} - \text{abs.sampel}}{\text{abs.kontrol negatif}} \times 100\%$$

Menurut penelitian William dan rekan-rekan pada tahun 2008. Senyawa yang memiliki tingkat inhibisi di atas 20% dianggap memiliki aktivitas antiinflamasi dan berpotensi untuk digunakan dalam pengembangan obat baru.

c. Tes fibrinolitik

Enzim fibrinolitik adalah enzim protease yang memiliki kemampuan untuk mendegradasi fibrin, yang merupakan komponen protein utama dalam pembekuan darah yang terbentuk dari fibrinogen melalui proses fibrinolisis yang dipicu oleh trombin. Proses fibrinolisis yang dilakukan oleh enzim ini berfungsi sebagai agen trombolitik yang dapat menguraikan pembekuan darah.

2.6 Metode Pengujian Efek Antiinflamasi

Berbagai metode digunakan dalam penelitian obat, komponen kimia, dan persiapan herbal untuk mengidentifikasi aktivitas atau potensi antiinflamasi. Teknik-teknik ini meliputi denaturasi protein, stabilitas membran eritrosit, stabilitas membran lisosomal, serta pengujian fibrinolitik dan agregasi trombolitik (Asfitri, 2020).

2.6.1 Metode Stabilisasi Membran Sel Darah

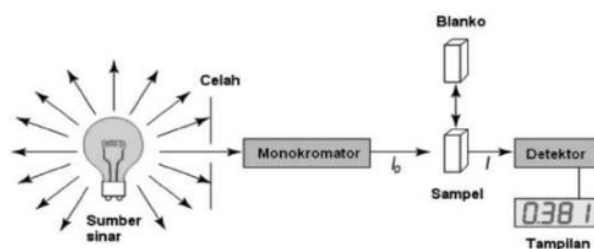
Membran sel darah merah memiliki struktur yang mirip dengan membran lisosom, sehingga bisa digunakan sebagai model untuk mengukur stabilitas membran dalam kondisi inflamasi. Ketika sel darah merah terkena larutan hipotonis dan dipanaskan, membran sel dapat rusak, yang ditandai dengan keluarnya hemoglobin ke dalam larutan. Setelah itu, senyawa yang akan diuji ditambahkan ke dalam larutan tersebut, dengan harapan senyawa ini dapat mengurangi kerusakan yang terjadi. Setelah perlakuan, hemoglobin yang terlepas dari sel darah merah diukur menggunakan spektrofotometer

pada panjang gelombang 560 nm. Semakin sedikit hemoglobin yang terlepas, semakin baik stabilitas membran sel, yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki potensi sebagai agen antiinflamasi dengan cara melindungi membran sel dari kerusakan.

2.7 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer adalah alat yang digunakan untuk mempelajari absorpsi atau pancaran radiasi elektromagnetik dengan memanfaatkan fungsi panjang gelombang. Alat ini berfungsi untuk mengukur absorban atau transmittan suatu bahan pada panjang gelombang tertentu. Spektrofotometer merupakan perpaduan antara instrumen elektronik dan optik, serta sifat-sifat kimia fisiknya. Dalam pengukuran, intensitas cahaya yang terpancar diserap oleh detector (Dayana, 2019).

Spektrofotometer yang digunakan untuk mengukur spektrum UV dan visibel adalah suatu sistem optik yang mampu menghasilkan cahaya monokromatis dengan panjang gelombang antara 200 nm hingga 800 nm. Komponen utama dari spektrofotometer UV-Vis meliputi sumber sinar, monokromator, kuvet, dan sistem optik (Gandjar, 2018). Sumber sinar berfungsi untuk menghasilkan cahaya, monokromator digunakan untuk memisahkan cahaya menjadi panjang gelombang tertentu, kuvet adalah wadah tempat sampel yang akan dianalisis, dan sistem optik mengarahkan cahaya ke detektor untuk mengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi oleh sampel.



Gambar 2. 3 Diagram Skematik Spektrofotometer Uv-Vis

Instrumen yang berperan dalam analisis kimia untuk mengetahui senyawa, baik cair maupun padat, berdasarkan serapan foton adalah spektrofotometer Ultra Violet-Visible (UV-Vis). Sebelum analisis, biasanya harus diekstraksi terlebih dahulu, misalnya dengan menambahkan reagen untuk membentuk garam kompleks. Proses ini dilakukan agar foton dapat diserap oleh sampel pada daerah UV-Vis dengan panjang gelombang foton antara 200 nm - 800 nm. Pengidentifikasian unsur dilakukan melalui senyawa kompleks yang terbentuk (Irawan, 2019). Gabungan antara prinsip spektrofotometri ultraviolet dan visibel disebut spektrofotometer ultraviolet-visibel (UV-Vis). Instrumen ini menggunakan dua sumber sinar yang berbeda, yaitu sumber UV dan sumber sinar tampak (Sembiring *et al.*). Panjang gelombang pada daerah ultraviolet berkisar antara 180 nm hingga 400 nm, sedangkan pada daerah tampak berkisar antara 400 nm hingga 800 nm (Warono & Syamsudin, 2019).

2.7.1 Prinsip Dasar

Hukum yang menjadi dasar spektrofotometri adalah "Hukum Lambert-Beer." Ketika sebagian cahaya monokromatis melewati suatu media yang transparan, penurunan intensitas cahaya yang dipancarkan

akan sebanding dengan peningkatan ketebalan dan konsentrasi media tersebut.

Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam analisis spektrofotometer UV-Vis sebagai berikut :

1. Penentuan panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang dimana terjadi serapan maksimum. Untuk memperoleh panjang gelombang serapan maksimum, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku pada konsentrasi tertentu.

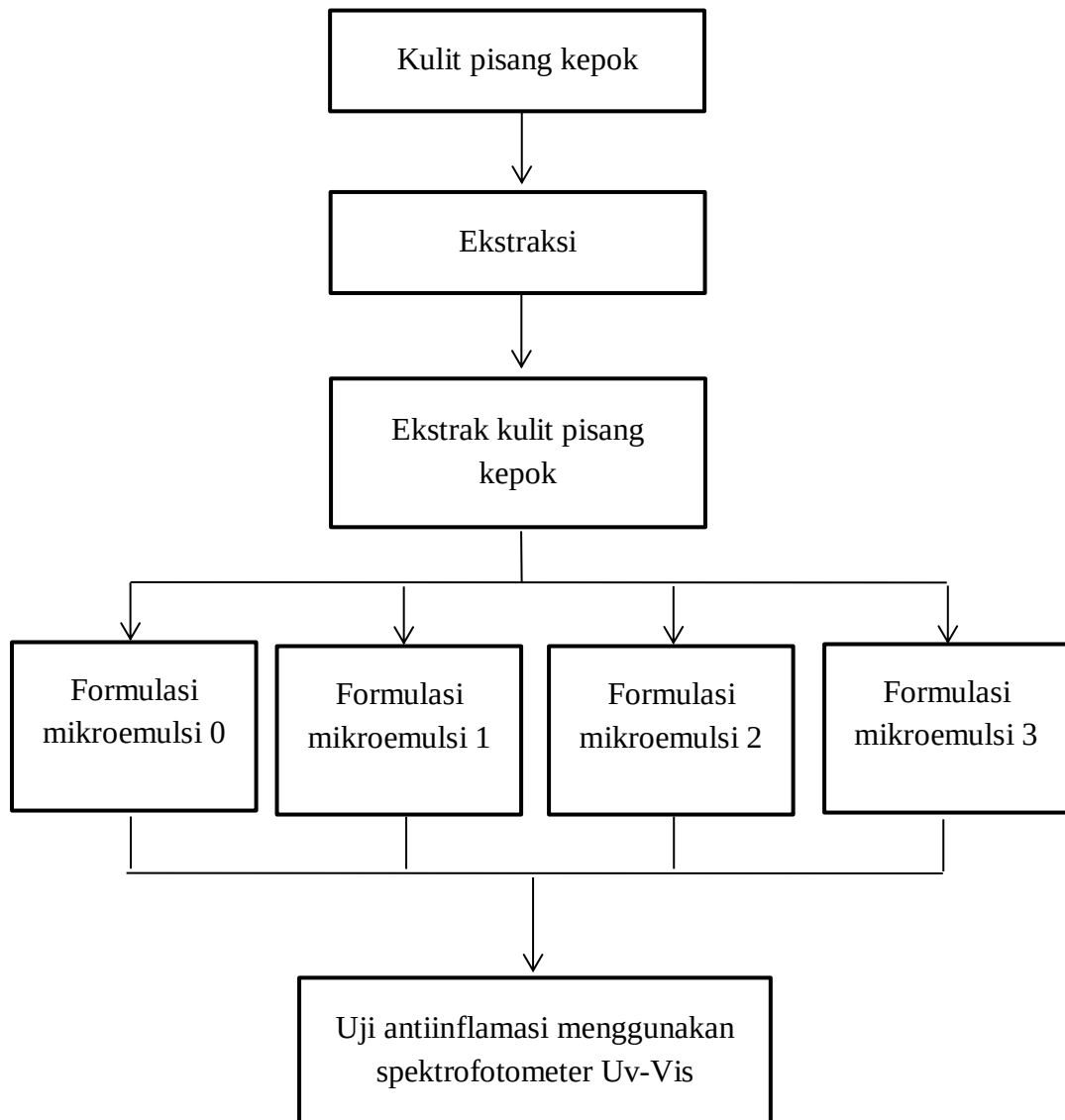
2. Pembuatan kurva kalibrasi

Dibuat seri larutan baku dari zat yang akan dianalisis dengan berbagai konsentrasi. Masing-masing absorbansi larutan dengan berbagai konsentrasi diukur, kemudian dibuat kurva yang merupakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi. Bila hukum Lambert-Beer terpenuhi maka kurva kalibrasi berupa garis lurus.

3. Pembacaan absorbansi sampel atau cuplikan

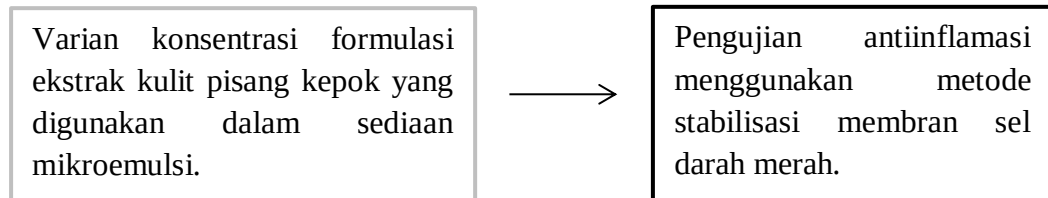
Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2-0,8. Anjuran ini berdasarkan anggapan bahwa pada kisaran nilai absorbansi tersebut kesalahan fotometrik yang terjadi adalah paling minimal.

2.8 Kerangka Teori



Gambar 2. 4 Kerangka Teori

2.9 Kerangka Konsep



Gambar 2. 5 Kerangka Konsep



Variabel bebas (independent)



Variabel terikat (dependent)

2.10 Hipotesis

- H0 : Ekstrak etanol kulit pisang kepok tidak dapat diformulasikan dalam sediaan mikroemulsi

H1 : Ekstrak etanol kulit pisang kepok dapat diformulasikan dalam sediaan mikroemulsi
- H0 : Sediaan mikroemulsi ekstrak kulit pisang kepok tidak memiliki aktivitas antiinflamasi

H1 : Sediaan mikroemulsi ekstrak kulit pisang kepok memiliki aktivitas antiinflamasi

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan untuk membentuk sediaan mikroemulsi dari ekstrak etanol kulit pisang kepok (*Musa balbisiana* Colla) dan pengujian aktivitas antiinflamasi secara *in-vitro* dengan metode stabilisasi membran sel darah merah.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi, Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Biofarmasetika Universitas Baiturrahmah Padang pada bulan Februari 2025 - Juli 2025.

3.3 Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah buah pisang kepok (*Musa balbisiana* Colla) yang diambil dari daerah Lubuk Basung, Kabupaten Agam, Provinsi Sumatera Barat. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari kulit buah pisang kepok yang diekstraksi menggunakan etanol untuk mendapatkan ekstrak yang akan digunakan dalam pembuatan mikroemulsi dan pengujian aktivitas antiinflamasi.

3.4 Teknik Pengumpulan Data

3.4.1 Alat

Corong pisah (Duran), erlenmeyer (Iwaki), labu ukur 500 ml, labu ukur 100 ml, labu ukur 50 ml, labu ukur 5 ml, botol infus 100 ml, beaker glass (Iwaki), tabung reaksi (Iwaki), gelas ukur (Iwaki), piknometer 10 ml, tube sentrifus 15 ml (Iwaki) chamber (Pyrex®), pH meter (Nesco), pipet tetes, kertas saring, mikropipet 200 µL, rotary evaporator (Eyela N-1300), Spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-2910), Sentrifus (Universal 32 R, Hettich Zentrifugen, USA), Timbangan Digital Analitik (Kern), Overhead strirrer (DLH VELP Scientifica), Viskometer Brookfield (Atago), Pisau, grinder, food dryer (getra), oven (memmert), furnace (Naberthem).

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit pisang kepok, Etanol 96% (Novalindo), aquadestillata (Mustikarya Gemilang), sel darah merah kelinci (UNAND), natrium diklofenak, tween 80 (Fortune Kimia), minyak VCO, nipasol, gliserin, metil paraben (Pharapreneur store), n-heksan p.a (Novalindo), Kuarsetin standar (Novalindo), etil asetat p.a (Novalindo), pereaksi AlCl_3 , HCl 2N, NaCl , FeCl_3 (1%), kloroform, pereaksi dragendrof, H_2SO_4 1M, serbuk Mg, HCl pekat (Novalindo), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Phy Edumedia), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Kisbiokim Medika),

3.4.3 Jenis Data

Data yang diperoleh dalam penelitian ini merupakan data primer yaitu data yang dikumpulkan secara langsung dari sumber utama melalui eksperimen.

3.4.4 Cara Kerja

3.4.4.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui identitas tanaman yang digunakan berdasarkan taksonominya. Determinasi pada tanaman kulit pisang kepok (*Musa balbisiana* Colla) dilakukan oleh tim peneliti di Herbarium Universitas Andalas, Padang.

3.4.4.2 Penyiapan Sampel

Sampel kulit pisang kapok (*Musa balbisiana* Colla) diperoleh dari daerah Lubuk Basung, Kabupaten Agam, Sumatera Barat. Sampel kulit pisang dikumpulkan pada bulan Desember 2024. Sebanyak 4 kg kulit pisang kapok basah, selanjutnya dicuci dengan air mengalir. Sampel kemudian dikeringkan dengan menggunakan oven. Selanjutnya sampel yang telah kering akan dihaluskan menggunakan grinder hingga diperoleh serbuk simplisia kering sebanyak 1,17 kg.

3.4.4.2 Ekstraksi Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana* Colla)

Serbuk kering kulit pisang kapok sebanyak 500 gram diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Kulit pisang kepok direndam dalam etanol 96% selama 5 hari, dengan pengadukan pada suhu ruangan setiap 6 jam sekali hingga tercampur rata. Setelah itu dilakukan

remaserasi, yaitu pengulangan penambahan pelarut, yang berlangsung selama 24 jam setelah penyaringan maserat pertama. Proses diakhiri dengan evaporasi untuk memperoleh ekstrak kental dari kulit pisang kepok (Mardiana & Yuniati, 2021).

- Perhitungan rendeman ekstrak

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak kental (g)}}{\text{bobot serbuk simplisia total (g)}} \times 100\%$$

3.4.4.3 Penetapan Parameter Spesifik Ekstrak

a. Organoleptis

Pemeriksaan organoleptik adalah metode yang menggunakan panca indera manusia untuk mendeskripsikan karakteristik fisik suatu bahan, seperti bentuk, bau, dan warna (Fadhila *et al.*, 2019).

3.4.4.4 Penetapan Parameter Non Spesifik Ekstrak

a. Penetapan Kadar Abu

Ditimbang 1 gram ekstrak kemudian dimasukan kedalam cawan porselin yang telah dipanaskan dan ditimbang, kemudian masukan kedalam tanur pada suhu 600°C selama 6 jam hingga menjadi abu. Cawan dikeluarkan dan dimasukan kedalam desikator hingga dingin. Ditimbang dan hitung persen kadar abu total pada sampel (Mewar, 2023).

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{(C - A)}{(B - A)} \times 100 \%$$

Keterangan :

A = Berat krus porselen

B = Berat krus porselen + sampel sebelum dipijar

C = Berat krus porselen + sampel sesudah dipijar

b. Penetapan Susut pengeringan

Penetapan susut pengeringan Ekstrak ditimbang secara seksama sebanyak 1 gram dan dimasukkan kedalam cawan yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C dan telah ditara. Sebelum ditimbang, ekstrak diratakan dalam cawan hingga merupakan lapisan setebal kurang 5 mm sampai 10 mm, kemudian dimasuka kedalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit. Sebelum setiap pengeringan, biarkan cawan mendingin dalam eksikator hingga suhu kamar. Kemudian ditimbang dan hitung persen susut pengeringan (Mewar, 2023).

$$\% \text{ susut pengeringan} = \frac{b - a}{b} \times 100 \%$$

a = Berat sampel setelah dipanaskan

b = Berat sampel sebelum dipanaskan

3.4.4.5 Identifikasi Fitokimia Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana* Colla)

a. Analisis flavonoid

Siapkan 1 ml ekstrak kulit pisang kepok. Pada sampel tersebut ditambahkan berupa serbuk Magensium sebanyak 2 mg dan diberikan 3 tetes HCl pekat. Sampel dikocok dan diamati perubahan yang terjadi, hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk warna jingga atau kuning (Lumowa & Bardin, 2018).

b. Analisis Tanin

Siapkan 1 mL ekstrak kulit pisang kepok. Tambahkan beberapa tetes larutan besi (III) klorida 1%. Amati perubahan yang terjadi jika muncul warna biru tua atau hitam kehijauan, itu menandakan adanya senyawa tannin (Lumowa & Bardin, 2018).

c. Analisis Saponin

Siapkan ekstrak kulit pisang kepok sebanyak 1 ml dan masukkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan air panas ke dalam sampel. Amati perubahan yang terjadi; Reaksi dianggap positif jika terbentuk busa (Lumowa & Bardin, 2018).

3.4.4.6 Analisis Kualitatif Flavonoid dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Fase diam yang digunakan analisis dalam ini adalah silika gel GF254, sedangkan fase gerak yang digunakan adalah campuran n-heksan p.a dan etil asetat p.a dengan perbandingan 1: 9 sebanyak 10 ml (Ratulangi dkk, 2014). Sebanyak 0,01 gram ekstrak etanol 96% dari kulit pisang kepok dan kuarsetin standar, masing-masing dilarutkan dalam 0,5 ml etanol p.a, kemudian ditotolkan pada jarak 1,5 cm dari tepi bawah lempeng KLT. Setelah itu, lempeng KLT dikeringkan dan dielusi. Bercak kromatogram yang terbentuk diamati menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm (Lestari, 2020).

3.4.4.7 Formulasi Mikroemulsi Ekstrak Kulit Pisang Kepok

Tabel 3. 1 Formula Mikroemulsi

Bahan	Fungsi	Konsentrasi dalam formula (%)			
		F0	F1	F2	F3
Ekstrak kulit pisang kepok	Zat aktif	0	3	5	7
Minyak VCO	Fase minyak & peningkat penetrasi	2,5	2,5	2,5	2,5
Tween 80	Surfaktan	36,67	36,67	36,67	36,67
Gliserin	Kosurfaktan	18,33	18,33	18,33	18,33
Nipasol	Pengawet	0,02	0,02	0,02	0,02
Metil paraben	Pengawet	0,18	0,18	0,18	0,18
Aquades ad	Pelarut	100	100	100	100

3.4.4.8 Pembuatan Mikroemulsi Ekstrak Kulit Pisang Kepok

Pembuatan mikroemulsi dilakukan dengan yang pertama ekstrak kulit pisang kepok, VCO, dan Tween 80 dicampurkan secara bersamaan. Setelah itu, Nipasol, Metil paraben, dan Gliserin ditambahkan ke dalam campuran tersebut dan diaduk hingga homogen. Selanjutnya, aquadest ditambahkan sedikit demi sedikit sambil terus diaduk hingga tercampur merata. Pembuatan mikroemulsi menggunakan *overhead stirrer* dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit. Setelah itu, sediaan di diamkan selama 24 jam sampai terbentuk mikroemulsi yang jernih dan transparan (Koriyati, 2011).

3.5 Evaluasi Sediaan Mikroemulsi Ekstrak Kulit Pisang Kepok

1. Uji organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan cara mengamati bentuk, warna, dan aroma sediaan. Pengamatan ini dilakukan secara visual dan melibatkan panca indera (Sari *et al.*, 2024).

2. Uji berat jenis

Uji berat jenis dilakukan dengan menggunakan piknometer. Pertama, timbang piknometer yang kosong menggunakan timbangan analitik. Setelah itu, isi piknometer dengan sediaan mikroemulsi hingga penuh, kemudian timbang kembali dengan timbangan analitik (perhatikan spesifikasi piknometer). Selanjutnya, hitung berat jenis sediaan menggunakan rumus:

$$\rho = \frac{m1 - m2}{V_{pikno}}$$

Keterangan : ρ = berat jenis sediaan

$M1$ = massa piknometer dengan sediaan

$M2$ = massa piknometer kosong

V_{pikno} = volumeter piknometer

3. Uji Viskositas

Uji viskositas mikroemulsi dilakukan menggunakan Viskometer Brookfield. Pertama, lepaskan cangkir sampel dari alat. Kemudian masukkan mikroemulsi ke dalam gelas sampel, pastikan sampel bebas dari gelembung dan merata di permukaan gelas. Pasang kembali sample

cup pada viskometer, nyalakan alat, dan biarkan beberapa saat hingga pembacaannya stabil. Catat nilai viskositas yang muncul di tampilan. Nilai viskositas yang diharapkan adalah di bawah 200 cps (Jamaludin *et al.*, 2025).

4. Uji pH

Uji pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan larutan standar pH 4, pH 7, dan pH 10 sebelum mengukur pH mikroemulsi. Elektroda dibilas menggunakan air setelah itu dibersihkan kemudian dimasukkan ke dalam mikroemulsi sampai terlihat angka yang muncul pada instrumen. Jika angka tersebut konstan dan tidak bergerak, maka angka tersebut dinyatakan sebagai pH mikroemulsi (Syafitri *et al.*, 2020).

5. Uji stabilitas dengan sentrifugasi

Sebanyak 2 ml sediaan mikroemulsi dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf, kemudian mikroemulsi disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 3500 rpm dan diamati adanya ketidakstabilan seperti creaming dan cracking (Syafitri *et al.*, 2020).

6. Uji stabilisasi dengan metode *Heating Stability*

Uji stabilitas dilaksanakan dengan menggunakan oven. Proses ini dilakukan pada suhu 60°C. Sampel dibiarkan dalam oven selama 5 jam, setelah selesai, dilakukan pengamatan terhadap karakteristik fisik, termasuk evaluasi organoleptis (Jamaludin *et al.*, 2025).

7. Uji ukuran partikel

Proses pengukuran ukuran partikel mikroemulsi dilakukan menggunakan alat *particle size analyzer* dengan cara memasukkan sampel ke wadah khusus pada alat, menunggu hingga layar menampilkan indikator *ready* sebagai tanda sampel siap diuji, kemudian menutup alat dan menekan tombol “run” di layar untuk memulai analisis. Hasil pengukuran akan langsung muncul setelah proses selesai, dan ukuran partikel yang ideal untuk mikroemulsi harus berada dalam rentang 0,5-10 μm (Benni *et al.*, 2021).

3.6 Uji Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Stabilisasi Membran Sel Darah Merah

3.6.1 Pembuatan Larutan yang Diperlukan

1. Pembuatan Dapar Fosfat pH 7,4 (0,15 M)

Larutan fosfat dengan pH 7,4 (0,15 M) dibuat dengan melarutkan 13,35 gram dinatrium hidrogen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) dan 4,14 gram natrium dihidrogen fosfat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) dalam aquadest hingga mencapai volume 500 ml (0,15 M) di dalam labu ukur yang terpisah. Selanjutnya, ambil 80,8 ml larutan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,15 M) dan 19,2 ml larutan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,15 M) pada suhu ruang, lalu campurkan kedua larutan tersebut dan ukur pH menggunakan pH meter. Larutan tersebut kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 2 jam (Sari *et al.*, 2024).

2. Pembuatan isosalin

Sebanyak 0,85 gram NaCl dilarutkan dalam larutan dapar fosfat dengan pH 7,4 (0,15 M) hingga mencapai volume 250 mL pada suhu ruangan. Setelah itu, larutan tersebut disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 2 jam (Sari et al., 2024).

3. Pembuatan Larutan Hiposalin

Larutan hiposalin dibuat dengan melarutkan 0,36 gram NaCl ke dalam dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M) hingga mencapai volume 100 ml dalam labu ukur. Setelah itu, larutan tersebut disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 2 jam (Sari et al., 2024).

4. Penyiapan Konsentrasi Natrium Diklofenak

Konsentrasi natrium diklofenak disiapkan dengan cara, sebanyak 50 mg Na diklofenak dilarutkan dalam 50 ml isosalin pada suhu ruang, didapatkan larutan induk 1000 ppm Kemudian larutan diencerkan menjadi konsentrasi 100 ppm.

3.6.2 Pembuatan Suspensi Sel Darah Merah

Darah yang digunakan adalah darah kelinci yang diambil secara intravena dan dimasukkan ke dalam tabung sentrifus sebanyak 10 ml. Selanjutnya darah tersebut disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit pada suhu 27°C. Supernatan yang terbentuk kemudian dipisahkan dengan menggunakan pipet steril. Endapan sel-sel darah yang dibersihkan dicuci dengan larutan isosalin dan disentrifugasi kembali. Proses ini diulang sekitar 4 kali atau hingga supernatan menjadi jernih. Setelah itu dibuat

suspensi sel darah merah dengan konsentrasi 10% v/v dengan mencampurkan 2 ml sel darah merah dengan 18 ml larutan isosalin. Suspensi sel darah tersebut disimpan pada suhu 4°C jika belum digunakan.

3.7 Pengujian Aktivitas Mikroemulsi Ekstrak Kulit Pisang (*Musa balbisiana* Colla) terhadap Stabilisasi Membran Sel Darah Merah

Larutan – larutan yang digunakan dalam uji aktivitas ekstrak kulit pisang kepok (*Musa balbisiana colla*) terhadap stabilisasi membran sel darah merah sebagai berikut :

1. Pembuatan Larutan Uji

Larutan uji dibuat dengan mencampurkan 1 ml larutan dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M), 0,5 ml suspensi sel darah merah, 1 ml larutan sampel dan 2 ml larutan hiposalin (Vinkasari *et al.*, 2023).

2. Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Larutan kontrol positif terdiri dari 1 mL dapar fosfat pH 7,4 (0,15 M), 0,5 mL suspensi sel darah merah, 1 mL larutan natrium diklofenak, dan 2 mL hiposalin (Vinkasari *et al.*, 2023).

3. Pembuatan Larutan Kontrol Sampel

Larutan kontrol untuk larutan uji terdiri dari 1 mL dapar fosfat dengan pH 7,4 (0,15 M), 0,5 mL larutan isosalin sebagai pengganti suspensi sel darah merah, 1 mL larutan sampel, dan 2 mL larutan hiposalin (Vinkasari *et al.*, 2023).

4. Pembuatan Larutan Kontrol Negatif

Larutan kontrol negatif terdiri dari 1 mL buffer fosfat dengan pH 7,4 (0,15 M), 0,5 mL suspensi sel darah merah, 1 mL larutan isosalin sebagai pengganti larutan sampel, dan 2 mL larutan hiposalin (Vinkasari *et al.*, 2023).

Setiap larutan di atas diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Cairan supernatan yang dihasilkan diambil, dan kandungan hemoglobinnya diukur menggunakan spektrofotometer UV/Vis pada panjang gelombang 560 nm. Selanjutnya, persentase stabilitas membran sel darah merah dihitung menggunakan rumus berikut :

$$\% \text{ stabilitas} = 100 - \left[\frac{\text{Abs. larutan uji} - \text{Abs. larutan kontrol uji}}{\text{Abs. larutan kontrol negatif}} \right] \times 100 \%$$

3.8 Analisis Data

Dalam penelitian ini, data yang diperoleh terdiri dari data kategorik dan numerik yang bersifat objektif. Konsentrasi yang diuji bervariasi (lebih dari satu), sehingga digunakan Analisis Statistik (ANOVA). Jenis ANOVA yang diterapkan dalam penelitian ini adalah ANOVA satu arah, karena variabel bebas dan keterikatan yang dijelaskan tidak lebih dari satu. Variabel bebasnya adalah konsentrasi sediaan uji, sedangkan variabel terikatnya adalah persentase stabilitas membran sel darah merah. Hasil uji ANOVA akan dianggap berbeda secara signifikan jika diperoleh nilai statistik ($P < 0,05$) (Asfitri, 2020).

Analisis data dilanjutkan dengan Uji Lanjut menggunakan Duncan New Multiple Range Test yang dilakukan melalui software statistik SPSS 23.0 for Windows Evaluation. Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara hasil dari setiap konsentrasi (Asfitri, 2020).

3.9 Etika Penelitian

Etika penelitian eksperimen adalah aturan atau prinsip yang harus dilaksanakan dalam pelaksanaan eksperimen. Uji etik pada penelitian ini akan dilaksanakan melalui Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Baiturrahmah. Peneliti akan menjelaskan secara rinci dan terarah mengenai isi dan tujuan penelitian. Peneliti juga akan mematuhi protokol kesehatan sesuai standar biaya penelitian sepenuhnya akan ditanggung oleh peneliti.

3.10 Definisi Operasional

Tabel 3. 2 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara ukur	Alat yang digunakan	Skala
Variebel Bebas				
Ekstrak kulit pisang kepok	Ekstrak yang didapat dari melakukan ekstraksi meserasi dari simplisia kulit pisang kepok menggunakan pelarut etanol 96%	Pengukuran sesuai dengan konsentrasi yang dibutuhkan yaitu konsentrasi 3%, 5% dan 7%	Seperangkat alat meserasi, seperangkat pompa vakum, rotary evaporator, grinder timbangan analitik dan oven	Numerik

Variabel Terikat				
Metode stabilisasi membran	Suatu metode yang digunakan untuk menentukan ada atau tidaknya aktivitas antiinflamasi	Memperhatikan hasil dari absorbansinya	Spektrofotometer Uv-vis	Numerik