

FORMULASI DAN PENGUJIAN STABILITAS SEDIAAN MIKROEMULSI EKSTRAK ETANOL KULIT NANAS (*Ananas comosus* L.) DALAM MENGHAMBAT BAKTERI *Staphylococcus epidermidis*

Leny¹, Benni Iskandar^{2,3}, Ali Affan Silalahi¹

¹ Farmasi, Fakultas Farmasi dan Kesehatan, Institut Kesehatan Helvetia, Medan, Indonesia, 20124

² Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau, Pekanbaru, Indonesia, 28293

³ School of Pharmacy, Taipei Medical University, Taiwan, 11031

ABSTRAK

Kulit nanas memiliki berbagai senyawa seperti bromelain, alkaloid, saponin dan flavonoid yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah untuk memanfaatkan limbah kulit nanas dan memformulasikan ke dalam sediaan mikroemulsi yang kemudian dilihat daya hambatnya terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Ekstrak kulit nanas diperoleh dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator. Ekstrak kulit nanas diskrining fitokimia kemudian diformulasikan ke dalam bentuk sediaan mikroemulsi dengan variasi konsentrasi 0% (F0), 10% (F1), 15% (F2), dan 20% (F3). Sediaan mikroemulsi ekstrak kulit nanas kemudian diuji stabilitasnya dengan metode cycling test. Evaluasi selama pengujian stabilitas diantaranya adalah uji homogenitas, uji tipe emulsi, uji ukuran partikel, uji organoleptik, uji pH, dan uji daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Berdasarkan hasil uji stabilitas selama 6 siklus, semua sediaan mikroemulsi mempunyai hasil yang homogen dengan tipe emulsi M/A (minyak dalam air), ukuran partikel berkisar antara 0,63373-1,21301 μm . Sediaan mikroemulsi jernih dengan bau khas dan berwarna kekuningan hingga coklat. Sebelum dan sesudah uji stabilitas, sediaan mikroemulsi memenuhi persyaratan uji pH yaitu dengan nilai pH antara 5,3-6,8. Sediaan mikroemulsi yang mengandung 20% ekstrak kulit nanas mempunyai daya hambat terbaik yaitu sebesar 5,58mm (daya hambat sedang)

Kata Kunci :

Mikroemulsi, ekstrak kulit nanas, antibakteri, *Staphylococcus epidermidis*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi telah menyebabkan kematian sebesar 13 juta orang di seluruh dunia setiap tahun, terutama di negara-negara yang sedang berkembang seperti Indonesia. Pemakaian antibakteri merupakan keharusan dalam penanganan penyakit infeksi. Dalam beberapa tahun terakhir terdapat peningkatan angka resistensi terhadap antibiotika. Terdapat sejumlah laporan bahwa bakteri Gram positif dan Gram negatif telah resisten terhadap antibiotika yang kerap kali digunakan. Beberapa bakteri yang dimaksud adalah *Salmonella typhi*, *Bacillus licheniformis*, *Acinetobacter calcoaceticus* dan *Staphylococcus epidermidis* [1].

Limbah kulit nanas banyak dihasilkan dari industri buah nanas, umumnya limbah nanas yang berupa batang, kulit, daun dan bonggol belum dimanfaatkan secara optimal [2]. Kulit nanas memiliki berbagai kandungan senyawa kimia seperti bromelain, tanin, saponin dan flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Banyak masyarakat yang mengabaikan keberadaan kulit buah nanas, sehingga bagian nanas ini sering sekali menjadi limbah yang belum dimanfaatkan dengan maksimal. Kulit nanas mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan steroid [3,4]. Ekstrak kulit nanas aktif terhadap beberapa bakteri gram positif, seperti *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Propionibacterium acnes*, *Streptococcus mutans*,

dan *Streptococcus sanguis*. Daya hambat pertumbuhan bakteri yang lebih tinggi ditunjukkan pada bakteri *Enterococcus faecalis* pada konsentrasi ekstrak kulit nanas 12,5% [5]. Pada penelitian Wiharningtias 2016, konsentrasi hambat minimum ekstrak kulit nanas terhadap *Staphylococcus aureus* ialah pada konsentrasi 1,56% [6]. Ekstrak kulit nanas berpotensi untuk dikembangkan menjadi bentuk sediaan farmasi topikal seperti gel, krim dan bentuk lainnya. Namun kekurangan dari bentuk sediaan topikal seperti salep maupun krim, diperlukan adanya pengaplikasian yang semakin meningkatkan kontak antara tangan dengan area yang diobati dimana pada infeksi kulit hendaklah dijaga agar tidak banyak sentuhan sehingga vesikel tidak pecah dan memperparah kondisi kulit [7]. Mikroemulsi yang diformulasikan dalam wadah semprotan akan menjadi substitusi dari bentuk sediaan yang telah beredar sebelumnya.

Mikroemulsi bentuk sediaan yang dikembangkan dari sediaan emulsi, dimana sistem dispersi terdiri dari air, minyak dan senyawa ampifil (surfaktan dan kosurfaktan). Mikroemulsi cenderung stabil secara termodinamik, berwarna transparan, dan mempunyai viskositas rendah. Rata-rata ukuran partikel mikroemulsi berada pada rentang 0,1-1,0 μm [8]. Mikroemulsi mempunyai tingkat solubilisasi yang tinggi sehingga dapat meningkatkan bioavailabilitas obat tersebut dalam tubuh. Formulasi dari mikroemulsi dapat digunakan untuk pelepasan terkontrol dari zat

Masuk 09-09-2021

Revisi 08-10-2021

Diterima 23-12-2021

DOI: 10.20956/mff.v25i3.17911

Korespondensi

Benni Iskandar

benniiskandar@stifar-riau.ac.id

Copyright

© 2021 Majalah Farmasi Farmakologi Fakultas Farmasi Makassar

Diterbitkan tanggal 30 Desember 2021

Dapat Diakses Daring Pada:

<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



aktif dan dapat melindungi zat aktif terlarut dari degradasi yang tidak diinginkan [9]. Mikroemulsi merupakan sistem yang stabil guna meningkatkan kelarutan dan penetrasi obat [10]. Perbedaan antara emulsi konvensional dan mikroemulsi adalah ukuran tetesan dari zat terlarutnya. Emulsi konvensional memiliki ukuran tetesan sekitar 100-100.000 nm dan terlihat lebih keruh. Sedangkan mikroemulsi memiliki ukuran tetesan dari zat terlarut 10-100nm sehingga terlihat lebih jernih atau transparan [9].

Dengan pemanfaatan metode mikroemulsi, akan memudahkan tingkat kelarutan zat dan memudahkan tubuh untuk melakukan proses penyerapan agar zat terlarut sempurna dalam tubuh. Sistem mikroemulsi memiliki stabilitas yang baik dalam waktu penyimpanan selama kurun waktu yang cukup lama. Dalam bidang farmasi, mikroemulsi sudah banyak digunakan dan terbukti sangat membantu dalam proses penerimaan obat bagi tubuh [8]. Untuk mendapatkan hasil yang optimal dari ekstrak kulit buah nanas maka diformulasikan ke dalam sediaan mikroemulsi dimana penggunaan sediaan ini cukup dengan menyempatkan pada area kulit untuk menghambat aktivitas bakteri.

Pengujian mutu dan stabilitas fisik sangat penting untuk suatu formulasi, pengujian dan karakteristik mutu serta stabilitas pada sediaan mikroemulsi dilakukan dengan melakukan uji karakteristik mikroemulsi dengan menggunakan PSA (Particle Size Analyzer). PSA (Particle Size Analyzer) merupakan alat yang digunakan untuk mengukur ukuran dan distribusi ukuran partikel dan molekul yang terdispersi atau terlarut di dalam sebuah larutan, contohnya antara lain protein, polimer, misel, nanopartikel, dispersi koloid, emulsi dan mikroemulsi [11].

Staphylococcus epidermidis merupakan bakteri gram-positif yang umumnya terdapat pada permukaan kulit manusia, namun pada kondisi tertentu dapat berubah menjadi patogen oportunistik sehingga dapat menyerang sistem kekebalan tubuh manusia. Bakteri ini menjadi salah satu agen infeksi yang paling sering terjadi pada lingkungan rumah sakit [12].

Penelitian ini bertujuan untuk memformulasi sediaan mikroemulsi ekstrak etanol dari kulit nanas yang memiliki mutu fisik dan stabilitas sediaan yang baik melalui uji homogenitas, tipe emulsi, ukuran partikel, organoleptik dan uji pH. Serta memenuhi kriteria sebagai antibakteri dengan uji aktivitas antibakteri pada Staphylococcus epidermidis.

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah, timbangan digital (Shimadzu Uni Bloe, Japan), gelas ukur 100 ml (Pyrex), Erlenmeyer 500 ml (Pyrex), Particle Size Analyzer (PSA Shimadzu, Japan), aluminium foil, laminar air flow (MinihelixII, Indonesia), cawan petri, pipet tetes, hotplate, magnetic stirrer, mikropipet 10 ml, jarum ose, autoklaf, inkubator, bunsen, tabung reaksi, pH meter (Hanna Instrument, Indonesia), oven (Memmert UN 55 Digital, Germany), jangka sorong, kertas saring whatman, gelas ukur 100 ml (pyrex), kapas, plastic wrap, blue-tips.

Bahan yang digunakan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah, kulit nanas (*Ananas comosus* L.), media Nutrient Agar, etanol 96%, PEG 400 (bratachem), Tween 80, metilen blue, olive oil (bratachem), nipagin dan aquadest, pereaksi mayer, pereaksi Bouchardat, pereaksi Dragendorff, HCl pekat, magnesium, amil alcohol (bratachem), n-heksan, pereaksi Liebermann-Burchard, NaCl (bratachem).

Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Nanas (*Ananas comosus* L.)

Untuk membuat ekstrak kulit nanas dilakukan pembuatan simplisia kulit nanas (*Ananas comosus* L.) terlebih dahulu. Sebanyak 5 kg simplisia kulit nanas dicuci lalu dipotong kecil-kecil dan dikeringkan menggunakan oven selama \pm 5 jam pada suhu 30-37°C. Etanol 96% digunakan sebagai pelarut dalam ekstraksi simplisia kulit nanas. Metode ekstraksi yang digunakan adalah secara maserasi. Setelah diekstraksi, kertas saring digunakan untuk filtrasi agar dapat mengumpulkan filtrat ekstrak kulit nanas. Rotary vacuum evaporator digunakan dengan suhu 30-40°C untuk mengevaporasi filtrat, digunakan suhu rendah digunakan agar tidak merusak senyawa aktif hingga diperoleh ekstrak pekat. Proses evaporasi dihentikan sampai pelarut habis yang ditandai dengan tidak adanya tetesan pelarut pada labu pelarut [13].

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia terhadap ekstrak kulit nanas meliputi pemeriksaan senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, tanin dan steroid [13].

Pemeriksaan Alkaloid

Ekstrak kulit nanas ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian ditambahkan 1 ml HCl dan 9 ml aquadest dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit, didinginkan lalu disaring. Filtrat dipakai untuk percobaan berikut:

1. Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi mayer, hasil positif jika menghasilkan endapan putih atau kuning.
2. Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat, hasil positif ditunjukkan dengan adanya endapan merah bata.
3. Diambil 3 tetes filtrat, lalu ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff, hasil positif jika menghasilkan endapan merah bata [13].

Pemeriksaan Flavonoid

Sebanyak 1,0 g ekstrak kulit nanas ditambahkan dengan 10 ml aquadest panas. Campuran kemudian dididihkan selama lebih kurang 5 menit, kemudian disaring ketika panas. Sebanyak 5 ml filtrat yang ditambahkan 0,1 g serbuk Mg, 1 mL HCl pekat dan 2 ml amil alkohol lalu dikocok dan di biarkan memisah. Flavonoid positif jika terjadi warna merah, kuning dan jingga pada pemisahan amil alkohol [14].

Pemeriksaan Tanin

Sebanyak 0,5 g ekstrak kulit nanas ditambahkan dengan menggunakan 10 ml aquadest. Kemudian filtrat yang diperoleh diencerkan dengan aquadest sampai tidak berwarna. Hasil pengenceran ini diambil sebanyak 2ml kemudian ditambahkan dengan 1-2 tetes besi (III) klorida. Hasil menunjukkan adanya tanin jika terjadi warna biru atau kehitaman [13].

Pemeriksaan Saponin

Sebanyak 0,5 g ekstrak kulit nanas dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ml air suling panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama saat panas selama 10 detik, terbentuk buih atau busa yang selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm. Pada penambahan 1 tetes larutan HCl 2 N. Hasil menunjukkan adanya saponin jika buih tidak hilang [15].

Pemeriksaan Steroid

Sebanyak 1,0 g ekstrak kulit nanas dimaserasi dengan 20 ml n-heksan selama 2 jam, lalu disaring, kemudian diuapkan dengan cawan penguap. Pada sisa ditambahkan 2 tetes

pereaksi Liebermann-Burchard. Jika terbentuk warna ungu atau kemudian berubah menjadi hijau biru, maka menunjukkan adanya steroid [16].

Pembuatan Basis Mikroemulsi

Prosedur pembuatan mikroemulsi dilakukan dengan beberapa tahap. Nipagin dilarutkan dengan aquadest pada suhu 70°C. Tween 80 dan PEG 400 dicampurkan dengan menggunakan magnetic stirrer pada kecepatan 5000 rpm. Kemudian larutan nipagin dicampurkan ke dalam campuran tween 80 dan PEG 400. Kemudian olive oil ditambahkan sedikit demi sedikit. Seluruh campuran dihomogenkan pada kecepatan yang sama selama 3 jam dengan menggunakan magnetic stirrer hingga didapatkan campuran yang homogen, jernih atau transparan [17].

Pembuatan Sediaan Mikroemulsi Dengan Ekstrak

Prosedur pembuatan sediaan mikroemulsi dengan ekstrak adalah dilarutkan nipagin dengan aquadest panas kemudian ditunggu hingga dingin. Dilarutkan ekstrak sesuai dengan konsentrasinya F1 10%, F2 15% dan F3 20% ke dalam larutan nipagin dengan pengadukan kecepatan rendah menggunakan magnetic stirrer (campuran I). Dicampurkan tween 80 dan PEG 400 dengan menggunakan magnetic stirrer pada kecepatan 5000 rpm (campuran II). Dimasukkan campuran I ke dalam campuran II dan ditambahkan olive oil sedikit demi sedikit ke dalamnya. Dihomogenkan campuran tersebut pada kecepatan 5000 rpm selama 4 jam hingga terbentuk mikroemulsi yang jernih dan transparan kemudian dilanjutkan dengan disonikasi selama 30 menit [18]. Formula mikroemulsi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Formula rancangan mikroemulsi ekstrak kulit nanas

No	Bahan	Konsentrasi Formula (b/v)			
		F0	F1	F2	F3
1	Ekstrak kulit nanas	-	10	15	20
2	Olive oil	5	5	5	5
3	Tween 80	30	30	30	30
4	Nipagin	0,1	0,1	0,1	0,1
5	PEG 400	25	25	25	25
6	Aquadest ad	100	100	100	100

Evaluasi Karakteristik Fisik Mikroemulsi Ekstrak Kulit Nanas

Setelah sediaan mikroemulsi ekstrak kulit nanas berhasil dihasilkan, maka dilanjutkan dengan pengamatan terhadap karakteristik sediaan yang meliputi uji homogenitas, uji tipe emulsi, uji ukuran partikel, uji organoleptik, uji pH, dan dilakukan pengujian stabilitas cycling test dengan semua parameter di atas.

Uji Homogenitas

Pengujian ini dilakukan dengan mengambil 1 ml sediaan mikroemulsi dan diteteskan pada sebuah kaca transparan. Kemudian ditutup dengan kaca transparan lainnya dan diamati apakah terdapat partikel kasar atau susunan yang tidak homogen [19].

Uji Penentuan Tipe Emulsi

Pengujian dilakukan dengan mencampurkan 1 ml sediaan mikroemulsi dengan 0,5 ml metilen biru di permukaan kaca arloji kemudian diaduk. Jika terdapat warna biru merata pada seluruh bagian, maka merupakan minyak dalam air dan sebaliknya jika terbentuk bintik-bintik berwarna biru maka emulsi merupakan tipe air dalam minyak [20].

Uji Ukuran Partikel

Pengujian dilakukan dengan melarutkan 1 ml sediaan mikroemulsi dengan 100 ml aquadest di dalam labu ukur,

dari larutan tersebut diambil sebanyak 10 ml lalu dimasukkan ke dalam kuvet. Kemudian dimasukkan kuvet yang berisi sampel ke dalam sample holder. Setelah alat dinyalakan, dipilih menu particle size. Pengukuran dilakukan selama 15 menit, setelah selesai akan dihasilkan ukuran partikel dan kurva distribusi. Interpretasi dari hasil pengukuran akan disertai dengan jumlah atau volume dari ukuran-ukuran partikel [21].

Uji pengamatan Organoleptik

Pengujian dilakukan dengan pengamatan terhadap kejernihan, bau dan warna dari sediaan mikroemulsi. Pengamatan sediaan dilakukan pada saat sebelum dan sesudah uji cycling test.

Uji pH

Penentuan pH dilakukan dengan terlebih dahulu mengkalibrasi pH meter dengan larutan dapar pH netral (7,01) dan larutan dapar asam pH (4,01) hingga alat menunjukkan nilai pH tersebut. Kemudian dicuci dengan air suling dan dikeringkan dengan tisu. Sampel dibuat dalam larutan konsentrasi 1% diukur nilai pH dengan dicelupkan elektroda ke dalam larutan tersebut. Dibiarkan hingga pH konstan dan pengujian dilakukan sebanyak 3x pengulangan dan dirata-ratakan [21]. Pengujian dilakukan sebelum dan sesudah uji cycling test.

Uji Cycling Test

Pada pengujian ini, semua sediaan mikroemulsi disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam, lalu sediaan dipindahkan pada suhu 40°C selama 24 jam. Setelah penyimpanan 48 jam, ini dikatakan sebagai pengujian 1 siklus. Pengujian ini terus dilakukan sebanyak 6 siklus (12 hari) dengan mengamati perubahan pada kejernihan, bau, dan warna, serta pemisahan fase pada sediaan mikroemulsi [22].

Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus epidermidis*

Pembuatan Alat dan Sterilisasi

Pengujian aktivitas antibakteri sediaan mikroemulsi ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dilakukan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan 5 perlakuan. Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini disterilkan terlebih dahulu. Kawat ose dan pinset dibakar menggunakan api bunsen, beaker glass, gelas ukur, erlenmeyer dan karet pipet disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit setelah dibungkus. Alat-alat seperti batang pengaduk, pinset, spatula dan gelas arloji yang sudah dibungkus dimasukkan dalam oven selama ± 2 jam dengan suhu 160-170°C [23].

Pembuatan Media Nutrient Agar

Sebanyak 1 g serbuk media nutrient agar dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer, lalu ditambahkan aquadest sebanyak 50 ml. Setelah itu dipanaskan menggunakan hotplate sambil diaduk hingga tercampur. Setelah tercampur, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit [24].

Peremajaan Bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Sebelum uji dilakukan, bakteri *Staphylococcus epidermidis* harus dilakukan proses peremajaan terlebih dahulu, dengan cara NaCl 0,9% diambil sebanyak 10 ml kemudian dituangkan ke dalam tabung steril dan dimasukkan 2 kawat ose bakteri *Staphylococcus epidermidis* lalu ditutup dengan kapas dan plastic wrap. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam [25].

Pembuatan Media Uji Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus epidermidis*

Pembuatan media uji dilakukan dengan diambil bakteri yang sudah diremajakan dengan mikropipet, selanjutnya media NA dituangkan ke dalam cawan petri, lalu dibiarkan hingga memadat. Kemudian dibuat sumuran berdiameter ± 6 mm menggunakan alat blue-tips, sumuran dibuat tegak lurus dengan kedalaman 0,1 g dengan permukaan media. Lalu dimasukkan suspensi bakteri sediaan mikroemulsi ekstrak kulit nanas pada setiap sumuran dan diberikan tanda. Hal yang sama juga dilakukan untuk kontrol positif yaitu sediaan Saniter (mengandung alkohol 70%) diteteskan 100 μ l ke dalam sumuran. Selanjutnya cawan petri dimasukkan kedalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati zona hambat yang terbentuk serta diinterpretasikan dengan melihat daerah bening disekitar sumuran, lalu dihitung diameter zona hambat dan daya hambat antibakteri dapat ditentukan dengan mengukur zona inhibisi disekitar lubang sumuran menggunakan jangka sorong secara vertikal dan horizontal kemudian dirata-ratakan dan dikurangi diameter sumuran [26] dan hasil dianalisa dengan menggunakan SPSS dengan uji Post Hoc Test Multi Comparison Tukey untuk melihat perbedaan signifikansi antar kelompok.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel kulit nanas seberat 3 kg, menghasilkan serbuk simplisia seberat 400 g dan diperoleh ekstrak kental 36 g. Hasil skrining menunjukkan bahwa kulit nanas (*Ananas comosus* L.) mengandung senyawa alkaloid. Hal ini ditunjukkan saat ditambahkan pereaksi Dragendorff, terdapat endapan merah jingga, dan pada pengujian dengan pereaksi Mayer menghasilkan endapan putih [14].

Pada pengujian senyawa flavonoid diketahui bahwa ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L.) juga mengandung senyawa flavonoid karena pada penambahan HCl pekat menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah jingga. Warna merah yang dihasilkan adanya flavonoid dari reduksi oleh asam klorida pekat dan magnesium [14]. Pada pengujian tanin ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L.) tidak mengandung tanin, karena tidak terjadi perubahan warna pada saat penambahan larutan FeCl₃ yaitu warna hijau kehitaman [14]. Pengujian saponin ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L.) mengandung saponin karena terbentuknya buih setelah pengocokan [14]. Pengujian steroid diketahui bahwa ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L.) mengandung steroid yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau kebiruan [16].

Hasil pemeriksaan uji homogenitas semua kelompok sediaan mikroemulsi tidak memperlihatkan adanya butiran kasar saat diteteskan pada kaca transparan yang ditutup dengan kaca lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan mikroemulsi memiliki susunan yang homogen [27]. Hasil penentuan tipe emulsi sediaan mikroemulsi ekstrak kulit nanas menunjukkan bahwa semua sediaan memiliki tipe emulsi minyak dalam air (m/a). Hal ini dapat dilihat dari zat warna metilen biru yang larut dan berdifusi merata keseluruh bagian sediaan juga pada metode pengenceran dapat dilihat semua sediaan terdispersi ke dalam air [28]. Hal ini juga dapat disebabkan karena sebagian besar dari komponen yang terdapat di dalam formula bersifat hidrofilik seperti tween 80 dan PEG 400 sehingga cenderung membentuk emulsi minyak dalam air (O/W) [29].

Pada pengujian ukuran partikel yang dapat dilihat pada Tabel 2 menyatakan bahwa berturut ukuran partikel sediaan F0, F1, F2 dan F3 yaitu 0.63373 μ m, 0.4978 μ m, 0.05480 μ m dan 1.21301 μ m. Mikroemulsi yang mengandung ekstrak menunjukkan ukuran partikel yang lebih besar. Karena semakin banyak ekstrak yang ditambahkan, akan membuat sediaan semakin terkonsentrasi/ pekat dan ukuran akan

meningkat dengan bahan tambahan yang tidak dalam bentuk ukuran mikro partikel [18].

Tabel 2. Hasil pengujian ukuran partikel

Sediaan	Ukuran partikel [μ m]
F0	0,63373
F1	0,04978
F2	0,05480
F3	1,21301

Keterangan:

F0: Blanko (mikroemulsi tanpa ekstrak kulit nanas)

F1: Mikroemulsi dengan ekstrak kulit nanas 10%

F2: Mikroemulsi dengan ekstrak kulit nanas 15%

F3: Mikroemulsi dengan ekstrak kulit nanas 20%

Sediaan mikroemulsi ekstrak kulit nanas pada F0 menunjukkan warna kuning jernih dan transparan, F1 dan F2 menunjukkan warna coklat muda dan transparan, sedangkan F3 menunjukkan warna coklat tua dan transparan. Hasil dapat dilihat pada Gambar 1. Semakin tinggi konsentrasi maka semakin pekat warna yang dihasilkan pada setiap formula. Sediaan F0 tidak berbau, dimana sediaan F1 hingga F3 mempunyai bau khas ekstrak. Tegangan antarmuka antara fase minyak dan fase air pada mikroemulsi dapat dikurangi dengan penambahan surfaktan (tween 80) dan kosurfaktan (PEG 400) sehingga menghasilkan tetesan-tetesan kecil yang seragam dan melindungi tetesan-tetesan tersebut untuk tidak menyatu lagi selama proses pembuatan (pengumpulan partikel) dengan membentuk lapisan terasorpsi pada tetesan tersebut [30]. Olive oil merupakan minyak yang mengandung asam lemak rantai panjang, dimana olive oil merupakan minyak yang mengandung lesitin sehingga dapat berfungsi sebagai zat pengemulsi (emulgator) dan membantu terbentuknya mikroemulsi [30].



Gambar 1. Mikroemulsi blanko dan mikroemulsi dengan ekstrak kulit nanas 10%, 15%, dan 20%

Nilai pH sebelum dan sesudah pengujian cycling test dapat dilihat pada Tabel 3. Rentang pH sediaan mikroemulsi yang mengandung ekstrak berada pada range 5,3-5,7. Sesudah dilakukannya uji cycling test, terjadi sedikit penurunan pH yang diduga disebabkan oleh pengaruh CO₂ pada sediaan, dimana CO₂ dari udara akan bereaksi dengan fase air dari mikroemulsi sehingga akan membentuk asam. Selain itu penurunan pH juga disebabkan karena hidrolisis tween 80 dalam sediaan yang melepaskan asam lemak sorbitan monooleat [31]. Namun nilai pH mikroemulsi yang mengandung ekstrak kulit nanas masih berada dalam kisaran pH kulit yaitu antara 4,5-6,5, sehingga sediaan ini tergolong dalam kategori yang aman jika diaplikasikan pada kulit [32].

Tabel 3. Hasil Pengujian pH sebelum dan sesudah uji cycling test

Sediaan	pH sebelum cycling test	pH sesudah cycling test
F0	6,8	6,8
F1	5,7	5,6
F2	5,6	5,4
F3	5,4	5,3

Evaluasi kestabilan dilakukan dengan menggunakan metode cycling test. Dalam evaluasi mikroemulsi ada beberapa

parameter yang dilihat yaitu suatu perubahan dalam bentuk, warna, dan bau serta pemisahan fase pada sediaan [22, 33]. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa sediaan blanko (F0), F1, F2 dan F3 tidak mengalami perubahan bau, warna, kejernihan, pemisahan fase pada saat sesudah pengujian cycling test. Ketiga mikroemulsi masih memiliki kejernihan, berwarna coklat muda dan coklat tua, beraroma khas dan tidak mengalami pemisahan fase. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan mikroemulsi stabil secara fisik baik sebelum dan sesudah cycling test. Pengujian organoleptik sebelum dan uji cycling test dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Pengujian organoleptik sebelum dan sesudah uji cycling test

Pengamatan	Sebelum cycling test				Sesudah cycling test			
	F0	F1	F2	F3	F0	F1	F2	F3
Kejernihan Bau	Jernih Tidak berbau	Jernih Khas	Jernih Khas	Jernih Khas	Jernih Tidak berbau	Jernih Khas	Jernih Khas	Jernih Khas
Warna	Kuning jernih	Coklat muda	Coklat muda	Coklat tua	Kuning jernih	Coklat muda	Coklat muda	Coklat tua
Pemisahan fase	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada

Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak kulit nanas pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* menggunakan metode difusi. Berpotensi sebagai antibakteri yang ditandai dengan terbentuknya zona hambatan (daerah bening) di sekitar sumur. Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 5. Diameter zona hambat diukur dalam satuan mm (milimeter) menggunakan jangka sorong, pengukuran dilakukan secara vertikal dan horizontal. Hasil yang didapat secara vertikal dan horizontal dijumlahkan kemudian dibagi dua, selanjutnya dikurangi 6 mm diameter sumuran karena pada sumuran tidak memiliki bakteri. Hasil pengukuran zona hambat kemudian dianalisis dengan menggunakan SPSS dan dilanjutkan dengan uji Post Hoc Test Multi Comparison Tukey untuk melihat perbedaan signifikansi antar kelompok dengan tingkat kepercayaan 95%. Adanya perbedaan ditunjukkan apabila hasil variabel bebas $p < 0,05$. Analisis statistik menunjukkan semua kelompok berbeda secara signifikan dalam menghambat bakteri yaitu pada $p < 0,05$ kecuali antara formula konsentrasi 10% terhadap formula 15% ekstrak kulit nanas yang mempunyai signifikansi 0,996 ($p > 0,05$).

Tabel 5. Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Nanas

Sediaan	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata (mm)
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>			
	I	II	III	
F0	0	0	0	0
F1	3,2	3,05	3,6	3,28
F2	3,05	3,8	3,65	3,45
F3	4,25	6,15	6,35	5,58
K+	13	13	13	13

Keterangan:

F0: Blanko (mikroemulsi tanpa ekstrak kulit nanas)

F1: Mikroemulsi dengan ekstrak kulit nanas 10%

F2: Mikroemulsi dengan ekstrak kulit nanas 15%

F3: Mikroemulsi dengan ekstrak kulit nanas 20%

K+: Saniter® spray

Hasil pengujian aktivitas antibakteri *Staphylococcus epidermidis* F1 dengan konsentrasi 10% didapatkan zona hambat rata-rata 3,28 mm yang dikategorikan lemah, F2 pada konsentrasi 15% didapatkan zona hambat rata-rata 3,45 mm yang dikategorikan lemah, F3 pada konsentrasi 20% didapatkan zona hambat rata-rata 5,58 mm yang dikategorikan sedang. Pada K+/ kontrol positif didapatkan zona hambat rata-rata 13 mm dikategorikan kuat dan pada F0/ kontrol negatif tidak terdapat zona hambat. Kriteria kekuatan daya antibakteri menurut Davis dan Stout (1971), dikategorikan berdasarkan diameter zona hambat yang

terbentuk yaitu diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat [34]. Aktivitas antibakteri dari ekstrak kulit nanas berasal dari komponen flavonoid yang mampu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat metabolisme energi pada bakteri serta menghambat membran sitoplasma pada bakteri [12]

Penelitian ini membuktikan bahwa mikroemulsi ekstrak kulit nanas menunjukkan adanya aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* walau pada zona hambat yang dihasilkan tidak dalam kategori kuat yaitu sebesar 5,58 mm. Aktivitas dinyatakan kuat apabila mempunyai zona hambat di atas 10 mm. Pada penelitian berikutnya dapat ditingkatkan konsentrasi ekstrak atau dengan menggunakan pelarut yang lain agar senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri dapat tertarik dengan lebih maksimal. Beberapa senyawa flavonoid seperti isoflavon, flavon, flavanol dan flavanon cenderung lebih mudah larut di dalam pelarut yang bersifat nonpolar [35].

KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L.) dapat diformulasikan kedalam bentuk sediaan mikroemulsi yang stabil dan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan zona hambat kategori sedang pada konsentrasi 20% yaitu sebesar 5,58mm.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chowta MN, Chowta NK. Study of clinical profile and antibiotic response in typhoid fever. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 2005;23(2):125-127. DOI:10.4103/0255-0857.16054
2. Salasa AM. Aktivitas ekstrak kulit buah nanas (*Ananas comosus* L) terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. *Media Farmasi*. 2017;8(2):1-5.
3. Kalaiselvi. Occurrence of Bioactive compounds in *Ananas comosus* (L.): A quality Standardization by HPTLC. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2012;2(3):1341-1346. DOI:10.1016/S2221-1691(12)60413-4
4. Rega MAP, Tamara Y. Daya Anti Bakteri Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Enterococcus Faecalis*. *Journal Unair*. 2016;6(2):1-6. DOI:dx.doi.org/10.20473/cdj.v6i2.2016.61-65
5. Halima RD, Yuliawati KM, Kodir RA. Potensi Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) terhadap Bakteri Gram positif. *Prosiding Farmasi*. 2020;6(2): 806-810.
6. Wiharningtias I, Waworuntu O, Juliatr. Uji konsentrasi hambat minimum (khm) ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L) terhadap *staphylococcus aureus*. *Pharmacon*. 2016;5(4):18-25.
7. Perdoski. Panduan praktis klinis bagi dokter spesialis kulit dan kelamin di Indonesia. PP PERDOSKI. Jakarta; 2017.
8. Ishraga A, Karamella A, Christina Y. The Effect of Added Papain on the Encapsulated of Liquid Lemon Oil Emulsion Particle with Gum Arabic. *Science Journal Publication*. 2015;219:4. DOI: 10.7237/sjpac/219
9. Lawrence MJ dan Rees GD. Microemulsion-based Media as Novel Drug Delivery System. *Adv Drug Deliv Rev*. 2000;45(6): 89-101. DOI: 10.1016/S0169-409X(00)00103-4.
10. Ghosh PK, Murthy RS. Microemulsions: A Potential Drug Delivery system. *Curr Drug Deliv*. 2006;3(2): 167-170. DOI: 10.2174/156720106776359168.
11. Storti F, Balsamo F. Particle Size Distributions by Laser Diffraction: Sensitivity of Granular Matter Strength to Analytical Operating Procedures. *Solid Earth*. 2010;1(1):25-26.
12. Anderson AS, Scully IL, Timofeyeva Y, Murphy E, McNeil LK, Mininni T, et al. *Staphylococcus aureus* Manganese Transport Protein C Is a Highly Conserved Cell Surface Protein That Elicits Protective Immunity Against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *The Journal of Infectious Diseases*. 2012;205(11):1688-1696. DOI: 10.1093/infdis/jis272
13. Fitri K, Khairani T, Sianturi KT, Leny L, Hafiz I. Anti-inflammatory Activity of Ethanol Extract of Lotus (*Nelumbo nucifera* G.) Seed Against White Male Rats Using Paw Edema Method. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2021; 11(4):1. DOI https://doi.org/10.22270/jddt.v11i4.4918
14. Harborne J. Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Penerbit ITB. Bandung; 1996.
15. Markham KR. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Penerbit ITB. Bandung; 1988.

16. Kulip J, Kamada T, Charles SV. Aromatic and Steroid Compounds from *Smilax bracteata* L. Presl. (Smilacaceae). A Bornean Medicinal Herb. Nat. Prod. Chem. 2015;3(1):5-7. DOI: 10.4172/2329-6836.1000184
17. Iskandar B, Karsono, Silalahi J. Preparation of Spray Nanoemulsion and Cream Containing Vitamin E as Anti-aging Product Tested in Vitro and in Vivo Method. International Journal of PharmTech Research. 2016;9(6):307-308.
18. Leny, Karsono, Harahap U. Comparison of Vitamin C (Magnesium Ascorbyl Phosphate) Formulation in Nanoemulsion Spray and Cream as Anti-aging. International Journal of PharmTech Research. 2016;9(6):399-407.
19. Leny, Ginting EE, Hafiz I. Formulation and Evaluation of Candlenut (*Aleurites moluccana* L.) Oil in Gel Preparation. Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development. 2020;8(5):41-43. doi.org/10.22270/ajprd.v8i5.842
20. Rinda RE, Mursyid AM, Hasrawati A. Sediaan Krim Ekstrak Air buah Aren (*Arenga pinnata*) sebagai antioksidan. As-Syifaa Jurnal Farmasi. 2019;11(1): 1-8.
21. Iskandar B, dkk. Formulasi, karakterisasi dan uji stabilitas Mikroemulsi minyak nilam (*Pogostemon cablin* Benth.). Jurnal Ilmiah Ibnu Sina. 2021;6(2):282-291.
22. Zulkarnain AK, Oktaviasari L. Formulation and Physical Stability Test of Lotion O/W Potato Starch (*Solanum tuberosum* L.) and the Activities as Sunscreen. Majalah Farmasetik. 2021;13(1):9-27.
23. Hidayat S, Hudiyono S, Saepudin E. Antibacterial Activity Test of The Partially Purified Bromelain from Pineapple Core Extract (*Ananas comosus* [L.] Merr) By Fractionation Using Ammonium Sulfate Acetone, AIP Conf Proc, 2023(2018):2018.
24. Pratiwi SUT, Lagendijk EL, Weert S, Hertiani T, Idroes R, Hondel CAVD. Effect of Cinnamomum burmannii Nees ex Bland and Massoia Aromatica Becc. Essential Oils on Planktonic Growth. and Biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* In Vitro. International Journal of Applied Research in Natural Products. 2015;8(1):1-13.
25. Retnaningsih A, Primadimanti A, Febrianti A. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) GRIFf) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan Bakteri *Propionibacterium acnes* Penyebab Jerawat Dengan Metode Cakram. Jurnal Analisis Farmasi. 2019;4(1):1-9.
26. Rastina, Sudarwanto M, Wientarsih I. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kari (*Murraya koenigii*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas* sp. Jurnal Kedokteran Hewan. 2015;9(2):185-188. DOI: doi.org/10.21157/j.ked.hewan.v9i2.2842
27. Pathan M, Zakariya A, Quasi A. Microemulsion: As Excellent Drug Delivery System. International Journal for Pharmaceutical Research Scholars. 2012; 1(3): 199-210
28. Husni dkk. Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Emulsi Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella lemuru*). As-Syifaa Jurnal Farmasi. 2019; 11(2):137-146
29. Natasya I, Nazliniwaty, Suryanto. Formulasi Sediaan Mikroemulsi Ekstrak Etanol Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). Skripsi. Universitas Sumatera Utara. Medan; 2017.
30. Sari AI, Herdiana Y. Review: Formulasi Nanoemulsi Terhadap Peningkatan Kualitas Obat, Farmaka. 2018;16(1):247-249. DOI: doi.org/10.24198/jf.v16i1.17464
31. Cinelli G, Cofelice M, Venditti F. Review: Veiled Extra Virgin Olive Oils: Role of Emulsion, Water and Antioxidants. Colloids and Interfaces. 2020; 4: 18
32. Panagan AT. Pengaruh Penambahan Tepung Wortel (*Daucus carota* L.) Terhadap Bilangan Peroksida dan Asam Lemak Bebas pada Minyak Goreng Curah. Penelitian Sains. 2011;14(2):18-21.
33. Iskandar B, Sidabutar SE, Leny. Formulasi dan Evaluasi Lotion Ekstrak Alpukat (*Persea americana*) sebagai Pelembab Kulit. Jurnal Islamic Pharmacy. 2021;6(2):36-45. DOI: doi.org/10.18860/jip.v6i1.11822
34. Davis, Stout. Applied Microbiology. American Society of Microbiology. United States of America; 1971.
35. Doloksaribu R. Isolasi Senyawa Flavonoid dari Daun Tumbuhan Harimonting. Skripsi. Universitas Sumatera Utara. Medan; 2009.

Sitasi artikel ini: Leny, Benni Iskandar, Ali Affan Silalahi. Formulasi dan Pengujian Stabilitas Sediaan Mikroemulsi Ekstrak Etanol Kulit Nanas (*Ananas comosus* L.) dalam menghambat Bakteri *Staphylococcus epidermidis* MFF 2021;25(3)103-108