Formulasi dan Evaluasi Mikroemulsi Antikerut Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa* L.)

Ardian Baitariza¹, Sasanti T. Darijanto¹, Jessie S. Pamudji¹, Irda Fidrianny¹,
Shelvy E. Suherman²

¹Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Bandung, Jawa Barat, Indonesia

²Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Bandung, Jawa Barat, Indonesia

Abstrak

Radikal bebas dalam tubuh dapat memicu terjadinya kerut. Salah satu upaya mengatasi kerut adalah dengan antioksidan. Beras hitam telah terbukti memiliki efek antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan sediaan mikroemulsi ekstrak beras hitam yang stabil dan memiliki efek antikerut. Penelitian dimulai dengan melakukan uji daya antioksidan ekstrak beras hitam secara in vitro terhadap DPPH. Kemudian dilakukan optimasi terhadap basis sediaan mikroemulsi. Basis yang optimal lalu diformulasikan dengan ekstrak beras hitam. Terhadap sediaan mikroemulsi ekstrak beras hitam dilakukan uji stabilitas fisika kimia dan uji efek antikerut. Hasil menunjukkan bahwa formula mikroemulsi ekstrak beras hitam yang stabil memiliki komposisi ekstrak beras hitam 4%, VCO 28,8%, Croduret-50-SS 28,8%, gliserin 28,8%, dan dapar sitrat fosfat pH 3,0 9,6%. Efektivitas antikerut ekstrak beras hitam dalam sediaan mikroemulsi lebih besar daripada dalam sediaan emulsi. Penurunan rata-rata level kerut oleh mikroemulsi ekstrak beras hitam adalah $44,46\% \pm 19,7\%$, sedangkan oleh emulsi ekstrak beras hitam adalah $36,6\% \pm 19,5\%$.

Kata kunci: Antikerut, beras hitam, mikroemulsi

Formulation and Evaluation of Antiwrinkle Effect Black Rice Extract (*Oryza sativa* L.) Microemulsion

Abstract

Free radicals in the body can lead to wrinkle. The use of antioxidants can prevent wrinkle. Black rice known to have an antioxidant effect. The purpose of this study is to get a microemulsion preparation of black rice extract that stable and has antiwrinkle effect. Research was started by antioxidant power test in vitro against DPPH, then the optimization of the microemulsion preparation base. The optimum base formula then formulated with black rice extract. Then tested the chemical and physical stability test, also antiwrinkle effect. The results showed that black rice extract microemulsion has composition as black rice extract of 4%, VCO of 28.8%, Croduret-50-SS of 28.8%, glycerol of 28.8%, and citrate phosphate buffer pH 3.0 of 9.6%. The antiwrinkle effectivity of black rice extract in microemulsion form was more than in emulsion form. The average decrease of wrinkle level by black rice extract microemulsion was $44.46\% \pm 19.7\%$, and by black rice extract emulsion was $36.6\% \pm 19.5\%$.

Keywords: Antiwrinkle, black rice, microemulsion

Pendahuluan

Kerut pada kulit merupakan salah satu dari tanda penuaan dini, di mana terjadi pengurangan jumlah kolagen serta elastin pada dermis yang mengakibatkan bagian epidermis mengalami penurunan tekstur. Faktor pemicunya adalah senyawa radikal bebas.¹

Ekstrak beras hitam telah terbukti memiliki efek antioksidan. Ekstrak beras hitam dapat menghambat peroksidasi asam linoleat, meredam radikal DPPH, meredam anion radikal superoksida, dan meredam hidrogen peroksida.^{2,3}

Dalam upaya mencapai efek yang optimum penggunaan ekstrak beras hitam, diperlukan sistem penghantaran yang baik, yaitu seperti bentuk sediaan mikroemulsi.⁴ Sistem ini merupakan suatu emulsi dengan ukuran globul yang sangat kecil, yaitu sekitar 50 sampai 200 nm. Dengan ukuran tersebut, globul dapat terpenetrasi baik dan menembus epidermis,⁵ sehingga ekstrak beras hitam yang terlarut dalam globul akan banyak berpenetrasi, menyebabkan meningkatnya efektivitas antioksidan di dalam epidermis.^{6,7}

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan sediaan mikroemulsi ekstrak beras hitam yang stabil dan memiliki efek antikerut.

Metode

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah timbangan analitik (Toledo), spektrofotometer *ultraviolet-visible* (UV-Vis) (Beckman), pengaduk elektrik (IKA-labortechnik), viskometer (Brookfield DV-I), sentrifugasi (Hettich EBA 85), pHmeter (Beckman), *particle size analyser* (delsaTM Nano C, Beckman Coulter), mikroskop digital (Dino Lite), dan alat-alat gelas di laboratorium.

Ekstrak beras hitam (Nanjing Zelang Medical Technology Co., Ltd.), akuades, kloroform, HCl, butanol, asam asetat, silika GF 254, minyak beras, DPPH, VCO, asam askorbat, croduret-50-SS, asam sitrat,

gliserin, etanol, sorbitol, propilenglikol, Na₂HPO₄.

Uji daya antioksidan in vitro ekstrak beras hitam dilakukan dengan cara terlebih dahulu ekstrak beras hitam dibuat dalam bentuk larutan dengan variasi konsentrasi, yaitu 20, 40, 60, 80, dan 100 bpj. Sejumlah 1 mL larutan sampel dicampurkan dengan 1 mL larutan DPPH 50 bpj. Campuran diinkubasi pada suhu kamar selama tiga jam. Absorbansi DPPH dalam larutan sampel diukur pada panjang gelombang maksimumnya, sehingga dapat digunakan untuk menghitung persen (%) peredaman DPPH oleh ekstrak. Kemudian kurva persen (%) peredaman DPPH terhadap konsentrasi ekstrak beras hitam dibuat. Nilai IC₅₀ dari ekstrak beras hitam dapat ditentukan dengan persamaan linier kurva.

Bahan standar pembanding uji yang digunakan adalah asam askorbat. Asam askorbat dibuat dalam bentuk larutan dengan variasi konsentrasi, yaitu 2, 4, 6, 8, dan 10 bpj. Sejumlah 1 mL larutan asam askorbat dicampur dengan 1 mL larutan DPPH 50 bpj. Campuran diinkubasi pada suhu kamar selama tiga jam. Absorbansi DPPH dalam larutan standar diukur pada panjang gelombang maksimum DPPH. Persen (%) peredaman DPPH oleh asam askorbat dapat dihitung, kemudian kurva antara persen peredaman DPPH terhadap konsentrasi asam askorbat dibuat. Nilai IC₅₀ asam askorbat dapat ditentukan dari persamaan linier kurva.

Komposisi basis mikroemulsi yang optimum diawali dengan penentuan fase minyak. Minyak beras dan VCO dipilih sebagai kandidat dari fase minyak. Masing-masing minyak diformulasikan dengan surfaktan Croduret-50-SS dengan berbagai konsentrasi untuk membentuk mikroemulsi tipe air a/m. Minyak yang butuh konsentrasi surfaktan terendah dalam membentuk mikroemulsi tipe a/m merupakan minyak yang dipilih.

Tahap optimasi selanjutnya, penentuan kosurfaktan. Kandidat kosurfaktan yang dipilih yaitu etanol, gliserin, sorbitol, dan propilenglikol. Tiap bahan diformulasikan

Tabel 1 Optimasi Fase Minyak untuk Basis Mikroemulsi

Bahan	Formula (%)							
	MB1	MB2	MB3	MB4	V1	V2	V3	V4
Minyak beras	50	40	30	20	-	-	-	-
VCO	-	-	-	-	50	40	30	20
Air	10	10	10	10	10	10	10	10
Croduret	40	50	60	70	40	50	60	70
Hasil	K	K	J	J	K	J	J	J

Keterangan: MB: Minyak beras, V: VCO, K: Keruh, J: Jernih, dan -: Tidak ada

dengan fase minyak terpilih dan surfaktan Croduret-50-SS. Bahan yang menghasilkan sediaan yang jernih dipilih sebagai kosurfaktan.

Tahap optimasi yang terakhir yaitu, penentuan komposisi optimum surfaktan dan kosurfaktan. Formula mikroemulsi dengan konsentrasi surfaktan paling rendah ditetapkan sebagai basis.

Formula basis mikroemulsi yang telah ditentukan dipetakan dalam diagram tiga fasa atau *pseudoternary*, dengan cara membuat formulasi mikroemulsi dengan berbagai komposisi jumlah minyak, air, surfaktan-kosurfaktan, setelah itu daerah mikroemulsi dapat ditentukan.

Mikroemulsi ekstrak beras hitam dibuat dengan cara fase minyak terdiri dari Croduret-50-SS dan minyak terpilih dicampurkan dan dipanaskan pada suhu 50°C. Fase air yang terdiri dari dapar sitrat-fosfat dengan pH 3, gliserin, ekstrak beras hitam dicampurkan dan dipanaskan pada temperatur 50°C, lalu fase air dan fase minyak dicampurkan dan diaduk pada 200 rpm selama 10 menit hingga terbentuk mikroemulsi.

Evaluasi sediaan mikroemulsi ekstrak beras hitam dilakukan dengan uji stabilitas.

Uji stabilitas sediaan yang dilakukan yaitu *freeze-thaw*, sentrifugasi, viskositas, pH, dan daya antioksidan in vitro.

Evaluasi efek antikerut mikroemulsi ekstrak beras hitam dilakukan terhadap sukarelawan dengan kriteria usia lebih dari 40 tahun. Dilakukan pemeriksaan level kerut terlebih dahulu pada semua sukarelawan menggunakan metode *video dermatoscope*. Kemudian sukarelawan diberi tiga perlakuan aplikasi topikal, yakni mikroemulsi ekstrak beras hitam, basis mikroemulsi, serta emulsi ekstrak beras hitam. Perlakuan dilakukan selama 15 hari. Pada akhir masa perlakuan, pemeriksaan level kerut dari sukarelawan dilakukan kembali. Dari hasil pemeriksaan dapat dihitung persentase penurunan level kerut dan perbedaan penurunan level kerut sukarelawan di antara tiga perlakuan aplikasi topikal.

Hasil

Ekstrak beras hitam telah diuji daya antioksidannya terhadap DPPH. Nilai IC₅₀ ekstrak terhadap DPPH adalah 41,5 bpj sedangkan nilai IC₅₀ standar asam askorbat terhadap DPPH adalah 9,3 bpj (Gambar 1).

Gambar 1 Kurva % Peredaman DPPH Terhadap Konsentrasi Ekstrak Beras Hitam (a), Asam Askorbat (b)

Gambar 2 Diagram Tiga Fasa

Pemetaan diagram tiga fasa dari mikroemulsi dapat ditunjukkan pada Gambar 2. Daerah mikroemulsi pada diagram tiga fasa dapat ditunjukkan oleh titik-titik bhijau.

Hasil pengujian sediaan mikroemulsi menunjukkan bahwa mikroemulsi ekstrak beras hitam stabil selama 6 siklus uji *freeze thaw*, stabil selama 5 jam sentrifugasi, stabil pada nilai pH dan daya antioksidan in vitro, serta mengalami kenaikan pada nilai viskositas (Gambar 3, 4, dan 5).⁸

Hasil dari optimasi fase minyak untuk basis mikroemulsi dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil dari optimasi jenis kosurfaktan Tabel 2. Hasil dari optimasi rasio surfaktan dan kosurfaktan ditunjukkan pada Tabel 3. Formula mikroemulsi dari ekstrak beras hitam dapat dilihat pada Tabel 4. Data penurunan level kerut dari sukarelawan ditunjukkan pada Tabel 5.

Pembahasan

Gambar 4 Grafik Viskositas Sediaan pada Uji Stabilitas

Keterangan: V25: Viskositas sediaan pada suhu 25 °C dan V40: Viskositas sediaan pada suhu 40 °C

Gambar 3 Grafik pH Sediaan pada Uji Stabilitas

Keterangan: p25: pH sediaan pada suhu 25 °C dan p40: pH sediaan pada suhu 40 °C

Dari pemetaan diagram tiga fasa (Gambar 2) tersebut dapat dilihat bahwa daerah mikroemulsi terdapat pada jumlah air yang kecil dan jumlah minyak yang lebih besar, hal ini menunjukkan bahwa surfaktan Croduret-50-SS adalah jenis surfaktan pembentuk emulsi tipe a/m.

Formulasi ekstrak beras hitam lalu dilakukan terhadap basis mikroemulsi yang optimum. Mikroemulsi ekstrak beras hitam kemudian diuji stabilitas fisiko kimianya berdasarkan uji *freeze thaw*, sentrifugasi, pH, viskositas, dan daya antioksidan in vitro.

Evaluasi efek antikerut mikroemulsi ekstrak beras hitam dilakukan terhadap 10 orang sukarelawan. Hasil evaluasi efek antikerut tersebut dibandingkan dengan efek antikerut basis mikroemulsi dan emulsi ekstrak beras hitam. Persen penurunan level kerut diperoleh dari tiga perlakuan topikal, dengan hasil seperti dapat dilihat pada Tabel 5.

Gambar 5 Grafik Daya Antioksidan In Vitro Sediaan pada Uji Stabilitas

Keterangan: D25: Daya antioksidan pada suhu 25 °C dan D40: Daya antioksidan pada suhu 40 °C

Tabel 2 Optimasi Jenis Kosurfaktan

Bahan	Formula (%)			
	V5	V6	V7	V8
VCO	30	30	30	30
Air	10	10	10	10
Croduret-50-SS	30	30	30	30
Etanol	30	-	-	-
Gliserin	-	30	-	-
Propilenglikol	-	-	30	-
Sorbitol	-	-	-	30
Hasil	K	J	K	K

Keterangan: K: Keruh, J: Jernih, -: Tidak ada

Berdasarkan ANOVA desain acak sempurna, terdapat perbedaan bermakna ($\alpha=0,05$) pada nilai penurunan level kerut 10 orang sukarelawan di antara tiga perlakuan. Sediaan yang paling banyak mengurangi level kerut (*roughness*) adalah mikroemulsi dari ekstrak beras hitam, kemudian emulsi ekstrak beras hitam, dan basis mikroemulsi.

Globul-globul pada mikroemulsi yang berisi senyawa aktif ekstrak memiliki ukuran kecil, sehingga bisa berpenetrasi menembus epidermis dan menghantarkan senyawa aktif. Akibatnya efektivitas antioksidan senyawa aktif dalam epidermis pun menjadi meningkat. Faktor lain yang menentukan adalah tingginya jumlah surfaktan dalam mikroemulsi, sehingga

Tabel 4 Formula Mikroemulsi Ekstrak Beras Hitam

Bahan	Formula (%)
	ME
Ekstrak Beras Hitam	4
VCO	28,8
Dapar sitrat-fosfat pH 3	9,6
Croduret-50-SS	28,8
Gliserin	28,8

Keterangan: ME: Mikroemulsi ekstrak beras hitam

Tabel 3 Optimasi Rasio Surfaktan dan Kosurfaktan

Bahan	Formula (%)				
	V9	V10	V11	V12	V6
	5:1	4:1	3:1	2:1	1:1
VCO	40	40	40	30	30
Air	10	10	10	10	10
Croduret	41,7	40	37,5	40	30
Gliserin	8,3	10	12,5	20	30
Hasil	J	J	K	J	J

Keterangan: K: Keruh, J: Jernih

dapat menjadi peningkat penetrasi bagi zat aktif.^{9,10}

Simpulan

Formulasi sediaan mikroemulsi ekstrak beras hitam terbaik adalah ekstrak beras hitam 4% Croduret-50-SS 28,8%, gliserin 28,8%, VCO 28,8%, dapar sitrat fosfat pH 3 9,6% yang bersifat stabil, berdasarkan hasil uji *freeze thaw*, sentrifugasi, pH, dan daya antioksidan in vitro. Adapun nilai viskositas sediaan mengalami kenaikan selama penyimpanan pada suhu kamar.

Sediaan mikroemulsi ekstrak beras hitam memiliki efektivitas antikerut paling tinggi daripada basis mikroemulsi dan emulsi ekstrak beras hitam.

Tabel 5 Data Penurunan Level Kerut dari Sukarelawan

Sukarelawan	Penurunan level kerut (%)		
	ME	BM	EE
1	39,08	24,22	31,82
2	48,40	21,25	57,63
3	69,76	26,84	39,75
4	51,30	18,7	0,00
5	64,20	0,00	55,6
6	33,14	26,73	17,74
7	0,00	0,00	45,33
8	46,36	0,00	36,31
9	58,16	7,48	20,95
10	34,16	30,5	60,92
Rata-rata	44,46	15,57	36,6
	$\pm 19,7$	$\pm 12,4$	$\pm 19,5$

Keterangan: ME: Mikroemulsi ekstrak beras hitam, BM: Basis mikroemulsi, EE: Emulsi ekstrak beras hitam

Daftar Pustaka

1. Yessy H. Pemberian oral ekstrak daun pegagan (*Centella asiatica*) lebih banyak meningkatkan jumlah kolagen dan menurunkan ekspresi mmp-1 daripada vitamin c pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar sinar UV-B (thesis). Denpasar: Universitas Udayana; 2014.
2. Park YS, Kim SJ, Chang HI. Isolation of anthocyanin from black rice and screening of its antioxidant activities. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 2008;36(1):1–3.
3. Swasti. Aktivitas antioksidan antosianin beras hitam dalam low-density lipoprotein (LDL) plasma darah manusia secara in vitro (thesis). Yogyakarta: UGM; 2007.
4. Kori Y, Henny L, Elfi SB. Evaluasi stabilitas fisik mikroemulsi natrium askorbat fosfat berbasis minyak kelapa murni (*Virgin coconut oil*). *Farmasains.* 2011;1(3):107–111
5. Inggrid T. Formulasi, uji stabilitas fisik dan uji manfaat shampoo mikroemulsi minyak biji mimba pada ketombe derajat ringan–sedang (thesis). Depok: Universitas Indonesia; 2012
6. Ichihashi M. Photoaging of the skin. *Japanese Society of Anti-aging medicine.* 2009;6:52–53.
7. Kyoung JO, Joong KS, Young IJ. Antioxidative effects of crude anthocyanins in water in oil microemulsion system. *Food Sci. Biotechnol.* 2006;15:2.
8. Prince, LM. Microemulsions, theory and practice. New York: Academic Press, Inc; 1977: 3,7,11–13,17,101.
9. Anita S, Suprpto, dan Roro MA. Efek berbagai peningkat penetrasi terhadap penetrasi perkutan gel natrium diklofenak secara in vitro. *Pharmakon.* 2009;10(1):7–12.
10. Lawrence MJ, Rees GD. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 2000;45:2–7.