

## FORMULASI DAN UJI STERILITAS HIDROGEL HERBAL EKSTRAK ETANOL DAUN *Tagetes erecta* L.

Hosea Jaya Edy<sup>1)</sup>, Marchaban<sup>2\*)</sup>, Subagus Wahyuono<sup>2)</sup>, Agung Endro Nugroho<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Program Doktorat Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

<sup>2)</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281

\*E-mail : marchaban@ugm.ac.id

### ABSTRACT

*Ethanol extract of T. erecta as raw material locally named bunga tahi kotok. Chemical constituents contained in T. erecta are polyphenols and flavonoids useful in wound healing. Ethanol extract of T. erecta formulation into the hydrogel highly beneficial in the treatment process. The sterility performed also be a critical point in ensuring the quality of medicines. The physical characteristics of the hydrogel highly dependent on the material used gel base. This study used a combination of three types of bases are Carbopol 940, Colagen and CMC. Physical properties testing conducted shortly after the formulations obtained good results. Stability testing conducted during the three months that remain sterile hydrogel obtained or not contaminated with microorganisms.*

**Keywords :** *Tagetes erecta* L, formulation, hydrogel, physical characteristics, sterility

### ABSTRAK

Ekstrak etanol daun *Tagetes erecta* L. atau biasa dikenal dengan nama tanaman bunga tahi kotok memiliki kandungan flavonoid dan fenolik yang berfungsi membantu proses penyembuhan luka. Formulasi ekstrak daun *T. erecta* dalam bentuk hidrogel sangat bermanfaat dalam proses pengobatan. Karakteristik fisik hidrogel sangat bergantung terhadap bahan basis gel yang digunakan. Dalam penelitian ini digunakan kombinasi tiga jenis basis yaitu karbopol 940, gelatin dan CMC. Sterilitas sediaan juga menjadi titik penting dalam menjamin kualitas obat. Dalam penelitian ini dibuat tiga formula hidrogel dengan bobot basis yang berbeda-beda. Pengujian sifat fisik yang dilakukan sesaat setelah proses formulasi didapatkan hasil yang baik. Pengujian sterilitas yang dilakukan selama tiga bulan didapatkan hasil sediaan yang tetap steril atau tidak terkontaminasi mikroorganisme.

**Kata kunci :** *Tagetes erecta* L, formulasi, hidrogel, sifat fisik, sterilitas

## PENDAHULUAN

Perkembangan teknologi dalam dunia kefarmasian saat ini tidak begitu saja meninggalkan penggunaan bahan alami. Pemanfaatan bahan alami sebagai zat aktif obat sekarang kembali digalakkan dan mulai dikembangkan. Teknologi yang ada dimanfaatkan guna menghasilkan sediaan farmasi yang lebih aman dan efektif dalam proses pengobatan. Zat aktif obat dalam teknologi farmasi mulai memanfaatkan sumber sumber alami seperti tanaman berkhasiat obat.

*T. erecta* atau bunga tahi kotok, merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat obat. Bunga tahi kotok merupakan tanaman liar bunga yang indah dengan warna kuning maupun orange mencolok sehingga sering digunakan sebagai bunga hias. *T. erecta* memiliki bau yang tidak enak, sehingga bunga ini tidak terlalu dikenal dan memiliki nilai ekonomis yang kurang baik bagi petani bunga (Priyanka dkk., 2013). *T. erecta* memiliki banyak kandungan kimia seperti flavonoid, karotenoid, triterpenoid, seskuiterpene, polifenol, asam galat, gallsin, kuersetin dan kuersetagetin (Gong dkk., 2012). Banyaknya kandungan kimia ini maka tanaman ini dikenal memiliki banyak khasiat untuk mengobati berbagai penyakit seperti demam, infeksi perut, bisul, dan membantu proses penyembuhan luka pada kulit (Vijay dkk., 2013).

Hidrogel merupakan salah satu bentuk sediaan farmasi yang digunakan secara topikal atau dioleskan pada permukaan kulit. Hidrogel sangat ideal digunakan sebagai bahan penutup luka karena dapat membantu menghilangkan jaringan mati. Hidrogel mampu menciptakan kondisi yang lembab pada area luka sehingga akan menciptakan rasa dingin yang dapat mengurangi

pembengkakan pada sekitar luka sehingga akan mempercepat proses penyembuhan luka. Kemampuan hidrogel dalam menurunkan rasa sakit pada sekitar luka sehingga dapat meningkatkan kenyamanan pasien yang menggunakannya (Boateng dkk., 2008; Leelapornpisid dkk., 2014).

Dalam penelitian kali ini digunakan kombinasi tiga basis yaitu Karbopol, gelatin dan CMC. Karbopol sebagai basis gel diketahui memiliki sifat yang tidak mengiritasi kulit, CMC sebagai basis mampu menghasilkan sediaan yang lebih lembut, sedangkan gelatin mampu meningkatkan penyerapan eksudat yang ditimbulkan oleh luka (Lee dan Mooney, 2012; Rowe dkk., 2009). Dalam penelitian ini diharapkan didapatkan data sifat fisik dari sediaan hidrogel yang dibuat dan juga sterilitas sediaan pada saat pembuatan dan selama proses penyimpanan.

## METODOLOGI

### Bahan dan Alat

Karbopol 940, Carboxy Methyl Cellulose, Gelatin, Propylene glycol, Triethanolamine, gliserol, Aquadest, etanol 96%, Daun *T. erecta*, Oven, *Autoclave*, *Microbiology Safety Cabinet*, Maserator, *rotary evaporator*, pH meter digital, viskometer digital, *electric bakteri colony counte* dan *climatic chamber*.

### Ekstraksi

Daun *T. erecta* dipanen dari perkebunan bunga di daerah Bandungan, Jawa Tengah, kemudian dilakukan identifikasi kebenaran tanaman di Departemen Biologi Farmasi Universitas Gadjah Mada. Daun yang terkumpul dicuci bersih pada air mengalir untuk menghilangkan pengotor. Pengeringan daun dilakukan di dalam oven dengan suhu 40°C sampai daun kering sempurna. Daun

kering kemudian diserbuk lalu diayak menggunakan ayakan tepung dan dilanjutkan dengan proses perendaman.

Proses ekstraksi menggunakan sistem remaserasi atau maserasi berulang. Perendaman serbuk daun *T. erecta* menggunakan pelarut etanol 96% dalam wadah *erlenmeyer* dan digojok menggunakan alat *shaker* dengan kecepatan 150 rpm. Setiap 24 jam filtrat disaring dan rendemen direndam kembali menggunakan pelarut, proses ini dilakukan berulang sampai didapat filtrat yang telah berwarna jernih. Pengentalan filtrat yang telah terkumpul menggunakan bantuan alat *rotary evaporator*. Pengentalan dilanjutkan menggunakan bantuan alat *waterbath* hingga didapat ekstrak kental seperti dodol.

#### **Formulasi**

Dalam penelitian kali ini dibuat tiga formula hidrogel dimana setiap formula memiliki kandungan karbopol, gelatin dan CMC yang berbeda-beda (Tabel.1). Proses pembuatan hidrogel diawali dengan pengembangan setiap basis hidrogel dalam 20 ml aquadest selama 24 jam. Campuran 1 dibuat dengan masukkan karbopol, gelatin dan CMC secara perlahan ke dalam bakerglass sambil diaduk dengan mixer. Setelah homogen dengan terus diaduk masukkan gliserol dan propilenglikol secara perlahan hingga homogen. Masukkan trietanolamin secara perlahan sambil terus diaduk dan dilakukan pengukuran pH. Masukkan secara perlahan aquadest sambil terus diaduk dan ditimbang hingga bobot campuran mendekati 100 g. Bakerglass ditutup menggunakan *aluminium foil* dan disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Campuran 2 dibuat dengan melarutkan 2,5 g ekstrak kental ke dalam 5 ml etanol. Pembuatan

hidrogel dengan bahan aktif ekstrak etanol daun *T. erecta* dengan mencampurkan campuran 2 ke dalam campuran 1 di dalam ruangan steril.

#### **Pengujian Karakteristik Hidrogel**

##### **1. Pengamatan fisik**

Pengamatan fisik terhadap hidrogel dilakukan secara subjektif adalah : warna dan penampilan (Ramane dkk., 2013).

##### **2. Pengukuran pH**

Pengukuran pH hidrogel dilakukan dengan alat pengukur pH meter digital (Oakton-eutech instruments). Pengukuran dilakukan dengan mencelupkan secara sempurna kaca elektroda pH meter ke dalam sediaan hidrogel. Nilai pH dari sediaan akan secara otomatis tertera pada layar indikator (Haneefa dkk., 2010).

##### **3. Pengukuran viskositas**

Pengukuran nilai viskositas sediaan hidrogel menggunakan alat viskometer (Rion viscotester VT-04F). 200 g hidrogel dimasukkan ke dalam *baker* khusus kemudian masukkan *spindle* no. 2 yang telah terpasang pada viskometer ke dalam hidrogel sampai terendam sempurna. Nyalakan viskometer dan pembacaan nilai viskositas dimulai ketika jarum penunjuk telah stabil (Haneefa dkk., 2010).

##### **4. Pengukuran daya sebar**

Dua lempeng kaca, satu lempeng kaca diberi alas *milimeter block* guna memudahkan pengamatan dan pengukuran serta satu lempeng difungsikan sebagai penutup. Pengukuran daya sebar hidrogel dilakukan dengan meletakkan 1 g hidrogel di tengah-tengah kaca. Tutup hidrogel dengan kaca penutup dan pemberat dengan total keseluruhan bobot adalah 125 g selama 1 menit. Pengukuran daya sebar adalah luas zona yang terbentuk ( $\text{cm}^2$ ) yang didapat dari perhitungan  $\pi r^2$  (Haneefa dkk., 2010).

#### **Pengujian Sterilitas Sediaan**

Sterilkan seluruh alat gelas yang akan digunakan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Ruang *Microbiology Safety Cabinet* yang akan digunakan dalam pengujian harus disterilisasi terlebih dahulu dengan penyinaran menggunakan sinar UV selama 24 jam. Siapkan media nutrisi agar (NA-oxoid), 15 g ke dalam 500 ml aquadest dan dididihkan sambil terus diaduk. Setelah mendidih sterilkan media dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Tuang media NA ke dalam cawan petri steril pada ruangan *Microbiology Safety Cabinet* biarkan sampai media NA memadat. Inokulasikan ekstrak kental dan hidrogel ke dalam media yang telah memadat. Inokulasi dilakukan menggunakan jarum ose yang telah disterilkan dengan cara dibakar pada api cawan bunsen. Inokulasikan objek pengujian secara siksak untuk mempermudah pengamatan. Inkubasi cawan petri secara terbalik selama 24 jam pada suhu 36°C. Amati pertumbuhan mikroorganisme menggunakan bantuan alat *electric bakteri colony counter* (health). Pengujian sterilitas sediaan dilakukan selama 3 bulan dan dilakukan pengujian setiap 30 hari. Selama pengujian sediaan hidrogel disimpan pada alat *climatic chamber* (memmert) pada suhu 40°C dengan nilai RH 75 % (Das dkk., 2011; Ramane dkk., 2013).

## PEMBAHASAN

Daun *T. erecta* dipetik ketika tanaman berumur sekitar 3 bulan atau sebelum mengeluarkan bunga. Hasil identifikasi yang dilakukan oleh Departemen Biologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada menunjukkan kebenaran tanaman. Proses ekstraksi yang dilakukan adalah menggunakan teknik

remaserasi atau maserasi berulang. Proses remaserasi dipilih guna mendapatkan hasil ekstrak yang banyak dimana seluruh zat aktif akan tersari sempurna. Penggantian pelarut dengan yang baru setiap kali proses remaserasi akan menghindari terjadinya kejenuhan dalam proses penyarian.

Ekstrak kental *T. erecta* yang akan digunakan dalam proses formulasi adalah 2,5g. Pemilihan kadar *T. erecta* berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kiranmai dkk., 2011. Pada kadar 2,5g ekstrak kental *T. erecta* yang telah diformulasikan dalam bentuk sediaan gel mampu memberikan efek penyembuhan luka terbuka yang lebih baik dibanding kontrol positif yaitu Metrozyl gel. Bahkan 100g gel dengan kadar zat aktif 2,5% ekstrak *T. erecta* hanya membutuhkan waktu 11,56 hari dalam proses epitelisasi dibanding kontrol positif yang membutuhkan waktu 16,66 hari.

Pemilihan basis hidrogel pada penelitian kali ini adalah kombinasi ketiga basis yaitu karbopol, gelatin dan CMC dalam satu formulasi. Bobot rendah karbopol adalah 0,830g dan bobot tinggi adalah 1,084g. Bobot rendah gelatin adalah 0,417g sedangkan bobot tinggi adalah 0,767g. Bobot rendah CMC 0,300g dan bobot tinggi 0,600g. Formulasi bobot karbopol, gelatin dan CMC beserta bobot bahan lainnya dapat dilihat pada tabel 1. Penelitian kali ini dibuat 3 formula dimana formula 1 (F1) mengandung karbopol pada bobot rendah, gelatin bobot rendah sedangkan CMC pada bobot tinggi. Formula 2 (F2) mengandung karbopol pada bobot rendah, gelatin bobot tinggi dan CMC pada bobot rendah. Formula 3 (F3) mengandung karbopol pada bobot tinggi, gelatin bobot rendah dan CMC pada bobot rendah.

Hasil uji pengamatan fisik, pH, viskositas dan daya sebar setiap formula yang terbentuk terdapat pada tabel 2. Ketiga formula memiliki warna hijau muda dikarenakan penggunaan ekstrak kental daun *T. erecta* sebagai zat aktif yang memiliki warna kehijauan. Warna yang dihasilkan tidak terlalu gelap sehingga masih cukup nyaman untuk digunakan. Penampilan ketiga hidrogel yang terbentuk juga memenuhi syarat penampilan sediaan gel yaitu harus transparan. Penampilan fisik lain yang juga diamati adalah ketiga formula hidrogel ini cukup lembut dan memberikan efek dingin ketika dioleskan pada kulit.

Nilai pH dari ketiga formula tersebut adalah F1=6,83; F2=6,79 dan F3=6,70 maka ketiga formula tersebut akan nyaman ketika digunakan dan tidak akan menimbulkan iritasi terhadap kulit. Misal dkk., 2012, mengatakan bahwa sediaan gel dengan nilai pH pada range  $6,15 \pm 0,04$  sampai  $6,98 \pm 0,03$  akan sesuai dengan nilai pH kulit dan tidak akan mengiritasi kulit. Nilai viskositas F1 = 170 d.Pa.S (*desy Pascal Second*), F2 = 220 d.Pa.S dan F3 = 230 d.Pa.S. Nilai viskositas ini sangat berpengaruh terhadap kekentalan sediaan dan berimplikasi terhadap kemudahan dalam penggunaan terutama pada proses pengolesan terhadap luka. Nilai viskositas 50 d.Pa.S sampai 400 d.Pa.S akan menghasilkan gel yang tidak terlalu cair dan tidak terlalu kental (Garg dkk., 2002; Yuliani, 2012). Nilai daya sebar ketiga formula dihitung berdasarkan luar yang dihasilkan setelah pengujian. Rerata luas daya sebar yang dihasilkan F1 =  $23,75 \text{cm}^2$ , F2 =  $20,42 \text{cm}^2$  dan F3 =  $19,63 \text{cm}^2$ . Nilai luas daya sebar ketiga formula ini menunjukkan bahwa masing-masing formula cukup nyaman untuk dioleskan dan akan teroles merata karena

memiliki nilai daya sebar yang memenuhi kriteria yaitu diantara  $19,50 \text{cm}^2$  sampai dengan  $38,50 \text{cm}^2$  (Garg dkk., 2002).

Sterilitas sediaan penyembuh luka merupakan salah satu syarat yang harus dipenuhi. Pengujian sterilitas yang dilakukan dengan melakukan pengamatan terdapat atau tidaknya mikroorganisme pada hidrogel yang telah dioleskan pada media nutrient agar dan telah diinkubasi pada suhu  $36^\circ\text{C}$  selama 24 jam. Pengamatan sterilitas hidrogel dilakukan pada hari pertama sediaan dibuat kemudian setiap 30 hari sampai pada hari ke-90 setelah dibuat. Pada hari ke-0 ketiga formula didapati steril atau tidak ditemukan pertumbuhan mikroorganisme. Pada hari ke-0 juga dilakukan pengujian sterilitas terhadap ekstrak kental daun *T. erecta* dan didapati hasil bahwa ekstrak yang digunakan juga steril. Pengujian sterilitas hidrogel pada hari ke-30, ke-60 dan ke-90 tetap didapati formula hidrogel yang steril atau tidak ditumbuhi oleh mikroorganisme. Dengan hasil uji sterilitas maka formula hidrogel layak digunakan karena tidak akan menimbulkan infeksi mikroorganisme.

## KESIMPULAN

Formulasi ekstrak etanol daun *T. erecta* sebagai zat aktif dengan menggunakan campuran karbopol 940, gelatin dan CMC sebagai basis hidrogel menghasilkan sediaan yang baik dan memenuhi parameter kualitas yang telah ditetapkan. Penampilan hidrogel secara subjektif nyaman untuk dilihat karena memiliki warna hijau muda dan tidak terlalu gelap serta berpenampilan transparan. Nilai pH ketiga formula sesuai dengan nilai kenyamanan penggunaan sediaan topikal pada kulit. Daya sebar dan nilai viskositas yang didapat menjadikan

ketiga formula mudah untuk dioleskan atau diaplikasikan dalam pengobatan secara topikal karena tidak terlalu kental. Sediaan hidrogel yang dihasilkan steril karena tidak ditemukan pertumbuhan mikroorganisme begitu juga setelah disimpan selama 90 hari sediaan tetap steril.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Boateng, J.S., Matthews, K.H., Stevens, H.N.E., dan Eccleston, G.M., 2008. Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **97**: 2892–2923.
- Das, S., Haldar, P.K., dan Pramanik, G., 2011. Formulation and Evaluation of Herbal Gel Containing Clerodendron Infortunatum Leaves Extract. *Int J of Pharm Tech Res*, **1**: 140–3.
- Garg, A., Aggarwal, D., Garg, S., dan Singla, A.K., 2002. Spreading of semisolid formulations: an update. *Pharmaceutical technology*, **26**: 84–105.
- Gong, Y., Liu, X., He, W.-H., Xu, H.-G., Yuan, F., dan Gao, Y.-X., 2012. Investigation into the Antioxidant Activity and Chemical Composition of Alcoholic Extracts from Defatted Marigold (*tagetes Erecta L.*) Residue. *Fitoterapia*, **83**: 481–489.
- Haneefa, M., Hanan, S., R, S., Mohanta, G.P., dan Nayar, C., 2010. Formulation and Evaluation of Herbal Gel of *Pothos Scandens Linn.* *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **3**: 988–992.
- Kiranmai, M., Kazim, S.M., dan Ibrahim, M., 2011. Combined Wound Healing Activity of *Gymnema Sylvestre* and *Tagetes Erecta Linn.* *International Journal of Pharmaceutical Applications*, **2**: 135–140.
- Lee, K.Y. dan Mooney, D.J., 2012. Alginate: Properties and Biomedical Applications. *Progress in Polymer Science*, **37**: 106–126.
- Leelapornpisid, P., Kiattisin, K., Jantrawut, P., dan Phrutivorapongkul, A., 2014. Nanoemulsion Loaded with Marigold Flower Extract (*tagetes Erecta Linn*) in Gel Preparation as Anti-Wrinkles Cosmeceutical. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **6**: 231–236.
- Misal, G., Dixit, G., dan Gulkari, V., 2012. Formulation and Evaluation of Herbal Gel. *Indian J Nat Prod Resour*, **3**: 501–5.
- Priyanka, D., Shalini, T., dan Navneet, K.V., 2013. A Brief Study on Marigold (*tagetes Species*): A Review. *International Research Journal of Pharmacy*, **4**: 43–48.
- Ramane, S.B., Syed, V.N., dan Biyani, K.R., 2013. Evaluation of Wound Healing Activity of Polyherbal

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan banyak terimakasih kepada Pemerintah Indonesia melalui KemenRistekDikti yang telah memberi beasiswa pendidikan dan penelitian S3. Ucapan terimakasih juga disampaikan kepada Dekan dan Kepala laboratorium USD atas ijin dan fasilitas penggunaan laboratorium selama penelitian.

- Gel—A Novel Herbal Formulation. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, **4**: 788–794.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., dan Quinn, M.E., 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 6th ed. Pharmaceutical Press, London.
- Vijay, K., Bhingare, C.L., Balasaheb, S.R., Yuvraj, N.R., dan Janardhan, P.M., 2013. Pharmacognostic, Physicochemical and Phytochemical Investigation of Tagetes Erecta Flowers (asteraceae). *J Biol Sci Opin*, **1**: 21–24.
- Yuliani, S.H., 2012. 'Formulasi Sediaan Hidrogel Penyembuh Luka Ekstrak Etanol Daun Binahong (anredera Cordifolia (ten) Steenis)', *Disertasi*, . Gadjah Mada, Yogyakarta.

LAMPIRAN

**Tabel 1 : Modifikasi formula hidrogel *T. erecta* (Misal dkk., 2012).**

Formulasi	Karbopol 940 (%)	Gelatin (%)	CMC (%)	Propilen glicol (%)	Tri etanolamin (%)	Gliserol (%)	Etanol (%)	Aquadest (%)
F1	0,834	0,417	0,600	2	3	12,5	5	Up to 100
F2	0,834	0,767	0,300	2	3	12,5	5	Up to 100
F3	1,084	0,417	0,300	2	3	12,5	5	Up to 100

**Tabel 2 : Karakteristik hidrogel**

Formula	Pengujian sifat fisik				
	Warna	Penampilan	pH	Viskositas (dPa.s)	Daya Sebar (cm <sup>2</sup> )
F1	Hijau muda	Transparan	6,83	170	23,75
F2	Hijau muda	Transparan	6,79	220	20,42
F3	Hijau muda	Transparan	6,70	230	19,63

**Tabel 3 : Uji sterilitas sediaan hidrogel selama 90 hari**

Bahan uji	hari			
	0	30	60	90
Ekstrak Etanol <i>T. erecta</i>	Steril*	-	-	-
Formula 1	Steril*	Steril*	Steril*	Steril*
Formula 2	Steril*	Steril*	Steril*	Steril*
Formula 3	Steril*	Steril*	Steril*	Steril*

\*) : tidak ditemukan koloni pertumbuhan mikroorganismenya

- : tidak dilakukan pengamatan