

PENGARUH PEMBERIAN SEDIAAN MIKROEMULSI EKSTRAK HERBA KELAKAI (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd) TERHADAP PENINGKATAN KADAR HEMOGLOBIN TIKUS PUTIH (Induksi Natrium Nitrit (NaNO₂))

Norlatifah Fahmi¹; Teguh Imanto; Risa Wahyuningsih

Jurusan Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun
Jl. Sutan Syahrir No. 11, Madurejo, Arut Selatan Kabupaten Kotawaringin Barat
Kalimantan Tengah 74100

Abstract

Guidelines for eating less attention with a fast-paced lifestyle can cause the body to lack iron reserves. If iron levels decrease, the body's ability to produce healthy red blood cells also decreases. Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd) is one of the natural ingredients commonly consumed by the dayak people as vegetables and is hereditary used as traditional medicine that can increase hemoglobin levels. This study aims to obtain a microemulsion of kelakai extract (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd) to increase hemoglobin levels in the blood of rats induced by NaNO₂. This research is a true experimental study using the pretest-posttest control group design method. Animals used in this study were female white rats (*Rattus norvegicus*) wistar strains at the age of 3-4 months in good health, weight 150-250 grams with the number of samples used in 15 rats divided into 3 study group s: Microemulsion treatment group herbal extract, control (-), and control (+). Data obtained were analyzed by one way ANOVA test with a 95% confidence level to determine the significant differencs between treatment groups. Obtained from the result of the phytochemical screening test for kelakai herbs contain alkaloids, flavonoids, saponins, tannins and steroids. LSD test (Least significant differences) results obtained effective concentrations with sig values. 0.015 compared to negative controls. Microemulsion of kelakai herbs has been proven to increase hemoglobin levels. Concentration effective of kelakai herb microemulsion (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd) with extract concentration of 20%.

Keywords : Microemulsion, kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd), hemoglobin, natrium nitrit.

Abstrak

Paduan pola makan yang kurang diperhatikan dengan gaya hidup yang serba cepat dapat menyebabkan tubuh kekurangan cadangan zat besi. Jika kadar zat besi menurun, kemampuan tubuh untuk memproduksi sel darah merah yang sehat pun ikut menurun. Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd) merupakan salah satu bahan alam yang umumnya dikonsumsi oleh masyarakat dayak sebagai sayur dan secara turun temurun dimanfaatkan sebagai obat tradisional yang mampu meningkatkan kadar hemoglobin. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan sediaan mikroemulsi ekstrak kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd) untuk meningkatkan kadar hemoglobin dalam darah tikus yang di induksi NaNO₂. Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan menggunakan metode *pretest – posttest control grup design*. Hewan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar betina dengan usia 3-4 bulan dalam keadaan sehat, berat badan 150-250 gram dengan jumlah sampel yang digunakan pada 15 tikus yang dibagi menjadi 3 kelompok penelitian : Kelompok perlakuan mikroemulsi ekstrak herba kelakai, Kontrol (-), dan kontrol (+). Data yang diperoleh dari analisis dengan uji *One way ANOVA* dengan taraf kepercayaan 95% untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Diperoleh hasil uji skrining fitokimia herba kelakai memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan steroid. Hasil uji LSD (*Least significant differences*) diperoleh konsentrasi yang efektif dengan nilai sig. 0,015 dibandingkan dengan kontrol negatif. Mikroemulsi herba kelakai terbukti dapat meningkatkan kadar hemoglobin. Diperoleh konsentrasi efektif sediaan mikroemulsi herba kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd) dengan konsentrasi ekstrak 20%.

Kata kunci : Mikroemulsi, kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd), hemoglobin, natrium nitrit.

¹ **Korespondensi :** Norlatifah Fahmi, Jurusan Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Cendekia Medika Jl. Sutan Syahrir No. 11, Madurejo, Arut Selatan Kabupaten Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah 74100 Email : iffa.farm28@gmail.com

1. Pendahuluan

Paduan pola makan yang kurang diperhatikan dengan gaya hidup yang serba cepat dapat menyebabkan tubuh kekurangan cadangan zat besi. Jika kadar zat besi menurun, kemampuan tubuh untuk memproduksi sel darah merah yang sehat pun ikut menurun. Hemoglobin merupakan unsur yang sangat vital bagi tubuh manusia, karena kadar hemoglobin yang rendah mempengaruhi kemampuan menghantarkan O₂ yang sangat dibutuhkan oleh seluruh jaringan tubuh (Hoffbrand AV, et al, 2005).

Prevalensi defisiensi besi di Indonesia menurut RISKESDAS 2013 yakni 31,7%, banyak faktor yang menyebabkan terjadinya defisiensi besi seperti kebutuhan zat besi yang tidak terpenuhi (Theresia dkk, 2016). Defisiensi Besi adalah suatu kondisi medis dimana jumlah sel darah merah atau hemoglobin kurang dari normal (Rizka, 2017). Pemberian zat besi secara oral ini dapat menimbulkan efek samping yang beragam pada sebagian orang, seperti rasa mual, bau tablet yang tidak enak, pusing, nyeri di daerah lambung dan diare (Ika dkk, 2015)

Kecemasan masyarakat atas efek samping yang timbul dari penggunaan suplemen besi secara peroral membuat masyarakat lebih memilih penggunaan obat-obatan alami dari alam contohnya herbal kelakai. Salah satu tumbuhan obat khas dari Kalimantan yaitu kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd) yang pada umumnya dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai sayur dan secara turun temurun dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Masyarakat dayak mempercayai bahwa kelakai (*Stenochlaena palustris*) mampu meningkatkan kadar hemoglobin (Hb) pada penderita anemia (Noor dkk, 2016).

Fakta empiris tersebut didukung oleh adanya penelitian yang mengidentifikasi kandungan yang terdapat dalam tumbuhan kelakai diantaranya adalah fenol, flavonoid, steroid, alkaloid, beberapa mineral seperti Ca dan zat besi (Fe). Kandungan Fe dan flavonoid yang terdapat pada kelakai inilah yang kemungkinan dijadikan dasar bahwa ekstrak kelakai dapat dimanfaatkan untuk pengobatan anemia (Noor dkk, 2016). Zat besi (Fe) merupakan faktor yang penghubung dengan pembentukan sel darah merah dan hemoglobin dalam darah. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang berperan sebagai antioksidan didalam sel darah yang bertindak untuk menampung radikal bebas dan menegah kerusakan sel darah.

Meningkatkan kadar hemoglobin menggunakan ekstrak kelakai ini lebih optimal dikarenakan proses absorpsi dalam waktu yang singkat contohnya pada bentuk sediaan mikroemulsi.

Mikroemulsi merupakan sediaan yang stabil secara termodinamik, transparan, dispersi dari minyak dan air distabilkan oleh lapisan antarmuka dari molekul surfaktan. Mikroemulsi menyebabkan penghantaran obat lebih baik dibandingkan emulsi konvensional karena dapat meningkatkan kelarutan dari obat yang sukar larut dalam air sebab ukuran partikelnya yang lebih kecil (Endang dkk, 2016).

Berdasarkan uraian data diatas perlu dilakukan serangkaian penelitian untuk membuktikan khasiat dan pengaruh dari kelakai yang dapat meningkatkan kadar Hemoglobin pada tikus putih yang diinduksi dengan natrium nitrit pada tehnik formulasi mikroemulsi.

2. Metode Penelitian

• Pembuatan simplisia herba kelakai

Pengumpulan sampel dilakukan secara random, sampel diambil dari ladang masyarakat sekitar di desa sawahan, Kecamatan Mentawa Baru Ketapang, Kabupaten Kotawaringin Timur, Kalimantan Tengah. Pisahkan bagian daun dan batang tanaman, kemudian dicuci bersih lalu ditiriskan. Bagian tanaman dirajang tipis, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, simplisia selanjutnya diblender, diayak untuk mendapatkan butiran serbuk yang seragam.

• Ekstraksi dan skrining fitokimia herba kelakai

Serbuk halus herba kelakai seberat 500 gram direndam dengan pelarut etanol 70% sebanyak 2L sambil diaduk perlahan hingga cairan penyari merendam diatas permukaan serbuk. Perendaman dilakukan selama 5 hari. Setelah 5 hari direndam, ampas diperas serta dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring dan kain mori. Ekstrak dipisahkan untuk diuapkan menggunakan *waterbath* hingga etanol menguap tersisa 30% air dan ekstrak.

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya komponen-komponen bioaktif yang terdapat pada bawang dayak. Skrining fitokimia meliputi uji alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin dengan metode yang dikemukakan Harborne.

- **Formulasi sediaan mikroemulsi ekstrak herba kelakai**

Formulasi mikroemulsi dibuat menjadi 3 bagian : F1 mengandung senyawa aktif ekstrak herba kelakai, F2 tidak mengandung senyawa aktif (Placebo), dan F3 mengandung obat sakatonik liver.

Tehnik pembuatan mikroemulsi herba kelakai dengan mengecilkan ukuran partikel dan dihomogenkan dengan blender selama 5 menit. Kemudian dilanjutkan dengan pemanasan serta pengadukan menggunakan hotplate magnetic stirrer kecepatan sedang bersuhu 50°C selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan pengadukan menggunakan alat *ultra trax* dengan kecepatan 16000 rpm selama 10 menit.

Tabel 1. Formula Mikroemulsi Ekstrak Herba Kelakai

Nama Bahan	Konsentrasi % v/v			Fungsi
	F2	F3		
VCO	5	5	5	Fase minyak
Span 80	3,8	3,42	2,85	Surfaktan
Tween 80	16,2	14,58	2,15	Surfaktan
Ekstrak Herba Kelakai	6,44	-	-	Zat Aktif
Sakatonik Liver	-	-	0,09	Zat Aktif
Asam Sitrat	0,02	0,02	0,02	Antioksidan
Buffer Fosfat pH 7	2	2	2	Pendapar
Na Benzoat	0,01	0,01	0,01	Pengawet
Gliserin	20	20	20	Kosurfaktan
Akuades	Add 100	Add 100	Add 100	Fase air

Keterangan :

F1 : Formula Ekstrak Herba Kelakai

F2 : Formula Placebo

F3 : Formula Sakatonik Liver

- **Uji sifat fisik sediaan mikroemulsi ekstrak herba kelakai**

- ✓ Uji Organoleptis

Pengujian organoleptis adalah pengujian yang dilakukan dengan cara mengamati bentuk, warna dan bau sediaan. Pengamatan dilakukan secara visual dengan menggunakan panca indra yaitu : pengelihatian, pembau, pengecap dan peraba. Pemeriksaan ini dilakukan dengan mengamati bau, kejernihan, warna, homogenitas dan pemisahan fase dari mikroemulsi ekstrak herba kelakai.

- ✓ Uji pH

10 gram sediaan mikroemulsi diukur pH sediaan dengan menggunakan alat potensiometrik (pH meter) atau bias menggunakan kertas pH meter dengan membandingkan warna yang dihasilkan dengan warna pH yang tertera pada kemasan pada suhu $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

- ✓ Uji Viskositas

Pengujian dilakukan dengan bantuan alat *partical Size analyzer (PSA)*. Analisa dilakukan sama dengan saat pemeriksaan ukuran partikel.

- ✓ Uji Tipe Mikroemulsi

Pengujian dilakukan dengan cara mengencerkan mikroemulsi dengan air. Jika mikroemulsi tercampur baik dengan air, maka tipe mikroemulsi adalah minyak dalam air atau *o/w (oil/water)*, sebaliknya jika air yang ditambahkan membentuk globul pada mikroemulsi maka tipe mikroemulsi adalah air dalam minyak atau *w/o (water/oil)*.

- ✓ Uji Sentrifugasi

Sediaan mikroemulsi dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi kemudian dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 3750 rpm selama 5 jam. Uji sentrifugasi ini menggambarkan kestabilan mikroemulsi karena pengaruh gravitasi yang setara dengan 1 tahun. Setelah dilakukan pemutaran maka diukur tinggi endapan dari mikroemulsi tersebut.

- ✓ Uji Ukuran Partikel

Ukuran Partikel diukur menggunakan *particle size analyzer (PSA)* dengan tipe *dynamic light scattering*. Sebanyak 10 ml sampel diambil dan dimasukkan ke dalam kuvet. Kuvet harus terlebih dahulu dibersihkan sehingga tidak mempengaruhi hasil analisa. Kuvet yang telah diisi dengan sampel kemudian dimasukkan kedalam wadah sampel dan dilakukan analisa oleh (*PSA*).

- **Uji Efektivitas Peningkatan Kadar Hemoglobin Sediaan Mikroemulsi Ekstrak Herba Kelakai Terhadap Tikus Putih Yang Di Induksi NaNO_2**

1. Natrium Nitrit

Natrium Nitrit dalam bentuk serbuk yang dilarutkan dengan aquadest. Dosis natrium nitrit yang diberikan pada 3 tikus putih adalah 125 mg/ 200 gram BB tikus. Natrium nitrit diberikan selama 7 hari dengan dosis 2 kali pemberian per hari.

2. Penentuan Dosis Sakatonik Liver

Sakatonik Liver sebagai kontrol positif. Perhitungan dosis sakatonik liver untuk manusia (70Kg) adalah 5 ml/hari. Didapatkan dari konversi dosis manusia kepada tikus dengan asumsi berat badan tikus adalah 200 gram. Faktor konversi dosis untuk manusia dengan berat badan 70 kg pada tikus dengan berat badan 200 gram adalah 0,018. Dosis untuk tikus 200 gram = 5 ml x 0,018 = 0,09 ml/200gBB per hari.

3. Penentuan Dosis Herba Kelakai

Pada dosis lazim yang biasa digunakan oleh manusia (70Kg) adalah 300 gr/ hari. Berat kelakai basah 5,750 gr dan berat kering 640 gr. Ekstrak kental yang didapat sebanyak 322 ml. Didapatkan dari konversi dosis manusia kepada tikus dengan asumsi berat badan tikus adalah 200 gram.

Faktor konversi dosis untuk manusia dengan berat badan 70 kg pada tikus dengan berat badan 200 gram adalah 0,018. Pembuatan mikroemulsi menggunakan dosis 30 mg serbuk kering, setelah diekstrak menggunakan etanol 70% 30 mg serbuk simplisia = 6,44 ml ekstrak. Sehingga dalam pembuatan mikroemulsi, dalam 1 ml mikroemulsi mengandung 30 mg ekstrak kelakai.

4. Perlakuan Hewan Uji

Efektivitas peningkatan kadar hemoglobin sediaan mikroemulsi ekstrak kelakai adalah tingkat keberhasilan dari sediaan mikroemulsi ekstrak herba kelakai yang telah diformulasi dengan baik sehingga dapat meningkatkan kadar hemoglobin sesuai dengan target yang diharapkan. Langkah pertama yang dilakukan adalah mengukur kadar haemoglobin awal pada hewan uji pada hari Ke-0 yang sebelum diinduksi dengan natrium nitrit.

Pengambilan darah pada hewan uji dilakukan melalui *sinus retro-orbitalis* atau vena mata. Selanjutnya darah langsung di sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Bagian jernih yang disebut dengan serum diambil untuk dilakukan pemeriksaan pada alat *photometric* untuk mengetahui kadar awal hemoglobin hewan uji.

Langkah selanjutnya 9 ekor tikus diberikan perlakuan induksi natrium nitrit dengan dosis 125 mg/ 200 gram BB tikus. Natrium nitrit diberikan selama 7 hari dengan dosis 2,5 ml 2 kali pemberian per hari. Setelah 7 hari, dilakukan pengukuran kadar hemoglobin kembali untuk mengetahui penurunan kadar hemoglobin setelah dilakukan perlakuan induksi pada hari Ke-7.

Apabila sudah terjadi penurunan kadar hemoglobin, 9 hewan uji dilakukan pemisahan menjadi 3 kelompok. Tiap kelompok terdiri dari 3 hewan uji yang akan diberikan perlakuan berbeda, perlakuan tersebut diantaranya sebagai berikut :

- a. Kelompok I/ (Kp) (Kontrol perlakuan mikroemulsi ekstrak herba kelakai) pada hari Ke-7 s/d hari Ke-14
- b. Kelompok II/ (-) (Mikroemulsi Placebo) pada hari Ke-7 s/d hari Ke-14 diberi pakan dan minum standart.
- c. Kelompok III/ (+) (Mikroemulsi Sakatonik Liver)

pada hari Ke-7 s/d hari Ke-14 sebanyak 0,09 ml/200gBB per hari.

• Analisis Data Uji Efektivitas

Data hasil Kadar hemoglobin yang diperoleh. Kadar hemoglobin ditentukan persen peningkatannya untuk mengetahui efek dari mikroemulsi kelakai.

Data tersebut dianalisis untuk diuji normalitasnya dengan *Kolmogorov-Smirnov z test* ($p>0,05$) dan *Shapiro Wilk* ($p>0,05$). Uji homogenitas dengan *Levene test* ($p>0,05$) untuk mengetahui data homogen atau tidak homogen. Uji parametrik menggunakan *One way Anova* dengan metode *LSD* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok mikroemulsi bawang dayak, kelompok kontrol positif, dan kelompok kontrol negatif yang diberi perlakuan yang berbeda.

3. Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas pemberian sediaan mikroemulsi ekstrak herba kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd) terhadap peningkatan kadar hemoglobin tikus putih yang diinduksi natrium nitrit.

Sampel yang digunakan adalah kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd). Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd) merupakan salah satu tumbuhan khas dari kalimantan yang pada umumnya dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai sayur dan secara turun temurun dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Bagian batang dan daun kelakai dipisahkan kemudian diolah menjadi simplisia kering.

Proses pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan terlindung dari sinar matahari. Kandungan bahan aktif yang terdapat pada tumbuhan sangat dipengaruhi pada proses pengeringan.

Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Pemilihan metode maserasi karena cara ekstraksi ini merupakan cara yang paling praktis dan sederhana dengan merendam sampel menggunakan pelarut. Metode ekstrak maserasi menggunakan serbuk bertujuan untuk memperluas permukaan sehingga interaksi pelarut dengan senyawa yang akan diambil lebih efektif dan senyawa dapat terekstrak sempurna.

Pada saat proses ekstraksi berlangsung dilakukan perendaman sampel dengan pelarut selama 5 hari dan dilakukan pengadukan secara berkala serta dilakukan penyaringan. Ekstrak akan dilakukan pemekatan dengan bantuan alat *waterbath*, melalui penguapan yang dihasilkan oleh alat sehingga menghasilkan ekstrak yang cair menjadi ekstrak yang kental.

Efek farmakologi pada suatu tumbuhan dipengaruhi oleh adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tumbuhan tersebut. Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd).

Hasil identifikasi dengan metode Harborne tahun 1987 yang dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak herba kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.f) Bedd) positif mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin serta steroid.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Terhadap Mikroemulsi Ekstrak Herba Kelakai

Senyawa	Uji	Standar Warna	Kesimpulan
Alkaloid	Sampel+H ₂ S O ₄ 2N+pereaksi Dragendorff	Endapan cokelat	(+)
Flavonoid	Sampel+serbuk Zn+HCl 2N	Warna kuning, jingga sampai merah	(+)
Saponin	Sampel+air panas, dikocok (+ 1% HCl)	Terbentuk busa yang stabil	(+)
Tanin	Sampel+FeCl ₃ 1%	Terbentuk endapan	(+)
Steroid/ Terpenoid	Sampel+ kloroform+ As.asetat anhidrat+ H ₂ SO ₄ pekat	Warna biru menjadi hijau	(+)

• **Formulasi Sediaan Mikroemulsi Ekstrak Herba Kelakai**

Ekstrak herba kelakai termasuk kedalam fase air. Surfaktan yang digunakan adalah surfaktan non-ionik merupakan campuran tween 80 dan span 80 yang menghasilkan nilai HLB sebesar 13 agar didapatkan sediaan mikroemulsi fase minyak dalam air. Tipe O/W dipilih karena cocok digunakan untuk penggunaan peroral dan dalam pembuatan mikroemulsi terbentuk fraksi minyak lebih sedikit dari volume fraksi air.

Fase minyak yang digunakan adalah VCO atau minyak kelapa murni karena minyak kelapa kaya asam lemak rantai medium terutama asam laurat serta memiliki aktivitas antioksidan. Kosurfaktan yang digunakan adalah gliserin, karena gliserin tidak rentan terhadap oksidasi penyimpanan serta dapat digunakan sebagai peningkat viskositas.

• **Uji Sifat Fisik Mikroemulsi Ekstrak Herba Kelakai**

Sediaan mikroemulsi yang stabil ialah sediaan yang memenuhi parameter sifat fisik yang ditentukan dan dapat mempertahankan sifat fisiknya selama masa penyimpanan. Tujuan dari pengujian sifat fisik yaitu untuk mengetahui kriteria sifat fisik dari sediaan mikroemulsi ekstrak herba kelakai yang dibuat oleh peneliti.

Hasil pengujian organoleptis dan pH dari formula sediaan mikroemulsi ekstrak herba kelakai memiliki warna Hijau, Rasa pahit dan berminyak, Rasa pahit yang ditimbulkan dari ekstrak tersebut disebabkan dari alkaloid yang terkandung didalam tanaman. Tidak terjadi pemisahan fase, Bau khas dari VCO, Homogen secara fisik dan pH 5 termasuk kedalam pH asam lemah sehingga memudahkan mikroemulsi proses absorpsinya terjadi dilambung. Pengujian organoleptis dengan metode panca indra, hal yang diamati meliputi warna, bau, kejernihan, homogenitas, dan pemisahan fase sediaan mikroemulsi. Metode pengukuran pH dengan menggunakan *strips pH indicator universal*.

Nilai viskositas yang dihasilkan sebesar 0,896 mPa·s. Nilai viskositas sebesar 0,896 mPa·s menunjukkan mikroemulsi herba kelakai memiliki viskositas yang rendah karena tidak berbeda bila dibandingkan dengan viskositas air sebesar 0,899 mPa·s. Viskositas yang rendah ini memudahkan mengalirnya mikroemulsi herba kelakai melalui sonde oral untuk hewan uji. Uji viskositas ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui tingkat kekentalan pendispersi mikroemulsi ekstrak herba kelakai mengenai daya alir sediaan apakah mudah dituang atau tidak. Pengukuran viskositas pada penelitian ini dilakukan dengan metode *partical size analyzer*.

Hasil dari pengujian ini memiliki hasil (M/A) atau (O/W) dikarenakan pada saat penambahan air dengan mikroemulsi tercampur sempurna. Sehingga sediaan mikroemulsi tipe (M/A) atau (O/W) sesuai untuk dijadikan sediaan oral. Pengujian tipe mikroemulsi dilakukan dengan metode dilusi atau pengenceran. Metode ini dipilih karena pengerjaannya yang mudah dan cepat. Uji dilakukan dengan melarutkan sampel kedalam fase air (1:100) dan fase minyak (1:100).

Jika sampel larut sempurna dalam aquadest, maka tipe mikroemulsi tergolong dalam tipe minyak dalam air (M/A), sedangkan jika sampel larut sempurna dalam fase minyak, maka tipe mikroemulsi tergolong dalam tipe air dalam minyak (A/M).

Sediaan mikroemulsi yang telah melewati uji sentrifugasi tidak mengalami pemisahan fase. Hal ini menunjukkan bahwa, apabila tidak mengalami pemisahan fase, maka mikroemulsi yang berbentuk stabil secara fisik dan memiliki waktu simpan yang lama.

Uji sentrifugasi dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya pemisahan fase yang mungkin terjadi akibat gaya gravitasi, akan menjadi indikasi kestabilan sediaan selama 1 tahun jika disimpan pada suhu kamar dan tidak terjadi pemisahan atau kerusakan struktur sampel sehingga sediaan mikroemulsi dapat bertahan lama.

Proses pengukuran partikel sediaan dilakukan dengan alat *particle size analyzer* (PSA) Horiba SZ -100 dengan tipe *dynamic light scattering*. Pengujian ukuran partikel dilakukan untuk melihat sediaan yang telah dihasilkan apakah memiliki ukuran droplet yang sesuai dengan kriteria mikroemulsi sekitar 0,15 - 2 μm . Dari pengukuran tersebut didapatkan hasil ukuran partikel sebesar 0,785 μm dan indeks polidispersitas sebesar 0,165 dengan suhu pengujian 25°C.

• Uji Efektifitas Peningkatan Kadar Hemoglobin Mikroemulsi Ekstrak Herba Kelakai

Pengujian efektivitas peningkatan kadar haemoglobin dilakukan pada tikus putih anemia. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur Wistar berumur 4-5 bulan. Umur hewan uji 4-5 bulan merupakan tikus dewasa dimana metabolisme berjalan dengan optimal. Apabila tikus terlalu muda fungsi organ belum berkerja secara sempurna sedangkan apabila tikus terlalu tua terjadi penurunan fungsi organ. Tikus yang digunakan berkelamin betina karena wanita lebih rentan mengalami penurunan kadar haemoglobin. Darah diambil melalui vena mata tikus karena sampel yang dibutuhkan cukup besar dan kemungkinan terjadinya hemolisis kecil dibandingkan pengambilan melalui vena ekor. Pengambilan darah dilakukan sebelum induksi (H0), setelah induksi (H7) dan setelah perlakuan (H14).

Pada hari pertama (H0) dilakukan pengambilan sampel darah sebagai kadar hemoglobin awal tikus sehat yang belum terpapar zat penginduksi. Pengambilan darah setelah diinduksi bertujuan untuk mengetahui induksi yang dilakukan berhasil atau tidak dengan membandingkan kadarnya dengan H-0. Induksi dikatakan berhasil apabila % kenaikan lebih dari 20%. Setelah diambil sampel darah dan diketahui kadar hemoglobinnya maka pada hari itu juga tikus diberi induksi natrium nitrit (125 mg/200 gram BB) agar kadar hemoglobinnya menurun.

Konsentrasi dari NaNO_2 tersebut didasarkan pada nilai NaNO_2 yang terkandung per kg daging olahan, yaitu : 125 mg/kg daging.

Perlakuan dilakukan selama 7 hari dengan dosis 2 kali pemberian per hari sebagai penginduksi sebanyak 2,5 ml yang mengandung 12,5 mg. Selanjutnya hari ke 7 (H7) dilakukan pengukuran kadar hemoglobin dan hasilnya terjadi penurunan kadar hemoglobin dengan membandingkan kadar sebelumnya (H0).

Hewan uji yang telah dinyatakan dikelompok menjadi 3 bagian : Kelompok I perlakuan diberikan (mikroemulsi ekstrak herba kelakai 30 mg/200gBB), Kelompok II diberi induksi (mikroemulsi placebo) sebagai kontrol negatif dan kelompok III diberikan (mikroemulsi sakatonik liver 0,09 ml/200gBB) sebagai kontrol positif. Pemberian perlakuan kontrol positif, negatif dan mikroemulsi ekstrak herba kelakai dilakukan selama 7 hari dimulai dari hari ke (H7) sampai hari ke (H14).

Hari ke 14 (H14) semua hewan percobaan diambil darahnya kembali dan setelah hasilnya diamati, terjadi peningkatan kadar hemoglobin, dengan membandingkan kadar pada (H7). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian mikroemulsi ekstrak herba kelakai efektif meningkatkan kadar hemoglobin pada tikus.

Masuknya NaNO_2 ke dalam tubuh sebenarnya tidak berpengaruh secara langsung pada leukosit karena NO yang berasal dari penguraian NaNO_2 lebih banyak berikatan dengan komponen eritrosit. Namun, dalam pengukuran profil darah ini tetap diukur jumlah leukosit total, persentase limfosit dan persentase neutrofil untuk melihat respon kekebalan tubuh yang ditunjukkan oleh respon sel-sel darah.

Uji normalitas menggunakan metode *Kolmogorov-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk.*, data dikatakan normal apabila nilai $p > 0,05$. Nilai signifikansi pada uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk*, jika nilai yang diperoleh lebih besar $p > 0,05$ maka sampel yang berasal dari populasi berdistribusi normal, sedangkan jika nilai nilai yang diperoleh lebih kecil $p < 0,05$ maka sampel bukan berasal dari populasi yang berdistribusi normal.

Pada pengujian *kolmogorov-Smirnov* nilai signifikan tidak didapatkan, karena pengujian ini hanya digunakan untuk penggunaan sampel yang banyak. Pengujian *Shapiro-Wilk* didapatkan data statistik persen peningkatan kadar hemoglobin dengan perlakuan pemberian sediaan mikroemulsi herba kelakai 0,973 dengan nilai signifikan sebesar 0,687 $> 0,05$. Kontrol negatif mikroemulsi placebo 0,991 dengan nilai signifikan sebesar 0,822 $> 0,05$.

Kontrol positif mikroemulsi sakatonik liver 0,946 dan nilai signifikan yang diperoleh sebesar $0,551 > 0,05$. Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan nilai $p > 0,05$, sehingga dapat disimpulkan data pada masing-masing kelompok terdistribusi normal.

Analisis statistik dilanjutkan dengan menguji homogenitas variasi data antar kelompok dengan menggunakan uji Levene pada oneway anova. Hasil uji One Way Anova pada lampiran 15, didapatkan nilai signifikan $p < 0,05 - 0,006$ dengan nilai F tabel anova 169,918 sehingga dari ketiga kelompok perlakuan pemberian sediaan mikroemulsi terdapat perbedaan bermakna dari setiap kelompok perlakuannya.

Uji parametrik One Way Anova bertujuan untuk melihat perbedaan peningkatan kadar hemoglobin pada masing-masing kelompok perlakuan. Syarat untuk melakukan uji oneway anova adalah varian antar kelompok harus homogen dan data masing-masing kelompok terdistribusi normal.

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata persen peningkatan kadar hemoglobin ada masing-masing kelompok perlakuan yaitu memiliki adanya perbedaan nyata, bahkan mikroemulsi ekstrak herba kelakai memiliki nilai 77.3700 dan sakatonik liver sebesar 72.7367 yang menandakan bahwa pemberian mikroemulsi ekstrak herba kelakai memiliki efek yang lebih bagus dari pada sakatonik dalam meningkatkan kadar hemoglobin pada tikus putih.

4. Kesimpulan

Dari hasil penelitian diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Berdasarkan hasil penelitian terhadap ekstrak herba kelakai diperoleh senyawa flavonoid dan mineral yang berperan penting dalam meningkatkan kadar hemoglobin.
2. Didapatkan sediaan mikroemulsi herba kelakai yang memenuhi standar dalam pembuatan sediaan meliputi uji organoleptis, uji tipe mikroemulsi, uji pH, uji viskositas, uji sentrifugasi dan uji ukuran partikel.
3. Mikroemulsi ekstrak herba kelakai memiliki karakteristik sifat fisik yang jernih, transparan, stabil. Ukuran partikel yang didapatkan memiliki rata-rata sebesar 700 nm atau setara dengan 0,7 μ m.
4. Didapatkan sediaan mikroemulsi ekstrak herba kelakai yang efektif untuk meningkatkan kadar hemoglobin dengan dosis efektif sebesar 30 mg/ 200gBB.

5. Saran

Berdasarkan hasil penelitian maka peneliti menyarankan :

1. Dengan penelitian ini maka dapat dijadikan sebagai referensi dalam menambah wawasan ilmu pengetahuan kefarmasian mengenai tanaman herbal.
2. Diharapkan peneliti selanjutnya dapat memodifikasi sediaan mikroemulsi ekstrak herba kelakai menjadi nanoemulsi ataupun dibuat sediaan farmasi lainnya untuk pengaplikasiannya sebagai alternatif obat anemia.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai konsentrasi formulasi untuk meningkatkan tingkat efektivitas dalam meningkatkan kadar hemoglobin.
4. Perlu dilakukan uji toksisitas pada mikroemulsi ekstrak herba kelakai.

6. Daftar Pustaka

- Endang Wahyu Fitriani, Erlina Imelda, Christina Kornelis & Christina Avanti, 2016. Karakterisasi Dan Stabilitas Fisik Mikroemulsi Tipe A/M Dengan Berbagai Fase Minyak, Fakultas Farmasi Universitas Surabaya, Jawa Timur, Indonesia
- Hoffbrand, A.V., J. E. Pettit., dan P.A.H. Moss, 2005. *Kapita Selekta Haematologi*. Edisi 4. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Ika Saptarini, Andi Susilowati dan Suparmi, 2015. Faktor Faktor Yang Berhubungan Dengan Konsumsi Tablet Besi Pada Ibu Hamil Di Kelurahan Kebon Kelapa, Bogor, Pusat Teknologi dan Intervensi Kesehatan Masyarakat, Bogor, Jawa Barat
- Noor Cahaya, Rahmina Aulia, Nurlily, 2016. Efek Daun Kelakai (*Stenochlaena Palustris*) Terhadap Jumlah Eritrosit, Bentuk Eritrosit Dan Kadar Hemoglobin (Hb) Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Anemia. Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan.
- Rizka Angrainy, 2017. Hubungan Pengetahuan Dengan Sikap Ibu Hamil Dalam Pencegahan Anemia Di Puskesmas Rumbai. Akademi Kebidanan Helvetia Pekanbaru, Indonesia.

Theresia Nancy Lesilolo, Joice N.A. Engka,
Herlina I.S. Wungouw. 2016.
Hubungan Pemberian Tablet Besi
Dan *Antenatal Care* Terhadap Kadar
Hemoglobin Pada Ibu Hamil Di
Kabupaten Bolaang Mongondouw
Utara. Fakultas Kedokteran
Universitas Sam Ratulangi, Manado

