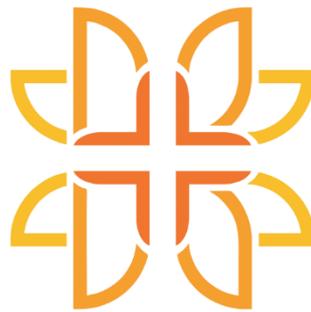


**Formulasi dan Karakterisasi Nanoemulsi M/A Astaxanthin Dengan Variasi
Polisorbat 80 dan Polietilenglikol (PEG) 400 Sebagai Campuran Surfaktan**

Laporan Tugas Akhir

Lailatul Fadilah

191FF04041



Universitas Bhakti Kencana

Fakultas Farmasi

Program Strata I Farmasi

Bandung

2021

LEMBAR PENGESAHAN

Formulasi dan Karakterisasi Nanoemulsi M/A Astaxanthin Dengan Variasi Polisorbit 80 dan Polietilenglikol (PEG) 400 Sebagai Campuran Surfaktan

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan Sarjana Farmasi

Lailatul Fadilah

191FF04041

Bandung, 22 Mei 2021

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



(apt. Yanni Dhiani Mardhiani, M.BSc.)
NIDN. 0430067205

Pembimbing Serta,



(apt. Deny Puriyani Azhary, S.Si., M.Si.)
NIDN. 0416057103

ABSTRAK

Formulasi dan Karakterisasi Nanoemulsi M/A Astaxanthin Dengan Variasi Polisorbat 80 dan Polietilenglikol (PEG) 400 Sebagai Campuran Surfaktan

**Oleh :
Lailatul Fadilah
191FF04041**

Astaxanthin memiliki aktivitas antioksidan sepuluh kali lebih besar dibandingkan karotenoid seperti β -karoten dan seratus kali lebih tinggi di bandingkan vitamin E. Namun pemanfaatannya masih terbatas karena kelarutannya dalam air sangat rendah yang mengakibatkan rendahnya absorpsi oleh kulit sehingga menyebabkan bioavailabilitasnya pun rendah. Dalam hal ini untuk meningkatkan potensi astaxanthin, maka penelitian ini bertujuan untuk formulasi dan karakterisasi nanoemulsi astaxanthin menggunakan polisorbat 80 dan polietilenglikol 400 sebagai campuran surfaktan dengan perbandingan 7:1; 8:1 dan 9:1 dengan metode pembuatan kombinasi emulsifikasi energi rendah dan tinggi. Analisis data yang digunakan yakni uji Kruskal-Wallis untuk data uji pH sediaan dan efisiensi penjerapan sedangkan uji pH selama stabilitas *freeze-thaw* dianalisis dengan uji anova *one-way*. Berdasarkan hasil pengujian didapatkan bahwa sediaan nanoemulsi dengan formula smix 9:1 merupakan formula yang paling optimum diantara formula lainnya yakni menghasilkan sediaan dengan karakteristik yang cukup baik secara organoleptis yakni memberikan tampilan berwarna orange muda, jernih, berbau khas dengan nilai pH memenuhi standar SNI 16-4399-1996 dengan nilai pH sediaan berkisar 7,13 hingga 7,15 dan berdasarkan uji sentrifugasi memberikan hasil yang stabil serta memiliki nilai ukuran partikel, indeks polidispersi dan zeta potensial masing-masing adalah $22,9 \pm 9,4$ nm 0,435 dan -21,4 mV serta nilai efisiensi penjerapan berkisar pada rentang 93,87% hingga 94,32%. Namun tidak cukup baik dalam stabilitas secara termodinamik karena tidak stabilnya sediaan selama pengujian stabilitas *freeze-thaw* dengan memberikan hasil terjadinya perubahan warna, transparansi dan perubahan pH.

Kata Kunci : Nanoemulsi, Astaxanthin, Polietilenglikol 400, Polisorbat 80, Surfaktan

ABSTRACT

Formulation and Characterization of Astaxanthin Nanoemulsions Using Polysorbate 80 and Polyethyleneglycol 400 as A Mixture of Surfactants

By:
Lailatul Fadilah
191FF04041

Astaxanthin has antioxidant activity ten times greater than carotenoids comparatively β -carotene and a hundred times higher than vitamin E. However, utilization of astaxanthin is still limited because its solubility in water is very low which results in low absorption by the skin, resulting in low bioavailability. In this case, to increase the potency of astaxanthin, this research was aimed to formulation and characterization of astaxanthin nanoemulsions using polysorbate 80 and polyethyleneglycol 400 as a mixture of surfactants with a ratio of 7:1; 8:1 and 9:1 with the method is a combination of low and high energy emulsification. The data obtained were analyzed by Kruskal-Wallis test for the data of the pH and the entrapment efficiency of nanoemulsions while the pH test during freeze-thaw stability was analyzed by the *One-way* anova test. Based on the test results, it was found that the nanoemulsion with the smix 9:1 formula was the most optimum formula among other formulas, because produce nanoemulsions with quite good characteristics organoleptically, with a light orange color appearance, clear, distinctive smell with a pH value that meets the SNI 16-4399-1996 standard. with pH values ranging from 7.13 to 7.15 and based on the centrifugation test gave stable results and had particle size, polydispersity index and zeta potential values are 22.9 ± 9.4 nm, 0.435 and -21.4 mV and the value of entrapment efficiency ranges from 93.87% to 94.32%. However, it is not good enough in thermodynamic stability because the nanoemulsions is unstable during freeze-thaw stability testing with the results of changes in color, transparency and changes in pH.

Keywords: Nanoemulsion, Astaxanthin, Polyethyleneglycol 400, Polysorbate 80, Surfactants

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, penulis ucapkan kepada Allah SWT atas pertolongan dan kehendak-Nya selama penulisan laporan penelitian Tugas Akhir II yang berjudul “Formulasi dan Karakterisasi Nanoemulsi M/A Astaxanthin Dengan Variasi Polisorbat 80 dan Polietilenglikol (PEG) 400 Sebagai Campuran Surfaktan” sehingga dapat terselesaikan dengan baik. Selain itu, penulis juga mendapat uluran tangan dari banyak pihak, maka dari itu penulis sangat berterima kasih kepada :

1. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana yakni Ibu Dr. apt. Patonah, M.Si.
2. Wakil Dekan Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana, Ibu apt. Raden Herni Kusriani, M.Si.
3. Ketua Program Studi Strata I Farmasi Universitas Bhakti Kencana, Bapak apt. Aris Suhardiman, M.Si.
4. Pembimbing yang telah memberikan tuntunan serta arahan kepada penulis dalam menyelesaikan laporan penelitian Tugas Akhir II yakni Ibu apt. Yanni Dhiani Mardhiani, M.BSc. dan Ibu apt. Deny Puriyani Azhary, S.Si., M.Si.
5. Seluruh dosen dan teman-teman Strata I Farmasi yang selalu mendukung dan membantu dalam penyusunan laporan penelitian Tugas Akhir II.

Penulis memahami keterbatasan atas kemampuan dan pengetahuan dalam penulisan laporan Tugas Akhir II ini. Maka dari itu, saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan untuk perbaikan di masa yang akan datang. Sebagai penutup, penulis berharap laporan Tugas Akhir II ini dapat berguna bagi para pembaca dan pihak-pihak yang berkepentingan.

Bandung, 22 Mei 2021

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xi
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 LATAR BELAKANG	1
1.2 RUMUSAN MASALAH	2
1.3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	2
1.4 HIPOTESIS PENELITIAN	3
1.5 TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 ASTAXANTHIN	4
2.2 NANOEMULSI.....	5
2.2.1 PENGERTIAN.....	5
2.2.2 TEKNIK PEMBUATAN	5
2.2.3 KOMPONEN NANOEMULSI.....	7
2.2.4 KARAKTERISASI NANOEMULSI.....	7
2.3 SURFAKTAN	9
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	11
3.1 METODE PENELITIAN	11
3.2 SUBYEK PENELITIAN.....	11
3.3 METODE PENGUMPULAN DATA	11
3.4 ANALISIS DATA.....	12
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN	13
4.1 ALAT DAN BAHAN PENELITIAN	13
4.2 OPTIMASI FORMULA SISTEM NANOEMULSI.....	13
4.3 PEMBUATAN NANOEMULSI ASTAXANTHIN	14
4.4 KARAKTERISASI SEDIAAN NANOEMULSI ASTAXANTHIN	14
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	17
5.1 OPTIMASI FORMULA SISTEM NANOEMULSI.....	17
5.2 PEMBUATAN NANOEMULSI ASTAXANTHIN	18
5.3 KARAKTERISASI SEDIAAN NANOEMULSI ASTAXANTHIN ...	19
5.3.1 UJI ORGANOLEPTIK.....	19
5.3.2 UJI pH.....	19
5.3.3 UJI UKURAN PARTIKEL DAN INDEKS POLIDISPERSI.....	20
5.3.4 UJI ZETA POTENSIAL.....	22
5.3.5 UJI SENTRIFUGASI	22
5.3.6 UJI EFISIENSI PENJERAPAN	23
5.3.7 UJI STABILITAS FREEZE-THAW	25

BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN.....	28
6.1 SIMPULAN	28
6.2 SARAN	28
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	34

DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI

Gambar 2.1. Struktur Astaxanthin.....	4
Gambar 5.1. Grafik pH Selama Uji Stabilitas <i>Freeze-thaw</i>	27

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Rancangan Formula Optimasi Smix : Fase Minyak Dengan Variasi Smix 9:1	13
Tabel 4.2 Rancangan Formula Optimasi Smix : Fase Minyak Dengan Variasi Smix 8:1	14
Tabel 4.3 Rancangan Formula Optimasi Smix : Fase Minyak Dengan Variasi Smix 7:1	14
Tabel 5.1 Hasil Optimasi Smix : Fase Minyak Dengan Variasi Smix 9:1	18
Tabel 5.2 Hasil Optimasi Smix : Fase Minyak Dengan Variasi Smix 8:1	18
Tabel 5.3 Hasil Optimasi Smix : Fase Minyak Dengan Variasi Smix 7:1	18
Tabel 5.4 Hasil Uji Organoleptik Sediaan Nanoemulsi Astaxanthin	19
Tabel 5.5 Hasil Uji pH Sediaan Nanoemulsi Astaxanthin	20
Tabel 5.6 Hasil Pengukuran Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersi.....	21
Tabel 5.7 Hasil Uji Sentrifugasi Sediaan Nanoemulsi Astaxanthin.....	23
Tabel 5.8 Hasil Uji Penjerapan Nanoemulsi Astaxanthin	24
Tabel 5.9 Hasil Uji Stabilitas <i>Freeze-thaw</i>	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Optimasi Sistem Nanoemulsi	34
Lampiran 2. <i>Certificate of Analysis</i> Astaxanthin.....	36
Lampiran 3. Hasil Pembuatan Nanoemulsi Astaxanthin.....	37
Lampiran 4. Uji Statistika Untuk Uji pH Sediaan	38
Lampiran 5. Hasil Pengukuran Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersi	39
Lampiran 6. Hasil Uji Zeta Potensial	42
Lampiran 7. Hasil Uji Sentrifugasi.....	43
Lampiran 8. Perhitungan Uji Efisiensi Penjerapan	45
Lampiran 9. Uji Statistika Efisiensi Penjerapan.....	51
Lampiran 10. Hasil Uji Stabilitas Freeze-thaw	52
Lampiran 11. Uji Stabilitas pH Selama Uji Stabilitas	53
Lampiran 12. Surat Pernyataan Bebas Plagiasi	54
Lampiran 13. Surat Persetujuan Untuk Dipublikasikan di Media On Line.....	55
Lampiran 14. Hasil Pengecekan Plagiasi	56
Lampiran 15. Kartu Bimbingan Tugas Akhir.....	57
Lampiran 16. Bukti Persetujuan Tanda Tangan Elektronik Dosen Pembimbing.....	58

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	NAMA
μL	Mikro Liter
b/b	Bobot/bobot
b/v	Bobot/volume
C	Celcius
<i>EE</i>	<i>Entrapment Efficiency (Efisiensi Penjerapan)</i>
mV	mili Volt
PEG	Polietilenglikol
pH	Potensial Hidrogen
ppm	<i>Part per million</i>
PSA	<i>Particle Size Analyzer</i>
rpm	<i>Revolutions per minute</i>
Smix	Surfaktan Mix

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Beberapa tahun terakhir, astaxanthin sangat populer dan menarik banyak minat dari peneliti karena potensi efek farmakologisnya yang sangat besar mencakup aktivitas anti-kanker, anti-diabetes, anti-inflamasi dan antioksidan sebagai *neuro protective*, *cardiovascular protective*, *ocular protective* dan *skin protective* (Yuan, J. P. *et al.*, 2011). Astaxanthin banyak dimanfaatkan dalam kosmetik untuk permasalahan dermatologis karena efek supresi hiperpigmentasi, sintesis melanin, inhibisi *photoaging* dan pengurangan pembentukan kerutan, penghambatan mediator inflamasi serta meningkatkan kesehatan dermal secara langsung pada beberapa tahapan stress oksidatif (Komatsu, T. *et al.*, 2017; Lorencini, M. *et al.*, 2014; Blume-Peytavi, U. *et al.*, 2016). Selain itu, diketahui aktivitas antioksidan dari astaxanthin sepuluh kali lebih besar dibandingkan karotenoid seperti β -karoten dan seratus kali lebih tinggi dibandingkan vitamin E (Naguib, Y. M. A., 2000). Namun, pemanfaatan potensi manfaat dari astaxanthin dalam kosmetik dan farmasi masih terbatas karena kelarutan astaxanthin dalam air sangat rendah yang mana tidak dapat diabsorpsi oleh kulit sehingga mengakibatkan bioavailabilitas yang rendah. Selain itu astaxanthin diketahui mudah terdegradasi baik pada saat penyimpanan ataupun saat proses pengolahan sehingga dapat mengurangi potensi manfaat dari astaxanthin. Untuk mengatasi permasalahan ini harus dikembangkan strategi penghantaran yang efisien dan tepat.

Terdapat beberapa teknik dalam meningkatkan bioavailabilitas dan kelarutan dari astaxanthin seperti modifikasi struktural, emulsifikasi atau mikroenkapsulasi. Selain itu beberapa studi menunjukkan adanya peningkatan secara fungsional pada astaxanthin yang diformulasikan dalam nanodispersi, liposom dan nanoemulsi (Liu, X. *et al.*, 2016). Salah satu teknik yang menjanjikan dalam meningkatkan bioavailabilitas dan kelarutan yang rendah dari astaxanthin adalah dengan mengembangkan formula astaxanthin dengan sistem penghantaran nanoemulsi. Nanoemulsi merupakan sistem dispersi koloidal mengandung droplet lipid yang kecil dengan ukuran 20-200 nm yang di dispersikan kedalam fase air sebagai fase kontinyu dan karena ukuran droplet yang sangat kecil nanoemulsi memiliki kejernihan optik dengan stabilitas yang baik (McClements, D. J., 2012). Bagaimanapun, sistem nanoemulsi dapat meningkatkan fungsi dari astaxanthin akan tetapi keberhasilannya sangat bergantung pada pemilihan dan komposisi surfaktan yang digunakan (Ozturk & McClements, 2016; Raikos, V. & Ranawana, V., 2017).

Polisorbat 80 merupakan surfaktan hidrofilik non ionik yang bekerja dengan meningkatkan kelarutan satu zat dengan zat lainnya (Rätz Bravo A. E. *et al.*, 2005). Sedangkan Polietilenglikol (PEG) 400 juga merupakan surfaktan hidrofilik non ionik yang memiliki gugus hidrofilik yang berupa gugus oksietilena (CH₂-CH₂-O) sehingga dapat menunjang fungsi polisorbat 80 dalam meningkatkan kelarutan astaxanthin. Oleh karena hal tersebut, penelitian ini ditunjukkan untuk formulasi dan karakterisasi sediaan nanoemulsi astaxanthin dengan variasi polisorbat 80 dan polietilenglikol (PEG) 400 sebagai campuran surfaktan.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah berdasarkan latar belakang diatas mencakup :

- a. Bagaimanakah formulasi dan karakterisasi sediaan nanoemulsi astaxanthin dengan menggunakan variasi polisorbat 80 dan polietilenglikol (PEG) 400 sebagai campuran surfaktan?
- b. Apakah sediaan nanoemulsi astaxanthin dengan polisorbat 80 dan polietilenglikol (PEG) 400 sebagai campuran surfaktan memenuhi karakteristik sediaan nanoemulsi yang disyaratkan?

1.3. Tujuan dan Manfaat Penelitian

Penelitian ini memiliki dua tujuan secara garis besar yakni :

a. Tujuan umum

Untuk membuat formulasi dan karakterisasi sediaan nanoemulsi astaxanthin dengan berbagai variasi polisorbat 80 dan polietilenglikol (PEG) 400 sebagai campuran surfaktan.

b. Tujuan khusus

Untuk mendapatkan formula yang optimum dari sediaan nanoemulsi mengandung astaxanthin yang memenuhi karakteristik sediaan nanoemulsi yang disyaratkan.

Manfaat dari penelitian ini terdiri dari manfaat bagi peneliti, bagi instansi dan bagi pembaca, yakni sebagai berikut :

a. Bagi Peneliti

Peneliti mampu mengetahui perbandingan campuran surfaktan yang optimum untuk dapat menghasilkan sediaan nanoemulsi astaxanthin yang stabil.

b. Bagi Instansi

Dapat menambah literatur tentang penggunaan polisorbate 80 dan polietilenglikol (PEG) 400 sebagai campuran surfaktan dalam pembuatan sediaan nanoemulsi astaxanthin.

c. Bagi Pembaca

Pembaca dapat menjadikan referensi sebagai bahan ajar dan pengetahuan mengenai penggunaan polisorbate 80 dan polietilenglikol (PEG) 400 sebagai campuran surfaktan dalam pembuatan sediaan nanoemulsi astaxanthin.

1.4. Hipotesis Penelitian

Perbandingan polisorbate 80 dan polietilenglikol (PEG) 400 sebagai campuran surfaktan berpengaruh terhadap karakteristik sediaan nanoemulsi astaxanthin yang dihasilkan.

1.5. Tempat dan Waktu Penelitian

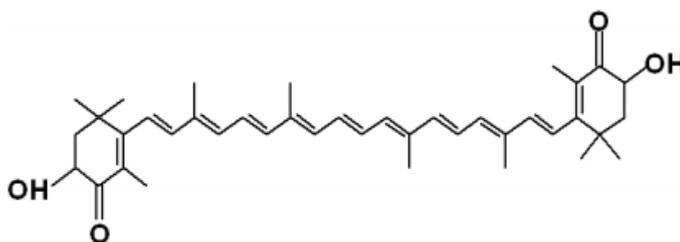
Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Februari hingga bulan Mei 2021 yang dilakukan di Laboratorium Farmasetika Universitas Bhakti Kencana.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Astaxanthin

Astaxanthin merupakan karotenoid xantofil yang merupakan pigmen berwarna merah yang bersifat lipofilik yang diproduksi oleh *Haematococcus pluvialis* yang merupakan mikroalga hijau pada kondisi stress seperti salinitas yang tinggi, defisiensi nitrogen, temperatur yang tinggi dan adanya cahaya (Higuera-Ciapara, I. *et al.*, 2006; Ranga Rao, A., 2011 dan Sarada, R. *et al.*, 2012). Astaxanthin dilaporkan pada beberapa studi memiliki aktivitas biologis yang lebih poten dibandingkan dengan karotenoid lainnya karena potensi efek farmakologisnya yang sangat besar mencakup aktivitas anti-kanker, anti-diabetes, anti-inflamasi dan antioksidan sebagai *neuro protective*, *cardiovascular protective*, *ocular protective* dan *skin protective* (Yuan, J. P. *et al.*, 2011).

Efek *skin protective* astaxanthin pada beberapa tahun terakhir banyak digunakan pada pemakaian secara topical untuk kosmetik dan permasalahan dermatologis karena astaxanthin dapat meningkatkan kesehatan dermal secara langsung pada beberapa tahapan stress oksidatif dan pada saat yang bersamaan menghambat mediator inflamasi serta efek astaxanthin pada supresi hiperpigmentasi, sintesis melanin, inhibisi *photoaging* dan pengurangan pembentukan kerutan juga telah dilaporkan dalam beberapa studi klinis (Komatsu, T. *et al.*, 2017; Lorencini, M. *et al.*, 2014; Blume-Peytavi, U. *et al.*, 2016). Selain itu, diketahui aktivitas antioksidan dari astaxanthin sepuluh kali lebih besar dibandingkan karotenoid seperti β -karoten dan seratus kali lebih tinggi dibandingkan vitamin E (Naguib, Y. M. A., 2000). Aktivitas antioksidan tersebut disebabkan adanya gugus karbonil terminal yang terkonjugasi pada kerangka poliene yang bertanggung dalam menangkal radikal bebas, selain itu pada struktur astaxanthin yang dapat dilihat pada **Gambar 2.1** terdapat dua cincin yang teroksidasi sehingga meningkatkan aktivitas antioksidan sehingga lebih poten dibandingkan karotenoid lain seperti β -karoten (Sandmann, G., 1994; Jackson, H. *et al.*, 2008; Hussein, G., 2006; Beutner, S., *et al.*, 2001).



Gambar 2.1. Struktur astaxanthin (Lorenz, R.T., 1999).

2.2. Nanoemulsi

2.2.1 Pengertian

Emulsi adalah sistem bifasik di mana satu fase terdispersi dalam fase lainnya dalam bentuk droplet, emulsi merupakan sebuah sistem termodinamika tidak stabil, yang dapat distabilkan oleh adanya agen pengemulsi (*emulsifier*). Fase terdispersi juga disebut fase diskontinyu atau internal sedangkan fase pendispersi dikenal sebagai fase kontinyu atau eksternal. Nanoemulsi merupakan sistem kolloidal partikulat dengan ukuran submikron yang secara termodinamik dan kinetik merupakan dispersi isotropik yang stabil, yang terdiri atas dua fase yang tidak dapat tercampur seperti minyak dan air yang distabilkan dengan lapisan film permukaan yang terdiri atas surfaktan dan ko-surfaktan yang membentuk satu fase tunggal (Nikam, T. H. *et al.*, 2018; Gurpreet, K. dan Singh, S. K., 2018).

Syarat “nanoemulsi” juga mengacu pada miniemulsi dengan dispersi minyak/air atau air/minyak distabilkan oleh molekul surfaktan dengan kisaran ukuran droplet sebesar 20-600 nm. Karena ukurannya yang kecil, nanoemulsi bersifat transparan. Ada tiga jenis nanoemulsi yang dapat dibentuk :

- a. Nanoemulsi minyak dalam air (M/A) di mana minyak terdispersi dalam fase air sebagai fase kontinyu.
- b. Nanoemulsi air dalam minyak (A/M) di mana air terdispersi dalam fase minyak sebagai fase kontinyu.
- c. Nanoemulsi *bi-continuous* (Nikam, T. H. *et al.*, 2018).

2.2.2 Teknik Pembuatan

Nanoemulsi memiliki kisaran ukuran partikel yang sangat kecil, berikut beberapa teknik pembuatan nanoemulsi :

- a. Homogenisasi dengan tekanan tinggi (Pershing, L.K. *et al.*, 1993)

Persiapan nanoemulsi membutuhkan homogenisasi dengan tekanan tinggi untuk mendapatkan ukuran partikel nanoemulsi yang sangat kecil (hingga 1 nm). Dispersi dari dua fase (fase minyak dan fase air) didapatkan dengan menekan campuran melalui lubang yang kecil dengan tekanan yang besar mencapai 500 hingga 5000 psi), sehingga membuat produk mengalami goncangan besar dan pergeseran hidrolis membuat partikel menjadi lebih kecil. Teknik ini memiliki efisiensi yang besar, satu-satunya kelemahan dari teknik

ini adalah konsumsi energi yang tinggi dan peningkatan suhu emulsi selama proses pembuatan sediaan.

b. Mikrofluidasi (Hadgraft, J., 2001)

Mikrofluidasi merupakan teknik pembuatan nanoemulsi yang memanfaatkan instrumen yang disebut *microfluidizer*. Instrumen ini menggunakan saluran pompa dengan tekanan positif tinggi berkisar 500 hingga 20.000 psi, sehingga mengharuskan partikel melalui saluran kecil yang disebut “saluran mikro”. Partikel mengalir ke sebuah area tumbukan sehingga partikel menjadi sangat kecil dengan ukuran nano. Fase air dan minyak dicampurkan dan dilanjutkan prosesnya dengan *homogenizer* untuk menghasilkan emulsi kasar. Emulsi kasar dimasukkan kedalam *micro-fluidizer* agar menjadi stabil yang kemudian dilewatkan berulang kali hingga diperoleh ukuran partikel yang diinginkan. Kemudian, nanoemulsi yang dihasilkan disaring melalui filter dibawah nitrogen untuk menghilangkan droplet yang besar dan menghasilkan nanoemulsi yang homogen.

c. Ultrasonikasi (Shi, Y. *et al.*, 2015)

Dalam teknik ini, emulsi yang telah dicampur sebelumnya terpapar gelombang ultrasonik pada frekuensi 20 kHz untuk mengurangi ukuran droplets menjadi nanodroplets. Emulsi yang dihasilkan kemudian melewati daerah pergeseran yang tinggi untuk membentuk droplets dengan distribusi ukuran yang homogen. Jaket air yang digunakan dalam teknik ini untuk mengatur suhu. Shi, Y. *et al.* (2015) memformulasikan nanoemulsi emodin dengan menggunakan metode emulsifikasi ultrasonik pada frekuensi 25 kHz menghasilkan nanoemulsi emodin dengan diameter rata-rata sebesar 10-30 nm.

d. Metode Fase Inversi (Hussan,R. K., 2011)

Transisi ini dihasilkan melalui cara optimasi variasi komponen dari emulsi dan menjaga suhu untuk tetap konstan atau sebaliknya. Suhu yang naik dapat mengakibatkan adanya perubahan kimiawi surfaktan polioksietelena melalui degradasi rantai polimer.

e. Emulsifikasi Spontan (Devarajan, V. dan Ravichandran, V., 2011)

Teknik persiapan nanoemulsi ini melibatkan tiga tahap yakni, tahap pertama adalah pembuatan larutan organik homogen yang dibuat dengan menghomogenkan minyak dan surfaktan larut lemak dalam pelarut larut air dan surfaktan larut air. Kemudian campuran tersebut diinjeksikan dalam fase air dengan pengadukan magnet, membentuk emulsi M/A. Pelarut yang larut dalam

air dihilangkan dengan penguapan di bawah tekanan yang dikurangi. Sugumar, S. *et al.* (2015) memformulasikan nanoemulsi minyak kayu putih yang stabil dengan mengadopsi emulsifikasi spontan dengan ukuran rata-rata droplet dalam kisaran 50-100 nm.

2.2.3 Komponen Nanoemulsi

Komponen utama nanoemulsi adalah minyak, agen pengemulsi dan fase air (Gasco, M. R. *et al.*, 1991; Kriwet, K. dan Müller-Goymann, C., 1995; Trotta, M., 1999). Minyak bisa dari jenis apa saja seperti minyak jarak, minyak jagung, minyak kelapa, minyak biji rami, minyak mineral, minyak zaitun, minyak kacang tanah, dan lain-lain. Campuran minyak dan air dapat menghasilkan emulsi sementara yang kasar, yang setelah bercampur, akan terpisah menjadi dua fase yang berbeda karena penggabungan dari butiran yang tersebar. Emulgator atau zat pengemulsi dapat memberikan stabilitas pada sistem tersebut. Emulgator secara luas diklasifikasikan sebagai surfaktan seperti span dan tween, koloid hidrofilik seperti akasia dan padatan halus terbagi, misalnya bentonit dan veegum. Emulgator selain memiliki sifat pengemulsi, juga harus tidak beracun serta rasa, bau dan kestabilan kimianya seharusnya kompatibel dengan produk. Beberapa sifat yang diinginkan dari suatu emulgator adalah:

- a. Harus mampu mereduksi tegangan permukaan di bawah 10 dynes/cm.
- b. Seharusnya teradsorpsi dengan segera di sekitar tetesan fase terdispersi untuk membentuk film lengkap dan koheren untuk mencegah penggabungan.
- c. Emulgator harus membantu dalam membangun zeta potensial dan viskositas yang adekuat dalam sistem untuk memberikan stabilitas optimal.
- d. Emulgator harus efektif dalam konsentrasi yang cukup rendah.

2.2.4 Karakterisasi Nanoemulsi

Karakterisasi nanoemulsi dilakukan untuk mengetahui kualitas dan kinerja nanopartikel sebagai sistem penghantaran obat, diantaranya meliputi :

- a. Uji Organoleptis

Uji Organoleptis merupakan pengamatan secara fisik dan parameter yang dapat diamati yakni bentuk, warna, bau dari sediaan nanoemulsi (Ansel, 1998).

b. Uji pH

Uji pH merupakan uji yang berfungsi mengukur keasaman dari sediaan nanoemulsi agar tidak menimbulkan ketidaknyamanan dalam penggunaannya (Garg *et al.*, 2002).

c. Efisiensi Penjerapan

Efisiensi penjerapan merupakan parameter karakterisasi yang bertujuan untuk mengukur banyaknya obat yang terjerap dalam sistem nanopartikel sebagai pembawa. Hal ini penting terutama ketika menformulasikan obat yang mahal. Efisiensi penjerapan dapat diperoleh dengan menghitung jumlah obat yang tidak terjerap dalam sistem nanoemulsi sehingga diketahui jumlah obat yang terdapat dalam sampel yang diinterpretasikan sebagai berikut :

$$\text{Presentase efisiensi penjerapan} = \frac{\text{Jumlah obat dalam sampel}}{\text{Total obat yang digunakan}} \times 100 \%$$

(Patel, P. J. *et al.*, 2014).

d. Pengukuran Zeta Potensial

Zeta potensial merupakan parameter penting yang secara langsung mempengaruhi stabilitas nanoemulsi. Besarnya harga zeta potensial dapat menyebabkan penurunan koalesensi droplet. Zeta potensial berkisar -30 mV atau $+30$ mV umumnya dianggap memiliki gaya tolak yang cukup untuk mencapai stabilitas fisik koloid yang lebih baik. Sebaliknya, nilai zeta potensial yang kecil dapat menghasilkan agregasi dan flokulasi partikel karena terdapat gaya *van der Waals* yang menghasilkan ketidakstabilan secara fisik. Secara umum, ketika potensial zeta dari sebuah emulsi tinggi, gaya tolak melebihi gaya tarik, menghasilkan sistem yang relatif stabil. Faktor penting yang mempengaruhi zeta potensial adalah pH dari media juga termasuk kekuatan ionik, konsentrasi aditif, dan suhu (Rajpoot, K. dan Tekade, R. K., 2019).

e. Indeks Polidispersi

Indeks polidispersi menggambarkan tingkat keseragaman ukuran partikel dalam nanoemulsi. Nanoemulsi dikatakan memiliki tingkat distribusi partikel yang seragam apabila nilai indeks polidispersinya kecil. Distribusi partikel disebut monodispersi apabila memiliki nilai indeks polidispersi dibawah 0,3 yang menandakan ukuran dan bentuk partikel yang homogen dan distribusi partikelnya sempit. Sedangkan disebut polidispersi apabila memiliki nilai indeks polidispersi berkisar 0,3 hingga 0,7 yang menandakan bahwa ukuran partikelnya seragam namun memiliki bentuk yang heterogen serta distribusi

partikelnya lebar, selain itu disebut superdispersi apabila memiliki nilai indeks polidispersi lebih dari 0,7 yang menandakan ukuran dan bentuk partikel yang heterogen serta distribusi partikel yang menyebar (Luo, Y., 2013).

f. Transmission Electron Microscopy (TEM)

Studi morfologi nanoemulsi dengan menggunakan mikroskop elektron transmisi (TEM). Untuk pengujian TEM, beberapa tetes nanoemulsi terliofilisasi disiapkan dalam aqua deion dan ditempatkan pada kisi film berlubang dan tidak bisa bergerak. Dalam TEM, berkas elektron mengenai lembaran tipis sampel dan melewatinya. Saat berinteraksi dengan sampel, maka elektron berubah menjadi elektron yang tidak terhambur yakni elektron yang tersebar secara elastis ataupun tersebar secara tidak elastis. Lensa elektromagnetik yang menangkap elektron yang tidak tersebar atau tersebar dan mengirimkan sinyal ke layar yang menghasilkan gambar kontras-amplitudo, gambar fase kontras, difraksi elektron, atau gambar banyangan dengan kecerahan yang minim, yang bergantung pada kepadatan elektron yang tidak tersebar. Bidang cerah pada gambar pada pembesaran yang ditingkatkan kombinasi dengan mode difraksi yang digunakan untuk mengungkapkan ukuran dan bentuk tetesan nanoemulsi (Bali V. *et al.*, 2010)

g. Studi Stabilitas Termodinamika (Kazimiera, A. *et al.*, 2009)

Stabilitas termodinamika obat yang diformulasikan dalam nanoemulsi diujikan dalam pengujian stabilitas dipercepat yakni stabilitas uji *freeze thaw* untuk melihat kestabilan sediaan nanoemulsi terhadap perubahan suhu, dimana sediaan nanoemulsi diujikan selama enam siklus yang terdiri dari pengujian dalam suhu $4^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ selama 24 jam kemudian dilanjutkan dengan suhu $40^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ selama 24 jam (Gozali, D. *et al.*, 2009; Kazimiera *et al.*, 2009).

2.3. Surfaktan

Surfaktan adalah suatu senyawa dengan gugus hidrofilik yang bersifat polar dan gugus lipofilik bersifat non polar yang dapat menjadikan fase minyak dan air sebagai satu campuran yang homogen dengan menurunkan tegangan permukaan diantara kedua fase. Surfaktan terdiri dari rantai alkil yang panjang yang merupakan bagian non polar dengan sifat lipofilik dan gugus hidroksil yang merupakan bagian polar dengan sifat hidrofilik (Jatmika, 1998; Gennaro, A. R., 1990).

Surfaktan berdasarkan muatan pada alkilnya dapat digolongkan menjadi :

- 1) Surfaktan anionik merupakan surfaktan dengan struktur alkilnya berikatan dengan suatu anion, yang termasuk golongan ini adalah garam alkana sulfonat, garam olefin sulfonat, garam sulfonat asam lemak rantai panjang.
- 2) Surfaktan kationik merupakan surfaktan dengan struktur alkilnya berikatan dengan suatu kation, yang termasuk golongan ini adalah garam alkil trimetil ammonium, garam dialkil-dimethyl ammonium dan garam alkil dimethyl benzil ammonium.
- 3) Surfaktan nonionik merupakan surfaktan dengan struktur alkilnya tidak bermuatan, yang termasuk golongan ini adalah ester gliserin asam lemak, ester sorbitan asam lemak, ester sukrosa asam lemak, polietilena alkil amina, glukamina, alkil poliglukosida, mono alkanol amina, dialkanol amina dan alkil amina oksida.
- 4) Surfaktan amfoter merupakan surfaktan dengan struktur alkilnya memiliki dua muatan sekaligus, yang termasuk golongan ini adalah surfaktan yang mengandung asam amino, betain, fosfobetain.

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium dimana metode pembuatan nanoemulsi yang dipilih yakni emulsifikasi secara spontan dengan menggunakan *magnetic stirrer* dan dilanjutkan dengan sonifikasi untuk mendapatkan ukuran nanopartikel. Tahapan pembuatan sediaan nanoemulsi dimulai dengan mengoptimasi formula dari astaxanthin, dimana optimasi dilakukan dua tahap, tahap pertama dengan membuat variasi smix (campuran surfaktan) yakni polisorbat 80 sebagai surfaktan dan polietilenglikol 400 (PEG 400) sebagai ko-surfaktan dengan perbandingan 9:1; 8:1 dan 7:1 yang kemudian masing-masing rasio smix dioptimasi dengan fase minyak. *Sunflower oil* dipilih sebagai fase minyak karena kelarutan astaxanthin dalam *sunflower oil* sangat besar. Optimasi tahap kedua dimana optimasi smix dan fase minyak dilakukan dengan membuat sembilan variasi dari tiap rasio smix, dimana rasio smix : fase minyak yakni F1 (9:1); F2 (8:2); F3 (7:3); F4 (6:4); F5 (5:5); F6 (4:6); F7 (3:7); F8 (2:8) dan F9 (1:9) dengan total smix dan fase minyak adalah sebesar 40 % (b/b). Rasio smix : fase minyak yang dipilih adalah yang dapat membentuk larutan jernih dan stabil setelah 24 jam, selanjutnya adalah pembuatan nanoemulsi astaxanthin dengan campuran smix : fase minyak yang terpilih, nanoemulsi astaxanthin yang dipilih adalah yang membentuk campuran yang transparan.

Tahapan selanjutnya adalah karakterisasi sediaan nanoemulsi astaxanthin yang meliputi pengujian secara organoleptis, uji pH, uji ukuran partikel, uji zeta potensial, uji indeks polidispersi, uji efisiensi penjerapan, uji sentrifugasi dan uji stabilitas yakni uji *freeze thaw*.

3.2. Subyek Penelitian

Subyek dalam penelitian ini adalah sediaan nanoemulsi astaxanthin dengan variasi perbandingan smix yang akan dikarakterisasi melalui uji organoleptis, uji pH, uji ukuran partikel, uji zeta potensial, uji indeks polidispersi, uji efisiensi penjerapan, uji sentrifugasi dan uji stabilitas yakni uji *freeze thaw*.

3.3. Metode Pengumpulan Data

Metode pengumpulan data dalam penelitian ini adalah dari berdasarkan hasil pengujian yang mencakup hasil uji organoleptis, uji pH, uji ukuran partikel, uji zeta

potensial, uji indeks polidispersi, uji efisiensi penjerapan, uji sentrifugasi dan uji stabilitas yakni uji *freeze thaw* dari sediaan nanoemulsi astaxanthin yang dihasilkan.

3.4. Analisis Data

Data diolah dengan statistik menggunakan software SPSS dimana dilakukan uji anova *one way* untuk data uji pH sediaan, efisiensi penjerapan dan pH selama uji stabilitas *freeze thaw* apabila data terdistribusi normal dan homogen, namun apabila data tidak terdistribusi normal maka digunakan uji Kruskal- Wallis.