

**OPTIMASI DAN FORMULASI SEDIAAN NANOEMULSI MINYAK
DALAM AIR (M/A) ASTAXANTHIN**

Laporan Tugas Akhir

**Vovi Yuvika Fathurrohman
191FF04063**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2021**

ABSTRAK**OPTIMASI DAN FORMULASI SEDIAAN NANOEMULSI MINYAK DALAM AIR (M/A) ASTAXANTHIN****Oleh :****VOVI YUVIKA FATHURROHMAN
191FF04063**

Astaxanthin (AST) termasuk turunan karotenoid alami yang memiliki aktivitas super antioksidan (antioksidan yang kuat) yang lebih kuat daripada β -karoten dan vitamin E. Ketersediaan hayati karotenoid rendah karena kelarutan yang rendah dalam cairan saluran pencernaan, menyebabkan penyerapan yang buruk oleh sel-sel epitel usus kecil. Bioavailabilitas astaxanthin pada manusia ditingkatkan dengan formulasi berbasis lipid. Nanoemulsi adalah sistem penghantaran yang baik untuk menghasilkan senyawa bioaktif lipofilik termasuk AST. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formulasi nanoemulsi astaxanthin yang paling stabil secara fisik dan memenuhi syarat uji karakterisasi. Uji karakterisasi meliputi uji organoleptik, ukuran droplet nanoemulsi, pH sediaan, efisiensi penjerapan, sentrifugasi, dan stabilitas *Freeze-Thaw*. Optimasi nanoemulsi dilakukan dengan membuat variasi *Smix* (surfaktan dan kosurfaktan) dimana tween 80 dan Polietilenglikol 400 (PEG 400) sebagai campuran surfaktan dan kosurfaktan dengan variasi total fase minyak dan *Smix* 20%, 30% dan 40% serta perbandingan *Smix* 5:1, 4:1 dan 3:1 yang kemudian masing-masing rasio *Smix* dioptimasi dengan fase minyak yaitu *Olive Oil*. Hasil optimasi didapatkan 3 formula nanoemulsi yang baik secara visual yaitu formula dengan total fase minyak dan *Smix* sebesar 40% dengan perbandingan *Smix* 5:1; 4:1; dan 3:1 dan perbandingan *Smix* dan fase minyak 9:1 kemudian diuji karakterisasi. Berdasarkan pengujian organoleptik didapatkan semua formula menghasilkan nanoemulsi yang jernih dan stabil secara fisik. Nilai pH sediaan dengan perbandingan *Smix* 5:1; 4:1; 3:1 berturut-turut yaitu $6,81 \pm 0,0153$; $6,75 \pm 0,0153$; dan $6,7 \pm 0,02$. Ukuran droplet nanoemulsi didapatkan berturut-turut 17,4 nm; 20,2 nm; dan 43,8 nm dengan nilai polidispersi indeks 0,321; 0,388; dan 0,399 serta nilai potensial zeta dari formula dengan perbandingan *Smix* 5:1 sebesar -24,8 mV. Nilai efisiensi penjerapan dari masing-masing formula yaitu $94,6746 \pm 0,3637\%$; $93,0079 \pm 0,5992\%$; dan $91,5793 \pm 0,3637\%$. Pengujian sentrifugasi menunjukkan semua formula tidak terjadi pemisahan dan berdasarkan pengujian stabilitas *freeze thaw* didapatkan semua sediaan stabil dan tidak terjadi perubahan secara fisik. Formulasi nanoemulsi terbaik yang didapatkan yaitu formula dengan total fase minyak dan *Smix* sebesar 40% dengan perbandingan *Smix* 5:1 dan perbandingan *Smix* dan fase minyak 9:1.

Kata Kunci : Optimasi, Formulasi, Nanoemulsi, Astaxanthin.

ABSTRACT**OPTIMIZATION AND FORMULATION OIL IN WATER (O/W) NANOEMULSION OF ASTAXANTHIN****By :****VOVI YUVIKA FATHURROHMAN****191FF04063**

Astaxanthin (AST) is a natural carotenoid with strong antioxidant characteristics (super antioxidant) which is stronger than β -carotene and vitamin E. Low bioavailability of carotenoids due to low solubility in digestive tract fluids, causing poor absorption by intestinal epithelial cells. The bioavailability of astaxanthin in humans is enhanced by lipid-based formulations. Nanoemulsion is a good delivery system to produce lipophilic bioactive compounds including AST. This study aims to obtain the most physically stable astaxanthin nanoemulsion formulation and fulfill the requirements for characterization tests. The characterization tests carried out included organoleptic tests, pH tests, nanoemulsion droplet size tests, centrifugation tests, entrapped efficiency tests, and Freeze-Thaw stability tests. Nanoemulsion optimization was carried out by making variations of Smix (surfactant and cosurfactant) where tween 80 as surfactant and Polyethyleneglycol 400 (PEG 400) as cosurfactant with variations in total oil phase and Smix 20%, 30% and 40% and Smix ratio 5:1, 4: 1 and 3:1 which then optimize each Smix ratio with the oil phase, namely Olive Oil. The optimization results obtained 3 nanoemulsion formulas that were visually good, that is formulas with a total oil phase and Smix 40% with a Smix ratio of 5:1; 4:1; and 3:1 and the ratio of Smix and oil phase 9:1 were then tested for characterization. Based on organoleptic testing, it was found that all formulas produced clear and physically stable nanoemulsions. The pH value of the preparation with a ratio of Smix 5:1; 4:1; 3:1 in a row i.e 6.81 ± 0.0153 ; 6.75 ± 0.0153 ; and 6.7 ± 0.02 . The nanoemulsion droplet size was obtained respectively 17.4 nm; 20.2 nm; and 43.8 nm with a polydispersity index value of 0.321; 0.388; and 0.399 and the zeta potential value of the formula with a ratio of Smix 5:1 was -24.8 mV. The entrapped efficiency values of each formula were $94.6746 \pm 0.3637\%$; $93.0079 \pm 0.5992\%$; and $91.5793 \pm 0.3637\%$. Centrifugation test showed that all formulas did not separate and based on the freeze thaw stability test, all preparations were stable and there were no physical changes. The best nanoemulsion formulation obtained is a formula with a total oil phase and Smix of 40% with a ratio of Smix 5:1 and a ratio of Smix and oil phase 9:1.

Keywords : Optimization, Formulation, Nanoemulsion, Astaxanthin.

LEMBAR PENGESAHAN

**OPTIMASI DAN FORMULASI SEDIAAN NANOEMULSI MINYAK DALAM AIR
(M/A) ASTAXANTHIN**

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan Sarjana Farmasi

**VOVI YUVIKA FATHURROHMAN
191FF04063**

Bandung, 19 Januari 2020

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



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



(Apt. Deny Puriyani Azhary, M. Si.)
NIDN. 0416057103

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan judul: “Optimasi dan Formulasi Sediaan Nanoemulsi Minyak dalam Air (m/a) Astaxanthin”. Penulisan tugas akhir ini diajukan sebagai salah satu syarat kelulusan Program Strata Satu (S1) di Universitas Bhakti Kencana Bandung. Penulisan skripsi ini tidak mungkin terwujud tanpa bantuan, bimbingan, saran, dorongan dan petunjuk dari berbagai pihak. Ucapan terimakasih juga penulis sampaikan kepada :

1. Kedua orang tua yang telah membantu doa dan materi, serta selalu memberikan semangat, memberikan saran terbaik, dan dukungan;
2. Ibu Apt. Yanni Dhiani Mardhiani, M. BSc. selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, tenaga, ilmu, saran dan motivasi untuk membimbing penulis dalam penyusunan Skripsi;
3. Ibu Apt. Deny Puriyani Azhary, M. Si. selaku dosen pembimbing serta yang telah bersedia meluangkan waktu dan memberikan pengarahan dalam penyusunan tugas akhir;
4. Ibu Apt. Aulia Nurfazri Istiqomah, M. Si. selaku dosen wali yang telah memberikan arahan untuk menyelesaikan tugas akhir dan nasihat selama masa perkuliahan;
5. Seluruh Dosen dan Staf di Universitas Bhakti Kencana Bandung atas ilmu dan pengetahuan yang telah diberikan selama menempuh pendidikan;
6. Teman-teman seperjuangan di Universitas Bhakti Kencana Bandung atas kebersamaan dan bantuan selama perkuliahan.
7. Pihak lain yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah berperan dan membantu penulis selama masa studi dan proses penyusunan tugas akhir.

Penulis menyadari dalam penyusunan Skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan baik dari segi materi maupun pengetikan, dengan demikian penulis mengharapkan saran dan perbaikan apabila terdapat hal-hal yang perlu diperbaiki dalam menghasilkan Skripsi yang lebih baik lagi.

Akhir kata penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penelitian ini. Penulis berharap Skripsi ini dapat berguna dan bermanfaat khususnya bagi penulis sendiri dan umumnya untuk para pembaca.

Bandung, Juni 2021

A handwritten signature in black ink, consisting of stylized, overlapping letters and lines, positioned above the word 'Penulis'.

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	ix
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan dan Manfaat Penelitian.....	3
1.4. Hipotesis Penelitian.....	4
1.5. Tempat dan Waktu Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Astaxanthin	5
2.2. Kulit	5
2.2.1. Anatomi Kulit	6
2.2.2. Sistem Penghantaran Obat Melalui Kulit	9
2.3. Nanoemulsi	11
2.3.1. Definisi Nanoemulsi.....	11
2.3.2. Keuntungan Nanoemulsi	11
2.3.3. Kekurangan Nanoemulsi	12
2.3.4. Komponen Nanoemulsi	12
2.3.5. Metode Pembuatan Nanoemulsi	13
2.3.6. Mekanisme Nanoemulsi sebagai <i>Penetration Enhancer Transdermal</i> Obat Hidrofobik	15
2.4. Antioksidan Sebagai Anti Penuaan Kulit	17
2.4.1. Radikal Bebas	17
2.4.2. Antioksidan	17
2.5. Eksipien	18
2.5.1. Tween 80.....	18
2.5.2. PEG 400.....	19
2.5.3. Olive Oil.....	19

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	20
3.1. Jenis Penelitian.....	20
3.2. Subyek Penelitian.....	20
3.3. Metode Pengumpulan Data	20
3.4. Analisis Data.....	20
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN	21
4.1. Alat dan Bahan.....	21
4.2. Optimasi Nanoemulsi Astaxanthin.....	21
4.3. Pembuatan Nanoemulsi Astaxanthin.....	22
4.4. Evaluasi Karakterisasi Nanoemulsi Astaxanthin	22
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
5.1. Optimasi Sediaan Nanoemulsi	24
5.2. Uji Karakterisasi Nanoemulsi	27
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	38
6.1. Kesimpulan	38
6.1. Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Struktur Kimia Astaxanthin.....	5
Gambar 2. 2 Anatomi Kulit Manusia.....	6
Gambar 2. 3 Rute Pengantaran Obat melalui Kulit.....	10
Gambar 2. 4 Struktur Nanoemulsi minyak dalam air.....	11
Gambar 2.5 Mekanisme nanoemulsi sebagai <i>penetration enhancer transdermal</i> obat hidrofobik.....	15
Gambar 2.6 Struktur Kimia Polisorbat 80.....	18
Gambar 2.7 Struktur Kimia PEG (Polioksietilen Glikol) 400.....	19
Gambar 5. 1 Diagram Tiga Fase Nanoemulsi.....	26
Gambar 5. 2 Uji Normalitas pH.....	28
Gambar 5. 3 Uji Homogenitas pH.....	29
Gambar 5. 4 Uji <i>Post-Hoc</i> Data pH.....	29
Gambar 5. 5 Kurva Kalibrasi Astaxanthin dalam Etanol 96 %.....	32
Gambar 5. 6 Hasil % Efisiensi Penjerapan Astaxanthin.....	33
Gambar 5. 7 Uji Normalitas Stabilitas <i>Freeze Thaw Smix</i> 5:1.....	35
Gambar 5. 8 Uji Homogenitas Stabilitas <i>Freeze Thaw Smix</i> 5:1.....	36

DAFTAR TABEL

Tabel IV.1 Formulasi Nanoemulsi dengan Perbandingan <i>Smix</i> 5:1	21
Tabel IV.2 Formulasi Nanoemulsi dengan Perbandingan <i>Smix</i> 4:1	21
Tabel IV.3 Formulasi Nanoemulsi dengan Perbandingan <i>Smix</i> 3:1	22
Tabel V. 1 Formulasi Nanoemulsi dengan Perbandingan <i>Smix</i> 5:1	25
Tabel V. 2 Formulasi Nanoemulsi dengan Perbandingan <i>Smix</i> 4:1	25
Tabel V. 3 Formulasi Nanoemulsi dengan Perbandingan <i>Smix</i> 3:1	25
Tabel V. 4 Hasil Pengujian Organoleptik	27
Tabel V. 5 Hasil Uji Penetapan pH	28
Tabel V. 6 Hasil Uji Penentuan Ukuran Droplet Nanoemulsi	30
Tabel V. 8 Hasil Pengukuran Serapan dengan Spektrofotometer UV-Vis	32
Tabel V. 9 Absorbansi Sediaan	32
Tabel V. 10 Nilai Efisiensi Penjerapan	33
Tabel V. 11 Hasil Uji Sentrifugasi	34
Tabel V. 12 Hasil Uji Stabilitas <i>Freeze Thaw Smix</i> 5:1	35
Tabel V. 13 Hasil Uji Stabilitas <i>Freeze Thaw Smix</i> 4:1	35
Tabel V. 14 Hasil Uji Stabilitas <i>Freeze Thaw Smix</i> 3:1	36
Tabel VI. 1 Hasil Uji Karakterisasi Formula dengan <i>Smix</i> 5:1	38

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Surat Pernyataan Bebas Plagiasi	42
Lampiran 2 Format Surat Persetujuan untuk dipublikasikan di media on line	43
Lampiran 3 <i>Certificate of Analysis</i> Astaxanthin	44
Lampiran 4 <i>Certificate of Analysis</i> Olive Oil.....	45
Lampiran 5 <i>Certificate of Analysis</i> Tween 80.....	46
Lampiran 6 <i>Certificate of Analysis</i> PEG 400	47
Lampiran 7 Gambar Hasil Optimasi Sediaan Nanoemulsi	48
Lampiran 8 Gambar Hasil Pembuatan Nanoemulsi Astaxanthin	50
Lampiran 9 Gambar Hasil Pengujian Organoleptik	51
Lampiran 10 Gambar Hasil Pengujian pH	52
Lampiran 11 Gambar Hasil Uji Statistik Penetapan pH	53
Lampiran 12 Gambar Hasil Uji Penentuan Ukuran Droplet Nanoemulsi <i>Smix</i> 5:1	54
Lampiran 13 Gambar Hasil Uji Penentuan Ukuran Droplet Nanoemulsi <i>Smix</i> 4:1	55
Lampiran 14 Gambar Hasil Uji Penentuan Ukuran Droplet Nanoemulsi <i>Smix</i> 3:1	56
Lampiran 15 Gambar Hasil Pengujian Zeta Potensial <i>Smix</i> 5:1	57
Lampiran 16 Kurva Kalibrasi Larutan Standar Astaxanthin pada λ 470 nm	58
Lampiran 17 Hasil Pengujian % Efisiensi Penjerapan Nanoemulsi Astaxanthin	61
Lampiran 18 Gambar Hasil Uji Statistik Efisiensi Penjerapan.....	67
Lampiran 19 Gambar Hasil Uji Sentrifugasi.....	68
Lampiran 20 Gambar Hasil Uji Stabilitas Freeze Thaw 5:1	70
Lampiran 21 Gambar Hasil Uji Stabilitas Freeze Thaw 4:1	71
Lampiran 22 Gambar Hasil Uji Stabilitas Freeze Thaw 3:1	72
Lampiran 23 Gambar Penelitian	73
Lampiran 24 Bukti Hasil Cek Plagiarisme	75
Lampiran 25 Bukti Persetujuan Pembimbing.....	76
Lampiran 26 Kartu Bimbingan	78

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN

AST

PEG

PSA

PDI

EE

UV

Vis

NAMA

Astaxanthin

Polietilenglikol

Particle Size Analyzer

Polidispersion Index

Entrapment Efficiency

Ultra Violet

Visible

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Astaxanthin (AST) adalah karotenoid yang memiliki efek menguntungkan pada kesehatan dan kebugaran manusia. AST menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat daripada β -karoten dan vitamin E, karena adanya ikatan rangkap terkonjugasi dan gugus hidroksil dalam struktur molekulnya. Astaxanthin merupakan senyawa xantofil lipofilik dengan warna kemerahan yang ditemukan pada berbagai mikroorganisme dan hewan laut. Astaxanthin termasuk dalam kelompok xantofil, yang merupakan turunan karoten yang mengandung oksigen (Chen et al., 2018). Astaxanthin memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat jika dibandingkan dengan beberapa karotenoid seperti lutein, likopen, α -karoten dan β -karoten (Shu et al., 2018). Selain itu, astaxanthin alami merupakan alternatif alami dan aman untuk pewarna sintetis yang digunakan dalam industri makanan. Namun, AST tidak dapat diproduksi dalam tubuh manusia dan diperoleh terutama melalui konsumsi makanan yang kaya akan AST, seperti ikan salmon (Chen et al., 2018).

Pada manusia, ketersediaan hayati karotenoid rendah dan bervariasi, ini berkisar dari 10 hingga 50% dari dosis yang diberikan, karena kelarutan yang rendah dalam cairan saluran pencernaan, menyebabkan penyerapan yang buruk oleh sel-sel epitel usus kecil. Telah dilaporkan bahwa bioavailabilitas astaxanthin pada manusia dapat ditingkatkan dengan formulasi berbasis lipid, sejumlah besar karoten yang dilarutkan ke dalam matriks fase minyak dapat menyebabkan ketersediaan hayati yang lebih besar (Nurdianti et al., 2017). Pemberian astaxanthin melalui jalur transdermal merupakan jalur alternatif yang dapat digunakan untuk meningkatkan ketersediaan hayati obat, mempertahankan kadar obat dalam plasma, dan menghindari metabolisme jalur pertama. Sistem pengiriman transdermal tidak invasif dan dapat diatur sendiri, sistem ini dapat memberikan pelepasan untuk jangka waktu yang lama (Barros et al., 2012).

Di antara sistem penghantaran koloid, emulsi dan nanoemulsi adalah sistem penghantaran yang baik untuk menghasilkan senyawa bioaktif lipofilik termasuk AST. Sistem penghantaran nanoemulsi memberikan peningkatan stabilitas fisik dan kejernihan optik yang tinggi (Guttoff et al., 2015). Nanoemulsi dapat dibuat hanya dengan menghomogenisasi fase minyak yang mengandung senyawa fungsional yang larut dalam minyak dengan fase air yang mengandung surfaktan yang larut dalam air. Selain itu, sistem penghantaran berbasis nanoemulsi efektif dalam hal meningkatkan dispersibilitas air dan

ketersediaan hayati untuk berbagai senyawa bioaktif non-polar, seperti karotenoid, dan vitamin hidrofobik (Mayer et al., 2013).

Nanoemulsi merupakan emulsi berukuran nano dengan rentang ukuran partikel 5-200 nm, berdasarkan ukuran partikel yang berukuran relatif kecil (nano) globul dapat terpenetrasi baik dan dapat melewati lapisan epidermis, maka zat aktif terlarut dalam sistem akan terpenetrasi lebih banyak, sehingga efektivitas dari senyawa antioksidan di dalam epidermis akan meningkat (Baitariza et al., 2014). Sediaan nanoemulsi ini memiliki banyak kelebihan diantaranya dapat meningkatkan absorpsi dari senyawa zat aktif, meningkatkan kelarutan obat yang bersifat lipofilik, memperluas luas permukaan, meningkatnya bioavailabilitas dari berbagai rute pemberian, dan stabil secara termodinamika (Kumar et al., 2017).

Nanoemulsi minyak dalam air (M/A) adalah sistem yang secara termodinamika tidak stabil karena mengandung tetesan minyak kecil ($d < 200$ nm) yang terdispersi dalam fase air. Pemilihan pengemulsi yang tepat sangat penting untuk menghasilkan nanoemulsi yang stabil. Pengemulsi menstabilkan emulsi dengan menonjolkan gugus polar ke dalam fasa air dan gugus non-polar ke dalam fasa minyak, kemudian membentuk lapisan antarmuka untuk memberikan perlindungan terhadap agregasi atau penggabungan tetesan (McClements, 2007). Surfaktan dengan molekul kecil menghasilkan emulsi dengan ukuran tetesan yang relatif kecil, karena kinetika adsorpsinya yang relatif tinggi (Yuan et al., 2008). Pengemulsi sintetik molekul kecil, seperti seri Tween, telah digunakan dalam pembuatan sistem penghantaran berbasis nanoemulsi untuk AST (Meor Mohd Affandi et al., 2011).

Nanoemulsi dalam kosmetik memberikan banyak keuntungan yaitu tidak terjadi sedimentasi atau flokulasi, droplet berukuran sangat kecil sehingga meningkatkan luas permukaan kontak yang menyebabkan penghantaran lebih efektif untuk bahan aktif masuk ke tempat kerjanya, dan dapat mengurangi *transepidermal water loss* (TEWL) (Suyal & Ganesh Bhatt, 2017). Penggunaan nanoemulsi banyak digunakan untuk topikal karena mudah dalam pengaplikasiannya pada bagian kulit serta dapat menghantaran zat aktif lebih cepat ke dalam kulit (Rai et al., 2018).

Berdasarkan khasiat dari astaxanthin sebagai antioksidan, bahan aktif ini banyak digunakan sebagai bahan untuk pembuatan sediaan kosmetik. Astaxanthin merupakan senyawa nonpolar dan memerlukan sistem penghantaran yang sesuai untuk memaksimalkan efeknya. Sistem penghantaran yang sesuai dengan senyawa nonpolar seperti astaxanthin yaitu emulsi atau nanoemulsi guna meningkatkan stabilitas fisik dari bahan aktif dan untuk meningkatkan penetrasinya pada lapisan dermis. Berdasarkan uraian berikut, maka zat aktif

astaxanthin dibuat sediaan nanoemulsi dan diinkorporasikan pada sediaan gel sehingga diharapkan mampu menembus lapisan dermis pada kulit.

Disamping sistem penghantaran yang sesuai, pemilihan pengemulsi yang tepat sangat penting untuk menghasilkan nanoemulsi yang stabil. Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis tertarik untuk membuat formulasi sediaan nanoemulsi dari bahan aktif Astaxanthin dengan beberapa perbandingan konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan sehingga diperoleh sediaan nanoemulsi yang stabil sehingga dapat meningkatkan daya penetrasi dan efektifitas dari Astaxanthin.

1.2. Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah formulasi yang paling stabil pada nanoemulsi yang mengandung bahan aktif astaxanthin ?
2. Apakah nanoemulsi yang mengandung bahan aktif astaxanthin memenuhi syarat uji karakterisasi ?

1.3. Tujuan dan Manfaat Penelitian

1. Tujuan Umum

Mendapatkan formulasi nanoemulsi astaxanthin yang paling stabil secara fisik dan memenuhi syarat uji karakterisasi

2. Tujuan Khusus

- a. Menentukan formulasi nanoemulsi mengandung bahan aktif astaxanthin yang paling stabil secara fisik dengan membandingkan dari berbagai variasi formulasi fase minyak dan *Smix*.
- b. Mendapatkan formulasi nanoemulsi astaxanthin yang memenuhi syarat uji karakterisasi meliputi Pengujian organoleptis, pH sediaan, penentuan ukuran droplet partikel, persen efisiensi penyerapan dan stabilitas *freeze thaw*.

3. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan formulasi nanoemulsi astaxanthin yang paling stabil dan memenuhi syarat uji karakterisasi serta diharapkan berguna sebagai informasi ilmiah dan memberi manfaat bagi perkembangan teknologi farmasi khususnya untuk formulasi sediaan kosmetik dan teknologi nano.

1.4. Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini yaitu nanoemulsi Astaxanthin dengan formula yang mengandung fase minyak *Olive Oil* serta *Smix* Tween 80 dan PEG 400 menghasilkan sediaan nanoemulsi yang transparan, stabil dan memenuhi syarat uji karakterisasi.

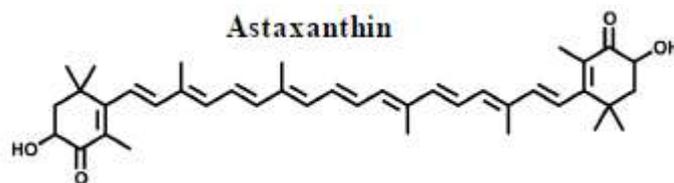
1.5. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Bhakti Kencana pada bulan Februari hingga Mei 2021.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Astaxanthin

Astaxanthin (3, 3'-dihydroxy- β -carotene-4, 4'-dione) adalah golongan karotenoid alami yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (super antioksidan). Astaxanthin berbeda dengan vitamin A dan merupakan senyawa golongan xantofil. Astaxanthin termasuk senyawa yang larut dalam minyak atau lemak yang dapat disintesis dari berbagai tanaman dan beberapa jenis alga (Nurdianti et al., 2017). AST menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat daripada β -karoten dan vitamin E, karena adanya ikatan rangkap terkonjugasi dan gugus hidroksil dalam struktur molekulnya (Chen et al., 2018). Astaxanthin merupakan senyawa xantofil lipofilik dengan warna kemerahan yang ditemukan pada berbagai mikroorganisme dan hewan laut. Astaxanthin termasuk dalam kelompok xantofil, yang merupakan turunan karoten yang mengandung oksigen (Shu et al., 2018).



Sumber : Affandi et al., 2011

Gambar 2. 1 Struktur Kimia Astaxanthin

Astaxanthin memiliki ujung keto dan hidroksil pada setiap cincin ionon (Gambar 2.1) yang memberikan keunikan seperti kemampuan untuk diesterifikasi, aktivitas anti-oksidan yang lebih tinggi, dan konfigurasi yang lebih polar daripada karotenoid lainnya (Meor Mohd Affandi et al., 2011). Astaxanthin memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan berbagai jenis karotenoid lainnya seperti lutein, likopen, α -karoten dan β -karoten (Nurdianti et al., 2017). Selain itu, astaxanthin alami merupakan alternatif alami dan aman untuk pewarna sintetis yang digunakan dalam industri makanan. Namun, AST tidak dapat diproduksi dalam tubuh manusia dan diperoleh terutama melalui konsumsi makanan yang kaya akan AST, seperti ikan salmon (Chen et al., 2018).

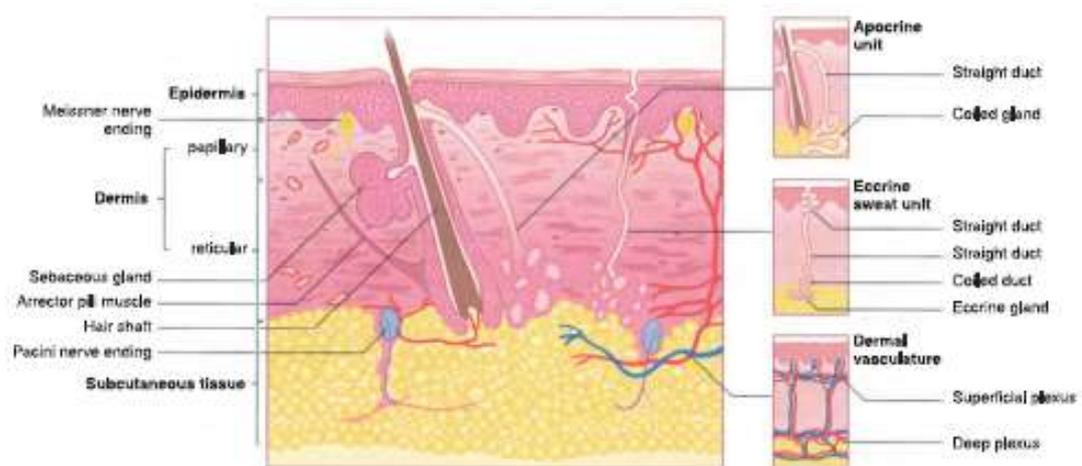
2.2. Kulit

Kulit merupakan bagian terbesar pada organ tubuh, kulit memiliki berbagai fungsi vital, yaitu memiliki perlindungan terhadap fisik, biologis, dan kimia serta dapat mencegah kehilangan air dari tubuh dan memiliki peran dalam termoregulasi. Bobot kulit sekitar 15% dari total bobot badan orang dewasa. Kulit terdiri atas 3 bagian lapisan utama, meliputi lapisan epidermis, dermis, dan hipodermis (jaringan subkutan) (Dehdashtian et al., 2018).

Kulit memiliki luas permukaan sekitar 2 m^2 dengan bobot sekitar 3,6 kg pada orang dewasa. Kulit berfungsi sebagai pelindung tubuh dari tekanan lingkungan dan tahan terhadap air. Kulit dapat menghasilkan peptida antimikroba yang dapat mencegah infeksi, neuropeptida, hormon, dan sitokin dapat menyebabkan efek biologis. Perlindungan ini dapat melindungi secara sistemik tidak hanya bersifat lokal pada kulit (Gilaberte et al., 2016).

Kulit berinteraksi atau kontak langsung dengan lingkungan luar sehingga memiliki peran utama sebagai sistem kekebalan dalam melindungi tubuh terhadap patogen dan kehilangan air yang berlebih (dehidrasi). Fungsi lainnya adalah proteksi terhadap zat atau benda, regulasi suhu, sensasi, sintesis vitamin D, dan perlindungan terhadap senyawa folat (vitamin B). Pada kulit yang mengalami kerusakan parah, kulit akan mencoba untuk menutupinya dengan membentuk jaringan/bekas luka. Hal ini sering menyebabkan perubahan warna dan depigmentasi pada kulit (Proksch et al., 2008).

2.2.1. Anatomi Kulit



Sumber : Dehdashtian et al., 2018

Gambar 2. 2 Anatomi Kulit Manusia

Lapisan kulit terdiri dari epidermis, dermis, dan hipodermis (jaringan subkutan).

1. Epidermis

Epidermis adalah lapisan epitel skuamosa yang terdiri dari dua jenis sel, yaitu keratinosit dan sel dendritik. Pada bagian epidermis terdapat sel-sel lain seperti melanosit, sel langerhans, sel merkel dan sejumlah besar sel. Bagian epidermis dibagi menjadi menjadi empat lapisan, yaitu lapisan korneum, lapisan germinativum, lapisan spinosum, dan lapisan granulosum (Dehdashtian et al., 2018).

Epidermis adalah bagian terluar dan berlapis, jaringan epitel dibagi menjadi beberapa bagian lapisan. Bagian terluar dari epidermis adalah lapisan korneum (SC) yang membentuk penghalang (barier) permeabilitas epidermis yang dapat mencegah

kekurangan atau kehilangan air dan elektrolit. Fungsi pelindung atau penghalang lain untuk epidermis yaitu menjaga ketebalan tubuh, perlindungan dari UV, dan perlindungan dari bahaya oksidatif. Perubahan pelindung epidermis dapat disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu usia, lingkungan, dan beberapa kondisi yang dapat merubah penampilan dan fungsi kulit (Draelos, 2010).

Lapisan kulit paling luar yaitu lapisan epidermis yang terdiri dari sebagian besar sel-sel dari epidermis, dikenal sebagai keratinosit yang tersusun dalam beberapa lapisan sel basal, lapisan sel spinous dan lapisan sel granular yang diferensiasi dan akhirnya menghasilkan stratum corneum (SC). Tidak seperti lapisan lain, SC terbuat dari sel yang tidak memiliki inti yang disebut korneosit yang berasal dari keratinosit. SC membentuk barrier pelindung utama dari kulit, yang merupakan barrier permeabilitas epidermal. SC adalah jaringan struktural yang heterogen terdiri dari sel yang tidak berinti, pipih, korneosit yang kaya protein dan interseluler yang kaya akan lemak. Lipid untuk fungsi barrier disintesis dalam keratinosit dari lapisan epidermis yang berinti, disimpan dalam lamellar, dan diekstrusi ke dalam interseluler selama transisi dari stratum granulosum ke SC yang membentuk sistem bilayers membran terus-menerus. Selain lipid, komponen lain seperti melanin, protein dari SC dan epidermis, asam amino bebas dan molekul kecil lainnya juga memiliki peran penting dalam perlindungan kulit (Draelos, 2010).

Lapisan epidermis terdiri dari beberapa lapisan, yaitu :

a. Stratum Korneum

Stratum Korneum berfungsi sebagai penghalang utama terhadap penetrasi percutan bahan kimia dan mikroba dan mampu menahan kekuatan mekanik. Stratum korneum berperan dalam regulasi pelepasan air dari organisme dan ke atmosfer yang dikenal sebagai *transepidermal water loss* (TEWL) (Proksch et al., 2008).

b. Stratum Germinativum

Stratum Germinativum mengandung keratinosit, berbentuk kolumnar yang aktif bermitosis yang melekat melalui serat keratin (K5 dan K14) ke zona membran dasar di hemidesmosom, melekat pada sel-sel lain di sekitarnya melalui desmosom, dan berdiferensiasi. Terdapat vakuola yang terikat pada membran yang mengandung pigmen melanosit yang dipindahkan dari melanosit melalui proses fagositosis. Lapisan ini adalah area utama untuk sel epidermis yang diaktifasi secara mitosis (Dehdashtian et al., 2018).

c. **Stratum Spinosum**

Lapisan Spinosum terdiri dari beberapa lapisan sel kuboid dan poligonal. Semua sel terikat kuat dan rapat sehingga seluruh lapisan selnya berduri. Lapisan ini berfungsi untuk menahan atau melindungi dari beberapa faktor eksternal seperti tekanan dan gesekan (Dehdashtian et al., 2018).

d. **Stratum Granulosum**

Lapisan paling dangkal dari epidermis mengandung sel-sel yang hidup, lapisan granular atau lapisan granulosum terdiri atas sel-sel yang berbentuk pipih dan berfungsi untuk sintesis dan mengubah protein yang terkait dengan keratinisasi (Dehdashtian et al., 2018).

2. Dermis

Dermis adalah sistem berfibrosa, berfilamen, dan memiliki jaringan ikat amorf yang mengkoordinasi masuknya impuls oleh sistem saraf dan pembuluh darah. Sel-sel limfosit, sel plasma, dan leukosit dialirkan melalui pembuluh darah masuk ke dermis sebagai tanda respon terhadap adanya rangsangan. Lapisan dermis terdiri dari bagian besar kulit dan memberikan sifat elastis, lentur, dan daya tarik. Hal ini dapat melindungi bagian tubuh dari cedera, pengikatan air, pengaturan suhu, dan reseptor rangsangan sensorik. Dermis berinteraksi dengan epidermis dalam menjaga sifat-sifat kedua jaringan. Kedua lapisan bekerja sama selama pengembangan dalam morfogenesis lapisan antara dermal-epidermal dan berinteraksi dalam memperbaiki serta membentuk kembali kulit saat luka sembuh (Dehdashtian et al., 2018).

Di dalam dermis terdapat folikel rambut, papila rambut, kelenjar keringat, saluran keringat, kelenjar sebacea, otot penegak rambut, ujung pembuluh darah dan ujung saraf, juga sebagian serabut lemak yang terdapat pada lapisan lemak bawah kulit (subkutan atau hipodermis). Kelenjar sebaceous (glandula sebaceous) terdapat pada kulit seluruh tubuh kecuali telapak kaki, telapak tangan dan korona penis (Gilaberte et al., 2016).

Dermis terletak di antara epidermis dan lemak subkutan. Dermis bertanggung jawab untuk ketebalan kulit, dan sebagai hasilnya memainkan peran kunci dalam penampilan kecantikan dari kulit. Ketebalan dermis bervariasi pada bagian tubuh yang berbeda dan ukurannya ganda pada usia 3 dan 7 tahun dan pada masa pubertas. Dengan penuaan, ketebalan dan kelembapan lapisan dasar ini menurun. Dermis, merupakan sarat dengan saraf, pembuluh darah, kelenjar keringat, dan sebagian besar terdiri dari

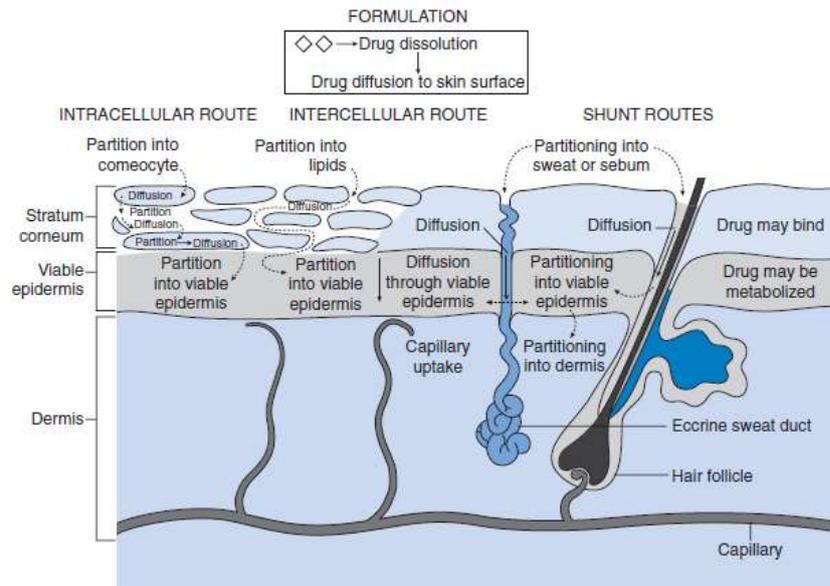
kolagen. Bagian paling atas merupakan dermis reticular. Kolagen yang paling kecil, merupakan sel yang terbaik dan memiliki kepadatan yang lebih tinggi. Fibroblas adalah jenis sel utama dalam dermis. Mereka memproduksi kolagen, elastin, protein matriks lainnya, dan enzim seperti kolagenase dan stromelysin. Sel imun seperti sel mast, leukosit polimorfonuklear, limfosit, dan makrofag juga terdapat dalam dermis. Komponen dermis sebagai yang diketahui merupakan komponen penting dalam penuaan (Baumann dkk., 2009).

3. Jaringan Subkutan (Hipodermis)

Hipodermis memiliki fungsi untuk mensuplai cadangan energi serta pelindung bagi kulit. Hipodermis tersusun oleh sel adiposa yang menjadi lobulus yang dibentuk oleh septa (jaringan ikat fibrosa). Pada septa terdiri atas pembuluh limfatik, darah, dan saraf. Reaksi biologis yang terjadi seperti eksotrofi, endotrofi, dan deposisi dapat menjadi cadangan energi pada jaringan subkutan. Adiponektik adalah mediator spesifik dari adiposit subkutan. Selain itu, jaringan subkutan dianggap sebagai organ endokrin yang mengubah androstenedion menjadi estron oleh enzim aromatase dan juga adiposit menghasilkan leptin, hormon yang mengatur berat badan (Dehdashtian et al., 2018).

2.2.2. Sistem Penghantaran Obat Melalui Kulit

Penghantaran molekul obat secara topikal masuk kedalam sirkulasi sistemik secara kompleks dengan berbagai proses yang terjadi dan beberapa rute penghantaran obat yang terjadi. Awalnya, molekul obat diaplikasikan pada permukaan kulit. Apabila dalam formulasi mengandung obat padat, maka akan terjadi disolusi dan difusi terlebih dahulu sebelum terjadi penghantaran obat. Sedangkan apabila formulasi mengandung obat terlarut, maka molekul terdekat dengan permukaan kulit akan memasuki jaringan dan diganti oleh molekul lain yang berdifusi dalam formulasi menuju permukaan kulit (Aulton dan Taylor, 2013).



Sumber : Aulton dan Taylor, 2013

Gambar 2. 3 Rute Penghantaran Obat melalui Kulit

Saat molekul obat terletak pada lapisan luar stratum corneum, molekul obat memiliki tiga rute potensial untuk masuk ke dalam kulit, yaitu sebagai berikut (Aulton dan Taylor, 2013) :

1. *Shunt route*

Molekul akan berpartisi melalui keringat atau sebum atau folikel rambut yang sebelumnya berdifusi melawan arus keluar dari kelenjar.

2. *Intracellular route (Transcellular)*

Molekul obat akan berpartisi ke dalam korneosit yang bersifat hidrofil, kemudian berdifusi di dalam korneosit dan berpartisi ke dalam lipid domain interseluler. Selanjutnya, molekul obat akan berdifusi melalui daerah lipoidal yang sebelumnya berulang kali berpartisi dan berdifusi melalui keratin dalam korneosit dan kemudian interseluler lemak.

3. *Intercellular route*

Molekul obat akan berpartisi ke dalam *lipid bilayer* antara korneosit dan kemudian berdifusi melalui rute yang berliku-liku dalam *lipid domain* secara terus-menerus mengikuti mortar di "*brick wall*".

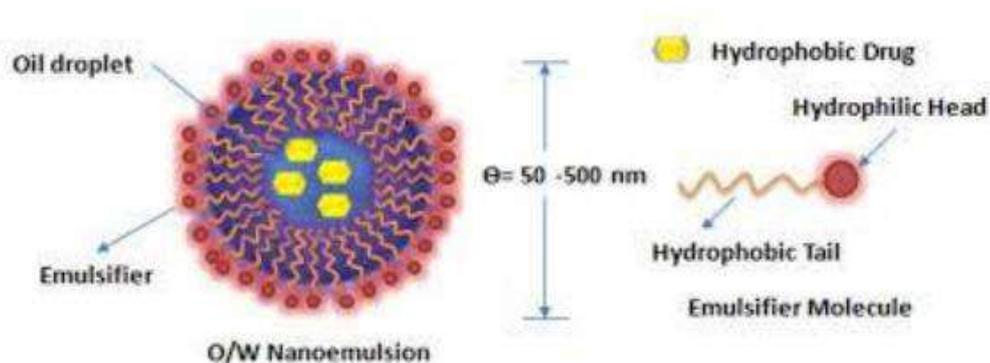
Pada rute *shunt* molekul akan berpartisi ke dalam keringat atau sebum dan juga folikel rambut. Pada rute *intraseluler* atau dapat disebut rute *transeluler*, molekul obat pertama-tama akan berpartisi ke dalam korneosit kemudian terdifusi melalui korneosit sebelum berpartisi ke dalam lipid *interseluler*. Untuk melanjutkan transport *intraseluler (transeluler)*, molekul lalu harus terdifusi melalui wilayah lipoidal sebelum berpartisi kembali ke dalam dan terdifusi melalui keratin di dalam korneosit, lalu terdifusi kembali ke lipid *interseluler*. Pada rute

interseuler, rute ini membutuhkan molekul untuk berpartisipasi ke dalam *lipid bilayers* diantara korneosit, kemudian terjadi difusi melalui rute yang berliku-liku di dalam lipid *interseuler* secara terus menerus (*brick walls*). Setelah melewati stratum korneum, molekul terdifusi melalui lapisan epidermis bawah sebelum melewati kapiler pada *epidermal-dermal junction* (Aulton dan Taylor, 2013).

2.3. Nanoemulsi

2.3.1. Definisi Nanoemulsi

Nanoemulsi merupakan sistem dispersi cair antara air dan minyak yang distabilkan oleh lapisan antarmuka surfaktan dan ko-surfaktan yang memiliki ukuran droplet berkisar antara 10-200 nm, hal ini membuat bentuk fisiknya transparan. Nanoemulsi Termo-dinamis dan sistem yang stabil secara kinetik (tidak mengalami flokulasi atau koalesensi selama penyimpanan jangka panjang), distribusi ukuran yang seragam dan sifat fisikokimia dan biologis yang berbeda dari emulsi lain (> 500 nm) (Rai et al., 2018).



Sumber : Chen et al., 2011

Gambar 2. 4 Struktur Nanoemulsi minyak dalam air

2.3.2. Keuntungan Nanoemulsi

Nanoemulsi memiliki berbagai keunggulan dibandingkan emulsi konvensional seperti jumlah pelarut organik yang diperlukan dalam pembuatan nanoemulsi lebih sedikit, dapat membantu melarutkan dan menjadi pembawa zat yang bersifat hidrofilik dan hidrofobik karena adanya lapisan antarmuka yang dihasilkan oleh surfaktan antara minyak dan air. Keuntungan dari nanoemulsi adalah stabil secara termodinamika dan kinetik sehingga mencegah flokulasi, agregasi dan creaming. Nanoemulsi dapat digunakan oleh berbagai rute seperti oral, topikal, parenteral dan transdermal. Ukuran tetesannya dalam bentuk nano menjadikan luas permukaannya besar sehingga meningkatkan penetrasi dengan demikian dapat meningkatkan bioavailabilitas; melindungi obat dari hidrolisis dan oksidasi akibat

enkapsulasi dalam tetesan minyak juga meningkatkan permeasi obat melalui kulit (Rai et al., 2018).

2.3.3. Kekurangan Nanoemulsi

Nanoemulsi memiliki kekurangan yaitu konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan untuk stabilisasi diperlukan dalam jumlah besar, stabilitasnya pun dipengaruhi oleh suhu dan pH, ketidakstabilan dapat disebabkan karena efek Oswald ripening dan proses mahal (Suyal & Ganesh Bhatt, 2017).

2.3.4. Komponen Nanoemulsi

Nanoemulsi terdiri dari beberapa komponen, yaitu :

1. Fase Minyak

Fase minyak dengan pemilihan yang tepat sangat penting pada pembuatan nanoemulsi karena bisa mempengaruhi pemilihan bahan lainnya. Minyak rantai pendek berpenetrasi pada ekor lebih besar sehingga dapat menurunkan hydrophil lipophyl balance. Beberapa fase Minyak yang cocok adalah Captex 355, Myritol 318, IPM, Minyak nabati yang dimodifikasi dan lemak seperti minyak zaitun, minyak kelapa sawit, minyak jagung, asam oleat, minyak wijen, minyak kedelai, minyak kedelai terhidrogenasi, minyak kacang dan lilin lebah (Suyal & Ganesh Bhatt, 2017).

2. Fase Air

Ukuran tetesan dan stabilitas nanoemulsi dipengaruhi oleh sifat fase air. Oleh karena itu, pH dan ion dari fasa air harus diperhatikan dalam pembuatan nanoemulsi. Elektrolit dapat mempengaruhi karakteristik nanoemulsi, seperti ukuran tetesan dan stabilitas fisik maka disarankan untuk mengevaluasi nanoemulsi dan karakteristik nanoemulsi yang dihasilkan dalam fase air dengan berbagai pH atau konsentrasi elektrolit (tergantung pada jenis aplikasi). Selain air biasa, larutan Ringer dan dapar fosfat dapat digunakan sebagai fase air untuk mengevaluasi emulsifikasi nanoemulsi (Suyal & Ganesh Bhatt, 2017).

3. Surfaktan

Surfaktan yang dipilih dalam pembuatan nanoemulsi harus bisa menurunkan atau mengurangi nilai tegangan antarmuka agar memudahkan proses dispersi selama pembuatan nanoemulsi dan memberikan film yang fleksibel serta mudah berubah bentuk di sekitar tetesan. Surfaktan dengan HLB rendah cocok untuk pembuatan nanoemulsi air dalam minyak sedangkan surfaktan HLB tinggi (> 12) cocok untuk

pembentukan nanoemulsi minyak dalam air. Surfaktan dengan HLB lebih besar dari 20 memerlukan kosurfaktan untuk mengurangi HLB efektif menjadi nilai dalam rentang diperlukan untuk pembentukan mikroemulsi (Azeem et al., 2008).

Surfaktan yang digunakan dalam pembentukan nanoemulsi bisa berupa surfaktan ionik atau non-ionik tetapi surfaktan ionik tidak disukai karena efek toksikologis. Berbagai jenis surfaktan yang dapat digunakan seperti lesitin, poloxamers dan polysorbate 80. Penggunaan Surfaktan dengan meningkatkan konsentrasinya dapat menyebabkan tetesan menjadi lebih kecil (Suyal & Ganesh Bhatt, 2017).

4. Kosurfaktan

Kosurfaktan dapat membuat film antarmuka cukup fleksibel, rantai lipofilik surfaktan harus cukup pendek (C3-C8) atau mengandung gugus fluidisasi. Surfaktan dapat menimbulkan efek yang tidak diinginkan seperti iritasi kulit dan alergi bila digunakan pada konsentrasi tinggi oleh karena itu harus dipilih bahan yang biokompatibel, tidak beracun dan digunakan dalam rentang konsentrasi yang sesuai. Surfaktan nonionik kurang toksik dibandingkan dengan ionic (Azeem et al., 2008).

Dalam kebanyakan kasus, surfaktan rantai tunggal saja tidak cukup mengurangi tegangan antarmuka untuk pembentukan nanoemulsi tipe minyak dalam air (m/a). Kehadiran kosurfaktan memungkinkan film *interfacial* fleksibilitas yang cukup untuk membentuk mikroemulsi dengan berbagai komposisi. Jika diinginkan untuk menggunakan film surfaktan tunggal, maka rantai lipofilik dari surfaktan harus cukup pendek, atau mengandung kelompok *fluidising* (misalnya ikatan tak jenuh). Alkohol rantai pendek hingga menengah (C3-C8) umumnya ditambahkan sebagai kosurfaktan yang dapat meningkatkan fluiditas antarmuka serta mengurangi tegangan antar muka (Azeem et al., 2008).

2.3.5. Metode Pembuatan Nanoemulsi

Pembuatan nanoemulsi untuk skala laboratorium biasanya menggunakan metode emulsifikasi secara spontan karena dapat menghasilkan ukuran partikel yang relatif kecil dengan cara yang sederhana, sedangkan untuk skala besar biasanya menggunakan metode energi tinggi seperti homogenizer bertekanan tinggi, mikrofluidisasi, dan ultrasonifikasi. Nanoemulsi yang dibuat dengan metode energi tinggi bergantung pada adanya surfaktan atau campuran surfaktan sehingga dapat membentuk ukuran globul yang kecil. Beberapa parameter pada saat pembuatan perlu diperhatikan seperti suhu homogenisasi, tekanan homogenizer, dan siklus

homogenisasi karena akan berpengaruh pada ukuran globul nanoemulsi serta akan mempengaruhi stabilitas fisik sistem tersebut (Fanun, 2010).

Terdapat beberapa metode yang digunakan untuk pembuatan nanoemulsi, diantaranya adalah (Suyal & Ganesh Bhatt, 2017) :

1. Metode Sonikasi

Dalam teknik ini, ukuran tetesan emulsi dapat homogen dengan bantuan mekanisme sonikasi. Hanya sedikit jumlah batch nanoemulsi yang dapat diproduksi dengan metode ini

2. *High Pressure Homogenizer*

Metode ini didasarkan dengan memberikan tekanan yang tinggi pada sistem yang terdiri atas fase lipid (minyak), fase aquos (air), serta campuran *smix*. Tekanan tinggi dihasilkan dengan bantuan homogenizer. Dalam pembuatan dengan metode ini terdapat beberapa kekurangan, diantaranya adalah produktivitas yang buruk, penurunan komponen karena adanya produksi panas dalam jumlah yang banyak.

3. Metode Inversi Fase

Metode Inversi Fase dapat menghasilkan dispersi halus dengan metode emulsifikasi. Perubahan fase yang cukup dihasilkan dengan mengubah komposisi pada suhu konstan atau dengan mengubah suhu pada komposisi konstan.

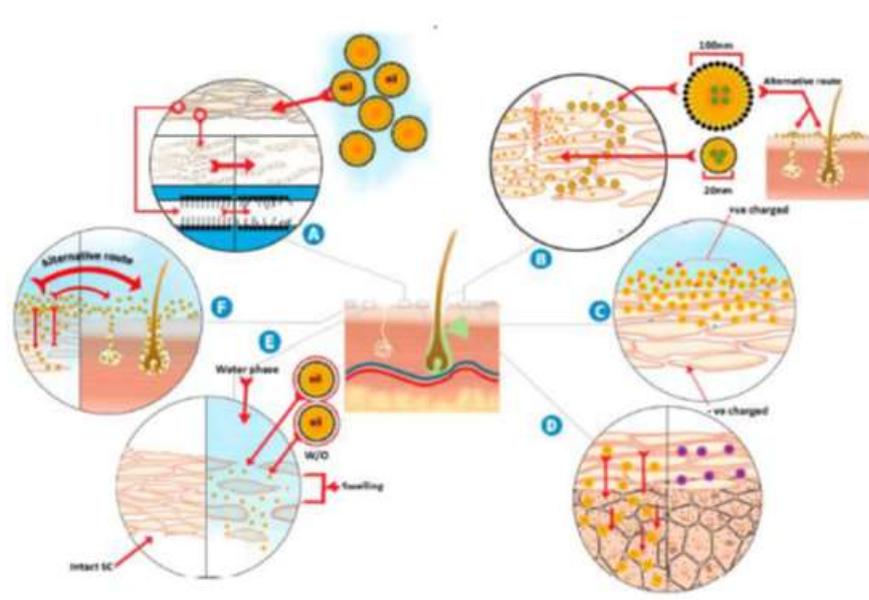
4. USG amplitudo tinggi

Metode ini merupakan alternatif untuk High Pressure Homogenizer. Diperlukan gaya geser tinggi untuk nanoemulsifikasi yang dihasilkan oleh kavitas ultrasonik yang menghasilkan gelembung vakum dengan kekerasan dan asimetris dan mengurangi ukuran partikel ke skala nanometer.

5. *Microfluidization*

Metode ini menggunakan alat microfluidizer dengan melibatkan pompa pemindahan positif tekanan tinggi (500-200 PSI). Kedua fase dicampur bersama dan diproses dalam homogenizer inline untuk mendapatkan emulsi kasar. Emulsi kasar menjadi fluidizer mikro lalu diproses lebih lanjut untuk mendapatkan nanoemulsi yang stabil.

2.3.6. Mekanisme Nanoemulsi sebagai *Penetration Enhancer Transdermal Obat Hidrofobik*



Sumber : Shaker et al., 2019

Gambar 2.5 Mekanisme nanoemulsi sebagai *penetration enhancer transdermal* obat hidrofobik

Mekanisme nanoemulsi sebagai *penetration enhancer* transdermal obat hidrofobik yaitu (Shaker et al., 2019) :

1. Gangguan pada lipid bilayer stratum korneum

Hidrofobisitas bilayer starum korneum memungkinkan masuknya peningkat permeasi dan surfaktan yang mengandung lemak asam dengan mengganggu bilayer dan membuat bagian terpisah, menginduksi jalur yang sangat permeabel dalam stratum korneum. Komposisi bahan-bahan seperti kaprilat asam (asam lemak rantai pendek), tween 80, dan propilenglikol bertindak sebagai peningkat permeasi, berpotensi secara signifikan mengurangi barier startum korneum melalui ekstraksi lipid stratum korneum.

2. Peningkatan permeasi transdermal melalui nano-Sizing tetesan minyak

Tetes kecil memiliki peluang lebih besar untuk berdifusi melalui celah membran dengan area permukaan yang luas dan dapat membawa senyawa aktif dalam nanoemulsi dengan cara yang lebih terkontrol. Ukuran tetesan kecil dari nanoemulsi juga menyebabkan nanoemulsi memiliki luas permukaan sangat besar dalam transfer zat aktif ke dalam kulit dan memberikan dispersi yang lebih baik.

3. Mengikat nanoemulsi yang bermuatan positif ke kulit yang bermuatan negatif

Nanoemulsi bermuatan positif lebih efisien dalam mengangkut molekul aktif melalui kulit daripada yang bermuatan negatif karena nanoemulsi bermuatan positif dan kulit bermuatan negatif dapat meningkatkan waktu kontak yang akhirnya memungkinkan inti nanoemulsi (fase minyak) dapat melewati berbagai lapisan kulit. Dimasukkannya pembawa bermuatan positif dalam formulasi dan adanya muatan negatif di kulit dapat meningkatkan waktu retensi nanoemulsi dan akhirnya meningkatkan bioavailabilitas obat. Nanoemulsi bermuatan positif juga dapat meningkatkan interaksi dan adsorpsi partikel dengan korneosit keratin yang bermuatan negatif dari stratum korneum sebagai penghalang utama kulit.

4. Meningkatkan permeasi transdermal dengan mengurangi viskositas

Obat dalam nanoemulsi dengan viskositas rendah dapat melalui stratum korneum dipengaruhi oleh faktor-faktor lain seperti ukuran tetesan, meningkatkan area kontak dengan kulit dan menghasilkan penetrasi yang lebih mudah.

5. Mengubah partisi obat ke dalam lapisan kulit

Obat lipofilik akan terperangkap pada lapisan stratum korneum dan gagal menembus ke dalam epidermis dan dermis sedangkan nanoemulsi dapat melewati stratum korneum, epidermis, dan dermis menunjukkan nanoemulsi dapat memberikan penetrasi dan retensi yang lebih efisien di lapisan kulit. Tipe surfaktan, kosurfaktan, kadar air, dan adanya perubahan reologi dapat meningkatkan mobilitas obat dan memodifikasinya sehingga dapat berpartisipasi ke dalam kulit.

6. Menghidrasi kulit dan melebarkan interseluler stratum korneum

Hidrasi dapat mengganggu struktur stratum korneum karena sebagian besar stratum korneum yaitu 15% hingga 20% dari beratnya terdiri dari air, sehingga hidrasi kulit dapat menyebabkan pembengkakan (*swelling*) stratum korneum dan membuka celah antar 'brick' yang ketat dan akhirnya dapat meningkatkan permeabilitas. Hidrasi kulit yang lama membuat ruang antar sel *swelling*, melebarkan jaringan lakunar yang menghubungkan kolam air di celah stratum korneum yang terputus dalam kondisi normal. Pada daerah lipid antar sel terdapat air yang bertindak sebagai genangan air dan namun saluran-saluran kecil tersebut terbentuk ketika kulit terhidrasi, mengurangi sirkulasi resistensi melalui struktur stratum korneum yang kasar. Nanoemulsi yang mengandung air sebagai fase eksternal dapat menjenuhkan lapisan stratum korneum lebih cepat dan menyebabkan peningkatan permeabilitas ke dalam dermis. Selain itu, bagian air dari nanoemulsi masuk melalui jalur appendageal dan memperbesar volume interlamellar dari lipid stratum korneum dan

memungkinkan obat lipofilik lebih mudah melewati lapisan stratum korneum. Mekanisme lainnya yaitu hidrasi dan peningkatan kadar air meningkatkan aktivitas termodinamik dan akibatnya dapat berpenetrasi melalui kulit. Komponen nanoemulsi dapat mengubah gradien air pada lapisan kulit bagian atas sehingga menghindari penguapan, menunjukkan efek oklusif, dan akibatnya mempengaruhi permeasi kulit.

2.4. Antioksidan Sebagai Anti Penuaan Kulit

2.4.1. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan dapat berdiri sendiri. Sebuah elektron tidak berpasangan pada kulit membuat atom atau molekul lebih reaktif dibanding dengan elektron yang berpasangan karena elektron akan mencoba untuk mengisi kulit terluar dengan mengambil elektron dari molekul lain kemudian atom berusaha untuk mencapai keadaan stabilitas maksimumnya. Pada saat molekul target kehilangan elektron ke radikal bebas, kemudian, molekul tersebut akan menjadi radikal bebas dan harus menemukan "donor" yang dapat mengambil elektron dari molekul lain. Dengan demikian, reaksi berantai dimulai dan menyebabkan kerusakan besar pada protein selular, DNA, membran, dan lipid. Turunan oksigen merupakan sebagian besar radikal bebas pada sistem biologis (Draeos, 2010).

Radikal bebas juga dikenal sebagai *reactive oxygen species* (ROS), terdiri dari oksigen dengan elektron yang tidak berpasangan dan disebabkan oleh paparan UV, polusi, stress, merokok, dan proses metabolisme normal. Mereka diduga menjadi penyebab atau setidaknya kontributor utama untuk proses penuaan. Ada bukti yang menunjukkan bahwa radikal bebas menyebabkan perubahan gen yang menyebabkan degradasi kolagen dan kulit menua. Antioksidan dapat menetralkan *reactive oxygen species* (ROS) dengan menyediakan elektron lain, di mana ion oksigen distabilkan dengan diberikan pasangan elektron (Baumann dkk., 2009).

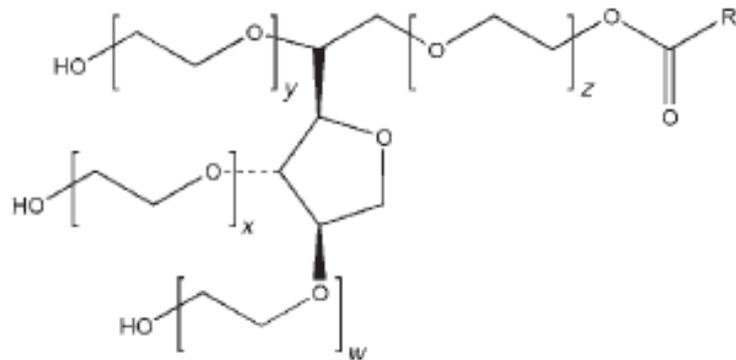
2.4.2 Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu molekul yang mampu menstabilkan atau menonaktifkan radikal bebas sebelum menyerang sel, atau dapat menghambat atau menunda oksidasi sebuah substrat. Dalam dermatologi, antioksidan luas digunakan dan merupakan bahan yang inovatif dalam pemakaian topikal yang digunakan untuk mencegah penuaan kulit. Pentingnya antioksidan dalam perlindungan sel-sel dari kerusakan adalah fungsi antioksidan untuk memblokir radikal bebas yang menyebabkan kerusakan akibat oksidatif. Mekanisme kerja antioksidan yaitu dengan menyumbangkan elektron pada radikal bebas sehingga reaksi berantai dapat stabil dan menghentikan reaksinya. Dengan menerima satu elektron tidak

berpasangan, lalu menstabilkan radikal bebas dan mencegah radikal bebas berinteraksi dan merusak DNA, lipid, dan protein. Antioksidan sendiri menjadi radikal bebas dengan menyumbangkan elektron ke radikal bebas untuk menghentikan reaksi berantai. Namun, karena strukturnya, antioksidan jauh lebih reaktif dibanding dengan radikal lainnya (Draelos, 2010).

2.5. Eksiapien

2.5.1 Tween 80



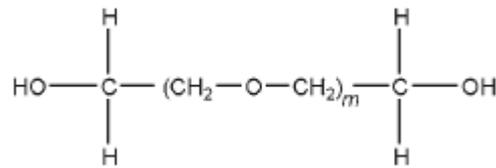
Sumber : Rowe dkk., 2009

Gambar 2.6 Struktur Kimia Polisorbat 80

Polisorbat 80 (Tween 80) memiliki nilai HLB 15 dengan karakteristik cairan berwarna kuning dan berasa pahit dengan bobot jenis $1,08 \text{ g/cm}^3$ dan. Polisorbat 80 dapat larut dalam air dan etanol, tidak larut dalam Minyak mineral dan Minyak nabati. Polisorbat 80 memiliki fungsi untuk bahan pengemulsi, bahan peningkat kelarutan, pensuspensi, surfaktan nonionik dalam membuat emulsi minyak dalam air dengan konsentrasi 1-15%, dan pembasa. Polisorbat 80 stabil pada asam maupun basa lemah serta elektrolit. Apabila dicampurkan dengan asam atau basa kuat maka akan terjadi saponifikasi. Polisorbat 80 memiliki ester asam oleat yang sensitif terhadap oksidasi. Penyimoanan Polisorbat 80 harus dalam wadah terlindung dari cahaya, tertutup baik, kering, dan dingin (Rowe dkk., 2009).

Polisorbat 80 merupakan golongan surfaktan non ionik dan bersifat hidrofil serta memiliki nilai HLB yaitu 15. Polisorbat 80 tidak bermuatan saat dikombinasikan dalam air karena terdapat gugus hidrofil pada struktur kimianya yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan air, hal ini yang menyebabkan Polisorbat 80 merupakan golongan surfaktan non ionik (Myers, 2006).

2.5.2 PEG 400



Sumber : Rowe dkk., 2009

Gambar 2.7 Struktur Kimia PEG (Polioksietilen Glikol) 400

Polyoxyethylene glycol (PEG) 400 merupakan cairan bening kental, tidak memiliki warna, tidak memiliki bau, serta agak higroskopik. PEG 400 larut pada alkohol, air, benzen, aseton, dan gliserin. PEG 400 memiliki bobot jenis 1110 sampai 1140. Nilai HLB dari PEG 400 yaitu 13,1 (Rowe, dkk., 2009).

Polioksietilen glikol 400 sering digunakan sebagai zat tambahan dan biasa digunakan sebagai surfaktan yang dapat membuat kelarutan obat meningkat (Sinko, 2006). Polioksietilen glikol 400 digunakan sebagai kosurfaktan karena dapat memperluas fleksibilitas lapisan di sekitar daerah droplet serta membantu melarutkan zat terlarut dalam media dispersi. Konsentrasi Polioksietilen glikol 400 sebagai kosurfaktan pada rentang 10-20% untuk membuat nanoemulsi dengan ukuran < 100 nm serta menghasilkan sediaan yang jernih dan stabil (Talegaonkar et al., 2011).

2.5.3 Olive Oil

Olive oil atau minyak zaitun berasal dari biji *Olea europaea* yang sudah matang. Olive oil berupa cairan berminyak transparan, tidak berwarna atau kuning. Olive oil mengandung antioksidan yang bagus. Minyak zaitun diperoleh dengan cara pemurnian dari minyak zaitun mentah agar kandungan gliserida dalam minyak tidak berubah. Minyak zaitun digunakan dalam produk kecantikan dan beberapa produk farmasi. Minyak zaitun pada umumnya dianggap tidak iritan dan aman jika digunakan sebagai excipien (Rowe, dkk., 2009).

Minyak zaitun merupakan salah satu sumber antioksidan alami yang dapat melindungi terhadap penuaan kulit. Minyak zaitun memiliki peran penting dalam industri kecantikan karena memiliki khasiat dalam menjaga kelembutan dan kelembapan kulit sehingga kulit dapat terlihat seperti awet muda. Minyak zaitun terdiri dari berbagai komposisi antara lain mikronutrien vitamin (A, β -karoten, dan E), asam lemak tak jenuh (linoleat, oleat, dan asam linolenat), serta antioksidan fenolik, yaitu *tyrosol*, *hydroxytyrosol*, *lignan*, *oleuropein*, serta *squalene* (Hakim et al., 2018).

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah *true experiment* karena penelitian dilakukan dalam skala laboratorium. Desain penelitian yang dilakukan merupakan *posttest only control design*, yaitu memformulasi dan menguji stabilitas nanoemulsi yang mengandung Astaxanthin.

3.2. Subyek Penelitian

Subyek penelitian yang menjadi sasaran dalam penelitian ini adalah komposisi formulasi nanoemulsi astaxanthin dengan berbagai variasi konsentrasi antara fase minyak dan *Smix* (campuran surfaktan dan kosurfaktan) agar menghasilkan nanoemulsi yang stabil serta memenuhi syarat uji karakterisasi.

3.3. Metode Pengumpulan Data

Tahap pertama dilakukan pengumpulan bahan yang akan digunakan. Bahan aktif dan excipien yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari produsen yang telah memiliki izin resmi untuk menjual dan mendistribusikan bahan baku kosmetika (BPOM, 2009).

Tahap kedua yaitu optimasi formula nanoemulsi agar mendapatkan formula bahan yang dapat membuat nanoemulsi yang membentuk larutan transparan, jernih, dan stabil. Optimasi dilakukan dengan membuat variasi *Smix* (surfaktan dan kosurfaktan) dimana tween 80 sebagai surfaktan dan Polietilenglikol 400 (PEG 400) dengan variasi total fase minyak dan *Smix* 20%, 30% dan 40% serta perbandingan *Smix* 3:1, 4:1 dan 5:1 yang kemudian masing-masing rasio *Smix* dioptimasi dengan fase minyak yaitu *Olive Oil*.

Tahap selanjutnya yaitu uji karakterisasi nanoemulsi yang telah dibuat. Uji karakterisasi meliputi uji organoleptis, penetapan pH, penentuan ukuran droplet nanoemulsi, uji efisiensi penjerapan, dan uji stabilitas *freeze thaw*.

3.4. Analisis Data

Data pH yang diperoleh pada saat uji karakterisasi pengujian pH dan stabilitas *Freeze Thaw* di uji statistika dengan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk* kemudian diuji homogenitas menggunakan *One-Way ANOVA*. Pengujian dilanjutkan apabila distribusi data tidak normal atau tidak homogen dengan menggunakan *Post Hoc Test*.