

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui optimasi formula nanoemulsi alfa-tokoferol asetat dengan hasil formula menggunakan minyak biji jarak sebagai fase minyak dan propilenglikol sebagai kosurfaktan dengan perbandingan fase minyak:Smix (surfaktan dan kosurfaktan) 1:9, 2:8, 3:7 menghasilkan nanoemulsi Alfa-tokoferol asetat yang kuning jernih. Propilenglikol sebagai kosurfaktan dimaksudkan untuk membantu surfaktan mengurangi tegangan permukaan antara minyak dan air, selain itu propilenglikol berfungsi untuk melarutkan fase minyak. Fase minyak yang ditambahkan yaitu minyak biji jarak digunakan untuk menurunkan viskositas alfa-tokoferol asetat, semakin sedikit jumlah fase minyak yang digunakan, akan semakin mudah terbentuk nanoemulsi karena fase minyak yang akan disolubilisasi oleh misel semakin sedikit (Anggraeni, 2012).

Formula nanoemulsi dengan minyak biji bunga matahari menghasilkan formula yang berwarna kuning keruh sampai putih susu. Hal ini disebabkan jenis minyak dan rasio surfaktan terhadap minyak mempengaruhi sifat dispersi koloid yang terbentuk. Pada rasio surfaktan minyak yang tinggi terbentuk nanoemulsi, namun pada rasio surfaktan minyak yang rendah yang terbentuk adalah emulsi. Membuat nanoemulsi dengan menggunakan trigliserida rantai sedang (Mygliol 812) sebagai fase minyak dan tween 80 sebagai surfaktan menunjukkan bahwa nanoemulsi dengan emulsifikasi

spontan dapat dibentuk pada rasio surfaktan-minyak (*surfactant oil ratio*, SOR) lebih dari 1 (Yang, dkk. 2012). Trigliserida sebagai fase minyak, rentang komposisi sistem minyak-air-surfaktan yang mampu membentuk nanoemulsi lebih sempit karena trigliserida bersifat berpermukaan aktif sehingga tidak mampu membentuk lapisan minyak pada sistem amphifilik-air. Kecocokan panjang rantai surfaktan dan minyak merupakan faktor yang penting dalam pembentukan nanoemulsi (Bayrak dan Iscan, 2005). Selain itu, pengaruh dari HLB juga mempengaruhi tidak terbentuknya nanoemulsi pada minyak biji bunga matahari. Span 80 dan tween 80 merupakan emulgator berupa surfaktan nonionik yang jika digunakan pada kombinasi yang kurang sesuai dapat menyebabkan terjadinya *phase inversion temperature* (PIT). Kondisi PIT ini dapat terjadi selama proses pembuatan nanoemulsi dan penyimpanan sediaan nanoemulsi, perubahan fase emulsi akan mempengaruhi stabilitas fisik sediaan (Lachman, et al. 1994).

Pembentukan nanoemulsi minyak biji jarak sebagai fase minyak dan propilenglikol sebagai kosurfaktan dipengaruhi aktivitas antioksidan dan sifat lipofilisitas (kemampuan larut dalam lemak) yang optimal dari minyak biji jarak dan polietilenglikol yang dipengaruhi oleh adanya ikatan rangkap antara gugus karboksil dan gugus aromatik. Dengan optimalnya aktivitas *anti aging* dan sifat lipofilisitas akan meningkatkan rantai penghubung (Yang Li et al. 2014).

Nanoemulsi dibuat dengan menggunakan metode energi tinggi dimana formula campuran minyak, surfaktan, kosurfaktan dan bahan aktif dapat membentuk nanoemulsi ketika ditambahkan air dengan menggunakan *magnetic stirrer* kecepatan 600 rpm, *hand-mixer blender* dan sonikasi pada

suhu ruang $25 \pm 2^\circ\text{C}$ karena bahan aktif alfa-tokoferol asetat tidak tahan terhadap pemanasan. Penggabungan dari ketiga metode ini diharapkan dapat menghasilkan nanoemulsi yang ukuran globul merata dan indeks polidispersitas kurang dari 0,5 (Chabbra, et al. 2011)

Kecepatan pengadukan dengan *magnetic stirrer* sangat mempengaruhi pembentukan ukuran globul yang diinginkan. Jika terlalu cepat tetesan yang terdapat dalam nanoemulsi akan mudah saling berbenturan sehingga ukuran globul yang dihasilkan menjadi lebih besar dan nanoemulsi akan keruh, selain itu dengan pengadukan yang cepat akan menghasilkan busa karena banyak udara yang terperangkap. Sedangkan jika pengadukan terlalu lambat maka bahan-bahan akan sulit untuk homogen (Lachman, et al. 1994). Pembentukan emulsifikasi spontan yang terdiri dari fase organik yaitu jumlah yang berbeda dari vitamin E, surfaktan, kosurfaktan dan fase air dapat menghasilkan nanoemulsi dengan ukuran globul yang optimal dilakukan dengan pengadukan dengan *magnetic stirrer* 600 rpm selama 15 menit (Saber, et al. 2013)

Lama dari sonikasi dilakukan untuk mengecilkan ukuran globul yang akhirnya menuju ukuran nanoemulsi yang stabil serta penggumpalan semakin berkurang. Hal ini disebabkan karena gelombang *ultrasonic* pada metode sonikasi dapat memisahkan penggumpalan globul dan terjadi dispersi sempurna dengan penambahan surfaktan sebagai penstabil (Delmifiana, 2013).

Pada rasio perbandingan fase minyak:Smix yaitu 1:9, 2:8, dan 3:7 dengan perbandingan Smix (surfaktan dan kosurfaktan) 1:1 yang telah terpilih karena dari hasil optimasi, perbandingan tersebut memiliki stabilitas

fisik yang baik yaitu menghasilkan nanoemulsi yang cair agak kental, berwarna kuning jernih, dan tidak berbau dibandingkan perbandingan lain 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2 dan 9:1 yang menghasilkan nanoemulsi kental dan berwarna keruh-putih susu. Sesuai dengan karakteristik nanoemulsi yang stabil secara termodinamika yaitu tetap transparan atau kuning jernih ketika terdispersi oleh minyak dan air serta distabilkan oleh tegangan antarmuka molekul surfaktan dan kosurfaktan (Shankar, et al., 2015). Selain itu, perbandingan tersebut dapat menghasilkan sistem nanoemulsi dengan tipe *OW*.

Pada uji pH menunjukkan bahwa sistem memiliki pH pada rerata \pm SD yaitu $8,048 \pm 17,953$, dimana spesifikasi pH nanoemulsi 4-6. Namun, pH yang masih dapat ditoleransi oleh kulit yaitu 9,2 dengan demikian sediaan ini masih dapat diaplikasikan ke kulit (Yati, 2011). Perbedaan konsentrasi bahan-bahan dalam formula nanoemulsi seperti pH alfa-tokoferol asetat 6,0-8,0; minyak biji jarak yaitu 6,11; tween 80 yaitu 5,0-7,0; propilenglikol 6,5; akan mempengaruhi pH nanoemulsi yang dihasilkan. Dari hasil pengukuran pH terlihat bahwa semakin meningkatnya konsentrasi fase minyak:Smix akan semakin meningkat pula pH nanoemulsi. pH tidak boleh terlalu asam karena dapat menyebabkan iritasi kulit dan juga tidak boleh terlalu basa karena dapat menyebabkan kulit bersisik (Wihelmina, C.E., 2011)

Pada pengukuran efisiensi penyerapan zat aktif yang dilakukan dengan memisahkan nanoemulsi dari zat aktif yang tidak terjerap dalam globul nanoemulsi sehingga didapatkan persen zat aktif yang terjerap dalam nanoemulsi. Hasil efisiensi penyerapan dari nanoemulsi alfa-tokoferol asetat yaitu hari ke-0 adalah 91,215% dan hari ke-45 adalah 88,58%, dimana hari

ke-0 lebih tinggi daripada hari ke-45 menunjukkan penurunan efisiensi penyerapan alfa-tokoferol. Penurunan efisiensi penyerapan ada hari ke-45 mungkin disebabkan karena kurang optimalnya surfaktan mengelilingi globul sehingga bahan aktif alfa-tokoferol asetat dapat terlepas dari globulnya menjadi alfa-tokoferol asetat yang tidak terjerap. Efisiensi penyerapan yang bagus adalah hasil yang mendekati 100% bahan aktif yang terjerap.

Hasil pengukuran ukuran globul yang didapat dengan rata-rata ukuran partikel adalah $899,9 \pm 61,44$ nm dimana ukuran nanoemulsi pada rentang 50 nm – 1000 nm (Shankar, 2015), sehingga sediaan nanoemulsi alfa-tokoferol asetat masih pada batas rentang nanoemulsi. Indeks polidispersitas merupakan suatu nilai yang menggambarkan distribusi ukuran globul yang terdispersi. Hasil yang didapatkan pada rerata \pm SD indeks polidispersitas adalah $0,562 \pm 0,07$, hal ini menunjukkan distribusi pada batas rentang, dimana distribusi ukuran tersebut merata jika nilai indeks polidispersitas kurang dari 0,5 (Chabbra, et al., 2011)

Berdasarkan ukuran globul nanoemulsi, tampak adanya pengaruh dari surfaktan dan kosurfaktan. Semakin besar konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan, ukuran globul semakin menurun. Hal tersebut diperkirakan pada ukuran globul yang lebih kecil, luas permukaan akan semakin besar, dan memerlukan lebih banyak surfaktan untuk mengisi luas permukaan tersebut (Affandi, et al. 2011). Indeks polidispersitas menunjukkan lebar distribusi massa molekul rata-rata. Semakin kecil indeks polidispersitas maka lebar distribusi akan semakin sempit, semakin besar indeks polidispersitas maka lebar distribusi akan semakin besar. Selan itu, indeks polidispersitas menunjukkan keseragaman ukuran, semakin kecil nilai indeks polidispersitas

mengindikasikan ukuran yang semakin seragam. Dari hasil penelitian didapatkan hasil masih diluar rentang hal ini disebabkan persebaran ukuran yang kurang seragam diakibatkan oleh suhu dan ukuran globul. Penurunan ukuran globul dan indeks polidispersitas seiring peningkatan konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan lebih jelas menunjukkan pengaruh pada persebaran nano droplet. Dengan rasio fase organik yang sama (10% w/w) pada emulsi, peningkatan konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan dapat mengurangi tegangan permukaan antara fase organik dan fase air sehingga droplet yang terbentuk lebih seragam, terjadi penurunan penggabungan droplet dan menstabilkan pembentukan droplet kecil (Karjiban, et al. 2012)

Uji difusi dilakukan dengan menggunakan lepasan kulit ular dan dapar fosfat pH 5,5 sebagai kompartemen reseptor karena zat aktif alfa-tokoferol asetat ditujukan untuk memberikan efek topikal sehingga disesuaikan dengan pH kulit. Lepas kulit ular digunakan sebagai simulasi dari stratum korneum karena memiliki struktur, ketebalan dan komposisi lipid yang mirip dengan stratum korneum pada kulit manusia. Ketebalan dari kulit ular yaitu $17 \pm 2 \mu\text{m}$ sedangkan stratum korneum yaitu $18 \pm 3 \mu\text{m}$. Total lipid pada kulit ular yaitu $126 \pm 10 \mu\text{g/mg}$ dan pada stratum korneum yaitu $119 \pm 12 \mu\text{g/mg}$ (Ngawhirunpat, et al. 2006). Pada kelupasan kulit ular, kadar air lebih rendah dari lapisan stratum korneum. Hal ini menunjukkan bahwa porositas kulit ular mungkin kurang dibandingkan pada kulit manusia. Kondisi stratum korneum yang lebih terhidrasi, menyebabkan obat dapat bebas bergerak dan mudah menembus kulit. Hasil ini menunjukkan bahwa penggunaan kulit ular memiliki potensi untuk mengabsorpsi senyawa lipofilik (Ngawhirunpat, et al. 2006)

Pada hasil uji difusi selama 6 jam menunjukkan bahwa jumlah alfa-tokoferol asetat yang berpenetrasi lebih besar pada formula nanoemulsi dibandingkan dengan formula emulsi. Puncak penetrasi alfa-tokoferol formula nanoemulsi terjadi pada menit ke-30 dimana sebanyak 95,03% alfa-tokoferol asetat telah berdifusi, sedangkan pada formula emulsi hanya 32,22% yang berdifusi. Nanoemulsi memiliki kecepatan berdifusi lebih banyak dibandingkan sediaan emulsi, hal ini dapat disebabkan oleh ukuran globul yang kecil dan jumlah surfaktan dan kosurfaktan yang digunakan.

Nanoemulsi memiliki konsentrasi surfaktan yang jauh lebih besar dibandingkan sediaan emulsi, sehingga alfa-tokoferol dalam sediaan nanoemulsi mudah menembus membran karena ukuran globul yang kecil dan menyebabkan laju berdifusi cepat di awal. Hal ini menjadi suatu kemungkinan karena salah satu faktor yang dapat mempengaruhi laju difusi obat ialah komponen pembawa dalam sediaan, terutama pelarut dan surfaktan (Sinko, 2011).

Ukuran globul nanoemulsi dapat membantu meningkatkan permeasi obat. Jika ukuran globul sangat kecil, jumlah obat yang berinteraksi dengan area pada stratum korneum akan meningkat. Nanoemulsi dapat berpenetrasi melalui stratum korneum dengan ukuran partikel 20-200 nm (Samson, 2016). Sistem emulsi umumnya mudah rusak dengan penambahan energi serta seiring berjalannya waktu. Masalah ini dapat diatasi dengan memperkecil ukuran droplet serta penggunaan *stabilizer*. Memperkecil ukuran droplet dapat dilakukan dengan pembuatan nanoemulsi. Ukuran droplet nanoemulsi yang kecil membuat nanoemulsi stabil secara kinetik sehingga mencegah terjadinya sedimentasi dan kriming selama penyimpanan (Solans, et al. 2005)

Hasil dari uji difusi diatas dilakukan analisa kinetika pelepasan obat yang meliputi orde nol, orde satu, higuchi, dan korsmeyer-Peppas. Analisa kinetika pelepasan obat ditentukan dengan melihat hasil R^2 yang mendekati nilai 1. Pada sediaan nanoemulsi mengikuti kinetika pelepasan orde satu dengan hasil R^2 yaitu 0,999 sedangkan sediaan emulsi mengikuti kinetika pelepasan Higuchi dengan hasil R^2 yaitu 0,9908. Pada kinetika pelepasan obat dengan Korsmeyer-Peppas didapatkan nanoemulsi dengan $n = 0,7861$ dan emulsi dengan $n = 0,6223$, dimana $n > 0,45$ yaitu mengikuti mekanisme pelepasan obat difusi non-fickian.

Nanoemulsi alfa-tokoferol asetat mengikuti kinetika pelepasan orde satu menunjukkan bahwa kecepatan laju reaksi dipengaruhi konsentrasi obat, serta jumlah obat berkurang dengan laju yang sebanding dengan jumlah obat yang tersisa. Sedangkan, emulsi mengikuti kinetika pelepasan higuchi, hal ini menunjukkan bahwa pelepasan obat dikontrol oleh difusi obat melalui pori-pori matriks. Model pelepasan Higuchi memiliki hipotesis dimana konsentrasi awal obat dalam matriks jauh lebih tinggi dari kelarutan obat, difusi obat hanya terjadi pada satu dimensi dan difusi obat konstan (Shaikh, et al. 2015). Hal ini sesuai dengan pelepasan emulsi O/W mengikuti model difusi Higuchi, dimana pelepasan obat yang lebih tinggi dikarenakan penggunaan tween 80 sebagai komponen dasar yang dapat mempengaruhi karakter kulit dengan mengurangi penguapan air kulit dan meningkatkan hidrasi karena keberadaan air dalam jumlah tinggi membantu dalam melarutkan obat (Sabati et al., 2013)

Kedua hal ini ditunjukkan dalam kinetika pelepasan obat Korsmeyer-Peppas yang berada dalam hukum difusi non-Fickian yaitu $0,45 < n < 0,89$

karena nanoemulsi memiliki nilai $n = 0,7861$ dan emulsi memiliki nilai $n = 0,6223$. Aplikasi difusi menggambarkan proses dimana penetran dipindahkan dari satu bagian ke sistem yang lain sebagai hasil dari gerakan molekul acak. Hukum difusi non-fickian yakni laju difusi dan erosi polimer berjalan seimbang (Comyn, 1985)

