

**OPTIMASI KOSURFAKTAN POLIETILEN GLIKOL 400 (PEG 400) PADA
NANOEMULSI EKSTRAK DAUN MENKUDU (*Morinda citrifolia*)**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



**Oleh:
Yusmita Marnawati
145070501111007**

**POGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2018

**OPTIMASI KOSURFAKTAN POLIETILEN GLIKOL 400 (PEG 400) PADA
NANOEMULSI EKSTRAK DAUN MENGKUDU (*Morinda citrifolia*)**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



**Oleh:
Yusmita Marnawati
145070501111007**

**POGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2018

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL DEPAN.....	i
HALAMAN JUDUL/SAMPUL DALAM	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN.....	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Manfaat.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Kulit	6
2.2 Antioksidan	7
2.3 Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i> L.).....	9
2.4 Macam Sistem Penghantaran Obat	14

2.5 Uji Kualitas Mutu Sediaan	20
2.6 Formulasi Menggunakan <i>Design Expert</i>	20
2.7 Monografi Bahan	21
BAB 3 KERANGKA KONSEP PENELITIAN	27
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	27
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep	28
3.3 Hipotesis Penelitian	29
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	30
4.1 Rancangan Penelitian	30
4.2 Variabel Penelitian	30
4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian	30
4.4 Alat dan Bahan	31
4.5 Definisi Istilah/Operasional.....	31
4.6 Rancangan Formula	32
4.6.1 Formula Nanoemulsi	32
4.6.2 Rasionalisasi Formula	34
4.7 Prosedur Penelitian.....	37
4.7.1 Pembuatan Ekstrak Daun Mengkudu	37
4.7.2 Optimasi Nanoemulsi	37
4.7.3 Pembuatan Nanoemulsi	38
4.8 Spesifikasi Nanoemulsi Ekstrak Daun Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i>)	39
4.9 Evaluasi Nanoemulsi	39
4.9.1 Uji Organoleptik.....	39

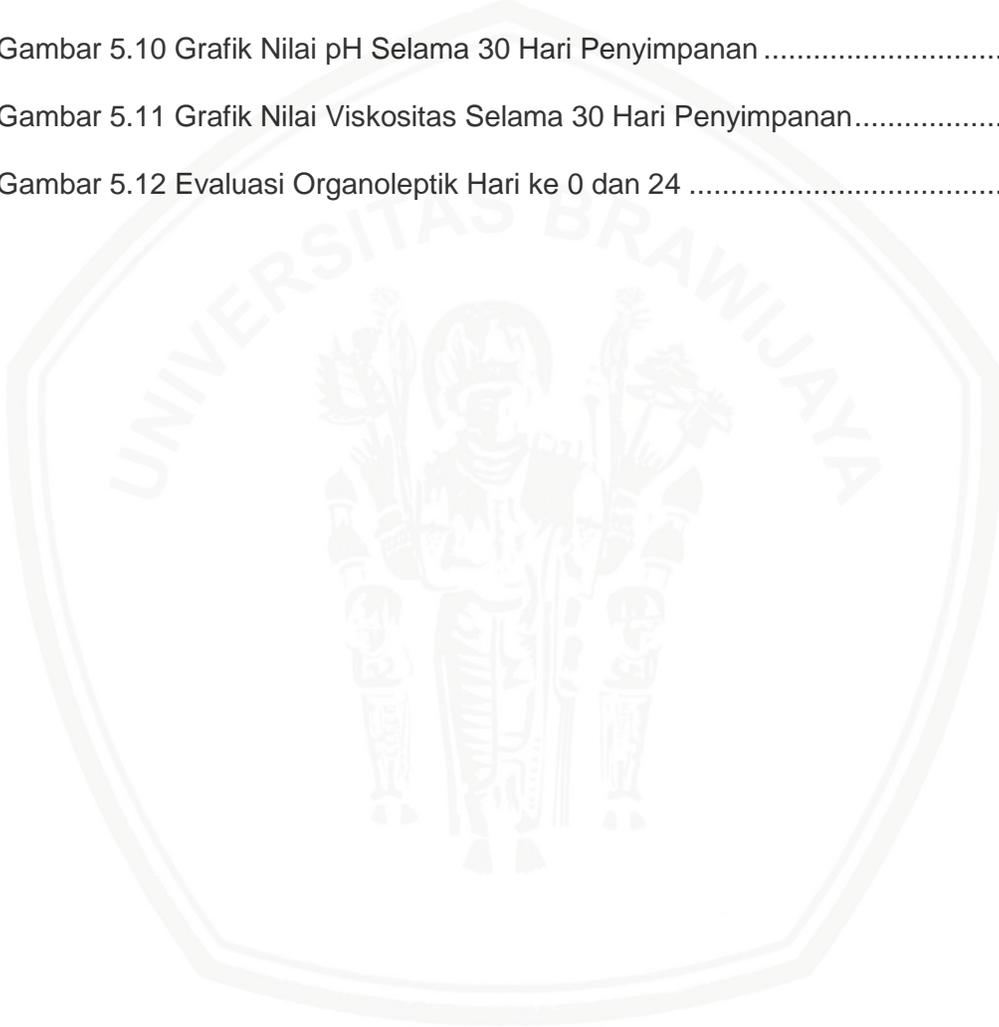
4.9.2 Uji Tipe Nanoemulsi	40
4.9.3 Uji pH	40
4.9.4 Uji Viskositas.....	41
4.9.5 Uji Index Polidospersitas	41
4.9.6 Uji Persen Transmitan.....	42
4.9.7 Uji Ukuran Droplet.....	42
4.9.8 Uji Stabilitas Sediaan	43
4.10 Skema Kerja	44
4.11 Analisis Data.....	47
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA.....	48
5.1 Optimasi Formula Nanoemulsi Ekstrak Daun Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i>)	48
5.2 Evaluasi Nanoemulsi	55
5.2.1 Uji Organoleptik.....	55
5.2.2 Uji Tipe Nanoemulsi	56
5.2.3 Uji Persen Transmitan.....	58
5.2.4 Uji pH	58
5.2.5 Uji Viskositas.....	59
5.2.6 Uji Ukuran Droplet.....	59
5.2.7 Uji Indeks Polidispersitas.....	60
5.3 Hasil Evaluasi Stabilitas Sediaan Nanoemulsi	60
5.3.1 Uji Sentrifugasi	60
5.3.2 Uji Stabilitas <i>On Going</i>	61

5.3.2.1 Uji Organoleptik	61
5.3.2.2 Uji Persen Transmitan	63
5.3.2.3 Uji pH.....	64
5.3.2.4 Uji Viskositas	65
5.3.2.5 Uji Ukuran Droplet	67
5.3.2.6 Uji Indeks Polidispersitas	67
5.3.3 Uji Stabilitas <i>Cycling</i>	68
5.3.3.1 Uji Organoleptik	69
5.3.3.2 Uji Persen Transmitan	70
5.3.3.3 Uji pH.....	70
5.3.3.4 Uji Viskositas	71
5.3.3.5 Uji Ukuran Droplet	72
5.3.3.6 Uji Indeks Polidispersitas	73
BAB 6 PEMBAHASAN.....	74
6.1 Pembahasan.....	74
6.2 Implikasi Pada Bidang Farmasi.....	80
6.3 Keterbatasan Penelitian	81
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	82
7.1 Kesimpulan.....	82
7.2 Saran	82
DAFTAR PUSTAKA.....	83
LAMPIRAN	90

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Kulit	7
Gambar 2.2 Tanaman Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i>)	10
Gambar 2.3 Quercetin 3-O-metil eter	12
Gambar 2.4 Quercetin 3-O-dimetil eter	12
Gambar 2.5 Kaemferol 3,4-O-dimetil eter	12
Gambar 2.6 Apigenin.....	12
Gambar 2.7 Kaemferol 5,7-O-diarabinosid.....	13
Gambar 2.8 Mekanisme Perkutan Nanoemulsi.....	17
Gambar 2.9 Struktur kimia Tween 80.....	21
Gambar 2.10 Struktur Kimia Span 80	23
Gambar 2.11 Struktur Kimia Polyethylene glycol	25
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian	27
Gambar 4.1 Skema Kerja Optimasi.....	44
Gambar 4.2 Skema Pembuatan Nanoemulsi	45
Gambar 4.3 Alur Kerja	46
Gambar 5.1 Hasil Optimasi Formula Nanoemulsi HLB 12,86 dengan Surfaktan : Kosurfaktan (2:1).....	52
Gambar 5.2 Hasil Organoleptik 20 Formula Rekomendasi <i>Design Expert</i>	52
Gambar 5.3 Hasil Replikasi 5 Formula yang Dipilih	54
Gambar 5.4 Hasil Uji Organoleptik.....	56
Gambar 5.5 Hasil Uji Tipe Nanoemulsi Metode Pengenceran.....	57

Gambar 5.6 Hasil Uji Tipe Nanoemulsi Metode Persebaran	57
Gambar 5.7 Hasil Uji Sentrifugasi Sediaan Nanoemulsi.....	61
Gambar 5.8 Evaluasi Organoleptik Hari ke 0 sampai 30	62
Gambar 5.9 Grafik Nilai % Transmittan Selama 30 Hari Penyimpanan	64
Gambar 5.10 Grafik Nilai pH Selama 30 Hari Penyimpanan	65
Gambar 5.11 Grafik Nilai Viskositas Selama 30 Hari Penyimpanan.....	66
Gambar 5.12 Evaluasi Organoleptik Hari ke 0 dan 24	69



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Formula Nanoemulsi (surfaktan : kosurfaktan → 1:1).....	33
Tabel 4.2 Formula Nanoemulsi (surfaktan : kosurfaktan → 1:2).....	33
Tabel 4.3 Formula Nanoemulsi (surfaktan : kosurfaktan → 2:1).....	34
Tabel 4.4 Spesifikasi Nanoemulsi Ekstrak Daun Mengkudu.....	39
Tabel 5.1 Hasil Organoleptik Optimasi Formula HLB 12,86 (1:1)	49
Tabel 5.2 Hasil Organoleptik Optimasi Formula HLB 12,86 (1:2).....	49
Tabel 5.3 Hasil Organoleptik Optimasi Formula HLB 12,86 (2:1)	50
Tabel 5.4 Hasil Organoleptik Optimasi Formula HLB 8 (1:1).....	50
Tabel 5.5 Hasil Organoleptik Optimasi Formula HLB 8 (1:2).....	51
Tabel 5.6 Hasil Organoleptik Optimasi Formula HLB 8 (2:1).....	51
Tabel 5.7 Hasil Organoleptik Optimasi Formula HLB 12,86 (2:1).....	51
Tabel 5.8 Hasil Organoleptik 20 Formula Rekomendasi <i>Design Expert</i>	53
Tabel 5.9 Formula Rekomendasi <i>Design Expert</i>	54
Tabel 5.10 Hasil Persen Transmitan dari 5 Replikasi.....	54
Tabel 5.11 Uji Organoleptik	56
Tabel 5.12 Hasil Evaluasi Persen Transmitan.....	58
Tabel 5.13 Hasil Evaluasi pH.....	58
Tabel 5.14 Hasil Evaluasi Viskositas.....	59
Tabel 5.15 Hasil Evaluasi Ukuran Droplet.....	59
Tabel 5.16 Hasil Evaluasi Indeks Polidispersitas	60
Tabel 5.17 Hasil Evaluasi Organoleptik <i>On Going</i>	62

Tabel 5.18 Hasil Evaluasi Persen Transmitan <i>On Going</i>	63
Tabel 5.19 Hasil Evaluasi pH <i>On Going</i>	64
Tabel 5.20 Hasil Evaluasi Viskositas <i>On Going</i>	66
Tabel 5.21 Hasil Evaluasi Ukuran Droplet <i>On Going</i>	67
Tabel 5.22 Hasil Evaluasi Indeks Polidispersitas <i>On Going</i>	68
Tabel 5.23 Hasil Evaluasi Organoleptik <i>Cycling</i>	69
Tabel 5.24 Hasil Evaluasi Persen Transmitan <i>Cycling</i>	70
Tabel 5.25 Hasil Evaluasi pH <i>Cycling</i>	71
Tabel 5.26 Hasil Evaluasi Viskositas <i>Cycling</i>	71
Tabel 5.27 Hasil Evaluasi Ukuran Droplet <i>Cycling</i>	72
Tabel 5.28 Hasil Evaluasi Indeks Polidispersitas <i>Cycling</i>	73

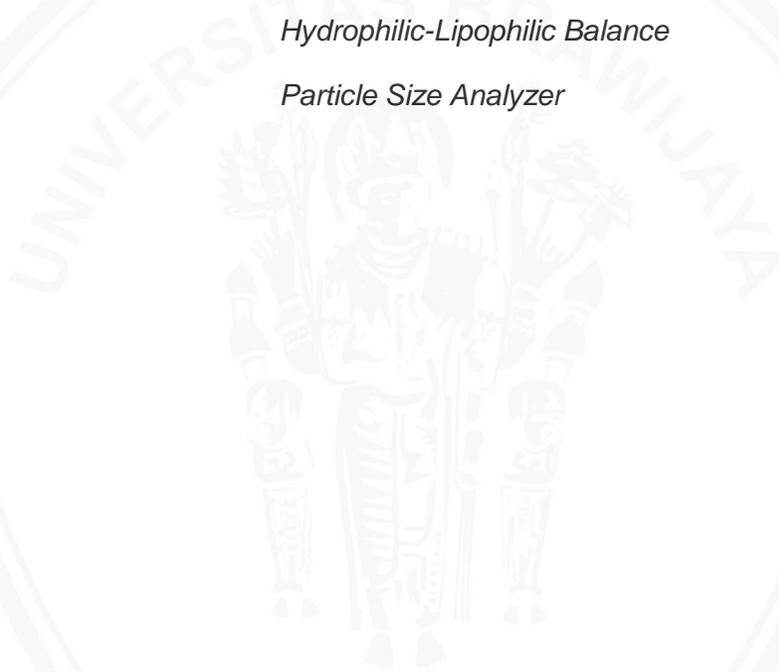
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Determinasi Tanaman Mengkudu	90
Lampiran 2. Surat Keterangan Ekstrak Daun Mengkudu	91
Lampiran 3. Surat Keterangan Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Mengkudu.....	92
Lampiran 4. CoA Polietilen Glikol 400 (PEG 400)	93
Lampiran 5. CoA Tween 80	94
Lampiran 6. Formula HLB 8.....	95
Lampiran 7. Rekomendasi Formula Design Expert	97
Lampiran 8. Hasil Validasi Design Expert	98
Lampiran 9. Hasil Analisis Statistik Persen Transmitan <i>On Going</i> dan <i>Cycling</i> ..	99
Lampiran 10. Hasil Analisis Statistik pH <i>On Going</i> dan <i>Cycling</i>	101
Lampiran 11. Hasil Analisis Statistik Viskositas <i>On Going</i> dan <i>Cycling</i>	102
Lampiran 12. Hasil Analisis Statistik Ukuran Droplet <i>On Going</i> dan <i>Cycling</i>	103
Lampiran 13. Hasil Analisis Statistik Indeks Polidispersitas <i>On Going</i> dan <i>Cycling</i>	104
Lampiran 14. Hasil Evaluasi Ukuran Partikel	105
Lampiran 15. Foto Alat.....	114



DAFTAR SINGKATAN

PEG 400	Polietilen Glikol 400
MMPs	Matriks Metalloproteinase
SLN	<i>Solid Lipid Nanoparticle</i>
SNEDDS	<i>Self Nanoemulsion Drug Delivery System</i>
RHLB	<i>Required Hydrophilic-Lipophilic Balance</i>
HLB	<i>Hydrophilic-Lipophilic Balance</i>
PSA	<i>Particle Size Analyzer</i>



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

OPTIMASI KOSURFAKTAN POLIETILEN GLIKOL 400 (PEG 400)
PADA NANOEMULSI EKSTRAK DAUN MENGKUDU
(*Morinda citrifolia*)

Oleh:

Yusmita Marnawati
148070801111007

Telah diuji pada:

Hari : Senin

Tanggal : 16 Juli 2018

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I,

Oktavia Eka Puella, M. Sc., Apt.
NIK. 2011088510252001

Pembimbing-I/Penguji-II,

Feri Widodo, M. Biomed., Apt.
NIK. 2009127503151001

Pembimbing-II/Penguji-III,

Adalrudia A. D., S. Farm., M. Farm. Klin., Apt.
NIK. 2013048801082001

Mengetahui,
Ketika Program Studi Sarjana Farmasi,

Dr. Drs. Sri Viharsih, M. Si., Apt.
NIP. 195408231981032001

ABSTRAK

Marnawati, Yusmita. 2018. **Optimasi Kosurfaktan Polietilen Glikol 400 (PEG 400) Pada Nanoemulsi Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*)**. Tugas Akhir. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Ferri Widodo, M.Biomed., Apt. (2) Adeltrudis Adelsa D, S.Farm., M.Farm.Klin., Apt.

Radiasi UV merupakan penyebab penuaan yang paling banyak memapar kulit. Adanya radiasi UV dapat membentuk radikal bebas. Antioksidan dapat mentransfer elektronnya ke radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai radikal bebas. Ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) terdiri dari flavonoid. Quercetin adalah flavonoid yang dominan sebagai antioksidan. Proses penuaan terjadi pada bagian dermis. Untuk mencapai bagian tersebut, kemudian digunakan nanoemulsi sebagai sistem penghantaran obat. Polyethylene Glycol 400 (PEG 400) sebagai kosurfaktan berperan dalam menurunkan energi bebas dalam pembentukan nanoemulsi dan meningkatkan stabilitas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui formula optimal dari kosurfaktan PEG 400 pada nanoemulsi dengan perbandingan surfaktan: kosurfaktan 1:1; 1:2; 2:1. Hasil formula optimal yang diperoleh yaitu perbandingan 2:1 pada HLB 12,86. Pembuatan nanoemulsi menggunakan ultraturax dengan kecepatan 12.000 rpm selama 1 jam. Sediaan nanoemulsi dievaluasi karakteristik fisik dan stabilitas fisiknya yang meliputi uji organoleptik, tipe nanoemulsi, %transmitan, pH, viskositas, ukuran droplet, dan indeks polidispersitas. Sediaan yang terbentuk memiliki tipe o/w dan secara organoleptik tidak mengalami perubahan selama penyimpanan dan tidak mengalami pemisahan fase. Nilai pH sediaan $7,80 \pm 0,02$, viskositas $220 \pm 0,00$ cP, ukuran droplet $130,37 \pm 1,40$ nm dan indeks polidispersitas $0,594 \pm 0,002$. Analisa statistik uji stabilitas *On Going* dan *Cycling* menunjukkan hasil $p < 0,05$, ukuran droplet mengalami peningkatan namun masih dalam rentang spesifikasi. pH dan %transmitan mengalami penurunan menunjukkan adanya perbedaan signifikan selama penyimpanan, sedangkan viskositas dan indeks polidispersitas $p > 0,05$ menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan selama penyimpanan. Sedangkan viskositas dan indeks polidispersitas menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan selama penyimpanan. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, pada perbandingan surfaktan kosurfaktan 1:1 dan 1:2 tidak terbentuk nanoemulsi karena menghasilkan campuran keruh dan mengalami pemisahan. Sedangkan pada perbandingan 2:1 berhasil membentuk nanoemulsi, namun pada uji stabilitas fisik sediaan nanoemulsi ekstrak daun mengkudu tidak stabil selama penyimpanan.

Kata Kunci: Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*), PEG 400, Nanoemulsi, Stabilitas.

ABSTRACT

Marnawati, Yusmita. 2018. ***Cosurfactant Polyethylene Glycol 400 (PEG 400) Optimization in Nanoemulsion Mengkudu (Morinda citrifolia) Leaf Extract***. Thesis. Pharmacy Program of Medical Faculty Brawijaya University. Adviser: (1) Ferri Widodo, M.Biomed., Apt. (2) Adeltrudis Adelsa D, S.Farm., M.Farm.Klin., Apt.

UV radiation is the most common cause of aging to expose the skin. The presence of UV radiation can form free radicals. Antioxidants can transfer their electrons to free radicals and stop free chain reaction of free radicals. Noni leaf extract (*Morinda citrifolia*) consists of flavonoids. Quercetin is a dominant flavonoid as an antioxidant. Aging process occurs in the dermis. To reach the dermis, then used nanoemulsi as drug delivery system. Polyethylene Glycol 400 (PEG 400) as cosurfactant plays a role in lowering free energy in the formation of nanoemulsion and increase the stability. This study aimed to find out the optimal formula of PEG 400 cosurfactant on nanoemulsion with surfactant ratio: cosurfactant 1: 1; 1: 2; 2: 1. The optimal formula result is 2: 1 comparison on HLB 12,86. Making nanoemulsion using ultraturax with a speed of 12.000 rpm for 1 hour. The nanoemulsion preparation was evaluated for physical characteristics and physical stability including organoleptic test, nanoemulsion type,% transmittance, pH, viscosity, droplet size, and polydispersity index. Type of nanoemulsion has an o / w type and oranoleptically unchanged during storage and does not undergo phase separation. The pH value of the preparation is 7.80 ± 0.02 , the viscosity is 220 ± 0.00 cP, the droplet size is 130.37 ± 1.40 nm and the polydispersity index is 0.594 ± 0.002 . From the statistical analysis of On Going and Cycling stability test results with $p < 0.05$, droplet size increased but still in the range of specifications. pH and %transmittance decreased showed significant differences during storage, while viscosity and polydispersity index $p > 0.05$ showed no significant difference during storage. whereas the viscosity and polydispersity index showed no significant differences during storage. Based on these results, on the ratio of surfactant : cosurfactant 1:1 and 1:2 nanoemulsion not formed because it produces a mixture separated. Whereas, in the 2:1 ration managed form nanoemulsion but on the test of physical stability nanoemulsion noni leaf extract unstable during storage.

Keywords : Noni Leaf (*Morinda citrifolia*), PEG 400, Nanoemulsion, Stability.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kulit terdiri dari tiga lapisan yaitu epidermis, dermis dan lapisan subkutan. Lapisan dermis memegang peranan penting dalam proses penuaan. Pada bagian dermis terdapat serat elastis yang akan mempertahankan struktur kulit dan kolagen yang dapat mencegah terbentuknya kerut. Saat penuaan terjadi, kulit kehilangan serat elastis dan kolagen mengalami kerusakan (Duraivel *et al*, 2014).

Terdapat dua jenis faktor penyebab penuaan yaitu faktor internal yang berasal dari metabolisme tubuh dan faktor eksternal karena paparan sinar UV, asap rokok dan sebagainya. Faktor-faktor tersebut menyebabkan terbentuknya radikal bebas yang memicu produksi matriks metalloproteinase (MMPs) yaitu enzim yang menurunkan kolagen dan elastin. Antioksidan merupakan solusi untuk menetralkan radikal bebas dengan mentransfer elektron menuju radikal bebas sehingga menghentikan reaksi berantai dan menstabilkan bentuk radikal bebas (Sies, 1997).

Kandungan antioksidan banyak ditemukan dalam tanaman salah satunya Mengkudu (*Morinda citrifolia*) yang merupakan tanaman dari famili Rubiaceae dan penyebarannya cukup luas di Indonesia. Mengkudu banyak mengandung antioksidan dimana bagian daunnya memiliki kemampuan sebagai antioksidan alami (Sin, 2002). Menurut Serafini (2011), aktivitas antioksidan menggunakan DPPH dari 1mg/ml ekstrak daun mengkudu menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat yaitu IC₂₀ <50%. Berdasarkan beberapa penelitian, bagian daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) memiliki banyak manfaat secara medis seperti antipenuaan, antiinflamasi,

antialergi karena dapat menghambat kerusakan membran sel yang kaya lemak oleh radikal bebas. Berdasarkan penelitian Utami (2010), hasil analisis fitokimia pada daun mengkudu menunjukkan bahwa golongan senyawa yang aktif sebagai antioksidan adalah flavonoid dan alkaloid.

Berdasarkan penelitian Saidin (2005), quercetin 3-O-metil eter merupakan senyawa flavonoid yang paling dominan memiliki aktifitas antioksidan dari kelima senyawa yang berhasil diidentifikasi. Menurut Serafini (2014), dari hasil analisa menggunakan HPLC, senyawa tersebut menunjukkan *peak* pada rentang spektra UVA (320-400nm) dan UVB (290-320nm) yang dapat digunakan sebagai UV *protective* dengan menyerap radiasi UV sehingga mencegah terbentuknya radikal bebas dan kerusakan DNA secara langsung (Saewan, 2013).

Pengembangan ekstrak daun mengkudu menjadi bentuk sediaan yang stabil menjadi potensial mengingat kandungan antioksidan pada daun mengkudu bisa digunakan sebagai antipenuaan, sehingga perlu dibuat suatu sistem penghantaran obat. Macam bentuknya seperti *Solid Lipid Nanoparticle*, nanoemulsi, mikroemulsi dan *Self Nanoemulsion Drug Delivery System* dapat dipilih karena target dari penghantaran adalah pada bagian dermis. Nanoemulsi terdiri dari dispersi antara air dan minyak dimana senyawa aktif dienkapsulasi membentuk ukuran droplet sesuai rentang 50-500nm serta memiliki bentuk transparan yang dapat meningkatkan akseptabilitas (Sharma, 2010). Menurut Deapsari (2017), ukuran droplet mempengaruhi kecepatan pelepasan dan penetrasi obat. Berdasarkan penelitian tersebut, sediaan nanoemulsi dengan ukuran droplet $66,4 \pm 1,77$ nm dan $70,07 \pm 12,42$ nm yang dibandingkan dengan emulsi biasa, dapat mencapai dermis yang

dilihat melalui mikroskop *fluorescence*. Hal tersebut menunjukkan bahwa sediaan nanoemulsi yang dipilih dapat mencapai dermis sesuai dengan target penghantaran.

Komposisi bahan yang digunakan dalam nanoemulsi yaitu fase air, fase minyak, surfaktan dan kosurfaktan (Sharma *et al*, 2010). Campuran fase minyak dan fase air sulit bercampur karena adanya pengaruh tegangan permukaan. *Sunflower oil* diklasifikasikan sebagai minyak asam oleat-linoleat yang banyak digunakan dalam formulasi topikal farmasetik, memiliki tegangan permukaan $7,39 \pm 0,31$ dyne/cm, nilai tersebut lebih rendah daripada *olive oil*, *castor oil*, *sesame oil* sebagai fase minyak yang juga banyak digunakan dalam formulasi emulsi, sehingga sistem emulsi lebih mudah terbentuk (Siddiqui, 2013). Penggunaan surfaktan dalam formulasi nanoemulsi bertujuan untuk menurunkan tegangan permukaan antara fase air dan fase minyak. Menurut Shahavi (2015), penggunaan kombinasi surfaktan Tween 80 dan Span 80 biasa digunakan karena mempunyai derajat kompatibilitas yang tinggi dengan bahan lain serta memiliki toksisitas yang rendah. Selain itu, untuk menghasilkan nanoemulsi yang stabil perlu mempertimbangkan keseimbangan sifat hidrofilik dan lipofilik sehingga digunakan kombinasi Tween 80/Span 80.

Penambahan kosurfaktan dalam formulasi nanoemulsi untuk meningkatkan fungsi surfaktan sebagai penurun tegangan permukaan serta meningkatkan fluiditas antarmuka yang berperan dalam kestabilan emulsi (Surabhi, 2010). *Polyethylene glycol* 400 atau PEG 400 biasa digunakan sebagai kosurfaktan dimana dapat menjadi *stabilizer* emulsi apabila dikombinasi dengan agen pengemulsi lain (Rowe, 2009). Menurut Lu (2013), PEG 400 dipilih sebagai kosurfaktan karena

menunjukkan area yang luas pada diagram terner saat dikombinasi dengan Tween 80 dan asam oleat sebagai fase minyak, berarti mampu membentuk nanoemulsi yang jernih. Selain itu, sifatnya yang aman dan biokompatibel serta memiliki solubilitas yang cukup baik dengan flavonoid quercetin. Namun, penelitian peran PEG 400 sebagai kosurfaktan dengan kombinasi Tween 80/Span 80 dan *sunflower oil* sebagai fase minyak masih terbatas. Oleh karena itu, diperlukan pembahasan lebih lanjut mengenai peran PEG 400 sebagai kosurfaktan dengan perbandingan konsentrasi yang optimum dalam formulasi nanoemulsi serta hasil uji stabilitas nanoemulsi yang dilakukan sehingga dengan kestabilan yang diperoleh sediaan tersebut dapat dimanfaatkan lebih lanjut.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Bagaimana formulasi nanoemulsi ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) dengan kosurfaktan *Polyethylene glycol* 400 (PEG 400) yang optimum berdasarkan hasil evaluasi akhir?
- 1.2.2 Bagaimana pengaruh konsentrasi kosurfaktan PEG 400 pada formulasi nanoemulsi ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia*)?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Untuk mengetahui formulasi nanoemulsi ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) dengan kosurfaktan *Polyethylene glycol* 400 (PEG 400) yang optimum berdasarkan hasil evaluasi akhir.

- 1.3.2 Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi kosurfaktan PEG 400 pada formulasi nanoemulsi ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia*).

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Akademik

Manfaat bagi keilmuan adalah untuk meningkatkan ilmu pengetahuan dalam bidang formulasi nanoemulsi yang stabil dan optimum menggunakan bahan alam sebagai antioksidan alami dengan kosurfaktan PEG 400 sebagai sistem penghantaran sediaan farmasi.

1.4.2 Manfaat Praktisi

Manfaat bagi praktisi adalah meningkatkan pemanfaatan penggunaan sistem penghantaran nanoemulsi dengan bahan alam ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) untuk mencapai dermis.

BAB 2

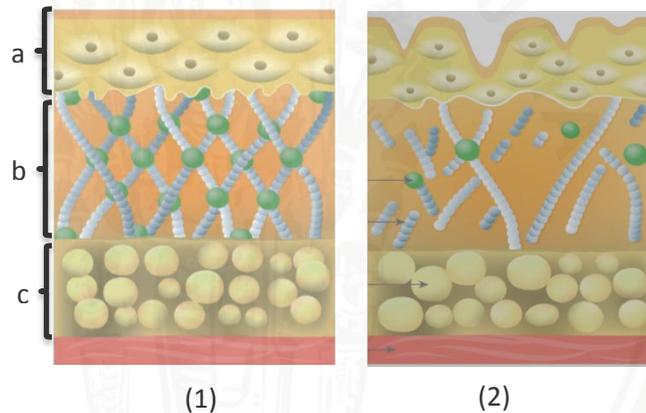
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit

Kulit merupakan organ terbesar pada tubuh yang melindungi manusia dari lingkungan eksternal. Faktor eksternal tersebut dapat berasal dari mikroorganisme, debu, trauma, perawatan medis, kosmetik serta paparan sinar UV. Kulit manusia terdiri dari tiga komponen utama yaitu epidermis, dermis, dan hipodermis. Epidermis merupakan lapisan terluar, memiliki struktur berlapis, dan mengandung keratinosit yang bermigrasi ke permukaan kulit. Stratum korneum dianggap sebagai lapisan terpisah yang terdapat pada bagian paling luar dari epidermis karena membentuk barier permeabilitas epidermis yang mencegah hilangnya air dan elektrolit. Stratum korneum terdiri dari jaringan heterogen, protein pada korneosit dan lipid pada daerah intrasel. Lipid disintesis pada lapisan dermal dan kemudian disimpan. Lipid yang disintesis membentuk sistem membran bilayer. Sehingga memiliki peran sebagai pelindung kulit, selain itu senyawa seperti asam amino, protein juga berperan dalam melindungi kulit. Secara terus menerus struktur kulit akan diperbarui dan memberikan perlindungan terhadap penetrasi zat asing (Geerlig, 2010).

Bagian dermis sebagian besar tersusun dari jaringan serat (elastin) yang sangat padat yang akan mempertahankan struktur kulit dengan meregangkan dan melipat kembali saat otot mengalami berbagai kondisi stres seperti ekspresi wajah. Selain jaringan serat elastin, pada bagian dermis juga terdapat kolagen yang berfungsi untuk mencegah pembentukan kerut. Pada saat penuaan terjadi karena adanya radikal bebas yang memicu produksi matriks metalloproteinase

(MMPs) maka kulit akan kehilangan serat elastin dan juga kolagen akan mengalami kerusakan (Gambar 2.1). Hal tersebut dapat membuat kulit lebih tipis dan kering. Bagian hipodermis disebut juga jaringan subkutan adiposa yang tersusun dari jaringan ikat lemak berlemak. Semua lapisan kulit mengandung mikrostruktur seperti pembuluh darah, ujung saraf, kelenjar keringat dan folikel rambut. Saat terjadi penuaan, lemak subkutan juga mulai hilang. Kondisi penuaan menyebabkan perkembangan kerut, hilangnya elastisitas kulit, kerapuhan kulit yang disebabkan perubahan struktural pada lapisan kulit bagian bawah (Geerlig, 2010).



Gambar 2.1 (1) Struktur Kulit (a) Epidermis, (b) Dermis, (c) Hipodermis; (2) Struktur Kulit Saat Terjadi Penuaan (Geerlig, 2010).

2.2 Antioksidan

Menurut Komang (2011), radikal bebas dapat terbentuk melalui reaksi inisiasi yaitu tahapan awal yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas. Kemudian tahap propagasi yaitu tahapan dimana radikal bebas bertambah banyak dengan membentuk reaksi rantai dengan molekul lain yang tidak stabil dengan satu elektron, yang pada gilirannya menjadi radikal bebas kemudian mengeluarkan

elektron dari molekul lain sehingga menjadi radikal dan seterusnya. Antioksidan merupakan senyawa yang bisa menghalangi proses oksidasi dengan cara menetralkan radikal bebas penyebab stress oksidatif. Antioksidan menjadi teroksidasi dengan mentransfer elektron menuju radikal bebas sehingga menghentikan reaksi berantai serta menstabilkan bentuk radikal bebas (Pouillot, 2011).

Radikal bebas dapat terbentuk karena dua faktor yaitu faktor endogen seperti reaksi peradangan, kondisi stress, infeksi, dan usia. Sedangkan faktor eksogen seperti radiasi UV, polusi udara, dan asap rokok. Paparan UV merupakan salah satu faktor eksternal yang paling sering menyebabkan kerusakan kulit, karena dapat memicu terbentuknya radikal bebas akibat proses oksidatif yang terakumulasi di dalam sel. Sel tersebut pada akhirnya dapat mengalami kerusakan bahkan kematian. Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan dapat menyebabkan kerusakan yang disebut stress oksidatif (Sies, 1997). UV-B memiliki panjang gelombang 280-320nm berpenetrasi kedalam kulit sampai bagian epidermis dimana menurut Herrling (2007), energi yang dihasilkan UV-B secara langsung dapat membahayakan DNA. Sedangkan UV-A memiliki panjang gelombang 320-400nm berpenetrasi kedalam kulit sampai pada bagian dermis. UV-A dan UV-B akan menginduksi aktivasi berbagai faktor transkripsi pada sel kulit termasuk NF- κ B (faktor transkripsi yang terlibat dalam respon stress peradangan) yang akan meningkatkan produksi matriks metalloproteinase (MMPs), dimana merupakan salah satu enzim yang menurunkan kolagen dan elastin. Radikal bebas akibat paparan UV secara terus

menerus dapat menyebabkan *photoaging*, kerusakan DNA, dan kerusakan protein (Pouillot, 2011).

2.3 Mengkudu (*Morinda citrifolia*)

2.3.1 Klasifikasi

Morinda citrifolia L. termasuk ke dalam suku tumbuhan berbunga (Rubiaceae). Klasifikasi *Morinda citrifolia* L adalah sebagai berikut (CCRC, 2014) :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Rubiales
Famili	: Rubiaceae
Genus	: <i>Morinda</i>
Spesies	: <i>Morinda citrifolia</i> L.

2.3.2 Morfologi

Mengkudu merupakan tanaman yang banyak dimanfaatkan di berbagai kalangan. Daunnya berbentuk hampir bulat dan berwarna hijau mengkilap. Bagian ujung daun runcing dan pangkalnya berbentuk runcing hingga tumpul. Lebar daun mengkudu bergantung pada besar kecilnya buah. Buah berukuran besar memiliki daun yang lebih lebar dan lebih panjang jika dibandingkan dengan daun pada buah yang berukuran kecil.

Luas daunnya berbeda karena dikaitkan dengan energi yang dibutuhkan tanaman untuk melakukan fotosintesis. Pada tanaman yang memiliki buah besar akan memiliki ukuran daun yang besar untuk mencukupi kebutuhan energi (Djauhariya,2006).



Gambar 2.2 Tanaman Mengkudu (*Morinda citrifolia*) (Djauhariya,2006).

2.3.3 Khasiat Daun Mengkudu

Tanaman sering digunakan secara turun temurun dalam membantu pengobatan beberapa penyakit. Mengkudu memiliki banyak manfaat, karena alasan sejarah dan budaya banyak masyarakat memanfaatkan untuk membantu mengatasi tumor, bakteri, nyeri, inflamasi serta membantu meningkatkan sistem imun (Ali,2016). Daun mengkudu banyak dimanfaatkan dalam bentuk ekstrak, dimana ekstrak tersebut berwarna coklat kehijauan, berbau khas aromatik serta berasa pahit (Pradana,2016).

Ekstrak daun mengkudu dalam *clinical trial* menunjukkan bahwa dapat memberikan perlindungan pada kulit dari radiasi sinar UV yang menginduksi eritema. Penggunaan daun mengkudu banyak digunakan pada produk kesehatan kulit, dengan manfaat yang potensial dalam mencegah

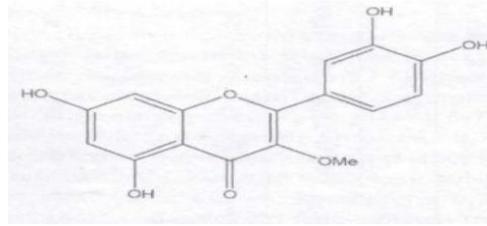
atau menurunkan kerutan pada wajah dan memperbaiki elastisitas kulit dalam rentang waktu penggunaan selama 6 minggu (West, 2012).

Daun mengkudu juga mengandung senyawa flavonoid yang memiliki aktifitas biologis dalam membantu mengatasi peradangan, alergi, virus, diabetes serta dalam mengatasi kanker. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan dengan mengikat radikal bebas, melindungi dari radiasi sinar UV dan mencegah rusaknya sel yang dapat menyebabkan *photoaging* sampai penyakit degeneratif (Saidin,2005).

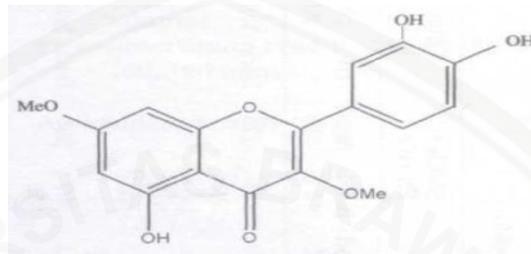
2.3.4 Kandungan Daun Mengkudu

Senyawa kimia yang dapat ditemukan pada daun mengkudu dinilai dapat memberikan manfaat secara medis seperti *n-decanoid acid*, *hexanoid acid*, *actanoid acid*, *allantoin*, *sorbitol*, *cyclopropyl*, *mannitol*, *glycerin*, dan *gamma-tochopherol*. Selain itu, juga terdapat *d-arabinitol*, *pentadecane*, *hexadecane*, *heptadecane*, *tetradecanoid acid*, *octadecane*, *phytol*, *octadecanoid acid* dan *eicosanoic acid* (Rivera,2012).

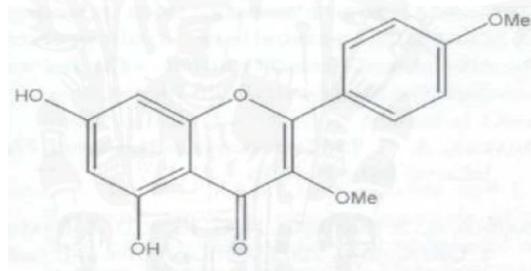
Terdapat lima senyawa golongan flavonoid yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi dalam ekstrak daun mengkudu yaitu quercetin 3-O-metil eter (77,67%); quercetin 3,7-O-dimetil eter (77,00%); kaemferol 3,4-O-dimetil eter (66,47%); apigenin (58,10%) dan kaemferol 5,7-O-diarabinosid (56,14%). Struktur kimia masing-masing senyawa antioksidan yang berhasil diisolasi sebagai berikut:



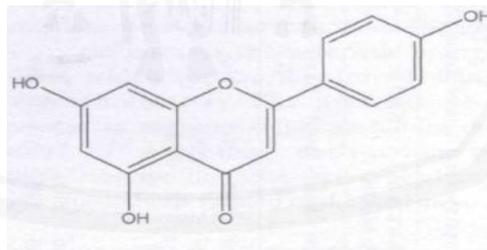
Gambar 2.3 Quercetin 3-O-metil eter (Saidin, 2005).



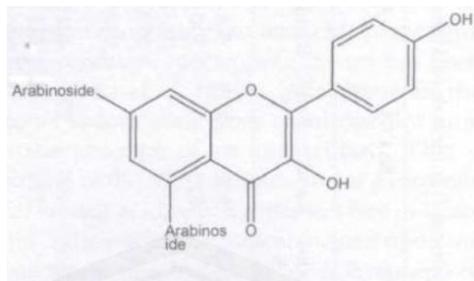
Gambar 2.4 Quercetin 3-O-dimetil eter (Saidin, 2005).



Gambar 2.5 Kaempferol 3,4-O-dimetil eter (Saidin, 2005).



Gambar 2.6 Apigenin (Saidin, 2005).



Gambar 2.7 Kaempferol 5,7-O-diarabinosid (Saidin, 2005).

Berdasarkan aktivitas biologis, senyawa flavonoid tersebut memiliki kemampuan sebagai antioksidan dengan menangkap radikal bebas (Saidin,2005). Selain itu berdasarkan penelitian yang dilakukan Utami (2010), dari analisis fitokimia ekstrak daun mengkudu menunjukkan hasil positif pada flavonoid dan alkaloid yang dapat berperan sebagai antioksidan.

2.3.5 Tinjauan Tentang Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang banyak ditemukan pada bagian dari tanaman seperti daun, buah dan batang karena merupakan senyawa metabolit sekunder pada tanaman. Ada lima grup dari flavonoid yaitu: flavon, flavanon, isoflavon, flavonol dan antosianin. Flavonoid mempunyai 15 atom karbon dalam inti dasarnya yang tersusun dalam konfigurasi $C_6-C_3-C_6$, yaitu dua cincin aromatis yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga. Perbedaan inilah yang menjadi dasar penggolongan jenis flavonoid. Berdasarkan eksperimen secara *in vitro*, flavonoid memiliki fungsi sebagai antiinflamasi, antialergi, antiviral dan anticancer. Berdasarkan aktivitas

biologinya, flavonoid memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas dan dapat berperan sebagai antioksidan.

Menurut Saidin, (2005) dalam daun mengkudu terdapat senyawa flavonoid quercetin 3-O-metil eter, quercetin 3,7-O-dimetil eter, kaemferol 3,4-O-dimetil eter, apigenin, dan kaemferol 5,7-O-diarabinosid yang masing-masing telah dilakukan pengukuran aktifitas antioksidan dengan menggunakan betakaroten *bleaching method*. Berdasarkan identifikasi tersebut senyawa quercetin 3-O-metil eter lah yang paling dominan memiliki aktifitas antioksidan yaitu 77,67%. Dari hasil analisa menggunakan HPLC, diketahui bahwa senyawa dalam daun mengkudu yaitu quercetin-3-O-*rutinoside* atau rutin dan kaemferol glikosida menunjukkan *peak* pada rentang spectra UV yang dapat digunakan juga sebagai UV *protective* dengan mekanisme yaitu menyerap radiasi UV sehingga mencegah terbentuknya ROS dan kerusakan DNA secara langsung (Serafini, 2014).

2.4 Macam Sistem Penghantaran Obat

2.5.1 SNEDDS

Self-nanoemulsifying drug delivery system atau SNEDDS merupakan campuran isotropik dari minyak, surfaktan, kosurfaktan dan obat yang dengan cepat membentuk nanoemulsi minyak dalam air (o/w) saat dimasukkan ke media berair dengan agitasi ringan. Dalam tubuh manusia, agitasi yang dibutuhkan untuk pembentukan nanoemulsi diberikan dengan motilitas pencernaan pada saluran gastrointestinal. Snedds banyak digunakan dalam penggunaan oral karena alasan tersebut. Dalam beberapa

tahun terakhir banyak penelitian mengenai peningkatan bioavailabilitas oral obat-obatan yang tidak larut dengan air menggunakan SNEDDS. Pada kulit, sedikit penelitian yang menjelaskan mekanisme agitasi perubahan SNEDDS menjadi nanoemulsi (Zhao, 2015).

2.5.2 Solid Lipid Nanoparticle

Solid Lipid Nanoparticle atau SLN menggunakan lipid sebagai alternatif pembawa untuk polimer nanopartikel, terutama untuk obat-obat yang bersifat lipofil. Sistem ini terdiri dari lipid padat dalam rentang nanometer yang terdispersi dalam air atau larutan surfaktan. SLN terbuat dari inti hidrofobik padat yang memiliki lapisan fosfolipid monolayer. Rantai hidrofobik fosfolipidnya tergabung dalam matriks lemak dan berpotensi untuk membawa obat lipofil (Surender, 2016). SLN memiliki rentang ukuran nanometer yang bisa menembus dermis, namun dari segi stabilitas SLN memiliki stabilitas yang rendah pada penyimpanan yaitu mengalami pertumbuhan partikel, kecenderungan gelasi yang tidak dapat diprediksi, dan dapat terjadi transisi polimorfik (Attama, 2012).

2.5.3 Mikroemulsi

Mikroemulsi terdiri dari campuran minyak, air, surfaktan dan kosurfaktan. Bahan yang dibutuhkan untuk membuat mikroemulsi hampir sama dengan nanoemulsi, namun berbeda dalam rasio yang digunakan. mikroemulsi membutuhkan sekitar 20% atau lebih surfaktan, nanoemulsi hanya membutuhkan sekitar 3-10% surfaktan dari berat total sediaan. Sehingga penggunaan surfaktan yang minimal dapat mengurangi resiko

iritasi. Selain itu, mikroemulsi memiliki ukuran yang lebih besar dari nanoemulsi sehingga membentuk sistem yang lebih keruh sehingga dapat mempengaruhi akseptabilitas (Kale, 2017).

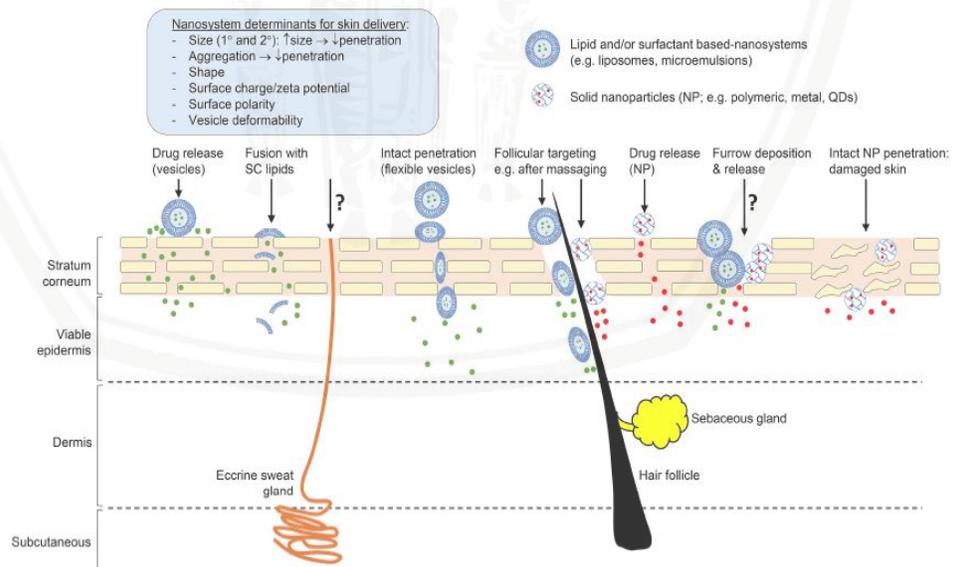
2.5.4 Nanoemulsi

Nanoemulsi merupakan bentuk sistem penghantaran obat yang terdiri dari dispersi antara air dan minyak yang disatukan dengan surfaktan dan kosurfaktan. Ukuran dropletnya 50-500nm. Nanoemulsi dapat digunakan sebagai bentuk penghantaran obat dengan bahan kimia aktif atau bahan alam, dimana obat atau bahan akan dienkapsulasi membentuk ukuran droplet sesuai rentang. Berdasarkan penelitian, penggunaan nanoemulsi menyebabkan terjadinya peningkatan stabilitas sediaan. Selain itu, juga karena bentuknya yang transparan sehingga meningkatkan *acceptability* (Sharma, 2010).

Pengaplikasian dari nanoemulsi sangat banyak karena beberapa alasan bahwa nanoemulsi tidak menunjukkan adanya *creaming* dan pengendapan yang sering terjadi pada emulsi konvensional. Hal tersebut karena ukuran partikel nanoemulsi yang sangat kecil meminimalkan gaya gravitasi. Selain itu, ukurannya yang sangat kecil juga menghindarkan nanoemulsi mengalami koalesens yaitu bergabungnya droplet menjadi satu membentuk suatu gumpalan besar. Sehingga nanoemulsi merupakan sistem yang stabil. Penggunaan nanoemulsi menyebabkan meningkatnya penetrasi bahan aktif kimia atau bahan alam yang digunakan. Apabila digunakan dalam bentuk sediaan tentu membutuhkan dosis obat yang kecil dan waktu

mencapai efek terapi yang lebih cepat (Sharma, 2010). Pemanfaatan sistem penghantaran nanoemulsi untuk mengatasi penuaan yang terletak pada bagian dermis menjadi potensial karena berdasarkan penelitian Deapsari (2017), nanoemulsi kontrol dan nanoemulsi dengan antioksidan sebagai bahan aktif, keduanya dapat mencapai dermis dengan ukuran droplet yaitu $66,4 \pm 1,77$ nm dan $70,07 \pm 12,42$ nm. Saat diuji dengan mikroskop *fluorescence* keduanya mencapai dermis dengan jarak penetrasi untuk nanoemulsi kontrol $241,461 \pm 12,11$ m dan untuk nanoemulsi dengan antioksidan $312,034 \pm 31,273$ m, sedangkan emulsi yang juga digunakan sebagai pembanding menghasilkan ukuran droplet $21,063 \pm 3,57$ μ m dengan jarak penetrasi $25,625 \pm 2,653$ m. Dilaporkan bahwa sediaan emulsi tersebut hanya mencapai bagian epidermis.

2.5.4.1 Mekanisme Perkulatan Nanoemulsi



Gambar 2.8 Mekanisme Perkulatan Nanoemulsi (Nastiti, 2017).

Berdasarkan gambar tersebut, nanoemulsi dapat melewati stratum korneum, epidermis hingga sampai ke dermis dengan vesikel, dimana terjadi pelepasan obat atau bahan aktif saat vesikel berada pada stratum korneum. Kemudian dengan fusi lipid pada stratum korneum, dengan vesikel yang fleksibel melewati stratum korneum dll. Pada penelitian yang akan dilakukan, mekanisme perkutan yang mungkin terjadi yaitu vesikel yang fleksibel melewati stratum korneum karena tipe nanomulsi yang diinginkan yaitu minyak dalam air, sehingga minyak yang berisi bahan aktif akan secara mudah menembus lapisan lipid pada stratum korneum.

2.5.4.2 Metode Preparasi Nanoemulsi

a. Metode Fase Inversi

Menurut Shinoda dan Saito (Sharif, 2010:42), metode fase inversi atau biasa disebut *phase inversion temperature* (PIT), dalam metode ini dispersi yang halus diperoleh dari energi kimia yang dihasilkan dari fase transisi melalui jalur emulsifikasi. Metode inversi didasarkan pada perubahan kelarutan dari surfaktan non-ionik dengan suhu. Pada suhu tinggi secara spontan sifat kelengkungan surfaktan menjadi negatif dan membentuk nanoemulsi *water in oil* (w/o). Pada suhu rendah secara spontan sifat kelengkungan surfaktan menjadi positif dan membentuk nanoemulsi *oil in water* (o/w).

b. Metode Sonikasi

Menurut Setya (2014), Sonikasi merupakan metode yang dapat menghasilkan nanoemulsi yang stabil secara kinetis dengan menggunakan sonikator, dimana alat tersebut kontak langsung dengan dispersi cairan

dengan surfaktan, kosurfaktan untuk menghasilkan getaran mekanik dan kavitasi yang memberikan energi untuk membentuk droplet berukuran kecil.

c. Metode *High Pressure Homogenation*

Metode ini menggunakan alat yaitu homogenizer bertekanan tinggi untuk menghasilkan nanoemulsi, dimana cairan dispersi dibuat melewati lubang kecil kemudian diberikan tekanan tinggi 500-5000 psi. Homogenizer tekanan tinggi merupakan metode yang efisien namun membutuhkan energi besar yang menyebabkan suhu meningkat sehingga dapat memperburuk komponen bahan (Setya, 2014).

2.5.4.3 Ketidakstabilan Nanoemulsi

2.5.4.3.1. Koalesensi

Koalesensi merupakan salah satu bentuk ketidakstabilan nanoemulsi dimana dua atau lebih globul berukuran hampir sama mengalami penggabungan membentuk globul yang lebih besar. Hal tersebut terjadi karena adanya gaya tarik menarik antar globul yang lebih besar dari gaya turbulen yang memisahkan globul tersebut. Selain itu, koalesensi dapat terjadi apabila lapisan emulgator yang berfungsi mentabilkan globul tidak sempurna sehingga memungkinkan dua globul untuk bergabung (Permatasari, 2015).

2.5.4.3.2. *Oswalt Ripening*

Oswalt Ripening merupakan salah satu bentuk ketidakstabilan nanoemulsi dimana globul berukuran besar akan menjadi semakin besar sedangkan globul berukuran kecil akan semakin kecil dan lama-lama

akan hilang. Hal tersebut dapat terjadi karena molekul yang berada di permukaan globul yang berukuran lebih kecil cenderung tidak stabil (globul kecil memiliki energi bebas permukaan yang besar). Dalam satu sistem cenderung menurunkan energi bebas permukaan maka molekul yang berada di permukaan globul berukuran kecil akan berdifusi melalui medium pendispersi menuju ke permukaan globul yang lebih besar. Hal tersebut menyebabkan ukuran globul yang besar menjadi semakin besar sedangkan yang berukuran kecil menjadi semakin kecil sampai menghilang (Permatasari, 2015).

2.5 Uji Kualitas Mutu Sediaan

Beberapa uji kualitas mutu sediaan yaitu uji penetapan kadar dan uji cemaran. Uji penetapan kadar untuk sediaan setengah jadi (nanoemulsi) tidak dimaksudkan untuk mengevaluasi sediaan setengah jadi sebelum diserahkan, tetapi berfungsi sebagai uji resmi jika ada pertanyaan atau perdebatan mengenai pemenuhan persyaratan terhadap standar resmi. Penetapan kadar bahan dari sediaan resmi terdapat dalam masing-masing monografi. Uji cemaran yaitu pengujian terhadap adanya senyawa asing dan cemaran untuk membatasi senyawa tersebut sampai pada jumlah yang tidak mempengaruhi bahan pada kondisi penggunaan biasa (FI V, 2014).

2.6 Formulasi Menggunakan Design Expert

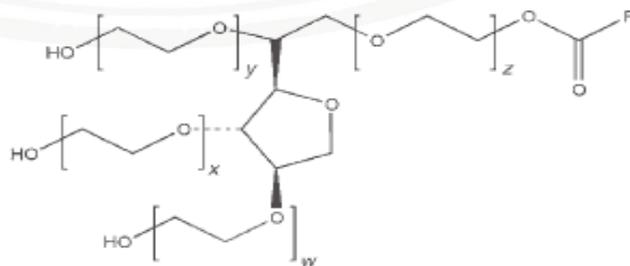
Design Expert digunakan sebagai cara untuk mendapatkan formula optimum dalam penelitian ini. Untuk menentukan formula optimum, menggunakan metode *Simplex Lattice Design* pada software *Design Expert 10*

dengan memasukkan minimal dua perbandingan formula. Komposisi masing-masing bahan pada perbandingan seperti (Fase minyak, Surfaktan, Kosurfaktan, Air) diinput menggunakan batas minimum dan batas maksimum dari jumlah masing-masing bahan. Setelah itu, akan muncul rekomendasi formula dari Design Expert. Seluruh formula diuji salah satu spesifikasi nanoemulsi (kejernihannya) sebagai respon yang dimasukkan ke dalam perangkat lunak Design Expert 10 lalu dianalisis hingga diperoleh formula optimal. Formula optimal yang dipilih adalah yang memiliki nilai *desirability* paling tinggi (mendekati 1). Kemudian dilakukan verifikasi formula optimal untuk membuktikan nilai presentase transmitan hasil prediksi program Design Expert 10 (Beandrade, 2018).

2.7 Monografi Bahan

2.7.1 Tween 80

Tween 80 memiliki nama kimia polyoxyethylene 20 sorbitan monooleate serta memiliki sinonim yaitu Cremophor PS 80, polysorbatum 80, Protasorb O-20, Ritabate 80, Eumulgin SMO, Crillet 4, dan Tego SMO 80. Struktur kimia dari tween 80, sebagai berikut:



Gambar 2.9 Struktur kimia Tween 80

Keterangan: $w+x+y+z = 20$ dan R = asam lemak (Rowe, 2009)

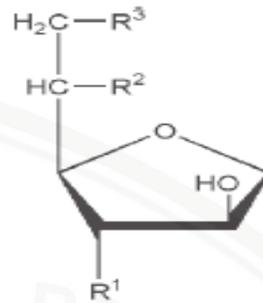
Tween 80 dalam suatu formulasi dapat memiliki fungsi sebagai surfaktan nonionic, *dispersing agent*, *emulsifying agent*, *solubilizing agent*, *suspending agent*, dan *wetting agent*. Berdasarkan penggunaannya sebagai agen pengemulsi dalam pembuatan emulsi minyak dalam air, tween 80 disebut surfaktan nonionic yang mengandung 20 unit oksietilen. Rentang penggunaan tween 80 yang dikombinasi dengan pengemulsi hidrofilik lain yaitu 1-10% (Rowe, 2009).

Tween 80 memiliki sifat yaitu berbau dan hangat, agak sedikit pahit, higroskopis berwarna kuning pada suhu 25°C. Pada suhu tersebut, tween 80 memiliki sifat khusus seperti nilai HLB 15, viskositas 425 mPas. Pada suhu 20°C, tegangan permukaannya 42,5 mN/m. Tween 80 larut dalam etanol dan air, tidak larut dalam *mineral oil* dan *vegetable oil*. Tween 80 akan mengalami perubahan warna atau mengendap bila diformulasikan dengan senyawa seperti fenol, tannin, tar. Kemudian dapat menurunkan aktifitas paraben sebagai antimikroba. Selain itu, tween 80 sering digunakan dalam formulasi kosmetik, oral, parenteral, dan topikal serta tidak beracun dan tidak mengiritasi. Tween 80 dapat mengiritasi mata sehingga hati-hati dalam penggunaannya, kemudian agak toksik pada penggunaan intravena (Rowe, 2009).

2.7.2 Span 80

Span 80 memiliki nama kimia (Z)-Sorbitan mono-9-octadecenoate serta memiliki sinonim yaitu Arlacel 80, Crill 4, Dehymuls SMO, Glycomul P,

Lamesorb SMO, Polycon S80, dan Sorbitan oleate. Struktur kimia dari span 80, sebagai berikut:



Gambar 2.10 Struktur Kimia Span 80

Keterangan: $R=(C_{17}H_{33})COO$ (Rowe, 2009)

Span 80 dalam suatu formulasi dapat memiliki fungsi sebagai surfaktan nonionic, *dispersing agent*, *emulsifying agent*, *solubilizing agent*, *suspending agent*, dan *wetting agent*. Berdasarkan penggunaannya sebagai agen pengemulsi, saat digunakan tunggal span 80 memberikan kestabilan pada emulsi air dalam minyak. Tetapi lebih sering digunakan kombinasi dengan *polysorbate* untuk menghasilkan emulsi air dalam minyak atau minyak dalam air yang konsisten. Rentang penggunaan tween 80 yang dikombinasi dengan pengemulsi hidrofilik lain yaitu 1-10% (Rowe, 2009).

Span 80 berbentuk cairan atau padatan berwarna kuning keemasan dengan bau dan rasa khas. Span 80 memiliki nilai HLB 4,3. Kemudian memiliki senditas $1,01 \text{ g/cm}^3$, tegangan permukaan 30 mN/m serta viskositas $\leq 0,5\%$. Kelarutan span 80 yaitu larut atau terdispersi pada minyak, larut juga pada pelarut organic. Dalam air tidak larut, hanya terdispersi. Span 80 sering digunakan dalam kosmetik, makanan, formulasi oral dan topikal serta

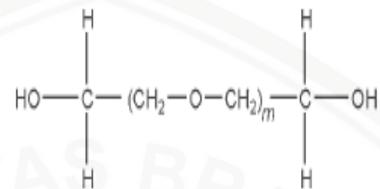
merupakan bahan yang tidak beracun dan tidak mudah mengiritasi (Rowe, 2009).

2.7.3 Sunflower oil

Sunflower oil memiliki sinonim yaitu *sunflowerseed oil* atau minyak biji bunga matahari. Minyak tersebut diklasifikasikan sebagai minyak asam oleat-linoleat. Komposisinya termasuk asam linoleat (66%), asam oleat (21,3%), asam palmitat (6,4%), asam arakhidonat (4%), asam stearate (1,3%), dan asam *behenic* (0,8%). Biasa digunakan sebagai diluen, agen pengemulsi, pelarut dan pengikat tablet. Minyak biji bunga matahari berbentuk cairan yang berwarna kuning terang dan jernih serta memiliki rasa yang khas. Minyak biji bunga matahari terlarut dalam benzene, kloroform, karbon tetraklorida, dietil eter, dan minyak yang jernih serta praktis tidak larut dalam etanol (95%) dan air. Minyak biji bunga matahari banyak digunakan dalam formulasi topikal farmasetik dan dalam kosmetik karena dianggap sebagai bahan yang tidak iritasi dan tidak toksik. Minyak biji bunga matahari harus disimpan ditempat yang tertutup, terlindung dari sinar matahari. Memiliki inkompatibilitas dengan iron oksida dan zink oksida (Rowe, 2009). Dalam formulasi emulsi, sunflower oil sering digunakan sebagai fase minyak karena tegangan permukaannya relatif kecil. Sunflower oil memiliki viskositas 0.360 ± 0.009 poise, tegangan permukaan $7,39 \pm 0.31$ dyne/cm serta laju alir $7,39 \pm 0.31$ ($\times 10^{-3}$ Cm³/detik) (Siddiqui, 2013).

2.7.4 Polyethylene Glycol 400

Polyethylene glycol memiliki nama kimia α -Hydro-o-hydroxypoly(oxy-1,2-ethanediyl) serta memiliki sinonim yaitu *Carbowax*, *Lipoxol*, *PEG*, dan polyoxyethylene glycol. Struktur kimia dari PEG, sebagai berikut:



Gambar 2.11 Struktur Kimia Polyethylene glycol (Rowe, 2009).

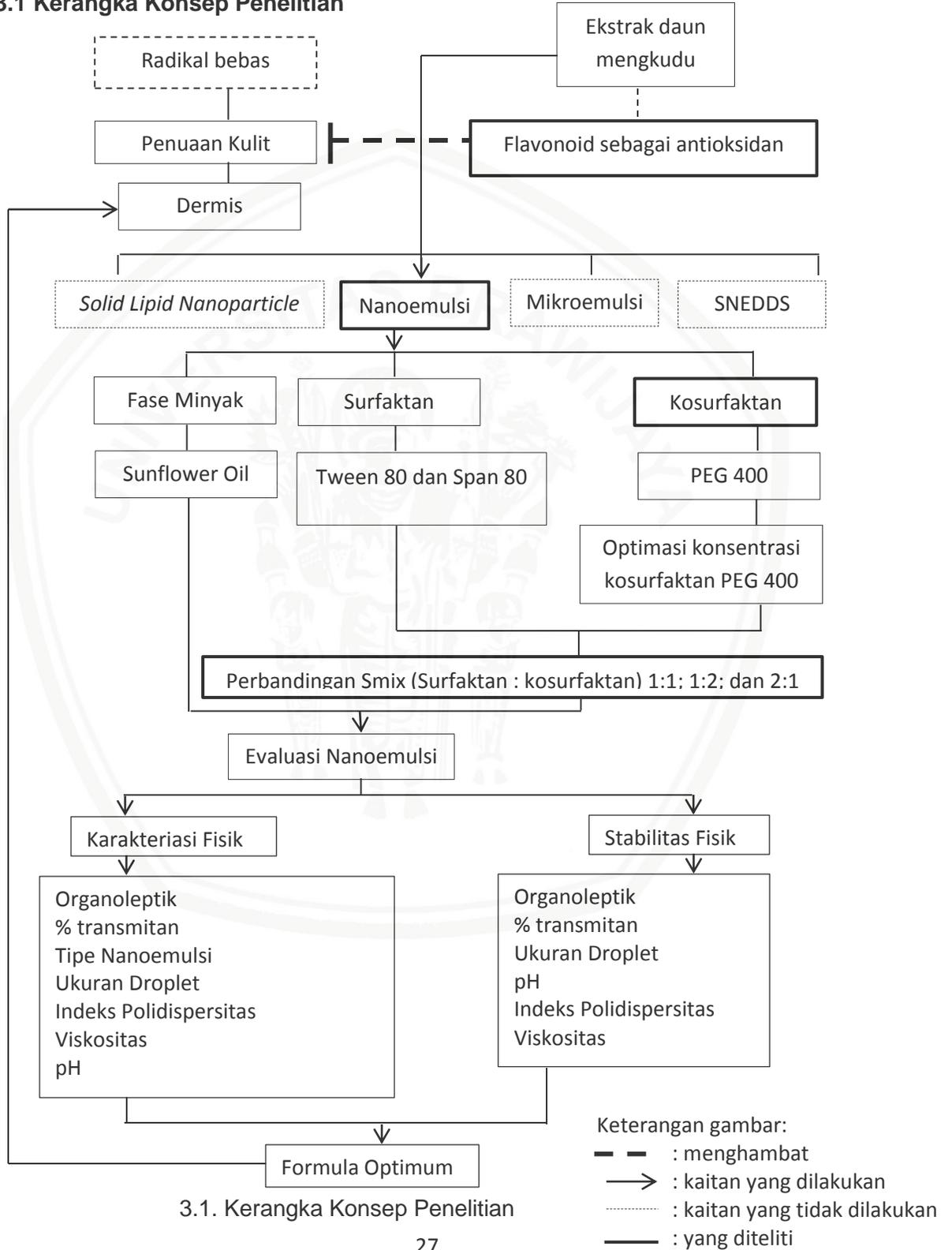
$\text{HOCH}_2(\text{CH}_2\text{OCH}_2)_m\text{CH}_2\text{OH}$, m menunjukkan berat molekul dari polymer polyethylene glycol dimana PEG 400 memiliki nilai m 8,7 dengan rata-rata berat molekul 380-420. PEG biasanya digunakan sebagai basis salep, pelarut, basis supositoria, tablet dan pelumas kapsul. Dalam formulasi farmasetik, PEG digunakan dalam formulasi sediaan topical, parenteral, oral serta optalmik. PEG stabil serta merupakan zat hidrofilik yang tidak mengiritasi kulit. Stabilitas fisik pada penyimpanannya baik. PEG dengan berat molekul rendah berbentuk cair dan dapat digunakan sebagai *suspending agent*. Saat digunakan dengan agen pengemulsi lain, bisa digunakan sebagai *stabilizer* dari emulsi. Adanya PEG cair dalam lapisan film dapat meningkatkan permeabilitas air mereka dan mengurangi perlindungan terhadap pH rendah pada lapisan film enterik. PEG berguna sebagai *plasticizer* dalam produk mikroenkapsulasi untuk menghindari pecahnya film pelapis ketika mikroenkapsul dikompres menjadi tablet. PEG dideskripsikan

sebagai tambahan polimer etilen oksida pada air dimana PEG 200-600 berbentuk cairan yang bening, tidak berwarna atau sedikit berwarna kuning, agak kental, sedikit berbau khas dan pahit serta sedikit rasa terbakar. Pada suhu kamar PEG 600 dapat memadat. PEG 400 memiliki densitas 1.11–1.14 g/cm³ at 25°C, *freezing point* 4-8°C. PEG larut dalam air dan aseton, alkohol, benzene, gliserin, dan glikol. PEG stabil, tidak mudah tengik, tidak mudah ditumbuhi mikroba. PEG 400 inkompatibel dengan gugus hidroksil, beberapa agen pewarna, menurunkan aktivitas antibakteri, efikasi pengawet menurun (Rowe, 2009). Menurut Lu (2013), PEG 400 dipilih sebagai kosurfaktan karena sifatnya yang aman dan biokompatibel serta memiliki sifat hidrofilik yang tinggi.

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



3.1. Kerangka Konsep Penelitian

3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Penuaan kulit dapat disebabkan salah satunya oleh radikal bebas serta merupakan penyebab penuaan yang sering terjadi. Ekstrak daun mengkudu mengandung flavonoid yang dapat digunakan sebagai antioksidan sehingga dapat menghambat penuaan kulit dengan target pada dermis. Untuk mencapai target tersebut maka ekstrak daun mengkudu perlu dibentuk menjadi sediaan. Ekstrak daun mengkudu dibentuk menjadi nanoemulsi karena sediaan tersebut memiliki ukuran globul kecil serta jernih. Hal tersebut dapat meningkatkan aseptabilitas dan fungsi ekstrak jika digunakan sebagai antioksidan untuk mengatasi radikal bebas yang bisa menyebabkan penuaan pada kulit. Komposisi bahan pada nanoemulsi yaitu fase minyak, fase air dan surfaktan. Salah satu yang mempengaruhi kestabilan pada formulasi nanoemulsi adalah penggunaan surfaktan dikombinasi dengan kosurfaktan. Kosurfaktan dapat membantu menurunkan tegangan permukaan dan menjaga kestabilan droplet. Optimasi konsentrasi kosurfaktan pada formulasi nanoemulsi bertujuan untuk memperoleh formula yang paling optimum. Perbandingan surfaktan dan kosurfaktan yang digunakan 1:1; 1:2 dan 2:1. Menurut Talegaonkar (2011), semakin tinggi konsentrasi kosurfaktan memiliki efek destabilitas dimana dapat terjadi pemisahan atau tidak terbentuk nanoemulsi serta luas area terbentuknya nanoemulsi semakin kecil. Setelah dilakukan optimasi, dilanjutkan dengan evaluasi nanoemulsi berupa uji karakteristik fisik meliputi uji organoleptik, % transmitan, tipe nanoemulsi, ukuran droplet, indeks polidispersitas, pH, viskositas, serta uji stabilitas fisik sediaan yaitu organoleptik, %transmitan, pH, viskositas, ukuran droplet dan indeks polidispersitas. Dari hasil karakterisasi,

dilakukan analisis data sehingga diperoleh perbandingan kosurfaktan yang paling baik dengan kestabilan sediaan yang paling optimum.

3.3 HIPOTESIS PENELITIAN

Kosurfaktan PEG 400 membantu pembentukan nanoemulsi ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) dan menjadikan nanoemulsi tersebut stabil pada konsentrasi 2:1.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental.

4.2 Variabel Penelitian

4.2.1 Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini yaitu stabilitas nanoemulsi diuji dari pengamatan karakteristik fisik dan stabilitas fisik nanoemulsi yaitu uji organoleptik, tipe nanoemulsi, ukuran droplet, indeks polidispersitas, persen transmitan, viskositas, pH, identifikasi flavonoid nanoemulsi serta uji stabilitas sediaan .

4.2.2 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu perbandingan konsentrasi kosurfaktan PEG 400 dengan surfaktan yang digunakan pada formulasi nanoemulsi ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia*).

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pembuatan sistem nanoemulsi, uji karakterisasi fisik dan uji stabilitas *Cycling*. Uji stabilitas *On Going* dilakukan di Industri Balatif Malang serta uji ukuran partikel dilakukan di Fakultas Fisika ITS Surabaya. Penelitian ini dilakukan selama 6 bulan dari bulan Januari 2018 sampai Juni 2018.

4.4 Alat dan Bahan

4.4.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan digital 'Mettler Teledo', batang pengaduk, gelas beaker 'Herma, Duran, Pyrex', pipet ukur, pipet tetes, mikropipet 'Socorex', erlenmeyer 'Duran', cawan porselen, buret, corong, pH meter, *hot plate* 'IKA C-MAG HS 7', ultraturax 'IKA T25 digital', magnetic stirrer, viskometer Cone and Plate 'RION', spektrofotometer *single beam* 'UV mini-1240' dan PSA (*Particle Size Analyzer*) 'MALVERN'.

4.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak daun mengkudu berasal dari Batu Materia Medika, polietilen glikol 400 'PT.Bratachem', *sunflower oil*, tween 80 'PT.Bratachem', span 80, dan aquades.

4.5. Definisi istilah/Operasional

1. Optimasi adalah proses untuk memperoleh hasil akhir nanoemulsi ekstrak daun mengkudu yang paling optimum
2. Optimum merupakan kondisi terbaik sesuai dengan parameter yang telah ditetapkan pada interpretasi hasil pengujian, dapat dicapai dari hasil uji yang dilakukan pada nanoemulsi (tabel 4.4).
3. Stabil adalah kondisi dimana sediaan nanoemulsi tidak mengalami pemisahan fase dan masih dalam rentang spesifikasi yang terlihat pada (tabel 4.4)
4. Karakterisasi fisik merupakan proses pengukuran yang dilakukan seperti organoleptik, tipe nanoemulsi, ukuran droplet, indeks polidispersitas, %

transmitan, viskositas, dan pH untuk mengetahui kesesuaiannya dengan parameter yang telah ditentukan (tabel 4.4)

5. Uji stabilitas fisik merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu sediaan dalam mempertahankan karakteristik fisik dan stabilitas fisik seperti ada tidaknya pemisahan dalam interval waktu yang ditentukan.
6. Nanoemulsi adalah bentuk sediaan yang transparan, ukuran droplet kecil 50-500nm sehingga dapat meningkatkan aseptabilitas.
7. Kosurfaktan merupakan molekul ampifilik rantai pendek membantu surfaktan untuk menurunkan tegangan permukaan dan meningkatkan fluiditas antarmuka sehingga dapat meningkatkan kestabilan nanoemulsi. Pada penelitian ini, kosurfaktan yang digunakan adalah PEG 400.

4.6. Rancangan Formula

4.6.1. Formula Nanoemulsi

Target RHLB sistem: 12,86 (Ngan, 2014)

Perbandingan surfaktan (tween 80 dan span 80)

$$\% \text{ tween 80} = \frac{12,86-4,3}{15-4,3} \times 100\% = 80\%$$

$$\% \text{ Span 80} = 100\% - 80\% = 20\%$$

$$\text{Tween 80} : \text{Span 80} = 80 : 20$$

Tabel 4.1 Optimasi Formula Nanoemulsi (surfaktan : kosurfaktan → 1:1)

Fase minyak Smix	<i>Sunflower oil</i> (gr)	Smix (surfaktan : kosurfaktan) 1: 1		
		Surfaktan (tween 80 : span 80) (gr)		Kosurfaktan (gr)
		80%	: 20%	
		Tween 80	Span 80	
1:9	1	3,60	0,90	4,50
2:8	1	1,60	0,40	2,00
3:7	1	0,94	0,23	1,17
4:6	1	0,60	0,15	0,75
5:5	1	0,40	0,10	0,50
6:4	1	0,27	0,07	0,34
7:3	1	0,18	0,04	0,22
8:2	1	0,10	0,03	0,13
9:1	1	0,05	0,01	0,06

Tabel 4.2 Optimasi Formula Nanoemulsi (surfaktan : kosurfaktan → 1:2)

Fase minyak Smix	<i>Sunflower oil</i> (gr)	Smix (surfaktan : kosurfaktan) 1: 2		
		Surfaktan (tween 80 : span 80) (gr)		Kosurfaktan (gr)
		80%	: 20%	
		Tween 80	Span 80	
1:9	1	2,40	0,60	6,00
2:8	1	1,06	0,27	2,67
3:7	1	0,62	0,16	1,55
4:6	1	0,40	0,10	1,00
5:5	1	0,26	0,07	0,67
6:4	1	0,18	0,04	0,45
7:3	1	0,11	0,03	0,29
8:2	1	0,06	0,02	0,17
9:1	1	0,03	0,01	0,07

Tabel 4.3 Optimasi Formula Nanoemulsi (surfaktan : kosurfaktan → 2:1)

Fase minyak Smix	<i>Sunflower oil</i> (gr)	Smix (surfaktan : kosurfaktan) 2: 1		
		Surfaktan (tween 80 : span 80) (gr)		Kosurfaktan (gr)
		80%	: 20%	
		Tween 80	Span 80	
0,5:9,5	1	10,134	2,533	6,333
1:9	1	4,800	1,200	3,000
2:8	1	2,140	0,530	1,330
3:7	1	1,240	0,300	0,780
4:6	1	0,800	0,200	0,500
5:5	1	0,540	0,130	0,330
6:4	1	0,360	0,090	0,220
7:3	1	0,230	0,060	0,140
8:2	1	0,140	0,030	0,080
9:1	1	0,060	0,010	0,040

4.6.2. Rasionalisasi Formula

4.6.2.1. Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*)

Ekstrak daun mengkudu digunakan sebagai bahan aktif karena tersebar luas di Indonesia serta mengandung antioksidan alami yang dapat digunakan untuk mengatasi berbagai macam kondisi seperti peradangan, alergi, terutama antioksidan pada daun mengkudu dapat digunakan sebagai *photoprotective* atau pelindung sinar dari UV yang dapat membentuk radikal bebas dan menyebabkan kerusakan kulit serta *photoaging* dengan mekanisme yaitu menyerap radiasi UV sehingga mencegah terbentuknya ROS dan kerusakan DNA secara langsung (Serafini, 2014) (Zin, 2002)

4.6.2.2. Sunflower Oil

Sunflower oil atau minyak bunga matahari digunakan sebagai fase minyak dalam formulasi nanoemulsi serta banyak digunakan dalam emulsi kosmetik. Manfaatnya dalam kosmetik yaitu memberikan kelembutan dan bersifat *noncomedogenic*. *Cosmetic Ingridient review* (2015), menyebutkan bahwa sekitar 380 formulasi kosmetik menggunakan *sunflower oil*, kemudian menunjukkan bahwa *sunflower oil* aman digunakan untuk kulit. Menurut Siddiqui (2013), *sunflower oil* memiliki tegangan permukaan lebih kecil daripada *olive oil*, *coconut oil*, dan *soybean oil* serta *sunflower oil* bisa digunakan sebagai antioksidan yang dapat melindungi nanoemulsi dari reaksi oksidasi. Sehingga dalam pembentukan nanoemulsi lebih mudah dan stabil.

4.6.2.3. Polietilen glikol 400 (PEG 400)

PEG 400 merupakan polimer etilen oksida pada air yang berbentuk cairan berwarna bening, tidak berwarna atau sedikit berwarna kuning, agak kental, sedikit berbau khas dan pahit. PEG banyak digunakan sebagai kosurfaktan. Saat digunakan dengan agen pengemulsi lain, bisa digunakan sebagai *stabilizer* dari emulsi (Rowe, 2009). Berdasarkan data kelarutan senyawa quercetin, menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki kelarutan yang cukup tinggi dalam PEG 400 (Tran, 2014). Menurut Lu (2013), PEG 400 dipilih sebagai kosurfaktan karena sifatnya yang aman dan biokompatibel serta memiliki sifat hidrofilik yang tinggi. Kosurfaktan diperlukan untuk mengurangi tegangan antar muka dan menyediakan film antarmuka yang fleksibel untuk pembentukan nanoemulsi.

4.6.2.4. Tween 80

Tween memiliki nama kimia polyoxyethylene 20 sorbitan monooleate merupakan surfaktan nonionik yang memiliki toksisitas lebih rendah dibanding surfaktan ionik. Penggunaannya sebagai agen pengemulsi berperan dalam pembuatan emulsi minyak dalam air, dengan rentang penggunaan tween 80 yang dikombinasi dengan pengemulsi hidrofilik lain yaitu 1-10%. Tween 80 memiliki nilai HLB 15 (Rowe, 2009). Berdasarkan data kelarutan senyawa quercetin, menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki kelarutan yang cukup tinggi dalam Tween 80 (Tran, 2014). Selain itu, tipe nanoemulsi yang diinginkan adalah minyak dalam air sehingga membutuhkan surfaktan dengan HLB tinggi.

4.6.2.5. Span 80

Span 80 memiliki nama kimia (Z)-Sorbitan mono-9-octadecenoate merupakan surfaktan nonionik yang memiliki toksisitas lebih rendah dari surfaktan ionik. Penggunaannya sebagai agen pengemulsi, saat digunakan tunggal span 80 memberikan kestabilan pada emulsi air dalam minyak. Tetapi lebih sering digunakan kombinasi dengan *polysorbate* untuk menghasilkan emulsi air dalam minyak atau minyak dalam air. Menurut Shahavi (2015), Span 80 bersifat lipofil biasa digunakan karena mempunyai derajat kompatibilitas yang tinggi dengan bahan lain serta memiliki toksisitas yang rendah. Selain itu, untuk menghasilkan nanoemulsi yang stabil perlu mempertimbangkan keseimbangan sifat hidrofilik dan lipofilik sehingga digunakan kombinasi Span 80 (HLB 4,3) dengan Tween 80 (HLB 15). Rentang penggunaan tween 80 yang dikombinasi dengan pengemulsi hidrofilik lain yaitu 1-10. (Rowe, 2009).

4.7. Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Daun Mengkudu

Ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) diperoleh melalui teknik maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Teknik maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia yang dilarutkan dalam etanol 96% selama 3 hari. Semua maserat yang diperoleh, kemudian dievaporasi menggunakan *Rotary Evaporator* pada suhu 30-40⁰C. Diperoleh ekstrak kental ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia*).

4.7.2 Optimasi Nanoemulsi

Pada optimasi formula nanoemulsi bahan yang digunakan meliputi tween 80 dan span 80 sebagai surfaktan, *sunflower oil* sebagai fase minyak, aquades serta PEG 400 sebagai kosurfaktan. Digunakan kombinasi tween80/span 80 dengan perbandingan 80 : 20 dan PEG 400 dengan perbandingan konsentrasi (Smix) 1:1, 1:2 dan 2:1. Dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* sampai homogen. Untuk setiap fase diagram, minyak dan Smix dicampur dengan perbandingan yang berbeda menggunakan *magnetic stirrer*. Sembilan kombinasi berbeda antara minyak dan Smix (1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1). Kemudian dilakukan metode titrasi dengan aquades. Aquades ditambahkan tetes demi tetes ke setiap campuran fase minyak:Smix dengan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* sampai mencapai titik ekuilibrium yang dapat dilihat secara visual (menjadi jernih). Setelah itu data diplotkan ke dalam aplikasi *Design Expert*. Kemudian muncul rekomendasi formula yang harus dicek salah satu karakteristiknya (% transmittan). Setelah itu dilakukan analisis data yang akan menunjukkan rekomendasi formula sesuai karakteristik.

Kemudian dipilih satu formula sesuai keinginan dan dilakukan replikasi (n=5) untuk mengetahui kesesuaian hasil %transmitannya dengan prediksi *Design Expert*.

4.7.3 Pembuatan Nanomulsi

Nanoemulsi dibuat dengan formula yang terdiri dari ekstrak daun mengkudu, *sunflower oil*, Polietilen glikol 400, tween 80, span 80 dan aquades. Dilakukan penimbangan pada setiap bahan dan dicampurkan ke dalam *beaker glass*. Nanoemulsi dibuat menggunakan Ultraturrax 'IKA T25 digital'. Fase minyak dipersiapkan yaitu ekstrak daun mengkudu dan span 80 dicampur dalam *beaker glass* 'Herma' sampai larut dengan menggunakan *magnetic stirrer*, kemudian ditambahkan *Sunflower Oil* dan dihomogenkan dengan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah itu, fase air disiapkan. Tween 80 dan aquades dicampur dalam *beaker glass* dengan *magnetic stirrer*. Kemudian ditambahkan PEG 400. Fase air diaduk dengan Ultraturrax kecepatan 10.000 rpm kemudian fase minyak ditambahkan secara bertahap kedalam fase air. Setelah semua fase minyak masuk ke dalam fase air, kecepatan pengadukan ditingkatkan menjadi 12.000 rpm selama 1 jam. Kemudian dilakukan evaluasi pada nanoemulsi berupa karakterisasi fisik nanoemulsi dan stabilitas fisik nanoemulsi. Selanjutnya dilakukan analisa data (Godoi, 2017).

4.8 Spesifikasi Nanoemulsi Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*)

Tabel 4.4 Spesifikasi Nanoemulsi Ekstrak Daun Mengkudu

No.	Parameter	Spesifikasi	Pustaka
1.	Organoleptik <ul style="list-style-type: none"> • Bau • Warna • Bentuk 	Tidak berbau, tidak tengik Kuning sampai agak kuning kehijauan Cair	(Lawrence dan Ress, 2000 (Stephanie, 2015)
2.	Tipe Nanoemulsi	Minyak dalam air	(Jasiwal, 2015)
3.	Uji % transmittan	Jernih >99%	(Yuliani, 2016)
4.	Uji ukuran droplet	Dalam rentang 50 – 500 nm	(Ribeiro, 2015).
5.	Uji Viskositas	10 – 2000 cP untuk sediaan cair	(Yuliani, 2015)
6.	Uji Indeks Polidispersitas	Kurang dari 1	(Goh, 2015)
7.	Uji pH	4 – 6	(Yuliani, 2016)
9.	Uji Stabilitas	Tidak mengalami perubahan	(Azeem, 2008, (Godoi, 2016, Setiawan, 2010)

4.9 Evaluasi Nanoemulsi

4.9.1 Uji Organoleptik

Tujuan

Untuk melihat penampakan fisik dari bentuk, warna, serta bau dari nanoemulsi menggunakan metode pengamatan secara visual dan penciuman.

Metode

Pengamatan secara visual dengan indera penglihatan untuk melihat bentuk, warna dan kejernihan, kemudian menggunakan indera penciuman untuk mengetahui bau sediaan nanoemulsi yang terbentuk

Interpretasi Hasil

Sediaan nanoemulsi berbentuk cair, berwarna kuning sampai kuning kehijauan serta tidak berbau tengik (Lawrence dan Ress, 2000 (Stephanie, 2015)).

4.9.2 Uji Tipe Nanoemulsi

Tujuan

Untuk mengetahui tipe nanoemulsi (o/w atau w/o) ekstrak daun mengkudu yang selanjutnya bisa digunakan lebih lanjut menjadi kosmetik

Metode

Prinsip uji tipe nanoemulsi yaitu dengan metode pengenceran. Pengenceran nanoemulsi baik dengan minyak atau dengan air bisa menentukan tipe dari nanoemulsi. Nanoemulsi dicampur dengan air dan minyak kemudian dilihat hasilnya. Apabila terdispersi air maka tipe nanoemulsi minyak dalam air, sedangkan bila terdispersi minyak maka tipe nanoemulsi air dalam minyak (Jasiwal, 2015).

Interpretasi Hasil

Terbentuk nanoemulsi minyak dalam air.

4.9.3 Uji pH

Tujuan

Untuk mengetahui nilai pH nanoemulsi ekstrak daun mengkudu dan mengetahui rentang pH yang dapat diterima oleh kulit.

Metode

Pengukuran tersebut dilakukan menggunakan pH meter. Elektroda pada pH meter dicelupkan ke dalam nanoemulsi hingga pH meter menunjukkan angka

yang stabil. Pengukuran pH dilakukan pada suhu ruangan.

Interprestasi Hasil

Didapatkan nilai pH untuk sediaan topikal dan dapat diterima oleh kulit yaitu 4 – 6 (Yuliani, 2016).

4.9.4 Uji Viskositas

Tujuan

Untuk mengetahui kemudahan penuangan dari nanoemulsi ekstrak daun mengkudu dan aplikasinya sebagai kosmetik anti penuaan.

Metode

Dilakukan dengan menggunakan viskometer . Sediaan disimpan dalam wadah, kemudian spindle diturunkan ke dalam sediaan sampai tanda batas. Pembacaan skala setelah jarum stabil. Dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Interpretasi hasil

10 – 2000 cP untuk sediaan cair (Yuliani, 2015).

4.9.5 Uji Indeks Polidispersitas

Tujuan

Mengetahui kemampuan dari droplet nanoemulsi mudah untuk terdispersi kembali dan memperkirakan rentang distribusi ukuran partikel yang ada serta mengetahui ketidakstabilan dari droplet

Metode

Menggunakan alat *Particle size Analysis* (PSA)

Interpretasi Hasil

Indekx polidispersitas kurang dari 1 (<1) (Goh, 2015).

4.9.6 Uji % Transmitan

Tujuan

Untuk mengetahui tingkat kejernihan sediaan nanoemulsi dengan spektrofotometer UV

Metode

Pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 650nm dan menggunakan aquades sebagai blanko.

Interpretasi Hasil

Semakin tinggi persen transmitan maka semakin jernih ($>99\%$)

4.9.7 Uji Ukuran Droplet

Tujuan

Untuk mengetahui ukuran droplet sesuai rentang ukuran nanomulsi

Metode

Pengujian ukuran droplet dengan menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*).

Sebanyak 10 mL sampel diambil dan dimasukkan kedalam kuvet, kuvet dibersihkan agar tidak pengaruhi analisis. Kuvet dengan sampel kemudian dimasukkan ke dalam sampel *holder* dan dilakukan analisis dengan instrumen (Yuliani, 2016).

Interpretasi Hasil

Diperoleh droplet dengan rentang ukuran 50-500nm (Ribeiro, 2015).

4.9.8 Uji Stabilitas Sediaan

Tujuan

Untuk mengetahui stabilitas sediaan, untuk memastikan bahwa sediaan tidak akan mengalami perubahan selama penyimpanan (30 hari)

Metode

a. *Cycling test* (Azeem, 2008)

Simulasi adanya perubahan suhu dengan menyimpan sediaan pada suhu $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama tidak kurang dari 48 jam lalu menyimpannya pada suhu $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam, waktu penyimpanan pada dua suhu yang berbeda dianggap sebagai satu siklus dan dilakukan sebanyak 6 siklus (selama 12 hari).

Interpretasi Hasil

Nanoemulsi stabil secara fisik (tidak mengalami perubahan)

b. *Centrifugal test* (Djajadisastra, 2004; Lieberman, 1988 (Setiawan, 2010:16))

Untuk mengetahui terjadinya pemisahan fase dari emulsi. Sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dimasukkan ke dalam sentrifugator pada kecepatan 3750 rpm selama 5 jam atau 5000-10000 rpm selama 30 menit.

Interpretasi Hasil

Nanoemulsi stabil (tidak mengalami pemisahan fase)

c. *On Going* (Godoi, 2016)

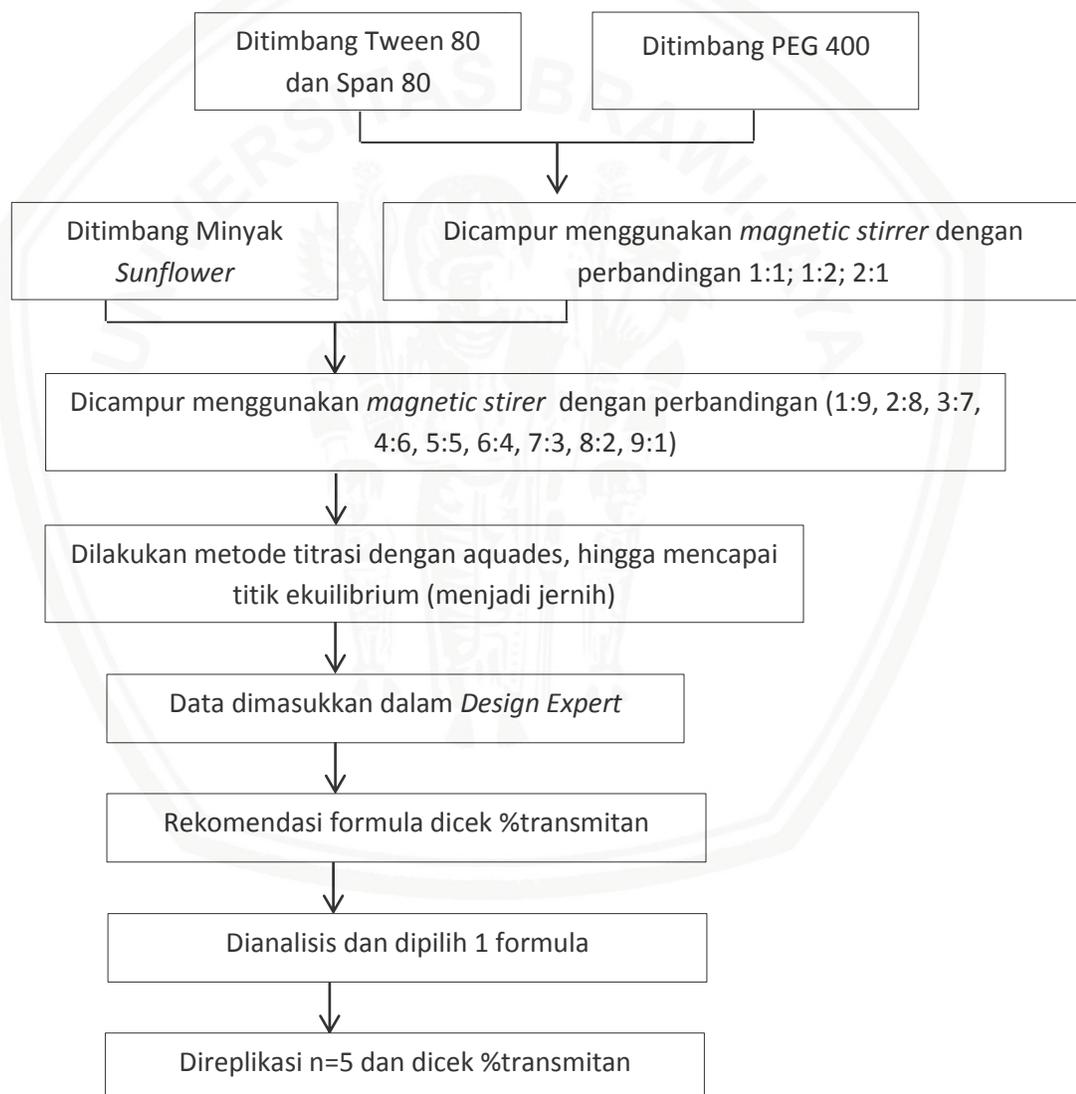
Sampel nanoemulsi disimpan pada suhu ruang $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ dengan kelembapan $65\% \pm 5\%$ selama 30 hari dan dilakukan pengamatan organoleptik pada hari ke 0, 7, 15, dan 30. Data pada hari ke 0 digunakan sebagai data pembanding

Interpretasi Hasil

Perubahan yang terjadi pada pengamatan organoleptic, pH, %transmitan dan ukuran droplet berada dalam rentang spesifikasi.

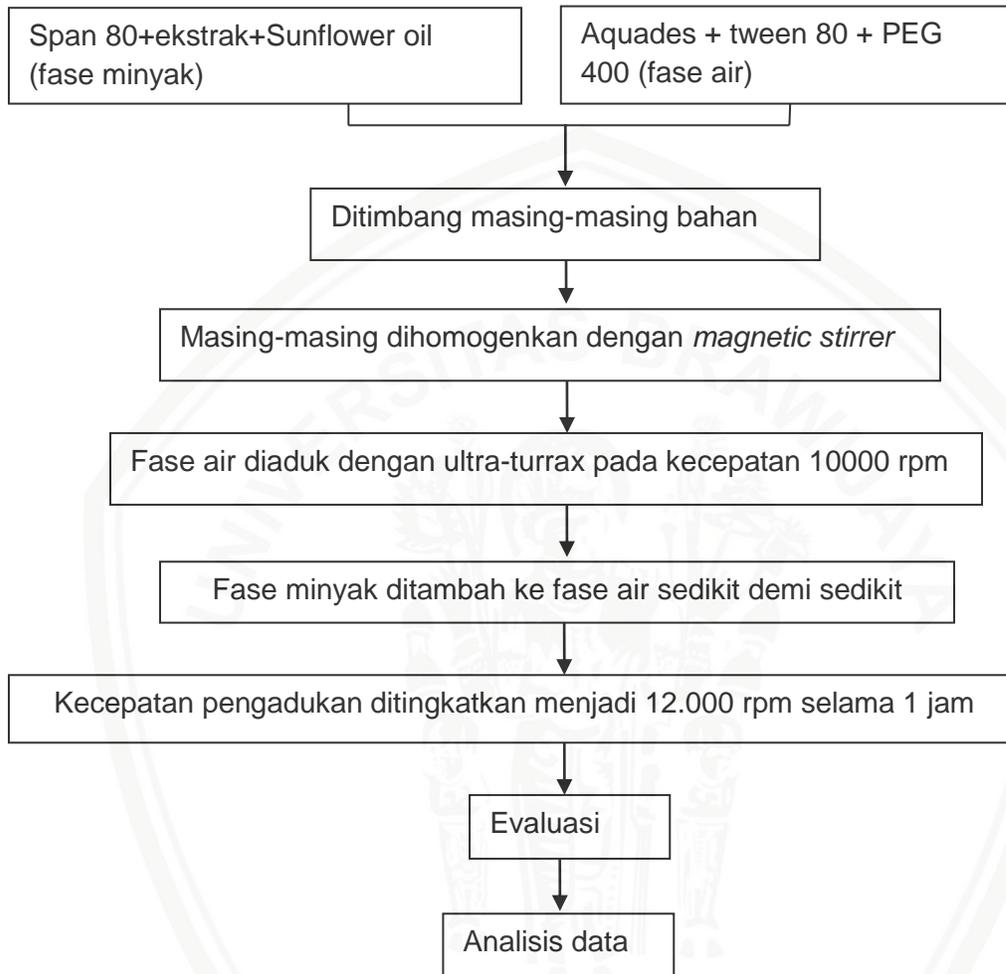
4.9 Skema Kerja

4.9.1 Skema Kerja Optimasi



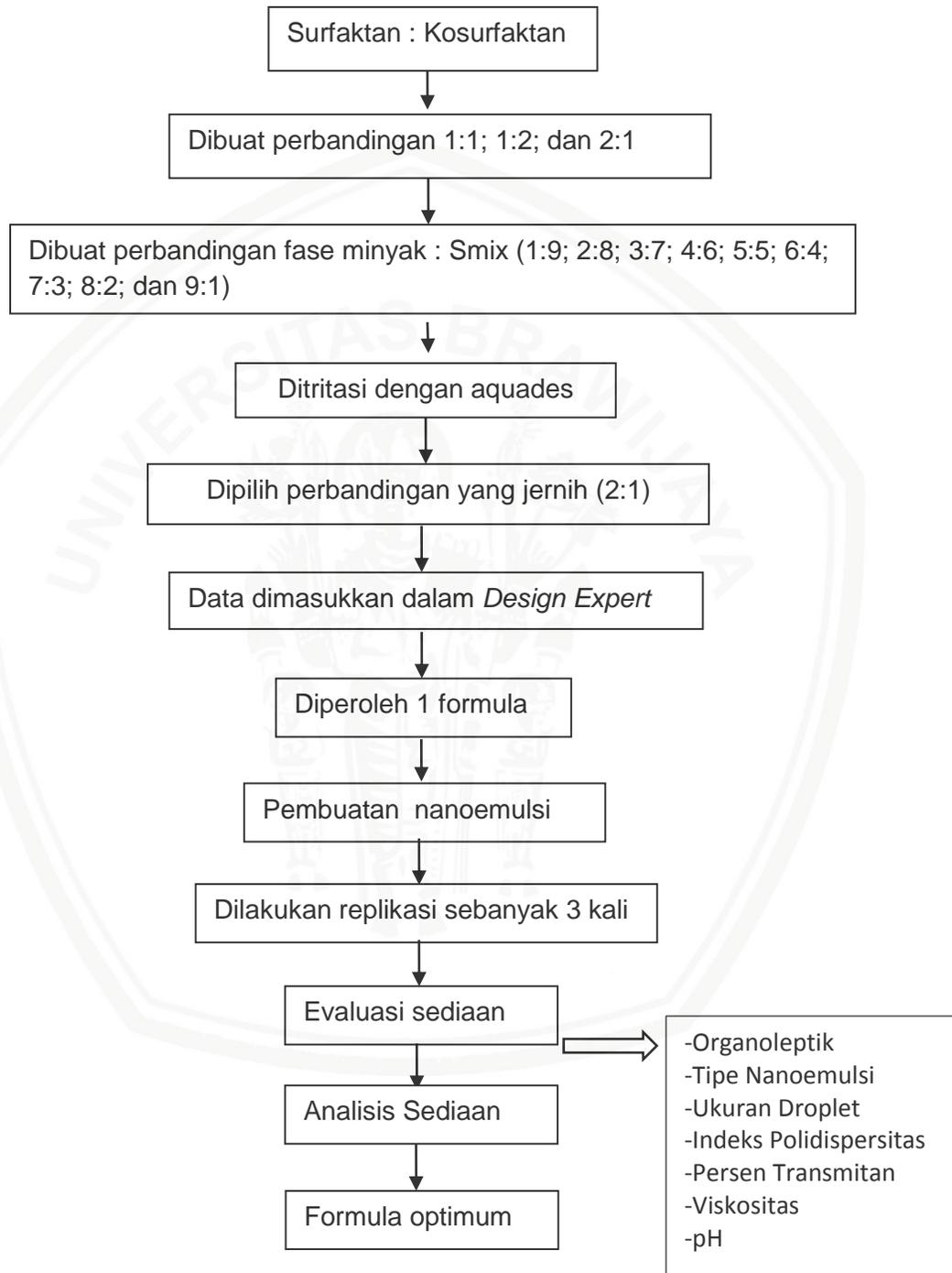
Gambar 4.1 Skema Kerja Optimasi

4.9.2 Skema Pembuatan Nanoemulsi



Gambar 4.2 Skema Pembuatan Nanoemulsi

4.10.3 Alur Kerja



Gambar 4.3 Alur Kerja

4.11 Analisis Data

Analisa data yang diperoleh secara deskriptif, dianalisis dalam bentuk narasi, tabel atau grafik. Data yang didapat kemudian dideskripsikan serta dibandingkan dengan persyaratan spesifikasi yang sudah ditentukan. Data yang dianalisa menggunakan deskripsi yaitu uji organoleptik, uji tipe nanoemulsi dan uji sentrifugasi. Data yang dianalisa menggunakan uji statistik yaitu uji stabilitas fisik sediaan. Pada stabilitas *On Going* uji indeks polidispersitas dan uji ukuran droplet dianalisis menggunakan statistic *paired t test* karena hanya ada 2 data berpasangan, sedangkan uji % transmittan, uji pH dan uji viskositas menggunakan *repeated Anova*.

Pada stabilitas *cycling* semua uji seperti uji ukuran droplet, uji indeks polidispersitas, uji % transmittan, uji pH, dan uji viskositas dianalisis menggunakan statistik *paired t test*. Data-data yang diperoleh diolah dengan SPSS, lebih dahulu diuji normalitas dan homogenitasnya. Kemudian data tersebut, diuji dengan uji statistika parametrik *paired t test* dan *Repeated ANOVA*.

Uji statistika parametrik dapat dilakukan bila data yang diuji memiliki distribusi normal ($p > 0,05$) dan homogen ($p > 0,05$). Apabila data tidak normal atau tidak homogen maka perlu dilakukan transformasi agar menjadi normal.

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Optimasi Formula Nanoemulsi Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia*)

Optimasi formula nanoemulsi terdiri dari campuran ekstrak daun mengkudu sebagai antioksidan alami; fase minyak berupa *Sunflower Oil*; surfaktan berupa kombinasi antara Tween 80 dan Span 80; kosurfaktan berupa Polietilen Glikol 400 (PEG 400) serta fase air yaitu akuades. Digunakan tiga perbandingan surfaktan dan kosurfaktan yaitu 1:1; 1:2; dan 2:1. Perbandingan minyak dan Smix yang digunakan adalah 1:9; 2:8; 3:7; 4:6; 5:5; 6:4; 7:3; 8:2; dan 9:1. Penambahan air dilakukan dengan metode titrasi aquades yang dilakukan tetap dalam kondisi pengadukan sampai terjadi perubahan pada campuran yaitu keruh menjadi jernih kemudian dicatat hasil dari penambahan air. Pada formulasi nanoemulsi dilakukan *trial and error* dengan menggunakan dua HLB yaitu HLB 12,86 dan 8 (Lampiran 6).

Campuran yang menunjukkan sebagian hasil akhir tetap jernih yaitu pada HLB 12,86, sedangkan HLB 8 menunjukkan hasil yang keruh. Pada HLB 12,86 dengan perbandingan surfaktan dan kosurfaktan yaitu 2:1 terdapat hasil akhir titrasi yang keruh pada perbandingan minyak dan smix 2:8 hingga 9:1, sedangkan pada perbandingan 1:9 menghasilkan campuran yang agak keruh. Oleh karena itu dilakukan percobaan lagi pada perbandingan 1:9 serta 0,5:9,5 yang kemudian menghasilkan campuran jernih pada akhir titrasi. Hasil

pemeriksaan organoleptik optimasi formulasi terdapat pada tabel 5.1 hingga 5.7 dan gambar 5.1

Tabel 5.1 Hasil Organoleptik Optimasi Formula Nanoemulsi Ekstrak Daun

Mengkudu Pada HLB 12,86 (surfaktan : kosurfaktan → 1:1)

Fase Minyak : Smix	Volume Penambahan Air (ml)	Pengamatan Organoleptik
1:9	6,4	Keruh
2:8	2,0	Keruh
3:7	0,8	Keruh
4:6	0,4	Keruh
5:5	1,0	Keruh
6:4	0,3	Keruh
7:3	0,2	Keruh
8:2	0,1	Keruh
9:1	0,1	Keruh

Tabel 5.2 Hasil Organoleptik Optimasi Formula Nanoemulsi Ekstrak Daun

Mengkudu Pada HLB 12,86 (surfaktan : kosurfaktan → 1:2)

Fase Minyak : Smix	Volume Penambahan Air (ml)	Pengamatan Organoleptik
1:9	1,5	Keruh
2:8	0,6	Keruh
3:7	0,7	Keruh
4:6	0,6	Keruh
5:5	0,3	Keruh
6:4	0,3	Keruh
7:3	0,1	Keruh
8:2	0,3	Keruh
9:1	0,1	Keruh

Tabel 5.3 Hasil Organoleptik Optimasi Formula Nanoemulsi Ekstrak Daun

Mengkudu Pada HLB 12,86 (surfaktan : kosurfaktan → 2:1)

Fase Minyak : Smix	Volume Penambahan Air (ml)	Pengamatan Organoleptik
1:9	3,9	Agak Keruh
2:8	2,7	Keruh
3:7	0,8	Keruh
4:6	0,6	Keruh
5:5	0,6	Keruh
6:4	0,4	Keruh
7:3	0,3	Keruh
8:2	0,1	Keruh
9:1	0,1	Keruh

Tabel 5.4 Hasil Organoleptik Optimasi Formula Nanoemulsi Ekstrak Daun

Mengkudu Pada HLB 8 (surfaktan : kosurfaktan → 1:1)

Fase Minyak : Smix	Volume Penambahan Air (ml)	Pengamatan Organoleptik
1:9	0,30	Keruh
2:8	0,30	Keruh
3:7	0,20	Keruh
4:6	0,20	Keruh
5:5	0,20	Keruh
6:4	0,05	Keruh
7:3	0,02	Keruh
8:2	0,01	Keruh
9:1	0,01	Keruh

Tabel 5.5 Hasil Organoleptik Optimasi Formula Nanoemulsi Ekstrak Daun

Mengkudu Pada HLB 8 (surfaktan : kosurfaktan → 1:2)

Fase Minyak : Smix	Volume Penambahan Air (ml)	Pengamatan Organoleptik
1:9	0,30	Keruh
2:8	0,15	Keruh
3:7	0,06	Keruh
4:6	0,05	Keruh
5:5	0,03	Keruh
6:4	0,02	Keruh
7:3	0,02	Keruh
8:2	0,01	Keruh
9:1	0,01	Keruh

Tabel 5.6 Hasil Organoleptik Optimasi Formula Nanoemulsi Ekstrak Daun

Mengkudu Pada HLB 8 (surfaktan : kosurfaktan → 2:1)

Fase Minyak : Smix	Volume Penambahan Air (ml)	Pengamatan Organoleptik
1:9	0,150	Keruh
2:8	0,050	Keruh
3:7	0,030	Keruh
4:6	0,020	Keruh
5:5	0,020	Keruh
6:4	0,015	Keruh
7:3	0,010	Keruh
8:2	0,010	Keruh
9:1	0,010	Keruh

Tabel 5.7 Hasil Organoleptik Optimasi Formula Nanoemulsi Ekstrak Daun

Mengkudu Pada HLB 12,86 (surfaktan : kosurfaktan → 2:1)

Fase Minyak : Smix	Volume Penambahan Air (ml)	Pengamatan Organoleptik
0,5:9,5	3	Jernih
1:9	1	Jernih



Gambar 5.1 Hasil Optimasi Formula Nanoemulsi HLB 12,86 dengan Surfaktan : Kosurfaktan (2:1)

Berdasarkan tabel 5.7, kemudian data dimasukkan kedalam aplikasi *Design Expert* untuk mengetahui formula yang direkomendasikan yang berada dalam rentang kedua perbandingan tersebut. Setelah data dimasukkan, kemudian muncul 20 rekomendasi formula pada (Lampiran 7) yang harus dicek salah satu kriteria yang diinginkan yaitu persen transmitan. Hasil pengamatan organoleptik dari 20 formula menunjukkan campuran yang jernih terdapat pada tabel 5.8 serta gambar 5.2 dan 5.3.



Gambar 5.2 Hasil Organoleptik 20 Formula rekomendasi *Design expert*

Tabel 5.8 Hasil 20 Formula rekomendasi *Design expert*

No.	Air	Sunflower Oil	Surfaktan		PEG 400	%T
			Tween 80	Span 80		
1.	1,304	0,474	4,377	1,094	2,752	99,4
2.	1,171	0,642	4,377	1,094	2,716	99,5
3.	1,304	0,452	4,404	1,101	2,740	99,9
4.	0,905	0,873	4,390	1,098	2,734	99,9
5.	1,171	0,573	4,404	1,101	2,752	99,7
6.	1,224	0,533	4,398	1,099	2,745	99,9
7.	1,104	0,691	4,390	1,098	2,716	99,2
8.	0,905	0,907	4,377	1,094	2,716	99,9
9.	1,105	0,691	4,390	1,098	2,716	99,8
10.	1,304	0,509	4,377	1,094	2,716	99,9
11.	1,025	0,777	4,385	1,096	2,727	99,7
12.	0,905	0,872	4,377	1,094	2,752	99,9
13.	0,905	0,838	4,404	1,101	2,752	99,7
14.	0,905	0,873	4,390	1,098	2,734	99,3
15.	1,038	0,705	4,404	1,101	2,752	99,2
16.	0,905	0,873	4,404	1,101	2,716	99,6
17.	1,104	0,690	4,377	1,094	2,734	99,7
18.	1,304	0,452	4,404	1,101	2,740	99,6
19.	0,905	0,907	4,377	1,094	2,716	99,9
20.	1,105	0,690	4,377	1,094	2,734	99,9

Setelah pengecekan nilai % transmittan, dilakukan analisis data pada aplikasi dan diperoleh sekitar 80 formula yang sudah sesuai dengan kriteria persen transmittan. Kemudian selanjutnya dilakukan pemilihan satu formula dengan pertimbangan nilai % transmittan tertinggi dan tipe nanoemulsi yang diinginkan yaitu o/w sehingga dipilih formula yang memiliki komposisi fase air paling banyak, dengan komposisi (dalam 10 mg) sebagai berikut (Tabel 5.9):

Tabel 5.9 Formula rekomendasi *Design expert*

Formula	Jumlah (mg)
Air	1,3035
<i>Sunflower Oil</i>	0,4516
Tween 80	4,4038
Span 80	1,1009
PEG 400	2,7401

Berdasarkan formula tersebut, kemudian dilakukan replikasi sebanyak 5 kali yang dicek kembali kriteria % transmittan untuk validasi formula yang dipilih. Hasilnya sebagai berikut (Tabel 5.10) dan (Gambar 5.4):

Tabel 5.10 Hasil % Transmittan dari Replikasi 5 Formula

Formula	Pengamatan Organoleptik	% Transmittan
1	Jernih	99,9
2	Jernih	99,5
3	Jernih	99,2
4	Jernih	99,9
5	Jernih	99,8

**Gambar 5.3** Hasil Replikasi 5 Formula yang Dipilih

Berdasarkan replikasi tersebut, dengan nilai % transmitten yaitu 99,68% masing-masing komponen bahan yang digunakan sudah berada pada rentang nilai yang direkomendasikan oleh *Design Expert* yaitu 99.60 (99.42 – 99.91) (Lampiran 9) sehingga bisa digunakan sebagai formula nanoemulsi.

5.2 Evaluasi Nanoemulsi

Setelah dilakukan pembuatan nanoemulsi, langkah selanjutnya adalah dilakukan evaluasi yang meliputi uji karakteristik fisik yaitu uji organoleptik, uji tipe nanoemulsi, uji pH, uji viskositas, uji % transmittan, uji ukuran partikel, uji indeks polidispersitas serta uji stabilitas fisik.

5.2.1 Uji Organoleptik

Evaluasi organoleptik pada nanoemulsi dilakukan dengan cara mengidentifikasi bentuk atau konsistensi sediaan, bau sediaan, warna sediaan. Berdasarkan hasil evaluasinya, diketahui bahwa nanoemulsi yang dibuat memiliki bentuk atau konsistensi cair agak kental, tidak berbau serta memiliki warna kuning kehijauan namun tetap jernih. Sehingga menunjukkan bahwa sediaan yang telah dibuat sesuai dengan karakteristik yang telah ditentukan yaitu sediaan nanoemulsi berbentuk cair, berwarna kuning sampai kuning kehijauan serta tidak berbau tengik (Lawrence dan Ress, 2000 (Stephanie, 2015)). Hasil evaluasi organoleptik dapat dilihat pada tabel 5.11

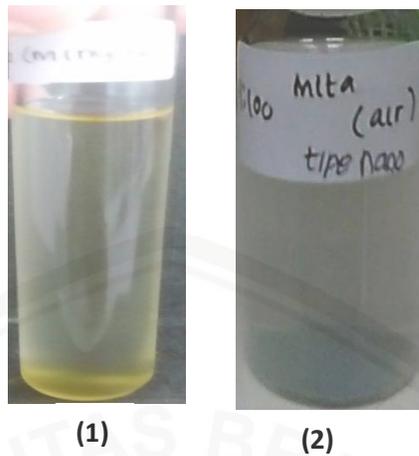
Tabel 5.11 Uji Organoleptik

Spesifikasi	Nanoemulsi
Bentuk	Cair
Konsistensi	Agak kental
Bau	Tidak berbau
Warna	Kuning kehijauan

**Gambar 5.4 Hasil Uji Organoleptik**

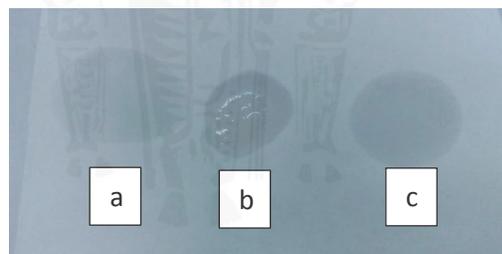
5.2.2 Uji Tipe Nanoemulsi

Evaluasi tipe nanoemulsi dilakukan dengan cara pengenceran pada sediaan dan metode persebaran menggunakan kertas saring. Nanoemulsi diencerkan dengan air dan minyak dengan perbandingan masing-masing 1:100 (10 μ l : 10 ml) kemudian dilihat hasilnya. Apabila terdispersi dalam air maka tipe nanoemulsi minyak dalam air, sedangkan bila terdispersi dalam minyak maka tipe nanoemulsi air dalam minyak (Jasiwal, 2015). Berdasarkan metode pengenceran, hasil dari sediaan yang dibuat yaitu terdispersi dalam air. Gambar 2 merupakan sediaan dengan fase minyak yang memisah. Hal tersebut menunjukkan nanoemulsi yang dibuat memiliki tipe nanoemulsi yang sesuai dengan interpretasi hasil yang diinginkan yaitu minyak dalam air (o/w).



Gambar 5.5 Hasil uji tipe nanoemulsi metode pengenceran (1) dengan minyak dan (2) dengan air

Sedangkan untuk metode persebaran menggunakan kertas saring, dilakukan dengan cara meneteskan hasil sediaan nanoemulsi, akuades dan *sunflower oil* pada kertas saring secara bersamaan, kemudian dilihat hasilnya, sebagai berikut:



Gambar 5.6 Hasil Uji Tipe Nanoemulsi Metode Persebaran Menggunakan Kertas Saring (a) minyak, (b) sediaan, (c) air

Berdasarkan hasil tersebut, luas persebaran sediaan nanoemulsi yang dibuat hampir menyerupai luas persebaran air, sehingga tipe nanoemulsi yang sesuai dengan interpretasi hasil yang diinginkan yaitu minyak dalam air (o/w).

5.2.3 Uji Persen Transmitan

Evaluasi persen transmitan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV, dilakukan dengan panjang gelombang 650nm dan menggunakan aquades sebagai blanko. Evaluasi dilakukan dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Berdasarkan hasil pengukuran yang dilakukan, diperoleh hasil dengan rerata \pm SD yaitu $62,77 \pm 0,116$ %. Hasil uji persen transmitan dapat dilihat pada tabel berikut (tabel 5.12):

Tabel 5.12 Hasil Evaluasi Persen Transmitan

Replikasi	% T	Rerata \pm SD
1.	62,7	$62,77 \pm 0,12$
2.	62,7	
3.	62,9	

5.2.4 Uji pH

Evaluasi pH dilakukan dengan menggunakan pH meter, dimana elektroda pada pH meter dicelupkan pada sediaan hingga menunjukkan angka yang stabil dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Berdasarkan hasil pengukuran yang dilakukan, diperoleh hasil pH dengan rerata \pm SD yaitu $7,80 \pm 0,0158$. Hasil uji pH dapat dilihat pada tabel berikut (tabel 5.13):

Tabel 5.13 Hasil pH sediaan Nanoemulsi

Replikasi	pH	Rerata \pm SD
1.	7,80	$7,80 \pm 0,02$
2.	7,81	
3.	7,78	

5.2.5 Uji Viskositas

Evaluasi viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer Cone and Plate 'RION', sediaan diletakkan dalam wadah, kemudian spindle diturunkan ke dalam sediaan sampai tanda batas dengan kecepatan 3750 rpm selama 5 jam. Pembacaan skala setelah jarum stabil. Evaluasi dilakukan dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Berdasarkan hasil pengukuran yang dilakukan, diperoleh hasil dengan rerata \pm SD yaitu 220 ± 0 cP. Hasil uji viskositas dapat dilihat pada tabel berikut (tabel 5.14):

Tabel 5.14 Hasil Evaluasi Viskositas

Replikasi	Viskositas (cP)	Rerata \pm SD
1.	220	220 \pm 0,00
2.	220	
3.	220	

5.2.6 Uji Ukuran Droplet

Evaluasi ukuran droplet dilakukan dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* "MALVERN", sampel diambil dan dimasukkan kedalam kuvet kemudian diletakkan kedalam alat dan dilakukan analisis. Evaluasi dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Berdasarkan hasil pengukuran yang dilakukan, diperoleh hasil dengan rerata \pm SD yaitu $130,37 \pm 1,401$ nm. Hasil uji ukuran droplet dapat dilihat pada tabel berikut (tabel 5.15):

Tabel 5.15 Hasil Evaluasi Ukuran Droplet

Replikasi	Ukuran Droplet (nm)	Rerata \pm SD
1.	129,0	130,37 \pm 1,40
2.	130,3	
3.	131,8	

5.2.7 Uji Indeks Poldispersitas

Evaluasi indeks poldispersitas dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* "MALVERN", sampel diambil dan dimasukkan kedalam kuvet kemudian diletakkan kedalam alat dan dilakukan analisis. Evaluasi dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Berdasarkan hasil pengukuran yang dilakukan, diperoleh hasil dengan rerata \pm SD yaitu $0,594 \pm 0,002$. Hasil uji indeks poldispersitas dapat dilihat pada tabel berikut (tabel 5.16):

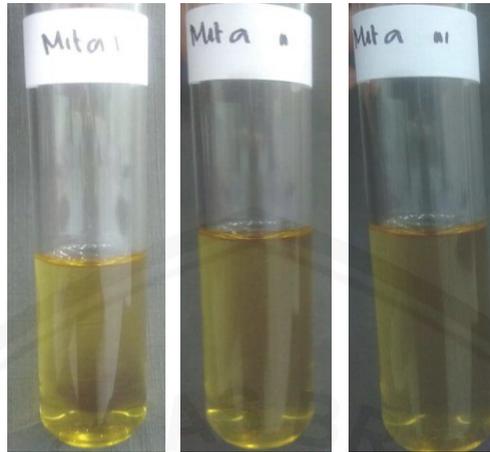
Tabel 5.16 Hasil Evaluasi Indeks Poldispersitas

Replikasi	Indeks Poldispersitas	Rerata \pm SD
1.	0,593	0,594 \pm 0,002
2.	0,596	
3.	0,594	

5.3 Hasil Evaluasi Stabilitas Sediaan Nanoemulsi

5.3.1 Uji Sentrifugasi

Evaluasi uji sentrifugasi menggunakan alat sentrifugator, untuk mengetahui terjadinya pemisahan fase dari emulsi. Uji dilakukan dengan cara sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dimasukkan ke dalam sentrifugator pada kecepatan 3750 rpm selama 5 jam. Berdasarkan pengujian yang dilakukan selama 5 jam, sampel tidak mengalami pemisahan yang menunjukkan ketiga sampel tersebut stabil. Hasil dari pengujian ditunjukkan pada gambar 5.8.



Gambar 5.7 Hasil Uji Sentrifugasi Sediaan Nanoemulsi

5.3.2 Uji *On Going*

Evaluasi *On Going* dilakukan menggunakan *Climatic chamber* dengan pengkondisian suhu 30 °C dan kelembaban 75% selama 30 hari dan dilakukan uji organoleptik, uji persen transmittan, uji pH dan uji viskositas pada hari ke 0, 7, 15, dan 30. Kemudian uji ukuran droplet dan uji indeks polidispersitas pada hari ke 0 dan 30.

5.3.2.1 Uji Organoleptik

Evaluasi organoleptik pada nanoemulsi dilakukan dengan cara mengidentifikasi bentuk atau konsistensi sediaan, bau sediaan, warna sediaan sesuai dengan karakteristik yaitu sediaan nanoemulsi berbentuk cair, berwarna kuning sampai kuning kehijauan serta tidak berbau. Berdasarkan lama waktu penyimpanan pada sediaan menunjukkan hasil seperti pada tabel 5.17.

Tabel 5.17. Hasil Evaluasi Organoleptik *On Going*

Replikasi	Hari ke-	Warna	Bau	Bentuk	Konsistensi
1	0	Kuning kehijauan	Tidak Berbau	Cair	Agak kental
	7	Kuning kehijauan	Tidak Berbau	Cair	Agak kental
	15	Kuning kehijauan	Tidak Berbau	Cair	Agak kental
	30	Kuning kehijauan	Tidak Berbau	Cair	Agak kental
2	0	Kuning kehijauan	Tidak Berbau	Cair	Agak kental
	7	Kuning kehijauan	Tidak Berbau	Cair	Agak kental
	15	Kuning kehijauan	Tidak Berbau	Cair	Agak kental
	30	Kuning kehijauan	Tidak Berbau	Cair	Agak kental
3	0	Kuning kehijauan	Tidak Berbau	Cair	Agak kental
	7	Kuning kehijauan	Tidak Berbau	Cair	Agak kental
	15	Kuning kehijauan	Tidak Berbau	Cair	Agak kental
	30	Kuning kehijauan	Tidak Berbau	Cair	Agak kental

Gambar 5.8 Hasil Uji Organoleptik Stabilitas *On Going*

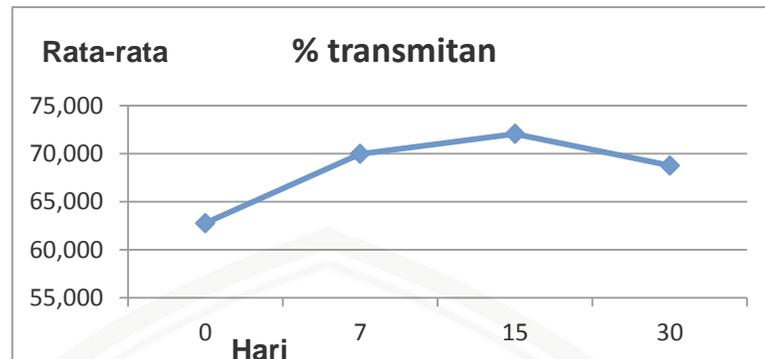
5.3.2.2 Uji Persen Transmitan

Evaluasi persen transmitan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV, dilakukan dengan panjang gelombang 650nm dan menggunakan aquades sebagai blanko. Berdasarkan lama waktu penyimpanan pada sediaan menunjukkan hasil seperti pada tabel 5.18.

Tabel 5.18 Hasil Evaluasi persen transmitan *On Going*

Hari	Rerata \pm SD
0	62,777 \pm 0,116
7	69,967 \pm 0,058
15	72,067 \pm 0,058
30	68,767 \pm 0,116

Hasil uji normalitas persen transmitan stabilitas *On Going* pada suhu 30°C dan kelembaban 75% yaitu nilai $p=0,186$; $p=0,344$; $p=0,338$ dan $p=0,741$ (lampiran 9), berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa distribusi data pH normal karena ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji parametrik *repeated* ANOVA dengan nilai $p=0,011$ ($p<0,05$) (lampiran 9), yang menunjukkan data memiliki perbedaan yang signifikan. Grafik nilai %transmitan dari sediaan selama 30 hari penyimpanan sebagai berikut:



Gambar 5.9 Grafik nilai %transmittansi dari sediaan selama 30 hari penyimpanan

Berdasarkan grafik tersebut menunjukkan bahwa %T naik sampai hari ke 15 dan menurun pada hari ke 30.

5.3.2.3 Uji pH

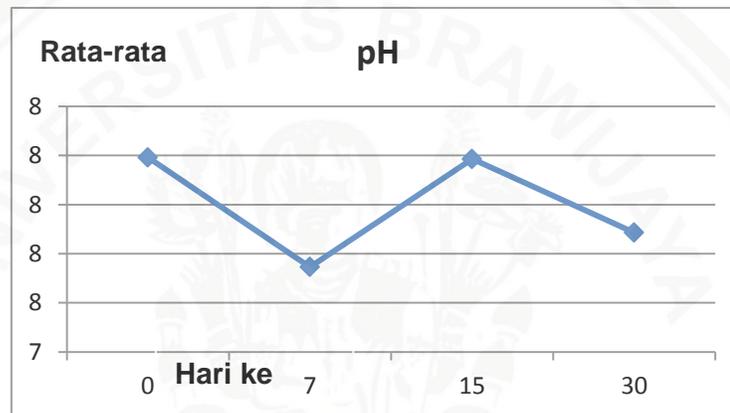
Evaluasi pH dilakukan dengan menggunakan pH meter, dimana elektroda pada pH meter dicelupkan pada sediaan hingga menunjukkan angka yang stabil. Berdasarkan lama waktu penyimpanan pada sediaan menunjukkan hasil seperti pada tabel 5.19.

Tabel 5.19 Hasil Evaluasi pH *On Going*

Hari	Rerata \pm SD
0	7,797 \pm 0,015
7	7,573 \pm 0,040
15	7,793 \pm 0,050
30	7,643 \pm 0,015

Hasil uji normalitas pH stabilitas *On Going* pada suhu 30°C dan kelembaban 75% yaitu nilai $p=0,841$; $p=0,490$; $p=0,729$ dan

$p=0,780$ (lampiran 10), berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa distribusi data pH normal karena ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji parametrik *repeated* ANOVA dengan nilai $p=0,023$ ($p>0,05$) (lampiran 10), yang menunjukkan data memiliki perbedaan yang signifikan dan berubah-ubah pada saat pengukuran. Grafik nilai pH dari sediaan selama 30 hari penyimpanan sebagai berikut:



Gambar 5.10 Grafik nilai pH dari sediaan selama 30 hari penyimpanan

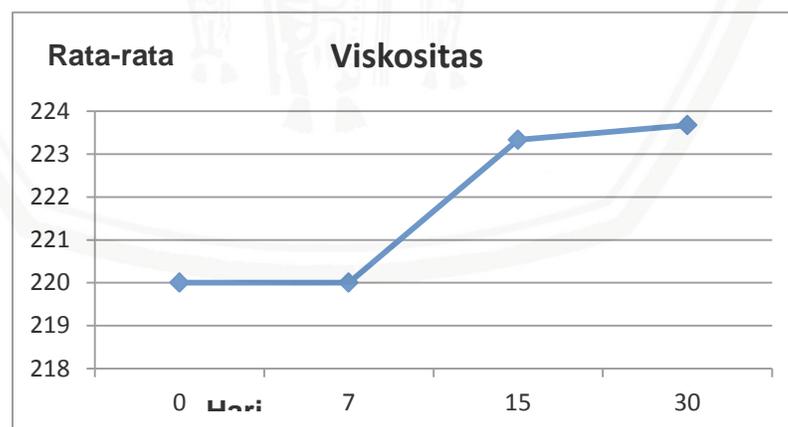
5.3.2.4 Uji Viskositas

Evaluasi viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer Cone and Plate 'RION', sediaan diletakkan dalam wadah, kemudian spindle diturunkan ke dalam sediaan sampai tanda batas. Pembacaan skala setelah jarum stabil. Evaluasi dilakukan dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Berdasarkan lama waktu penyimpanan pada sediaan menunjukkan hasil seperti pada tabel 5.20.

Tabel 5.20 Hasil Evaluasi Viskositas *On Going*

Hari	Rerata \pm SD (cP)
0	220,000 \pm 0,000
7	220,000 \pm 0,000
15	223,333 \pm 5,774
30	223,667 \pm 5,774

Hasil uji normalitas viskositas stabilitas *On Going* pada suhu 30°C dan kelembaban 75% yaitu nilai $p=0,289$; $p=0,254$; $p=0,198$ dan $p=0,895$ (Lampiran 11). Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa distribusi data pH normal karena ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji parametrik *repeated ANOVA* dengan nilai $p=0,577$ ($p>0,05$) (Lampiran 11), yang menunjukkan data tidak memiliki perbedaan yang signifikan selama 30 hari penyimpanan namun mengalami sedikit kenaikan dengan nilai masih dalam rentang. Grafik nilai viskositas dari sediaan selama 30 hari penyimpanan sebagai berikut:



Gambar 5.11 Grafik nilai dari viskositas selama 30 hari penyimpanan

5.3.2.5 Uji Ukuran Droplet

Evaluasi ukuran droplet dilakukan dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* “MALVERN”, Berdasarkan lama waktu penyimpanan pada sediaan menunjukkan hasil seperti pada tabel 5.21.

Tabel 5.21 Hasil Evaluasi Ukuran droplet *On Going*

Hari	Rerata \pm SD (nm)
0	130,367 \pm 1,401
30	147,767 \pm 1,504

Hasil uji normalitas ukuran droplet stabilitas *On Going* pada suhu 30°C dan kelembaban 75% yaitu nilai $p=0,864$ dan $p=0,800$ (lampiran 12), berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa distribusi data pH normal karena ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji parametric *paired t test* karena hanya terdapat dua data (hari ke-0 dan hari ke-30) dengan nilai $p=0,005$ ($p < 0,05$) (lampiran 12), yang menunjukkan data memiliki perbedaan yang signifikan selama 30 hari penyimpanan yaitu peningkatan ukuran droplet namun masih dalam rentang.

5.3.2.6 Uji Indeks Polidispersitas

Evaluasi indeks polidispersitas dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* “MALVERN”, Berdasarkan lama waktu penyimpanan pada sediaan menunjukkan hasil seperti pada tabel 5.22.

Tabel 5.22 Hasil Evaluasi Indeks Polidispersitas *On Going*

Hari	Rerata \pm SD
0	0,594 \pm 0,002
30	0,594 \pm 0,045

Hasil uji normalitas indeks polidispersitas stabilitas *On Going* pada suhu 30°C dan kelembaban 75% yaitu nilai $p=0,366$ dan $p=0,172$ (lampiran 13), berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa distribusi data pH normal karena ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji parametrik *paired t test* karena hanya terdapat dua data (hari ke-0 dan hari ke-30) dengan nilai $p=1,000$ ($p>0,05$) (lampiran 13), yang menunjukkan data tidak memiliki perbedaan yang signifikan selama 30 hari penyimpanan yaitu droplet tetap tidak bergerombol karena hasilnya masih memenuhi spesifikasi yaitu <1 .

5.3.3 Uji Stabilitas *Cycling*

Evaluasi stabilitas *cycling* dilakukan dengan menggunakan dua alat yaitu oven dan kulkas dimana sediaan disimpan pada kulkas dengan suhu $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam lalu menyimpannya pada oven dengan suhu $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam, waktu penyimpanan pada dua suhu yang berbeda dianggap sebagai satu siklus dan dilakukan sebanyak 6 siklus. Kemudian dilakukan uji organoleptik, uji persen transmittan, uji pH, uji viskositas, uji ukuran droplet, dan uji indeks polidispersitas pada hari ke 0 dan hari ke 24 (siklus ke-6).

5.3.3.1 Uji Organoleptik

Evaluasi organoleptik pada nanoemulsi dilakukan dengan mengidentifikasi bentuk atau konsistensi sediaan, bau sediaan, warna sediaan sesuai dengan karakteristik yaitu sediaan nanoemulsi berbentuk cair, berwarna kuning sampai kuning kehijauan serta tidak berbau tengik. Berdasarkan lama waktu penyimpanan pada sediaan menunjukkan hasil seperti pada tabel 5.23.

Tabel 5.23. Hasil Evaluasi Organoleptik *Cycling*

Replikasi	Hari ke-	Warna	Bau	Bentuk	Konsistensi
1	0	Kuning kehijauan	Tidak Berbau	Cair	Agak Kental
	24	Kuning kehijauan	Tidak Berbau	Cair	Agak Kental
2	0	Kuning kehijauan	Tidak Berbau	Cair	Agak Kental
	24	Kuning kehijauan	Tidak Berbau	Cair	Agak Kental
3	0	Kuning kehijauan	Tidak Berbau	Cair	Agak Kental
	24	Kuning kehijauan	Tidak Berbau	Cair	Agak Kental



Gambar 5.12 Evaluasi Organoleptik hari ke 0 dan 24

5.3.3.2 Uji Persen Transmitan

Evaluasi persen transmitan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV, dilakukan dengan panjang gelombang 650nm dan menggunakan aquades sebagai blanko. Evaluasi dilakukan dengan pengulangan sebanyak tiga kali. Berdasarkan lama waktu penyimpanan pada sediaan menunjukkan hasil seperti pada tabel 5.24.

Tabel 5.24 Hasil Evaluasi Persen Transmitan *Cycling*

Hari	Rerata \pm SD
0	62,767 \pm 0,116
24	56,700 \pm 0,000

Hasil uji normalitas persen transmitan stabilitas *cycling* yaitu nilai $p=0,595$ dan $p=353$ (lampiran 9), berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa distribusi data pH normal karena ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji parametrik *paired t test* karena hanya terdapat dua data (hari ke-0 dan hari ke-24) dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$) (lampiran 9), yang menunjukkan data memiliki perbedaan yang signifikan selama 6 siklus (24 hari penyimpanan) yaitu peningkatan nilai persen transmitan.

5.3.3.3 Uji pH

Evaluasi pH dilakukan dengan menggunakan pH meter, dimana elektroda pada pH meter dicelupkan pada sediaan hingga menunjukkan angka yang stabi. Berdasarkan lama waktu

penyimpanan pada sediaan menunjukkan hasil seperti pada tabel 5.25.

Tabel 5.25 Hasil Evaluasi pH *Cycling*

Hari	Rerata \pm SD
0	7,797 \pm 0,015
24	7,643 \pm 0,015

Hasil uji normalitas pH stabilitas *cycling* yaitu nilai $p=0,927$ dan $p=0,188$ (lampiran 10), berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa distribusi data pH normal karena ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji parametrik *paired t test* karena hanya terdapat dua data (hari ke-0 dan hari ke-24) dengan nilai $p=0,003$ ($p < 0,05$) (lampiran 10), yang menunjukkan data memiliki perbedaan yang signifikan selama 6 siklus (24 hari penyimpanan) yaitu peningkatan nilai pH.

5.3.3.4 Uji Viskositas

Evaluasi viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer, sediaan diletakkan dalam wadah, kemudian spindle diturunkan ke dalam sediaan sampai tanda batas. Pembacaan skala setelah jarum stabil. Berdasarkan lama waktu penyimpanan pada sediaan menunjukkan hasil seperti pada tabel 5.26.

Tabel 5.26 Hasil Evaluasi Viskositas *Cycling*

Hari	Rerata \pm SD (cP)
0	220,000 \pm 0,000
24	216,667 \pm 5,774

Hasil uji normalitas viskositas stabilitas *cycling* yaitu nilai $p=0,143$ dan $p=0,187$ (lampiran 11), berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa distribusi data pH normal karena ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji parametrik *paired t test* karena hanya terdapat dua data (hari ke-0 dan hari ke-24) dengan nilai $p=0,423$ ($p>0,05$) (lampiran 11), yang menunjukkan data tidak memiliki perbedaan yang signifikan selama 6 siklus (24 hari penyimpanan) dimana nilai viskositas tidak memiliki perbedaan yang bermakna karena mengalami peningkatan yang relative kecil dan masih dalam rentang.

5.3.3.5 Uji Ukuran Droplet

Evaluasi ukuran droplet dilakukan dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* "MALVERN", Berdasarkan lama waktu penyimpanan pada sediaan menunjukkan hasil seperti pada tabel 5.27.

Tabel 5.27 Hasil Evaluasi Ukuran droplet *Cycling*

Hari	Rerata \pm SD (nm)
0	130,367 \pm 1,401
24	141,067 \pm 0,503

Hasil uji normalitas ukuran droplet stabilitas *cycling* yaitu nilai $p=0,457$ dan $p=347$ (lampiran 12), berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa distribusi data pH normal karena ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji parametrik *paired t test* karena hanya

terdapat dua data (hari ke-0 dan hari ke-24) dengan nilai $p=0,005$ ($p<0,05$) (lampiran 12), yang menunjukkan data memiliki perbedaan yang signifikan selama 6 siklus (24 hari penyimpanan) yaitu peningkatan ukuran droplet namun masih dalam rentang

5.3.3.6 Uji Indeks Polidispersitas

Evaluasi indeks polidispersitas dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* "MALVERN", Berdasarkan lama waktu penyimpanan pada sediaan menunjukkan hasil seperti pada tabel 5.28.

Tabel 5.28 Hasil Evaluasi Indeks Polidispersitas *Cycling*

Hari	Rerata \pm SD
0	0,594 \pm 0,001
24	0,538 \pm 0,048

Hasil uji normalitas indeks polidispersitas stabilitas *cucling* yaitu nilai $p=0,898$ dan $p=0,834$ (lampiran 13), berdasarkan hasil tersebut menunjukkan bahwa distribusi data pH normal karena ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji parametrik *paired t test* karena hanya terdapat dua data (hari ke-0 dan hari ke-24) dengan nilai $p=0,190$ ($p>0,05$) (lampiran 13), yang menunjukkan data tidak memiliki perbedaan yang signifikan selama 6 siklus (24 hari penyimpanan).

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1. Pembahasan

Penelitian dilakukan menggunakan ekstrak daun mengkudu yang mengandung flavonoid sebagai antioksidan alami sebanyak 1% yang dibuat sediaan nanoemulsi dengan cara optimasi. Formula tersebut terdiri dari campuran ekstrak daun mengkudu; fase minyak *Sunflower Oil*; surfaktan berupa kombinasi dari Tween 80 dan Span 80; kosurfaktan berupa Polietilen Glikol 400 (PEG 400) dan akuades sebagai fase air. Optimasi tersebut dilakukan dengan tiga perbandingan surfaktan:kosurfaktan yaitu 1:1, 1:2, dan 2:1. Kemudian, masing-masing perbandingan tersebut terdapat perbandingan fase minyak: Smix (perbandingan surfaktan dan kosurfaktan) yaitu 1:9; 2:8; 3:7; 4:6; 5:5; 6:4; 7:3; 8:2; dan 9:1.

Pada penelitian ini sediaan nanoemulsi yang diinginkan memiliki tipe o/w dengan rentang HLB 8-14. Selanjutnya, dilakukan *trial and error* dengan menggunakan dua HLB yaitu HLB 12,86 dan 8. Menurut Flavia (2017), sistem emulsi yang paling stabil ketika mendekati HLB fase minyak (HLB *Sunflower oil*=8), namun berdasarkan hasil percobaan pada HLB 8 menunjukkan hasil akhir titrasi yang keruh dan memisah. Menurut Ngan (2014), penggunaan HLB 12,86 dengan rasio perbandingan Tween 80 : Span 80 (80 : 20) menghasilkan area yang luas pada diagram terner, menunjukkan bahwa pada perbandingan tersebut komposisi campuran surfaktan mampu membentuk nanoemulsi. Formula dengan HLB tersebut dengan perbandingan surfaktan dan kosurfaktan 2:1 pada perbandingan fase

minyak: Smix 1:9 menghasilkan campuran yang jernih kemudian dilakukan percobaan lagi pada perbandingan 0,5:9,5 yang dapat menghasilkan campuran yang jernih pada akhir titrasi. Sedangkan pada perbandingan surfaktan 1:1 dan 1:2 terjadi pemisahan fase dan terbentuk campuran yang keruh. Hal tersebut dapat terjadi karena nanoemulsi terbentuk pada konsentrasi tertentu dimana perbandingan penggunaan surfaktan dan kosurfaktan mempengaruhi terbentuknya nanoemulsi. Pada konsentrasi kosurfaktan yang semakin tinggi memiliki efek destabilisasi dimana dapat terjadi pemisahan atau tidak terbentuknya nanoemulsi. Namun tanpa adanya kosurfaktan, surfaktan kurang mampu menurunkan tegangan permukaan fase minyak dan fase air (Talegaonkar, 2011).

Hasil akhir titrasi yang menghasilkan campuran jernih tadi, dimasukkan kedalam aplikasi *Design Expert Trial Version* dengan metode *Simplex Lattice Design* dan dihasilkan 20 rekomendasi formula yang dicek persen transmittannya dan menunjukkan hasil yang jernih. Selanjutnya, diperoleh sekitar 80 formula optimal yang sudah sesuai dengan kriteria persen transmittan (%T >99%). Kemudian dilakukan pemilihan satu formula optimal dengan pertimbangan nilai % transmittan tertinggi (>99%) dan memiliki komposisi fase air paling banyak. Selanjutnya dilakukan validasi dengan membuat sediaan sebanyak 5 kali menggunakan formula terpilih untuk membuktikan %transmittan prediksi *Design Expert* dan hasilnya menunjukkan nilai %T >99% (jernih). Kejernihan hasil validasi tersebut dapat terjadi karena masing-masing komponen bahan yang digunakan sudah berada diantara rentang nilai yang direkomendasikan oleh *Design Expert* yaitu 99.60 (99.42 – 99.91). Formula yang sudah divalidasi kemudian dibuat sediaan nanoemulsi.

Proses pembuatan sediaan nanoemulsi menggunakan ultraturax dengan kecepatan 12.000 rpm. Penggunaanya karena untuk memecah droplet menjadi kecil sehingga dapat membentuk ukuran nano dalam waktu 1 jam. Pada kecepatan pengadukan tinggi ukuran droplet yang terbentuk semakin kecil dan tidak terjadi proses *coalescence* atau penggabungan (Mijovic, 2013). Kemudian, dibuat replikasi tiga kali yang selanjutnya akan dilakukan evaluasi karakterisasi fisik dan stabilitas fisik

Evaluasi karakterisasi fisik yang dilakukan seperti uji organoleptik, uji tipe nanoemulsi, uji persen transmittan, uji pH, uji viskositas, uji ukuran droplet, dan uji indeks polidispersitas. Dari uji organoleptik yang dilakukan, diperoleh hasil yaitu bentuk atau konsistensi cair agak kental, tidak berbau serta memiliki warna kuning kehijauan namun tetap jernih. Hasil tersebut sesuai dengan spesifikasi. Selanjutnya dilakukan pengujian tipe nanoemulsi dengan dua metode yaitu persebaran pada kertas saring dan metode pengenceran. Berdasarkan dua metode tersebut diketahui bahwa tipe nanoemulsi sediaan nanoemulsi yang sudah dibuat sesuai spesifikasi yaitu minyak dalam air (o/w).

Evaluasi selanjutnya yaitu uji persen transmittan, berdasarkan pengukuran yang dilakukan dengan spektrofotometer UV diperoleh rerata rerata \pm SD yaitu $62,77 \pm 0,116$ %. Dari ketiga replikasi sediaan hasil pengukurannya tidak jauh berbeda, akan tetapi nilainya tidak sesuai spesifikasi (>99%). Hal tersebut dapat terjadi karena pengaruh ekstrak yang digunakan dalam sediaan dimana memiliki zat warna klorofil (berwarna hijau) yang tentunya mempengaruhi hasil persen transmittan. Selain itu, komposisi minyak dan surfaktan juga mempengaruhi %transmittan, dimana ekstrak

daun mengkudu dapat larut baik dalam span 80 sedangkan pada *sunflower oil* ekstrak daun mengkudu tidak dapat larut dengan baik sehingga mempengaruhi pembentukan ukuran nanoemulsi yang menyebabkan menurunnya nilai persen transmittan (Beandrade, 2018).

Selanjutnya dilakukan evaluasi pH sediaan menggunakan pH meter, diperoleh rerata \pm SD yaitu $7,80 \pm 0,0158$. Dari ketiga replikasi sediaan hasil pengukurannya tidak jauh berbeda, namun nilainya melebihi rentang yang ditentukan yaitu 4 – 6. Hal tersebut dapat terjadi karena komponen sediaan memiliki pH yang cukup tinggi seperti tween 80 (komponen terbanyak) memiliki pH antara 6 – 8, kemudian PEG 400 yang memiliki pH sampai 7. Sehingga sediaan yang dihasilkan memiliki pH melebihi rentang. Selain itu, nanoemulsi merupakan sistem penghantaran nantinya dapat dijadikan suatu bentuk sediaan yang dapat diadjust nilai pHnya agar sesuai rentang pH kulit manusia.

Setelah itu, dilakukan evaluasi viskositas dengan menggunakan viskometer *Brookfield* dengan kecepatan 3750rpm selama 5 jam. Diperoleh rerata \pm SD yaitu 220 ± 0 cP. Dari ketiga replikasi tidak mengalami perubahan nilai pada setiap pengukuran dan hasilnya masuk kedalam spesifikasi yang ditentukan (10 - 2000cP untuk sediaan cair) dan menunjukkan kemudahan dalam penuangan. Kemudian dilakukan uji ukuran droplet dan indeks polidispersitas secara bersamaan dengan alat yang sama yaitu PSA dengan masing-masing replikasi sebanyak tiga kali. Pada uji ukuran droplet, diperoleh rerata \pm SD yaitu $130,37 \pm 1,401$ nm, dari ketiga replikasi tidak mengalami perbedaan yang signifikan dan nilainya masuk kedalam rentang spesifikasi yang ditentukan yaitu 50 – 500nm untuk sediaan nanoemulsi

ekstrak topikal. Hal tersebut menunjukkan metode yang digunakan yaitu ultaturax berhasil membuat ukuran droplet dalam ukuran nano. Sedangkan untuk uji indeks polidispersitas, diperoleh rerata \pm SD yaitu $0,594 \pm 0,0016$, dari ketiga replikasinya tidak jauh berbeda serta nilainya sesuai dengan spesifikasi yang ditentukan yaitu <1 . Hal tersebut menunjukkan bahwa droplet yang terbentuk tidak bergerombol, sehingga droplet mudah terdispersi kembali.

Evaluasi stabilitas fisik yang dilakukan yaitu uji sentrifugasi, uji *on going* serta uji *cycling*. Berdasarkan uji sentrifugasi dengan sentrifugator 3750rpm selama 5jam, menunjukkan hasil sesuai spesifikasi yang ditentukan yaitu ketiga replikasi sediaan tidak mengalami pemisahan.

Setelah hasil uji stabilitas *on going* dilakukan dengan lama penyimpanan hari ke 0, 7, 15 dan 30, secara organoleptik sediaan tidak mengalami perubahan pada bentuk/konsistensi, warna serta bau. Berdasarkan *repeated* Anova, pH memiliki nilai $p=0,023$ (lampiran 10) dan %transmitan memiliki nilai $p=0,011$ ($p < 0,05$) (lampiran 9) yaitu data memiliki perbedaan yang signifikan dari ketiga replikasi selama penyimpanan. Apabila dilihat dari (Grafik 5.2) pada setiap pengukuran pH berubah-ubah serta berdasarkan (Grafik 5.1) setelah hari ke 15 nila %T mengalami penurunan. Sedangkan viskositas memiliki nilai $p=0,577$ ($p > 0,05$) (lampiran 11) dimana data tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Kemudian, berdasarkan uji *paired t test* dari ukuran droplet memiliki nilai $p=0,005$ ($p < 0,05$) (lampiran 12) menunjukkan data berbeda signifikan sedangkan indeks polidispersitas memiliki nilai $p=1,000$ ($p > 0,05$) (lampiran 13) menunjukkan data tidak berbeda signifikan.

Berdasarkan hasil uji stabilitas *cycling* yang telah dilakukan selama penyimpanan 24 hari (6 siklus), secara organoleptik hasilnya tidak berbeda dengan stabilitas *on going*. Dari uji *paired t test* %transmitan, pH dan ukuran droplet memiliki nilai masing-masing $p=0,000$ (lampiran 9); $p=0,003$ (lampiran 10); $p=0,005$ (lampiran 12) ($p < 0,05$) yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan selama penyimpanan. Sedangkan viskositas nilai $p=0,423$ (lampiran 11) ($p>0,05$) dan indeks polidispersitas nilai $p=0,190$ (lampiran 13) ($p>0,05$) keduanya menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan selama penyimpanan.

Berdasarkan kedua uji stabilitas tersebut, hasil ukuran droplet, persen transmitan, dan pH mengalami perbedaan yang signifikan. Hal tersebut dapat terjadi karena dipengaruhi lamanya waktu penyimpanan karena semakin lama penyimpanan dapat terjadi perubahan ukuran droplet (penggabungan) karena sifat alami minyak yaitu membentuk butiran besar dalam fase air (Fingas, 2008) dan perbedaan suhu yang drastis pada uji *cycling* mempengaruhi peningkatan ukuran droplet. Pada suhu tinggi menyebabkan perpindahan energi yang berakibat naiknya tegangan permukaan. Hal tersebut dapat menurunkan viskositas sehingga nanoemulsi tidak stabil.

Peningkatan ukuran tersebut juga menyebabkan penurunan nilai persen transmitan (Eljanah, 2015). Berdasarkan (Grafik 5.1) persen transmitan mengalami sedikit kenaikan sampai hari ke 15 namun menurun pada hari ke 30 menandakan %T stabil sampai hari ke 15. Ukuran droplet yang membesar selama penyimpanan juga dapat disebabkan karena nilai indeks polidispersitas yang mendekati 1 (Tabel 5.22 dan 5.28). Menurut Bernardi (2011) nilai indeks $< 0,2$ menunjukkan ukuran

droplet homogen (stabil), sedangkan apabila mendekati 1 menunjukkan ukuran droplet heterogen. Hal tersebut dapat terjadi karena penggunaan energi tinggi yang membuat ukuran droplet tidak seragam sehingga lebih mudah untuk bergabung.

Sedangkan nilai pH berubah-ubah pada setiap replikasinya (Grafik 5.2) dapat dipengaruhi oleh suhu yang berbeda saat pengukuran. Menurut Ashton (2018), suhu mempengaruhi nilai pH dimana pada suhu yang meningkat menyebabkan peningkatan jumlah ion pada sediaan karena terjadinya disosiasi molekul.

Setelah pengujian stabilitas yang dilakukan, peningkatan ukuran droplet yang terjadi pada sediaan nanoemulsi selama penyimpanan 24 hari dengan suhu berbeda (uji *cycling*) dan penyimpanan selama 30 hari (uji *on going*) masih sesuai dengan rentang spesifikasi. Persen transmitannya semakin turun namun tetap terlihat jernih. Serta nilai pHnya berubah-ubah. Sedangkan nilai viskositas dan indeks polidispersitas stabil selama penyimpanan.

6.2. Implikasi pada Bidang Farmasi

Pada penelitian ini, menggunakan suatu sistem penghantaran nanoemulsi dengan rentang ukuran yang diinginkan 50-500 nm. Dengan rentang tersebut diharapkan dapat mencapai dermis yang merupakan target dari sediaan. Untuk mencapai ukuran nano, maka dalam formulasi diperlukan bantuan kosurfaktan. PEG 400 sebagai kosurfaktan selain membantu mengecilkan ukuran, juga membantu meningkatkan kestabilan dari sistem nanoemulsi sehingga bisa diaplikasikan lebih lanjut sebagai sediaan anti penuaan.

6.3. Keterbatasan Penelitian

Pada penelitian ini perlu dilakukan uji kelarutan lebih dahulu antara bahan aktif/alam dengan fase minyak atau fase airnya karena akan mempengaruhi nilai %transmitan. Kemudian, pengecekan suhu saat pengukuran pH sediaan, karena pH dipengaruhi oleh suhu. Selain itu, diperlukan uji efisiensi penyerapan untuk mengetahui secara pasti jumlah ekstrak yang terdapat dalam droplet dan uji morfologi, untuk mengetahui bentuk morfologi dari droplet yang terbentuk. Namun, karena keterbatasan alat dan waktu uji tersebut tidak dilakukan.



BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Formula yang berhasil membentuk nanoemulsi ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia*) adalah formula dengan perbandingan surfaktan Tween80/Span80:kosurfaktan PEG 400 (2 : 1). Berdasarkan karakteristik fisiknya, secara organoleptik memiliki kondisi yang optimal yaitu berwarna kuning kehijauan jernih, berbentuk cair agak kental serta tidak berbau. Tipe nanoemulsi yang terbentuk yaitu O/W, %transmitannya yaitu $62,77 \pm 0,12\%$; pH nya yaitu $7,80 \pm 0,02$; viskositasnya yaitu $220 \pm 0,00$ cP; ukuran dropletnya yaitu $130,37 \pm 1,40$ nm; indeks polidispersitasnya yaitu $0,594 \pm 0,002$.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, pada perbandingan surfaktan kosurfaktan 1:1 dan 1:2 tidak terbentuk nanoemulsi karena menghasilkan campuran keruh dan mengalami pemisahan. Sedangkan pada perbandingan 2:1 berhasil membentuk nanoemulsi, namun pada uji stabilitas fisik sediaan nanoemulsi ekstrak daun mengkudu tidak stabil selama penyimpanan.

7.2 Saran

Pada penelitian selanjutnya, sebaiknya dilakukan skrining lebih dalam mengenai kelarutan semua eksipien terhadap bahan aktif/alam yang digunakan (kelarutan *sunflower oil* dengan ekstrak daun mengkudu). Kemudian sebaiknya dilakukan uji efisiensi penyerapan dan uji morfologi.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, M., Kanganora, M., dan Manjula, S.N. 2016. Health Benefits of *Morinda citrifolia* (Noni): A Review. *Pharmacognosy Journal*. Vol 8(4):321-334.
- Alshareifi, Murtadha. 2011. *Martin's Physical Pharmacy And Pharmaceutical Sciences 6th Edition*. E-Book. Wolters Kluwer. Williams & Wilkins: New Jersey.
- Attama, A.A., Momoh, M.A., and Builders, P.F. 2012. Lipid Nanoparticulate Drug Delivery System: A Revolution in Dosage Form Design and Development. *Intech Chapter 5*. Creative Commons Attribution Licence <http://creativecommons.org/licence/by/3.0>.
- Azeem, A., Rizwan, M., Ahmad, F.J., Iqbal, Z., Khar, R.K., Aqil, M., and Talegaonkar, S. 2009. Nanoemulsion components screening and selection: a technical note. *AAPS PharmSciTech*. Vol 10(1): 69-76.
- Beanrade, M.U., 2018. Formulasi dan Karakterisasi SNEEDS Ekstrak Jinten Hitam (*Nigella sativa*) dengan Fase Minyak Ikan Cucut Botol (*Centrophorus Sp*) serta Uji Aktivitas Immunostimulan. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. Vol (01): 50-61.
- Boontha, S., Chumchuensanoi, A., Charachit, W., Deepaen, C., and Jareontanakul, C. 2016. Comparative Evaluation on Rutin Content, Radical Scavenging Activity and Properties of Tablets Prepared from Noni Leaf and Fruit Extracts. *International Journal of Science*. Vol 13(1): 17-25.
- CCRC. 2014. *Mengkudu (Morinda citrifolia L)*. Cancer Chemoprevention Research Center Farmasi UGM. ccrc.farmasi.ugm.ac.id. Diakses pada 16 Mei 2017.
- Deapsari, F., Erawati, T.M., and Soeratri, W. 2017. Penetration of Ubiquinone (Q10) Nanoemulsion Using Olive Oil Through Rat Skin. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. Vol 9(2): 169-172.

- Depkes RI, 1995. *FARMAKOPE INDONESIA EDISI IV*. Jakarta ; Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan. 2006. *Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia*. Vol.2, 124, Jakarta, Depkes RI.
- Djauhariya, E., Rahardjo, M., dan Ma'mun. 2006. Karakteristik Morfologi dan Mutu Buah Mengkudu. *Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik*. Bogor.
- Duraivel, S., Shaheda, S.K., Basha, S.R., Pasha, S.E., and Jilani, S. 2014. Formulation and Evaluation of Antiwrinkle Activity of Cream and Nanoemulsion of Moringa Oleifera Seed Oil. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Science*. Vol 9(4): 58-73.
- Fitria, Rista. 2014. *Pengaruh Penambahan Garam Anorganik, Pelarut Alkohol dan Alkali Terhadap Formula Surfaktan MES – Air Formasi – Minyak (Studi Kasus Lapangan Sandstone)*. Skripsi. Institute Pertanian Bogor: Bogor.
- Fingas M. 2008. Oil spil dispersion stability and oil re-surfacing [Internet]. [diunduh 2015 Jan 15]. Tersedia pada: [http://www.iosc.org/papers/2008% 20111.pdf](http://www.iosc.org/papers/2008%20111.pdf).
- Flavia, J.M. and Almeida, F.B. 2017. Preparation of a Nanoemulsion with *Carapa guianensis* Aublet (Meliaceae) Oil by a Low-Energy/Solvent-Free Method and Evaluation of Its Preliminary Residual Larvicidal Activity. *Research Article Hindawi Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Page 8.
- Geerligs, M. 2010. Skin Layer Mechanism. *Technical Universiteit Eindhoven University of Technology*.
- Godoi, Samantha N, Proscilla MQ, Michele RS, Katia N, Roger W, Bruna K, *et.al*. 2016. Evaluation of Stability and In Vitro Security of Nanoemulsions Containing Eucalyptus globulus Oil. *Hindawi Biomed Research International*.

- Goh, P.S., Han, M., Choo, Y.M., Boyce, A.M. dan Chuah, C.H. 2015. Production of nanoemulsions from palm-based tocotrienol rich fraction by microfluidization. *Article MDPI*. Vol 20: 19936-19946.
- Herling, T., Jung, K., dan Fuch, J. 2007. UV-Generated Free Radicals (FR) in Skin and Hair Their Formation, Action, Elimination and Prevention: A General Review. *SOFW Journal*. Vol 133(8): 2-11.
- Jaiswal, Manjit, Rupesh Dude and P.K. Sharma. 2015. Nanoemulsion : An Advanced Mode of Drug Delivery System. *Journal of Biotech* Vol.2015(5) : 123-127.
- Kale, Santos Nemichand, Sharada, Laxman Dore. 2017. Emulsion, Micro Emulsion and Nano Emulsions : A Review. *Systemic Reviews in Pharmacy* Vol.8(1) : 39-47.
- Lu, Yingnian., Wu, Kefeng., Li, li., He, Yuhui., Cui, L., Liang, N., Mu, B. Characterization and evaluation of an oral microemulsion containing theantitumor diterpenoid compound ent- I lalpha-hydroxy-15-oxo-kaur-16-en-19oic-acid. *International Journal of Nanomedicine*. Vol 8: 1879-1886.
- McClements, D. Julian. 2012. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *The Royal Society of Chemistry*. Vol 8: 1719-1729.
- Mijovic, Pavle., Giagloglou, Evanthia., Jeremic, Branislav., Macuzic, Ivan., DJapan, Marko., and Milosevic, Marko. 2013. Influence of Processing on Cosmetic, Pharmaceutical and Food Emulsions Quality, Stability and Rheology. 7th *International Quality Conference*. Page: 579 – 584.
- Nasir, S., Fitriyanti., dan Kamila, H. 2009. *Ekstraksi dedak menjadi minyak mentah dedak padi (crude rice bran oil) dengan pelarut n-hexane dan ethanol*. Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya.

- Ngan, C.L., Basri, M., Tripathy, M., Karjiban, R.A., dan Malek, E.A. 2014. Physicochemical Characterization and Thermodynamic Studies of Nanoemulsion-Based Transdermal Delivery Systems for Fullerene. *Research Article Hindawi Publishing Corporation The Scientific World Journal*. 1-12.
- Piriyaprasarth, S., Sriamornsak, P., Chansin, G., Promboot, W., Imerb, U., and Sumpoung, W. 2012. Effect of Coconut Oil and Surfactants on Stability of Nanoemulsions. *Advanced Materials Research*. Vol 506: 429-432.
- Pouillot, A., Polla, L.L., Tacchini, P., Neequaye, A., Polla, A., dan Polla B. 2011. *Natural Antioxidant and Their Effects on The Skin*. John Wiley & Sons, Inc.
- Pradana, D.L. 2016. Skrining Triterpenoid dan Formulasi Granul dari Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) sebagai Neuroprotektor pada Perokok. *Bio-site*. Vol 2(2):1-50.
- Ribeiro, R.C., Barreto, S.M., Ostrosky, E.A., Filho, P.A., Verissimo, L.M., dan Ferrari, M. 2015. Production and Characterization of Cosmetic Nanoemulsions Containing *Opuntia ficus-indica* (L) Mill Extract as Moisturizing Agent. *Article MDPI molecules*. Vol 20: 2492-2509.
- Rowe, R.C., P.J. Sheshky, dan M.E. Quinn. 2009. *Pharmaceutical Design*. London : Pharmaceutical Press.
- Saewan, Nisakorn and Jimtaisong, A. 2013. Photoprotection of Natural Flavonoids. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Vol 3(9): 129-141.
- Saidin, S.H., Yusuf, U.K., Rahmat, A., and Sukari, A.M. 2005. Determination of Flavonoid Components from *Morinda Citrifolia* (Mengkudu) and Their Antioxidant Activities. *Pertanika J. Trop. Agric. Sci*. Vol 28(2): 111-119.
- Serafini, M. Russo., and Detoni, C. Britto. 2014. UVA-UVB Photoprotective Activity of Topical Formulations Containing *Morinda Citrifolia* Extract. *BioMed Research International*. Research article.

- Setiawan, Tri. 2010. *Uji Stabilitas Fisik dan Penentuan Nilai SPF Krim Tabir Surya yang Mengandung Ekstrak Daun The Hijau (Camelia sinensis), Oktil Metoksisinamat dan Titanium Dioksida*. Skripsi. Universitas Indonesia: Depok.
- Setya, S., Talegaonkar, S., dan Razdan, B.K. 2014. Nanoemulsion Formulation Methods And Stability Aspects. *World Journal of Pharmacy And Pharmaceutical Science*. Vol 3(2):2214-2228.
- Shahavi, M.H., Hosseini, M., Jahanshahi, M., Meyer, R.L., dan Darzi, N. 2015. Evaluation of critical parameters for preparation of stable clove oil nanoemulsion. *Arabian Journal of Chemistry*. 1878-5352.
- Sharif, A.A., Astaraki, A.M., Azar, P.A., Khorrami, S.A., dan Moradi, S. 2010. The Effect of NaCL and Na₂SO₄ Concentration in Aqueous Phase Inversion Temperature O/W Nanoemulsion. *Arabian Journal of Chemistry*. Vol 5:41-44.
- Sharma, N., Bansal, M., Visht, S., Sharma, P.K., Kulkarni, G.T. 2010. Nanoemulsions: A new concept of delivery system. *Chronicles of Young Scientists*. Vol 1(2): 2-6.
- Sharma, Surbhi and Sarangdevot, Kumkum. 2012. Nanoemulsions For Cosmetics. *International Journal of Advanced Research in Pharmaceutical & Bio Science*. Vol 2(3): 408-415.
- Shodhganga.inflibnet.ac.id. *Chapter Six: Nanoemulsion preparation, optimization and characterization*. Diakses 1 Desember 2017.
- Siddiqui, Nazima and Ahmad, Adeel. 2013. A Study on Viscosity, Surface Tension And Volume Flow Rate of Some Edible And Medicinal Oils. *International Journal of Science, Environment and Technology*. Vol 2(6): 1318-1326.
- Sies, helmut. 1997. Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants. *Experimental Physiology*. Vol 82: 291-295.

- Stephanie. 2015. *Pengaruh Variasi Fase Minyak Virgin Coconut Oil dan Medium-Chain Triglyceride Oil Terhadap Stabilitas Fisik Nanoemulsi Minyak Biji Delima dengan Kombinasi Surfaktan Tween 80 dan Kosurfaktan PEG 400*. Skripsi. Universitas Sanata Dharma: Yogyakarta.
- Surender, V. dan Deepika, M. 2016. Solid Lipid Nanoparticle: a comprehensive review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. Vol 8(8):102-114.
- Surabhi, K., Katare, O.p., Atul, N., dan Arun,G. 2010. Mikroemulsion: Developmental aspect. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological, and Chemical Science*. Vol 1(4): 683-706.
- Talengaonkar, S., Tariq, M., dan Alabood, R.M. 2011. Design and Development of o/w Nanoemulsion for The Transdermal Delivery of Ondansentron. *Research article Bulletin of Pharmaceutical Research*. Vol 1(3):18-30.
- Tran, T.H., Guo, Y., Song, D., Bruno, R.S., dan Lu, X. 2014. Quercetin-Containing Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System for Improving Oral Bioavailability. *Research Article Pharmaceutical Biotechnology*. Vol 103:840-852.
- Utami, A. Mulyaningrum. 2010. *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah dan Daun Mengkudu*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Wahyuningsih, K.A. 2011. Astaxanthin memberikan efek proteksi terhadap photoaging. *Damianus, Journal of Medicine*. Vol 10(3):149-160.
- West, B.J., dan Sabin, R.A. 2012. Efficacy of a *Morinda citrifolia* Based Skin Care Regimen. *Current Research Journal Of Biological Science*. Vol 4(3):310-314.
- Yadav, S.A., Singh, D., and Poddar, S. 2012. Influence of Components of Nanoemulsion System for Transdermal Drug Delivery of Nimodipine. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. Vol 5(3): 209-214.

Yuliani, Sri H., Medaliana H, Bety P., dan Enade P. 2016. Comparison of Physical Stability Properties of Pomegranate Seed Oil Nanoemulsion Dosage Forms with Long-Chain Triglyceride and Medium-Chain Triglyceride. *Trad. Med. Journal* Vol.21(2) : 93-98.

Zhao, Tianjing. 2015. *Self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for the oral delivery of lipophilic drug*. Doctoral School in Materials Science and Engineering. Italy: University of Trento.

Zin, Z.M., Hamid, A.A., and Osman, A. 2002. Antioxidative activity of extracts from Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) root, fruit and leaf. *Elsevier Food Chemistry*. Vol 78: 227-231.

