

**OPTIMASI KOSURFAKTAN *POLYETHYLENE G LYCOL 400* (PEG 400) PADA
FORMULASI NANOEMULSI EKSTRAK DAUN TEH HIJAU
(*Camellia sinensis*)**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi**



**Oleh:
Adella La Mirya
145070501111024**

**POGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

DAFTAR ISI

JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
ABSTRAK.....	v
ABSTRACT.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR ISTILAH.....	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Manfaat.....	4
1.4.1 Manfaat akademik.....	4
1.4.2 Manfaat praktis.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Kulit.....	6
2.2 Penuaan.....	8
2.3 Antioksidan.....	10
2.4 Teh hijau (<i>Camellia sinensis</i>).....	11

2.4.1	Klasifikasi tanaman	11
2.4.2	Morfologi	12
2.4.3	Kandungan kimia	13
2.4.4	Khasiat dan kegunaan daun teh	14
2.5	Nanoemulsi.....	15
2.6	<i>Design Expert</i>	22
2.7	Monografi Bahan	23
2.8.1	<i>Polyethylene glycol</i> 400 (PEG 400)	23
2.8.2	Castor oil.....	24
2.8.3	Tween 80	25
2.8.4	Span 80.....	27
2.8	Uji Mutu Sediaan Nanoemulsi	28
2.8.1	Uji Identifikasi Bahan Aktif	28
2.8.2	Uji Batas Mikroba	29
2.8.3	Uji Batas Logam Berat.....	30
BAB 3 KERANGKA KONSEP PENELITIAN		31
3.1	Kerangka Konsep Penelitian.....	31
3.2	Penjabaran Kerangka Konsep	32
3.3	Hipotesis Penelitian	33
BAB 4 METODE PENELITIAN.....		34
4.1	Rancangan Penelitian.....	34
4.2	Variabel Peneletian.....	34
4.3	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	34

4.4	Alat dan Bahan	35
4.4.1	Alat.....	35
4.4.2	Bahan.....	35
4.5	Definisi Operasional.....	35
4.6	Rancangan Formula	36
4.7	Prosedur Penelitian.....	39
4.7.1	Pembuatan Ekstrak Daun Teh Hijau	39
4.7.2	Optimasi Nanoemulsi	40
4.7.2	Pembuatan Nanoemulsi	40
4.8	Spesifikasi sediaan	40
4.9	Evaluasi Sediaan	41
4.9.1	Uji karakterisasi fisik.....	41
4.9.1.1	Uji Organoleptik	41
4.9.1.2	Uji Ukuran Droplet	41
4.9.1.3	Uji Indeks Polidispersitas	42
4.9.1.4	Uji Viskositas	42
4.9.1.5	Uji Porsen Transmitan	43
4.9.1.6	Uji Tipe Emulsi.....	43
4.9.1.7	Uji pH.....	44
4.9.2	Uji Stabilitas	44
4.9.2.1	Uji Stabilitas <i>Heating Cooling</i>	44
4.9.2.2	Uji Sentrifugasi.....	45
4.9.2.3	Uji Stabilitas <i>On Going</i>	45
4.10	Skema Kerja	47
4.10.1	Kerangka Operasional.....	47

4.10.2 Optimasi sistem nanoemulsi.....	48
4.10.3 Pembuatan sistem nanoemulsi.....	49
4.10.4 Karakterisasi sediaan nanoemulsi.....	50
4.11 Analisis Data.....	51
BAB 5 HASIL	53
5.1 Hasil Optimasi Formula Nanoemulsi	53
5.2 Hasil Karakterisasi Formula Nanoemulsi Ekstrak Daun Teh	58
5.3 Hasil Evaluasi Uji Stabilitas Nanoemulsi Ekstrak Daun Teh.....	59
5.3.1 Hasil Evaluasi Uji Stabilitas <i>On Going dan Heating Cooling</i>	59
5.3.1.1 Hasil Evaluasi Organoleptik.....	60
5.3.1.2 Hasil Evaluasi Persen Transmittan.....	62
5.3.1.3 Hasil Evaluasi pH.....	63
5.3.1.4 Hasil Evaluasi Viskositas.....	68
5.3.1.5 Hasil Uji Ukuran Droplet.....	70
5.3.1.6 Hasil Uji Indeks Poldispersitas.....	72
5.3.2 Hasil Uji Stabilitas Sentrifugasi	74
5.3.3 Hasil Evaluasi Tipe Nanoemulsi	75
5.4 Emulsi Ekstrak Daun Teh Hijau.....	76
5.4.1 Uji Organoleptik Emulsi Ekstrak Daun Teh Hijau	76
5.4.2 Uji Ukuran Droplet Emulsi Ekstrak Daun Teh Hijau	77
BAB 6 PEMBAHASAN.....	78
6.1 Pembahasan Hasil Penelitian	78
6.2 Implikasi Bidang Farmasi.....	87

6.3 Keterbatasan Penelitian.....	87
BAB 7 PENUTUP	88
7.1 Kesimpulan	88
7.2. Saran.....	88
DAFTAR PUSTAKA.....	89
LAMPIRAN	96



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Anatomi kulit normal dan kulit yang mengalami penuaan	9
Gambar 2.2 Daun teh	11
Gambar 2.3 Struktur kimia katekin	13
Gambar 2.4 Cara pengantaran nanoemulsi pada sediaan topikal	19
Gambar 2.5 Struktur molekul PEG	23
Gambar 2.6 Struktur molekul tween 80	26
Gambar 2.7 Struktur molekul span 80	27
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual	32
Gambar 4.1 Kerangka operasional	48
Gambar 4.2 Skema kerja optimasi sistem nanoemulsi	49
Gambar 4.3 Skema kerja pembuatan sistem nanoemulsi	50
Gambar 4.4 Skema kerja karakterisasi fisik sediaan nanoemulsi	51
Gambar 5.1 Hasil Pra-Optimasi Perbandingan Surfaktan:Kosurfaktan 1:1	53
Gambar 5.2 Hasil Pra-Optimasi Perbandingan Surfaktan:Kosurfaktan 1:2	54
Gambar 5.3 Hasil Pra-Optimasi Perbandingan Surfaktan:Kosurfaktan 2:1	55
Gambar 5.4 Formula Hasil Skrining Persen Transmitan	56
Gambar 5.5 Diagram Terner Rekomendasi Formula <i>Design Expert</i> 10	58
Gambar 5.6 Sediaan Nanoemulsi Selama Penyimpanan 30 hari	61
Gambar 5.7 Sediaan Nanoemulsi Setelah Uji stabilitas <i>Heating Cooling</i>	62
Gambar 5.8 Grafik Hasil Evaluasi Persen Transmitan Uji Stabilitas <i>On Going</i>	63
Gambar 5.9 Grafik Hasil Evaluasi pH Uji Stabilitas <i>On Going</i>	66
Gambar 5.10 Grafik Hasil Uji Viskositas Uji Stabilitas <i>On Going</i>	69
Gambar 5.11 Hasil Uji Stabilitas Sentrifugasi	73
Gambar 5.12 Hasil Uji Tipe Nanoemulsi dengan Metode Kertas Saring	76

Gambar 5.13 Hasil Uji Tipe Nanoemulsi dengan Metode Pengenceran76
Gambar 5.14 Hasil Uji Organoleptik Emulsi Ekstrak Daun Teh Hijau77



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Formula Nanoemulsi Rasio Surfaktan : Kosurfaktan 1:1	36
Tabel 4.2 Formula Nanoemulsi Rasio Surfaktan : Kosurfaktan 1:2	37
Tabel 4.3 Formula Nanoemulsi Rasio Surfaktan : Kosurfaktan 2:1	38
Tabel 4.4 Spesifikasi Sediaan Nanoemulsi	41
Tabel 5.1 Hasil Titration Pra-Optimasi Perbandingan Surfaktan:Kosurfaktan 1:1 ..	54
Tabel 5.2 Hasil Titration Pra-Optimasi Perbandingan Surfaktan:Kosurfaktan 1:2 ..	54
Tabel 5.3 Hasil Titration Pra-Optimasi Perbandingan Surfaktan:Kosurfaktan 2:1 ..	55
Tabel 5.4 Formula Skrining Perten Transmittan	57
Tabel 5.5 Hasil Karakterisasi Sediaan Nanoemulsi Ekstrak Daun Teh Hijau.....	59
Tabel 5.6 Hasil Pengamatan Organoleptik Uji Stabilitas <i>On Going</i>	61
Tabel 5.7 Hasil Pengamatan Organoleptik Uji Stabilitas <i>Heating Cooling</i>	62
Tabel 5.8 Hasil Evaluasi Perten Transmittan.....	63
Tabel 5.9 Hasil Evaluasi pH.....	66
Tabel 5.10 Hasil Uji Viskositas.....	68
Tabel 5.11 Hasil Uji Ukuran Droplet.....	71
Tabel 5.12 Hasil Uji Indeks Polidispersitas.....	73
Tabel 5.13 Hasil Uji Ukuran Droplet dan Indeks Polidispersitas Emulsi	77

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pernyataan Keaslian Tulisan.....	95
Lampiran 2. Keterangan Ekstrak.....	96
Lampiran 3. Hasil Skrining Kualitatif Kandungan Flavonoid dalam Ekstrak.....	97
Lampiran 4. CoA PEG 400	98
Lampiran 5. CoA Tween 80	99
Lampiran 6. Uji Statistik pada Hasil Uji Ukuran Droplet.....	100
Lampiran 7. Uji Statistik pada Hasil Uji Indeks Polidispersitas	102
Lampiran 8. Uji Statistik pada Hasil Uji pH.....	104
Lampiran 9. Uji Statistik pada Hasil Uji Persen Transmitan.....	107
Lampiran 10. Uji Statistik pada Hasil Uji Viskositas.....	110
Lampiran 11. Hasil Uji Ukuran Droplet.....	113
Lampiran 12. Hasil Identifikasi Bahan Baku.....	125
Lampiran 13. Penimbangan.....	126

DAFTAR ISTILAH

PEG	: Polyethylene glycol
PEG 400	: Polyethylene glycol 400
w/o	: Water in oil, tipe nanoemulsi
nm	: Nanometer, satuan diameter ukuran droplet
ROS	: Reactive oxygen species
Cp	: Sentipoise, satuan viskositas
Smix	: Campuran surfaktan dan



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

OPTIMASI KOSURFAKTAN POLYETHYLENE G LYCOL 400 (PEG 400) PADA
FORMULASI NANOEMULSI EKSTRAK DAUN TEH HIJAU
(*Camellia sinensis*)

Oleh:

Adella La Mirya
145070501111024

Telah diuji pada

Hari : Senin

Tanggal : 16 juli 2018

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I,

Oktavia Eka P., S.Farm., M.Sc., Apt.
NIK. 2011068510252001

Penguji II,

Adeltrudis Adelsa D., S.Farm., M.Farm.Klin., Apt.
NIK. 2013048601082001

Penguji III,

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

Mengetahui,
Ketua Program Studi Sarjana Farmasi



Dra. Dra. Sri Widarsih, M.Si., Apt.
NIK. 20195408231981032001



ABSTRAK

Mirya, Adella La. 2018. *Optimasi Kosurfaktan Polyethylene Glycol 400 (PEG 400) pada Formulasi Nanoemulsi Ekstrak Daun Teh Hijau (Camellia sinensis)*. Tugas Akhir. Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Adeltrudis Adelsa D., S.Farm., M.Farm.Klin., Apt. (2) Ferri Widodo, M.Biomed., Apt.

Daun teh hijau (*Camellia sinensis*) yang mengandung katekin dan turunannya (epikatekin, epigalokatekin, katekin galat dan epigalo katekin galat) memberikan efek antioksidan untuk mencegah penuaan. Target katekin sebagai antipenuaan adalah serabut kolagen dalam lapisan dermis, sehingga pemberian secara topikal membutuhkan suatu sistem pengantaran yang dapat meningkatkan permeabilitasnya. Nanoemulsi terpilih sebagai sistem pengantaran karena sifatnya yang lebih stabil secara termodinamis. Tujuan dari penelitian ini adalah mengembangkan formula yang optimal dan stabil secara fisik dari nanoemulsi untuk mengantarkan ekstrak daun teh dengan menggunakan PEG 400 sebagai kosurfaktannya. Optimasi dilakukan sebanyak dua tahap, pertama adalah pra-optimasi yang menghasilkan rentang tertinggi dan terendah masing-masing komponen dengan hasil terdapat formula terduga nanoemulsi pada perbandingan Smix 2:1 dan menggunakan perangkat lunak *Design Expert 10* yang menghasilkan beberapa formula rekomendasi. Formula optimal adalah 13,025% air, 8,452% *castor oil*, 52,452% surfaktan yang dibagi menjadi 90% tween dan 10% span dan 26,0972% PEG 400. Pembuatan nanoemulsi dilakukan menggunakan *ultra-turrax* kecepatan 12.000 rpm selama 1 jam. Karakterisasi nanoemulsi yang dilakukan yaitu evaluasi organoleptis, tipe nanoemulsi, persen transmitan, pH, viskositas, ukuran partikel dan indeks polidispersitas. Nanoemulsi berwarna kuning, jernih, cair dan tidak berbau, tipe *w/o*, persen transmitan $69,7667 \pm 0,5774\%$, pH $8,0233 \pm 0,2517$, viskositas $246,6667 \pm 5,7740$ cP, ukuran droplet $75,5500 \pm 0,1437$ nm dan indeks polidispersitas $0,2263 \pm 0,0061$. Uji stabilitas yang dilakukan adalah sentrifugasi, *heating cooling* dan *on going*. Hasil uji stabilitas sentrifugasi menunjukkan tidak terjadi pemisahan fase. Sediaan nanoemulsi mengalami perubahan nilai karakterisasi yang signifikan pada uji stabilitas *heating cooling* namun tidak signifikan pada uji stabilitas *on going* namun perubahan tersebut masih berada dalam rentang spesifikasi kecuali pada persen transmitan dan pH. Perbandingan kosurfaktan PEG 400 dengan Smix 2:1 menghasilkan nanoemulsi yang stabil secara termodinamis selama 30 hari penyimpanan.

Kata kunci : Teh hijau, nanoemulsi, PEG 400, stabilitas

ABSTRACT

Mirya, Adella La.2018. *Optimizing Cosurfactant Polyethylene Glycol 400 (PEG 400) in the Formulation of Green Tea Leave Extract (Camellia sinensis) Nanoemulsion*. Thesis. Pharmacy Department, Faculty of medicine, University of Brawijaya. Advisors; (1) Adeltrudis Adelsa D., S.Farm., M.Farm.Klin., Apt. (2) Ferri Widodo, M.Biomed., Apt.

Green tea leaves (*Camellia sinensis*) consist of catechin and its derivative (epicatechin, catechin gallat, epigallo catechin and epigallo catechin gallat). They have antioxidant effect could be used as an anti-aging. The catechin's target as an anti-aging is collagen in dermis. It means that they need specific transdermal delivery system. Nanoemulsion is quite stable in terms of thermodynamic. The aim of this study was to develop an optimum and physically stable formula to deliver the green tea extract using PEG 400 as the cosurfactant. The optimization conducted in two steps, the first one is pre-optimization that search the highest and the lowest range of each component. There was a Nanoemulsion formula with Smix ratio 2:1. Second step is using Design Expert 10 to provide some recommendation formula. The optimum formula was water 13,025%, castor oil 8,452%, 52,452% surfactants that consist of 90% tween 80 an 10% span 80, and PEG 400 26,0972%. The nanoemulsion was formulated using ultra-turrax 12.000rpm for an hour. The characterization of nanoemulsion are organoleptic evaluation, nanoemulsion type, the percentage of transmittance, pH value, viscosity, particles size and polydispersity index. The result of the nanoemulsion is yellow, clear and odorless, w/o type, percentage of transmittance $69,7667 \pm 0,5774\%$, pH $8,0233 \pm 0,2517$, viscosity $246,6667 \pm 5,7740$ cP, droplet size $75,5500 \pm 0,1437$ nm and polydispersity index $0,2263 \pm 0,0061$. The stability test was conducted by centrifugation, heating-cooling and on going. There was no separation phase in centrifugation test and no significant difference in on going test. While in ongoing session, the changes are not significant, the changes were still in the range of the specifications except for the percentage of transmittance and pH. PEG 400 as cosurfactann in ratio Smix 2:1 produces nanoemulsion which is thermodynamically stable for 30 days.

Keywords: Green tea, nanoemulsion, PEG 400, stability

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penuaan merupakan akumulasi proses biologis yang kompleks yang terjadi dan dipengaruhi oleh faktor intrinsik dan faktor ekstrinsik. Kedua faktor ini bersinergi menyebabkan perubahan struktur dan fungsi fisiologis pada kulit. Radikal bebas menjadi salah satu penyebab awal dari perubahan struktur seluler pada proses penuaan. Sehingga, salah satu cara untuk mengatasi penuaan adalah dengan mengurangi paparan radiasi dan menggunakan antioksidan untuk mengurangi radikal bebas reaktif (Ganceviciene, *et al*, 2012).

Salah satu produk yang paling banyak digunakan saat ini terutama untuk kosmetik adalah produk anti-penuaan. Produk anti penuaan yang tersedia di pasaran, beberapa merupakan produk sintesis dan beberapa produk lainnya merupakan produk herbal. Produk sintesis dianggap memberikan efek samping, sehingga produk herbal lebih disukai sehingga memiliki peluang yang besar di pasaran (Wanigasekera, *et al*, 2012).

Teh hijau (*Camellia sinensis*) merupakan komoditas pertanian terbesar Indonesia selain palawija dan kopi (Anugrah, 2003). Ekstrak teh memiliki efek anti bakteri, anti inflamasi dan antioksidan karena tingginya kandungan komponen polifenol pada daunnya, terutama katekin (flavan-3-ol) yaitu sebesar 40-70%. Katekin dalam berbagai bentuk turunannya seperti epigalokatekin (10-20% dari Katekin total), epikatekin (3-10% dari katekin total) dan epigalokatekin galat (40-60% dari total katekin) mampu meningkatkan volume kolagen dalam kulit dan mempercepat penyembuhan luka (Pouya, *et al*, 2013). Dalam penelitian

yang dilakukan oleh Tamsyn, *et.al.* (2009), ekstrak teh hijau, dibandingkan dengan 20 jenis tanaman lain diantaranya adalah mawar, mahoni, dan lavender dengan menggunakan metode spektrofotometer dan pengujian elastase, memiliki efek antikolagenase yang paling tinggi yaitu sekitar 47 persen. Sedangkan dalam pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode FTC (*Ferric Thiocyanate*) ekstrak teh hijau dengan konsentrasi 100µg/mL memiliki potensi inhibisi sebesar 85% - 95%. Pengujian antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan SC_{50} sebesar $0,128 \pm 0,004$, yaitu lebih besar dibandingkan dengan aktivitas antioksidan tokoferol maupun BHT (Surached, *et.al.*, 2017).

Pemberian obat dengan rute topikal digunakan untuk bahan aktif yang bekerja pada lapisan dermis, misalnya untuk anti penuaan. Beberapa contoh sistem pengantaran secara topikal yaitu mikroemulsi, nanoemulsi, liposom, dan SLN (Verma, *et.al.*, 2013). Nanoemulsi yaitu suatu sistem yang terdiri dari fase air dan fase minyak yang salah satunya terdispersi sebagai droplet dengan rentang ukuran 50 – 500 nm dengan bahan aktif ekstrak tanaman. Ukuran droplet dalam rentang skala nanometer mengakibatkan adanya perbedaan sifat nanoemulsi dengan emulsi konvensional. Hal ini juga menyebabkan nanoemulsi dapat meningkatkan permeasi obat yang dihantarkan melalui kulit yang telah dibuktikan secara *ex-vivo* dengan menggunakan kulit ular yang dibandingkan dengan gel pada penelitian Klang, *et.al.* (2011) menunjukkan permeasi dua kali lebih baik. Penggunaan nanoemulsi sebagai sistem penghantaran juga meningkatkan stabilitas sediaan. Pengembangan sediaan nanoemulsi ini banyak dilakukan terutama untuk penghantaran melalui rute topikal (Jaiswal, *et al*, 2015).

Nanoemulsi memiliki sifat yang hampir serupa dengan mikroemulsi, akan tetapi nanoemulsi memiliki keunggulan dalam hal penggunaan surfaktannya. Apabila mikroemulsi membutuhkan sekitar 20% atau lebih surfaktan, nanoemulsi hanya membutuhkan sekitar 3-10% surfaktan dari berat total sediaan disebabkan oleh ukuran dropletnya yang lebih dapat mencegah terjadinya flokulasi dan menjadikan sistem lebih stabil secara kinetik (Kale *et al.*, 2017).

Kosurfaktan digunakan untuk menurunkan jumlah surfaktan yang dibutuhkan dengan cara penurunan tegangan permukaan sehingga antarmuka menjadi meluas dan membentuk droplet yang kemudian menyerap kosurfaktan. Penurunan jumlah surfaktan dibutuhkan untuk menurunkan potensi toksisitas yang ditimbulkan. Salah satu titik kritis dari penggunaan sistem nanoemulsi yaitu peningkatan toksisitas akibat tingginya surfaktan yang digunakan untuk membentuk sistem yang stabil. Sistem nanoemulsi umumnya membutuhkan surfaktan dalam jumlah yang cukup besar yaitu antara 10-50% (Patil, *et al.*, 2012). Kosurfaktan juga berperan dalam peningkatan fluiditas antarmuka yang akan meningkatkan kestabilannya dalam pembentukan lapisan monomolekular droplet (Surabhi, 2010).

Polyethylene Glycol (PEG) merupakan polimer dari etilen oksida dan air. Penggunaan PEG sebagai kosurfaktan karena keamanannya dan memiliki kompatibilitas yang baik dengan produk natural seperti ekstrak tanaman. PEG 400 memiliki sifat hidrofilik yang relatif tinggi sehingga dapat digunakan menjadi kosurfaktan dalam penggunaan surfaktan nonionik seperti sorbitan dan ester gliserin (Yingnian *et.al.*, 2013). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Jain dan Nagori (2015), tentang komponen dalam mikroemulsi, penambahan PEG 400 sebagai kosurfaktan dalam kombinasi surfaktan tween 80 dan span 80 mampu

meningkatkan kestabilan sistem monofase (mikroemulsi). Penelitian mengenai penambahan jumlah optimum kosurfaktan PEG 400 dengan rasio yang tepat dengan surfaktan tween dan span dan fase minyak *castor oil* dalam formulasi nanoemulsi *w/o* masih sangat terbatas. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut mengenai peran PEG 400 sebagai kosurfaktan dan perbandingan optimal kosurfaktan dengan surfaktan dalam membentuk sistem nanoemulsi yang stabil sangat diperlukan dalam pengembangan sistem pengantaran ini.

1.2. Rumusan masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana formulasi nanoemulsi ekstrak daun teh dengan kosurfaktan PEG 400 yang optimum?
2. Bagaimana pengaruh konsentrasi kosurfaktan PEG 400 dalam formulasi sediaan nanoemulsi ekstrak daun teh hijau terhadap kestabilannya?

1.3. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Untuk mengetahui formula nanoemulsi ekstrak daun teh yang optimum berdasarkan hasil evaluasi akhirnya
2. Untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi kosurfaktan PEG 400 dalam formulasi sediaan nanoemulsi ekstrak daun teh hijau terhadap kestabilannya

1.4. Manfaat

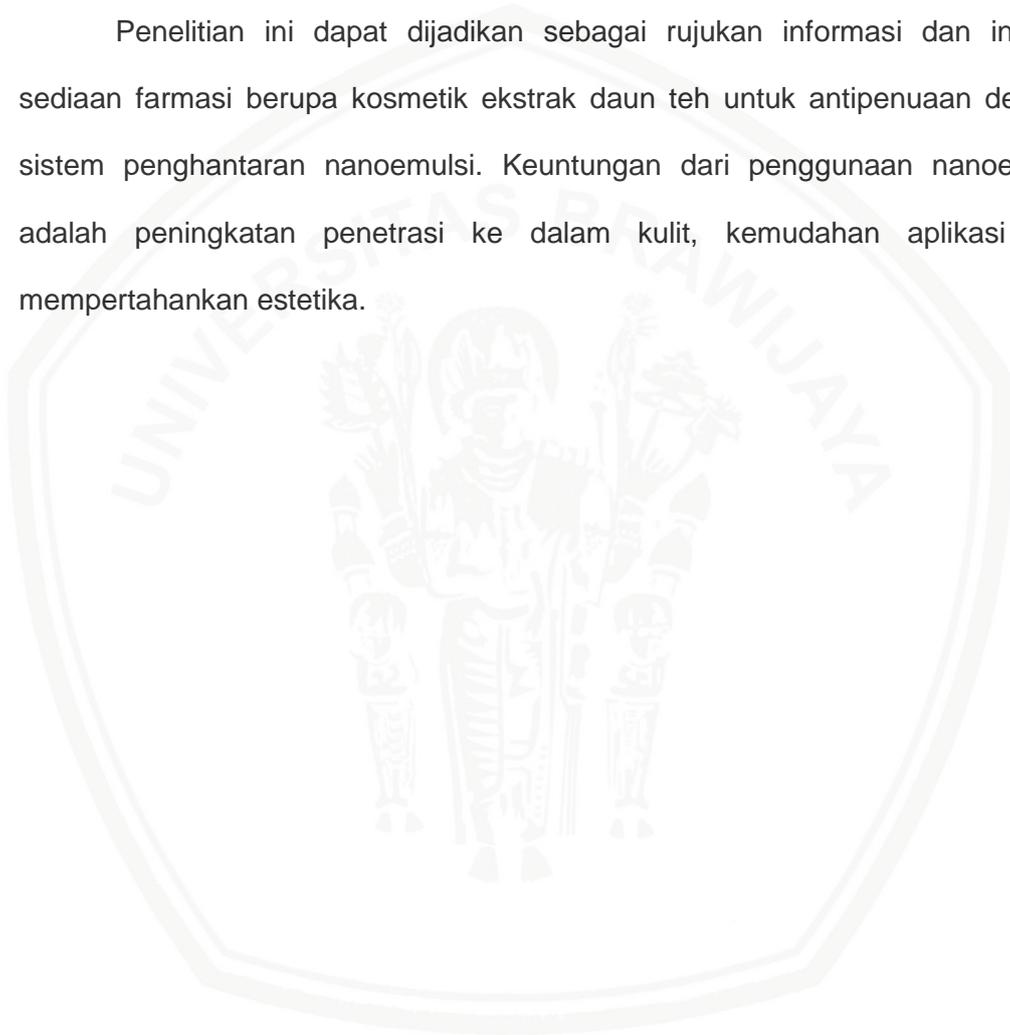
1.4.1. Manfaat akademik

Penelitian ini diharapkan dapat mengembangkan ilmu pengetahuan dan pengembangan teknologi dalam bidang farmasi, khususnya dalam pengembangan formulasi nanoemulsi sebagai sistem penghantaran dalam

sediaan farmasi. Serta untuk mendapatkan kadar kosurfaktan *Polyethylene Glycol 400* yang dapat membentuk sistem nanoemulsi yang stabil pada sistem nanoemulsi ekstrak daun teh.

1.4.2. Manfaat praktis

Penelitian ini dapat dijadikan sebagai rujukan informasi dan inovasi sediaan farmasi berupa kosmetik ekstrak daun teh untuk antipenuaan dengan sistem penghantaran nanoemulsi. Keuntungan dari penggunaan nanoemulsi adalah peningkatan penetrasi ke dalam kulit, kemudahan aplikasi dan mempertahankan estetika.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kulit

Kulit adalah lapisan terluar dari tubuh yang berfungsi untuk melindungi tubuh dari pengaruh lingkungan. Kulit merupakan bagian terluas (1,5 m²) dan terberat (15% dari total berat tubuh) dari bagian tubuh lainnya. Secara garis besar, kulit tersusun atas tiga bagian utama, yaitu (Djuanda, 2007) :

- Lapisan epidermis.

Lapisan epidermis tersusun atas beberapa lapisan yaitu :

a. Stratum germinativum

Stratum germinativum atau basal ini terletak dibagian paling bawah dan berbatasan dengan dermis. Melanosit ditemukan pada lapisan ini. Melanosit merupakan sel dendritik yang berfungsi membentuk melanin yang memberikan perlindungan terhadap paparan sinar matahari.

b. Stratum spinosum

Stratum spinosum atau malphigi merupakan lapisan kuat dan tebal yang terdiri atas beberapa lapis sel poligonal dan mengandung glikogen. Sel-sel yang berada pada lapisan ini memiliki ukuran yang berbeda-beda karena pengaruh mitosis. Ukuran sel akan semakin pipih apabila sel terletak semakin dekat dengan permukaan.

c. Stratum granulosum

Stratum granulosum atau lapisan keratohialin terdiri atas 2-3 lapis sel yang berisi granul keratohialin. Stratum granulosum terlihat dengan jelas pada kulit bagian telapak tangan dan kaki.

d. Stratum lusidum

Stratum lusidum terletak dibawah lapisan korneum yang tersusun atas sel tak berinti dengan protoplasma yang berubah menjadi protein.

e. Stratum korneum

Stratum korneum atau lapisan tanduk merupakan lapisan terluar dari epidermis yang terdiri atas beberapa lapis sel pipih yang tidak berinti, mati dan protoplasmanya berupa keratin. Lapisan ini akan terus terkelupas.

- Lapisan dermis

Lapisan dermis merupakan lapisan tebal yang terletak dibawah epidermis yang terdiri dari lapisan elastis dan fibrosa padat. Lapisan dermis terbagi atas :

a. Pars papilare, yaitu bagian menonjol ke arah epidermis yang mengandung bagian ujung saraf peraba dan pembuluh darah.

b. Pars retikulare, yaitu bagian yang lebih menonjol kearah subkutis yang terdiri dari serabut kolagen, elastin dan retikulin. Pembuluh darah, saraf, folikel rambut, kelenjar keringat dan kelenjar minyak terdapat dalam lapisan ini.

- Lapisan subkutis

Lapisan subkutis merupakan lapisan paling dalam dari kulit yang merupakan lanjutan dari lapisan dermis. Lapisan ini cenderung terhubung

dan tidak terpisahkan dengan jelas dengan lapisan dermis. Sel-sel yang menyusun berupa sel lemak dan jaringan ikat longgar. Sel lemak adalah sel bulat, berukuran besar dan intinya berada di bagian pinggir sitoplasma. Lapisan ini berfungsi sebagai perlindungan terhadap trauma serta tempat penyimpanan energi dan lemak.

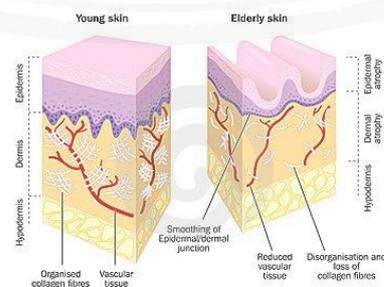
2.2. Penuaan

Penuaan merupakan suatu fenomena biologis yang kompleks yang berdampak pada status dan kondisi nutrisi. Proses penuaan disebabkan oleh dua faktor utama, yaitu faktor eksternal dan faktor internal. Proses penuaan tidak terjadi begitu saja dengan langsung menampakkan perubahan psikis dan fisik yang signifikan, akan tetapi merupakan suatu akumulasi proses yang berlangsung secara perlahan dalam jangka waktu yang lama (Oliveira, dkk., 2010).

Penuaan pada kulit dibagi menjadi dua berdasarkan penyebabnya, proses menua intrinsik dan proses menua ekstrinsik. Proses menua intrinsik terjadi secara alamiah seiring dengan berjalannya waktu. Faktor yang berperan di sini merupakan faktor intrinsik, meliputi usia, genetik dan proses biologis. Proses biologis berperan dalam penentuan jumlah multiplikasi pada setiap sel sampai sel mencapai usia dan kondisi untuk berhenti membelah diri kemudian mengalami apoptosis dan mati. Sedangkan proses menua ekstrinsik dipengaruhi oleh paparan faktor eksternal yaitu paparan sinar matahari yang berlebihan (*photoaging*), polusi, merokok atau perokok pasif dan asupan nutrisi yang tidak seimbang. Pada penuaan dengan proses ekstrinsik ini area kulit yang paling banyak mengalami perubahan adalah area yang banyak terpapar sinar matahari (Ardhie, 2011).

Kulit merupakan organ tubuh yang paling banyak terpapar oleh sinar matahari, terutama sinar UV dari sinar matahari. Radiasi sinar UV merupakan inisiator pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) pada kulit. Sinar UV juga dapat memicu produksi anion peroksida melalui aktivasi *nicotinamide dinucleotida phosphate* (NADPH) oksidase. ROS merupakan oksigen tunggal yang dapat menyerang membran sel dan membentuk ROS baru dan menimbulkan efek penuaan. Paparan sinar matahari merupakan faktor ekstrinsik terkuat yang menyebabkan penuaan (Ardhie, 2011).

Proses oksidasi akibat ROS pada lapisan lipid dan protein menyebabkan adanya stres oksidatif seluler dan kerusakan DNA. Kerusakan DNA yang ditimbulkan mencapai sekitar 1.000 sel perhari pada seluruh tubuh. Stres oksidatif ini menyebabkan *photoaging*, imunomodulasi dan melanogenesis. Sedangkan pada lapisan melanosit, ROS menyebabkan efek paradoksal karena dapat menimbulkan depigmentasi maupun hiperpigmentasi dengan mekanisme yang belum diketahui. Selain itu, kerusakan DNA juga dapat menstimulasi produksi pigmen melalui peningkatan kadar tirosinase dan menyebabkan hiperpigmentasi. Terhadap lapisan kolagen, ROS akan mengaktifkan MMP atau matriks metalloproteinase yang merupakan enzim pendegradasi matriks ekstrasel dan penurunan sintesis kolagen (Ardhie, 2011).



Gambar 1. Anatomi kulit normal dan kulit yang mengalami penuaan (Oliveira, dkk., 2010)

Penuaan dapat ditandai oleh beberapa hal, yaitu (Wasitaatmadja, 1997) :

- a. Kulit kering akibat aktifitas kelenjar minyak yang menurun serta kemampuan untuk menahan air pada sel kulit yang ikut menurun
- b. Penipisan pada lapisan kulit karena kemampuan regenerasi dan pembelahan sel menurun
- c. Kulit terasa kasar, kusam dan bersisik karena sel mati tidak dapat dilepaskan dari kulit
- d. Kulit menjadi tidak elastis karena penurunan kemampuan kulit mempertahankan bentuk dari kolagen sehingga akan menimbulkan kerutan
- e. Munculnya bintik hitam sebagai akibat dari penurunan daya pigmentasi dari melanosit

Penuaan pada bagian kulit dapat terjadi terutama pada epidermis dan dermis. Dermis yang mengalami penuaan sel-sel penyusunnya akan tampak hiposelular sehingga mengalami penurunan volume. Fibroblast dan *mast cell* juga akan menurun jumlahnya. Serabut kolagen penyusun dermis akan menjadi longgar dan terjadi penebalan serabut elastin sehingga akan menampilkan tampilan kulit yang kendur (Ulfhak, 2002).

1.3. Antioksidan

Antioksidan merupakan molekul yang memiliki kemampuan untuk menstabilkan atau menonaktifkan spesies oksigen reaktif. Antioksidan memberikan donor elektron sehingga dapat menghambat pembentukan efek dari spesies oksigen reaktif (ROS) ataupun menunda proses oksidasinya. Antioksidan dapat bekerja sebagai anti radikal bebas dengan cara menetralkan radikal bebas, mengurangi konsentrasi peroksida dalam sel dan memperbaiki proses oksidasi

pada membran sel, menekan pembentukan ROS dan menetralkan ROS melalui metabolisme biokimia dalam tubuh (Agustinus, Rizaldy dan Zalukhu 2016). Antioksidan flavonoid, vitamin E dan C, dan koenzim Q10 menetralkan radikal bebas dengan mendonorkan satu elektron dan bertindak sebagai *chain breaking*. Proses inilah yang dapat mencegah proses penuaan yang diakibatkan oleh radikal bebas yang berlebih (Ardhie, 2011).

Antioksidan dibagi menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan enzim dan antioksidan vitamin. Superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase merupakan antioksidan enzim. Antioksidan vitamin diantaranya adalah alfa tokoferol, beta karoten ataupun asam askorbat yang dapat diperoleh dari tanaman.

2.4. Teh hijau (*Camellia sinensis*)

2.4.1. Klasifikasi tanaman



Gambar 2.2. Daun Teh (Balentine *et al*, 1998)

Dalam sistematika tumbuhan, teh dapat diklasifikasikan menjadi :

- Kingdom : Plantae
- Divisi : Spermatophyta
- Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Sub Kelas : Dialypetalae

Bangsa : Guttiferales

Suku : Camelliaceae

Marga : Camellia

Jenis/spesies : *Camellia sinensis*

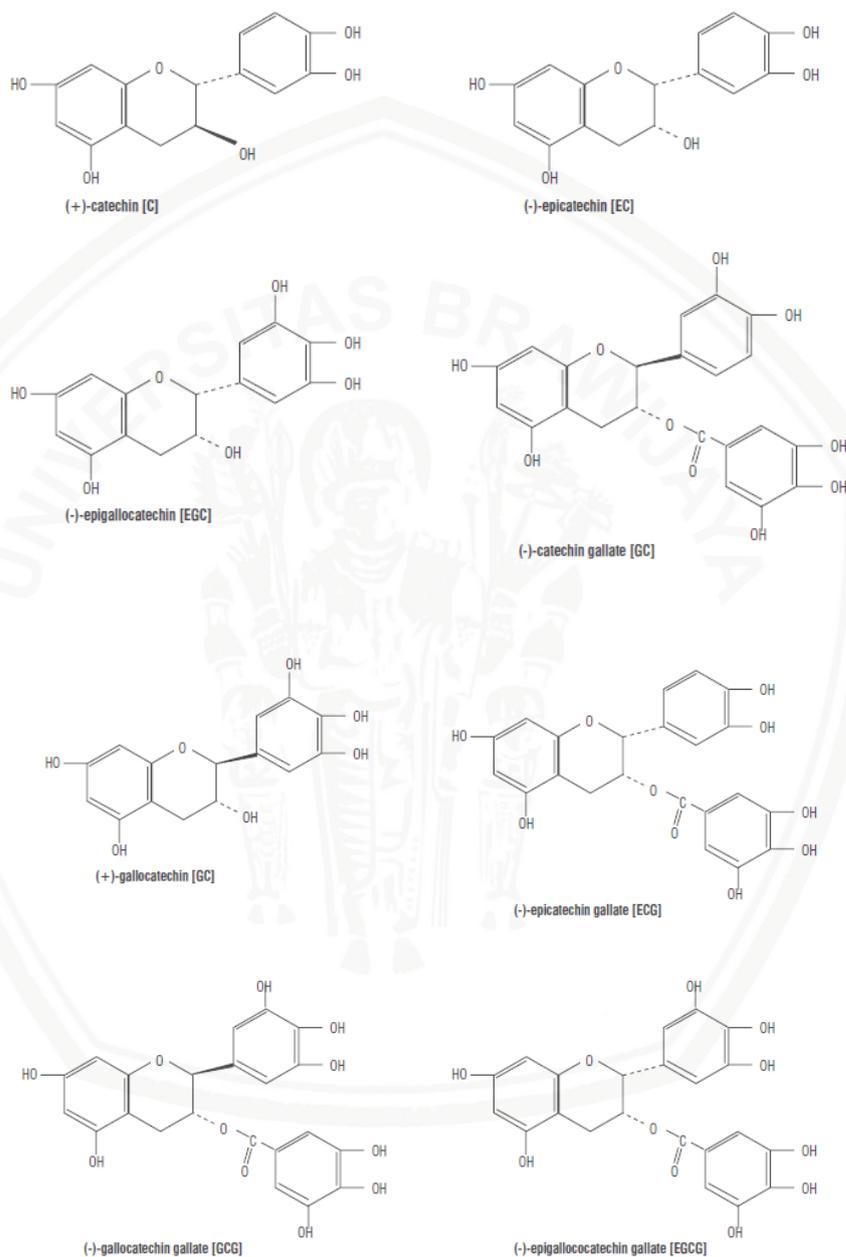
Teh spesies *Camellia sinensis* merupakan jenis teh yang paling banyak digunakan dalam bidang kosmetik ataupun untuk konsumsi. Jenis teh seperti teh putih, teh hijau dan teh hitam tergantung pada proses pengolahannya setelah pemanenan. Teh hijau merupakan teh yang tidak mengalami proses fermentasi tetapi mengalami pengeringan, teh hitam adalah teh yang mengalami proses fermentasi dan pengeringan sedangkan teh putih adalah daun teh yang tidak menerima proses fermentasi maupun pengeringan (Balentine *et al*, 1998).

2.4.2. Morfologi

Tanaman teh adalah tanaman yang asli daerah Asia timur, Asia selatan dan Asia Tenggara, akan tetapi tersebar pada daerah tropis dan subtropis. Tanaman teh merupakan tanaman perdu dengan sistem perakaran yang dimiliki adalah akar tunggang. Bunganya berwarna kuning-putih dengan diameter 2-4 cm dengan 7 sampai 8 petal. Kelopak bunga berbentuk mangkok, hijau dan benang sari membentuk lingkaran, pangkal menyatu dan melekat pada daun mahkota. Tangkai sari kurang lebih berukuran 1 cm dan berwarna putih kekuningan. Kepala sarinya berwarna kuning dengan tangkai putik bercabang tiga, panjang sekitar 1 cm berwarna hijau kekuningan. Daun teh merupakan daun tunggal dengan panjang 4-15 cm dan lebar 2-5 cm. Helaian masing-masing daun berbentuk lanset dengan ujung runcing dan pertulangannya menyirip. Pangkal

daun teh runcing dengan tepiannya bergerigi lancip. Daun yang lebih muda akan memiliki warna hijau yang lebih muda atau lebih cerah.

2.4.3. Kandungan kimia



Gambar 2.3. Struktur Kimia Katekin (Balentine *et al*, 1998)

Senyawa kimia yang terkandung dalam teh yang dominan adalah golongan flavonol yaitu katekin. Jumlah kafein pada teh bervariasi tergantung

jenis tanaman teh yang digunakan. Kafein pada teh memiliki karakteristik tidak berwarna, larut air, pahit dan sepat dalam seduhan. Kandungan katekin pada teh hijau sekitar 70%. Katekin dibedakan menjadi *epicatechin* (EC), *epigallocatechin gallate* (EGCG), *epigallocatechin* (EGC) dan *epicatechin gallate* (ECG) (Nishan *et al*, 2012).

2.4.4. Khasiat dan kegunaan teh

Teh banyak digunakan sebagai bahan dari kosmetik. Bagian yang digunakan dari teh meliputi, daun, bunga, ekstrak akar, ekstrak daun, serbuk biji, minyak, dan isolat katekin. Penggunaannya pada kosmetik dengan kadar yang bervariasi, tergantung pada tujuan penggunaannya. Pada losion konsentrasi maksimal yang telah digunakan adalah 2-3%. Aplikasi ekstrak daun teh dengan metanol pada kulit secara *ex-vivo* belum ditemukan tanda-tanda toksisitas pada kulit tikus yang diberi ekstrak daun teh 2 mg/kgBB (Bergfeld, *et al*, 2014).

Kerusakan kulit dan penuaan pada kulit akibat paparan sinar UV dan radikal bebas yang menyebabkan stres oksidatif dapat dicegah dengan penggunaan teh. Kandungan polifenol berupa katekin pada daun teh hijau merupakan agen penangkap radikal bebas (*Free radical scavenger*) yang poten karena memiliki gugus hidroksil yang dapat membentuk kompleks dengan radikal bebas dan menetralkannya pada dosis 1-5% dengan kandungan katekin 150-200 mg/g ekstrak (Ichihasi, *et al*, 2000).

Penggunaan teh sebagai anti penuaan terutama dengan mekanisme sebagai *radial scavenging* yaitu penetral oksigen reaktif. Selain itu juga dapat mencegah lipoperoksidasi pada mamalia, serta mencegah efek berbahaya yang ditimbulkan oleh sinar UV. Akan tetapi, penggunaan dengan rute topikal

mebutuhkan perlakuan khusus karena katekin rentan mengalami instabilitas serta susah menembus lapisan keratin kulit (Ivana *et al*, 2012).

2.5. Nanoemulsi

Nanoemulsi merupakan suatu sistem isotropic yang stabil secara termodinamis yang terdiri dari dua fase dengan salah satu fasenya terdispersi merata pada fase lainnya dalam bentuk partikel koloid berupa droplet dengan ukuran antara 50 sampai 500 nanometer yang memiliki penampilan jernih . Fase terdispersi atau disebut juga sebagai fase internal, tidak stabil secara termodinamis, sehingga, membutuhkan bantuan agen pengemulsi atau disebut juga sebagai interfase untuk menstabilkannya dalam fase luar. Fase luar disebut juga sebagai media pendispersi. Nanoemulsi merupakan suatu sistem pembawa obat yang memanfaatkan sistem dispersi partikel koloid yang memiliki ukuran skala nanometer. Skala nanometer yang dimaksud yaitu 50 sampai dengan 500 nm. Nanoemulsi disebut juga sebagai mini emulsi dengan dispersi merata antara fase minyak dan fase air yang distabilkan oleh zat pengemulsi yang disebut sebagai surfaktan dengan membentuk lapisan film (Jaiswal *et al*, 2015).

Keuntungan dari penggunaan nanoemulsi sebagai sistem penghantaran dibandingkan dengan emulsi konvensional sangat banyak, diantaranya :

- a. Droplet pada sistem nanoemulsi berukuran lebih kecil dibandingkan dengan emulsi konvensional sehingga dapat mencegah terjadinya koalesensi antar partikel atau antar droplet yang pada akhirnya dapat memperkecil kemungkinan pemisahan antar fase sehingga membentuk lapisan yang terpisah.
- b. Ukuran droplet yang kecil dan memiliki berat molekul yang kecil juga menghilangkan kemungkinan terjadinya sedimentasi dan *creaming*

akibat pengaruh gaya gravitasi. Selain itu dengan ukuran droplet pada skala nanometer, menyebabkan distribusi dosis yang stabil pada aplikasinya dan sistem dispersi yang lebih stabil juga. Sistem penghantaran nanoemulsi dapat meningkatkan bioavailabilitas dari obat yang sukar larut karena partikel dengan ukuran kecil dapat menembus membran dengan lebih mudah melalui mekanisme difusi.

- c. Nanoemulsi juga dapat diformulasikan untuk berbagai rute. Ukuran droplet yang terbilang sangat kecil memberikan luas permukaan yang lebih besar sehingga akan meningkatkan permeabilitas dan solubilitas apabila diberikan melalui rute topikal (Kumar *et al*, 2013).

Kerugian dari nanoemulsi adalah pembuatannya yang membutuhkan teknik khusus seperti menggunakan pengadukan energi tinggi ataupun sonikasi, Adanya persepsi pada industri kosmetik mengenai pembuatan nanoemulsi yang memakan biaya cukup tinggi dan stabilitas termodinamisnya yang lebih buruk dibandingkan dengan nanoemulsi (Kumar *et al*, 2013).

Nanoemulsi lebih dipilih dibandingkan liposom karena liposom mengandung ester dalam miselnya yang cenderung lebih tidak stabil secara kimia dan produksinya yang membutuhkan biaya tinggi. Sedangkan SLN tidak dipilih dibanding nanoemulsi karena kestabilannya selama penyimpanan dan kapasitas loading obat yang lebih buruk (Garud, *et.al.*, 2012).

Komponen utama dari nanoemulsi adalah fase minyak, agen pengemulsi dan fase air. Fase minyak yang dapat digunakan diantaranya adalah minyak jarak, minyak kelapa, minyak mineral, minyak zaitun, minyak jagung atau minyak lainnya. Fase minyak dan fase air apabila dicampurkan tanpa adanya zat pengemulsi akan menghasilkan suatu campuran yang bersifat sementara dan

mudah terpisah karena adanya penggumpalan dari droplet-droplet yang terdispersi. Emulgator atau zat pengemulsi dapat meningkatkan stabilitas dari campuran fase minyak dan fase air dalam emulsi. Emulgator secara luas dikategorikan sebagai surfaktan seperti tween, span dan koloid hidrofilik seperti bentonit dan gom. Emulgator yang ditambahkan selain harus dapat menstabilkan emulsi juga harus bersifat non-toksik dan rasa, bau serta komponen kimianya harus kompatibel dengan bahan lain yang digunakan dalam produk. Persyaratan dari emulgator untuk nanoemulsi adalah :

- (a) Dapat mengurangi tegangan permukaan menjadi dibawah 10 *dyne/cm*
- (b) Dapat diadsorpsi dengan cepat disekitar droplet dari fase yang terdispersi membentuk lapisan film yang sempurna untuk mencegah koalesensi
- (c) Dapat membantu membentuk sistem yang adekuat dengan potensial zeta dan viskositas yang stabil
- (d) Efektif membentuk lapisan film partikular, monomolekuler maupun multimolekuler disekeliling droplet yang terdispersi dengan konsentrasi yang relatif kecil (Kumar *et al*, 2013).

Formulasi dari nanoemulsi didalamnya mengandung bahan aktif, bahan tambahan termasuk pengawet dan emulgator. Metode preparasi atau metode pembuatan nanoemulsi secara umum terbagi atas kebutuhan energinya, yaitu emulsifikasi energi tinggi dan emulsifikasi energi rendah. Emulsifikasi energi tinggi diantaranya pengadukan dengan energi tinggi, emulsifikasi ultrasonik, homogenasi energi tinggi, *microfluidization* dan filtrasi dengan membran bertingkat. Sedangkan emulsifikasi dengan energi rendah yaitu inversi suhu fase, inversi emulsi dan emulsifikasi spontan (Anton *et al*, 2008).

Emulsifikasi dengan metode sonikasi efisien dalam mengecilkan ukuran droplet. Pada emulsifikasi metode ini, energi dihasilkan oleh sonikator probe yang mengandung kristal kaca piezoelektrik yang dapat menghasilkan energi listrik. Ketika sonikator bersinggungan dengan media cair, terjadi gerakan mekanik dan pembentukan kavitas (gelembung yang terbentuk dan melebur dalam air). Oleh karena itu, sonikasi dapat digunakan untuk membentuk nanoemulsi secara langsung dengan ukuran droplet yang dihasilkan sekitar 0,2 mikrometer (Anton *et al*, 2008).

Homogenasi tekanan tinggi merupakan metode preparasi nanoemulsi yang membutuhkan energi tinggi. Pada preparasi nanoemulsi, fase terdispersi akan dilewatkan melalui membran berlapis dengan diberikan tekanan yang besar secara berulang. Ukuran membran yang digunakan bertingkat mulai dari ukuran pori yang paling kecil sampai yang paling besar. Pemberian tekanan akan mempercepat pembentukan droplet. Kelebihan dari metode preparasi ini adalah mampu memproduksi droplet yang homogen dengan ukuran sampai 1 nanometer (Anton *et al*, 2008).

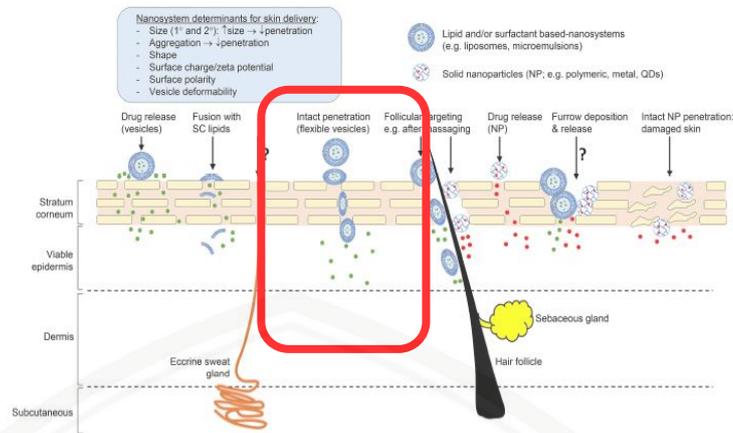
Microfluidization merupakan suatu metode pencampuran dengan menggunakan bantuan alat *microfluidizer*. *Microfluidizer* menggunakan tekanan tinggi yang menyebabkan adanya interaksi antar fase. Interaksi ini menghasilkan partikel dengan ukuran mikro. Untuk menghasilkan droplet yang homogen dalam nanoemulsi, pencampuran harus dilakukan berulang (Anton *et al*, 2008).

Emulsifikasi spontan merupakan metode preparasi nanoemulsi tanpa memberikan tekanan tinggi pada kedua fase. Langkah-langkah dalam membuat emulsifikasi spontan yaitu : (1) menyiapkan larutan organik yang homogen yang mengandung fase minyak dan surfaktan larut lemak serta aquades misel dan

surfaktan larut air, (2) larutan organik diinjeksikan ke dalam larutan aquades secara perlahan dengan pengadukan konstan menggunakan magnetis stirrer, dan (3) menguapkan pelarut organik yang digunakan untuk menghindari efek toksik (Anton *et al*, 2008).

Keberhasilan preparasi nanoemulsi dilihat dari tidak adanya pemisahan fase minyak dan fase air selama penyimpanan. Hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah pemilihan surfaktan harus tepat dan perbandingan yang digunakan harus sesuai. Penggunaan surfaktan yang terlalu rendah konsentrasinya menyebabkan nanoemulsi menjadi mudah rusak, sedangkan penambahan dalam jumlah tinggi dapat menyebabkan reaksi alergi pada pasien. Surfaktan yang digunakan juga harus dapat menstabilkan fase air dan fase minyak agar nanoemulsi dapat terbentuk sempurna. Kesalahan dalam pengaturan konsentrasi surfaktan dapat menyebabkan ketidakstabilan nanoemulsi. Bentuk ketidakstabilan nanoemulsi adalah flokulasi atau bergabungnya beberapa droplet menjadi satu droplet yang lebih besar sehingga membentuk satu lapisan terpisah dan semakin lama dapat mengendap pada dasar wadah. Pemecahan atau pemisahan dari lapisan yang bergerak pada dasar wadah menyebabkan ketidakstabilan permanen yang menyebabkan kerusakan nanoemulsi. Selain itu dapat terjadi inversi fase atau perubahan tipe nonemulsi, jika semula merupakan emulsi tipe minyak dalam air dapat berubah menjadi tipe air dalam minyak (Anton *et al*, 2008).

Pengantaran nanoemulsi pada sediaan topikal dapat melalui beberapa cara:



Gambar 2.4. Cara pengantaran nanoemulsi pada sediaan topikal (Christofori, *et.al.*, 2017)

a. Interselular lipid

Daerah intralamelar pada lapisan terluar kulit mengandung lebih sedikit lipid dan lebih banyak rantai hidrofobik yang fleksibel. Molekul hidrofilik akan berdifusi melalui celah antarsel melalui permukaan yang mengandung air (Okoro, *et.al.*, 2014).

b. Transelular

Marix intrasel tidak berperan secara langsung dalam proses difusi pada kulit, tetapi berfungsi menjaga stabilitas kulit. Pada proses pengantaran ini, molekul obat akan mengalami fusi dengan membran sel kemudian melalui sel dan menuju ke lapisan yang lebih dalam (Okoro, *et.al.*, 2014).

c. Penetrasi folikel

Penetrasi melalui folikel dilakukan dengan mendisposisi obat melalui bagian yang terbuka dari folikel (Okoro, *et.al.*, 2014).

Pengantaran obat pada sediaan topikal terutama untuk sediaan nanoemulsi dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya : kelarutan obat,

adanya folikel rambut, ketebalan stratum corneum dan lipid bilayer serta jumlah surfaktan dan kosurfaktan (Hassan, 2011).

Salah satu komponen utama dari sistem nanoemulsi adalah kosurfaktan. Produksi sistem nanoemulsi yang optimal membutuhkan kosurfaktan yang cukup tinggi sehingga dapat mengurangi penggunaan surfaktan. Kombinasi surfaktan dan kosurfaktan ini berguna untuk menurunkan tegangan antar muka menjadi lebih kecil bahkan hingga mencapai nilai negatif sehingga sistem nanoemulsi yang terbentuk menjadi lebih stabil. Nilai tegangan antar muka yang lebih kecil antarmuka dapat meluas untuk membentuk droplet kemudian akan menyerap surfaktan dan kosurfaktan hingga membentuk muatan positif (Patil, *et al*, 2012).

Kosurfaktan yang banyak digunakan diantaranya adalah alkohol rantai sedang (5-8 unit karbon) karena merupakan molekul ampifilik lemah yang dapat meningkatkan agregasi surfaktan primer yang digunakan. Penggunaan surfaktan tunggal menjadikan lapisan tengah pada misel kaku sehingga hanya dapat memproduksi nanoemulsi dalam jumlah yang terbatas, dan membutuhkan surfaktan dalam jumlah yang besar apabila akan memproduksi nanoemulsi dalam jumlah yang besar. Penambahan kosurfaktan dalam formula menjadikan tegangan permukaan menurun dan misel menjadi lebih fleksibel (Resende, *et al*, 2008). Sifat ampifilik dan afinitas yang baik untuk fase minyak dan fase air dari kosurfaktan membantu surfaktan untuk membentuk sistem nanoemulsi yang lebih stabil. Kosurfaktan memberikan partisi yang cukup besar ke dalam lapisan antarmuka pada surfaktan. Kosurfaktan akan memberikan tegangan permukaan yang sangat rendah yang dibutuhkan dalam sistem nanoemulsi untuk memberikan stabilitas pada sediaan. Penambahan kosurfaktan pada formula sistem nanoemulsi adalah untuk meningkatkan penyerapan bahan aktif ke dalam

droplet, dan untuk mengatur ukuran droplet nanoemulsi yang terbentuk (Rachmawati, dkk, 2004).

Kosurfaktan dapat membantu mengurangi tegangan antarmuka minyak dan air dalam pembuatan nanoemulsi. Kosurfaktan bersifat amfifilik sebagaimana surfaktan dan tidak memiliki kecenderungan untuk dipartisi dalam jumlah besar pada sistem lapisan yang dibentuk oleh surfaktan. Pemilihan kombinasi surfaktan dan kosurfaktan yang tepat dapat memodifikasi nilai HLB (Setya, 2014). Selain itu, kosurfaktan juga digunakan dalam meningkatkan fluiditas antarmuka. Fluiditas antarmuka berperan dalam kestabilan sistem nanoemulsi dengan cara membantu pembentukan lapisan monomolekular surfaktan yang lebih elastis (Surabhi, 2010).

2.6. Design Expert

Design Expert merupakan suatu perangkat lunak produksi *statease* yang digunakan untuk menentukan dan menginterpretasikan eksperimen dengan beberapa faktor percobaan (2-50 faktor). Perangkat lunak ini dapat membantu menentukan pengaruh dari suatu sifat bahan dengan hasil akhir yang diharapkan. Contohnya adalah menentukan suatu formula emulsi yang stabil apabila dilihat dari viskositasnya. *Design expert* menyediakan beragam metode kalkulasi seperti faktorial, metode fraksi faktorial dan *composite design*. Perangkat lunak ini menyediakan pilihan apabila *design* yang standar tidak dapat diterapkan dan dibutuhkan fleksibilitas pemilihan bahan dalam fomulasi. *Deisgn expert* memberikan beberapa keuntungan yaitu dapat digunakan untuk lebih dari 2 variabel, menghasilkan desain yang optimal, mempercepat eksperimen dan mengurangi variasi proses (Boxton, 2007).

Beberapa metode optimasi yang disediakan oleh *design expert* yaitu, *Simplex Lattice Design* (SLD), *factorial design* dan *D-Optimum*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah SLD, dimana metode ini digunakan apabila terdapat lebih dari 2 macam faktor atau variabel yang digunakan untuk melihat pengaruhnya terhadap suatu parameter. SLD juga dapat menentukan jumlah masing-masing komponen yang dibutuhkan dalam suatu formula. Respon dari masing-masing variabel yang diperoleh dari analisis varians dapat diinterpretasikan dalam 3 model persamaan yaitu linear, kuadrat dan faktorial. Ketiga model ini memiliki hasil interpretasi yang mirip (Boxton, 2007).

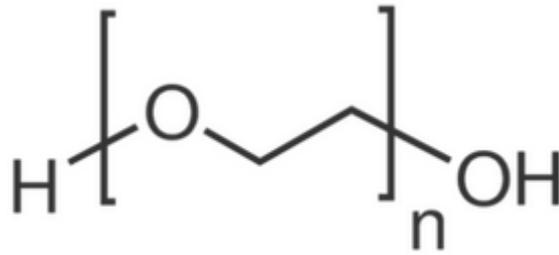
Metode SLD merupakan metode yang banyak digunakan untuk menentukan komponen masing-masing bahan dari formula dalam pembuatan obat. Kelebihan dari metode SLD yaitu (Boxton, 2007):

- a. Lebih mudah dalam penyusunan dan interpretasi data percobaan secara matematis
- b. Dapat membentuk persamaan dari titik yang sangat kritis untuk dilakukan replikasi
- c. Lebih reproduibel.

2.7. Monografi bahan

2.7.1. *Polyethylene Glycol 400 (PEG 400)*

- a. Pemerian : Cairan bening, kental, tidak berbau (Rowe, *et al*, 2009)
- b. Sinonim : Carbowax, Macrogol (Rowe, *et al*, 2009)
- c. Nama kimia : α -Hydro- ω -hydroxypoly(oxy-1,2-ethanedyl) (Rowe, *et al*, 2009)
- d. Rumus Molekul: $\text{H}(\text{OCH}_2\text{OCH}_2)_n\text{OH}$ (Rowe, *et al*, 2009)



Gambar 2.5. Struktur PEG (Rowe, *et al*, 2009)

- e. Bobot Molekul : 380-420 (Rowe, *et al*, 2009)
- f. Kelarutan : Larut dalam air, aseton, alkohol, benzena, gliserin dan glikol (Rowe, *et al*, 2009)
- g. TD/TL : 238°C / - (Rowe, *et al*, 2009)
- h. Viskositas : 105-130
- i. pH : 5-7
- j. Stabilitas : Stabil secara kimia di udara dan dalam larutan. PEG dapat mencegah pertumbuhan mikroorganisme dan dapat disterilisasi dengan menggunakan *autoclave*, filtrasi ataupun radiasi sinar gamma. (Rowe, *et al*, 2009)
- k. Inkompatibilitas: PEG bersifat reaktif karena memiliki gugus hidroksil pada kedua ujungnya sehingga dapat mencegah adanya oksidasi dari bahan. PEG dapat menyebabkan penurunan aktivitas antimikroba pada beberapa antibiotik, dan perubahan warna pada sulfonamid (Rowe, *et al*, 2009)
- l. Nilai HLB : -

Polyethylene Glycol atau PEG merupakan polimer dari etilen oksida dan air. Penggunaan PEG 400 sebagai kosurfaktan karena keamanannya dan memiliki kompatibilitas yang baik dengan produk natural seperti ekstrak

tanaman. PEG 400 memiliki sifat hidrofilik yang relatif tinggi sehingga dapat digunakan menjadi kosurfaktan dalam penggunaan surfaktan nonionik seperti sorbitan dan ester gliserin (Yingnian *et.al.*, 2013). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Jain dan Nagori (2015), tentang komponen dalam mikroemulsi, penambahan PEG sebagai kosurfaktan dalam kombinasi surfaktan tween 80 dan span 80 dalam perbandingan 80:20 mampu meningkatkan kestabilan sistem monofase (mikroemulsi).

2.7.2. Castor oil

- a. Pemerian : Jernih, tidak berwarna sampai kuning pucat, cairan yang transparan dan kental (Rowe, *et al*, 2009)
- b. Sinonim : Lipovol, oleum ricini, tangantangan (Rowe, *et al*, 2009)
- c. Nama kimia : Castor oil (Rowe, *et al*, 2009)
- d. Rumus Molekul : Merupakan campuran dari asam lemak trigliserida berupa risin oleat dan asam linoleat (Rowe, *et al*, 2009)
- e. Bobot Molekul : -
- f. Kelarutan : Mudah larut dalam kloroform, dietil eter, etanol dan asam asetat glasial. Sangat mudah larut dalam etanol 95%, petroleum eter dan sangat tidak larut dalam air dan sedikit larut dalam minyak mineral (Rowe, *et al*, 2009)
- g. TD/TL : 313⁰ C / -12⁰C (Rowe, *et al*, 2009)
- h. Viskositas : 1000 cP pada suhu 20⁰C
- i. pH : 6-8
- j. Stabilitas : Pada saat dipanaskan sampai suhu 300⁰C castor oil terpolimerisasi dan menjadi larut dalam minyak mineral (Rowe, *et al*, 2009)

terhadap oksidasi. Tween atau polisorbat higroskopis sehingga harus diperiksa kadar air sebelum digunakan dan dikeringkan jika perlu. Pada penyimpanan yang lama dapat membentuk peroksida (Rowe, *et al*, 2009)

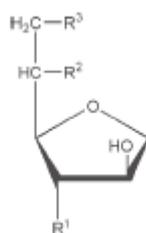
k. Inkompatibilitas: Perubahan warna serta pengendapat terjadi ketika dicampur dengan beberapa zat terutama fenol, tanin dan tar. Aktivitas dari paraben berkurang dengan adanya tween (Rowe, *et al*, 2009)

l. Nilai HLB : 15

Tween dapat berfungsi sebagai emulgator dengan sifatnya sebagai surfaktan nonionik serta dapat digunakan sebagai suspending agen dan agen pembasah (Rowe, *et al*, 2009)

2.7.4. Span 80

- a. Pemerian : Berbentuk cairan atau padatan dengan aroma dan rasa yang khas. Sorbitan monooleat merupakan cairan yang kental dan berwarna kuning (Rowe, *et al*, 2009)
- b. Sinonim : Ablunol S-80, Arlacel 80, Armotan 80, Capmul-O, Liposorb O, Sorbitol-O (Rowe, *et al*, 2009)
- c. Nama kimia : Sorbitan monooleat (Rowe, *et al*, 2009)
- d. Rumus Molekul : $C_{24}H_{44}O_6$



Gambar 2.7. Struktur Kimia Span 80 (Rowe, *et al*, 2009)

e. Bobot Molekul : 429

- f. Kelarutan : Larut atau terdispersi dalam minyak dan larut dalam kebanyakan pelarut organik. Tidak larut akan tetapi terdispersi dalam air
- g. TD/TL : -
- h. Viskositas : -
- i. pH : 8
- j. Stabilitas : Saponifikasi bertahap terjadi ketika bercampur dengan asam kuat atau basa kuat, sedangkan dalam asam lemah dan basa lemah stabil (Rowe, *et al*, 2009)
- k. Inkompatibilitas: -
- l. Nilai HLB : 4,3

2.8. Uji Mutu Sediaan Nanoemulsi

2.8.1. Uji Identifikasi Bahan Aktif

Tujuan

Tujuan uji ini adalah mengidentifikasi bahan aktif yang terdapat pada sediaan untuk mengetahui kesesuaiannya dengan label

Metode

Identifikasi kandungan katekin pada nanoemulsi ekstrak daun teh dilakukan dengan menggunakan instrumen HPLC-PDA UV. Hasil yang diperoleh nantinya adalah spektra dari katekin dan turunannya (epikatekin, epigalo katekin, epigalo katekin dan epigalo katekin galat) berupa waktu retensi. Standar yang digunakan adalah ekstrak daun teh murni dan katekin. Sampel yang digunakan adalah sediaan nanoemulsi sebanyak 10 μ L. Kolom yang digunakan adalah kolom C18 (dimensi 4,6 mm x 300 mm, 5 μ m) dengan solven 1:1 asetonitril:aquades + 0,1% asam trifloroasetat. Panjang gelombang deteksi adalah 280 nm.

Interpretasi

Total katekin keseluruhan sekitar 180-250 mg/g ekstrak (Cheong, *et al.*, 2005).

2.8.2. Uji Batas Mikroba

Tujuan

Uji batas mikroba bertujuan untuk mengetahui cemaran bakteri mesofil dan kapang yang dapat tumbuh pada kondisi aerob dalam sediaan nanoemulsi

Metode

Metode yang digunakan adalah angka lempeng karena sediaan nanoemulsi tidak dibuat dalam kondisi steril. Kontrol yang disiapkan berupa suspensi kontrol galur mikroba uji dan kontrol negatif yang dibuat dari pelarut. Sampel nanoemulsi merupakan sediaan berlemak sehingga dibuat dengan melarutkan sediaan dalam isopropil miristat steril dengan jumlah 1 dalam 10. Kemudian dilakukan pengenceran bertingkat.

Interpretasi hasil

Rata-rata mikroba uji tidak lebih dari 2 suspensi kontrol mikroba (DepKes RI, 2014).

2.8.3. Uji Batas Logam Berat

Tujuan

Mengetahui cemaran logam dan mencegah adanya cemaran logam berat pada sediaan yang melebihi batas penerimaan

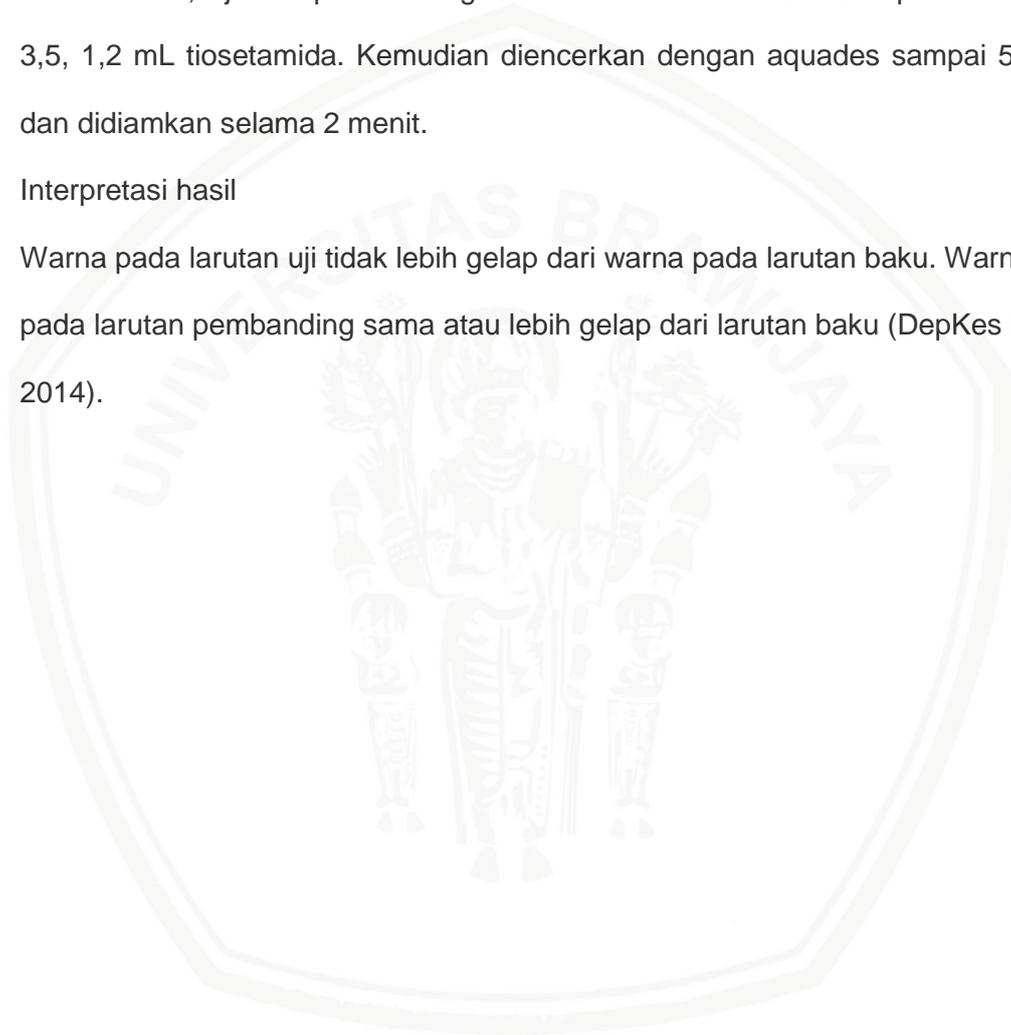
Metode

Larutan baku yang digunakan adalah larutan baku timbal yang dibuat dari 20 µg timbal dalam 2 ml aquades kemudian diencerkan sampai 25 mL ditambahkan dengan pembanding warna 50 mL. Larutan pembanding dibuat dengan melarutkan 2,0 mL larutan baku timbal menjadi 25 mL dengan aquades dan ditambahkan 50 mL warna pembanding. Larutan uji dibuat dengan melarutkan

2/1000 batas logam berat yang dipersyaratkan (dalam persen) sediaan dalam aquades dan ditambahkan 50 mL warna pembanding. Masing-masing larutan diatur nilai pH antara 3,0 – 4,0 dengan menggunakan asam asetat 1N atau amonium hidroksida 6 N. Tiga tabung disiapkan yang masing-masing berisi larutan baku, uji dan pembanding kemudian ditambkan 2 mL dapar asetat pH 3,5, 1,2 mL tiosetamida. Kemudian diencerkan dengan aquades sampai 50 mL dan didiamkan selama 2 menit.

Interpretasi hasil

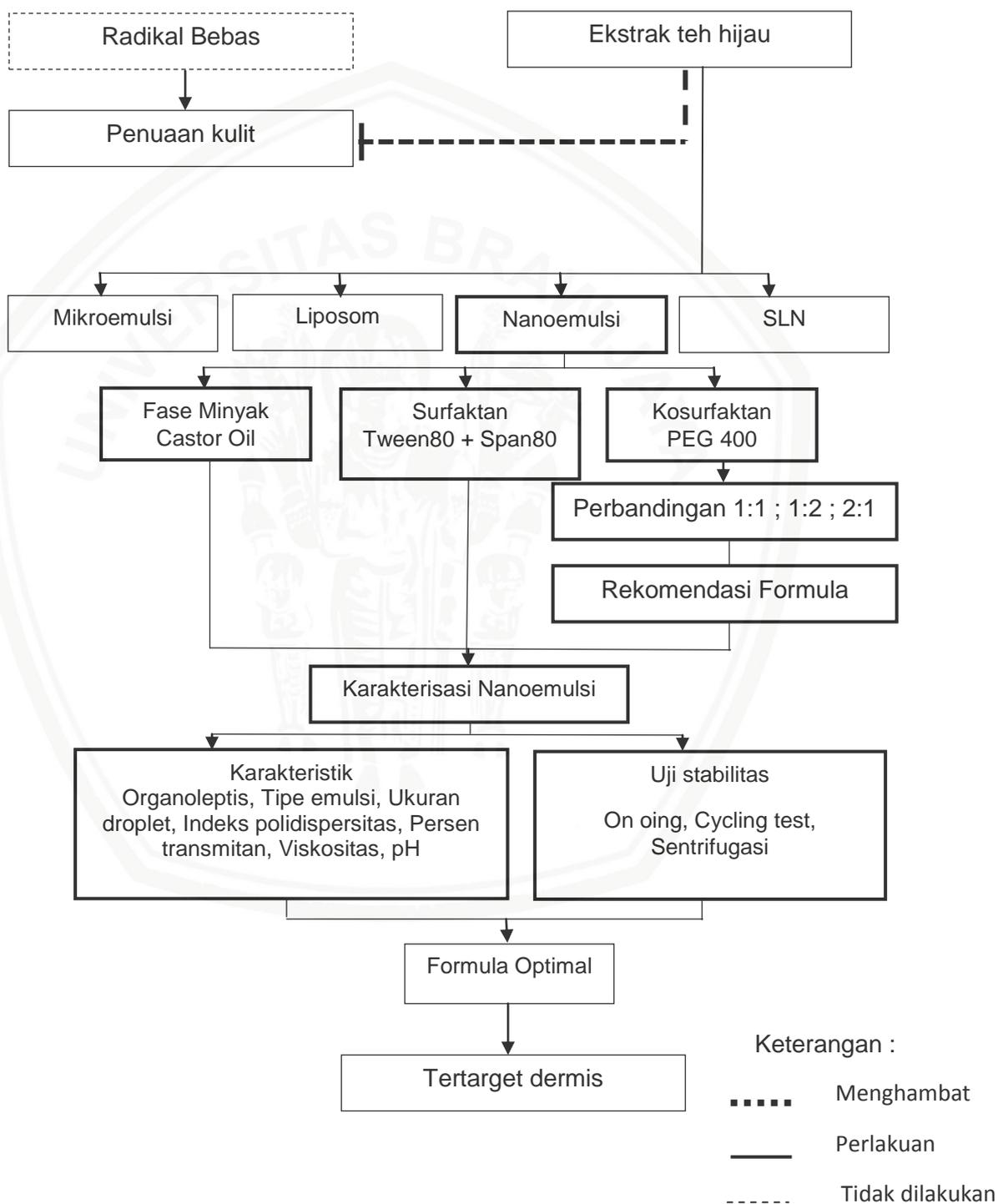
Warna pada larutan uji tidak lebih gelap dari warna pada larutan baku. Warna pada larutan pembanding sama atau lebih gelap dari larutan baku (DepKes RI, 2014).



BAB 3

KERANGKA KONSEP

3.1. Kerangka konseptual



Gambar 3.1. Kerangka konseptual

3.2. Penjabaran Kerangka Konsep

Radikal bebas merupakan faktor ekstrinsik penyebab dari penuaan pada kulit. Ekstrak daun teh yang memiliki kandungan polifenol terutama *catechin* memiliki efek antioksidan yang bisa memberikan efek anti-penuaan apabila digunakan dalam sediaan rute topikal maupun rute oral. Dalam penelitian ini, rute topikal dipilih karena penggunaannya yang lebih mudah serta tujuannya yang merupakan anti-penuaan pada kulit wajah dan bersifat sebagai kosmetik. Akan tetapi, ekstrak daun teh dengan pelarut etanol memiliki kelarutan yang rendah serta warnanya kurang menyenangkan apabila digunakan secara topikal. Oleh karena itu, digunakan sistem penghantaran nanoemulsi w/o yang memiliki penampakan jernih sehingga akan meningkatkan akseptabilitas dari ekstrak daun teh dan dapat diformulasikan menjadi sediaan jadi. Selain itu nanoemulsi juga memiliki keunggulan dengan ukurannya yang berskala nanometer yaitu dapat menembus barrier utama kulit (*stratum korneum*) dan mencapai dermis sebagai target anti-penuaan dimana terdapat matrik metalloproteinase dan lapisan kolagen. Sistem ini juga diharapkan dapat memberikan efek pada permukaan kulit hingga lapisan dermis untuk penetrasi yang lebih dalam dan efek anti-penuaan yang lebih optimal karena proses penuaan terjadi pada lapisan dermis. Selain itu, nanoemulsi juga dapat mengatasi permasalahan kestabilannya berupa pemisahan ketika pengaplikasian sediaan yang terencerkan oleh keringat. Nanoemulsi memiliki permasalahan yaitu membutuhkan surfaktan dengan konsentrasi tinggi untuk mencapai kestabilan yang diinginkan, namun penggunaan surfaktan dalam konsentrasi yang terlalu tinggi dapat menyebabkan toksisitas dan iritasi pada kulit. Maka, digunakan

kosurfaktan untuk membantu membentuk misel berskala nanometer yang lebih stabil dengan konsentrasi surfaktan yang tidak terlalu tinggi. Formula nanoemulsi dilakukan dengan optimasi konsentrasi kosurfaktan berupa PEG 400 yang digunakan untuk mencari formula yang paling stabil selama penyimpanan. Fase minyak yang digunakan adalah *castor oil* karena selain memiliki kestabilan yang baik untuk nanoemulsi, juga memiliki efek antioksidan dan anti bakteri yang baik untuk sediaan kosmetik yang diaplikasikan secara topikal. Surfaktan yang digunakan adalah kombinasi tween 80 dan span 80. Setelah itu, dilakukan karakterisasi dengan melakukan deskripsi organoleptik nanoemulsi, rata-rata diameter ukuran droplet menggunakan *Particle Size Analyzer*, penentuan persen transmittan untuk menilai kejernihannya, menentukan nilai pH, viskositas serta uji stabilitas.

3.3. Hipotesis penelitian

Penggunaan kosurfaktan PEG 400 dalam formulasi nanoemulsi ekstrak daun teh hijau dalam perbandingan dengan surfaktan 2:1 dapat meningkatkan kestabilan fisik nanoemulsi.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah rancangan penelitian eksperimental.

4.2. Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini dikategorikan menjadi :

1. Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini yaitu perbandingan kosurfaktan dengan surfaktan. Kosurfaktan yang digunakan yaitu *Polyethylene Glycol* 400 (PEG 400).

2. Variabel terikat

Variabel terikat dari penelitian ini yaitu stabilitas fisik nanoemulsi yang diuji dengan pengamatan karakteristik fisik nanoemulsi.

4.3. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 6 bulan dimulai dari bulan Januari 2018 hingga Juni 2018 di Laboratorium Farmasetika Program Studi Farmasi, Universitas Brawijaya untuk pembuatan sistem nanoemulsi, uji organoleptik, dan uji stabilitas. Uji stabilitas *on going* dilakukan di PT. Balatif Malang selama bulan Mei-Juni 2018. Uji ukuran droplet dilakukan di Laboratorium Fisika ITS, Surabaya.

4.4. Alat dan Bahan

4.4.1. Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah batang pengaduk, timbangan digital 'Mettler Toledo', gelas beker 'Duran, Herma, Pyrex', pipet ukur, pipet tetes, cawan porselen, erlenmeyer, vial, gelas ukur, corong gelas, *hot plate* 'IKA C-MAG HS 7', buret, mikropipet 'Socorex', *magnetic stirrer*, PSA (*Particle Size Analyzer*) 'Malvern', viskometer, *ultra-turrax* 'IKA T-25 digital', *climatic chamber* dan spektrofotometer UV-Vis 'Shimidzu Uvmini-1240'.

4.4.2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak daun teh yang diperoleh dari PT BNN Materia Medika Batu. *Castor oil*, aquades dan span 80 yang diperoleh dari CV Makmur Sejati, PEG 400 dan tween 80 yang diperoleh dari PT Bratachem.

4.5. Definisi Operasional

1. Nanoemulsi merupakan sistem penghantaran obat emulsi yang stabil secara termodinamis dengan ukuran droplet 50 – 500 nm dan transparan.
2. Optimasi nanoemulsi merupakan suatu proses untuk menentukan nilai perbandingan antara bahan penyusun sistem nanoemulsi yang terdiri dari surfaktan kombinasi tween 80 dan span 80, kosurfaktan PEG 400 dan fase minyak *castor oil* yang menghasilkan sediaan dengan penampilan yang jernih.
3. Karakterisasi fisik nanoemulsi merupakan karakterisasi dari sifat sediaan dengan sistem nanoemulsi yang dibuat setelah

memperhatikan uji organoleptik, ukuran partikel, indeks polidispersitas, persen transmitan, viskositas dan tipe nanoemulsi.

4. Optimum adalah suatu kondisi yang sesuai dengan parameter yang telah ditetapkan berdasarkan interpretasi hasil pengujian sediaan nanoemulsi (Tabel 4.4.)
5. Uji stabilitas merupakan pengujian kemampuan sistem nanoemulsi untuk tidak memisah setelah diberikan kondisi suhu 45⁰ C dan 4⁰ C atau selama penyimpanan.
6. Stabil merupakan kondisi yang sesuai dengan spesifikasi yang tertera pada Tabel 4.4 setelah dilakukan pengamatan terhadap karakteristik fisik dan pengujian stabilitas.

4.6. Rancangan Formula

Formula nanoemulsi Ekstrak Daun Teh

Kadar Ekstrak daun Teh = 1%

Kadar minyak (*castor oil*) = 20%

- a. Perbandingan surfaktan : kosurfaktan 1:1

HLB butuh = 13,9

$$\% \text{ tween } 80 = \frac{(13,9-4,3)}{(15-4,3)} \times 100\% = 90\%$$

$$\% \text{ span } 80 = 100\% - 15\% = 10\%$$

$$\text{HLB butuh } 13,9 \rightarrow \text{Tween } 80 : \text{Span } 80 = 90 : 10$$

$$\text{HLB butuh } 13,9 \rightarrow \text{Tween } 80 : \text{Span } 80 = 90 : 10$$

Tabel 4.1. Formula Nanoemulsi rasio surfaktan : kosurfaktan 1:1

Fase Minyak : Smix	Minyak (Castor oil) (g)	Smix (Surfaktan : Kosurfaktan 1:1)		
		Surfaktan		Kosurfaktan (g)
		90%	10%	
		Tween 80	Span 80	
1 : 9	1	4,05	0,45	4,50
2 : 8	1	1,80	0,20	2,00
3 : 7	1	1,03	0,12	1,15
4 : 6	1	0,68	0,07	0,75
5 : 5	1	0,45	0,05	0,50
6 : 4	1	0,31	0,03	0,34
7 : 3	1	0,20	0,02	0,22
8 : 2	1	0,12	0,01	0,13
9 : 1	1	0,04	0,01	0,05

Perhitungan formula nanoemulsi

- Jumlah satu formula = 5 gram
 - *Castor oil* = 20% x 5 g = 1 g
 - Perhitungan span, tween dan kosurfaktan
- Gram = % tween 80 x jumlah kosurfaktan
= % span 80 x jumlah kosurfaktan

b. Perbandingan surfaktan : kosurfaktan 1:2

HLB butuh = 13,9

$$\% \text{ tween } 80 = \frac{(13,9-4,3)}{(15-4,3)} \times 100\% = 90\%$$

$$\% \text{ span } 80 = 100\% - 15\% = 10\%$$

$$\text{HLB butuh } 13,9 \rightarrow \text{Tween } 80 : \text{Span } 80 = 90 : 10$$

$$\text{HLB butuh } 13,9 \rightarrow \text{Tween } 80 : \text{Span } 80 = 90 : 10$$

Tabel 4.2. Formula Nanoemulsi rasio surfaktan : kosurfaktan 1:2

Fase Minyak : Smix	Minyak (Castor oil) (g)	Smix (Surfaktan : Kosurfaktan 1:2)		
		Surfaktan		Kosurfaktan (g)
		90%	10%	
		Tween 80	Span 80	
1 : 9	1	2,70	0,30	6,00
2 : 8	1	1,20	0,13	2,66
3 : 7	1	0,69	0,07	1,53
4 : 6	1	0,45	0,05	1,00
5 : 5	1	0,27	0,03	0,60
6 : 4	1	0,20	0,02	0,44
7 : 3	1	0,13	0,01	0,18
8 : 2	1	0,07	0,008	0,16
9 : 1	1	0,03	0,003	0,06

Perhitungan formula nanoemulsi

- Jumlah satu formula = 5 gram
 - *Castor oil* = 20% x 5 g = 1 g
 - Perhitungan span, tween dan kosurfaktan
- Gram = % tween 80 x jumlah kosurfaktan
= % span 80 x jumlah kosurfaktan

c. Perbandingan surfaktan : kosurfaktan 2:1

HLB butuh = 13,9

$$\% \text{ tween } 80 = \frac{(13,9-4,3)}{(15-4,3)} \times 100\% = 90\%$$

$$\% \text{ span } 80 = 100\% - 15\% = 10\%$$

HLB butuh 13,9 → Tween 80 : Span 80 = 90 : 10

Tabel 4.3. Formula Nanoemulsi rasio surfaktan : kosurfaktan 2:1

Fase Minyak : Smix	Minyak (Castor oil) (g)	Smix (Surfaktan : Kosurfaktan 2:1)		
		Surfaktan		Kosurfaktan (g)
		90%	10%	
		Tween 80	Span 80	
1 : 9	1	5,40	0,60	3,00
2 : 8	1	2,39	0,26	1,33
3 : 7	1	1,38	0,15	0,76
4 : 6	1	0,90	0,10	0,50
5 : 5	1	0,54	0,06	0,30
6 : 4	1	0,40	0,04	0,22
7 : 3	1	0,16	0,02	0,14
8 : 2	1	0,14	0,02	0,08
9 : 1	1	0,054	0,006	0,03

Perhitungan formula nanoemulsi

- Jumlah satu formula = 5 gram
- *Castor oil* = 20% x 5 g = 1 g
- Perhitungan span, tween dan kosurfaktan
 - Gram = % tween 80 x jumlah kosurfaktan
 - = % span 80 x jumlah kosurfaktan

4.7. Prosedur penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Daun Teh Hijau

Ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*) diperoleh dengan teknik maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Maserasi dilakukan dengan merendam simplisia daun teh hijau dalam etanol 96% selama 3 hari dan diulangi sebanyak 2 kali. Semua maserat etanol yang diperoleh dievaporasi menggunakan *Rotary Evaporator* pada suhu 30-40°C. Diperoleh ekstrak kental ekstrak daun teh hijau (*Camellia sinensis*).

4.7.2. Optimasi nanoemulsi

Tween 80 dan span 80 dan PEG 400 ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Tween 80 dan span 80 dibuat dalam perbandingan 10 : 90 dan dikombinasikan dengan PEG 400 menggunakan perbandingan konsentrasi (S_{mix}) 1:1 ; 1:2 ; dan 2:1). Ketiganya dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* selama 10 menit atau sampai homogen. Fase minyak ditambahkan kedalam masing-masing perbandingan konsentrasi dengan setiap kombinasi menggunakan perbandingan antara fase minyak : S_{mix} sebesar 1:9 ; 2:8 ; 3:7 ; 4:6 ; 5:5 ; 6:4 ; 7:3 ; 8:2 ; 9:1 dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Setelah homogen kemudian dititrasi dengan menggunakan aquades dengan metode titrasi air. Titik akhir titrasi ditandai dengan keruh menjadi jernih atau jernih menjadi keruh yang diamati secara visual. Kemudian dicatat jumlah penambahan air yang dibutuhkan dan hasilnya dimasukkan dalam perangkat lunak *Design Expert 10* sebagai rentang konsentrasi terbentuknya nanoemulsi. Selanjutnya akan diberikan berbagai macam formula untuk diuji persen transmittannya. Kemudian akan diberikan diagram terner dan rekomendasi formula yang optimal yang selanjutnya akan divalidasi. Formula tersebut yang selanjutnya akan dibuat menjadi sediaan nanoemulsi ekstrak daun teh.

4.7.3. Pembuatan nanoemulsi

Tween 80, ekstrak daun teh hijau, PEG 400 dan aquades ditimbang dan dicampurkan ke dalam *beaker glass*. Fase air ini kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* sampai homogen. Span 80 dan *castor oil* ditimbang dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*. Pengecilan ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan

Ultra-Turrax. Fase minyak diaduk dengan kecepatan 3.000 rpm kemudian fase air dituangkan secara perlahan ke dalam fase minyak. Setelah seluruh fase air masuk ke dalam fase minyak, kecepatan pengadukan ditingkatkan perlahan sampai 12.000 rpm dan dipertahankan selama 1 jam.

4.8. Spesifikasi sediaan

Spesifikasi sediaan ditentukan untuk melihat pencapaian sistem terhadap parameter yang telah ditetapkan seperti pada tabel :

Tabel 4.4. Spesifikasi karakteristik fisik sediaan

Uji sediaan	Spesifikasi
Uji Organoleptik	Berwarna kuning kehijauan, jernih, tidak berbau dan cair (Stephanie, 2015)
Uji Ukuran droplet	50 – 500 nm untuk nanoemulsi ekstrak (Yuliani, 2016)
Uji sentrifugasi	Stabil secara fisik dan organoleptik (Lachman, dkk, 1994)
Uji stabilitas	Tidak mengalami perubahan secara fisik meliputi organoleptik, % transmitan, viskositas, pH dan ukuran droplet dan indeks polidispersitas (Merrie, 2012)
Tipe nanoemulsi	w/o (Jaiswal, <i>et al.</i> , 2015)
Uji viskositas	10 – 2000 cP (Yuliani, 2016)
Uji transmitan	> 99% (Thakkar, <i>et al.</i> , 2011)
Uji indeks polidispersitas	< 1 (Goh, <i>et al.</i> , 2015)
Uji pH	4 – 6 (Yuliani, 2016)

4.9. Evaluasi sediaan

4.9.1. Uji karakterisasi fisik

4.9.1.1. Uji organoleptik

Tujuan

Untuk mengetahui bentuk, warna dan bau dari sistem nanoemulsi ekstrak daun teh yang dapat diterima dalam aplikasinya sebagai kosmetik.

Metode

Sistem nanoemulsi ekstrak daun teh dideskripsikan bentuk dan warnanya dengan menggunakan pengamatan visual, dan baunya berdasarkan pengamatan indra penciuman. Pengamatan dilakukan pada ruangan dengan pencahayaan yang cukup dan diamati oleh 3 pengamat yang berbeda dengan kondisi yang sama.

Interpretasi hasil

Sistem nanoemulsi ekstrak daun teh berwarna kuning jernih, tidak berbau tengik dan cair (Stephanie, 2015).

4.9.1.2. Uji ukuran droplet

Tujuan

Untuk mengetahui ukuran droplet yang terbentuk pada sistem nanoemulsi sesuai dengan rentang yang telah ditetapkan agar nanoemulsi dapat mencapai lapisan dermis pada kulit.

Metode

Uji ukuran droplet diukur dengan menggunakan *particle size analyzer* (PSA) yang memiliki prinsip kerja dengan mendeteksi hamburan cahaya dari sinar laser yang ditembakkan pada sampel. Sampel yang digunakan sebanyak 10 mL dimasukkan kedalam kuvet, selanjutnya dimasukkan kedalam sampel *holder* dan dianalisis. PSA menggunakan metode *laser diffraction* untuk menentukan ukuran partikel. Prinsipnya yaitu ketika sinar laser dilewatkan pada partikel, berkas sinar akan dihamburkan oleh partikel tersebut (Yuliani, 2016).

Interpretasi hasil

Ukuran droplet nanoemulsi dengan bahan aktif berupa ekstrak teh pada rentang skala nanometer yaitu 50 – 500 nm (Yuliani, 2016).

4.9.1.3. Uji Indeks polidispersitas

Tujuan

Untuk mengetahui kemampuan droplet dalam nanoemulsi terdispersi kembali serta mengetahui rentang distribusi ukuran droplet.

Metode

Pemeriksaan indeks polidispersitas dilakukan dengan menggunakan alat *particle size analysis* (PSA). Sampel yang digunakan sebanyak 10 mL dimasukkan kedalam kuvet, selanjutnya dimasukkan kedalam sampel *holder* dan dianalisis. PSA menggunakan metode *laser diffraction* untuk menentukan ukuran partikel. Prinsipnya yaitu ketika sinar laser dilewatkan pada partikel, berkas sinar akan dihamburkan oleh partikel tersebut

Interpretasi hasil

Nanoemulsi yang terbentuk memiliki indeks polidispersitas kurang dari 1 (Goh *et.al.*, 2015).

4.9.1.4. Uji Viskositas

Tujuan

Untuk mengetahui sifat aliran dari nanoemulsi yang terbentuk yang akan menunjukkan kemudahan dituang dan aplikasinya sebagai kosmetik anti penuaan.

Metode

Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer *cone and plate*. Sampel diletakkan dalam wadah atau piringan, selanjutnya spindel

diturunkan ke dalam sampel sampai tanda batas. Pembacaan skala dilakukan ketika jarum sudah stabil. Pengulangan pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali.

Interpretasi hasil

10 – 2000 cPs (Yuliani, 2016).

4.9.1.5. Uji Persen transmitan

Tujuan

Untuk mengetahui tingkat kejernihan dari nanoemulsi.

Metode

Pemeriksaan persen transmitan dilakukan dengan meletakkan sampel sebanyak 5-8 mL kedalam kuvet kemudian dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis menggunakan panjang gelombang 650 nm dan aquades sebagai blanko.

Interpretasi hasil

Nanoemulsi yang dapat diterima nilai kejernihannya lebih dari 99% (Thakkar, dkk, 2011).

4.9.1.6. Uji Tipe Emulsi

Tujuan

Untuk mengetahui tipe nanoemulsi yang terbentuk dan aseptabilitasnya pada aplikasinya di kulit.

Metode

Prinsip uji yaitu mengencerkan sampel nanoemulsi yang terbentuk dengan dilarutkan ke dalam fase minyak dan fase airnya. Fase minyak yang digunakan yaitu *castor oil* dan fase air yang digunakan yaitu aquades.

Interpretasi Hasil

Terbentuk nanoemulsi ekstrak daun teh hijau dengan tipe air dalam minyak yaitu yang larut dalam pengenceran dengan fase minyak (Jaiswal, *et.al.*, 2015).

4.9.1.7. Uji pH

Tujuan

Untuk mengetahui nilai pH sediaan nanoemulsi ekstrak daun teh hijau agar dapat diterima oleh kulit pada saat aplikasinya.

Metode

Pengukuran nilai pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. Sejumlah sampel disiapkan dan elektroda pH meter dicelupkan ke dalam sampel pada suhu ruang. Nilai yang dicatat merupakan nilai yang stabil yang ditunjukkan oleh pH meter.

Interpretasi hasil

pH untuk sediaan topikal dan yang dapat diterima kulit adalah 4-6 (Yuliani, 2016)

4.9.2. Uji Stabilitas

4.9.2.1. Uji stabilitas *heating cooling*

Tujuan

Untuk mengetahui ketahanan sistem nanoemulsi terhadap paparan suhu tinggi $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ dan suhu rendah $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama penyimpanannya.

Metode

Uji stabilitas yang dilakukan adalah *heating cooling* yang dilakukan sebanyak 6 siklus. Setiap siklus terdiri atas penyimpanan sampel pada wadah transparan pada suhu $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama tidak kurang dari 48 jam kemudian dilanjutkan dengan penyimpanan pada suhu $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam berikutnya. Pada pengujian ini dilakukan pengamatan organoleptik dan persen transmittan untuk membandingkan kondisinya setelah paparan suhu ekstrim (Azeem *et.al.*, 2008).

Interpretasi hasil

Perubahan yang terjadi pada pengamatan organoleptik dan persen transmittan berada dalam rentang spesifikasi (Merrie, 2012)

4.9.2.2. Uji Sentrifugasi

Tujuan

Untuk mengetahui stabilitas fisik dan pemisahan fase yang terjadi pada nanoemulsi setelah dilakukan pengocokan kuat.

Metode

Sistem nanoemulsi disentrifugasi dengan kecepatan 3750 rpm untuk memberikan intervensi kinetik dalam waktu 5 jam atau dengan kecepatan 5000-10000 rpm selama 30 menit (Setiawan, 2010).

Interpretasi hasil

Nanoemulsi stabil dengan tidak terjadi pemisahan fase setelah disentrifugasi selama 5 jam (Lachman, dkk, 1994)

4.9.2.3. Uji stabilitas *on going*

Tujuan

Untuk mengetahui kestabilan fisik nanoemulsi setelah disimpan dalam jangka waktu tertentu

Metode

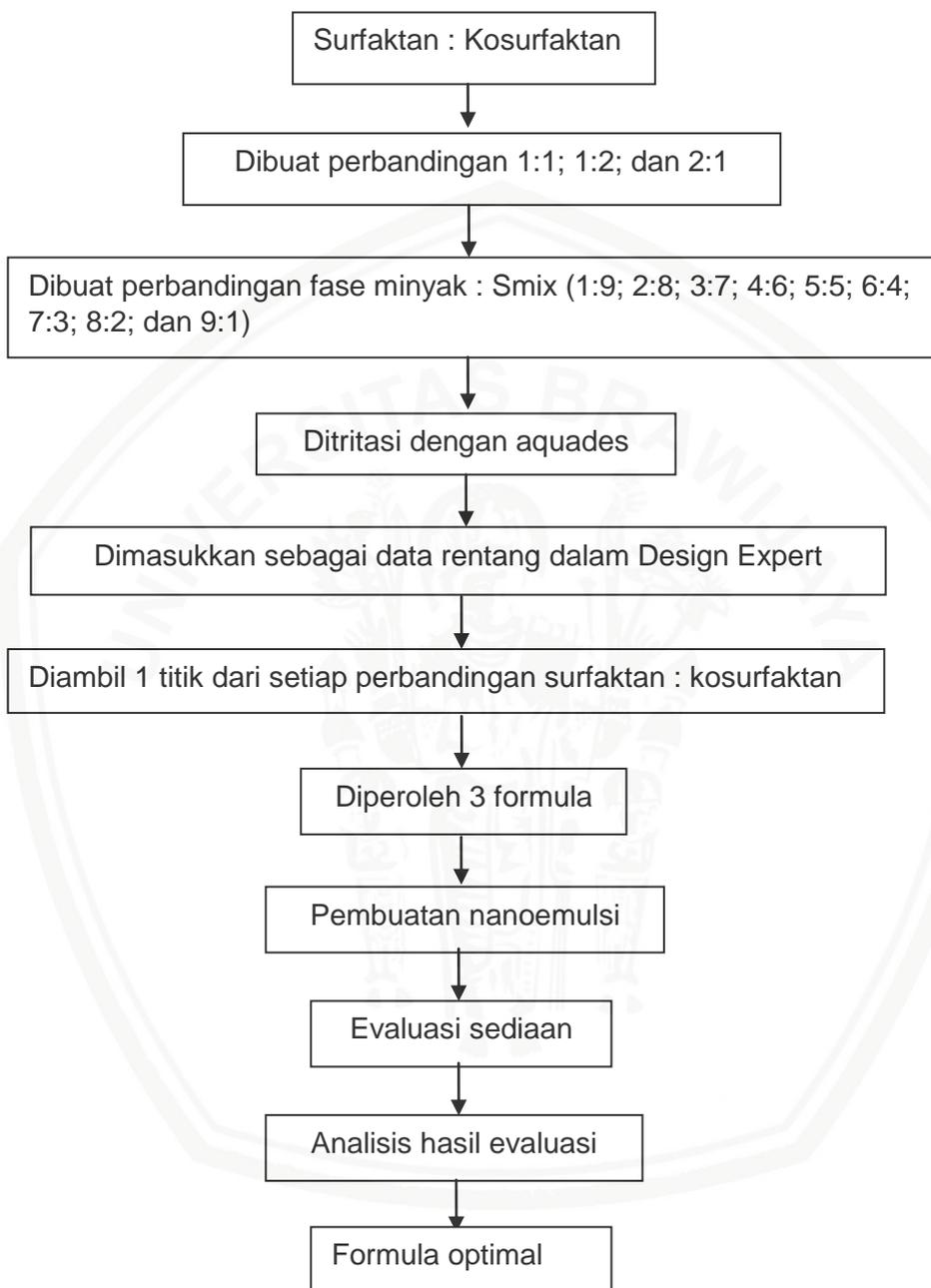
Sampel nanoemulsi disimpan pada suhu ruang $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ dengan kelembapan $75\% \pm 5\%$ selama 30 hari dan dilakukan pengamatan organoleptik dan persen transmittan pada hari ke 0, 7, 15 dan 30. Data pada hari ke 0 digunakan sebagai data pembandingan (Godoi, *et.al.*, 2016).

Interpretasi hasil

Perubahan yang terjadi pada pengamatan organoleptik, persen transmittan, pH dan viskositas berada dalam rentang spesifikasi serta ukuran droplet masih dalam skala nanometer (Merrie, 2012).

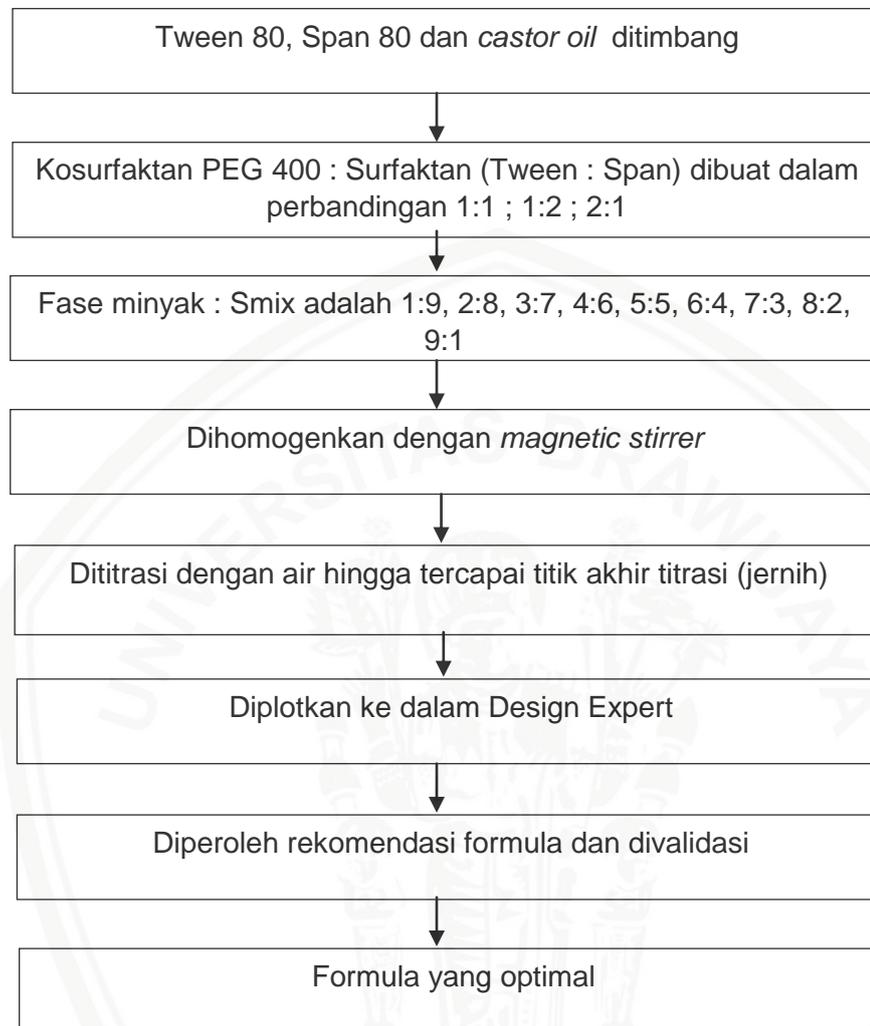
4.10. Skema kerja

4.10.1 Kerangka operasional



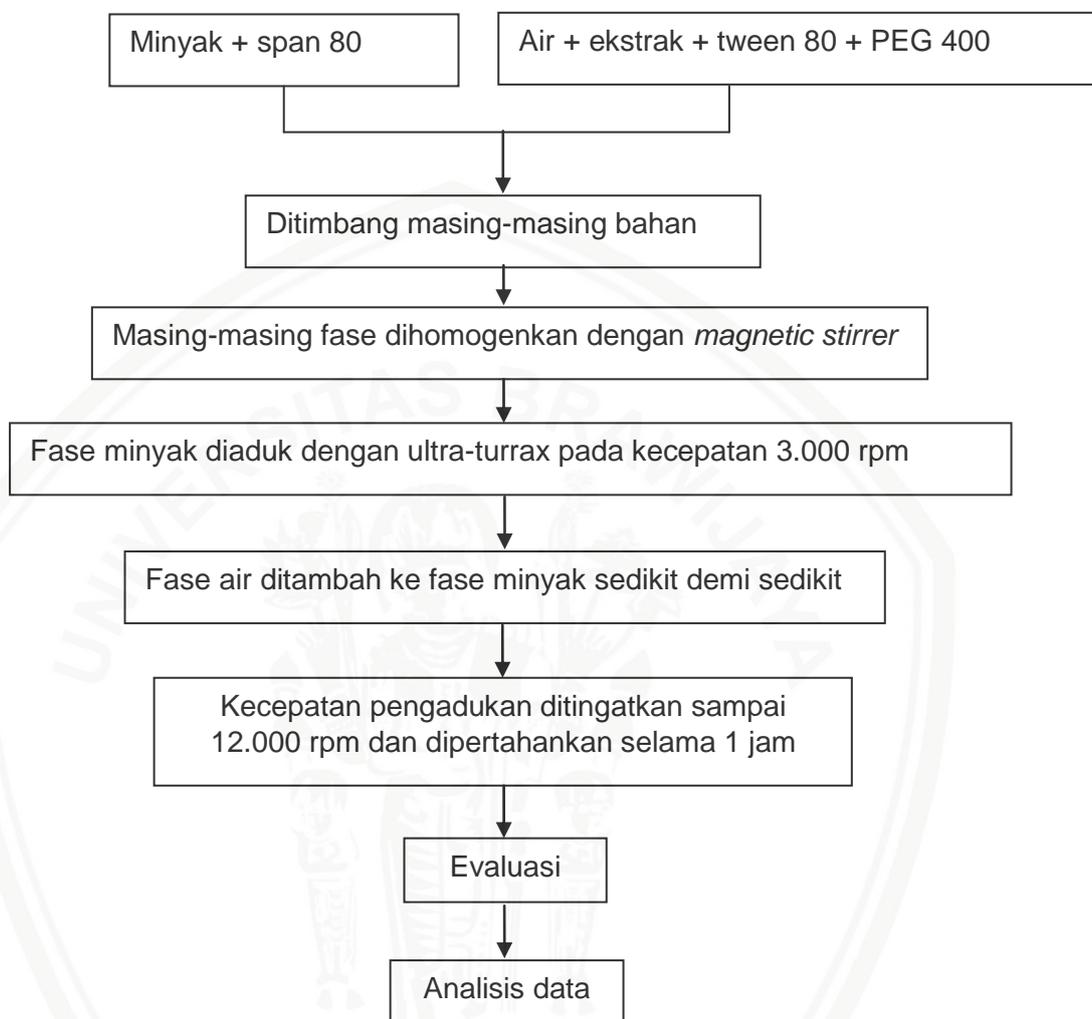
Gambar 4.1. Kerangka operasional

4.10.2. Optimasi sistem nanoemulsi



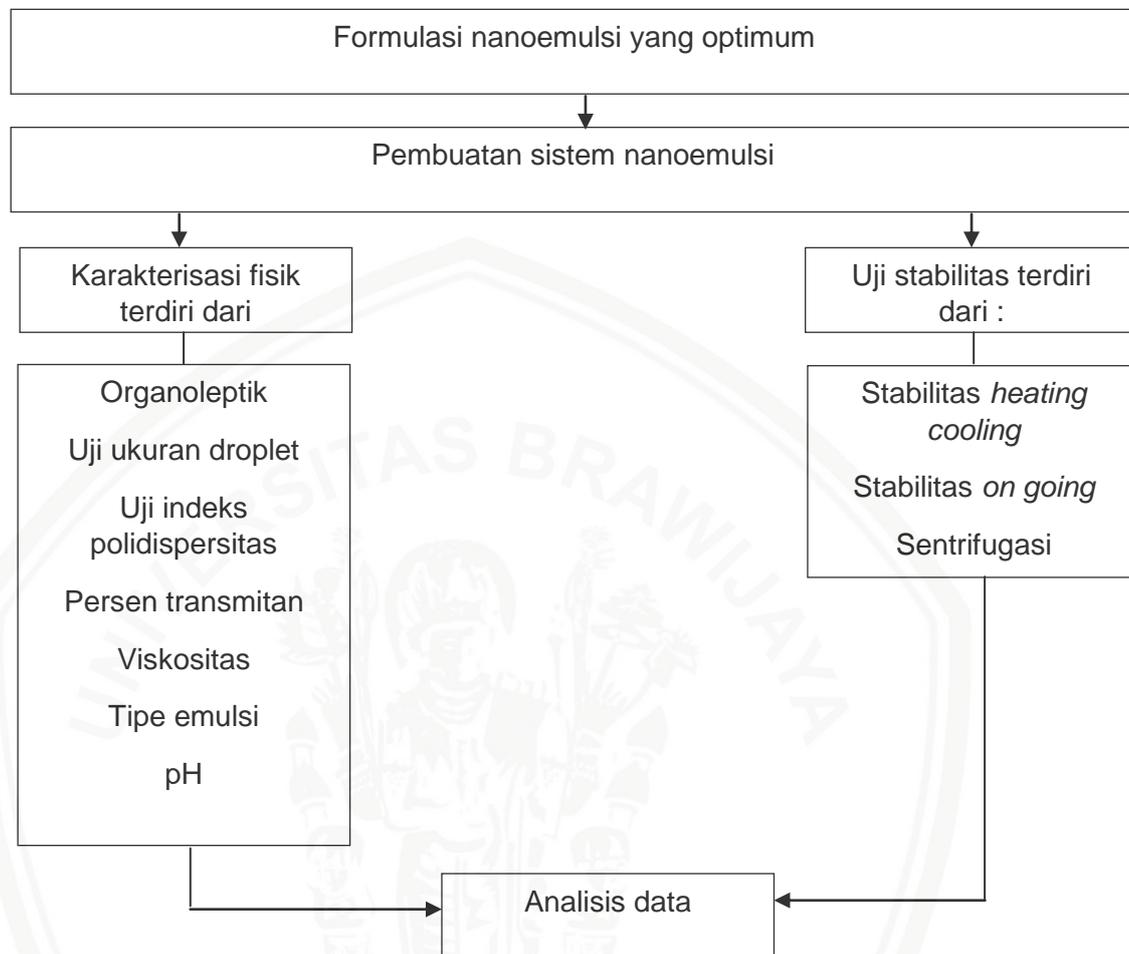
Gambar 4.2. Skema kerja optimasi sistem nanoemulsi

4.10.3. Pembuatan sistem nanoemulsi



Gambar 4.3. Skema kerja pembuatan sediaan nanoemulsi

4.10.4. Karakterisasi sediaan nanoemulsi



Gambar 4.4. Skema kerja karakterisasi fisik sistem nanoemulsi

4.11. Analisis data

Analisis data dilakukan secara deskriptif dalam bentuk narasi, tabel atau grafik. Data yang diperoleh dideskripsikan dan dibandingkan dengan persyaratan spesifikasi yang telah ditentukan meliputi organoleptik, ukuran partikel, persen transmittan, viskositas dan uji stabilitas. Data hasil titrasi disajikan dalam bentuk table dan dianalisis dengan menggunakan pseudoterner *Design Expert 10 10*. Penelitian ini memiliki jumlah perlakuan yang terdiri dari 3 kelompok perlakuan. Data yang telah diperoleh kemudian diolah dan disajikan dalam bentuk tabel. Data yang dianalisa dengan deskriptif yaitu hasil uji organoleptis dan uji tipe nanoemulsi. Data yang diperoleh dari pengujian persen transmittan, ukuran droplet, indeks polidispersitas dan viskositas kemudian diuji dengan uji statistika parametrik *One way ANOVA* karena data yang diambil bukan merupakan data yang berpasangan yang nilai antar kelompok tidak bergantung dengan, data dari masing-masing kelompok berdistribusi normal dan varian antar kelompok dapat dianggap homogen. Analisis data dengan *one way ANOVA* bertujuan untuk membandingkan rerata dari lebih dari dua data yang berbeda kelompok. Data hasil uji stabilitas dilakukan dengan menggunakan *Repeated ANOVA*. Sebelum dilakukan uji parametrik, dilakukan pengolahan data dengan SPSS 20.0 untuk mengetahui normalitas dan homogenitasnya.

BAB 5

HASIL

5.1. Hasil Optimasi Formula Nanoemulsi

Optimasi formula nanoemulsi ekstrak daun teh hijau dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama yaitu pra-optimasi menggunakan metode titrasi air. Titrasi dilakukan dengan menggunakan mikropipet 1000 μ L. Dilakukan variasi terhadap perbandingan surfaktan (kombinasi tween 80 dan span 80) : kosurfaktan (PEG 400) yaitu 1:1 ; 1:2 ; 2:1. *Castor oil* digunakan sebagai fase minyak. Perbandingan fase minyak dan Smix yang digunakan yaitu 1:9 ; 2:8 ; 3:7 ; 4:6 ; 5:5 ; 6:4 ; 7:3 ; 8:2 dan 9:1. Tahap kedua adalah optimasi dengan menggunakan perangkat lunak *Design Expert 10* untuk memperoleh solusi formula yang akan digunakan dalam pengujian spesifikasi sistem nanoemulsi.



Gambar 5.1. Hasil pra-optimasi perbandingan surfaktan:kosurfaktan 1:1

Tabel 5.1 Hasil titrasi nanoemulsi perbandingan surfaktan:kosurfaktan1:1

Fase minyak : Smix (1:1)	Volume penambahan air (mL)	Pengamatan organoleptik
1:9	0,200	Keruh
2:8	0,200	Keruh
3:7	0,200	Keruh
4:6	0,300	Keruh
5:5	0,200	Keruh
6:4	0,150	Keruh
7:3	0,100	Keruh
8:2	0,050	Keruh
9:1	0,025	Keruh



Gambar 5.2. Hasil pra-optimasi perbandingan surfaktan:kosurfaktan 1:2

Tabel 5.2 Hasil titrasi nanoemulsi perbandingan surfaktan:kosurfaktan 1:2

Fase minyak : Smix (1:2)	Volume penambahan air (mL)	Pengamatan organoleptik
1:9	0,300	Keruh
2:8	0,075	Keruh
3:7	0,070	Keruh
4:6	0,040	Keruh
5:5	0,040	Keruh
6:4	0,035	Keruh
7:3	0,015	Keruh
8:2	0,015	Keruh
9:1	0,010	Keruh



Gambar 5.3. Hasil pra-optimasi perbandingan surfaktan:kosurfaktan 2:1

Tabel 5.3 Hasil titrasi nanoemulsi perbandingan surfaktan:kosurfaktan 2:1

Fase minyak : Smix (2:1)	Volume penambahan air (mL)	Pengamatan organoleptik
0,5:9,5	3,000	Jernih
1:9	3,000	Jernih
2:8	0,030	Keruh
3:7	0,250	Keruh
4:6	0,020	Keruh
5:5	0,020	Keruh
6:4	0,015	Keruh
7:3	0,010	Keruh
8:2	0,009	Keruh
9:1	0,005	Keruh

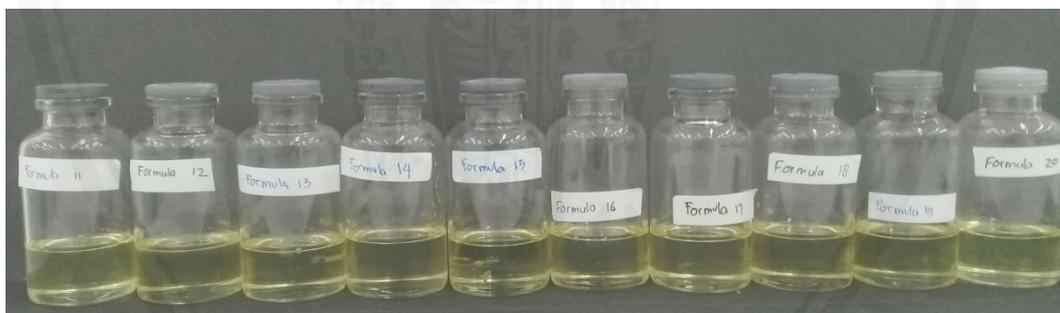
Hasil pra-optimasi dengan metode titrasi air menunjukkan bahwa hanya pada perbandingan surfaktan : kosurfaktan 2:1 terdapat hasil pengamatan yang jernih dengan hanya dua titik, yaitu pada perbandingan fase minyak : Smix 0,5;9,5 dan 1:9. Nanoemulsi yang terbentuk jernih, berwarna kuning dan tidak berbau. Sedangkan untuk perbandingan lainnya menunjukkan larutan yang keruh seperti susu dan memisah setelah 5-8 jam penyimpanan.

Tahap selanjutnya untuk optimasi nanoemulsi yaitu optimasi menggunakan perangkat lunak *Design Expert 10* untuk memperoleh solusi formula dari hasil pra-optimasi. Hasil pra-optimasi dimasukkan sebagai data perbandingan terendah dan tertinggi yang dapat membentuk sistem nanoemulsi.

Konsentrasi air adalah 12,50 – 13,03%, konsentrasi *castor oil* 8,35 – 8,74%, kombinasi surfaktan 52,17 – 52,75% dan PEG 400 26,05 – 26,39%. Selanjutnya akan diberikan sejumlah formula yang selanjutnya akan ditentukan batas penerimaannya, dalam hal ini digunakan persen transmittan sebagai persyaratan yang digunakan.



(a)



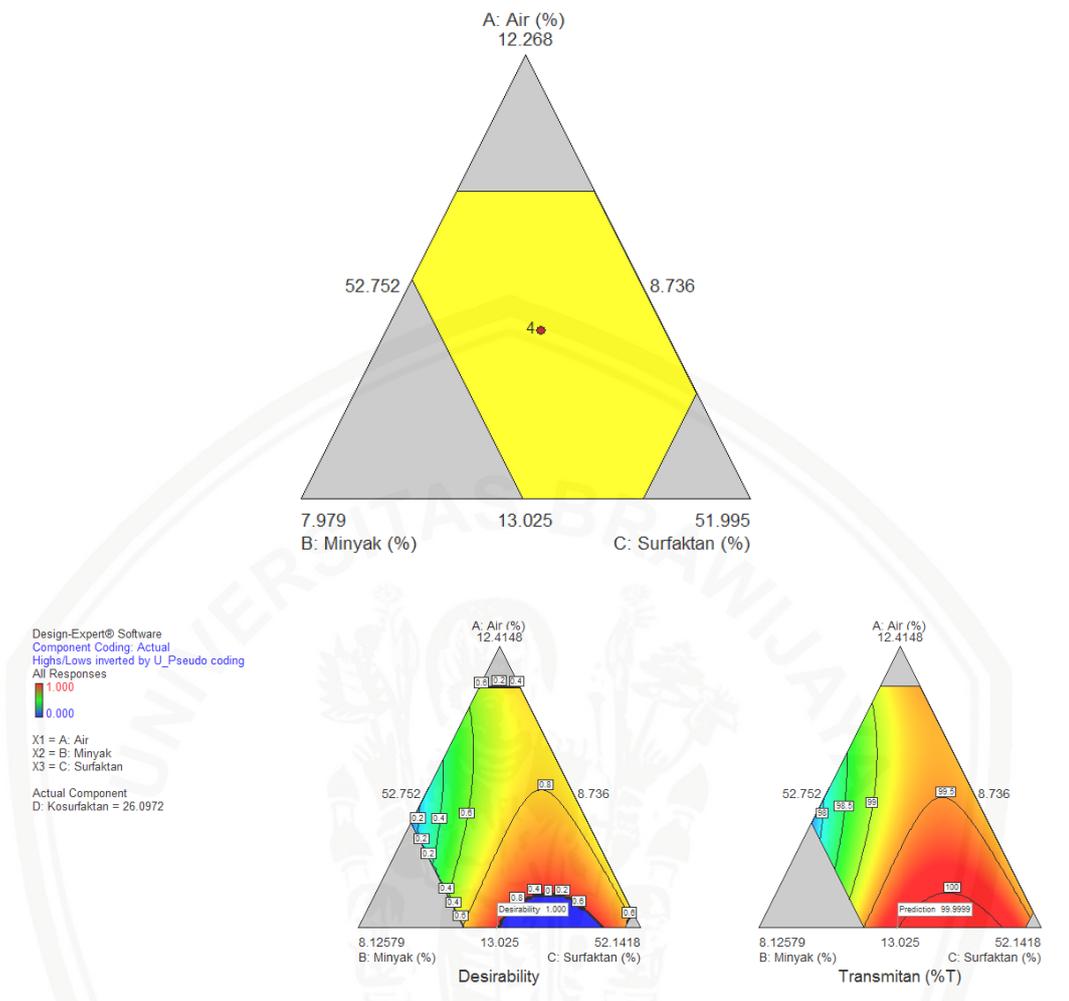
(b)

Gambar 5.4. Formula Hasil Skringing Persen Transmittan (a) 1-10 (b) 11-20

No	Air	Castor Oil	Tween 80	Span 80	PEG 400	Persen Transmittan (%)
1	1.3025	0.8626	4.6960	0.5217	2.6174	99,0
2	1.2500	0.8684	4.7480	0.5275	2.6064	99,4
3	1.3025	0.8353	4.7000	0.5222	2.6394	99,0
4	1.2500	0.8736	4.7280	0.5253	2.6229	99,4
5	1.2500	0.8545	4.7300	0.5256	2.6394	99,6
6	1.2738	0.8527	4.7240	0.5248	2.6244	99,3
7	1.2695	0.8736	4.6960	0.5217	2.6394	97,8
8	1.2680	0.8736	4.7120	0.5235	2.6229	97,4
9	1.2738	0.8527	4.7240	0.5248	2.6244	98,2
10	1.2721	0.8353	4.7480	0.5275	2.6174	97,5
11	1.2675	0.8718	4.7290	0.5254	2.6064	99,7
12	1.2500	0.8736	4.7280	0.5253	2.6229	99,4
13	1.3025	0.8626	4.6960	0.5217	2.6174	99,0
14	1.2738	0.8527	4.7240	0.5248	2.6244	99,0
15	1.2675	0.8353	4.7320	0.5257	2.6394	99,7
16	1.2738	0.8527	4.7240	0.5248	2.6244	99,3
17	1.2850	0.8736	4.7120	0.5235	2.6064	99,6
18	1.2850	0.8353	4.7160	0.5240	2.6394	99,8
19	1.3025	0.8353	4.7300	0.5255	2.6064	99,6
20	1.2501	0.8353	4.7480	0.5275	2.6394	99,2

Tabel 5.4. Formula rekomendasi skrining persen transmittan

Tahapan berikutnya dalam optimasi dengan *Design Expert 10* yaitu diberikan 31 formula rekomendasi dengan nilai *desirability* pada masing-masing formula sebagai hasil dari optimasi 20 formula pada tahap awal skrining persen transmittan. Formula yang dipilih adalah formula dengan komponen 13,025% air, 8,452% *castor oil*, 52,452% surfaktan yang dibagi menjadi 90% tween dan 10% span dan 26,0972% PEG 400 sebagai kosurfaktan. Formula ini diprediksi memiliki nilai transmittan 99,999% dengan *desirability* 1,000.



Gambar 5.5. Diagram terner formula rekomendasi *Design Expert 10*

Formula yang telah diperoleh selanjutnya divalidasi dengan pengulangan sebanyak lima kali. Hasil dari prosedur validasi yaitu rata-rata persen transmitan adalah $98,9041 \pm 0,5435 \%$ yang artinya formula tersebut memenuhi persyaratan dengan memenuhi nilai minimal (98,12%) dan kurang dari nilai maksimal (99,69%) persen transmitan yang diprediksikan.

5.2. Hasil Karakterisasi Formula Nanoemulsi ekstrak Daun Teh

Karakterisasi dilakukan untuk membandingkan nilai parameter fisik hasil dari formula nanoemulsi ekstrak daun teh yang diperoleh dari optimasi dengan

parameter fisik spesifikasi yang diharapkan. Hasilnya nanoemulsi tidak memenuhi spesifikasi persen transmittan yang diharapkan yaitu lebih dari 99% pada spesifikasi, sedangkan spesifikasi lainnya seperti ukuran droplet, indeks polidispersitas dan viskositas terpenuhi sebagaimana tercantum dalam Tabel 5.5.

Tabel 5.5. Hasil karakterisasi sediaan nanoemulsi ekstrak daun teh

Karakterisasi sediaan	Spesifikasi	Hasil
Organoleptik	Kuning atau kehijauan, jernih, tidak berbau dan cair	Kuning, jernih, tidak berbau, agak kental
Ukuran droplet	50 – 500 nm untuk nanoemulsi ekstrak	75,55 ± 0,14 nm
Tipe nanoemulsi	w/o	w/o
Viskositas	10 – 2000 cP	246,67 ± 5,77 cP
Persen transmittan	> 99%	69,77 ± 0,57%
Indeks polidispersitas	< 1	0,23 ± 0,006
pH	4 – 6	8,02 ± 0,25

5.3. Hasil Evaluasi Uji Stabilitas Nanoemulsi Ekstrak Daun Teh

Formula nanoemulsi ekstrak daun teh yang diperoleh dari hasil optimasi selanjutnya dibuat 3 kali replikasi. Masing-masing replikasi dilakukan pengujian karakterisasi dan uji stabilitas. Uji stabilitas yang dilakukan meliputi uji stabilitas *on going* dan uji stabilitas *heating cooling*.

5.3.1. Hasil Evaluasi Uji Stabilitas *On going* dan Uji Stabilitas *Heating cooling*

Uji stabilitas yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi uji stabilitas *on going* dan uji stabilitas *heating cooling*. Uji stabilitas *on going* dilakukan dengan menyimpan sediaan nanoemulsi ekstrak daun teh dalam *climatic chamber* dengan suhu terkontrol $30^0 \pm 2^0$ C dan kelembapan relatif 70 ± 5 %. Penyimpanan dilakukan selama 30 hari dengan waktu pengamatan pada hari ke 0, 7, 15 dan 30. Tujuan uji stabilitas ini untuk mengetahui kestabilan sediaan

pada kondisi penyimpanan suhu ruang dengan kelembapan yang terkontrol. Parameter yang diuji pada uji stabilitas ini adalah organoleptik, persen transmittan, pH, viskositas, ukuran droplet dan indeks polidispersitas.

Uji stabilitas *heating cooling* dilakukan dengan menempatkan sediaan nanoemulsi ekstrak daun teh pada suhu ekstrim sebanyak 6 siklus. Setiap siklus dilakukan dengan menyimpan pada suhu $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama tidak kurang dari 48 jam kemudian dilanjutkan dengan penyimpanan pada suhu $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam berikutnya. Tujuan uji stabilitas ini untuk mengamati kestabilan sediaan setelah terpapar suhu ekstrim. Parameter yang diuji adalah organoleptik, persen transmittan, pH, viskositas, ukuran droplet dan indeks polidispersitas.

5.3.1.1. Hasil Evaluasi Organoleptik

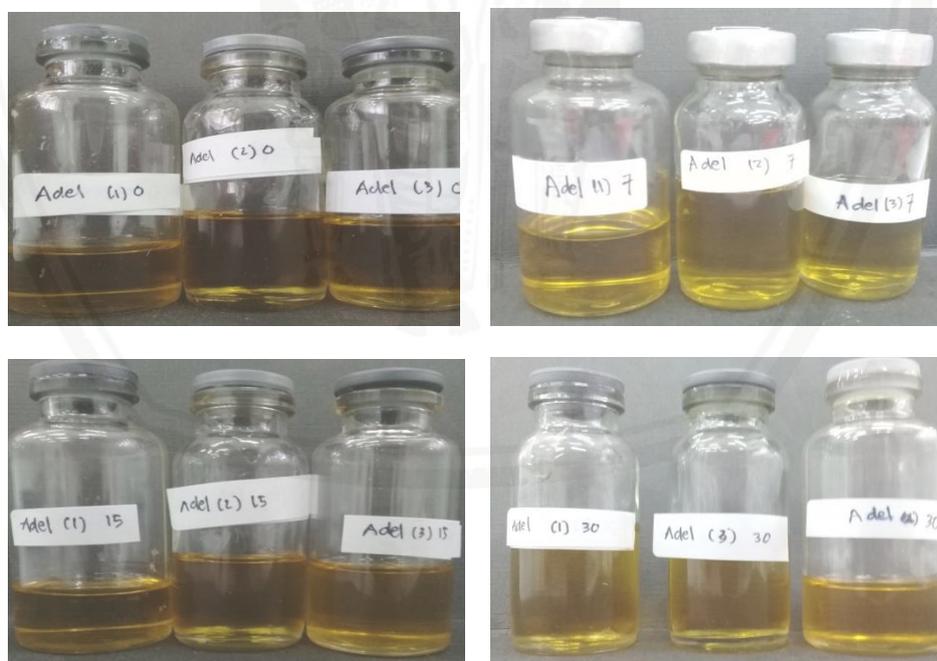
Pengujian terhadap parameter organoleptik dilakukan pada sediaan nanoemulsi selama 30 hari penyimpanan dan pengamatan dilakukan pada hari ke 0, 7, 15 dan 30. Pengamatan dilakukan dengan cara 3 orang yang berbeda mengamati warna, bentuk dan bau sediaan secara visual dalam waktu dan kondisi yang sama. Tujuannya adalah untuk mengetahui kestabilan sediaan secara organoleptik. Hasil pengamatan organoleptik pada uji stabilitas *on going* menunjukkan tidak adanya perubahan pada setiap pengamatan sediaan sampai hari ke 30 pada penyimpanan suhu ruang.

Pada uji stabilitas *heating cooling* pengamatan organoleptik dilakukan pada setiap akhir siklus dengan cara yang sama seperti pada uji stabilitas *on going*. Pengamatan organoleptik pada uji stabilitas *heating cooling* bertujuan untuk mengetahui kestabilan sediaan nanoemulsi secara termodinamik setelah paparan stressor berupa suhu ekstrim. Hasilnya menunjukkan bahwa sediaan

nanoemulsi ekstrak daun teh tidak mengalami perubahan organoleptik dari awal siklus hingga siklus ke-6.

Tabel 5.6. Hasil pengamatan uji organoleptik uji stabilitas *on going*

Replikasi	Hari ke 0	Hari ke 7	Hari ke 15	Hari ke 30
1	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair
2	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair
3	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair



Gambar 5.6. Nanoemulsi selama penyimpanan 30 hari

Tabel 5.7. Hasil pengamatan uji organoleptis uji stabilitas *heating cooling*

Replikasi	Siklus 1	Siklus 2	Siklus 3	Siklus 4	Siklus 5	Siklus 6	
1	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair
2	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair
3	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair 	<ul style="list-style-type: none"> • Kuning, jernih • Tidak berbau • Bentuk cair

Gambar 5.7. Sediaan nanoemulsi setelah uji stabilitas *heating cooling*

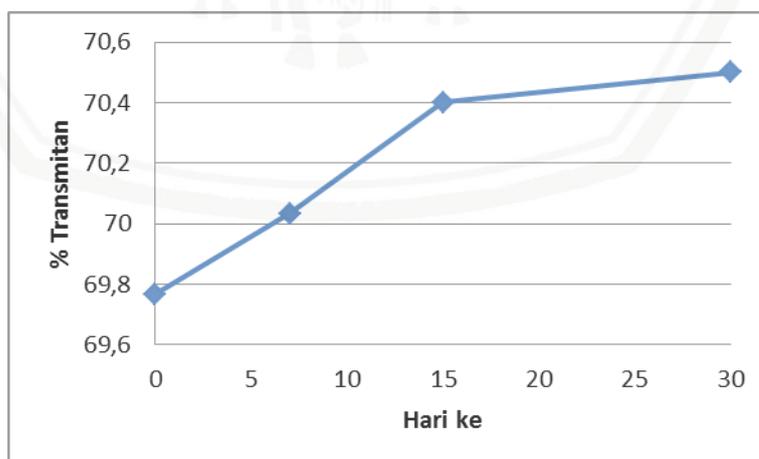
5.3.1.2. Hasil Evaluasi Persen Transmitan

Persen transmitan diukur untuk mengetahui tingkat kejernihan dari suatu cairan. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-vis Shimidzu dengan menggunakan panjang gelombang 650 nm. Blanko yang

digunakan adalah aquades. Nilai persen transmittan dari sediaan nanoemulsi memiliki kecenderungan semakin meningkat pada uji stabilitas *on going*. Nilai tertinggi pada uji stabilitas *on going* diperoleh pada hari ke-30 dengan seluruh replikasi sampel menunjukkan nilai persen transmittan 70,5% dengan perbedaan rata-rata besar persen transmittan adalah $0,7333 - 0,1000 \pm 0,0333\%$. Sedangkan pada uji stabilitas *heating cooling* nilai persen transmittan tertinggi adalah pada hari pertama siklus yaitu sebesar 69,8% dengan perbedaan nilai rata-rata persen transmittan adalah $6,2667 \pm 0,0333\%$. Nilai persen transmittan sediaan yang diuji stabilitas *heating cooling* cenderung menurun.

Tabel 5.8. Hasil evaluasi persen transmittan

Hari	Persen Transmittan
0	69,7667 ± 0,5774%
7	70,0333 ± 0,5774%
15	70,4000 ± 0,0000%
30	70,5000 ± 0,0000%
24 (<i>heating cooling</i>)	63,5000 ± 0,0000%



Gambar 5.8. Grafik hasil evaluasi persen transmittan uji stabilitas *on going*

Data yang diperoleh dari tabel 5.8 selanjutnya dianalisis statistik menggunakan perangkat lunak SPSS 20. Sebelum menentukan analisis statistik yang sesuai, terlebih dahulu sampel data diuji normalitas dan homogenitasnya. Uji normalitas dilakukan dengan uji saphiro-wilk karena jumlah data kurang dari 60. Analisis statistik yang digunakan adalah uji T-Test berpasangan untuk analisis persen transmitan pada uji stabilitas *heating cooling* karena hanya memiliki 2 kelompok data berdasarkan waktu pengamatannya. Analisis statistik *repeated* ANOVA digunakan untuk analisis nilai persen transmitan pada uji stabilitas *on going* karena memiliki 4 kelompok data berdasarkan waktu pengamatannya. Data yang telah diperoleh menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara pengamatan nilai persen transmitan pada hari ke-0 dan pada akhir pengamatan siklus ke-6 untuk uji stabilitas *heating cooling* tetapi tidak ada perbedaan signifikan pada persen transmitan uji stabilitas *on going*. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan tidak stabil pada uji stabilitas *heating cooling* dan stabil pada uji stabilitas *on going*.

a. Uji T-Test berpasangan

Uji T-Test berpasangan diketahui untuk mengetahui signifikansi perbedaan nilai pH sediaan sebelum dilakukan uji stabilitas dengan nilai pH setelah sediaan melalui 6 siklus paparan suhu tinggi dan suhu rendah. Uji analisis ini dipilih karena hanya ada 2 kelompok data berdasarkan waktu pengamatannya data yang akan dianalisis secara statistik. Sebelumnya dilakukan uji normalitas data, hasilnya adalah data memiliki distribusi normal yang ditunjukkan dengan nilai $p=0,161$ dan $p=0,143$ pada uji normalitas Saphiro-Wilk karena yang digunakan karena jumlah data kurang dari 50. Hasil uji T-Test berpasangan menunjukkan nilai signifikansi $p<0,001$ dengan

perbedaan rerata nilai persen transmittan adalah $6,2667 \pm 0,05774\%$. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, sehingga dapat dikatakan persen transmittan sediaan tidak stabil secara termodinamis atau setelah dilakukan uji stabilitas *heating cooling*. Hasil uji terdapat pada lampiran (Lampiran).

b. Uji Repeated ANOVA

Uji repeated ANOVA dilakukan apabila data tidak independen yang artinya diambil dari sampel yang sama pada waktu yang berbeda. Hal ini digunakan untuk mengetahui adanya perubahan signifikan selama penyimpanan pada waktu tersebut. Sebelumnya dilakukan *sphericity test* untuk menentukan korelasi antar data tiap waktu menggunakan *Mauchly's Test of Sphericity*, hasilnya nilai $p < 0,001$ sehingga tidak memenuhi syarat ini. Akan tetapi, masih dapat ditoleransi dengan menggunakan *Greenhouse-Geisser* dengan nilai $p = 0,333$ yang artinya antar data masih ada korelasi. Uji normalitas dilakukan untuk masing-masing waktu pengambilan sampel, hasilnya seluruh waktu pengambilan sampel menunjukkan nilai $p > 0,05$ sehingga distribusi data dinyatakan normal. Nilai p dari uji ini untuk pengukuran persen transmittan pada sediaan nanoemulsi ekstrak daun teh adalah $p = 0,074$ yang artinya tidak terjadi perubahan yang signifikan dalam uji stabilitas, sehingga persen transmittan dinyatakan stabil pada uji stabilitas *on going*. Hasil uji terdapat pada lampiran (Lampiran).

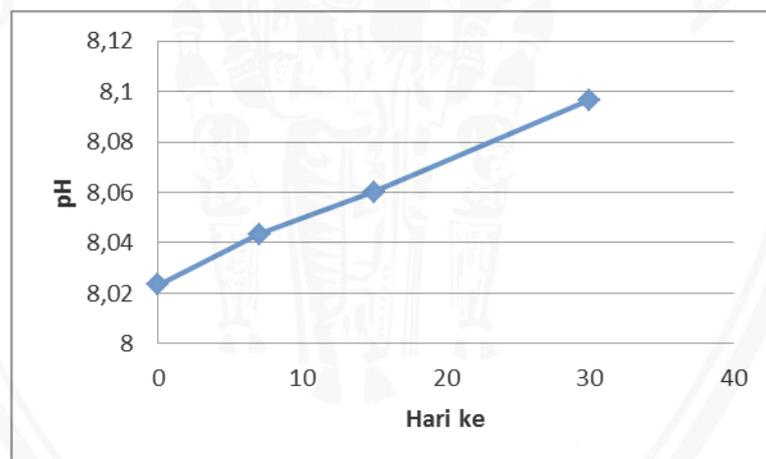
5.3.1.3. Hasil Evaluasi pH

Pengukuran pH dilakukan untuk menilai penerimaan kulit terhadap sediaan nanoemulsi karena tujuan dari penggunaan sediaan nanoemulsi ekstrak

daun teh nantinya adalah melalui rute topikal. Pengujian dilakukan menggunakan instrumen pH meter Schott pada suhu $25^{\circ} \pm 2^{\circ}$ C. Nilai pH pada sediaan yang diuji stabilitas *on going* antara 8,0233 – 8,0967. Sedangkan nilai pH pada sediaan yang diuji stabilitas *heating cooling* antara 8,0233-8,0567.

Tabel 5.9. Hasil evaluasi pH

Hari	pH
0	$8,0233 \pm 0,0252$
7	$8,0433 \pm 0,0351$
15	$8,0600 \pm 0,0100$
30	$8,0967 \pm 0,0153$
24 (<i>heating cooling</i>)	$8,0567 \pm 0,0208$



Gambar 5.9. Grafik hasil evaluasi pH pada uji stabilitas *on going*

Data yang diperoleh dari tabel 5.9 selanjutnya dianalisis statistik menggunakan perangkat lunak SPSS 20. Sebelum menentukan analisis statistik yang sesuai, terlebih dahulu sampel data diuji normalitas dan homogenitasnya. Uji normalitas dilakukan dengan uji saphiro-wilk karena jumlah data kurang dari 60. Analisis statistik yang digunakan adalah uji T-Test berpasangan untuk

analisis pH pada uji stabilitas *heating cooling* karena hanya memiliki 2 kelompok data berdasarkan waktu pengamatannya. Analisis statistik *repeated ANOVA* digunakan untuk analisis nilai pH pada uji stabilitas *on going* karena memiliki 4 kelompok data berdasarkan waktu pengamatannya. Data yang telah diperoleh menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara pengamatan nilai pH pada hari ke-0 dan pada akhir pengamatan uji stabilitas *heating cooling*. Sedangkan untuk uji stabilitas jangka tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Akan tetapi nilai dalam perubahan yang signifikan tersebut masih berada dalam rentang batas penerimaan pada tabel 4.4. sehingga masih dapat dikatakan bahwa sediaan nanoemulsi stabil berdasarkan hasil pemeriksaan pada parameter pH.

a. Uji T-Test berpasangan

Uji T-Test berpasangan diketahui untuk mengetahui signifikansi perbedaan nilai pH sediaan sebelum dilakukan uji stabilitas dengan nilai pH setelah sediaan melalui 6 siklus paparan suhu tinggi dan suhu rendah. Uji analisis ini dipilih karena hanya ada 2 kelompok data berdasarkan waktu pengamatannya data yang akan dianalisis secara statistik. Sebelumnya dilakukan uji normalitas data, hasilnya adalah data memiliki distribusi normal yang ditunjukkan dengan nilai $p=0,333$ dan $p=0,117$. Hasilnya menunjukkan nilai $p=0,010$ dengan perbedaan rerata nilai pH adalah $0,3333 \pm 0,0058$. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, sehingga dapat dikatakan pH sediaan tidak stabil secara termodinamis. Hasil uji terdapat pada lampiran (Lampiran).

b. Uji Repeated ANOVA

Uji repeated ANOVA dilakukan apabila data tidak independen yang artinya diambil dari sampel yang sama pada waktu yang berbeda. Hal ini digunakan untuk mengetahui adanya perubahan signifikan selama penyimpanan pada waktu tersebut. Sebelumnya dilakukan *sphericity test* untuk menentukan korelasi antar data tiap waktu menggunakan *Mauchly's Test of Sphericity*, hasilnya nilai $p < 0,001$ sehingga tidak memenuhi syarat ini. Akan tetapi, masih dapat ditoleransi dengan menggunakan *Greenhouse-Geisser* dengan nilai $p = 0,331$ yang artinya antar data masih ada korelasi. Uji normalitas dilakukan untuk masing-masing waktu pengambilan sampel, hasilnya seluruh waktu pengambilan sampel menunjukkan nilai $p > 0,05$ sehingga distribusi data dinyatakan normal. Nilai dari uji ini untuk pengukuran pH pada sediaan nanoemulsi ekstrak daun teh adalah $p = 0,117$ yang artinya tidak terjadi perubahan yang signifikan dalam uji stabilitas, sehingga pH dinyatakan stabil. Hasil uji terdapat pada lampiran (Lampiran).

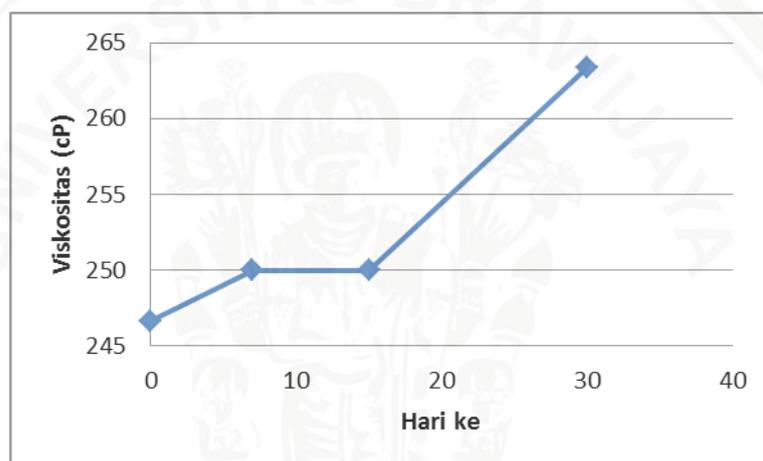
5.3.1.4. Hasil Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan untuk mengetahui tingkat kekentalan sediaan. Hal ini berkaitan dengan penerimaan sediaan nanoemulsi sebagai sediaan topikal pada pengguna. Instrumen yang digunakan adalah viskometer portabel merek Rion. Sampel diukur dengan cara spindel nomor 3 dimasukkan kedalam sampel. Ada tiga macam spindel yang dapat digunakan sesuai dengan besaran nilai viskositas sediaan. Hasil pengukuran nilai viskositas pada sampel uji stabilitas *on going* yaitu sebesar 246,67 – 263,33 cP, dengan nilai tertinggi yaitu pada hari ke-30 replikasi 3 sebesar 270 cP. Hasil pengukuran pada sampel uji stabilitas *heating cooling* menunjukkan rerata nilai viskositas adalah 230,00 – 246,67 cP

dengan nilai tertinggi pada hari ke-0 atau sebelum siklus dimulai yaitu sebesar 250 cP.

Tabel 5.10. Hasil uji viskositas

Hari ke	Viskositas
0	246,6667 ± 5,7740 cP
7	250,0000 ± 0,0000 cP
15	250,0000 ± 10,0000 cP
30	263,3333 ± 5,7740 cP
24 (<i>heating cooling</i>)	230,0000 ± 0,0000 cP



Gambar 5.10. Hasil uji viskositas pada uji stabilitas *on going*

Data yang diperoleh dari tabel 5.10 selanjutnya dianalisis statistik menggunakan perangkat lunak SPSS 20. Sebelum menentukan analisis statistik yang sesuai, terlebih dahulu sampel data diuji normalitas dan homogenitasnya. Uji normalitas dilakukan dengan uji saphiro-wilk karena jumlah data kurang dari 60. Analisis statistik yang digunakan adalah uji T-Test berpasangan untuk analisis nilai viskositas pada uji stabilitas *heating cooling* karena hanya memiliki 2 kelompok data. Analisis statistik *repeated ANOVA* digunakan untuk analisis nilai viskositas pada uji stabilitas *on going* karena memiliki 4 kelompok data. Data

yang telah diperoleh menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara pengamatan nilai viskositas pada hari ke-0 dan pada akhir pengamatan uji stabilitas *heating cooling* yang artinya sediaan nanoemulsi tidak stabil secara termodinamis apabila dinilai dari nilai viskositasnya. Sedangkan untuk uji stabilitas *on going*, hasil perhitungan nilai tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan yang disimpan selama 30 hari tetap stabil apabila ditinjau dari adanya perbedaan nilai viskositas.

a. Uji T-Test berpasangan

Sebelum dianalisis statistik dilakukan uji normalitas data, hasilnya adalah data memiliki distribusi normal yang ditunjukkan dengan nilai $p=0,382$ dan $p=0,498$. Hasilnya menunjukkan nilai $p=0,038$ dengan perbedaan rerata nilai viskositas adalah $16,6667 \pm 5,7735$ cP. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, sehingga dapat dikatakan pH sediaan tidak stabil secara termodinamis. Hasil uji terdapat pada lampiran (Lampiran).

b. Uji Repeated ANOVA

Sphericity test dilakukan untuk menentukan korelasi antar data tiap waktu menggunakan *Mauchly's Test of Sphericity*, hasilnya nilai $p<0,001$ sehingga tidak memenuhi syarat ini. Akan tetapi, masih dapat ditoleransi dengan menggunakan *Greenhouse-Geisser* dengan nilai $p=0,333$ yang artinya antar data masih ada korelasi. Uji normalitas dilakukan untuk masing-masing waktu pengambilan sampel, hasilnya seluruh waktu pengambilan sampel menunjukkan nilai $p>0,05$ sehingga distribusi data dinyatakan normal. Nilai dari uji ini untuk pengukuran viskositas pada sediaan nanoemulsi ekstrak daun teh adalah $p=0,577$ yang artinya tidak terjadi perubahan yang signifikan

dalam uji stabilitas, sehingga viskositas dinyatakan stabil. Hasil uji terdapat pada lampiran (Lampiran).

5.3.1.5. Hasil Uji Ukuran Droplet

Ukuran droplet merupakan parameter utama yang menentukan berhasil atau tidaknya sistem nanoemulsi terbentuk. Evaluasi dilakukan dengan menggunakan instrumen PSA (*Particle Size Analyzer*) Malvern. Sampel dimasukkan kedalam kuvet kemudian akan menerima sinar yang akan ditransmisikan. Hasil pengukuran droplet menunjukkan nilai ukuran droplet hari ke-0 adalah $75,5500 \pm 0,1473$ nm, sedangkan pemeriksaan pada hari ke-30 menunjukkan nilai $101,7667 \pm 0,1528$ nm. Sedangkan pada pemeriksaan ukuran droplet setelah sediaan nanoemulsi mengalami paparan 6 siklus suhu, ukurannya adalah $81,2167 \pm 0,26006$ nm.

Tabel 5.11. Hasil uji ukuran droplet

Hari ke	Ukuran droplet
0	$75,5500 \pm 0,1473$ nm
30	$101,7667 \pm 0,1528$ nm
24 (<i>heating cooling</i>)	$81,2167 \pm 0,2601$ nm

Data yang diperoleh dari tabel 5.11 selanjutnya dianalisis statistik menggunakan perangkat lunak SPSS 20. Sebelum menentukan analisis statistik yang sesuai, terlebih dahulu sampel data diuji normalitas dan homogenitasnya. Uji normalitas dilakukan dengan uji saphiro-wilk karena jumlah data kurang dari 60. Analisis statistik yang digunakan adalah uji T-Test berpasangan karena data hanya memiliki 2 kelompok data berdasarkan waktu pengamatannya. Data yang telah diperoleh menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara pengamatan

ukuran droplet pada hari ke-0 dan pada akhir pengamatan uji stabilitas *heating cooling*. Sedangkan untuk uji stabilitas *on going*, hasil perhitungan nilai tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan yang telah diberikan paparan suhu dan yang disimpan selama 30 hari mengalami perubahan yang signifikan akan tetapi masih masuk dalam batas penerimaan yang telah dipersyaratkan dalam tabel karakterisasi sediaan.

a. Uji T-Test berpasangan untuk uji stabilitas *heating cooling*

Untuk menentukan analisis statistik yang akan digunakan, dilakukan uji normalitas data, hasilnya adalah data memiliki distribusi normal yang ditunjukkan dengan nilai $p=0,114$ dan $p=0,770$. Hasilnya menunjukkan nilai $p<0,001$ dengan perbedaan rerata ukuran droplet adalah $5,6667 \pm 0,1447$ nm. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, sehingga dapat dikatakan ukuran droplet sediaan tidak stabil secara termodinamis. Hasil uji terdapat pada lampiran (Lampiran).

b. Uji T-Test berpasangan untuk uji stabilitas *on going*

Uji T-Test berpasangan diketahui untuk mengetahui signifikansi perbedaan ukuran droplet sediaan sebelum dilakukan uji stabilitas. Uji analisis ini dipilih karena hanya ada 2 kelompok data berdasarkan waktu pengamatannya data yang akan dianalisis secara statistik. Sebelumnya dilakukan uji normalitas data, hasilnya adalah data memiliki distribusi normal yang ditunjukkan dengan nilai $p=0,065$ dan $p=0,637$. Hasilnya menunjukkan nilai $p<0,001$ dengan perbedaan rerata ukuran droplet adalah $26,2167 \pm 0,1950$ nm. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, sehingga

dapat dikatakan ukuran droplet sediaan tidak stabil. Hasil uji terdapat pada lampiran (Lampiran).

5.3.1.6. Hasil Uji Indeks Polidispersitas

Indeks polidispersitas menunjukkan nilai persebaran droplet. Semakin mendekati 1,000 maka droplet diindikasikan mengalami penggumpalan. Nilai yang semakin mendekati 0 mengindikasikan persebaran yang baik. Nilai indeks polidispersitas yang paling baik ditunjukkan pada replikasi 2 sediaan nanoemulsi ekstrak daun teh yaitu sebesar 0,196. Nilai indeks polidispersitas memiliki kecenderungan semakin menurun selama penyimpanan dan setelah pemaparan suhu. Rerata nilai indeks polidispersitas untuk uji stabilitas *on going* adalah $0,2000 \pm 0,0036$ dan $0,2153 \pm 0,0092$ untuk uji stabilitas *heating cooling*. Nilai rerata indeks polidispersitas sediaan sebelum adanya perlakuan adalah $0,2263 \pm 0,0106$. Hasil evaluasi indeks polidispersitas sediaan nanoemulsi ekstrak daun teh dapat dilihat pada tabel 5.12.

Tabel 5.12. Hasil Uji indeks polidispersitas

Hari ke	Indeks polidispersitas
0	$0,2263 \pm 0,0106$
30	$0,2000 \pm 0,0036$
24 (<i>heating cooling</i>)	$0,2153 \pm 0,0092$

Data yang diperoleh dari tabel 5.12 selanjutnya dianalisis statistik menggunakan perangkat lunak SPSS 20. Sebelum menentukan analisis statistik yang sesuai, terlebih dahulu sampel data diuji normalitas dan homogenitasnya. Uji normalitas dilakukan dengan uji Saphiro-wilk karena jumlah data kurang dari 60. Analisis statistik yang digunakan adalah uji T-Test berpasangan karena data

hanya memiliki 2 kelompok data berdasarkan waktu pengamatannya. Data yang telah diperoleh tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan baik pada uji stabilitas *on going* maupun uji stabilitas *heating cooling*. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan stabil apabila ditinjau dari indeks polidispersitasnya.

c. Uji T-Test berpasangan untuk uji stabilitas *heating cooling*

Uji T-Test berpasangan diketahui untuk mengetahui signifikansi perbedaan indeks polidispersitas sediaan sebelum dilakukan uji stabilitas dengan setelah sediaan melalui 6 siklus paparan suhu tinggi dan suhu rendah. Uji analisis ini dipilih karena hanya ada 2 kelompok data berdasarkan waktu pengamatannya data yang akan dianalisis secara statistik. Sebelumnya dilakukan uji normalitas data, hasilnya adalah data memiliki distribusi normal yang ditunjukkan dengan nilai $p=0,083$ dan $p=0,850$. Hasilnya menunjukkan nilai $p=0,431$ dengan perbedaan rerata indeks polidispersitas adalah $0,0110 \pm 0,0195$. Hal ini menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan, sehingga dapat dikatakan indeks polidispersitas sediaan stabil secara termodinamis. Hasil uji terdapat pada lampiran (Lampiran).

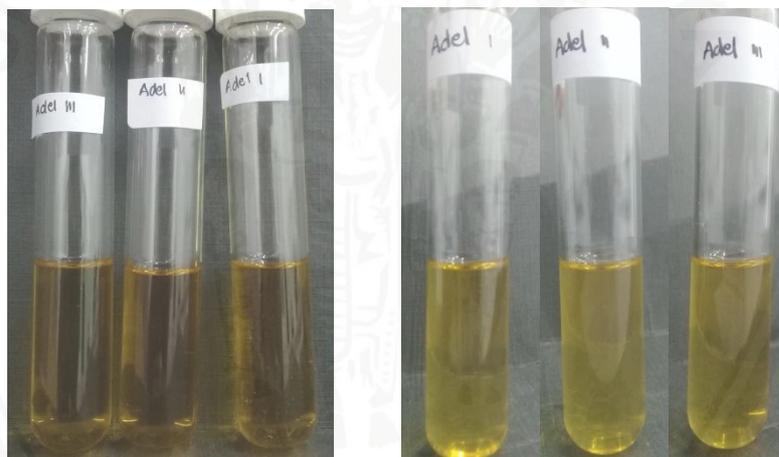
d. Uji T-Test berpasangan untuk uji stabilitas *on going*

Uji T-Test berpasangan diketahui untuk mengetahui signifikansi perbedaan indeks polidispersitas sediaan sebelum dilakukan uji stabilitas. Uji analisis ini dipilih karena hanya ada 2 kelompok data berdasarkan waktu pengamatannya data yang akan dianalisis secara statistik. Sebelumnya dilakukan uji normalitas data, hasilnya adalah data memiliki distribusi normal yang ditunjukkan dengan nilai $p=0,739$ dan $p=0,537$. Hasilnya menunjukkan

nilai $p=0,051$ dengan perbedaan rerata indeks polidispersitas adalah $0,0263 \pm 0,0107$. Hal ini menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan, sehingga dapat dikatakan indeks polidispersitas sediaan stabil. Hasil uji terdapat pada lampiran (Lampiran).

5.3.2. Hasil Evaluasi Uji Stabilitas Sentrifugasi

Sentrifugasi dilakukan pada sediaan untuk mengetahui pengaruh gravitasi terhadap kestabilan nanoemulsi yang diamati secara visual berupa adanya pemisahan fase. Uji sentrifugasi dilakukan selama 5 jam dengan kecepatan 3750 rpm. Hasil uji sentrifugasi yang telah dilakukan menunjukkan kestabilan yang ditandai dengan tidak adanya pemisahan fase. Hasil uji ditampilkan pada gambar.



(a)

(b)

Gambar 5.11. Hasil uji stabilitas sentrifugasi (a) sebelum (b) sesudah uji stabilitas

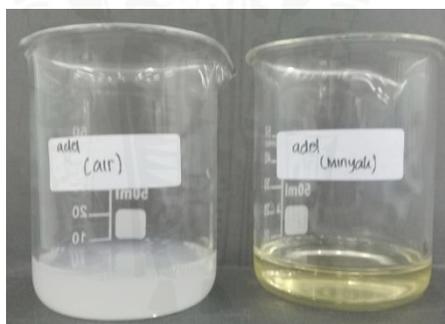
5.3.3. Hasil Evaluasi Tipe Nanoemulsi

Uji tipe nanoemulsi dilakukan untuk mengetahui tipe nanoemulsi yang terbentuk. Metode yang digunakan adalah pengenceran dengan menggunakan fase minyak berupa *castor oil* dan fase air berupa aquades serta dengan metode kertas saring. Pada metode kertas saring kecepatan persebaran dan luas permukaan sampel dibandingkan dengan fase minyak dan fase airnya. Hasil

yang diperoleh adalah tipe nanoemulsi ekstrak daun teh adalah air dalam minyak. Hal ini ditunjukkan dari kecepatan persebaran dan luas permukaannya yang mendekati *castor oil*. Hasil pada pengenceran menunjukkan bahwa pengenceran menggunakan fase minyak menghasilkan dispersi yang jernih, sedangkan dengan fase air menunjukkan dispersi yang keruh.



(a) (b)
Gambar 5.12. Hasil uji tipe nanoemulsi dengan metode kertas saring (a) uji stabilitas *on going* (b) uji stabilitas *heating cooling*



Gambar 5.13. Hasil uji tipe nanoemulsi dengan metode pengenceran

5.4. Emulsi Ekstrak Daun Teh Hijau

Emulsi ekstrak daun teh hijau dibuat berdasarkan formula yang sama dengan nanoemulsi dengan menghilangkan komponen PEG 400 sebagai kosurfaktan. Formula emulsi adalah air 13,0250%, *castor oil* 8,4507% dan surfaktan 52,4098%. Metode pembuatannya menggunakan *ultra-turrax* dengan

kecepatan 12.000 rpm selama 1 jam. Emulsi yang telah terbentuk selanjutnya diuji organoleptis, ukuran droplet dan indeks polidispersitas.

5.4.1. Uji Organoleptis Emulsi Ekstrak Daun Teh Hijau

Uji organoleptis dilakukan setelah pembuatan emulsi. Pengamatan dilakukan oleh 3 orang pada kondisi yang sama. Parameter yang diamati adalah warna, bau dan bentuk sediaan. Hasilnya menunjukkan membentuk emulsi yang kental menyerupai gel, berwarna kuning dan tidak berbau.



Gambar 5.14. Emulsi Ekstrak Daun Teh Hijau

5.4.2. Uji Ukuran Droplet dan Indeks Polidispersitas Emulsi Ekstrak Daun Teh Hijau

Uji ukuran droplet dan indeks polidispersitas dilakukan setelah pembuatan dan tidak ada pengujian setelah penyimpanan. Uji dilakukan dengan menggunakan PSA. Hasil uji ukuran droplet dan indeks polidispersitas pada tabel

Tabel 5.13. Hasil Uji Ukuran Droplet dan Indeks Polidispersitas Emulsi

Replikasi	Ukuran Droplet	Indeks Polidispersitas
1	315,5 nm	0,529
2	332,2 nm	0,461
3	296,0 nm	0,417

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1. Pembahasan hasil penelitian

Bahan aktif untuk penelitian ini adalah daun teh hijau (*Camellia sinensis*) yang diperoleh dari PT Argo Lestari Surabaya yang kemudian diekstraksi dengan proses maserasi menggunakan etanol 96% yang menghasilkan ekstrak kental daun teh hijau. Proses ekstraksi dilakukan di UPT Materia Medika Batu. Selanjutnya dilakukan skrining terhadap kandungan fitokimia ekstrak berupa uji kualitatif identifikasi kandungan flavonoid. Uji ini dilakukan dengan menggunakan reagen HCl pekat dan serbuk Mg, hasilnya adalah ekstrak daun teh hijau tersebut mengandung flavonoid yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna larutan menjadi merah orange (Lampiran).

Percobaan yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi beberapa tahap, yaitu pra-optimalisasi dengan menggunakan perbandingan surfaktan : kosurfaktan yang bervariasi, optimalisasi formula nanoemulsi ekstrak daun teh dengan perangkat lunak *Design Expert 10* dan yang terakhir evaluasi dan uji stabilitas sediaan nanoemulsi ekstrak daun teh. Masing-masing komponen nanoemulsi yang digunakan dalam penelitian ini adalah *castor oil* sebagai fase minyak, tween 80 dan span 80 sebagai surfaktan, PEG 400 sebagai kosurfaktan, aquades dan bahan aktifnya berupa ekstrak etanol 96% daun teh (*Camellia sinensis*). Pertama, dilakukan proses pra-optimalisasi dengan membuat tiga perbandingan surfaktan:kosurfaktan yaitu 1:1 ; 1:2 dan 2:1 dimana masing-masing perbandingan tersebut dioptimalisasi dengan menggunakan perbandingan fase minyak : Smix (campuran surfaktan:kosurfaktan) 1:9 ; 2:8 ; 3:7 ; 4:6 ; 5:5 ; 6:4 ; 7:3 ; 8:2 dan 9:1. Pada proses ini hanya diperoleh satu titik yaitu titik 1:9 pada perbandingan Smix 2:1 yang dapat membentuk system nanoemulsi yang

ditandai dengan pengamatan visual berupa terbentuknya larutan yang jernih dan tidak memisah setelah dilakukan titrasi dengan titran aqudes. Sehingga diperlukan penambahan satu titik untuk mengetahui batas tertinggi dan terendah dari perbandingan tersebut yang dapat membentuk sistem nanoemulsi. Penambahan dilakukan pada titik diatas perbandingan 1:9 yaitu menggunakan perbandingan 0,5:9,5 yang juga menghasilkan larutan yang jernih yang dapat diduga sebagai nanoemulsi. Perbandingan Smix 1:1 dan 1:2 tidak dapat membentuk sistem nanoemulsi, hal ini disebabkan karena penambahan PEG 400 sebagai kosurfaktan yang jumlahnya cenderung lebih banyak dibandingkan dengan jumlah kombinasi surfaktan yang ada. Penambahan kosurfaktan yang terlalu banyak menyebabkan surfaktan tidak dapat bekerja sebagai emulgator untuk membentuk droplet karena terhambat oleh adanya mobilitas ekor hidrokarbon yang tinggi. Penambahan kosurfaktan diperlukan dalam pembuatan nanoemulsi dengan tujuan untuk menurunkan tegangan antar muka fase air dan fase minyak pada permukaan droplet dan menjaga stabilitas. Sehingga kosurfaktan harus ditambahkan dalam jumlah tertentu dimana jumlahnya akan tergantung jenis surfaktan yang digunakan (Gupta, *et al*, 2010).

Batas tertinggi dan terendah untuk masing-masing komponen yang telah diperoleh dari pra-optimasi selanjutnya digunakan sebagai data untuk membentuk formula nanoemulsi dengan menggunakan bantuan dari perangkat lunak *Design Expert 10*. Perangkat lunak ini akan memberikan keluaran berupa formula yang terdiri dari prosentase masing-masing komponen. Pada proses ini, karakteristik yang digunakan untuk menentukan optimalnya formula adalah persen transmitan. Pemilihan persen transmitan sebagai karakteristik penentu adalah karena salah satu definisi dari nanoemulsi adalah jernih yang dapat dibuktikan dengan nilai persen transmitan. Selain itu, adanya keterbatasan dalam penelitian sehingga hanya dapat digunakan satu karakteristik dalam

optimasi dengan menggunakan perangkat lunak *Design Expert 10*. Perangkat lunak *Design Expert 10* akan memberikan sejumlah rekomendasi formula disertai dengan prediksi persen transmittan dan nilai *desirability*. Nilai *desirability* merupakan nilai fungsi yang menunjukkan kemampuan formula prediksi tersebut untuk memenuhi persyaratan nilai persen transmittan yang telah ditetapkan sebelumnya. Nilai *desirability* yang baik adalah yang paling mendekati 1,00. Formula yang telah diperoleh memiliki nilai *desirability* 0,9999 sehingga dianggap memiliki kepatutan yang tinggi sehingga layak untuk dikatakan sebagai formula yang optimal dari 31 rekomendasi formula yang diberikan oleh perangkat lunak tersebut. Setelah dilakukan uji validasi terhadap formula tersebut didapatkan ketetapan yang menunjukkan pengaruh masing-masing komponen penyusun terhadap persen transmittan dari formula. Hasil dari ketetapan tersebut adalah masing-masing komponen bahan berperan untuk meningkatkan persen transmittan.

Bahan aktif berupa ekstrak daun teh dimasukkan ke dalam formula optimal yang telah diperoleh pada tahapan sebelumnya. Ekstrak daun teh sebagai anti penuaan terutama dengan mekanisme sebagai *radial scavenging* yaitu penetral oksigen reaktif. Selain itu juga dapat mencegah lipoperoksidasi pada mamalia, serta mencegah efek berbahaya yang ditimbulkan oleh sinar UV (Ivana *et al*, 2012). Kandungan polifenol berupa katekin pada daun teh hijau merupakan agen penangkap radikal bebas (*Free radical scavenger*) yang poten karena memiliki gugus hidroksil yang dapat membentuk kompleks dengan radikal bebas dan menetralkannya (Ichihasi, *et al*, 2000). Ekstrak daun teh dapat digunakan sebagai anti penuaan pada dengan dosis maksimal 3% (Bergfield, *et al*, 2014). Oleh karena itu digunakan ekstrak daun teh pada dosis 1% untuk mencegah adanya toksisitas dan menjaga aseptabilitas nanoemulsi agar

warnanya tidak terlalu gelap. Selain itu pada dosis 3% terjadi iritasi pada hewan coba tikus putih galur wistar (Nishan, 2012).

Surfaktan yang digunakan adalah kombinasi tween 80 dan span 80 dengan HLB 13,9 kombinasi HLB 13,9 dipilih setelah melalui proses percobaan dimana HLB awal yang ditetapkan adalah 6,0 akan tetapi HLB tersebut tidak dapat membentuk sistem nanoemulsi berupa larutan yang jernih. Sehingga dilakukan perubahan nilai HLB sampai memperoleh sistem nanoemulsi berupa larutan yang jernih dalam perbandingannya. Tween 80 dan span 80 digunakan sebagai surfaktan karena telah banyak digunakan sebagai surfaktan untuk sediaan farmasi ditinjau dari faktor keamanannya dan sifatnya yang biokompatibel. Kedua surfaktan ini juga merupakan surfaktan nonionik yang memiliki kelebihan tidak terpengaruh pada pH sehingga ketika sediaan nanoemulsi yang terbentuk memiliki nilai pH yang agak basa kerja surfaktan ini tidak akan terpengaruh. Surfaktan non-ionik juga dapat digunakan untuk membentuk sistem dispersi emulsi *o/w* ataupun *w/o* sehingga lebih fleksibel dalam penggunaannya (Azeem, *et al.*, 2008).

Fase minyak yang digunakan adalah *castor oil* atau minyak biji jarak. Minyak ini dipilih karena merupakan *natural oil* yang memberikan efek menurunkan TEWL (*Transepidermal water loss*) pada kulit (Fitriani, *et al.*, 2016). *Castor oil* telah banyak digunakan dalam dunia kefarmasian sebagai pelarut dalam sediaan injeksi, sehingga minyak ini dapat dipastikan aman (Rowe, *et al.*, 2009). Viskositas dari *castor oil* tidak terlalu tinggi maupun terlalu rendah sehingga dapat membantu proses homogenisasi dan mencegah adanya koalesensi setelah formulasi. Jenis minyak yang digunakan sebagai fase minyak akan berkaitan dengan stabilitas nanoemulsi yang disebabkan adanya pengaruh terhadap ketebalan lapisan antarmuka yang akan mempengaruhi ukuran droplet yang terbentuk (Delmas, *et al.*, 2011).

Kosurfaktan yang digunakan adalah PEG 400. PEG 400 sifat hidrofilik yang relatif tinggi sehingga dapat digunakan menjadi kosurfaktan dalam penggunaan surfaktan nonionik seperti sorbitan dan ester gliserin dan penggunaannya sebagai bahan farmasi dapat ditoleransi dengan baik (Yingnian *et al.*, 2013). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Jain dan Nagori (2015), tentang komponen dalam mikroemulsi, penambahan PEG sebagai kosurfaktan dalam kombinasi surfaktan tween 80 dan span 80 dalam perbandingan 80:20 mampu meningkatkan kestabilan sistem monofase (mikroemulsi). PEG 400 mampu membantu meningkatkan kelarutan dari bahan aktif karena dapat digunakan sebagai *wetting agent* dalam media pendispersi serta dapat meningkatkan fleksibilitas lapisan surfaktan yang membentuk droplet (Lawrence, *et al.*, 2000).

Metode pembuatan nanoemulsi yang digunakan menggunakan pengadukan energi tinggi, yaitu dengan menggunakan ultraturrax dengan kecepatan 12.000 rpm selama 1 jam. pengadukan ini bertujuan untuk membentuk droplet yang berukuran nano. Penggunaan energi tinggi dapat membentuk turbulensi yang intens dengan getaran yang cukup kuat sehingga terjadi gesekan antar partikel yang menyebabkan droplet yang berukuran besar dapat terpecah menjadi droplet berukuran nano (Jin, *et al.*, 2018). Proses pengadukan cukup lama yaitu 1 jam dengan dibagi menjadi 30 menit pertama, kemudian dilanjutkan dengan 30 menit kedua setelah diistirahatkan selama 15 menit. Pengadukan kedua bertujuan untuk memperkecil droplet yang telah terbentuk sebelumnya menjadi lebih kecil. Selain itu pengadukan dibagi menjadi dua waktu juga bertujuan untuk menghilangkan busa yang terbentuk yang menyebabkan banyak udara yang terjebak sehingga proses pengecilan ukuran partikel tidak berjalan maksimal dan proses pengadukan menjadi lebih sulit (Lachman, *et al.*, 1994).

Formula yang telah diperoleh dan telah dibentuk menjadi sediaan nanoemulsi ekstrak daun teh selanjutnya dilakukan karakterisasi. Hasil karakterisasi yang telah diperoleh kemudian dibandingkan dengan spesifikasi yang telah ditentukan sebelumnya pada tabel 4.4. Hasil karakterisasi nanoemulsi ekstrak daun teh memenuhi spesifikasi yaitu berwarna kuning, jernih, cair dan tidak berbau, ukuran droplet $75,5500 \pm 0,1437$ nm dengan indeks polidispersitas $0,2263 \pm 0,0061$, viskositas sebesar $246,6667 \pm 5,7740$ cP, kecuali pada persen transmittan dan pH. Persen transmittan yang diharapkan adalah lebih dari 99% akan tetapi persen transmittan sediaan nanoemulsi adalah $69,7667 \pm 0,5774\%$ dan pH $8,0233 \pm 0,2517$. Rendahnya persen transmittan ini disebabkan karena bahan aktif yang digunakan berupa ekstrak dengan dosis sebesar 1%. Ekstrak daun teh memberikan warna kuning kehijauan yang cukup pekat sehingga menurunkan persen transmittan sediaan. Nilai pH sediaan menunjukkan sediaan bersifat basa, sedangkan sediaan diharapkan berada pada rentang 4-6 yang merupakan pH kulit. Akan tetapi karena formula nanoemulsi ini tidak ditujukan untuk penggunaan langsung dan masih perlu diformulasikan kembali sebelum diaplikasikan maka pH tersebut masih dapat diterima dan dapat dilakukan penyesuaian pada proses formulasi berikutnya. Setelah dilakukan karakterisasi fisik, maka dilakukan uji stabilitas jangka panjang, *heating cooling* serta sentrifugasi. Uji stabilitas *on going* dilakukan selama 30 hari, uji stabilitas *heating cooling* selama 6 siklus dimana masing-masing siklus terdiri dari 2 x 48 jam dan uji sentrifugasi dilakukan selama 5 jam.

Hasil uji stabilitas *on going* menunjukkan stabilitas kinetik, yaitu stabilitas yang dipengaruhi oleh lamanya waktu. Pada hasil uji stabilitas ini, tidak ada perubahan yang signifikan pada hari pertama setelah pembuatan sediaan dengan sediaan yang telah disimpan selama 30 hari pada suhu dan kelembapan terkontrol. Hasil organoleptis yaitu berwarna kuning, jernih, berbentuk cair dan

tidak berbau. Hasil seluruh uji stabilitas *on going* memenuhi spesifikasi yang telah ditetapkan kecuali pada pH dan persen transmitan.

Hasil uji stabilitas *heating cooling* menunjukkan pengaruh suhu terhadap karakteristik nanoemulsi. Uji stabilitas *heating cooling* digunakan untuk mengetahui kestabilan secara termodinamis, artinya kestabilan yang tidak dipengaruhi oleh waktu. Hasil uji yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan sebelum dan sesudah sediaan terpapar suhu yang ekstrim. Akan tetapi tidak terjadi pemisahan fase, sehingga formula yang telah dibuat dapat dilanjutkan untuk uji stabilitas *on going* (Silva, Miguel dan Antonio, 2015).

Persen transmitan dari masing-masing replikasi nanoemulsi diuji dalam beberapa waktu. Persen transmitan yang ideal adalah yang paling mendekati 100%. Persen transmitan sediaan diawal adalah sebesar $69,7667 \pm 0,5774\%$ setelah penambahan ekstrak daun teh. Persen transmitan biasanya akan berkorelasi dengan ukuran partikel sebagaimana pada uji stabilitas *heating cooling* yang menunjukkan persen transmitan menurun seiring dengan ukuran droplet yang meningkat (Parmar, *et al.*, 2011). Ukuran droplet yang meningkat menyebabkan turbiditas meningkat sehingga akan meurunkan nilai persen transmitan. Namun pada penelitian ini persen transmitan semakin meningkat sedangkan ukuran droplet juga meningkat pada uji stabilitas *on going*. Hal ini dapat disebabkan karena pengaruh suhu ruang yang berubah-ubah ketika pemeriksaan nilai persen transmitan dan kondisi instrumen.

Viskositas digunakan untuk mengetahui besar tahanan suatu cairan untuk mengalir. Hasil uji viskositas memiliki pola yang berbeda. Viskositas meningkat pada uji stabilitas *on going* dan viskositas menurun pada uji stabilitas *heating cooling*. Viskositas nanoemulsi yang terbentuk sendiri cukup besar yaitu sebesar $246,6667 \pm 5,7740$ cP, hal ini disebabkan karena jumlah minyak yang cukup banyak sehingga aliran dari nanoemulsi akan terhambat. Selain itu peningkatan

ukuran droplet juga akan mempengaruhi peningkatan viskositas. Viskositas yang menurun pada uji stabilitas *heating cooling* disebabkan karena pengaruh suhu tinggi yang diberikan. Suhu yang tinggi dapat memicu terjadinya pemecahan rantai karbon pada minyak akibat oksidasi sehingga viskositasnya akan menurun (Jin, *et al.*, 2018).

Hasil uji ukuran droplet mengalami peningkatan ukuran dari pembuatan sampai setelah uji stabilitas. Peningkatan ukuran droplet ini dapat terjadi karena adanya koalesensi yang disebabkan oleh peningkatan kontak antar lapisan film/layer dari droplet. Selain itu juga dapat disebabkan karena adanya pertumbuhan droplet yang berukuran besar akibat disisipi droplet yang berukuran lebih kecil karena adanya perbedaan potensial antar droplet yang berbeda ukuran. Ketika perbedaan potensial ini meningkat, droplet yang berukuran lebih kecil akan cenderung memberikan material menuju ke droplet yang berukuran lebih besar sehingga kedua droplet tersebut akan menyatu. Hal ini juga berarti distribusi ukuran partikel yang dinilai dengan indeks polidispersitas akan terpengaruh dan meningkat karena adanya droplet yang ukurannya membesar dari ukuran sebelumnya akan tetapi masih ada juga droplet yang berukuran kecil (Delmas, *et al.*, 2011). Peningkatan ukuran droplet juga disebabkan adanya peningkatan energi Gibbs sebagai akibat dari adanya gerak Brown yang meningkat. Peningkatan gerak Brown terjadi karena ukuran partikel yang semakin kecil meningkatkan gerak Brown (Ansel, 2011).

Hasil uji stabilitas sentrifugasi digunakan untuk mengamati adanya pemisahan fase yang menunjukkan adanya ketidakstabilan nanoemulsi selama setahun yang dipengaruhi oleh gravitasi. Uji sentrifugasi memberikan daya untuk meningkatkan gerak Brown sehingga masing-masing droplet dapat saling berinteraksi Hasilnya menunjukkan bahwa tidak ada pemisahan ataupun perubahan penampakan pada nanoemulsi sehingga dapat dikatakan nanoemulsi

stabil. Uji sentrifugasi merupakan salah satu uji pertama yang digunakan untuk menentukan bahwa formula tersebut stabil dan optimal sebelum dilanjutkan dengan uji *heating cooling* dan penyimpanan *on going* (Silva, Miguel dan Antonio, 2015).

Uji tipe nanoemulsi dilakukan untuk mengetahui jenis nanoemulsi yang terbentuk dan terjadinya inversi. Hasil tipe nanoemulsi adalah air dalam minyak dan tidak berubah setelah dilakukan uji stabilitas dan tidak terjadi inversi. Tipe nanoemulsi dibuat dalam air dalam minyak karena ekstrak daun teh mengandung katekin yang larut dalam air, akan tetapi untuk pengantaran menuju dermal sebagai anti penuaan perlu suatu sistem pengantaran sehingga dibuat dalam sediaan nanoemulsi. Akan tetapi pada pembentukannya, sistem nanoemulsi ini mengalami inversi, dimana seharusnya pada HLB 13,9 yang digunakan maka nanoemulsi yang terbentuk adalah *w/o* akan tetapi yang terbentuk adalah *o/w*. Inversi ini terjadi sebagai akibat komposisi fase air yang seharusnya dianggap sebagai fase internal lebih banyak yaitu sebesar 86,3083% dengan jumlah total fase minyak adalah 13,6917%. Inversi dapat terjadi jika jumlah fase internal lebih dari 40%, meskipun ada beberapa formula yang dapat mentoleransi inversi dengan jumlah fase internal samoi 60% (Jones, 2008).

Pembuatan emulsi ekstrak daun teh hijau dilakukan untuk membandingkan pengaruh dari PEG 400 dalam proses pembentukan droplet berukuran nano untuk sistem nanoemulsi. Hasilnya adalah emulsi yang terbentuk memiliki ukuran droplet yang lebih besar dibandingkan dengan yang ditambahkan PEG 400 dalam formulanya. Hal ini menunjukkan bahwa ukuran PEG 400 dapat membantu menurunkan tegangan permukaan dari surfaktan untuk membentuk droplet yang lebih kecil. Hasil uji organoleptis menunjukkan bahwa emulsi berbentuk seperti gel.

6.2. Implikasi Bidang Farmasi

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat dikemukakan implikasi bahwa PEG 400 dapat digunakan sebagai kosurfaktan untuk membantu kestabilan sistem nanoemulsi ekstrak daun teh pada perbandingan tertentu. Sediaan nanoemulsi ekstrak daun teh ini dapat dikembangkan sebagai inovasi kosmetik untuk mencegah penuaan. Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai masukan untuk pengembangan kosmesetikal terutama untuk mencegah penuaan.

6.3. Keterbatasan Penelitian

Beberapa evaluasi untuk sediaan nanoemulsi masih perlu ditambahkan seperti uji morfologi untuk mengetahui stabilitas sediaan nanoemulsi secara kinetik, uji difusi untuk mengetahui efektifitas nanoemulsi dalam melepaskan ekstrak daun teh dan uji aktivitas antioksidan untuk mengetahui IC_{50} ekstrak daun teh dalam sediaan nanoemulsi sebagai antioksidan.

BAB 7

PENUTUP

7.1. Kesimpulan

Formula nanoemulsi ekstrak daun teh yang optimal adalah formula dengan perbandingan surfaktan (tween 80 dan span 80):kosurfaktan (PEG 400) 2:1 dengan masing-masing komponen air 13,0250%, *castor oil* 8,4507%, surfaktan 52,4098% dan PEG 400 26,1145% yang memiliki karakteristik berwarna kuning, jernih, cair dan tidak berbau, ukuran droplet $75,5500 \pm 0,1437$ nm dengan indeks polidispersitas $0,2263 \pm 0,0061$, viskositas sebesar $246,6667 \pm 5,7740$ cP, yang sesuai dengan spesifikasi awal dan persen transmitan $69,7667 \pm 0,5774\%$ dan pH $8,0233 \pm 0,2517$ yang tidak sesuai dengan spesifikasi. PEG 400 dapat membantu surfaktan untuk membentuk droplet berukuran nanoemulsi akan tetapi pada prosentasi 26,1145% belum optimal membantu meningkatkan stabilitas sediaan. Hasil uji stabilitas menunjukkan sediaan nanoemulsi stabil secara termodinamis dan kinetik selama 30 hari.

7.2. Saran

Optimasi nanoemulsi yang dilakukan dengan menggunakan *Design Expert* 10 dapat ditambahkan karakteristik lain selain persen transmitan untuk menentukan formula yang optimal. Selain itu sediaan nanoemulsi dikembangkan dan diformulasikan kembali menjadi sediaan yang siap diaplikasikan kepada pengguna seperti serum.

Daftar Pustaka

- Ansel, C. Howard, Nicholas, P and Loyd Allen, J. 2011. *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery System 9th Ed.* Lippincott William & Wilkins. New York.
- Anton N, Benoit JP, Saulnier P. 2008. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates-a review. *Journal of Control Release Drugs* (128) :185–199.
- Anugrah, I. Setiaji, 2003, *ASEAN Free Trade Area (AFTA), Otonomi Daerah dan Daya Saing Perdagangan Komoditas Pertanian Indonesia*, Forum Penelitian Agroekonomi Vol.21 (1) : 1-13.
- Ardhie, Ari Muhammad. 2011. Radikal Bebas dan Peran Antioksidan dalam Mencegah Penuaan. *Scientific Journal of Pharmaceutical Development and Medical Application* Vol.24(1) : 4-9.
- Azeem, Adnan, M. Rizwan, Farhan J.A., Zeenat I., and Roop K.K. 2008. Nanoemulsion Components Screening and Selection : a Technical Note. *AAPS PharmSciTech* Vol.10(1).
- Balentine DA, Harbowy ME, and Graham HN. *Tea: The plant and its manufacture; chemistry and consumption of the beverage. Spiller GA.In: Caffeine.* Boca Raton: CRC Press; 1998.
- Bergfield, Wilma F., Donald V. Belsito. Curtis D. Klassen, Daniel C. Liebler, Ronald A. Hill, James G. Marks, et al. 2014. *Tentative Report for Public Review. Safety Assesment of Camellia Sinensis-Derived Ingredients Used in Cosmetics.* Cosmetic Ingredient Reviewer : Washington DC.
- Cheong, Jo Won, Park M.H., Kang G.W., Ko J.H., and Seo You Jin. 2005. Determination of Cathecin Compounds in Korean Green Tea under Various Extraction by HPLC. *Bull. Korean Chem. Soc.* Vol.26(5) : 747-754.

- Christofori, MRR., Thellie Ponto, Eman, Jeffery EG, Heather AE, and Michael S. Roberts. 2017. Topical Nano and Microemulsions for Skin Delivery. *MDPI Pharmaceutics* Vol.9(37) : 1-25.
- Delmas, Thomas, Helene P., Anne C.C., Issabele T., F. Vinet. 2011. How to Prepare and Stabilize Very Small Nanoemulsion. *Langmuir Article American Chemical Society* Vol.27 (5) : 1683-1693.
- DepKes RI. 2014. *Farmakope Indonesia Edisi V*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Djuanda Adhi., 2007., *Ilmu Penyakit Kulit Dan Kelamin*. Edisi kelima. Balai Penerbit FKUI. Jakarta.
- Fitriani, Endang Wahyu, Erlina Imelda, C. Kornelis dan Christina Avanti. 2016. Karakterisasi dan Stabilitas Fisik Mikroemulsi Tipe A/M dengan Berbagai Fase Minyak. *Pharm Sci Res* Vol.3 (1) : 31-45.
- Ganceviciene, Ruta, Aikaterini I. Liakou, Athanasios Theodoridis, Evgenia Makrantonaki and Christos C. Zouboulis. 2012. Review Article : Skin Anti-Aging Strategies. *Journal of Dermato-Endocrinology* Vol.4 (3).
- Garud, Akanksha, Deepti Singh, Navneet Garud. 2012. Solid Lipid Nanoparticles (SLN) : Method, Characterization and Applications. *Int. Current Pharmaceutical J.* Vol.1(11) : 384-393.
- 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*.
- Gupta, P.K., Gupta S., Pandit J.K., Kumar A., dan Sawaroop, P. 2010. Pharmaceutical Nanotechnology Novel Nanoemulsion High Energy Emulsification Preparation, Evaluation and Application. *The Pharma Research* Vol.2010 (3) : 117-138.
- 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.

- Harika K, dkk. 2015. Formulation and Evaluation of Nanoemulsion of Amphotericin B. *International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences*. ISSN: 2277 – 2782; 5(4) : 114-122.
- Hassan, Reza. 2011. Nanoemulsion as a Novel Transdermal Drug Delivery System. *Int. Journal of Pharm. Sciences and Reasearch* Vol.2(8) : 1938-1946.
- Ichihashi M, Ahmed NU, Budiyanto A, et al. Preventive effect of antioxidant on ultraviolet-induced skin cancer in mice. *J Dermatol Sci* 2000;23:S45-S50.
- Ivana, Binic, Victor L., Millanka Ljubenovic, Jelena Mojsa and Dusan Sokolovic. 2012. Review Article. Skin Ageing : Natural Weapons and Strategies. *Evidence Based Complementary and Arletrnative Medicine*.
- Jain, Sourabh and Nagori, Badri P. 2015. Utility of in-silico Investigations and Systematic Selection of Components for the Development of diacerein microemulsion. *Pelagia Research Library Der Pharmacia Sinica* Vol.6 (12) : 39-47.
- 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.
- Jin, Hua, Xiayou W., Zijing C., Yangyang Li, Chang Liu and Jing Xu. 2018. Fabrication of β -conglycinin-stabilized Nanoemulsions via Ultrasound Process and Influence of SDS and PEG 1000 co-emulsifiers on The Physicochemical Properties of Nanoemulsions. *FOOD Research International* 106 : 800-808.
- Jones, David. 2008. *FASTtrack Pharmaceuticals-Dosage Form and Design*. Pharmaceutical Press. London.
- Kale, Santos Nemichand, Sharada, Laxman Dore. 2017. Emulsion, Micro Emulsion and Nano Emulsions : A Review. *Systemic Reviews in Pharmacy* Vol.8(1) : 39-47.

- Klang, V, Matsko N., Raupach K., El-Hagin N., Valenta C. 2011. Development of Sucrose stearate-based Nanoemulsions and Optimisation Through Gamma-cyclodextrin. *Eur. J. Pharm. Biopharm* Vol.79 : 58-67.
- Kumar, B.Suthradar, dan ML Amin. 2013. Nanoemulsions : Increasing Possibilities in Drug Delivery. *European Journal of Nanomedicine* 5 (2) : 97-110.
- Lachman L, Lieberman HA, Kanig JL. 1994. *Teori dan Praktek Farmasi Industri. Edisi Ketiga Vol. III. Diterjemahkan oleh Siti Suyatmi.* UI Press. Jakarta.
- Lawrence, M.J. dan Ress G.D. 2000. Microemulsion Based Media as Novel Delivery System. *Drug Delivery Rev* Vol.45(1) : 89-121.
- Masaki, Hitoshi. 2010. Role of Antioxidant in The Skin : Anti-Aging Effects. *Journal of Dermatological Science* Vol.58(2) : 85-90.
- Merrie, Natalia. 2012. Uji Stabilitas Fisik dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) yang diformulasikan Sebagai Sediaan Nanoemulsi Gel. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia.
- Monteiro, dkk. 2012. Development And Characterization Of A New Oral Dapsone Nanoemulsion System: Permeability And In Silico Bioavailability Studies. *International Journal of Nanomedicine.* (7) : 5175-5182.
- Nishan, Rai, Jigisha Anand, Bhagwati Upadhyaya and Pramod Rawat. 2015. Biochemical Characterization and Pharmacognostic evaluation of Purified Cathecins in Green Tea (*Camellia sinensis*) cultivar of India. *Biotech* Vol.3 (5) : 285-294.
- Okoro, Uchechi, Jhon DN., Anthon A.A. 2014. Application of Nanotechnology in Drug Delivery. *inTech Open Science Publication* Chapter 6 : 192-236.
- Oliveira BF, Nogueira Machado JA, and Chaves MM. 2010. The Role of Oxidative Stress in The Aging Process. *Scientific World Journal* Vol.15(10) : 1121-1128.

- Parmar, Nitin, Neelam S., Saiman A., and Kanchan Kohli. 2011. Study of Cosurfactant Effect on nanoemulsifying Area and Development of Lercanadipine Loaded (SNEDDS) Self Nanoemulsifying Drug Delivery System. *Colloids and Surfaces B : Biointerfaces* Vol.86 : 327-338.
- Patil, Swapnil, Pallavi M. Nigade, and Shrada S. Tiwari. 2012. Self Emulsifying Drug Delivery System (SEDDS) : A Review. *International Journal of Pharmacy and Biological Science* Vol.2(2) : 42-52.
- Pouya, Parseai, Yazdan Asadi, Reza K. Boroujeni, M.Rafieinian kopaei. 2013. Effects of *Camellia sinensis* Ethanolic Extract on Histometric and Histopathological Healing Process of Burn Wound in Rat. *Middle-East Journal of Scientific Reasearch* Vol.13 (1) : 14-19.
- Rachmawati, J, Jufri M, Binu A. 2004. Formulasi Gameksan dalam Bentuk Mikroemulsi. *Majalah Ilmu Kefarmasian* Vol.1(3) : 160-174.
- Resende, Kella Xavuer, Marcos AC, Anselmo Gomes de O., and Maria Virginia S. 2008. Effect of Cosurfactant on The Supramolecular Structure and Physicochemical Properties of Non-Ionic Biocompatible Microemulsions. *Brazilian Journal of Pharmaceuticals Science* Vol.44(1) : 35-43.
- Rowe, R, Sheskey, Paul J., Quinn, Mariann E. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients 6th Edition*. Pharmaceutical Press. London.
- Rustanti, Elly, Akyunul J., dan AG Fasya. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Katekin dari Daun Teh (*Camellia sinensis*) terhadap Bakteri *Micrococcusluteus*. *ALCHEMY* Vol.2(2) : 138-149.
- 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 Sonal, Sushama Talegaonkar, dan Dr B.K Razdan. 2014. Nanoemulsion: Formulation Methods and Stability Aspects. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* ISSN: 2278-4357, 3(2): 2214-2228.

- Silva, Helder D., Miguel A.C., and Antonio A Vicente. 2015. Influence of Surfactant and Processing Conditions in The Stability of Oil in Water Nanoemulsions. *Journal of Food Engineering* Vol.167 : 89-98.
- Sinko, Patrick. 2011. *Martin's Physical Pharmacy and Pharmaceuticals Sciences 6th Edition*. Lippincot William & Wilkins: Philadelphia.
- Stephanie. 2015. Skripsi : *Pengaruh Variasi Fase Minyak Virgin Coconut Oil dan Medium-Chain Triglycerides Oil Terhadap Stabilitas Fisik Nanoemulsi Minyak Biji Delima dengan Kombinasi Surfaktan Tween 80 dan Kosurfaktan PEG 400*. Universitas Sanata Dharma. Jogjakarta.
- 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.
- Surached, Thitimula, Pimolpan P., Saruth N., Rapepol B., Jiarapon L., and Patchreenart S. 2017. *Camellia sinensis* L. Extract and Its Potential Beneficial Effects in Antioxidant, Anti-Inflammatory, Anti-Hepatotoxicity and Anti-Tyrosinase Activities. *MDPI Molecules Journal* Vol.22(401).
- Tamsyn, SA Thring, Pauline Hili, Declan PN. 2009. Anti-Collagenase, Anti-elastase and Antioxidant Activities of Extracts from 21 Plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine* Vol.9(27).
- Ulfhak, Bergman Fundin. 2002. Impairment of Peripheral sensory Innervations in Senescence Aging. *Auton Neurosensory* Vol.96 : 43-49.
- Verma, Ashni, Sukhdevs Singh, Rapinder Kaur and Upendra K.J. 2013. Topical Gels as Drug Delivery System : A Review. *Int. J. Pharm. Science* Vol.23(2) : 374-382.
- Wahyuningsih, I dan Purwanti, W. 2015. Optimasi Perbandingan Tween 80 dan Polietilen Glikol 400 pada Formula Self Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Minyak Biji Jinten Hitam. *Pharmacy* Vol.2(2) : 29-35.
- Wanigasekera, Daya Ratnasooriya, Walimuni P. Kaushalya, Chatura T.D. Ratnas. 2012. In-Vitro Anti-Hylakuronidase Activity of Srin Lankan Low

Grown Orthodox Orange Pekoe Grade Black Tea (*Camellia sinensis*).
Asian Pacific Journal of Tropical Biomed Vol.4 (12) : 959-963.

Wasitaatmadja. 1997. *Penuntun Kosmetik Medik*. Universitas Indonesia. Jakarta.

Yingnian, Lu, Kefeng Wu, Li Li, Yuhui He, Liao Cu, Nianci Liang and Bozhong Mu. 2013. Characterization and Evaluation of an Oral Microemulsion Containing The Antitumor Diterpenoid Compound ent-11-alpha-hydroxy-15-oxo-kaur-16-en-19-oic-acid. *Int J Nanomedicine* Vol.8 : 1879-1886.

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.

Zalukhu, Marta Lisnawati, Agustinus RP, dan Rizaldy TP. 2016. Proses Menua, Stres Oksidatif dan Peran Antioksidan. *CDK-245* Vol.43(10) : 733-738.

