



**OPTIMASI TWEEN 80 DAN PEG 400 DALAM NANOEMULSI  
NATRIUM DIKLOFENAK**

**SKRIPSI**

Oleh:

**Yesika Yuristi Mahardika  
NIM 152210101008**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2019**



**OPTIMASI TWEEN 80 DAN PEG 400 DALAM NANOEMULSI  
NATRIUM DIKLOFENAK**

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Farmasi  
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

**Yesika Yuristi Mahardika  
NIM 152210101008**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2019**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT yang memberi saya kesempatan, nikmat, petunjuk, dan rahmat-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Nabi Muhammad SAW sebagai panutan terbesar dalam hidup saya;
3. Opa, Oma, Nenek, Kakek, Papi Bambang Harianto, Mami Sri Murtini, Kakak Gresia Yuristi Mahardika, Adik Muhammad Ardana Surya Putra, serta anggota keluarga besar yang telah memberi saya doa dan dukungan tiada henti;
4. Guru dan dosen yang telah memberikan ilmu dan membimbing saya selama ini;
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTTO**

*"What we know is a drop, what we don't know is an ocean"*

(Albert Einstein)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Yesika Yuristi Mahardika

NIM : 152210101008

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Optimasi Tween 80 Dan PEG 400 dalam Nanoemulsi Natrium Diklofenak” adalah benar-benar hasil karya sendiri, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 5 Juli 2018

Yang menyatakan,

(Yesika Yuristi Mahardika)

NIM 152210101008

**SKRIPSI**

**OPTIMASI TWEEN 80 DAN PEG 400 NANOEMULSI NATRIUM  
DIKLOFENAK**

Oleh

Yesika Yuristi Mahardika

NIM 152210101008

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Viddy Agustian Rosyidi., S.Farm., M.Sc., Apt

Dosen Pembimbing Anggota : Dwi Nurahmanto S.Farm., M.Sc., Apt

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Optimasi Tween 80 Dan PEG 400 Dalam Nanoemulsi Natrium Diklofenak” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Penguji :

Ketua,

Anggota I

Dr. Lina Winarti S.Farm., M.Sc., Apt

Eka Deddy Irawan S.Si., M.Sc., Apt

NIP 197910192006042002

NIP 197530092001121001

Anggota II

Anggota III

Viddy Agustian Rosyidi., S.Farm., M.Sc.,

Dwi Nurahmanto S.Farm., M.Sc., Apt

Apt

NIP 198401242008011001

NIP 198608302009121007

Mengesahkan

Dekan,

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm

NIP 197604142002122001

## RINGKASAN

**Optimasi Tween 80 Dan PEG 400 Dalam Nanoemulsi Natrium Diklofenak;**  
Yesika Yuristi Mahardika, 152210101008; 2019; 119 halaman; Fakultas Farmasi  
Universitas Jember.

Osteoarthritis (OA) merupakan gangguan sendi kronis degeneratif yang mengakibatkan disintegrasi tulang rawan sendi disertai pertumbuhan tulang rawan baru yang menimbulkan rasa nyeri dan hilangnya kemampuan gerak (Berenbaum, 2013). Prevalensi penyakit sendi di Indonesia, berdasarkan diagnosis dokter sebesar 7,3 % untuk penduduk dengan usia  $\geq 15$  tahun (Banlitbankes RI, 2018). Rekomendasi Perhimpunan Rheumatologi Indonesia (2014) menyatakan natrium diklofenak dari golongan NSAID (*Non-Steroidal Anti Inflammatory Drug*) merupakan terapi terbanyak yang digunakan untuk mengatasi inflamasi, nyeri, gangguan muskokeletal dan osteoarthritis (Tamarat dkk., 2018).

Natrium diklofenak memiliki efek samping menimbulkan gangguan gastrointestinal hingga pendarahan (Alwi, 2014). Penggunaan secara per oral mampu mengakibatkan *first pass metabolism* di hati. Penggunaan secara intramuskular juga dapat menyebabkan kerusakan jaringan pada tempat injeksi (Probst dkk., 2017). Alternatif rute pemberian natrium diklofenak untuk meminimalkan efek samping yaitu melalui rute transdermal melalui sediaan nanoemulsi. Keuntungan dari rute ini adalah menghindari metabolisme hepatic, meningkatkan bioavailabilitas, mengurangi resiko kerusakan jaringan, serta dapat dikendalikan jumlah pelepasan obat yang diinginkan (Kogan, 2006). Istilah nanoemulsi mengacu pada miniemulsi yang merupakan dispersi minyak dalam air atau sebaliknya yang distabilkan oleh molekul surfaktan (Nikam dkk., 2018). Sistem ini memiliki stabilitas yang sangat tinggi karena tegangan antarmuka rendah dan ukuran droplet yang sangat kecil. Sistem nanoemulsi terdiri dari beberapa komponen yaitu fase minyak, fase air, surfaktan dan kosurfaktan.

Fase minyak merupakan komponen utama dalam membentuk nanoemulsi. Sisak, dkk (2018) menyebutkan faktor pemilihan minyak bergantung pada kemampuan minyak dalam melarutkan bahan aktif. Kandidat minyak alam yang digunakan dalam

penelitian ini adalah minyak zaitun, adas, dan VCO (*virgin coconut oil*). Surfaktan menjadi kunci dalam pembuatan nanoemulsi karena memiliki bagian polar (hidrofilik) dan nonpolar (lipofilik). Surfaktan mampu diabsorpsi pada antarmuka air dan minyak sehingga menghasilkan suatu kestabilan dan ukuran droplet yang kecil. Penentuan surfaktan dapat dilakukan berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan. Tween 80 merupakan surfaktan yang kompatibel terhadap minyak adas dan natrium diklofenak dalam membentuk nanoemulsi yang stabil dan berukuran nanometer (Pandey, 2011; Sugumar dkk., 2014; Fatmawati, 2018; Pebriani, 2018). Kosurfaktan merupakan komponen pendukung kinerja dari surfaktan. Kandidat kosurfaktan yang digunakan adalah etanol, propilen glikol, dan polietilen glikol (PEG) 400. Beberapa penelitian sering mengkombinasikan tween 80 dan PEG 400 dalam membentuk nanoemulsi karena PEG 400 merupakan kosurfaktan nonionik yang stabil, tidak iritatif, mudah dicampur dengan komponen lain dan efektif dalam rentang pH yang lebar (Baskara, 2017).

Pada penelitian ini dilakukan optimasi tween 80 dan PEG 400 terhadap respon *entrapment efficiency*, transmitan dan pH. Penelitian ini menggunakan metode desain faktorial yang bertujuan untuk mendapatkan formula optimum dan selanjutnya di uji verifikasi dan dikarakterisasi meliputi bobot jenis, viskositas, uji tipe emulsi, ukuran droplet, distribusi ukuran droplet dan potensial zeta.

Hasil dari penelitian yang dilakukan yaitu tween 80, PEG 400, dan interaksinya mampu menurunkan *entrapment efficiency* nanoemulsi natrium diklofenak. Jumlah tween 80 dan interaksi antara tween 80 dan PEG 400 dapat meningkatkan transmitan secara signifikan. Jumlah tween 80 dan interaksi keduanya dapat meningkatkan nilai pH sedangkan jumlah PEG 400 memiliki efek menurunkan nilai pH. Formula optimum nanoemulsi natrium diklofenak memiliki bobot jenis  $10,589 \text{ g/mL} \pm 0,0384$ ; viskositas  $4,620 \text{ mPa.s} \pm 0,214$ , memiliki ukuran droplet 6.6 nm, memiliki sistem *monodisperse* dengan nilai indeks polidispersitas sebesar 0,372 dan bertipe *oil in water*.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan ridho-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Optimasi Tween 80 dan PEG 400 dalam Nanoemulsi Natrium Diklofenak”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan proposal skripsi ini tentunya tidak lepas dari bantuan berbagai pihak baik secara lisan maupun tulisan, maka penulis berterima kasih kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan nikmat dan kesempatan luar biasa kepada penulis hingga skripsi ini selesai;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Prof Bambang Kuswandi. M.Sc., Ph.D selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menempuh S1 Farmasi;
4. Bapak Viddy Agustian Rosyidi., S.Farm., M.Sc., Apt dan Bapak Dwi Nurrahmanto, S.Farm., M.Sc., Apt selaku dosen pembimbing utama dan anggota yang telah memberikan bimbingan, arahan, serta semangat sehingga skripsi ini dapat tersusun dengan baik;
5. Ibu Dr. Lina Winarti S.Farm., M.Sc.,Apt dan Bapak Eka Deddy Irawan S.Farm.,M.Sc.,Apt selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan kritik, dan saran yang sangat membangun dalam penulisan skripsi ini;
6. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberi ilmu, pengalaman, dan motivasi penulis;
7. Laboran tercinta Ibu Itus, Mbak Titin, Mbak Indri, Mbak Dini, Mbak Parka, Mbak Ike, yang selalu membantu selama penulis mengerjakan skripsi;
8. Alm. Opa The Ing Hien, Oma Ruth Indrawati, Kakek Atmo Redjo Makun, Alm Nenek Kasminem, Papi Bambang Harianto, Mami Sri Murtini, Kakak Gresia Yuristi Mahardika, Adik Muhammad Ardana Surya Putra, Om Gatot Widja, Tante Puspo Dwija, Tante Herlinawati, Tante Hertinawati serta anggota keluarga besar, terimakasih atas doa dan semangat serta motivasi demi

kelancaran dan keberhasilan dalam menempuh studi di Fakultas Farmasi Universitas Jember;

9. Bonang Al Fatikh, teman hidup sedari kecil yang tidak pernah berhenti memberi support dalam keadaan apapun;
10. “KELUARGA CEMARA” teman sejak praktikum kimia dasar, Nimas Ayu Amanda P., Dian Ayu Chotimah., Ulfi Mawadatur Rohmah., Dwipa Noor Maulina U., Dindha Pratiwi Setyaningrum., Aissa Dinar Yanuariski., dan Jumahwi yang selalu memberi semangat, hiburan, dan tawa di antara resah;
11. “SKRIPSI CERIA OYE OYE”, Dian Ayu Chotimah., dan Ulfi Mawadatur Rohmah., yang telah berjuang bersama di dalam grup penelitian skripsi;
12. Keluarga besar “LIBITUM” yang telah berjuang bersama-sama demi sebuah gelar Sarjana Farmasi dan selalu memberikan bantuan, support, dan semangatnya dalam penyusunan proposal skripsi ini;
13. “GENG JOMBS 78” Nimas, Dian, Fitrop, Mala, Fais, Vera dan Reta yang telah menemani kehidupan di kos Wisma Kartini selama 4 tahun;
14. Keluarga besar BEMF BISA, BEMF RANGER, dan BEMF KABINET PIONEER; yang telah memberikan pengalaman berkesan selama 3 tahun.
15. KKN 308 Pandanlaras, Uliya, Richa, Oding, Lukman, Bagir, Gagas, Irul, Ifan, Raka yang telah memberikan pengalaman, pelajaran dan kenangan tak terlupakan selama 45 hari didesa yang jauh terpencil;
16. Grup Skripsi FARMASETIKA, tim nano (Ulfi, Dian, Husniya, Mei, Visa, Mita, Nini), tim Hollow (Lina, Riska, Dindha, Farsuk, Fana, Firda Arfan, Afi, Damay, Rege), Tim bukal (Suppo, Sepsud, Ulfia, Yoga), tim tablet (Irsa, Zulfikar, Eril), tim patch (Elif, Lala, Cholista), tim gel (Ingga), yang telah memeriahkan kehidupan penulis selama di Laboratorium Farmasetika;
17. “CUKI-CUKI” Suppo, Atika, Sepsud, Damay, Arfan, Yoga, Rege, Iwan, Afi, Ridho, teman berjuang yang tidak berhenti memberi support, dan selalu ada untuk penulis;
18. “EXTERNAL 2018” Ofi, Ferina, Izza dan Bilqis yang selalu ada dan tidak pernah berhenti memberikan support;

19. Serta untuk setiap nama yang tidak dapat tertulis satu persatu, terimakasih kepada semua pihak yang telah berperan membantu menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih ada kelemahan dan kekurangan baik dalam segi materi ataupun teknik penulisan skripsi ini. Peneliti sangat mengharapkan kritik dan saran dari pembaca agar proposal skripsi ini menjadi lebih baik.

Jember, 2019

Yesika Yuristi Mahardika



DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>SKRIPSI</b> .....	<b>ii</b>
<b>PERSEMBAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>MOTTO</b> .....	<b>iv</b>
<b>PERNYATAAN</b> .....	<b>v</b>
<b>SKRIPSI</b> .....	<b>vi</b>
<b>PENGESAHAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>viii</b>
<b>PRAKATA</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xviii</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	<b>4</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1 Struktur Kulit</b> .....	<b>5</b>
<b>2.2 Sistem Penghantaran Obat Transdermal</b> .....	<b>6</b>
<b>2.3 Nanoemulsi</b> .....	<b>9</b>
2.3.1 Pengertian Nanoemulsi.....	9
2.3.2 Komponen Nanoemulsi .....	11
2.3.3 Verifikasi Nanoemulsi.....	13
2.3.4 Karakterisasi Nanoemulsi.....	14
<b>2.4 Tinjauan Natrium Diklofenak</b> .....	<b>15</b>
<b>2.5 Tinjauan Bahan Eksipien</b> .....	<b>16</b>
2.4.1 Tween 80 .....	16
2.4.2 PEG 400 ( <i>Polyethylene glycol 400</i> ) .....	17

2.4.3 Minyak Adas .....	17
<b>2.6 Metode Desain Faktorial.....</b>	<b>18</b>
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>20</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian .....</b>	<b>20</b>
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>20</b>
<b>3.3 Rancangan Penelitian.....</b>	<b>20</b>
<b>3.4 Alat dan bahan.....</b>	<b>22</b>
3.4.1 Alat Penelitian .....	22
3.4.2 Bahan Penelitian.....	22
<b>3.5 Prosedur Penelitian .....</b>	<b>22</b>
3.5.1 Pemilihan Minyak .....	22
3.5.2 Pemilihan Surfaktan .....	22
3.5.3 Pemilihan Kosurfaktan .....	23
3.5.4 Rancangan Desain Faktorial.....	23
3.5.5 Formula Nanoemulsi Natrium Diklofenak.....	24
3.5.6 Pembuatan Nanoemulsi Natrium Diklofenak.....	24
3.5.7 Evaluasi Nanoemulsi Natrium Diklofenak.....	24
3.5.8 Penentuan Formula Optimum .....	26
3.5.9 Verifikasi Formula Optimum .....	27
3.5.10 Karakterisasi Formula Optimum .....	28
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>30</b>
<b>4.1 Hasil Pembuatan Nanoemulsi Natrium Diklofenak.....</b>	<b>30</b>
<b>4.2 Hasil Penentuan Nilai <i>Entrapment Efficiency</i> .....</b>	<b>33</b>
4.2.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	33
4.2.2 Penentuan Kurva Baku Natrium Diklofenak.....	34
4.2.3 Penentuan Nilai <i>Entrapment Efficiency</i> Nanoemulsi .....	35
4.2.4 Analisis Desain Faktorial pada Nilai <i>entrapment efficiency</i> .....	38
<b>4.3 Hasil Penentuan Nilai Transmitan.....</b>	<b>40</b>
4.3.1 Penentuan Nilai Transmitan .....	40
4.3.2 Analisis Desain Faktorial pada Nilai Transmitan.....	42
<b>4.4 Hasil Penentuan Nilai pH.....</b>	<b>45</b>
4.4.1 Penentuan Nilai pH.....	45
4.4.2 Analisis Desain Faktorial pada Nilai pH .....	46
<b>4.5 Penentuan Formula Optimum .....</b>	<b>49</b>

<b>4.6 Verifikasi Nanoemulsi Natrium Diklofenak.....</b>	<b>51</b>
<b>4.7 Karakteristik Formula Optimum Nanoemulsi Natrium Diklofenak</b>	<b>51</b>
4.7.1 Bobot jenis .....	52
4.7.2 Viskositas.....	52
4.7.3 Tipe Nanoemulsi.....	52
4.7.4 Ukuran Dropket dan Distribusi Ukuran Droplet .....	53
4.7.5 Potensial Zeta .....	53
<b>BAB 5. PENUTUP.....</b>	<b>54</b>
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>54</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>55</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>56</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>63</b>

DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel 3.1 Rancangan Desain Faktorial .....	23
Tabel 3.2 Formula Nanoemulsi Natrium Diklofenak .....	24
Tabel 4.1 Profil Organoleptis Nanoemulsi Natrium Diklofenak .....	34
Tabel 4.2 Hasil Pengujian <i>Nilai Entrapment Efficiency</i> .....	37
Tabel 4.3 Hasil Uji <i>Post Hoc</i> (LSD) <i>Entrapment Efficiency</i> .....	38
Tabel 4.4 Nilai Efek Faktor Tween 80 dan PEG 400 serta Interaksi .....	39
Tabel 4.5 Hasil Pengujian Nilai Transmitan .....	41
Tabel 4.6 Hasil Uji <i>Post Hoc</i> (LSD) Transmitan .....	42
Tabel 4.7 Nilai Efek Faktor Tween 80 dan PEG 400 serta Interaksi .....	43
Tabel 4.8 Hasil Pengujian Nilai pH .....	46
Tabel 4.9 Hasil Uji <i>Post Hoc</i> (LSD) pH .....	47
Tabel 4.10 Nilai Efek Faktor Tween 80 dan PEG 400 serta Interaksi .....	47
Tabel 4.11 Kriteria Respon dalam Penentuan Formula Optimum .....	49
Tabel 4.12 Solusi Formula <i>Design Expert</i> .....	51
Tabel 4.13 Hasil Verifikasi pada Formula Optimum .....	52

DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 2.1 Struktur Anatomi Kulit .....	7
Gambar 2.2 Rute Penetrasi Obat .....	8
Gambar 2.3 Komponen Nanoemulsi Tipe <i>Oil in Water</i> .....	10
Gambar 2.4 Struktur Natrium Diklofenak .....	16
Gambar 2.5 Struktur Tween 80 .....	16
Gambar 2.6 Struktur PEG 400 .....	17
Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian Nanoemulsi Natrium Diklofenak.....	21
Gambar 3.2 Skema Pembuatan Nanoemulsi Natrium Diklofenak.....	25
Gambar 4.1 Tampilan Kelarutan Natrium Diklofenak dalam Kandidat Minyak.....	31
Gambar 4.2 Tampilan Emulsi yang Terbentuk dari Kandidat Kosurfaktan .....	32
Gambar 4.3 Hasil Formulasi Nanoemulsi Natrium Diklofenak.....	33
Gambar 4.4 Spektra Panjang Gelombang Maksimum Natrium Diklofenak.....	34
Gambar 4.5 Kurva Baku Natrium Diklofenak .....	35
Gambar 4.6 <i>Contour Plot</i> Efek Faktor terhadap <i>Entrapment Efficiency</i> .....	40
Gambar 4.7 Interaksi Faktor terhadap <i>Entrapment Efficiency</i> .....	40
Gambar 4.8 <i>Contour Plot</i> Efek Faktor terhadap Transmitan.....	44
Gambar 4.9 Interaksi Faktor terhadap Transmitan .....	45
Gambar 4.10 <i>Contour Plot</i> Efek Faktor terhadap pH .....	48
Gambar 4.11 Interaksi Faktor terhadap pH.....	49
Gambar 4.12 <i>Overlay Plot</i> Nanoemulsi Natrium Diklofenak.....	50
Gambar 4.13 Tipe Nanoemulsi <i>Oil in Water</i> pada Perbesaran 400x.....	53

DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran 1. Sertifikat Natrium Diklofenak.....	63
Lampiran 2. Data Penimbangan Natrium Diklofenak.....	64
Lampiran 3. Perhitungan HLB Surfaktan Campuran.....	64
Lampiran 4. Perhitungan <i>Entrapment Efficiency</i> .....	65
Lampiran 5. Hasil Pemindaian Lempeng dengan Sinar Ultra Violet.....	69
Lampiran 6. Tabulasi Area dan Densitogram Tahap Optimasi .....	70
Lampiran 7. Tabulasi Area dan Densitogram Tahap Verifikasi .....	78
Lampiran 8. Contoh Perhitungan <i>Entrapment Efficiency</i> .....	81
Lampiran 9. Hasil Perhitungan Bobot Jenis Formula Optimum Nanoemulsi .....	84
Lampiran 10. Hasil Perhitungan Viskositas Formula Optimum Nanoemulsi .....	84
Lampiran 11. Hasil Analisis SPSS.....	85
Lampiran 12. Hasil Pengujian <i>Design Expert</i> .....	87
Lampiran 13. Tabulasi Hasil Analisis Uji T-Test Program SPSS.....	97
Lampiran 14. Hasil Pengujian Ukuran Droplet dan Potensial Zeta.....	99

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Osteoarthritis (OA) merupakan gangguan sendi kronis degeneratif yang mengakibatkan disintegrasi tulang rawan sendi disertai pertumbuhan tulang rawan baru yang menimbulkan rasa nyeri dan hilangnya kemampuan gerak (Berenbaum, 2013). Prevalensi penyakit sendi di Indonesia, berdasarkan diagnosis dokter sebesar 7,3 % untuk penduduk dengan usia  $\geq 15$  tahun (Banlitbankes RI, 2018).

Rekomendasi Perhimpunan Rheumatologi Indonesia (2014) menyatakan natrium diklofenak dari golongan NSAID (*Non-Steroidal Anti Inflammatory Drug*) merupakan terapi terbanyak yang digunakan dalam mengatasi inflamasi, nyeri, gangguan muskokeletal dan osteoarthritis (Tamarat dkk., 2018). Natrium diklofenak memiliki efek terapi yang jauh lebih baik dibandingkan NSAID lain dan secara farmakologis terbukti mampu merembes ke dalam sinovium dibanding NSAID lain (Davies dan Anderson, 1997; Lelo Aznan, 2004).

Natrium diklofenak dikategorikan dalam *Biopharmaceutics Classification System (BCS)* kelas II (Altman dkk., 2015). Obat dalam kategori BCS kelas II memiliki kelarutan yang rendah dan permeabilitas tinggi (Binder dkk., 2018). Secara farmakologi, natrium diklofenak memiliki efek samping menimbulkan gangguan gastrointestinal hingga pendarahan (Alwi, 2014). Penggunaan secara per oral mampu mengakibatkan *first pass metabolism* di hati sehingga hanya 50% obat yang mampu mencapai sirkulasi sistemik dan memiliki bioavailabilitas yang rendah. Penggunaan secara intramuskular juga dapat mengakibatkan kerusakan jaringan pada tempat injeksi (Probst dkk., 2017).

Alternatif rute pemberian natrium diklofenak untuk meminimalkan efek samping yaitu melalui rute transdermal berupa sediaan nanoemulsi. Keuntungan dari rute ini adalah menghindari metabolisme hepatic, meningkatkan permeasi, dan bioavailabilitas, mengurangi resiko kerusakan jaringan, dapat dikendalikan jumlah pelepasan obat yang diinginkan serta cocok untuk obat dengan kelarutan rendah (Kogan, 2006).

Nanoemulsi tipe *oil in water* dipilih sebagai sistem penghantaran natrium diklofenak pada penelitian ini. Istilah nanoemulsi mengacu pada miniemulsi yang merupakan dispersi minyak dalam air atau sebaliknya yang distabilkan oleh molekul surfaktan (Nikam dkk., 2018). Sistem ini memiliki stabilitas yang sangat tinggi karena tegangan antarmuka rendah, ukuran droplet yang sangat kecil serta, kapasitas solubilitas yang tinggi (Basera, 2015; Bhowmik dkk., 2016). Sistem nanoemulsi terdiri dari beberapa komponen yaitu fase minyak, fase air, surfaktan dan kosurfaktan.

Minyak sebagai pembawa obat hidrofobik merupakan komponen utama dalam membentuk nanoemulsi. Sisak, dkk (2018) menyebutkan faktor pemilihan minyak bergantung pada kemampuan minyak dalam melarutkan bahan aktif. Potensi minyak dalam melarutkan bahan aktif yang bersifat lipofilik berbanding lurus dengan panjang rantai minyak (Sahu, 2015). Penggunaan minyak alam dianggap lebih aman dibandingkan produk sintetis untuk aplikasi transdermal (Sugumar dkk., 2014). Kandidat minyak alam yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak zaitun, adas, dan VCO (*virgin coconut oil*). Kandidat minyak yang dipilih merupakan minyak alam yang sering dikombinasikan dengan natrium diklofenak (Lovelyn dan Attama, 2011; Pandey, 2011; Tsai dkk., 2014). Minyak adas dipilih sebagai fase minyak dalam formula karena mampu melarutkan natrium diklofenak dengan sempurna dibanding zaitun dan VCO.

Surfaktan menjadi kunci dalam pembuatan nanoemulsi karena memiliki bagian polar (hidrofilik) dan nonpolar (lipofilik). Surfaktan mampu diabsorpsi pada antarmuka air dan minyak sehingga menghasilkan suatu kestabilan dan ukuran droplet yang kecil. Penentuan surfaktan dilakukan berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan. Tween 80 merupakan surfaktan yang kompatibel terhadap minyak adas dan natrium diklofenak dalam membentuk nanoemulsi yang stabil dan berukuran nanometer (Pandey, 2011; Sugumar dkk., 2014; Fatmawati, 2018; Pebriani, 2018).

Azeem dkk, (2009) menyebutkan penggunaan surfaktan tunggal tidak mampu menurunkan tegangan antarmuka air minyak sehingga diperlukan adanya kombinasi surfaktan-kosurfaktan untuk menghasilkan nanoemulsi yang baik.

Kosurfaktan merupakan komponen pendukung kinerja dari surfaktan. Peran kosurfaktan yaitu membantu menurunkan tegangan antar muka. Kandidat kosurfaktan yang sering digunakan adalah etanol, propilen glikol, dan polietilen glikol (PEG) 400. PEG 400 dipilih sebagai kosurfaktan dalam formula karena mampu membentuk nanoemulsi yang baik. Hal ini diperkuat oleh penelitian Fatmawati, (2018) yang menyebutkan tween 80 dan PEG 400 sebagai kombinasi surfaktan-kosurfaktan berperan penting dalam menghasilkan nanoemulsi ukuran nanometer yang stabil.

Berdasarkan uraian di atas peneliti bertujuan mengetahui pengaruh penggunaan tween 80 dan PEG 400 terhadap respon *entrapment efficiency*, transmittan dan pH. Penelitian ini menggunakan metode desain faktorial yang akan menghasilkan formula optimum yang selanjutnya di uji verifikasi dan dikarakterisasi meliputi bobot jenis, viskositas, uji tipe emulsi, ukuran partikel, dan potensial zeta.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh tween 80 dan PEG 400 serta interaksinya dalam nanoemulsi natrium diklofenak terhadap *entrapment efficiency*, transmittan, dan pH?
2. Berapa jumlah tween 80 dan PEG 400 dalam formula optimum nanoemulsi natrium diklofenak berdasarkan desain faktorial?
3. Bagaimana karakteristik formula optimum nanoemulsi natrium diklofenak?

### 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, tujuan penelitian ini adalah untuk :

1. Mengetahui pengaruh tween 80 dan PEG 400 serta interaksinya dalam nanoemulsi natrium diklofenak terhadap *entrapment efficiency*, transmitan, dan pH.
2. Mengetahui jumlah tween 80 dan PEG 400 dalam formula optimum nanoemulsi natrium diklofenak berdasarkan desain faktorial.
3. Mengetahui karakteristik formula optimum nanoemulsi natrium diklofenak.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan yang ingin dicapai penelitian ini diharapkan mampu memberikan manfaat sebagai terobosan pengembangan bentuk sediaan farmasi sehingga seperti natrium diklofenak dapat dikembangkan menjadi bentuk sediaan lain yang dimaksudkan untuk menghindari efek iritasi saluran cerna.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Struktur Kulit

Kulit merupakan penghalang antara lingkungan internal dan eksternal yang merupakan organ terbesar tubuh manusia dengan luas permukaan rata-rata 1,6-2 m dan menyumbang sekitar 15% dari total berat badan manusia dewasa. Kulit adalah lapisan luar tubuh yang memiliki banyak lapisan dengan tebal 2-3 mm yang melindungi otot, tulang, ligamen dan organ internal yang mendasarinya (Van dkk., 2011)

Kulit terdiri dari tiga lapisan antar lain epidermis, dermis, dan hipodermis (Richardson, 2002). Secara fisiologis kulit bekerja sebagai protektor, pengatur suhu tubuh, penerima rangsang. Epidermis adalah lapisan kulit yang selalu berregenerasi, paling dinamis, dan selalu merespon terhadap rangsangan luar maupun dalam tubuh manusia. Epidermis merupakan epitel berlapis yang terdiri dari dua jenis sel yakni keratinosit dan sel dendritik. Epidermis umumnya dibagi menjadi empat lapisan sesuai dengan morfologi keratinosit, yakni stratum germinativum/stratum basal, stratum spinosum, stratum granulosum, dan stratum corneum (Lopes, 2014; Djuanda dkk., 2016).

Lapisan paling bawah adalah stratum basalis dan di atasnya berturut turut adalah stratum spinosum, stratum granulosum dan stratum korneum. Susunan epidermis yang berlapis inilah yang menunjukkan bahwa epidermis merupakan bagian kulit yang paling dinamis (Djuanda dkk., 2016). (1) Stratum basal atau stratum germinativum adalah lapisan paling bawah dari epidermis yang mengandung keratinosit berbentuk kolom panjang yang saling menempel satu sama lain (Eckes dkk., 2010). (2) Stratum spinosum adalah lapisan epidermis yang memiliki tebal 5-10 sel, berbentuk poligonal berukuran besar dan mengandung penyambung antar keratinosit yang disebut desmosom (Djuanda dkk., 2016). (3) Stratum granulosum merupakan lapisan epidermis yang tersusun atas sel-sel gepeng dengan kandungan berupa *keratohyalin granules* (KG) pada

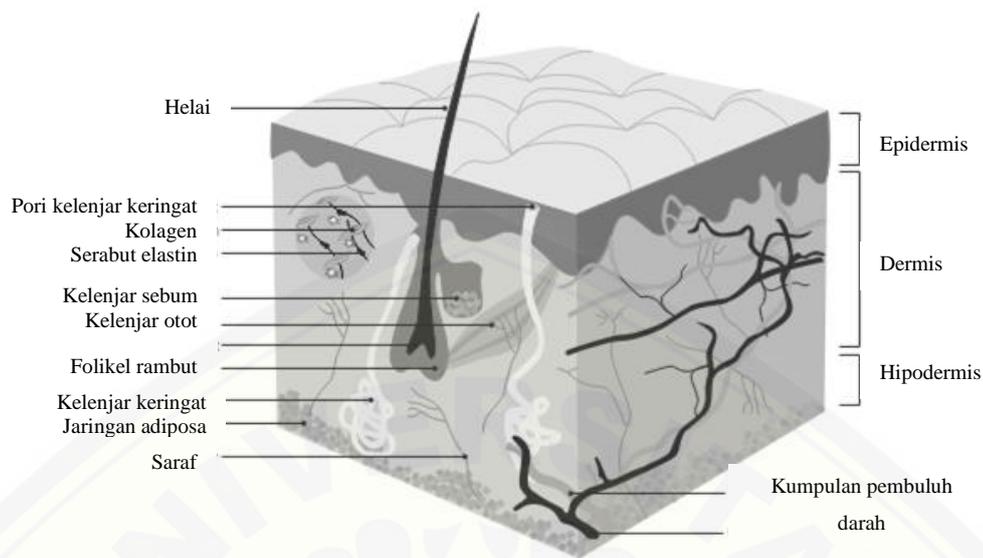
sitoplasma yang bertanggung jawab untuk sintesis dan memodifikasi protein untuk proses keratinisasi (Kolarsick dkk., 2008). (4)Stratum korneum merupakan lapisan tanduk yang mengandung sel-sel berbentuk polihedral gepeng, dan telah kehilangan inti sel selama proses diferensiasi atau dianggap sel mati sehingga stratum korneum sangat berperan dalam hal proteksi. Stratum korneum, dengan komposisi berupa keratin dan dikelilingi oleh lipid interseluler membuat lapisan ini bersifat sangat rigid dan sulit untuk ditembus air, patogen bahkan senyawa kima sehingga selalu menjadi tantangan dalam formulasi sediaan obat baru (Weller dkk., 1998; Richardson, 2002).

Dermis merupakan lapisan kedua dibawah epidermis, tebal, berserat, elastis, terdiri dari fibrosa, *ground substance* dan sel yang terdiri atas endotel, *fibroblast*, sel radang, kelenjar, folikel rambut dan saraf. Lapisan dermis dibagi menjadi dua lapisan yakni stratum papilaris dan stratum retikular. Stratum papilaris adalah bagian terluar yang terdapat serabut saraf dan pembuluh darah sedangkan stratum retikular terdiri dari serabut penunjang dalam jumlah banyak yakni serabut kolagen dan elastin (Geerligs dan Herps, 2010; Djuanda dkk., 2016).

Hipodermis atau subkutis adalah lapisan jaringan adiposa yang ditemukan di antara dermis dan otot *fasciae*. Ketebalannya bervariasi tergantung usia, jenis kelamin, ras, dan status gizi individu. Hipodermis terdiri atas jaringan lemak yang berfungsi sebagai pertahanan suhu tubuh dan penyedia bantalan yang meredam trauma. Struktur anatomi kulit dapat dilihat pada Gambar 2.1.

## 2.2 Sistem Penghantaran Obat Transdermal

Sistem penghantaran obat transdermal adalah sistem penghantaran obat terlokalisasi di bagian tubuh mana saja seperti dimata, rektal, vagina dan kulit sebagai rute transdermal (Bhowmik, 2012). Kelebihan dari sistem penghantaran adalah menghindari metabolisme hati, ketidaknyamanan injeksi, bersifat non-invasif dan dapat digunakan sendiri oleh pasien.



Gambar 2.1 Struktur anatomi kulit (Sumber: dimodifikasi dari Kolarsick dkk., 2008).

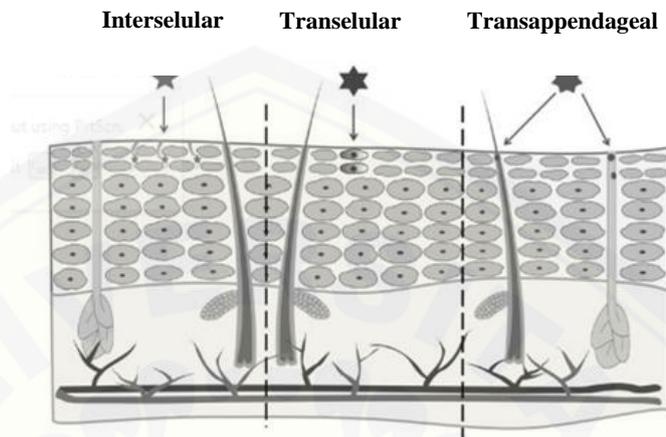
Obat yang dapat diformulasikan menjadi obat transdermal harus memenuhi persyaratan *Lipinski's Rule of Five* agar dapat masuk dan berpenetrasi melalui kulit yakni obat harus memiliki ukuran molekul yang kecil dengan berat molekul kurang dari 500 dalton, jumlah ikatan hidrogen donor kurang dari 5 dan hidrogen aseptor kurang dari 10, titik leleh rendah dan, koefisien partisi oktanol/air (Log P)  $<5$  (Van dkk., 2011). Obat transdermal harus memiliki kemampuan dalam menembus barrier kulit agar obat dapat diabsorpsi yang selanjutnya diharapkan mampu memberikan efek terapi yang diinginkan.

Ada 3 jalur utama obat dalam menembus stratum korneum, yaitu jalur interseluler, transeluler, dan transpendageal (Dabrowska dkk., 2017). Rute penetrasi obat transdermal ditunjukkan pada Gambar 2.2.

a. Jalur interseluler

Jalur interseluler merupakan jalur yang paling umum di lalui oleh senyawa obat. Pada jalur ini obat akan berpenetrasi ke stratum korneum melalui ruang antar korneosit (Trommer, H., & Neubert, 2006). Tingkat difusi tergantung pada sifat-sifat partikel penembus seperti volume, berat, kelarutan, lipofilisitas, atau

ikatan hidrogen. Partikel dengan ukuran 5-7 nm dapat diangkut secara efisien melalui jalur interseluler (Dabrowska dkk., 2017).



Gambar 2.2 Rute penetrasi obat (Sumber: dimodifikasi dari Dabrowska dkk., 2017).

b. Jalur transeluler

Jalur transeluler melibatkan keratinosit dalam pengangkutan zat. Obat masuk melewati kulit dengan cara menembus stratum korneum dan sitoplasma dari kartinosit yang telah mati. Jarak pada jalur ini lebih pendek dan sangat selektif namun partikel yang berpenetrasi harus mampu mengatasi berbagai hambatan dalam struktur kulit seperti membran sel lipofilik, isi seluler hidrofilik dengan keratin, dan hambatan sel fosfolipid. Penetrasi hanya terjadi dalam jumlah yang sangat kecil karena sel tanduk yang sangat sulit ditembus (Dabrowska dkk., 2017).

c. Jalur transapendageal

Jalur transapendageal merupakan jalur masuknya obat melalui folikel rambut (transfolikular) dan kelenjar keringat (transglandular), hal ini terjadi karena adanya pori yang terdapat di antaranya. Jalur transapendageal dianggap jalur paling tidak efektif dibandingkan jalur lain dikarenakan luas permukaannya yang kecil yaitu kurang dari 0.1% dari total permukaan kulit mengakibatkan terjadinya absorpsi yang tidak maksimal (Moser dkk, 2001).

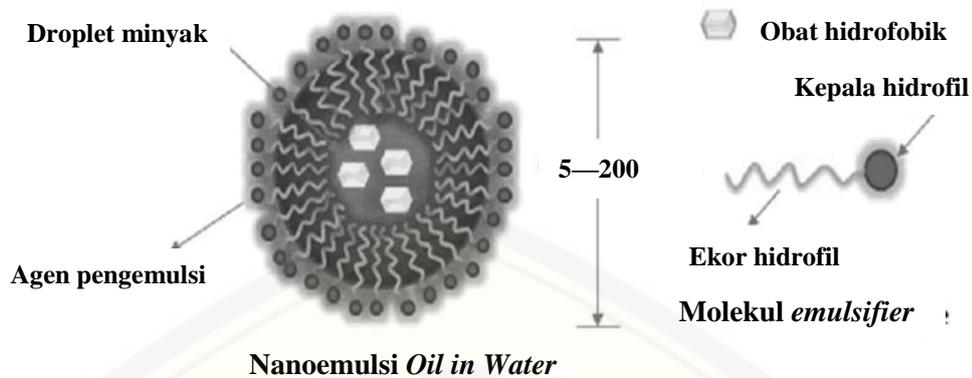
## 2.3 Nanoemulsi

### 2.3.1 Pengertian Nanoemulsi

Nanoemulsi adalah alternatif yang menjanjikan untuk meningkatkan penetrasi sistem penghantaran obat dan menargetkan obat yang sukar larut, dengan meningkatkan penyerapan melalui kulit, dan menghasilkan lebih sedikit efek samping. Nanoemulsi merupakan emulsi konvensional yang mengandung partikel yang sangat kecil (Silva dan Cerqueira, 2012). Ukurannya bervariasi dari 5-200 nm (Cinar, 2017). Ukuran droplet dari nanoemulsi yang lebih kecil dari gelombang cahaya tampak menyebabkan nanoemulsi jernih transparan, selain itu nanoemulsi juga memiliki luas permukaan yang besar sehingga dapat memungkinkan penetrasi obat lebih cepat (Mason dkk.,2006).

Keunikan lain dari nanoemulsi yakni memiliki kestabilan secara kinetik. Ada 2 tipe nanoemulsi yakni *oil in water* dan *water in oil*. Gambar komponen nanoemulsi tipe *oil in water* dapat dilihat di Gambar 2.3. Nanoemulsi merupakan sistem yang sangat menjanjikan sebagai sistem penghantaran obat dermal maupun transdermal sehingga banyak diterapkan di berbagai industri farmasi karena berbagai keuntungan yaitu:

1. Kecilnya ukuran droplet menyebabkan turunnya gaya gravitasi yang dapat mencegah terjadinya pengendapan sehingga stabilitasnya lebih baik.
2. Cocok untuk penghantaran bahan aktif secara transdermal. Sistem nanoemulsi memiliki luas permukaan besar, yang mampu meningkatkan penetrasi.
3. Berwarna transparan yang dapat memberikan estetika yang menarik dan menyenangkan saat digunakan.



Gambar 2.3 Komponen nanoemulsi tipe *oil in water* (Sumber: dimodifikasi dari Kumar & Divya, 2015)

4. Meningkatkan absorpsi, bioavailabilitas dan membantu solubilitas obat lipofilik.
5. Menghindari *first pass metabolism* di hati.
6. Tidak toksik dan tidak bersifat iritatif sehingga dapat digunakan di kulit dan selaput lendir.

Nanoemulsi dapat terbentuk secara spontan (berenergi rendah) maupun tidak spontan (berenergi tinggi) (McClements dan Rao, 2011). Metode tak spontan menggunakan bantuan perangkat mekanis yang mampu mengganggu atau mencampurkan fase minyak, fase air dan surfaktan. Metode ini meliputi homogenisasi bertekanan tinggi, mikrofluidisasi, dan sonikasi. Metode spontan memerlukan energi yang rendah untuk mencampurkan fase minyak, fase air dan surfaktan misalnya dengan bantuan pengadukan pelan menggunakan stirrer (Date dkk., 2010; Kwasigroch dkk., 2016). Metode spontan memiliki keunggulan dibandingkan metode energi tinggi untuk aplikasi tertentu yaitu mereka lebih efektif dalam menghasilkan ukuran droplet yang kecil, peralatan yang digunakan sederhana, lebih murah, dan lebih mudah untuk diterapkan (Kwasigroch dkk., 2016).

### 2.3.2 Komponen Nanoemulsi

Kemampuan nanoemulsi dalam menghantarkan suatu obat dipengaruhi oleh tipe nanoemulsi dan komponen yang menyusun nanoemulsi. Komponen penyusun nanoemulsi berupa fase air, fase minyak, surfaktan dan kosurfaktan (Drais, 2016). Variasi penggunaan surfaktan dan kosurfaktan, fase minyak dan air akan menghasilkan nanoemulsi yang berbeda dalam segi karakteristik. Komponen harus dipilih yang bersifat biokompatibel, nontoksik, tidak iritatif dan dapat diterima secara klinis.

#### a. Fase Minyak

Fase minyak merupakan eksipien penting dalam formulasi nanoemulsi karena fase minyak yang melarutkan bahan obat bersifat lipofilik. Selain itu minyak juga dapat meningkatkan fraksi obat lipofilik yang di absorpsi melalui limfatik, gastrointestinal maupun transdermal. Nanoemulsi umumnya mengandung 2-20% minyak dalam sistem nanoemulsi *oil in water* (Kwasigroch dkk., 2016). Terdapat beberapa persyaratan untuk memilih fase minyak yang tepat berdasarkan viskositas, permeabilitas, dan stabilitas nanoemulsi yang diformulasikan. Pemilihan fase minyak juga tergantung pada tingkat kelarutan obat dalam minyak tersebut (Singh dkk., 2017).

#### b. Fase Air

Fase air biasanya mengandung bahan-bahan hidrofilik baik bahan aktif maupun bahan tambahan (Kumar dkk., 2011). Air adalah bahan yang paling sering digunakan sebagai fase air.

#### c. Surfaktan

Surfaktan (*surface active agent*) merupakan molekul amfifilik yang ditambahkan untuk menstabilkan suatu sistem dengan mengurangi tegangan antar muka, dan mencegah terjadinya agregasi serta, meningkatkan sifat penyebaran. Surfaktan cenderung menyerap pada antarmuka air dan minyak sehingga menghasilkan suatu kestabilan. Surfaktan umum yang digunakan dalam nanoemulsi adalah lesitin, tween 20, 40, 60 dan 80, span 20, 40, 60 dan 80. Pemilihan surfaktan tidak hanya mempengaruhi ukuran dan stabilitas nanoemulsi

tetapi juga menentukan toksisitas, farmakokinetik, dan farmakodinamik (Singh dkk., 2017).

Surfaktan mampu menurunkan tegangan permukaan hingga mencapai angka minimal yang akan memfasilitasi dispersi molekul dan menghasilkan lapisan film fleksibel yang membentuk lapisan pada droplet sehingga terbentuk karakteristik lipofilik yang sesuai. Terdapat 4 jenis surfaktan yang mampu menstabilkan nanoemulsi yaitu nonionik, zwitterionik, kationik, dan anionik. Surfaktan nonionik adalah surfaktan yang tidak memiliki muatan ion, contoh yang sering digunakan adalah tween 20, 80, span, labrasol. Surfaktan zwitterionik adalah surfaktan yang memiliki gugus hidrofil berupa kation dan anion misalnya, surfaktan yang mengandung amino, betain, dan fosfobetain. Surfaktan anionik adalah surfaktan yang memiliki gugus hidrofil berupa anion misalnya, alkilbenzen sulfonat (LAS), alkohol sulfat (AS). Surfaktan kationik adalah surfaktan yang mengandung gugus hidrofil berupa kation. Contohnya adalah garam dialkil-dimetil ammonium (Rachim dkk., 2012).

Ada berbagai faktor yang dipertimbangkan dalam pemilihan surfaktan. Faktor pertama adalah toksisitas surfaktan karena sejumlah besar surfaktan mampu mengiritasi kulit dan saluran gastrointestinal dalam pemakaian topikal dan oral. Faktor selanjutnya adalah nilai HLB (*Hidrofillic Lipofillic Balance*) dari surfaktan. Berdasarkan nilai keseimbangan hidrofilik-lipofilik (HLB) dari surfaktan yang tersedia, dapat diklasifikasikan *water in oil emulsifying agent* memiliki HLB sekitar 3-8 dan *oil in water emulsifying agent* memiliki HLB sekitar 8-16 (Kim, 2005). Kriteria tambahan pemilihan surfaktan adalah jenis dan sifat surfaktan. Umumnya surfaktan nonionik lebih disukai karena biokompatibilitas, keamanan, tidak dipengaruhi oleh pH dan perubahan kekuatan ion. Sebaliknya, surfaktan ionik kurang disukai karena lebih toksik. Kelarutan minyak dan obat dalam surfaktan juga merupakan faktor penting untuk pemilihan surfaktan (Talegaonkar dkk., 2008).

#### d. Kosurfaktan

Penggunaan surfaktan saja dianggap belum mampu mengurangi tegangan antarmuka *oil in water*. Penambahan kosurfaktan memungkinkan terjadinya

penurunan tegangan antar muka. Kosurfaktan yang umum digunakan termasuk propilena glikol, polietilen glikol (PEG) 400, span, etanol, transcitol ip, gliserin, etilen glikol, dan propanol (Talegaonkar dkk., 2008). Peran kosurfaktan adalah menurunkan tegangan muka, menghancurkan struktur kristal cair yang akan memicu pembentukan nanoemulsi, menyesuaikan nilai HLB dan kelengkungan dari tegangan antarmuka dengan mengubah karakteristik partisi surfaktan (Muzaffar dkk., 2013).

### 2.3.3 Verifikasi Nanoemulsi

#### a. Uji pH

Tujuan dari pengujian ini adalah untuk menentukan pH nanoemulsi yang akan di aplikasikan ke kulit karena jika tidak disesuaikan dengan pH kulit (4,5-7) maka akan menimbulkan efek iritatif bagi kulit (Tranggono dan Latifah, 2007).

#### b. Transmitan

Transmitan dilakukan untuk mengetahui tingkat transparansi nanoemulsi yang terbentuk. Transmitan yang baik adalah mendekati 100% maka dapat dikatakan nanoemulsi tersebut memiliki ukuran partikel yang kecil dan kejernihannya mendekati air. Semakin keruh suatu nanoemulsi atau semakin kecil nilai transmitan memungkinkan ukuran droplet yang terbentuk berukuran besar (Mishra dkk., 2014).

#### c. *Entrapment efficiency*

*Entrapment efficiency* obat menggambarkan seberapa besar natrium diklofenak yang dapat terjebak dalam fase minyak. Penentuan *entrapment efficiency* menggunakan metode analisis KLT densitometri. KLT densitometri merupakan analisi yang dilakukan berdasarkan pemisahan analit dan pelarut secara kuantitatif. KLT memisahkan analit berdasarkan perbedaan polaritas dan afinitas senyawa yang akan dipisahkan terhadap fase diam dan fase gerak. KLT densitometri dapat menganalisis secara kualitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif dilakukan dengan membandingkan nilai Rf (*reterdation factor*) sampel dengan standar. Secara kuantitatif dilakukan dengan membandingkan luas area noda

sampel dengan standar pada lempeng fase diam yang telah diketahui konsentrasinya (Wulandari, 2011)

#### 2.3.4 Karakterisasi Nanoemulsi

Karakterisasi nanoemulsi dilakukan untuk mendapatkan informasi terkait sifat fisik dan kimia yang dihasilkan. Adapun pengujian yang harus dilakukan adalah sebagai berikut:

a. Bobot jenis

Pengukuran bobot jenis dilakukan dalam suhu ruang

b. Viskositas

Viskositas menunjukkan sifat dari cairan untuk jatuh mengalir. Besarnya viskositas dipengaruhi oleh beberapa faktor yakni ukuran molekul, gaya tarik menarik antar molekul, suhu, dan konsentrasi larutan.

c. Ukuran droplet dan Distribusi ukuran droplet

Ukuran droplet adalah karakteristik yang penting dari sistem nanopartikel. Ukuran partikel menentukan distribusi, dan kemampuan penargetan sistem nanopartikel. Ukuran droplet juga mempengaruhi pelepasan obat dan stabilitas nanopartikel. Pelepasan obat dipengaruhi oleh ukuran droplet. Droplet yang lebih kecil memiliki luas permukaan yang lebih besar, sehingga sebagian besar obat akan berada di dekat permukaan partikel, yang menyebabkan pelepasan obat yang cepat (Mohanraj dan Chen, 2015). Pengamatan distribusi ukuran droplet dinyatakan dalam indeks polidispersitas. Indeks polidispersitas dengan rentang 0.01-0.7 menunjukkan sistem monodispersi, sedangkan  $> 0.7$  dinyatakan polidispers (Silva dan Cerqueira, 2012).

d. Potensial zeta

Potensial zeta merupakan kekuatan tolak menolak antara partikel. Meskipun bukan merupakan faktor utama penentu kestabilan, potensial zeta mampu menggambarkan kekuatan tolak menolak partikel dalam nanoemulsi. Partikel dikatakan stabil jika memiliki potensial zeta  $+30$  mV/  $-30$  mV (Beandrade, 2018).

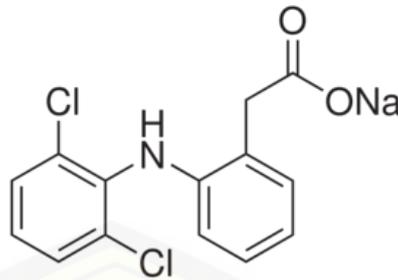
e. Tipe nanoemulsi

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui tipe nanoemulsi. Penentuan tipe nanoemulsi dilakukan dengan penambahan *methylene blue* dalam sediaan, jika tercampur merata sewaktu diaduk, maka emulsi tersebut adalah tipe minyak dalam air (Ditjen POM, 1985).

#### 2.4 Tinjauan Natrium Diklofenak

Natrium diklofenak merupakan obat golongan NSAID (*Non-Steroidal Anti Inflammatory Drug*) derivat fenil asetat yang memiliki bobot molekul sebesar 318,13 g/mol dengan rumus molekul  $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$ . Natrium diklofenak praktis tidak berbau, berbentuk kristal putih, higroskopis, agak larut dalam air; larut dalam alkohol; praktis tidak larut dalam, kloroform dan eter; bebas larut dalam metil alkohol, memiliki pK sekitar 4, pH 1% dalam air sebesar 7.0 – 8.5 (Sweetman, 2009). Natrium diklofenak memiliki LogP sebesar 4,26 dan memiliki ikatan hidrogen aseptor sejumlah 3, dan ikatan hidrogen donor sebesar 1 (Drugbank, 2018).

Natrium diklofenak termasuk golongan obat NSAID yang poten dalam menghambat enzim cyclooxygenase (COX). Enzim COX dihambat secara tidak spesifik yakni COX-1 dan COX-2. Penghambatan tersebut mengakibatkan terhambatnya sintesis mediator prostanoid yaitu prostaglandin, prostasiklin, dan thromboxane. Indikasi obat ini adalah untuk gangguan rheumatoid, dan osteoarthritis (Kołodziejaska dan Kołodziejczyk, 2018). Pada konsentrasi terapeutik, lebih dari 99% terikat pada protein plasma. Diklofenak menembus cairan sinovial di mana konsentrasi dapat bertahan bahkan ketika konsentrasi plasma menurun (Altman dkk., 2015). Natrium diklofenak terakumulasi di cairan sinovial sehingga efek terapi akan jauh lebih panjang dari waktu paruh obat tersebut (Sweetman, 2009). Efek samping dari natrium diklofenak adalah mual, muntah, nyeri, sakit kepala, gastritis, sehingga penggunaan natrium diklofenak harus diperhatikan (Altman dkk., 2015). Struktur natrium diklofenak dapat dilihat pada Gambar 2.4

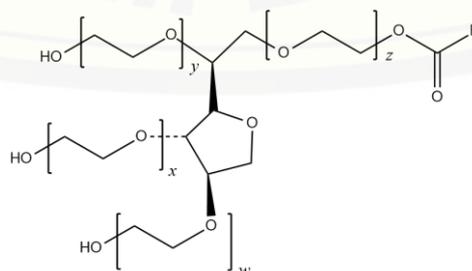


Gambar 2.4 Struktur Natrium Diklofenak

## 2.5 Tinjauan Bahan Eksiipien

### 2.4.1 Tween 80

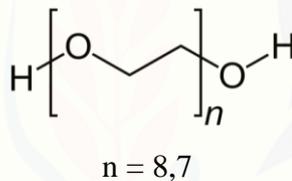
Tween 80 atau sering disebut polisorbat 80 memiliki molekul  $C_{64}H_{124}O_{26}$  dengan berat molekul sebesar 1310 g/mol. Tween 80 merupakan golongan surfaktan non-ionik dengan HLB sebesar 15,0 bersifat hidrofilik yang sering digunakan secara luas sebagai *emulsifying agent* dalam preparasi emulsi O/W yang stabil, memiliki bau yang khas, berasa pahit, berbentuk cairan kuning, memiliki viskositas 425 mPas dalam air dan etanol. Tween 80 larut dalam air, alkohol, klorofom, eter, etil asetat, metil alkohol. Tween 80 juga dapat digunakan sebagai agen pelarut untuk berbagai zat termasuk minyak esensial dan vitamin yang larut dalam minyak, dan sebagai agen pembasahan dalam formulasi suspensi oral dan parenteral, sering digunakan secara luas sebagai produk kosmetik dan produk makanan, tidak bersifat iritatif ataupun toksik (Rowe dkk., 2009). Dosis tween sehari yang diperbolehkan dalam tubuh (*acceptable daily intake*) yaitu sebesar 25 mg/kgbb. Gambar struktur tween 80 dapat dilihat di Gambar 2.5



Gambar 2.5 Struktur Tween 80

#### 2.4.2 PEG 400 (*Polyethylene glycol 400*)

*Polyethylene glycol 400*, *polyoxyethylene glycol 400* atau yang biasa disebut *macrogol* atau PEG 400 memiliki berat molekul sebesar 380-420 g/mol. PEG 400 sering digunakan sebagai basis *emulsifier*, *ointment*, *plastisizer*, pelarut, basis suppositoria, lubrikan kapsul dan tablet selain itu dalam bentuk cairnya digunakan sebagai *suspending agent* dan *emulsion stabilizer*. PEG 400 larut dalam aseton, alkohol, benzena, gliserin, dan glikol, sedikit larut dalam eter (Rowe dkk., 2009). PEG 400 merupakan polimer yang stabil banyak digunakan dalam berbagai formulasi farmasi dan dianggap sebagai bahan tidak beracun dan tidak mengiritasi. WHO (*World Health Organization*) menetapkan perkiraan asupan harian (*acceptable daily intake*) polietilen glikol yang dapat diterima adalah sebesar 10 mg/kg berat badan. Struktur PEG 400 dapat ditinjau pada Gambar 2.6



Gambar 2.6 Struktur PEG 400

#### 2.4.3 Minyak Adas

Minyak adas merupakan minyak yang berasal dari ekstrak tanaman adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) dikenal dengan nama lain *Fennel oil*, *Foeniculum vulgare oil*, *Finocchio* (PubChem, 2019). Tanaman adas merupakan tanaman herba tahunan dari kelas Magnoliopsida, ordo Apiales, famili Umbelliferae, dan genus *Foeniculum* (Badgujar dkk., 2014). Adas merupakan tanaman yang memiliki aroma sangat khas dan menarik, sehingga banyak digunakan dalam bidang farmasi maupun industri.

Minyak adas tergolong minyak dengan rantai panjang dan memiliki bobot molekul sebesar 448.647 g/mol (PubChem, 2019). Kemampuan minyak untuk melarutkan obat yang bersifat lipofilik berbanding lurus dengan panjang rantai minyak (Sahu dkk., 2015; Sisak dkk., 2018). Semakin panjang rantai minyak

maka semakin mudah melarutkan bahan aktif lipofilik. Kandungan utama minyak essensial adas adalah *trans-anethol*, fenkon, dan estragol. Selain itu juga terdapat *α-Pinene*, *D-Limonene*, *b-Myrcene*. Beberapa penelitian mengatakan bahwa kandungan minyak adas tersebut memiliki aktivitas anti inflamasi dan analgesik (Choi dan Hwang, 2004; Rezayat dkk., 2018).

## 2.6 Metode Desain Faktorial

Metode desain faktorial merupakan metode yang digunakan didalam eksperimen dimana efek dari besaran yang berpengaruh terhadap kualitas suatu produk dapat dijelaskan, disimpulkan dan dievaluasi secara rasional. Desain faktorial merupakan penerapan aplikasi persamaan regresi yang bertujuan untuk memberikan penjelasan mengenai hubungan variabel bebas dengan variabel respon yang ditentukan. Metode ini dapat digunakan untuk menentukan formula optimum dalam suatu eksperimen dan menunjukkan efek tiap faktor serta hasil interaksi kedua faktor tersebut. Hasil yang diperoleh dari metode ini berupa persamaan matematika (Bolton dan Bon, 2004).

Desain faktorial terdiri dari dua jenis yakni *simple factorial design* dan *complex factorial design*. *Simple factorial design* disebut sebagai desain faktorial dengan dua faktor sedangkan untuk *complex factorial design* sering disebut sebagai desain faktorial dengan multi faktor. Desain faktorial sering menggunakan notasi dua aras, yakni aras tinggi dan aras rendah yang diberi kode sesuai dengan aturannya yakni aras tinggi + dan aras rendah – (González, 1998). Dalam desain faktorial terdapat beberapa istilah yang harus diketahui, yakni aras, faktor, efek dan interaksi. Faktor adalah variabel yang telah ditetapkan oleh peneliti yang dinilai dapat memberikan efek seperti konsentrasi, dan suhu. Aras adalah nilai dari suatu faktor yang terdiri dari aras tinggi dan aras rendah. Efek adalah perubahan respon yang diakibatkan oleh perubahan aras faktor. Sedangkan interaksi adalah respon yang menggambarkan keterkaitan suatu faktor dalam menghasilkan suatu efek. Jumlah percobaan dalam desain faktorial adalah  $2^n$ , notasi “2” menunjukkan aras sedangkan “n” menunjukkan faktor maka

dibutuhkan percobaan sejumlah 4 percobaan. Persamaan umum desain faktorial yang menggunakan dua faktor adalah sebagai berikut :

$$Y = b_0 + b_1XA + b_2XB + b_{12}XAXB \dots \dots \dots (2.1)$$

Keterangan :

Y : efek respon yang diteliti

XA : faktor A

XB : faktor B

$b_0, b_1, b_2, b_{12}$  : koefisien, dapat dihitung dari hasil percobaan.

Terdapat dua keuntungan utama dalam penggunaan desain faktorial. Antara lain adalah dapat menentukan efek utama dari dua atau lebih faktor hanya dengan satu eksperimen tunggal. Selain itu desain faktorial juga dapat menghemat biaya penelitian dibandingkan dengan penelitian tunggal yang memberikan tingkat akurasi yang setara.

### BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik menggunakan desain faktorial untuk melihat pengaruh tween 80 dan PEG 400 dalam sediaan nanoemulsi natrium diklofenak. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formula optimum nanoemulsi natrium diklofenak yang memiliki karakteristik, *entrapment efficiency*, transmitan dan, pH.

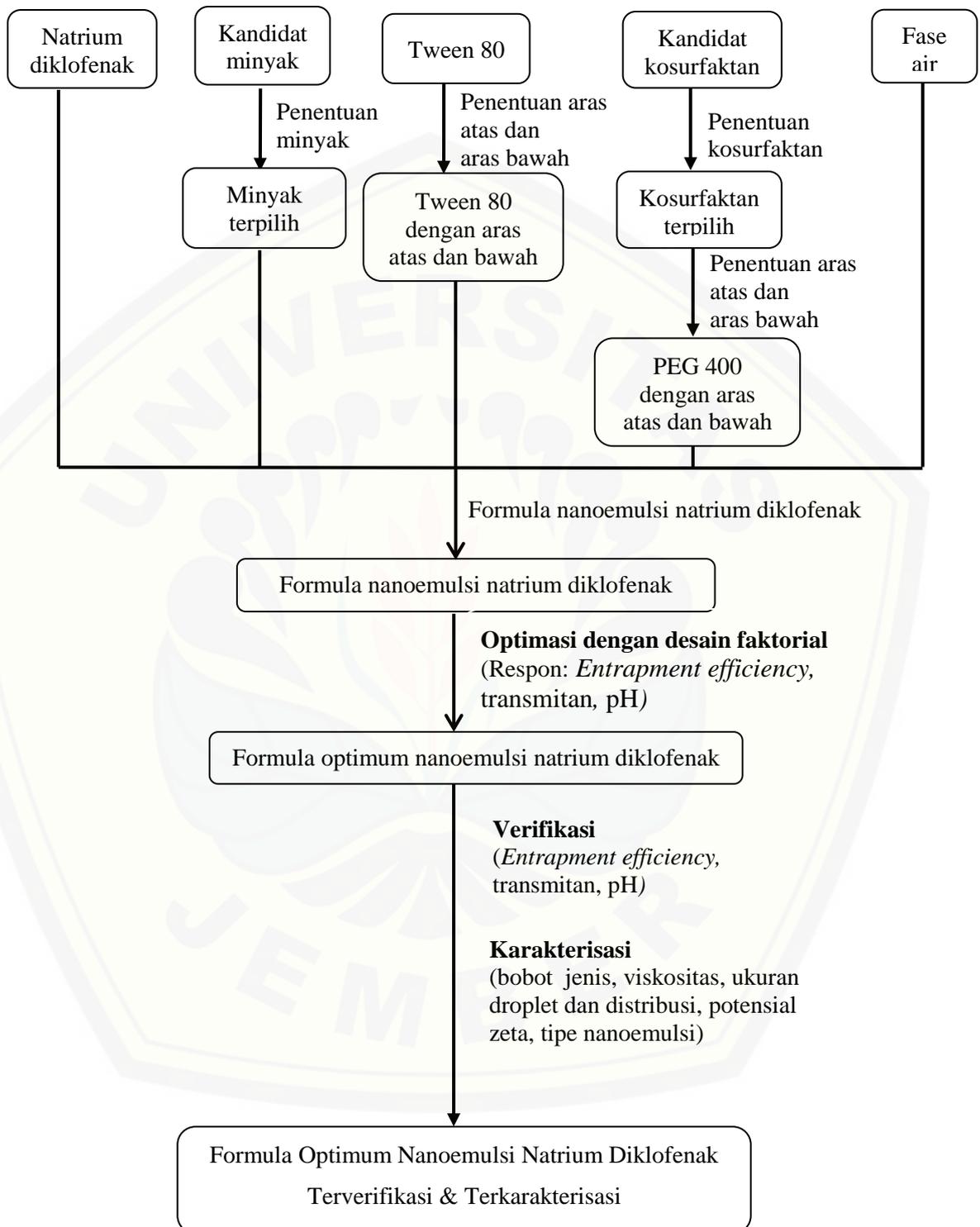
#### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Sediaan Likuida dan Semisolida bagian Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penelitian dilakukan selama bulan Maret 2019 hingga selesai.

#### 3.3 Rancangan Penelitian

Formula nanoemulsi yang digunakan adalah natrium diklofenak, tween 80, PEG 400, minyak adas, dan aquades. Faktor pada penelitian ini adalah jumlah tween 80 dan PEG 400. Respon yang diamati pada penelitian ini adalah pH, % *entrapment efficiency*, dan % transmitan.

Penelitian akan dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut: (1) Penentuan formula nanoemulsi natrium diklofenak; (2) formulasi nanoemulsi natrium diklofenak; (3) Evaluasi formula nanoemulsi natrium diklofenak; (4) Penentuan formulasi optimum natrium diklofenak menggunakan *Design Expert Trial*; (5) Uji karakterisasi formula optimum nanoemulsi natrium diklofenak mencakup organoleptis, viskositas, bobot jenis, tipe nanoemulsi, ukuran diameter droplet, dan uji verifikasi menggunakan SPSS IBM Statistik yang mencakup *entrapment efficiency*; transmitan, dan pH. (7) Analisis data dan penulisan laporan. Skema rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian Nanoemulsi Natrium Diklofenak

### 3.4 Alat dan bahan

#### 3.4.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pH meter (*Denver*), *hotplate magnetic stirrer* ( Ika c-mag HS-7 ), spektrometer UV- Vis (*Genesys 10 S*), neraca analitik (*Adventure Ohaus*), viskometer *Oswald*, piknometer, PSA (*Particle Size Analyzer*) SZ 100, *Chamber* (CAMAG), *densitometric scanner* (CAMAG), *Software Design Expert 11.0*, *Software WINCATs*, *Software SPSS 16.0*, serta alat –alat gelas.

#### 3.4.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan antara lain natrium diklofenak (Cheng Fong Chemical Co. Ltd., Taiwan), tween 80 (Kualitas teknis, Makmur Sejati), PEG 400 (Kualitas teknis, Makmur Sejati), Minyak Adas (PT. Brataco Chemica), metanol (Kualitas teknis, Makmur Sejati), toluena p.a (JT. Baker), etil asetat p.a (Smart-Lab), asam asetat glasial p.a (Smart-Lab), lempeng KLT (Kromatografi Lapis Tipis) *Silica gel 60 F254* (Merck), kertas saring, *aluminium foil* dan aquades.

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Pemilihan Minyak

Pada penelitian ini kandidat minyak yang akan diuji adalah minyak zaitun, VCO, dan adas. Pemilihan minyak dilakukan secara kualitatif dengan menambakan 100 mg natrium diklofenak dalam 2 mL masing-masing minyak, selanjutnya dilarutkan dengan *magnetic stirrer* kecepatan selama 10 menit 200 rpm. Minyak yang dipilih adalah minyak yang mampu memberikan kelarutan terbesar terhadap natrium diklofenak.

#### 3.5.2 Pemilihan Surfaktan

Pemilihan surfaktan dilakukan berdasarkan penelitian nanoemulsi sebelumnya. Kombinasi minyak adas dan surfaktan berupa tween 80 menghasilkan nanoemulsi yang stabil dengan ukuran 20,9 nm (Pebriani, 2018). Fatmawati (2018) mendukung kombinasi minyak adas dengan surfaktan tween 80

dapat menghasilkan nanoemulsi yang stabil dengan ukuran droplet sebesar 17,7 nm dan transmittan sebesar 99,037%. Penelitian nanoemulsi dengan bahan aktif berupa natrium diklofenak dan surfaktan berupa tween 80 juga ditemukan menghasilkan nanoemulsi dengan ukuran 18,37 nm dan bersifat stabil selama pengujian (Pandey dkk., 2011). Penelusuran jurnal dibuktikan dengan melakukan pengujian penambahan surfaktan berupa tween 80 dalam campuran bahan aktif dan minyak adas.

### 3.5.3 Pemilihan Kosurfaktan

Pemilihan kosurfaktan dilakukan secara kualitatif dengan mencampurkan kosurfaktan dalam formula dengan cara penetesan. Masing-masing campuran kosurfaktan ditambahkan dengan 2 ml minyak adas dan 3 ml akuades kemudian diaduk hingga homogen. Kandidat kosurfaktan yang digunakan adalah etanol, propilen glikol dan PEG 400. Kosurfaktan yang dipilih adalah yang mampu berkombinasi dengan surfaktan secara baik dan mampu menurunkan tegangan antar muka air dan minyak.

### 3.5.4 Rancangan Desain Faktorial

Penelitian ini menggunakan metode desain faktorial dimana terdapat dua faktor dengan dua aras. Rancangan desain faktorial ditunjukkan pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Rancangan desain faktorial

<b>Formula</b>	<b>Faktor A</b>	<b>Faktor B</b>	<b>Interaksi A dan B</b>
<b>1</b>	<b>-1</b>	<b>-1</b>	<b>+1</b>
<b>A</b>	<b>+1</b>	<b>-1</b>	<b>-1</b>
<b>B</b>	<b>-1</b>	<b>+1</b>	<b>-1</b>
<b>Ab</b>	<b>+1</b>	<b>+1</b>	<b>+1</b>

(Sumber: Bolton dan Bon, 2004)

Keterangan : Faktor A ( jumlah tween 80 ); faktor B ( jumlah PEG 400 ); +1 ( aras tingi ); -1 ( aras rendah).

Berikut ini variabel yang akan diterapkan pada penelitian ini, yaitu :

- Variabel bebas : Jumlah tween 80 dan jumlah PEG 400
- Variabel terikat : *Entrapment efficiency*, transmittan dan pH,.
- Variabel terkontrol : Kecepatan pengadukan nanoemulsi, lama waktu pengadukan dan bahan penyusun nanoemulsi.

Aras rendah dan tinggi dari jumlah tween 80 dan PEG 400 ditentukan berdasarkan orientasi penelitian yang menghasilkan nanoemulsi dengan wujud jernih dan stabil.

### 3.5.5 Formula Nanoemulsi Natrium Diklofenak

Untuk mendapatkan formula nanoemulsi yang jernih dan stabil pada penelitian ini dilakukan penyusunan rancangan formula nanoemulsi natrium diklofenak. Empat formula disusun menggunakan variabel bebas dengan variasi jumlah tween 80 dan PEG 400. Jumlah dan jenis bahan penyusun ditunjukkan dalam Tabel 3.2

Tabel 3.2 Formula Nanoemulsi Natrium Diklofenak

Komposisi	Fungsif	Formula			
		1	A	B	AB
Natrium Diklofenak	Bahan aktif	0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g
Minyak adas	Fase minyak	2 mL	2 mL	2 mL	2 MI
Tween 80	Surfaktan	1,5 mL	3,5 mL	1,5 mL	3,5 MI
PEG 400	Kosurfaktan	0,5 mL	0,5 mL	1,5 mL	1,5 MI
Aquades	Fase air	3 mL	3 mL	3 mL	3 mL

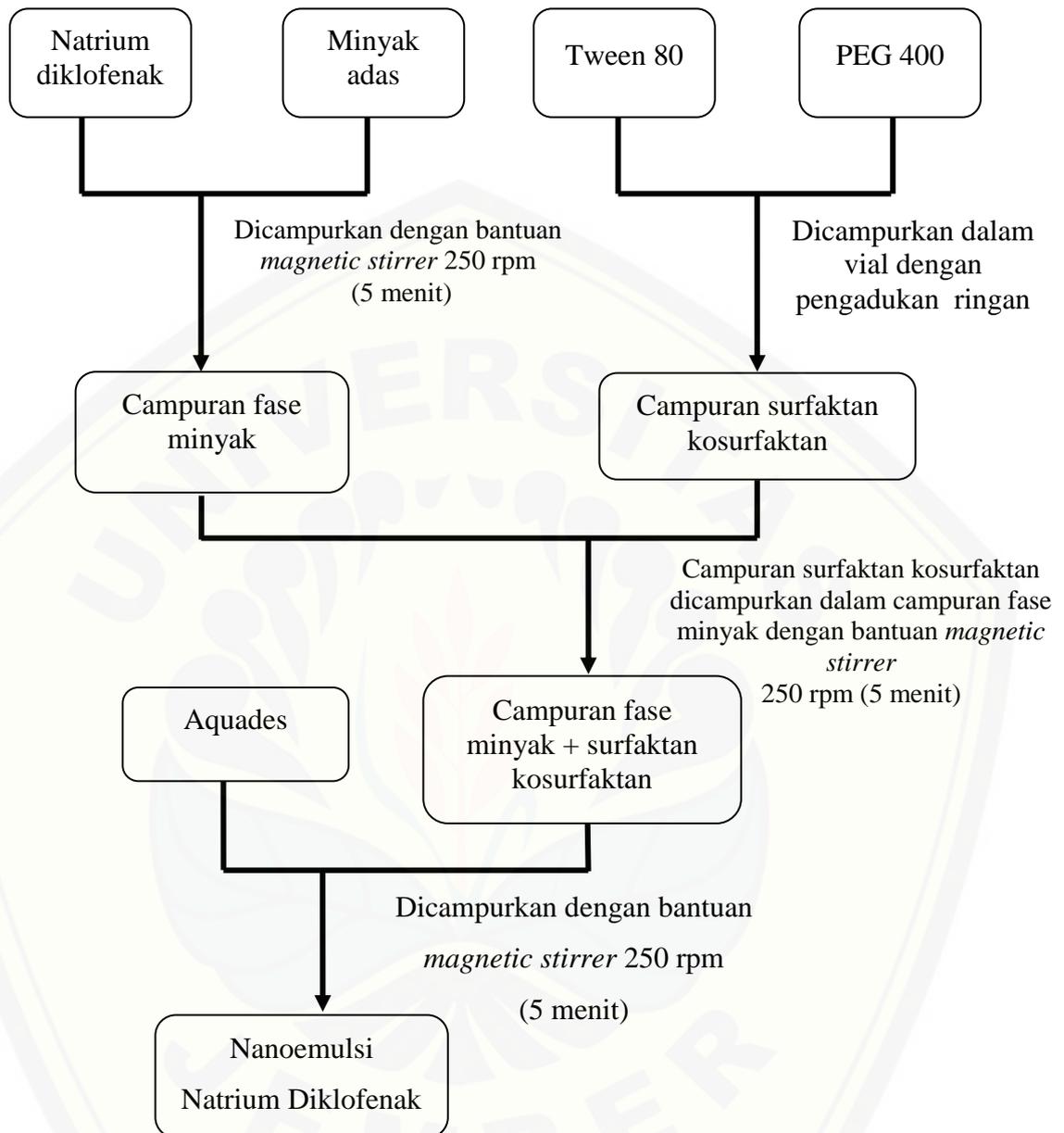
### 3.5.6 Pembuatan Nanoemulsi Natrium Diklofenak

Terdapat 4 rancangan formula nanoemulsi natrium diklofenak yang akan dilakukan pada penelitian ini. Tahapan pembuatan nanoemulsi natrium diklofenak dijelaskan dalam Gambar 3.2

### 3.5.7 Evaluasi Nanoemulsi Natrium Diklofenak

#### a. Uji organoleptis

Sediaan yang telah dibuat dilakukan pemeriksaan organoleptik dengan cara mengamati tampilan fisik dari sediaan meliputi warna, bau, kekentalan dan tingkat kejernihan. Nanoemulsi yang baik ditandai dengan tidak terjadinya pemisahan fase, tidak berbau tengik, jernih, tidak berwarna, dan homogen.



Gambar 3.2 Skema Pembuatan Nanoemulsi Natrium Diklofenak

b. Uji *entrapment efficiency*

Pengukuran *entrapment efficiency* pada nanoemulsi natrium diklofenak dilakukan dengan beberapa langkah yaitu pembuatan baku standar, *scanning* panjang gelombang maksimum, pemisahan fase nanoemulsi natrium diklofenak, penotolan pada lempeng KLT dan eluasi serta pengukuran *entrapment efficiency*.

Pembuatan baku standar dilakukan dengan membuat larutan induk sebesar 2000 dan 2500 ppm kemudian dibuat menjadi 7 konsentrasi baku standar yakni 50, 75, 100, 125, 150, 200, dan 250 ppm. Panjang gelombang maksimum natrium diklofenak dalam pelarut metanol dideteksi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Secara teoritis natrium diklofenak dalam pelarut metanol memiliki panjang gelombang sebesar 282 nm (Moffat dkk., 2011).

Pemisahan fase air dan minyak dalam nanoemulsi natrium diklofenak dilakukan dengan memasukkan 3 mL nanoemulsi natrium diklofenak dalam *ependorf* 10 mL kemudian ditambahkan minyak adas hingga keruh. Campuran dalam *ependorf* tersebut di *sentrifuge* selama 1 jam dengan kecepatan 6000 rpm. Setelah fase minyak dan air terpisah secara jelas, fase minyak diencerkan sebanyak 50 kali menggunakan metanol. Sampel siap di totolkan.

Penotolan pada lempeng KLT dilakukan menggunakan mikropipet dengan 7 standar dan 12 sampel. Masing - masing sampel dan standar dipipet 2 $\mu$ L pada titik yang sudah disediakan di lempeng KLT. Selanjutnya proses eluasi dilakukan menggunakan eluen berupa toluena : etil asetat : asam asetat glasial (6:4:0,1). Eluasi dilakukan dalam *chamber* yang telah jenuh dan berada pada posisi datar agar eluasi berjalan dengan baik, kemudian di amati. Analisis dilakukan menggunakan densitometer dengan panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan sebelumnya. Data yang dihasilkan berupa area densitogram yang selanjutnya di hitung nilai *entrapment efficiency*. Perhitungan dilakukan menggunakan rumus:

$$\% EE = \frac{Q \text{ terjerap}}{Q_t} \times 100\% \dots\dots\dots(3.2)$$

Keterangan:

$Q_t$  = Jumlah natrium diklofenak yang ditambahkan dalam sistem nanoemulsi.

### 3.5.8 Penentuan Formula Optimum

Penentuan formula optimum dilakukan melalui beberapa tahap yaitu memasukkan faktor (jumlah tween 80 dan PEG 400) dan respon yang dioptimasi

(*entrapment efficiency*, transmittan dan pH). Data penelitian yang diperoleh dimasukkan berdasarkan urutan yang telah diatur oleh *design expert*. Selanjutnya dilakukan pengaturan kriteria dan *score importance*. Kriteria merupakan rentang / batasan untuk mencapai *goal* berupa nanoemulsi yang baik menurut peneliti. *Score importance* merupakan pembobotan kepentingan dari suatu respon yang terdiri dari tanda positif satu (+) hingga tanda positif lima (+++++). Semakin tinggi tingkat kepentingan suatu komponen dan respon yang dianalisis, maka semakin besar *score importance* yang diberikan. pH diatur dengan *goal in range* 4.5-7 dan diberi *score importance* sebesar tiga (+++), hal ini dikarenakan pada rentang tersebut, nanoemulsi masih memenuhi persyaratan pH kulit. Respon transmittan diberikan *score importance* sebesar lima (+++++) dengan target kriteria *maximize* yang berarti formula optimum yang diinginkan memiliki respon transmittan terbesar dengan rentang 90-100. *Entrapment efficiency* diberikan *score importance* sebesar lima (+++++) dengan target kriteria *maximize* yang berarti formula optimum yang diinginkan memiliki respon paling *entrapment efficiency* terbesar dengan rentang 50-100. *Design expert* akan melakukan analisis dan menghasilkan solusi formula optimum sesuai kriteria yang telah ditetapkan dan nilai *desirability indeks* yang menunjukkan seberapa dekat hasil prediksi *design expert* terhadap kriteria yang peneliti inginkan.

### 3.5.9 Verifikasi Formula Optimum

Uji verifikasi yang dilakukan meliputi *entrapment efficiency*, transmittan dan pH. Pengujian ulang ini dilakukan untuk mengetahui dan memastikan hasil formula optimum dari desain faktorial sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Verifikasi formula optimum dilakukan menggunakan *One Sample T-test* dengan tingkat kepercayaan sebesar 95%. Data hasil evaluasi diuji terlebih dahulu menggunakan *Shapiro-Wilk* dengan signifikansi sebesar  $>0.05$  yang artinya terdistribusi normal dan diuji homogenitasnya menggunakan *Levene Tests*. Selanjutnya dilakukan *One Sample T-test* untuk membandingkan data hasil evaluasi dengan *test value* (nilai prediksi desain faktorial). Hasil percobaan dan prediksi dianggap tidak berbeda bermakna apabila signifikansinya  $>0,05$ .

### 3.5.10 Karakterisasi Formula Optimum

#### a. Uji Organoleptis

Sediaan dengan formula optimum dilakukan pemeriksaan organoleptik dengan cara mengamati tampilan fisik dari sediaan meliputi warna, bau, kekentalan dan tingkat kejernihan.

#### b. Uji Bobot Jenis

Pengujian bobot jenis dilakukan menggunakan piknometer dalam suhu ruang. Piknometer dalam kondisi kering dan bersih ditimbang ( $A_0$ ). Kemudian diisi aquades sampai penuh dan ditimbang ( $A_1$ ), aquades dikeluarkan dan dibersihkan. Selanjutnya nanoemulsi diisikan dalam piknometer kemudian ditimbang ( $A_2$ ). Bobot jenis sampel dihitung dengan persamaan sebagai berikut

$$\text{Bobot Jenis} = \frac{A_2 - A_0}{A_1 - A_0} = \dots \quad 3.1$$

#### c. Uji Viskositas

Pengukuran viskositas sediaan dilakukan dengan menggunakan alat viskometer Oswald pada suhu ruang  $25^\circ\text{C}$  dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali, selanjutnya hasil dihitung menggunakan rumus 3.2 (Mishra dkk., 2014).

$$\frac{\eta_1}{\eta_2} = \frac{t_1 \cdot \rho_1}{t_2 \cdot \rho_2} \dots \quad 3.2$$

Keterangan:

$\eta_1$  : Viskositas sediaan

$\eta_2$  : Viskositas pembanding

$t_1$  : Waktu alir sediaan

$t_2$  : Waktu alir aquades

$\rho_1$  : Massa jenis sediaan

$\rho_2$  : Massa jenis aquades

d. Uji Tipe Nanoemulsi

Uji tipe nanoemulsi digunakan untuk mengetahui tipe nanoemulsi yang terbentuk. Sediaan nanoemulsi yang telah dibuat diuji tipe nanoemulsinya menggunakan zat pewarna larut air yakni *methylene blue* dengan meneteskan nanoemulsi diatas kaca preparat selanjutnya meneteskan *methylene blue* diatasnya kemudian diamati. Jika warna tersebar merata pada fase air dapat diartikan bahwa nanoemulsi yang terbentuk memiliki tipe *oil in water* (Kale & Deore, 2017).

e. Uji Ukuran dan Distribusi Droplet

Pengukuran diameter droplet dilakukan menggunakan alat PSA (*Particle size analyzer*) tipe DLS (*Dynamic Light Scattering*) dengan cara memasukkan sampel dalam kuvet dan diletakkan dipermukaan *holder* kemudian alat PSA akan menganalisis dan menghasilkan grafik ukuran diameter droplet (Yuliani dkk., 2016).

f. Potensial zeta

Potensial zeta diukur menggunakan PSA SZ-100 dengan cara memasukkan sampel dalam kuvet dan diletakkan dipermukaan *holder* kemudian alat PSA akan menganalisis dan menghasilkan grafik ukuran potensial zeta.

**Lampiran 15. Dokumentasi Penelitian**

a. Penimbangan bahan



b. Bahan yang digunakan

