



9 772686 250000

e-ISSN : 2686-2506



Optimasi Formulasi Nanoemulsi Minyak Biji Anggur Energi Tinggi dengan *Box Behnken Design* (BBD)

Siti Zahliyatul Munawiroh*, Fatimah Siyam Handayani, Bambang H. Nugroh

Jurusan Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta

*Email korespondensi : sitizahliyatul@uii.ac.id

(Submit 15/03/2019, Revisi 05/09/2019, Diterima 25/8/2019)

Abstrak

Pembuatan emulsi dengan energi rendah membutuhkan surfaktan dalam jumlah besar. Pembuatan nanoemulsi dengan energi tinggi dapat mengurangi jumlah surfaktan dalam pembuatan nanoemulsi yang stabil. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan optimasi formulasi nanoemulsi minyak biji anggur dengan energi tinggi menggunakan *Box Behnken Design* (BBD). Variabel bebas yang digunakan adalah persentase Smix (X1), waktu sonikasi (X2), dan *pulsar rate* (X3). Variabel respon (dependen) adalah ukuran partikel (Y1), indeks polidispersitas (PDI) (Y2) dan potensial zeta (Y3). Eksperimen data yang diperoleh dianalisis dengan analisis ANOVA menunjukkan model yang signifikan untuk respon ukuran partikel mengikuti model kuadratik. Verifikasi antara prediksi dan pengamatan pada 3 respon (Y1, Y2 dan Y3) di 3 formula optimal yang diperoleh, menunjukkan nilai bias (%) kurang dari 10%. Formula optimal terpilih mempunyai karakteristik ukuran partikel yang kecil < 100 nm (77,8±11,4 nm), nilai PDI yang kecil <0,7 (0,474±0,14) dan memiliki nilai zeta potensial yang besar >±30mV (-54,7±2,31 mV). Sehingga dapat disimpulkan bahwa *Box Behnken Design* (BBD) dapat digunakan untuk optimasi nanoemulsi minyak biji anggur dengan energi tinggi.

Kata kunci: Nanoemulsi energi tinggi, minyak biji anggur, *Box Behnken Design* (BBD)

Outline

- Pendahuluan
- Metode
- Hasil dan Pembahasan
- Kesimpulan
- Ucapan Terima Kasih
- Daftar Pustaka

Pendahuluan

Emulsi dengan ukuran droplet yang berada pada skala nanometrik (20-200 nm) disebut dalam literatur sebagai mini emulsi, nanoemulsi, ultrafine emulsi, submikron emulsi dan lain sebagainya¹ dapat menjadi alternatif penyelesaian masalah pada ketersediaan hayati dari obat-obatan yang berada pada BCS (*Biopharmaceutical Classification System*) Class II yakni obat-obat yang mempunyai permeabilitas tinggi namun kelarutan yang rendah². Nanoemulsi ini juga tidak stabil secara termodinamika dan secara umum terdiri dari bagian minyak, surfaktan dan air³⁻⁵.

Dilihat dari jumlah energi yang terlibat, pembuatan nanoemulsi bisa dilakukan dengan menggunakan energi rendah atau menggunakan energi tinggi. Pembuatan nanoemulsi dengan energi rendah bisa menggunakan metode pembalikan fase (*Phase Inversion Composition* (PIC)), temperature pembalikan fase (*Phase Inversion Temperature* (PIT)) dan juga emulsifikasi spontan⁶. Pada metode energi rendah, pembentukan nanoemulsi ini sangat tergantung dari kondisi lingkungan (komposisi, temperature dan pengadukan) yang kemudian bisa membentuk kondisi metastabil⁷. Kelebihan dari metode energi rendah ini di antaranya lebih efektif dalam membentuk droplet dengan ukuran yang sangat kecil, tidak membutuhkan peralatan yang spesifik dan hemat energi, serta sederhana untuk dilakukan. Di sisi lain, ada beberapa kerugian dalam penggunaan metode ini, antara lain terbatasnya jenis minyak dan surfaktan yang digunakan supaya dapat membentuk nanoemulsi yang stabil, dan penggunaan jumlah surfaktan yang relatif tinggi⁸. Sedangkan pada pembuatan nanoemulsi dengan energi tinggi misalnya dengan *high pressure homogenizer*⁹ atau *ultrasonicator*¹⁰, penggunaan surfaktan bisa ditekan jumlahnya, sehingga resiko ketoksikan yang disebabkan oleh tingginya jumlah surfaktan bisa dikurangi. Pada metode energi tinggi, parameter yang berasal dari peralatan yang digunakan berpengaruh pada karakter nanoemulsi yang dihasilkan¹¹. Oleh karena itu perlu dilakukan optimasi formula yang melibatkan parameter dari peralatan yang digunakan (variabel proses). *Box Behken design* (BBD) telah berhasil digunakan dalam optimasi sediaan farmasi termasuk sediaan nanoemulsi, namun optimasinya hanya sebatas komposisi tanpa melibatkan variabel proses (parameter alat). Studi optimasi yang menggabungkan variable komposisi dan variabel proses masih sangat minim. Untuk itu pada penelitian ini akan dilakukan optimasi pembuatan nanoemulsi dari minyak biji anggur dengan surfaktan tween 80 dan kosurfaktan Polietilen Glikol 400 (PEG 400) dengan energi tinggi (*ultrasonicator*) dimana variabel komposisi (Smix) dan variabel proses dari *ultrasonicator* (waktu sonikasi dan *pulser rate*) dioptimalkan dengan disain percobaan Box Behnken.

Metode

A. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak biji anggur (*pharmaceutical/ food grade* Henan Kunhua Biological Technology Co., Ltd., Cina), tween 80 (kualitas farmasetis Brataco, Indonesia), polietilen glikol 400 (PEG 400) (kualitas farmasetis Brataco, Indonesia, dan aquades (kualitas pro analisa dari Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Islam Indonesia).

B. Desain optimasi formulasi minyak biji anggur dengan energi tinggi (*ultrasonicator*)

Desain statistik Box-Behnken dengan 3 faktor, 3 tingkat, dan 17 percobaan dipilih untuk studi optimasi dengan bantuan software Desain Expert 8.0.0.6 state Ease Inct. Variabel atau faktor independen dimodifikasi dari penelitian Ali dkk¹⁰ dan Kotta dkk¹¹ yakni persentase Smix (X1), waktu sonikasi (X2), dan pulsar rate (X3) yang merupakan persen dari waktu sonikator dihidupkan hingga menghasilkan dorongan. Interval nilai dari X1, X2 dan X3 ditentukan dengan mempertimbangkan nilai ADI (*Acceptable Daily Intake*) dari masing-masing komponen. Variabel dependen atau respon adalah ukuran partikel rata-rata (Y1), indeks polidispersitas, dinotasikan sebagai PDI (Y2), dan zeta potensial (Y3)¹⁰.

i. Pengujian respon

1. Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas

Sediaan nanoemulsi diambil sebanyak 1 mL diencerkan dengan aqua pro injeksi sebanyak 250 ml. Pada penggunaan *Particle Size Analyzer* (PSA), sampel nanoemulsi yang telah diencerkan dimasukkan kedalam kuvet, kemudian dilakukan pengukuran ukuran globul dan PDI.

2. Zeta Potensial

Zeta potensial diukur dengan menggunakan PSA. Pengukuran zeta potensial dilakukan pada suhu 25°C. Sebanyak 1 mL nanoemulsi diencerkan dalam air sebanyak 250 mL, lalu dimasukkan ke dalam kuvet kemudian dilakukan pengukuran terhadap zeta potensial. Suatu formulasi nanoemulsi dikatakan stabil apabila memiliki nilai zeta potensial yang tinggi yaitu diatas ± 30 mV¹².

ii. Karakterisasi organoleptis sediaan nanoemulsi minyak biji anggur

Diamati terjadinya perubahan bentuk, warna, dan bau. Pemeriksaan dilakukan setiap 1 minggu selama 4 minggu. Sediaan diamati secara visual apakah terjadi perubahan secara visual atau terjadi pemisahan fase atau tidak.

C. Analisis statistik optimasi formulasi nanoemulsi minyak biji anggur dengan energi tinggi

Data eksperimen yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) untuk menentukan model yang terbaik dari tiga variabel independen. Analisis statistik nilai parameter, termasuk penyesuaian nilai F, nilai P, koefisien korelasi berganda (R^2) dan *lack of fit*, yang dihasilkan oleh *software* Design Expert digunakan untuk mengevaluasi dan memilih model terbaik terhadap respon.

Hasil dan Pembahasan

A. Studi Optimasi Formulasi nanoemulsi dengan Box-Behnken design

Metode energi tinggi digunakan untuk menghasilkan nanoemulsi minyak biji anggur yang memiliki karakteristik baik. Desain statistik Box-Behnken design digunakan untuk menentukan formula dari sediaan. Komposisi Smix (surfaktan dan kosurfaktan) dipilih berdasarkan *Acceptable Daily Intake* (ADI) dari Tween 80 dan PEG 400. Nanoemulsi dibuat berdasarkan desain dan didapatkan 17 percobaan. Dengan variabel yang dipengaruhi adalah ukuran partikel, PDI dan zeta potensial.

Formulasi nanoemulsi didapatkan nilai ukuran partikel berkisar antara 71,8 nm – 348,1 nm, PDI berkisar antara 0,128–0,692 dan Zeta potensial berkisar antara -36,5 - -82,6, %smix antara 1,9% - 7,95%, waktu sonikasi antara 2–6 menit dan *pulser rate* antara 30–90. Data eksperimental dianalisis secara statistik, analisis statistik digunakan untuk menentukan model yang terbaik untuk ketiga variabel independen.

Parameter yang dianalisis dengan ANOVA menunjukkan nilai yang signifikan dan valid. Untuk nilai ukuran partikel (Y1) nilai P value < dibanding tingkat signifikansi (0,05) menandakan model yang signifikan dimana ukuran partikel dipengaruhi variabel independen (% Smix, waktu sonikasi dan *pulser rate*). R^2 dengan nilai 0,9654 menunjukkan kecocokan yang sangat baik dari persamaan polinomial yang dihasilkan untuk data respon. Nilai *lack of fit* model adalah 0,1451 yang signifikan menunjukkan

Tabel 1. Design Experimen Box-Behnken

| Run | Faktor 1 % smix | Faktor 2 Waktu (menit) | Faktor 3 Pulser (%) | Ukuran partikel (nm) | PDI | Zeta Potensial (mV) |
|-----|--------------------|---------------------------|------------------------|-------------------------|-------|---------------------------|
| 1 | 7,95 | 10 | 30 | 117,8 | 0,492 | -52,0 |
| 2 | 14,00 | 2 | 60 | 164,6 | 0,254 | -40,4 |
| 3 | 14,00 | 10 | 60 | 71,4 | 0,453 | -36,5 |
| 4 | 7,95 | 6 | 60 | 100,2 | 0,382 | -44,5 |
| 5 | 1,90 | 6 | 90 | 308,0 | 0,605 | -62,5 |
| 6 | 1,90 | 6 | 30 | 285,2 | 0,692 | -61,7 |
| 7 | 1,90 | 10 | 60 | 187,4 | 0,346 | -68,7 |
| 8 | 7,95 | 2 | 90 | 210,4 | 0,446 | -67,9 |
| 9 | 7,95 | 6 | 60 | 122,0 | 0,289 | -55,3 |
| 10 | 7,95 | 2 | 30 | 348,1 | 0,667 | -51,2 |
| 11 | 7,95 | 6 | 60 | 135,7 | 0,128 | -80,1 |
| 12 | 7,95 | 6 | 60 | 123,7 | 0,200 | -57,8 |
| 13 | 14,00 | 6 | 90 | 99,2 | 0,387 | -36,5 |
| 14 | 7,95 | 10 | 90 | 147,3 | 0,155 | -58,9 |
| 15 | 7,95 | 6 | 60 | 94,3 | 0,323 | -50,8 |
| 16 | 14,00 | 6 | 30 | 145,8 | 0,249 | -82,6 |
| 17 | 1,90 | 2 | 60 | 303,0 | 0,611 | -67,6 |

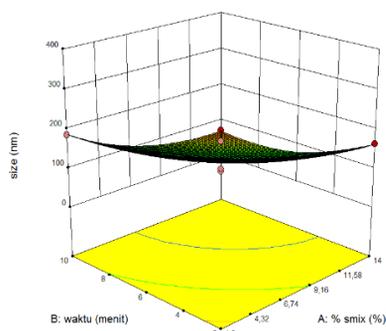
Tabel 2. *Analysis of Variance* (ANOVA) ukuran partikel, PDI dan zeta potensial

| Respon | F value | P value | R ² | Lack of fit | Model |
|--------------------------------------|---------|------------------------------|----------------|------------------------------|-----------|
| Ukuran Partikel (Y ₁) | 3,20 | 0,0003 (signifikan) | 0,9654 | 0,1451 (tidak signifikan) | Quadratic |
| PDI (Y ₂) | 3,41 | 0,1442 (tidak signifikan) | 0,7461 | 0,1336 (tidak signifikan) | Quadratic |
| Zeta Potensial | 0,96 | 0,4128 (tidak signifikan) | 0,4033 | 0,5420 (tidak signifikan) | 2FI |

bahwa model yang diusulkan sesuai. Design Expert menyarankan model Quadratic untuk ukuran partikel dengan nilai F= 3,20 mengartikan model yang tidak signifikan. Persamaan akhir dari model menggambarkan ukuran partikel dimana A merupakan jumlah smix, B merupakan waktu dan C merupakan pulser rate. Nilai positif dari masing-masing komponen dalam persamaan regresi merepresentasikan efek yang menguntungkan dalam optimasi karena bersifat sinergis, sementara nilai negatif menunjukkan hubungan antagonis antara faktor dan respon¹³. Persamaan dapat ditulis sebagai berikut:

$$\text{Ukuran Partikel (Y}_1\text{)} = -75,32(\text{A}) -62,77(\text{B}) -16,50(\text{C}) +5,60(\text{AB}) -17,35(\text{AC}) +41,80(\text{BC}) +35,03(\text{A}^2) +31,38(\text{B}^2) +59,34(\text{C}^2) \quad (1)$$

Dimana A adalah %Smix, B adalah waktu sonikasi dan C adalah *pulser*. Berdasarkan hasil dari persamaan untuk ukuran partikel, didapatkan bahwa semua koefisien memiliki nilai antagonis atau tidak sinergis terhadap nilai ukuran partikel. Untuk visualisasi optimalisasi nanoemulsi, analisis respon diplotkan dalam model grafik 3D seperti Gambar 1.



Gambar 1. Diagram 3D mengilustrasikan pengaruh komposisi nanoemulsi terhadap ukuran

B. Formula optimal nanoemulsi minyak biji anggur dengan metode energi tinggi

Dari hasil optimasi Box-Behnken Design didapatkan 3 formula yang diprediksikan dapat memenuhi kriteria yakni ukuran partikel dan nilai PDI yang paling kecil dan zeta potensial yang paling besar (Tabel 3).

Tabel 3. Formula optimal nanoemulsi minyak biji anggur dengan metode energi tinggi

| Formula | Variabel Independen | | |
|---------|---------------------|----------|---------|
| | Minyak (%) | Smix (%) | Air (%) |
| 1 | 9,4 | 10,78 | 79,82 |
| 2 | 9,4 | 10,87 | 79,73 |
| 3 | 9,4 | 10,91 | 79,69 |

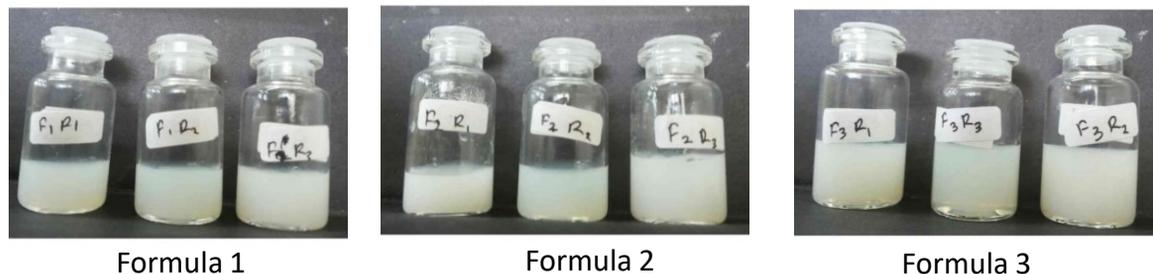
Pemilihan formula optimal didasarkan pada nilai bias <10%, sehingga dari ketiga formula dipilih formula 3 dengan ukuran partikel 77,8 dengan bias 8,9%, PDI 0,474 dengan bias 3,4% dan zeta potensial -54,7 dengan bias 7% (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil dan verifikasi formula optimal

| Formula | | Target | Hasil observasi | Bias |
|---------|-----------------|--------|-----------------|--------|
| 1 | Ukuran partikel | 71,4 | 75,63±5,4 | 5,80% |
| | PDI | 0,613 | 0,545±0,08 | 11,09% |
| | Zeta Potensial | -51,2 | -51,1±0,64 | 0,13% |
| 2 | Ukuran partikel | 71,4 | 78,2±14,9 | 9,50% |
| | PDI | 0,491 | 0,466±0,08 | 5,00% |
| | Zeta Potensial | -51,1 | -55,6±1,62 | 8,80% |
| 3 | Ukuran partikel | 71,4 | 77,8±11,4 | 8,90% |
| | PDI | 0,491 | 0,474±0,14 | 3,40% |
| | Zeta potensial | -51,1 | -54,7±2,31 | 7,00% |

C. Karakteristik formula optimal nanoemulsi minyak biji anggur

Evaluasi sediaan nanoemulsi yang dibuat pada semua formula menunjukkan hasil berupa sediaan yang berwarna putih susu dan tidak transparan dan stabil karena tidak terjadi pemisahan fase pada formula yang dibuat (Gambar 2). Nanoemulsi dengan ukuran partikel akan menghasilkan sediaan yang jernih atau transparan atau sedikit berkabut, sehingga sangat cocok untuk digunakan dalam industri baik makan ataupun obat¹⁴.



Gambar 2. Sediaan Nanoemulsi Metode Energi Tinggi

Kesimpulan

Nanoemulsi minyak biji anggur dengan energi dapat dioptimalkan menggunakan Box Behnken Design (BBD).

Ucapan Terima Kasih

Penelitian dibiayai oleh Hibah Akreditasi Institusi Perguruan Tinggi (AIPT) yang diselenggarakan oleh Badan Pengembangan Akademik (BPA) Universitas Islam Indonesia (UII), Yogyakarta, Indonesia.

Daftar Pustaka

1. Solans C, Izquierdo P, Nolla J, Azemar N, Garcia-Celma M. Nano-emulsions. *Current opinion in colloid & interface science*. 2005;10(3-4):102-10.
2. Pouton CW. Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system. *European journal of pharmaceutical sciences*. 2006;29(3-4):278-87.
3. Mason T, Wilking J, Meleson K, Chang C, Graves S. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics: condensed matter*. 2006;18(41):R635.
4. Sonnevile-Aubrun O, Simonnet J-T, L'aloret F. Nanoemulsions: a new vehicle for skincare products. *Advances in colloid and interface science*. 2004;108:145-9.
5. Tadros T, Izquierdo P, Esquena J, Solans C. Formation and stability of nano-emulsions. *Advances in colloid and interface science*. 2004;108:303-18.
6. Anton N, Vandamme TF. The universality of low-energy nano-emulsification. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009;377(1-2):142-7.
7. Rao J, McClements DJ. Stabilization of phase inversion temperature nanoemulsions by surfactant displacement. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2010;58(11):7059-66.
8. Yang Y, Marshall-Breton C, Leser ME, Sher AA, McClements DJ. Fabrication of ultrafine edible emulsions: Comparison of high-energy and low-energy homogenization methods. *Food Hydrocolloids*. 2012;29(2):398-406.

9. Yuan Y, Gao Y, Zhao J, Mao L. Characterization and stability evaluation of β -carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization under various emulsifying conditions. *Food Research International*. 2008;41(1):61-8.
10. Ali H, Shirode AB, Sylvester PW, Nazzal S. Preparation and in vitro antiproliferative effect of tocotrienol loaded lipid nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2010;353(1):43-51.
11. Kotta S, Khan AW, Ansari SH, Sharma RK, Ali J. Formulation of nanoemulsion: a comparison between phase inversion composition method and high-pressure homogenization method. *Drug Delivery*. 2015;22(4):455-66.
12. Eid AMM, Elmarzugi N, El-Enshasy HA. Preparation and evaluation of olive oil nanoemulsion using sucrose monoester. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2013;5(Suppl 3):434-40.
13. Elnaggar YS, El-Massik MA, Abdallah OY. Self-nanoemulsifying drug delivery systems of tamoxifen citrate: design and optimization. *International journal of pharmaceuticals*. 2009;380(1):133-41.
14. McClements DJ. Edible nanoemulsions: fabrication, properties, and functional performance. *Soft Matter*. 2011;7(6):2297-316.