



Optimasi Formula Nanoemulsi Antioksidan Minyak Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan Metode Box Behnken Design

Ferdy Firmansyah, Widia Wulandari, Wildan Khairi Muhtadi, Nofriyanti
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau

ABSTRAK

Minyak nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) yang memiliki konstituen utama *patchouli alcohol* menunjukkan aktivitas antioksidan. Karakteristik khusus dari minyak nilam yaitu memiliki sifat volatilitas yang tinggi sehingga perlu untuk diformulasi menjadi bentuk sediaan yang lebih stabil seperti nanoemulsi. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mendapatkan konsentrasi optimum dari masing-masing komponen penyusun nanoemulsi yang melibatkan proses yaitu waktu pengadukan yang menghasilkan sediaan nanoemulsi dengan karakteristik yang baik menggunakan *Box Behnken Design* (BBD) serta melakukan uji aktivitas antioksidan nanoemulsi minyak nilam. Konsentrasi *Smix* (surfaktan dan kosurfaktan), air, dan waktu pengadukan merupakan faktor yang diamati dalam optimasi formula dan sebagai respon digunakan persen transmisi. Karakteristik yang diamati antara lain rata-rata ukuran partikel, indeks

polidispersitas, dan zeta potensial. Berdasarkan data diagram fase digunakan minyak nilam 5%. Data hasil optimasi diperoleh nilai konsentrasi *Smix* 24%, air 35,511%, dan waktu pengadukan 5,516 menit, memberikan nilai rata-rata ukuran partikel 12,76 nm, indeks polidispersitas 0,162, dan zeta potensial -26,1 mV. Aktivitas antioksidan nanoemulsi minyak nilam menunjukkan nilai $IC_{50} > 1000$ ppm. Sehingga dapat disimpulkan bahwa *Box Behnken Design* (BBD) dapat digunakan untuk optimasi nanoemulsi minyak nilam yang menghasilkan nanoemulsi dengan karakteristik yang baik. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menentukan konsentrasi minyak nilam yang diformulasikan sebagai nanoemulsi untuk penggunaan sebagai antioksidan.

Kata Kunci : Antioksidan, *Box Behnken Design* (BBD), Minyak Nilam, Nanoemulsi, Optimasi

ABSTRACT

Patchouli oil (*Pogostemon cablin* Benth.) with its main content of patchouli alcohol showed antioxidant activity. The special characteristic of patchouli oil is that it has high volatility, so it needs to be formulated into a more stable dosage form such as nanoemulsion. This study aimed to determine the optimum concentration of each component of the nanoemulsion which involves the process of stirring time to produce a nanoemulsion with good characteristics using *Box Behnken Design* (BBD) and to test the antioxidant activity of patchouli oil nanoemulsion. The concentration of *Smix* (surfactant and cosurfactant), water, and stirring time were factors that played a role in the optimization of the formulation and as a response the transmittance percent was used. The observed characteristics were particle size, polydispersity index, and zeta potential. Based on the

phase diagram data, 5% patchouli oil was used. The data obtained from the optimization results yielded *Smix* concentration value of 24%, water 35.511%, and stirring time 5.516 minutes, giving an average particle size of 12.76 nm, polydispersity index 0.162, and zeta potential -26.1 mV. The antioxidant activity study yielded the IC_{50} value of >1000 ppm. Therefore, it can be concluded that *Box Behnken Design* (BBD) can be used for optimization of patchouli oil nanoemulsion which produced the nanoemulsion with suitable characteristics. Moreover, the further study is needed to determine the patchouli oil concentration in the nanoemulsion dosage form that is suitable for the use as an antioxidant.

Keywords : Antioxidants, *Box Behnken Design* (BBD), Nanoemulsion, Optimization, Patchouli Oil

Penulis Korespondensi :
Wildan Khairi Muhtadi
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau
E-mail : muhtadiwildan@gmail.com

Informasi Artikel
Submitted : 01 November 2022
Accepted : 09 Desember 2022
Published : 27 Desember 2022

PENDAHULUAN

Pada saat ini, seiring dengan meningkatnya gerakan *back to nature*, masyarakat menganggap obat tradisional menunjukkan harga yang murah serta efek samping yang minimal bila dibandingkan dengan obat modern (Ana & Dyah, 2011). Salah satu tumbuhan asal Indonesia yang sudah dikenal oleh masyarakat dalam pengobatan tradisional adalah tanaman nilam (*Pogostemon cablin*). Minyak nilam adalah minyak atsiri yang didapatkan dari proses penyulingan bagian-bagian tanaman nilam. Minyak nilam memiliki nilai komoditi yang sangat prospektif dan termasuk sebagai salah satu komoditas terbesar di Indonesia (Harimurti dkk., 2013).

Patchouli alcohol merupakan konstituen terbanyak penyusun minyak nilam dengan kandungan sebesar 34,1 % dan menjadi salah satu penentu bau serta kualitas dari minyak nilam. Kandungan senyawa *patchouli alcohol* dan turunannya, fenol, serta golongan terpenoid seperti *seychellene* bertanggung jawab untuk aktivitas antibakteri dan antioksidan pada tanaman nilam. Selain itu, senyawa aromatik aktif seperti α -cadinol (35.78%) dan *patchouli alcohol* (34.85%) menjadi komponen utama yang memberikan aktivitas antioksidan dalam minyak nilam (Suprijono dkk., 2015).

Uji kualitatif antioksidan dengan menggunakan DPPH (*1,1 diphenyl-2-*

picrylhydrazyl) menunjukkan minyak nilam berpotensi sebagai antioksidan. Hasil pengujian secara kuantitatif aktivitas antioksidan minyak nilam 15% diperoleh nilai EC_{50} sebesar 19,95% (Suprijono dkk., 2015). Aktivitas antioksidan ekstrak etanol minyak nilam memperoleh nilai IC_{50} sebesar 18 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dengan DPPH dan 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ menggunakan ABTS (*2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6-sulfonic acid*) serta kemampuan penghambatan moderat pada superoksida dan nitrit oksida (Dechayont dkk., 2017). Hasil ini memiliki kesesuaian dengan uji pendahuluan yang diperoleh nilai IC_{50} untuk minyak nilam murni sebesar 13,123 $\mu\text{g}/\text{ml}$ atau <50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ termasuk kedalam kategori sangat aktif.

Minyak nilam memiliki karakteristik khusus yaitu bersifat volatil sehingga apabila disimpan pada kondisi suhu ruangan atau digunakan secara langsung akan menguap dan dapat menurunkan aktivitasnya (Smith dkk., 2019). Untuk itu bahan aktif dalam bentuk minyak atsiri perlu diformulasikan ke dalam suatu bentuk sediaan yang lebih stabil seperti nanoemulsi. Diketahui sediaan mikroemulsi hanya stabil secara termodinamika sedangkan pada nanoemulsi selain stabil secara termodinamika juga stabil secara kinetika. Nanoemulsi akan menjerat bahan aktif minyak atsiri sehingga tidak mudah

menguap dan lebih stabil secara kinetika (Fatmasari, 2019).

Teknologi nano banyak digunakan dalam sistem penghantaran zat aktif suatu sediaan obat pada saat ini. Partikel atau globul pada skala nanometer mampu mengatur kecepatan pelepasan zat aktif, meningkatkan level kelarutan, dan meningkatkan absorpsi obat. Nanoemulsi merupakan bentuk sediaan yang terdiri dari fase minyak dan fase air yang distabilkan oleh kombinasi surfaktan dan kosurfaktan dengan droplet berukuran antara 100-200 nm. Ukuran tetesan yang kecil dapat mencegah sedimentasi, flokulasi, dan fluktuasi. Ukuran globul secara signifikan mempengaruhi efektivitas formula. Semakin kecil ukuran partikel yang terdispersi, semakin mudah sediaan untuk menembus permukaan kulit sehingga dapat meningkatkan penetrasi ke dalam kulit dan meningkatkan efektifitas (Jaiswal dkk., 2015).

Konstituen yang berperan dalam menentukan keberhasilan sistem nanoemulsi adalah jumlah fase minyak dan *Smix* (surfaktan dan kosurfaktan) (Chime dkk., 2014). Surfaktan adalah suatu zat yang mampu mengurangi tegangan permukaan suatu medium dan melemahkan tegangan antarmuka antar dua fasa yang berbeda derajat kepolarannya (Hambali dkk., 2019). Kosurfaktan meningkatkan dispersi dan kelarutan obat dengan cara meningkatkan

hubungan molekul surfaktan yang menyebabkan terbentuknya tegangan antarmuka yang semakin mampat (Sahumena dkk., 2019). Surfaktan dan kosurfaktan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Tween 80 dan *polyethyleneglycol* (PEG) 400. Kombinasi Tween 80 dan PEG 400 dalam nanoemulsi menunjukkan tampilan yang jernih dan mampu membentuk emulsi berukuran nano yang stabil (Wahyuningsih & Putranti, 2015).

Baru-baru ini penerapan desain eksperimental statistik untuk formulasi farmasi telah terbukti efisien dalam memperoleh informasi yang diperlukan untuk memahami hubungan antara variabel independen dan dependen dalam formulasi. Box Behnken Design (BBD) adalah sebuah metode yang dapat digunakan untuk mengoptimalkan suatu formulasi. Nursal dkk., 2019 berhasil mendapatkan kondisi optimum dari nanoemulsi Natrium Askorbil Fosfat menggunakan metode uji Box Behnken. Munawiroh dkk., 2019 berhasil mengoptimasi sediaan nanoemulsi minyak biji anggur menggunakan BBD dengan faktor konsentrasi *Smix*, waktu sonikasi, dan *pulsar rate*.

Sejauh ini belum ditemukan penelitian tentang optimasi nanoemulsi minyak nilam dengan menggunakan pendekatan Box Behnken Design (BBD). Oleh karena itu peneliti tertarik untuk melakukan optimasi nanoemulsi minyak

nilam dengan menggunakan pendekatan BBD yang bertujuan untuk mengetahui konsentrasi optimum dari masing-masing komponen penyusun nanoemulsi yang terdiri dari fase air, fase minyak, dan *Smix* (campuran surfaktan-kosurfaktan) yang melibatkan proses yaitu waktu pengadukan yang menghasilkan sediaan nanoemulsi dengan karakteristik yang baik serta melakukan uji aktivitas antioksidan nanoemulsi sebagai inovasi baru dalam penghantaran nanoemulsi minyak nilam.

METODE PENELITIAN

Alat

Timbangan analitik (Shimadzu® ATX224), pH meter (Ohaus® ST300), Piknometer, Refraktometer (KEM Kyoto Electronic® RA-130), *Hot Plate* (Thermo®), *Magnetic Stirrer* (Daihan® MSH-20D), Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV Spectrophotometer, UV-1800), Tabung Eppendorf, *Micropipette* (Thermo scientific dan Finnpiquette), *Particle Size Analyzer* (HORIBA SZ-100), Kertas Whatman 0.45, dan Seperangkat Alat Gelas (Pyrex).

Bahan

Minyak Atsiri Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) (CV. Eteris Nusantara), Tween 80 (Brataco), PEG 400 (Petronas), dan *Aquadest* (Brataco).

Rancangan Optimasi Nanoemulsi Minyak Nilam

Nanoemulsi dibuat dengan metode titrasi, dimana fase minyak di masukkan ke dalam vial dan di tambahkan *Smix* (surfaktan dan kosurfaktan) dicampurkan dengan menggunakan *stirrer* dan ditunggu beberapa menit. Setelah itu ditambahkan fase air secara titrasi tetes demi tetes hingga 5 mL. Masukkan data yang didapat ke diagram fase menggunakan *software* Prosim (Shafiq-un-Nabi dkk., 2007)

Penentuan Batas Atas dan Batas Bawah Komponen Nanoemulsi Minyak Nilam

Optimasi formula nanoemulsi menggunakan model *Respon Surface* berdasarkan area pada proses uji pendahuluan di diagram fase yang menghasilkan nanoemulsi dengan campuran isotropik. Batasan rentang konsentrasi ditentukan berdasarkan rentang pada proses uji pendahuluan yang membentuk campuran isotropik menggunakan *Box Behnken Design* pada *Software Design Expert*.

Formulasi Nanoemulsi Minyak Nilam

Nanoemulsi dibuat dengan metode titrasi, dimana fase minyak dimasukkan ke dalam vial dan diaduk menggunakan *stirrer* selama 3-7 menit pada kecepatan 300 rpm dan suhu 50°C, lalu ditambahkan Tween 80 dan diaduk selama 3-7 menit dan dicampurkan dengan PEG 400 diaduk selama beberapa menit. Terakhir tambahkan fase air tetes demi tetes secara

titrasi hingga 5 mL dan aduk kembali menggunakan *magnetic stirrer* 3-7 menit (Firmansyah dkk., 2022).

Evaluasi Respon Formula Nanoemulsi Minyak Nilam

Pengujian persen transmittan digunakan sebagai respon dalam formula nanoemulsi. Sampel nanoemulsi minyak nilam sebanyak 1 mL dilarutkan dalam labu takar 100 mL dengan menggunakan akuades. Persen transmittan diukur pada panjang gelombang 650 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan akuades sebagai blanko Formula dengan persentase transmittan 90%-100% menunjukkan penampilan visual yang jernih dan transparan (Costa dkk., 2012).

Penentuan Formula Optimum Nanoemulsi Minyak Nilam

Formula optimum ditentukan berdasarkan nilai desirabilitas yang paling tinggi pada daerah *contour plot* yang disarankan oleh piranti lunak *Design Expert*. *Contour plot* diperoleh dengan menentukan target dari masing-masing respon berupa *in range*, *minimize*, atau *maximize*.

Verifikasi Formula Optimum Nanoemulsi Minyak Nilam

Formula optimum nanoemulsi minyak nilam diverifikasi dengan cara dibuat kembali dan dilakukan pengujian sesuai respon yang digunakan. Data hasil verifikasi dibandingkan dengan hasil prediksi dari piranti lunak *Design Expert* dan dianalisis dengan *one sample t-test*

untuk menginvestigasi apakah terdapat perbedaan yang signifikan.

Karakterisasi Nanoemulsi Minyak Nilam

Formula nanoemulsi minyak nilam diambil sebanyak 1 mL dipipet menggunakan mikropipet ke dalam labu takar 10 mL kemudian ditambahkan *aquades* hingga tanda batas. Distribusi ukuran tetesan, indeks polidispersitas, dan *zeta potensial* dari nanoemulsi yang dihasilkan ditentukan dengan analisis difraksi laser menggunakan peng analisis *Particle Size Analyzer* yang menganalisis fluktuasi hamburan cahaya akibat gerak *Brown* dari partikel-partikel. Hamburan cahaya dipantau pada suhu 25°C dan pada sudut 90°. Hamburan cahaya dipantau pada suhu 25°C dan pada sudut 90°. Pengukuran dilakukan setelah sediaan dibuat dengan replikasi sebanyak 3 kali untuk masing-masing formula (Firmansyah dkk., 2022).

Uji Aktivitas Antioksidan Nanoemulsi Minyak Nilam

Sebanyak 0,1 g nanoemulsi minyak nilam dilarutkan dengan etanol p.a sampai tanda batas pada labu ukur 100 mL, sehingga diperoleh larutan induk konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan induk sampel dipipet sebanyak 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, dan 5 mL. Kemudian ditambahkan etanol p.a dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas. Sehingga diperoleh variasi konsentrasi 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm, dan 500

ppm. Pipet masing-masing konsentrasi sebanyak 2 mL larutan sampel, masukkan ke dalam tabung reaksi dan tambahkan larutan DPPH 35 µg/mL sebanyak 4 mL. Campuran dihomogenkan dan ditutup dengan aluminium foil dibiarkan di tempat gelap selama 30 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang serapan maksimum 516 nm dengan alat spektrofotometer UV-Vis. Pengujian aktivitas antioksidan vitamin c sebagai pembanding dilakukan dengan cara yang sama dengan variasi konsentrasi 2, 4, 6, 8, dan 10 µg/mL (Molyneux, 2004).

Analisis Data

Analisis data pada optimasi menggunakan faktor konsentrasi *Smix*, konsentrasi air, dan waktu pengadukan dengan respon yaitu persen transmisi dilakukan menggunakan piranti lunak *Design Expert* menggunakan metode BBD berdasarkan persamaan masing-masing respon yang diperoleh dibuat *contour plot*. Analisis data pada hasil verifikasi formula optimum nanoemulsi minyak nilam dilakukan dengan analisis *one sample t-test* untuk melihat apakah hasil verifikasi formula terpilih memiliki perbedaan signifikan terhadap prediksi menggunakan piranti lunak *Design Expert*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

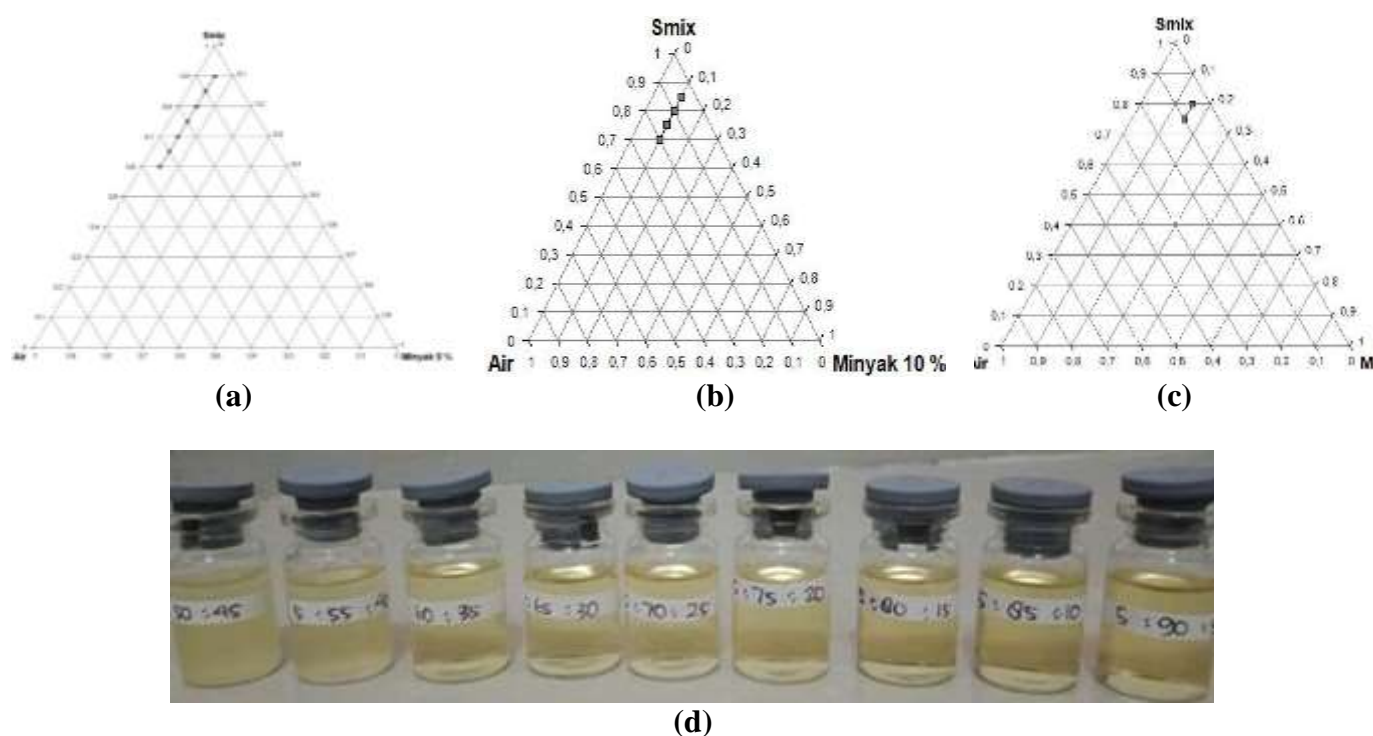
Rancangan Optimasi Formula Nanoemulsi Minyak Nilam

Rancangan optimasi formula nanoemulsi minyak nilam ini dilakukan terlebih dahulu dengan membuat diagram fase menggunakan *Software Prosim Ternary Diagram*. Hal ini bertujuan untuk memilih formula terbaik yang menghasilkan tampilan jernih secara visual yang berada pada area nanoemulsi dengan mengatur perbandingan ketiga komponen sediaan yaitu fase air, surfaktan, dan kosurfaktan. Untuk fase minyak dibuatkan dalam perbandingan 5%, 10%, dan 15% disajikan pada tabel 1.

Formula yang baik adalah formula dengan daerah terbesar dalam diagram fase dan menghasilkan sediaan dengan tampilan yang jernih secara visual dari awal penambahan air sampai penambahan air 100% (Shafiq-un-Nabi dkk., 2007). Berdasarkan pengamatan yang dilakukan dipilih fase minyak dengan konsentrasi 5% karena tampilan sediaan paling jernih serta memiliki daerah terbesar pada diagram fase dibandingkan dengan konsentrasi 10% dan 15% (Gambar 1). Selanjutnya dilakukan observasi secara visual untuk formula yang jernih dengan kriteria transparan serta memiliki jumlah *smix* paling sedikit (Ali dkk., 2014).

Tabel 1. Pengamatan visual pada berbagai perbandingan

Minyak 5%: <i>Smix</i>	1:1	1:2	1:3	1:4	1:5	1:6	1:7	1:8	1:9	1:10	1:11	1:12	1:13	1:14	1:15	1:16	1:17	1:18
	Tween 80: PEG 400																	
2:1	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE
Minyak 10%: <i>Smix</i>	2:1	2:2	2:3	2:4	2:5	2:6	2:7	2:8	2:9	2:10	2:11	2:12	2:13	2:14	2:15	2:16	2:17	
	Tween 80: PEG 400																	
2:1	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	NE	NE	NE	NE	
Minyak 15%: <i>Smix</i>	3:1	3:2	3:3	3:4	3:5	3:6	3:7	3:8	3:9	3:10	3:11	3:12	3:13	3:14	3:15	3:16		
	Tween 80: PEG 400																	
2:1	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	NE	NE		



Gambar 1. Diagram fase dengan kondisi konsentrasi minyak 5% (a); konsentrasi minyak 10% (b); konsentrasi minyak 15% (c); serta penampilan visual nanoemulsi minyak nilam (d)

Optimasi Formula dengan Box Behnken Design

Konsentrasi minyak nilam yang digunakan sebesar 5% untuk optimasi nanoemulsi menggunakan *Design-Expert*. Faktornya adalah konsentrasi *Smix* (X_1), Air (X_2), dan Waktu Pengadukan (X_3), sedangkan responnya

adalah persen transmitan (Y_1). Desain optimasi formula dengan Box Behnken Design dapat dilihat pada Tabel 2. Batas atas dan batas bawah X_1 , X_2 , dan X_3 yaitu 60-64%, 31-35%, dan 3-7 menit. Sesuai dengan yang terdapat pada (Tabel 3) dengan Y_1 kisaran 88,4-97,0%.

Tabel 2. Desain optimasi formula dengan Box Behnken Design

No.	Run	Smix (%) (X ₁)	Air (%) (X ₂)	Waktu Pengadukan (menit) (X ₃)	Transmitan (%) (Y ₁)
1	1	60	33	3	97
2	2	62	35	3	92,8
3	3	62	31	3	88,4
4	4	64	35	5	91,8
5	5	60	33	7	95,1
6	6	62	33	5	93,8
7	7	62	35	7	93,5
8	8	64	33	7	93
9	9	62	33	5	94,3
10	10	60	35	5	95,3
11	11	64	31	5	95,6
12	12	62	33	5	95,6
13	13	60	31	5	94,7
14	14	62	31	7	94,1
15	15	62	33	5	95,5
16	16	64	33	3	96,3
17	17	62	33	3	95,5

Tabel 3. Nilai batas atas dan batas bawah dari faktor-faktor yang digunakan pada optimasi

No.	Faktor dan Respon	Target	Batas Bawah	Batas Atas
1	A : Smix	Minimum	60	64
2	B : Air	Dalam rentang	31	35
3	C : Waktu Pengadukan	Dalam rentang	3	7
4	% Transmitan	Maksimum	88,4	97

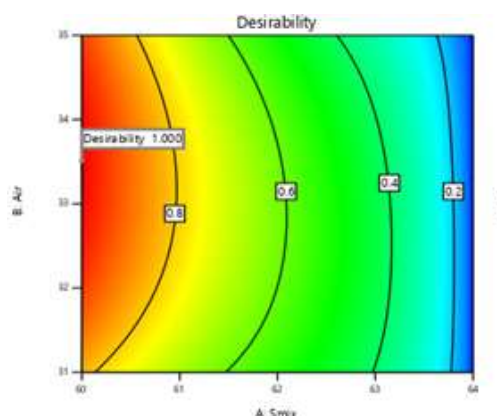
Verifikasi Formula Optimum Nanoemulsi Minyak Nilam

Nilai persen transmitan yang sudah dimasukkan dalam sistem *Design-Expert* menghasilkan formula optimum yang

memiliki nilai desirabilitas mendekati 1 seperti yang tertera pada (tabel 4). Diagram *contour plot* dari desirabilitas dapat dilihat pada gambar 2.

Tabel 4. Formula optimum nanoemulsi minyak nilam rekomendasi *Design Expert*

Smix (%)	Air (%)	Waktu Pengadukan (menit)	%Transmitan	Desirabilitas	Status
60	33,51	5,516	97,06	1,00	Terpilih

Gambar 2. Diagram *contour plot* dari desirabilitas formula optimum

Berdasarkan data tersebut kemudian formula dibuat kembali dan dilakukan pengujian respon yang digunakan. Hasilnya menunjukkan tidak ada perbedaan antara hasil verifikasi dengan hasil rekomendasi *software* ($p > 0,05$). Selain itu berdasarkan statistika ANOVA pada Design Expert, diketahui bahwa model yang digunakan untuk mengetahui efek dari konsentrasi smix, air, dan waktu pengadukan terhadap % transmittan adalah tidak signifikan ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa faktor-faktor yang digunakan dalam optimasi tidak memengaruhi nilai % transmittan secara signifikan.

Karakterisasi Nanoemulsi Minyak Nilam

Karakterisasi nanoemulsi minyak nilam menghasilkan ukuran partikel lebih kecil dari 200 nm, indeks polidispersitas kurang dari 0,7, dan potensial zeta lebih tinggi dari -20 mV (tabel 5). Penampilan visual formula optimum nanoemulsi minyak nilam dapat dilihat pada gambar 3.

Ukuran partikel nanoemulsi sangat dipengaruhi oleh konsentrasi surfaktan yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi surfaktan akan semakin

menurunkan ukuran partikel (Schreiner dkk., 2020). Nilai indeks polidispersitas menggambarkan keseragaman ukuran partikel nanoemulsi. Nilai indeks polidispersitas yang kurang dari 0,7 mengindikasikan distribusi ukuran yang sempit dari partikel yang terdispersi di dalam sistem nanoemulsi. Hal ini akan memudahkan metode *dynamic light scattering* yang digunakan dalam pengujian ukuran partikel untuk menganalisis sampel nanoemulsi (Muhtadi dkk., 2019). Sebaliknya, nilai indeks polidispersitas yang mendekati angka 1 akan memicu terjadinya kondisi *Ostwald ripening* yang merupakan fenomena dimana partikel dengan ukuran yang lebih kecil akan tertarik untuk bergabung dengan partikel yang berukuran lebih besar dan pada akhirnya akan menyebabkan kondisi koalesensi (Bernardi dkk., 2011). Nilai zeta potensial memegang peranan penting dalam menjaga kestabilan system nanoemulsi. Nilai zeta potensial yang lebih dari +30 mV atau lebih dari -30 mV akan menghindarkan terjadinya penggabungan partikel yang dapat menyebabkan terjadinya koalesensi (Ribeiro dkk., 2015).

Tabel 5. Hasil karakterisasi formula optimum nanoemulsi minyak nilam

Ukuran Partikel (nm)	Indeks Polidispersitas	Potensial Zeta (mV)
12,76±0,06	0,163±0,04	-26,1±0,61



Gambar 3. Formula optimum nanoemulsi minyak nilam nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50%*).

Aktivitas Antioksidan Nanoemulsi Minyak Nilam

Pemeriksaan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH karena pengerjaannya mudah, cepat, sensitif, dan sampel sampel yang diperlukan hanya sedikit untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam. Prinsip dari metode ini adalah mengukur aktivitas antioksidan secara kuantitatif dengan melakukan pengukuran radikal DPPH yang ditangkap oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan dengan menggunakan instrument spektrofotometri UV-Vis sehingga didapatkan nilai aktivitas peredaman radikal bebas yang dinyatakan dengan

IC_{50} adalah konsentrasi sampel yang meredam radikal DPPH sebanyak 50%. Nilai IC_{50} didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50 (Prasetyo dkk., 2021). Hasil menunjukkan bahwa absorbansi sampel semakin menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi sebagaimana terdapat pada tabel 6. Hal ini terjadi karena adanya pengurangan radikal DPPH oleh antioksidan. Semakin tinggi konsentrasi sampel maka partikel senyawa antioksidan di dalamnya akan semakin banyak sehingga semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya dan menyebabkan menurunnya absorbansi (Talapessy dkk., 2013).

Tabel 6. Hasil pengujian aktivitas antioksidan nanoemulsi minyak nilam

No.	Konsentrasi (ppm)	Absorban Blanko	Ln Konsentrasi	Absorbansi Sampel	% Inhibisi	IC_{50} (ppm)
1	500	0,737	6,2146	0,41	44,3691	>1000
2	400		5,9915	0,432	41,3840	
3	300		5,7038	0,437	40,7056	
4	200		5,2983	0,458	37,8562	
5	100		4,6052	0,46	37,5848	

Berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh dapat dikatakan bahwa perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menemukan konsentrasi minyak nilam yang sesuai untuk menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih baik. Dengan menemukan konsentrasi minyak nilam optimum, maka lebih lanjut akan dapat ditentukan dosis penggunaan nanoemulsi minyak nilam.

KESIMPULAN

Minyak nilam sebagai zat aktif sekaligus fase minyak dapat menghasilkan sediaan nanoemulsi dengan formula optimum yaitu rasio minyak:Smix (1:12) dan rasio Tween 80:PEG 400 (2:1). Hasil karakterisasi formula optimum nanoemulsi yang meliputi rata-rata ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan potensial zeta telah memenuhi persyaratan nanoemulsi yang baik. Hasil pengujian aktivitas antioksidan nanoemulsi minyak nilam memperoleh nilai $IC_{50} > 1000$ ppm yang menunjukkan bahwa diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan konsentrasi optimum minyak nilam yang akan diformulasikan dalam bentuk nanoemulsi

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Hibah Penelitian Dosen Pemula Vokasi Kemenristekdikti 2022 yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Ali, M. S., Alam, M. S., Alam, N., & Siddiqui, M. R. (2014). Preparation,

Characterization and Stability Study of Dutasteride Loaded Nanoemulsion for Treatment of Benign Prostatic Hypertrophy. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research : IJPR*, 13(4), 1125–1140.

Ana, H., & Dyah, A. (2011). Persepsi Pengunjung Apotek Mengenai Penggunaan Obat Bahan Alam Sebagai Alternatif Pengobatan Di Kelurahan Muja Muju Kecamatan Umbulharjo Kota Yogyakarta. *Prosiding Seminar Nasional Homecare*. <http://eprints.uad.ac.id/1422/>

Bernardi, D. S., Pereira, T. A., Maciel, N. R., Bortoloto, J., Viera, G. S., Oliveira, G. C., & Rocha-Filho, P. A. (2011). Formation and stability of oil-in-water nanoemulsions containing rice bran oil: In vitro and in vivo assessments. *Journal of Nanobiotechnology*, 9, 44. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-9-44>

Chime, S. A., Kenchukwu, F. C., Attama, A. A., Chime, S. A., Kenchukwu, F. C., & Attama, A. A. (2014). Nanoemulsions—Advances in Formulation, Characterization and Applications in Drug Delivery. Dalam *Application of Nanotechnology in Drug Delivery*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/58673>

Costa, J. A., Lucas, E. F., Queirós, Y. G. C., & Mansur, C. R. E. (2012). Evaluation of nanoemulsions in the cleaning of polymeric resins. *Colloids and Surfaces*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2012.10.011>

Dechayont, B., Ruamdee, P., Poonnaimuang, S., Mokmued, K., & Chunthorn-Orn, J. (2017). Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. *Journal of Botany*, 2017, e8310275. <https://doi.org/10.1155/2017/8310275>

- Fatmasari, Q. W. (2019). *Optimasi Tween Dan Peg dalam Nanoemulsi Minyak Biji Ketumbar (Coriandrum Sativum L.) sebagai Antioksidan*.
<https://repository.unej.ac.id/xmlui/handle/123456789/90873>
- Firmansyah, F., Muhtadi, W. K., Indriani, S., Ulhaq, M. D., Auliya, S. R., Iskandar, B., Agistia, N., & Chabib, L. (2022). IAI SPECIAL EDITION: Development of novel curcumin nanoemulgel: Optimisation, characterisation, and ex vivo permeation. *Pharmacy Education*, 22(2), Art. 2.
<https://doi.org/10.46542/pe.2022.222.98103>
- Hambali, E., Suryani, A., Rivai, M., & Permadi, P. (2019). *Teknologi surfaktan dan aplikasinya (edisi revisi)*. PT Penerbit IPB Press.
- Harimurti, N., Soerawidjaja, T. H., Sumangat, D., & Risfaheri, nFN. (2013). Ekstraksi Minyak Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) Dengan Teknik Hidrodifusi Pada Tekanan 1 – 3 BAR. *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*, 9(1), Art. 1.
<https://doi.org/10.21082/jpasca.v9n1.2012.%p>
- Jaiswal, M., Dudhe, R., & Sharma, P. K. (2015). Nanoemulsion: An advanced mode of drug delivery system. *3 Biotech*, 5(2), 123–127.
<https://doi.org/10.1007/s13205-014-0214-0>
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant. *Songklanakar Journal of Science and Technology (SJST)*, 26(2), 211–219.
- Muhtadi, W. K., Novitasari, L., Martien, R., & Danarti, R. (2019). Factorial design as the method in the optimization of timolol maleate-loaded nanoparticle prepared by ionic gelation technique. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 11(5), 66–70.
<https://doi.org/10.22159/ijap.2019.v11i5.34435>
- Munawiroh, S. Z., Handayani, F. S., & Nugroh, B. H. (2019). Optimasi Formulasi Nanoemulsi Minyak Biji Anggur Energi Tinggi dengan Box Behnken Design (BBD). *Majalah Farmasetika*, 4(0), Art. 0.
<https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v4i0.25864>
- Nursal, F. K., Sumirtapura, Y. C., Suciati, T., & Kartasasmita, R. E. (2019). Optimasi Nanoemulsi Natrium Askorbil Fosfat melalui Pendekatan Design of Experiment (Metode Box Behnken). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 6(3), Art. 3.
<https://doi.org/10.25077/jsfk.6.3.228-236.2019>
- Prasetyo, E., Kiromah, N. Z. W., & Rahayu, T. P. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Terhadap Ekstrak Etanol Kulit Buah Durian (*Durio zibethinnus* L.) dari Desa Alasmalang Kabupaten Banyumas. *Jurnal Pharmascience*, 8(1), Art. 1.
<https://doi.org/10.20527/jps.v8i1.9200>
- Ribeiro, R. C. de A., Barreto, S. M. de A. G., Ostrosky, E. A., da Rocha-Filho, P. A., Veríssimo, L. M., & Ferrari, M. (2015). Production and characterization of cosmetic nanoemulsions containing *Opuntia ficus-indica* (L.) mill extract as moisturizing agent. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 20(2), 2492–2509.
<https://doi.org/10.3390/molecules20022492>
- Sahumena, M. H., Suryani, S., & Rahmadani, N. (2019). Formulasi Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Asam Mefenamat menggunakan VCO dengan Kombinasi Surfaktan Tween dan Span. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 1(2), Art. 2.

- <https://doi.org/10.37311/jsscr.v1i2.2660>
- Schreiner, T. B., Santamaria-Echart, A., Ribeiro, A., Peres, A. M., Dias, M. M., Pinho, S. P., & Barreiro, M. F. (2020). Formulation and Optimization of Nanoemulsions Using the Natural Surfactant Saponin from Quillaja Bark. *Molecules*, 25(7). <https://doi.org/10.3390/molecules25071538>
- Shafiq-un-Nabi, S., Shakeel, F., Talegaonkar, S., Ali, J., Baboota, S., Ahuja, A., Khar, R. K., & Ali, M. (2007). Formulation development and optimization using nanoemulsion technique: A technical note. *AAPS PharmSciTech*, 8(2), E12–E17. <https://doi.org/10.1208/pto802028>
- Smith, H., Idrus, S., & Seimahuira, L. M. (2019). Kontribusi Lama Pemeraman Daun Dan Modifikasi Saringan Ketel Terhadap Laju Distilat Dan Rendemen Minyak Nilam Asal Maluku. *Majalah BIAM*, 15(2), Art. 2. <https://doi.org/10.29360/mb.v15i2.5659>
- Suprijono, A., Gunawan, Y., & Wulan, A. H. (2015). Minyak Nilam (Patchouli Alcohol) Sebagai Antioksidan Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, 12(1), Art. 1. <https://doi.org/10.31942/jiffk.v12i1.1400>
- Talapessy, S., Suryanto, E., & Yudistira, A. (2013). Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ampas Hasil Pengolahan Sagu (Metroxylon sagu Rottb). *PHARMACON*, 2(3), Art. 3. <https://doi.org/10.35799/pha.2.2013.2373>
- Wahyuningsih, I., & Putranti, W. (2015). Optimasi Perbandingan Tween 80 dan Polietilenglikol 400 Pada Formula Self Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Minyak Biji Jinten Hitam. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 12(2), Art. 2.