

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI NANOEMULSI
EKSTRAK ETANOL 70% DAUN SEMANGGI
(*Marsilea crenata* C. Presl.)**

***FORMULATION AND CHARACTERIZATION OF 70% ETHANOL
EXTRACT NANOEMULSION OF SEMANGGI
(*Marsilea crenata* C. Presl.) LEAVES***

Burhan Ma'arif^{1*}, Rani Azzahara¹, Fahrul Rizki¹, Arief Suryadinata¹, Abdul Wafi¹, Novia Maulina¹, Hajar Sugihantoro¹

¹*Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Univeritas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang*

Jl. Locari, Krajan, Tlekung, Kecamatan Junrejo, Kota Batu

*Email Corresponding: burhan.maarif@farmasi.uin-malang.ac.id.

Submitted: 24 January 2023

Revised: 29 March 2023

Accepted: 11 May 2023

ABSTRAK

Marsilea crenata C. Presl. mengandung fitoestrogen yang memiliki struktur atau fungsi seperti estrogen, sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai neuroprotektor pada kondisi defisiensi estrogen. Namun, ada masalah yang mungkin timbul dari obat-obatan yang berasal dari bahan alam, salah satunya adalah kelarutan dan permeabilitas yang buruk. Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan *M. crenata* dalam formulasi nanoemulsi sehingga dapat menjaga stabilitasnya. *M. crenata* diformulasikan menjadi dua formula kemudian dilakukan karakterisasi. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa kedua formula nanoemulsi memenuhi parameter yang meliputi nilai ukuran partikel, indeks polidispersitas, persen transmittan, sifat organoleptik, tipe nanoemulsi, dan pH. Hasil uji stabilitas menunjukkan adanya perubahan organoleptik pada formula B4 (75 ppm) dan B5 (100 ppm) serta terjadi penurunan pH pada semua formula. Formula nanoemulsi terbaik diperoleh dari formula A4 (75 ppm) yang ditandai dengan hasil karakterisasi yang memenuhi parameter sediaan nanoemulsi yang baik.

Kata kunci : *M.crenata*, nanoemulsi, formulasi, karakterisasi.

ABSTRACT

Marsilea crenata C. Presl. contains phytoestrogens, which have a structure or function like estrogen, so they could potentially used as a neuroprotector in an estrogen deficiency condition. However, there are problems that may arise from drugs of natural material origin, one of which is poor solubility and permeability. The purpose of this research was to found stable ways to use *M. crenata* in nanoemulsions. *M. crenata* was formulated into two formulas, which were then implemented. According to the results of the characterization, the two nanoemulsion formulations satisfied parameters including particle size, polydispersity index, transmittance percentage, organoleptic properties, nanoemulsion type, and pH. Organoleptic changes were observed in formulas B4 (75 ppm) and B5 (100 ppm), as well as a decrease in pH for all formulas. The A4 formula (75 ppm), which stood out for having excellent characterization results that met nanoemulsion preparation parameters, was the source of the best nanoemulsion formula.

Keywords: *M. crenata*, nanoemulsion, formulation, characterization

PENDAHULUAN

Semanggi (*Marsilea crenata* Presl.) biasa digunakan oleh masyarakat Indonesia baik untuk bahan obat maupun makanan khas. Beberapa daerah khususnya di Surabaya sering dijumpai menggunakan *M. crenata* sebagai lauk atau yang biasa disebut lalapan (Akbar dkk., 2014; Nurjanah dkk., 2012). *M. crenata* mengandung beberapa senyawa fitoestrogen yang berasal dari golongan flavonoid yang merupakan senyawa yang mirip dengan estrogen (Ma'arif, 2018). Sebuah studi epidemiologi mengungkapkan bahwa terapi fitoestrogen yang digunakan untuk menggantikan hormon estrogen dapat dikaitkan dengan peningkatan fungsi kognitif dan memperlambat penurunan fungsional otak yang menua (Kim dkk., 2000).

Fitoestrogen adalah senyawa polifenol dan non-steroid dengan aktivitas biologis yang mirip dengan 17-*estradiol* (*estra - 1,3,5 (10), triena - 3,17-diol, 17-E2, dan 17- epistradiol*). Karena kesamaan strukturalnya, fitoestrogen dapat berikatan dengan reseptor estrogen (RE) dan memberikan efek anti-estrogen atau pro-estrogen sehingga dapat menggantikan fungsi estrogen dalam mempertahankan homeostasis pada organ tubuh, termasuk otak (Cui dkk., 2013; Ma'arif dkk., 2019). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa fitoestrogen pada *M. crenata* berpotensi menjadi alternatif pengobatan penyakit yang disebabkan oleh defisiensi estrogen dalam tubuh, salah satunya yaitu neurodegeneratif (Yang dkk., 2012). Penelitian oleh Ma'arif dkk., (2019) menunjukkan bahwa senyawa fitoestrogen *M. crenata* diketahui mampu mereduksi ekspresi MHC II pada sel mikroglia HMC-3 sehingga dapat digunakan sebagai *neuroprotektor*. Namun, terdapat permasalahan yang mungkin timbul dari obat yang berasal dari bahan alam, salah satunya adalah kelarutan dan permeabilitas yang buruk.

Sebanyak 40% senyawa tumbuhan memiliki kelarutan yang rendah terutama dalam air, termasuk ekstrak *M. crenata*. Selain itu, permeabilitas yang dimiliki rata-rata senyawa yang terkandung dalam bahan alam sangat rendah, sehingga dapat mengganggu penyerapan yang dilakukan oleh tubuh karena sulitnya senyawa tersebut larut (Jing dkk., 2014). Beberapa faktor lain yang mempengaruhi bioavailabilitas suatu senyawa adalah stabilitas senyawa itu sendiri pada pH lambung, stabilitas dinding usus, dan aktivitas bakteri normal dalam sistem pencernaan tubuh manusia (Kesarwani dkk., 2013). Oleh karena itu, diperlukan sistem penghantaran obat yang tepat untuk mengatasi masalah bioavailabilitas senyawa bahan alam tersebut, salah satunya adalah sediaan nanoemulsi.

Nanoemulsi merupakan sistem penghantaran obat yang memiliki ukuran partikel 1- 100 nm (Pratiwi dkk., 2018). Nanoemulsi terbentuk dari beberapa komponen yaitu minyak, surfaktan, kosurfaktan, dan fasa air. Nanoemulsi dapat dibuat dengan metode energi tinggi dan rendah. Baik metode energi tinggi maupun energi rendah dapat menghasilkan nanoemulsi yang stabil (Sutradhar dan Amin, 2013). Nanoemulsi dapat meningkatkan kelarutan bahan alam dengan variabilitas eliminator dalam penyerapan, permeabilitas, dan bioavailabilitas (Chime dkk., 2014). Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan fitoestrogen *M. crenata* dalam sediaan nanoemulsi yang nantinya dapat digunakan dalam pengembangan pengobatan neurodegeneratif dari *M. crenata*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), Particle Size Analyzer (Microtac Nanotracs Wave II), pH meter digital (Laqua Horiba PH1100), lemari pendingin, oven (Memmert UN30), magnetic stirrer (Heidolph), vortex (Biologix), Sonikator (Branson 3800), gelas beaker (IWAKI), mikropipet (DLAB), labu erlenmeyer (IWAKI), tabung reaksi (IWAKI).

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *M. crenata* yang didapatkan dari Kabupaten Benowo, Surabaya, Indonesia, pada Januari 2022 dan diidentifikasi di UPT Materia Medica, Batu, Indonesia, pada bulan Januari 2022 dengan Surat Keterangan Determinasi nomor 74/133/102.20-A/2022 dan nomor spesimen 1a-17b-18a-1. Daun dikeringkan dan digiling untuk mempertahankan warna hijaunya.

Bahan lainnya yang juga digunakan pada penelitian ini adalah Miglyol (*capric oil*) dan tween 80 dibeli dari Sigma-Aldrich (Darmstadt, Jerman), minyak kelapa murni (VCO) dibeli dari Bimala (Jawa Barat, Indonesia), dan propilen glikol dibeli dari Sigma-Aldrich (Darmstadt, Jerman).

Prosedur Penelitian

1. Ekstraksi

Sebanyak 325 g serbuk kering daun *M. crenata* diekstraksi dengan pelarut etanol 96% menggunakan metode ekstraksi ultrasonic assisted extraction (UAE) selama 3 x 10 menit dengan instrumen *ultrasonic cleaner* (Sonica 5300EP S3). Filtrat dan residu kemudian dipisah dengan filtrasi, semua filtrat yang diperoleh disatukan dan dipekatkan dalam *rotary evaporator* (Heidolph Hei-VAP G3).

2. Formulasi

Pembentukan nanoemulsi dilakukan dengan perbandingan 1:8:1 (Formula A) dengan VCO sebagai fase minyak dan 1:7:2 (Formula B) dengan miglyol sebagai fase minyak. Setiap formula dibuat dengan volume 60 ml. **Tabel I** menunjukkan komponen nanoemulsi dengan ekstrak etanol 70% *daun M. crenata*.

Tabel I. Formulasi Nanoemulsi Ekstrak Etanol 70% *M. Crenata*

Formula	Bahan	Fungsi	Jumlah				
			1	2	3	4	5
A	Ekstrak <i>M. crenata</i>	bahan aktif	10 ppm	25 ppm	50 ppm	75 ppm	100 ppm
	VCO	Fase minyak	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
	Tween80	Surfaktan	8 mL	8 mL	8 mL	8 mL	8 mL
	Propilen glikol	Kosurfaktan	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
	Buffer fosfat	fase air	50 mL	50 mL	50 mL	50 mL	50 mL
Jumlah Volume			60 mL	60 mL	60 mL	60 mL	60 mL
B	Ekstrak <i>M. crenata</i>	bahan aktif	10 ppm	25 ppm	50 ppm	75 ppm	100 ppm
	Mygliol	Fase minyak	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
	Tween80	Surfaktan	7 mL	7 mL	7 mL	7 mL	7 mL
	Propilen glikol	Kosurfaktan	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
	Buffer fosfat	fase air	50 mL	50 mL	50 mL	50 mL	50 mL
Jumlah Volume			60 mL	60 mL	60 mL	60 mL	60 mL

Sejumlah ekstrak etanol 70% *M. crenata* dilarutkan dalam nanoemulsi dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 10 menit dengan kecepatan 1000 rpm. Setelah 10 menit, akuades ditambahkan sedikit demi sedikit, dan kecepatan pengadukan dinaikkan menjadi 1250 rpm selama 10 menit. Semua bahan yang telah tercampur kemudian dilakukan sonikasi selama 40 menit sambil sesekali diaduk (Yuliani dkk., 2019).

3. Karakterisasi Formula Nanoemulsi

a. Uji Kualitas Fisik

Uji kualitas fisik meliputi uji organoleptik dan pH. Pengujian organoleptik merupakan pengujian yang dilakukan dengan mengamati perubahan fisik yang terjadi pada sediaan, meliputi perubahan warna, bau, dan homogenitas (Sanna dkk., 2012).

b. Uji Tipe Emulsi

Pengujian ini dilakukan dengan cara mencampurkan sediaan nanoemulsi dengan metilen biru pada kaca arloji, kemudian diaduk dan diamati secara visual.

Jika metilen biru larut dalam sediaan, ini adalah jenis nanoemulsi minyak dalam air (m/a), tetapi jika sediaan memiliki jenis air dalam minyak (a/m) maka metilen biru tidak larut atau menggumpal pada permukaan nanoemulsi (Rahmawanty dan Sariah, 2021).

c. Pengukuran Partikel dan Uji Indeks Polidispersitas

Pertama, preparasi sampel dilakukan dengan mencampurkan 1 mL preparat nanoemulsi dengan 10 mL akuades menggunakan vortex selama 1 menit hingga homogen. Setiap formula dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Sediaan kemudian diuji dengan menggunakan alat *Particle Size Analysis (PSA) Micotrac Nanotrac Wave II*.

d. Uji Persen Transmittan

Uji persen transmittan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Sampel nanoemulsi diambil sebanyak 100 µL kemudian diencerkan dengan 5 mL akuades. Campuran divorteks selama 1 menit hingga homogen. Setelah homogen dimasukkan ke dalam kuvet untuk diamati transmittansinya secara spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang yang digunakan yaitu 650 nm. Buffer fosfat digunakan sebagai larutan blanko.

e. Uji Stabilitas

Formulasi nanoemulsi disimpan pada suhu rendah 4⁰ C dan suhu tinggi 40⁰ C. Siklus ini diulang sebanyak 6 siklus dengan lama penyimpanan 48 jam, dan diamati adanya perubahan yang terlihat atau ketidakstabilan dalam sediaan nanoemulsi. Setelah disimpan selama 6 siklus, sediaan diamati secara organoleptik kemudian dilakukan uji pH untuk mengetahui kestabilan sediaan (Pratiwi dkk., 2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Karakterisasi Formula Nanoemulsi

1. Uji Kualitas fisik

Uji kualitas fisik dilihat dari organoleptik dan pH sediaan. Uji organoleptik dilakukan dengan pengamatan secara visual menggunakan panca indera (Wulansari dkk., 2019). Uji organoleptik dilakukan pada penelitian ini yaitu mengamati warna, bau, dan homogenitas sediaan nanoemulsi yang dibuat. Hasil uji organoleptik nanoemulsi ekstrak etanol 70% *M. crenata* dapat dilihat pada **Tabel II** dan **Gambar 1**.

Tabel II. Uji Organoleptik

Formula	Konsentrasi	Warna	Bau	Homogenitas
A	10 ppm	kuning pucat	Khas dari ester	Homogen
	25 ppm	kuning pucat	Khas dari ester	Homogen
	50 ppm	Kuning	Khas dari ester	Homogen
	75 ppm	Kuning	Khas dari ester	Homogen
	100 ppm	Kuning	Khas dari ester	Homogen
B	10 ppm	kuning pucat	Khas dari ester	Homogen
	25 ppm	kuning pucat	Khas dari ester	Homogen
	50 ppm	Kuning muda	Khas dari ester	Homogen
	75 ppm	Kuning muda	Khas dari ester	Homogen
	100 ppm	Kuning muda	Khas dari ester	Homogen



Gambar 1. Uji organoleptik

Keterangan:

a = Formula A

b = Formula B

Berdasarkan **Tabel II** dan **Gambar 1** terlihat bahwa semua formula berwarna kuning bening, namun yang membedakan hanya intensitas warnanya saja. Semua formula ini juga memiliki bau ester yang khas dan terlihat homogen. Warna kuning dihasilkan oleh tween 80 yang secara fisik berwarna kuning (Rowe dkk., 2009). Ketika Tween 80 dicampur dengan komponen bening lainnya akan menghasilkan sediaan nanoemulsi berwarna kuning bening (Nuramanto dkk., 2019). Selain itu, semua sediaan nanoemulsi ekstrak etanol 70% *M. crenata* memiliki bau khas tween 80. Hal ini dapat terjadi karena konsentrasi tween 80 lebih besar dari fase minyak, sehingga bau khas tween 80 mendominasi 70% nanoemulsi ekstrak etanol *M. crenata* (Handayani dkk., 2018). Hal ini sesuai dengan karakteristik sediaan nanoemulsi yang baik, yaitu teksturnya cair dan tidak terlalu kental, berwarna kekuningan, serta tidak berbau busuk atau tengik (Stephanie, 2015).

Uji pH dilakukan untuk mengetahui apakah pH nanoemulsi yang telah disiapkan memenuhi kisaran pH sediaan baik atau tidak. Pengujian pH dilakukan dengan menggunakan pH meter (Jusnita dan Nasution, 2019). Berikut hasil pengujian pH sediaan nanoemulsi ekstrak etanol 70% *M. crenata* pada **Tabel III**.

Tabel III. Uji pH

Formula	Konsentrasi	pH ± SD
A	10 ppm	7,26 ± 0,015
	25 ppm	7,26 ± 0,015
	50 ppm	7,22 ± 0,015
	75 ppm	7,19 ± 0,030
	100 ppm	7,19 ± 0,026
B	10 ppm	7,14 ± 0,015
	25 ppm	7,11 ± 0,098
	50 ppm	7,02 ± 0,05
	75 ppm	7,1 ± 0,015
	100 ppm	7,08 ± 0,025

Berdasarkan hasil uji pH pada **Tabel III** terlihat bahwa semua formulasi nanoemulsi ekstrak etanol 70% *M. crenata* yang telah dibuat memiliki pH \pm 7. Hal ini sesuai dengan nilai pH sediaan nanoemulsi yang baik untuk pemberian oral yaitu pada kisaran pH 6,5 – 9,0 (Zhao dkk., 2010). Nanoemulsi dengan nilai pH 6,5 - 9,0 menunjukkan dispersibilitas dan transparansi tanpa flokulasi, penggumpalan, segregasi dan juga menunjukkan stabilitas yang baik. Namun, nanoemulsi yang memiliki pH antara 4,0 dan 6,0 tidak transparan dan menunjukkan pola yang tidak terdispersi, berflokulasi, menggumpal, terpisah, dan buram (Son dkk., 2019).

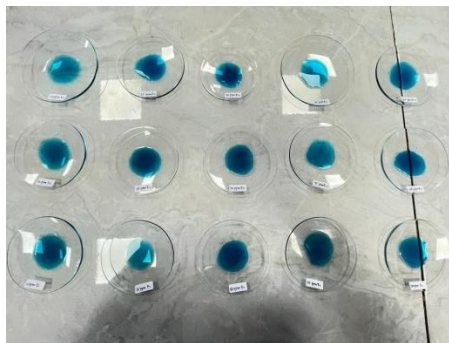
Beberapa faktor yang mempengaruhi pH sediaan nanoemulsi yaitu konsentrasi dan jenis ekstrak yang digunakan, jenis surfaktan dan eksipien lainnya. Pada penelitian ini digunakan tween 80 sebagai surfaktan non ionik yang diketahui tidak terlalu terpengaruh oleh pH dan perubahan kekuatan ionik, sehingga tidak mengubah pH sediaan menjadi terlalu asam atau terlalu basa (Azeem dkk., 2009). Pengukuran pH merupakan salah satu parameter penting untuk produk akhir nanoemulsi yang dibuat karena setiap perubahan pH akan mempengaruhi kestabilan nanoemulsi yang diformulasikan (Ghareeb and Neamah., 2017).

2. Uji Tipe Emulsi

Uji tipe nanoemulsi dilakukan dengan mencampurkan sediaan nanoemulsi dengan metilen biru pada kaca arloji, kemudian diaduk dan diamati secara visual. Metilen biru digunakan sebagai pewarna karena larut dalam air dan menghasilkan warna yang homogen. Karakteristik tersebut cocok untuk pengujian tipe nanoemulsi m/a (Sari dkk., 2022). Berikut hasil uji tipe emulsi sediaan nanoemulsi ekstrak etanol 70% *M. crenata* pada **Tabel IV** dan **Gambar 2**.

Tabel IV. Uji Tipe Emulsi

Formula	Konsentrasi	kelarutan metilen biru	
		Larut	Menggumpal
A	10 ppm	√	-
	25 ppm	√	-
	50 ppm	√	-
	75 ppm	√	-
	100 ppm	√	-
B	10 ppm	√	-
	25 ppm	√	-
	50 ppm	√	-
	75 ppm	√	-
	100 ppm	√	-



Gambar 2. Uji Tipe Emulsi

Berdasarkan hasil uji tipe emulsi, terlihat metilen biru larut dengan sempurna sehingga menghasilkan warna biru yang homogen dan tidak menggumpal. Hal ini menunjukkan bahwa semua formula bertipe emulsi m/a dimana metilen biru larut sempurna sehingga menghasilkan warna biru yang homogen dan tidak menggumpal. Hal ini menunjukkan bahwa semua formula memiliki tipe emulsi m/a. Pada dasarnya metilen biru bersifat polar, sehingga dapat larut dan menyebar secara merata di seluruh sediaan nanoemulsi jenis m/a karena nanoemulsi didominasi oleh komponen hidrofilik atau polar. Pada tipe emulsi a/m, metilen biru akan menggumpal di permukaan karena nanoemulsi didominasi oleh komponen hidrofobik atau non polar (Mardikasari dkk., 2016).

3. Pengukuran Partikel dan Uji Indeks Polidispersitas

Ukuran partikel merupakan parameter penting dalam pembuatan sediaan nanoemulsi, mengingat salah satu karakteristiknya adalah memiliki ukuran partikel 1–100 nm. Pengukuran partikel dilakukan untuk mengetahui ukuran partikel sediaan nanoemulsi dengan menggunakan instrumen PSA (Jusnita dan Nasution, 2019). Selain ukuran partikel, informasi lain yang diperoleh selama pengujian PSA adalah nilai indeks polidispersitas (Handayani dkk., 2018). Berikut hasil pengukuran partikel sediaan nanoemulsi ekstrak etanol 70% *M. crenata* pada Tabel V.

Tabel V. Pengukuran Partikel dan Uji Indeks Polidispersitas

Formula	Konsentrasi	Ukuran Partikel (nm) ± SD	Indeks Polidispersitas ±SD
A	10 ppm	12,85 ± 0,20	0,057 ± 0,011
	25 ppm	12,97 ± 0,34	0,043 ± 0,005
	50 ppm	13,02 ± 0,05	0,050 ± 0,050
	75 ppm	12,78 ± 0,23	0,063 ± 0,023
	100 ppm	13,05 ± 0,32	0,020 ± 0,034
B	10 ppm	62,60 ± 7,68	0,140 ± 0,0002
	25 ppm	56,50 ± 3,12	0,133 ± 0,045
	50 ppm	60,13 ± 6,9	0,152 ± 0,008
	75 ppm	52.17 ± 10.05	0,187 ± 0,072
	100 ppm	56,03 ± 2,15	0,168 ± 0,034

Berdasarkan **Tabel V** terlihat bahwa formula A memiliki ukuran partikel pada kisaran 12–13 nm, sedangkan formula B pada kisaran 52–63 nm. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan yang dibuat mencapai standar pembuatan nanoemulsi yang baik, dimana sediaan nanoemulsi memiliki ukuran partikel < 100 nm (Gupta dkk., 2016). Ukuran partikel dalam sediaan nanoemulsi dapat mempengaruhi laju pelepasan dan penyerapan obat (Singh dkk., 2010). Semakin kecil partikel yang terbentuk, semakin cepat obat diserap oleh tubuh, sehingga mempercepat efek terapi yang diinginkan.

Pemilihan metode homogenisasi mempengaruhi ukuran partikel sediaan nanoemulsi. Pembuatan sediaan nanoemulsi ekstrak etanol 70% *M. crenata* menggunakan sonikator untuk pembuatan sediaan nanoemulsi menggunakan metode energi tinggi (Oktarika, 2017). Proses sonikasi menggunakan sonikator merupakan teknik yang umum digunakan dalam upaya memperkecil ukuran partikel sediaan nanoemulsi (Ambarwati dan Yulianita, 2022). Prinsip kerja sonikator adalah mengubah gelombang ultrasonik menjadi getaran dengan memanfaatkan energi listrik sehingga getaran tersebut akan memecah partikel menjadi ukuran yang lebih kecil (Yunira dkk., 2021).

Selain metode homogenisasi yang digunakan, komponen surfaktan juga mempengaruhi ukuran partikel sediaan nanoemulsi. Tween 80 mampu mencegah pembesaran ukuran partikel dengan mengurangi jumlah energi bebas antar permukaan dan membentuk penghalang mekanis. Penghalang mekanis ini berfungsi untuk mencegah agregasi yang dapat menyebabkan ukuran partikel membesar (Pratiwi dkk., 2018).

Instrumen PSA tidak hanya menghasilkan data ukuran partikel tetapi juga indeks polidispersitas. Indeks polidispersitas merupakan nilai yang menggambarkan distribusi ukuran partikel atau keseragaman ukuran partikel sediaan (Oktarika, 2017). Nilai indeks polidispersitas yang semakin mendekati 0 menunjukkan bahwa tidak terjadi agregasi dan ukuran partikel yang seragam (Faizatun dkk., 2020). Nilai indeks polidispersitas sediaan nanoemulsi yang dapat dikategorikan monodispersitas dan homogen adalah < 0,3. Berdasarkan hasil indeks polidispersitas terlihat bahwa semua formulasi dapat dikategorikan monodispersi karena memiliki indeks polidispersitas < 0,3 (Handayani dkk., 2018).

Kecepatan pengadukan merupakan faktor yang mempengaruhi nilai indeks polidispersitas sediaan nanoemulsi (Faizatun dkk., 2020). Pengadukan yang terlalu cepat menyebabkan partikel saling bertumbukan menyebabkan ukuran partikel menjadi besar dan sediaan keruh, sedangkan pengadukan yang terlalu lambat menyebabkan sediaan tidak homogen (Oktarika, 2017). Sediaan homogen akan memiliki nilai indeks polidispersitas yang lebih kecil, sedangkan sediaan homogen akan memiliki nilai indeks polidispersitas yang lebih besar. Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa kecepatan pengadukan yang digunakan sudah tepat karena mampu menghasilkan sediaan yang secara fisik homogen dan memiliki nilai indeks polidispersitas yang baik (Sanaji dkk., 2019).

4. Uji Persen Transmittan

Uji persen transmittan merupakan salah satu uji untuk mengetahui kejernihan sediaan nanoemulsi. Kejernihan sediaan nanoemulsi merupakan salah satu parameter terjadinya dispersi sempurna. Uji persen transmittan dilakukan dengan alat spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 650 nm (Huda dan Wahyuningsih., 2018). Berikut hasil uji persen transmittansediaan nanoemulsi ekstrak etanol 70% *M. crenata* pada **Tabel VI**.

Tabel VI. Uji Persen Transmitan

Formula	Konsentrasi	Persen Transmitan (%) \pm SD
A	10 ppm	99,8 \pm 0,057
	25 ppm	99,8 \pm 0,378
	50 ppm	99,8 \pm 0,400
	75 ppm	99,6 \pm 0,435
	100 ppm	99,5 \pm 0,416
B	10 ppm	99,2 \pm 0,002
	25 ppm	99,4 \pm 0,003
	50 ppm	99,3 \pm 0,006
	75 ppm	99,6 \pm 0,001
	100 ppm	99,1 \pm 0,003

Berdasarkan **Tabel VI** terlihat bahwa semua formula menghasilkan dispersi yang jernih secara visual dengan nilai transmitan $> 90\%$. Hal ini mengindikasikan terjadinya pembentukan nanoemulsi yang mampu menghasilkan ukuran partikel yang kecil. Persentase nilai transmitan yang mendekati 100% menunjukkan bahwa ukuran partikel sediaan nanoemulsi sangat kecil sehingga dapat melewati berkas cahaya dan menunjukkan pengukuran transmitan yang tinggi ([Sahumena dkk., 2019](#)).

Nilai transmitan meningkat seiring dengan menurunnya ukuran partikel. Ini dapat dikaitkan dengan distribusi multimodal dari partikel, yaitu ukuran partikel yang lebih besar menghamburkan cahaya dengan lebih kuat. Afinitas surfaktan sangat mempengaruhi ukuran partikel dan fase hidrofilik atau hidrofobik dari sediaan nanoemulsi. Kemudian, pemilihan jenis surfaktan yang digunakan merupakan faktor penting dalam pembuatan sediaan nanoemulsi. Berbagai jenis surfaktan memiliki kemampuan untuk melakukan proses emulsifikasi yang berbeda karena geometri molekul surfaktan ([Zeng dkk., 2019](#)).

5. Uji Stabilitas

Stabilitas termodinamika sediaan nanoemulsi merupakan parameter penting dalam pembuatan sediaan nanoemulsi, sehingga diperlukan uji stabilitas termodinamika. Pengujian ini menggunakan metode *cycling test*. Metode ini dilakukan selama 6 siklus dengan setiap siklus terdiri dari 2 suhu penyimpanan yaitu 4°C dan 40°C . Waktu penyimpanan masing-masing suhu adalah 48 jam. Setelah melalui 6 siklus dilakukan pengamatan organoleptik dan pH sediaan ([Pratiwi dkk., 2018](#)).

Sediaan nanoemulsi ekstrak etanol 70% *M.crenata* yang telah melalui 6 siklus penyimpanan kemudian diamati sifat organoleptiknya. Pengamatan organoleptik bertujuan untuk mengamati adanya parameter instabilitas nanoemulsi ([Pratiwi dkk., 2018](#)). Hasil pengamatan organoleptik sediaan nanoemulsi ekstrak etanol 70% *M.crenata* adalah sebagai berikut pada **Tabel VII**.

Tabel VII. Uji Stabilitas Organoleptik

Formula	Konsentrasi	Warna	Bau	Homogenitas
A	10ppm	kuning pucat	Khas dari ester	Homogen
	25 ppm	kuning pucat	Khas dari ester	Homogen
	50 ppm	kuning pucat	Khas dari ester	Homogen
	75 ppm	kuning pucat	Khas dari ester	Homogen
	100ppm	kuning pucat	Khas dari ester	Homogen
B	10ppm	kuning pucat	Khas dari ester	Homogen
	25 ppm	kuning pucat	Khas dari ester	Homogen
	50 ppm	kuning pucat	Khas dari ester	Homogen
	75 ppm	kuning pucat	Khas dari ester	Homogen
	100ppm	kuning pucat	Khas dari ester	Homogen

Berdasarkan **Tabel VII** diketahui bahwa terjadi perubahan fisik pada warna sediaan nanoemulsi. Perubahan ini terjadi karena pengaruh suhu penyimpanan yang diuji, namun perubahan tersebut tidak signifikan karena sediaan tidak mengalami pemisahan fasa dan tidak berbau anyir. Semua sampel nanoemulsi yang telah disiapkan menunjukkan kondisi baik karena teksturnya cair, tidak terlalu kental, berwarna kekuningan, dan tidak berbau anyir ([Stephanie, 2015](#)).

Selain karakteristik organoleptik, pH sediaan juga diamati untuk mengetahui stabilitasnya. Nilai pH sebelum dan sesudah penyimpanan dibandingkan untuk melihat perbedaan yang nyata. Data dianalisis menggunakan SPSS dengan *uji Paired T-test*. Paired t-test merupakan metode pengujian dengan menggunakan data berpasangan dimana terdapat satu sampel yang sama dengan dua perlakuan yang berbeda (Montolalu dan Langi, 2018). Hasil uji pH sebelum dan sesudah penyimpanan sediaan nanoemulsi ekstrak etanol 70% *M. crenata* adalah sebagai berikut pada **Tabel VIII**.

Tabel VIII. Uji Paired T-Test untuk pH sediaan

Formula	Konsentrasi	Sebelum	Setelah	Sig (2-ekor)
A	10 ppm	7,26 ± 0,015	7,08 ± 0,020*	0,004
	25 ppm	7,26 ± 0,015	7,05 ± 0,015*	0,007
	50 ppm	7,22 ± 0,015	7,02 ± 0,020*	0,008
	75 ppm	7,19 ± 0,030	7,09 ± 0,020*	0,016
	100 ppm	7,19 ± 0,026	7,03 ± 0,036*	0,026
B	10 ppm	7,14 ± 0,015	7,0 ± 0,025*	0,002
	25 ppm	7,11 ± 0,098	7,0 ± 0,021	0,138
	50 ppm	7,02 ± 0,05	6,89 ± 0,06	0,061
	75 ppm	7,1 ± 0,015	6,94 ± 0,059	0,052
	100 ppm	08 ± 0,025	6,93 ± 0,03*	0,005

Berdasarkan hasil uji statistik Paired T-test pada **Tabel VIII** menunjukkan bahwa konsentrasi formula B 25 ppm, 50 ppm dan 75 ppm memiliki nilai signifikansi $p > 0,05$ yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara pH nilai sebelum dan sesudah penyimpanan dalam sampel ini. Namun formula A dengan semua konsentrasi dan formula B pada konsentrasi 10 ppm dan 100 ppm memiliki nilai signifikan $p < 0,05$, hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara nilai pH sebelum dan sesudah penyimpanan pada sampel tersebut.

Perubahan pH formulasi dapat mengindikasikan terjadinya degradasi atau ionisasi satu atau lebih bahan dalam formulasi setelah penyimpanan (Alam *dkk.*, 2015). Setelah disimpan selama 6 siklus, didapatkan bahwa semua sampel mengalami penurunan pH yang signifikan atau tidak signifikan. Hal ini terjadi karena komponen minyak yang digunakan yaitu *miglyol* berasal dari minyak nabati sehingga terjadi hidrolisis ester asam lemak menjadi produk degradasi asam lemak bebas. Selain itu, suhu yang tinggi juga mengakibatkan hidrolisis yang memicu penurunan pH nanoemulsi (Bernardi *dkk.*, 2011). Walaupun terdapat perbedaan yang signifikan pada beberapa sampel, namun nilai pH yang didapatkan masih berada pada kisaran nilai pH nanoemulsi yang baik yaitu antara 6,5 dan 9,0.

6. Penentuan Formula Terbaik

Berdasarkan karakteristiknya, formula terbaik adalah formula A (75 ppm) yang merupakan nanoemulsi ekstrak etanol 70% *M. crenata* dengan fase minyak VCO. Hal ini dikarenakan formula A (75 ppm) memiliki karakteristik terbaik dibandingkan formula B berdasarkan ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan persen transmitan. Dalam hal ini, ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan persen transmitan merupakan faktor penting karena mempengaruhi seberapa banyak dan seberapa cepat bahan aktif dapat dilepaskan. Ini juga mempengaruhi penyerapan obat, meningkatkan bioavailabilitasnya, dan membantu obat memiliki efek terapeutik yang lebih efektif.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol 70% *M. crenata* dapat diformulasikan dalam bentuk nanoemulsi karena memiliki karakteristik dan stabilitas yang baik. Formula terbaik ditunjukkan oleh formula A (75 ppm) yang menggunakan fase minyak VCO. Formula terbaik dari segi ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan persen transmitan adalah formula A dengan fase minyak VCO.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, A. A., Fianto, A.Y. A., Sutikno, 2014, Creation of Clover Cooking Reference Book as an Effort to Preserve Traditional Culinary Surabaya, *Art Nouveau*. 3(1).
- Alam, M. S., Ali, M. S., Alam, M. I., Anwer, T., & Safhi, M. M. A., 2015, Stability Testing of Beclomethasone Dipropionate Nanoemulsion, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 14(1) : 15-20.
- Ambarwati, R., and Yulianita, 2022, Transfersome Formulation of Pandan Wangi Leaf Extract (*Pandanus amaryllifolius*. R) with Variations in Phospholipid and Tween 80 Concentrations as Vesicle Formers, *Pharmaceutical Barns: Journal of Pharmaceutical Sciences*. 3(2) : 261-267.
- Azeem, A., Rizwan, M., Ahmad, F. J., Iqbal, Z., Khar, R. K., Aqil, M., & Talegaonkar, S., 2009, Nanoemulsion Components Screening and Selection: A Technical Note, *Aaps Pharmscitech*. 10(1) : 69-76.
- 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(1) : 1-9.
- Chime, S. A., Kenechukwu, F. C., & Attama, A. A., 2014, Nanoemulsions—advances in formulation, characterization and applications in drug delivery, *Application of nanotechnology in drug delivery*. 3 : 77-126.

- Cui, J., Shen, Y., Li, R., 2013, Estrogen synthesis and signaling pathways during aging: From periphery to brain, *Trends Mol Med.* 19 : 197–209. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.12.007>
- Faizatun, Gangga, E., Anindita, S., Martati, T., and Miftahurrohman, N., 2020, NLC Gel Formulation of Mulberry Leaf Callus Extract Induced with NAA and BAP, *Journal of Indonesian Pharmaceutical Sciences.* 18(1) : 123-129.
- Ghareeb, M. M., & Neamah, A. J., 2017, Formulation and Characterization of Nimodipine Nanoemulsion as Ampoule for Oral Route, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* 8(2) : 591.
- Gupta, P. K., Pandit, J. K., Kumar, A., *et al.* Pharmaceutical Nanotechnology Novel Nanoemulsion–High Energy Emulsification Preparation, Evaluation and Application, *The Pharma Research.* 3 : 117-138.
- Handayani, F. S., Nugroho, B. H., and Munawiroh, S. Z., 2018, Optimization of Low Energy Grape Seed Oil Nanoemulsion Formulation with *D-Optimal Mixture Design* (DMD), *Pharmaceutical Scientific Journal.* 14(1) : 17-34.
- Huda, N., and Wahyuningsih, I., 2018, Characterization of Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Red Fruit Oil (*Pandanus conoideus* Lam.), *Indonesian Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 3(2) : 49-57.
- Jing, X., Deng, L., Gao, B., Xiao, L., Zhang, Y., Ke, X., & Chen, J., 2014, A novel polyethylene glycol mediated lipid nanoemulsion as drug delivery carrier for paclitaxel, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine.* 10(2) : 371-380.
- Jusnita, N., and Nasution, K., 2019, Nanoemulsion Formulation of Moringa Leaf Extract (*Moringa oleifera* Lamk), *Journal of Agro-industry Technology and Management* 8. 8(3) : 165–170.
- Kesarwani, K., Gupta, R., and Mukerjee, A., 2013, Bioavailability Enhancer of Original Herbs: An overview, *Asian Pac J Trop Biomed.* 3(4) : 253–66.
- Kim, H., Xia, H., Li, L., and Gewin, J., 2000, Neurodegenerative Modification of Neurodegenerative Brain Proteins Relevant to Soy Foods, *Biofactors.* 12 : 243-250.
- Ma'arif, B., Agil, M., and Laswati, H., 2018, Alkaline Phosphatase Activity of *Marsilea crenata* Presl. Extract and Fractions as Marker of MC3T3-E1 Osteoblast Cell Differentiation, *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 8(3) : 55-59.
- Ma'Arif, B., Agil, M., Laswati, H., 2019, The enhancement of Arg1 and activated ER β expression in microglia HMC3 by induction of 96% ethanol extract of *Marsilea crenata* Presl. Leaves, *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 30 : 3–9. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2019-0284>
- Mardikasari, S. A., Jufri, M., and Djajadisastra, J., 2016, Formulation and *In-Vitro Penetration Test* of Genistein Nanoemulsion Topical Preparations from the *Sophora japonica* Linn Plant, *Journal of Indonesian Pharmaceutical Sciences.* 14: 190-198.
- Montolalu, C. E. J. C., and Langi, Y. A. R., 2018, Effects of Basic Computer and Information Technology Training for Teachers with *Pairs Sample T-Test*, *Journal of Mathematics and Applications.* 7(1) : 44-46.
- Nurahmanto, D., Dewi, N. M. A. K., and Winarti. L., 2019, Optimization of the Combination of Tween 80 and Span 80 Surfactants in Ibuprofen Nanoemulsion Transdermal Preparations with a Factorial Design . Inside: Proceedings of the 2019 IAI East Java National Seminar and Regional Working Meeting, Jember: UPT Publishing University of Jember, 220-231.
- Nurjanah, A. A., and Abdullah, A., 2012, Antioxidant Activity and Bioactive Components of Clover (*Marsilea crenata*), *Journal of Innovation and Entrepreneurship.* 1(7).
- Octarika, A. N. R., 2017, *Formulation of the Meloxicam Nanoemulsion System Using Virgin Coconut Oil (VCO) as the Oil Phase* [Thesis], Malang : State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R., & Pramono, S., 2018, Physical and Chemical Stability Test of SNEDDS (Self-nanoemulsifying Drug Delivery System) and Nanoemulsion

- Ethyl Acetate Fraction of *Garcinia mangostana* L, *Majalah Obat Tradisional*. 23(2) : 84-90.
- Rahmawanty, D., & Sariah, D. I. S., *The Effect of Using a Combination of Nonionic Surfactants on the Physical Stability of Haruan Fish Oil (Channa striata) Nanoemulsion Preparations*. In Proceedings of the National Seminar on Wetland Environment, 6(1).
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J., and Quinn, M. E., 2009, *Handbook of Pharmaceutical Excipients: Sixth Edition*, UK: Pharmaceutical Press.
- Sahumena, M. H., Suryani, S., & Rahmadani, N., 2019, Mefenamic Acid Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Formulation Using VCO with a Combination of Tween and Span Surfactants, *Journal of Syifa Sciences and Clinical Research*. 1(2) : 37-46.
- Sanaji, J. B., Krismala, M. S., and Liananda, F. R., 2019, Effect of Tween 80 Concentration as a Surfactant on the Physical Characteristics of Ibuprofen Nanoemulgel Preparations, *Indonesian Journal On Medical Science*. 6(2) : 88-91.
- Sanna, S., Rajani, A., Sumedha, N., & Mahesh, B., 2012, Formulation and evaluation of taste masked oral suspension of Dextromethorphan hydrobromide, *International Journal of Drug Development and Research*. 4(2) : 159- 172.
- Sari, M., Kartika, Y., and Syahrina, 2022, Formulation and Antibacterial Activity Test of Salak Fruit Ethanol Extract Cream (*Salacca Zalacca*) on Propionibacterium Acne, *Ulil Albab : Multidisciplinary Scientific Journal*. 1(3): 1-8.
- Singh, S. K., Verma, P. R. P., Razdan, B., 2010, Glibenclamide-Loaded Selfnanoemulsifying Drug Delivery System: Development and Characterization, *Drug Dev. ind. Pharms* 36 : 933-945.
- Son, H. Y., Lee, M. S., Chang, E., Kim, S. Y., Kang, B., Ko, H., et al. Formulation and Characterization of Quercetin-Loaded Oil in Water Nanoemulsion and Evaluation of Hypocholesterolemic Activity in Rats, *Nutrients*. 11(2) : 244.
- Stephanie, 2015, *The Effect of Phase Variations of Virgin Coconut Oil and MediumChain Triglyceride Oil on the Physical Stability of Pomegranate Seed Oil Nanoemulsions with a Combination of Tween 80 and PEG 400 Surfactants*, Sanata Dharma University: Yogyakarta.
- Sutradhar, K. B., Amin, L., 2013, Nanoemulsions: Increasing Possibilities In Drug Delivery. *euro. J.Nanomedicine*. 5(2): 97-110.
- Wulansari, S. A., Sumiyani, R., and Aryani, N. L. D., 2019, The Effect of Surfactant Concentration on the Physical Characteristics of Nanoemulsion and Nanoemulsion Gel Coenzym Q10, *Journal of Research Chemistry*. 4(2): 143.
- Yang, T. S., Wang, S. Y., Yang, Y. C., Su, C. H., Lee, F. K., Chen, S. C., et al., 2012, Effects Of Standardized Phytoestrogen On Taiwanese Menopausal Women, *Taiwan J Obstet Gynecol*. 51: 229-35. <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2012.04.011> .
- Yuliani, S. H., Hartini, M., Stephanie, B. P., & Istyastono, E. P., 2016, Comparison of Physical Stability of Pomegranate Seed Oil Nanoemulsions with Long-Chain Triglyceride and Medium-Chain Triglyceride Oil Phases, *Traditional Medicine Journal*. 21(2) : 94.
- Yunira, E. N., Suryani, A., Dadang, and Tursiloadi, S., 2021, Identification of Size Reduction Characteristics by the Sonication Method of Insecticide Formulas Added to Palm-Based Surfactants, *Journal of Science and Applicative Technology*. 5(1) : 85-91.
- Zeng, C, Zheng, R., and Yang, X., 2019, Improved Oral Delivery of Tilianin Through Lipid-Polymer Hybrid Nanoparticles to Enhance Bioavailability. *Biochem Biophys Res Commun*. 519(2) : 316-322
- Zhao, Y., Wang, C., Chow, A. H., Ren, K., Gong, T., Zhang, Z., & Zheng, Y., 2010, Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) For Oral Delivery of Zedoary Essential Oil: Formulation And Bioavailability Studies. *International Journal of Pharmaceutics*. 383(1-2) : 170-177.

