

BAB V

PEMBAHASAN

5.1 Optimasi Konsentrasi S_{mix} formula NE-SRO

Nanoemulsi merupakan sistem dispersi yang terdiri atas fase minyak, fase air, surfaktan, dan kosurfaktan yang berfungsi menurunkan tegangan antarmuka sehingga terbentuk droplet berukuran nano yang stabil. Kejernihan nanoemulsi sering digunakan sebagai parameter awal untuk mengevaluasi keberhasilan pembentukan sistem nanoemulsi karena berkaitan dengan ukuran droplet yang dihasilkan. Nanoemulsi yang tampak jernih umumnya memiliki ukuran droplet yang lebih kecil dan distribusi yang lebih seragam dibandingkan sistem yang tampak keruh. Selain itu, kombinasi surfaktan dan kosurfaktan yang tepat dapat meningkatkan kemampuan solubilisasi fase minyak serta menghasilkan stabilitas yang lebih baik^{84–86}.

Pemilihan jenis dan rasio S_{mix} merupakan salah satu tahapan penting dalam pengembangan nanoemulsi. Surfaktan berperan menurunkan tegangan antarmuka antara fase minyak dan fase air, sedangkan kosurfaktan membantu meningkatkan fleksibilitas lapisan antarmuka sehingga proses emulsifikasi berlangsung lebih efektif. Interaksi yang sinergis antara surfaktan dan kosurfaktan akan menghasilkan sistem yang stabil dan transparan, sedangkan ketidaksesuaian komposisi dapat menyebabkan terbentuknya emulsi dengan ukuran droplet yang lebih besar sehingga tampak keruh⁸⁷.

Berdasarkan hasil optimasi jenis S_{mix} yang dilakukan pada penelitian ini, diperoleh bahwa S_{mix} 1 (Tween 80 dan PEG 400) menghasilkan nanoemulsi dengan penampilan jernih, sedangkan S_{mix} 2 (Cremophor RH-40 dan PEG 400) dan S_{mix} 3 (Tween 80 dan Span 80) menghasilkan sistem yang keruh. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kombinasi surfaktan dan kosurfaktan pada S_{mix} 1 mampu memberikan keseimbangan hidrofilik-lipofilik yang sesuai untuk mengemulsikan campuran SBO dan RSO. Kondisi ini memungkinkan terbentuknya lapisan antarmuka yang stabil sehingga droplet minyak dapat terdispersi secara homogen dalam fase air dan menghasilkan tampilan yang transparan. Kejernihan nanoemulsi juga mengindikasikan bahwa ukuran droplet yang terbentuk berada pada rentang nano dengan distribusi yang relatif seragam.

Sebaliknya, *Smix* 2 dan *Smix* 3 menunjukkan penampilan keruh yang mengindikasikan bahwa proses emulsifikasi belum berlangsung secara optimal. Kekeruhan dapat terjadi akibat ukuran droplet yang lebih besar, distribusi ukuran partikel yang tidak seragam, atau kemampuan surfaktan dan kosurfaktan yang kurang efektif dalam menurunkan tegangan antarmuka. Rasio yang tidak sesuai dapat menyebabkan sebagian fase minyak tidak terdispersi sempurna sehingga meningkatkan hamburan cahaya dan menghasilkan tampilan keruh. Selain itu, ketidakseimbangan antara sifat hidrofilik dan lipofilik pada sistem dapat menurunkan kemampuan pembentukan lapisan pelindung di sekitar droplet sehingga stabilitas dispersi menjadi berkurang^{88–90}.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *Smix* 1 (Tween 80 dan PEG 400) merupakan kombinasi surfaktan dan kosurfaktan yang paling sesuai untuk formulasi nanoemulsi SBO dan RSO. Keberhasilan *Smix* 1 dalam menghasilkan sistem yang jernih menunjukkan adanya interaksi yang lebih baik antara komponen minyak, surfaktan, dan kosurfaktan dibandingkan dengan *Smix* 2 (Cremophor RH-40 dan PEG 400) maupun *Smix* 3 (Tween 80 dan Span 80). Oleh karena itu, *Smix* 1 dipilih sebagai formula terbaik dan digunakan pada tahap penelitian selanjutnya, yaitu penyusunan diagram pseudoternary dan optimasi konsentrasi nanoemulsi. Temuan ini sejalan dengan berbagai penelitian yang menyatakan bahwa pemilihan kombinasi dan rasio *Smix* yang tepat merupakan faktor utama dalam pembentukan nanoemulsi yang stabil, homogen, dan memiliki ukuran droplet yang kecil.

5.2 Studi Diagram Pseudo-ternary dan Uji % Transmittan

Formulasi nanoemulsi pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan campuran minyak *Sea Buckthorn Oil* (SBO) dan *Rosehip Seed Oil* (RSO) sebagai fase minyak, Tween 80 sebagai surfaktan, serta PEG 400 sebagai kosurfaktan. Pemilihan Tween 80 didasarkan pada sifatnya yang nonionik, memiliki nilai HLB tinggi, dan mampu meningkatkan kelarutan fase minyak dalam sistem minyak-dalam-air (M/A). Sementara itu, PEG 400 digunakan sebagai kosurfaktan karena dapat membantu menurunkan tegangan antarmuka dan meningkatkan fleksibilitas lapisan surfaktan sehingga proses pembentukan droplet nano menjadi lebih mudah terjadi. Kombinasi surfaktan dan kosurfaktan yang sesuai merupakan faktor penting dalam menghasilkan

nanoemulsi yang jernih dan stabil. Formulasi nanoemulsi pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan campuran minyak *Sea Buckthorn Oil* (SBO) dan *Rosehip Seed Oil* (RSO) sebagai fase minyak, Tween 80 sebagai surfaktan, serta PEG 400 sebagai kosurfaktan. Pemilihan Tween 80 didasarkan pada sifatnya yang nonionik, memiliki nilai HLB tinggi, dan mampu meningkatkan kelarutan fase minyak dalam sistem minyak-dalam-air (M/A). Sementara itu, PEG 400 digunakan sebagai kosurfaktan karena dapat membantu menurunkan tegangan antarmuka dan meningkatkan fleksibilitas lapisan surfaktan sehingga proses pembentukan droplet nano menjadi lebih mudah terjadi. Kombinasi surfaktan dan kosurfaktan yang sesuai merupakan faktor penting dalam menghasilkan nanoemulsi yang jernih dan stabil^{91,92}.

Studi diagram pseudo-terner dilakukan untuk menentukan daerah pembentukan nanoemulsi berdasarkan variasi konsentrasi *Smix* 1 (Tween 80: PEG 400) pada beberapa perbandingan yang telah ditetapkan. Diagram pseudo-terner digunakan untuk mengidentifikasi komposisi yang mampu menghasilkan sistem nanoemulsi yang homogen, jernih, dan stabil. Daerah yang menunjukkan tampilan jernih menandakan bahwa komponen minyak, surfaktan, kosurfaktan, dan air dapat bercampur dengan baik sehingga menghasilkan droplet berukuran sangat kecil. Sebaliknya, daerah yang tampak keruh menunjukkan bahwa proses emulsifikasi belum berlangsung optimal akibat ukuran droplet yang lebih besar atau distribusi ukuran partikel yang tidak merata⁹¹.

Berdasarkan hasil pengamatan diagram pseudo-terner, diperoleh bahwa *Smix* 1 dengan konsentrasi 30% pada rasio 3:1 menghasilkan sistem nanoemulsi yang jernih. Sementara itu, seluruh variasi konsentrasi 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, dan 29% menunjukkan penampilan fisik yang keruh. Hasil ini mengindikasikan bahwa jumlah surfaktan dan kosurfaktan pada konsentrasi di bawah 30% belum mampu mengemulsikan campuran SBO dan RSO secara sempurna. Akibatnya, sebagian fase minyak masih membentuk agregat atau droplet berukuran besar yang menyebabkan terjadinya hamburan cahaya sehingga sistem tampak keruh. Sebaliknya, pada konsentrasi 30%, jumlah Tween 80 dan PEG 400 sudah cukup untuk menurunkan tegangan antarmuka secara efektif dan membentuk lapisan pelindung yang stabil di sekitar droplet minyak sehingga menghasilkan sistem yang transparan.

Kejernihan yang diperoleh pada konsentrasi 30% juga menunjukkan bahwa rasio surfaktan dan kosurfaktan yang digunakan mampu meningkatkan kemampuan solubilisasi SBO dan RSO di dalam fase air. Tween 80 diketahui memiliki kemampuan yang baik dalam membentuk nanoemulsi minyak-dalam-air, sedangkan PEG 400 berfungsi meningkatkan fluiditas lapisan antarmuka sehingga proses pembentukan droplet berlangsung lebih efisien. Interaksi kedua bahan tersebut menghasilkan sistem yang lebih stabil dan mencegah terjadinya penggabungan kembali droplet (*coalescence*) selama proses emulsifikasi^{91,93}.

Setelah diperoleh daerah nanoemulsi yang jernih melalui studi diagram pseudo-terner, dilakukan pengujian persen transmittan untuk mengonfirmasi tingkat kejernihan sistem yang terbentuk. Nilai persen transmittan yang tinggi menunjukkan bahwa cahaya dapat melewati sistem dengan hambatan yang sangat kecil, sehingga menandakan ukuran droplet berada pada rentang nano. Semakin tinggi nilai transmittan, semakin baik tingkat kejernihan dan homogenitas nanoemulsi yang dihasilkan. Oleh karena itu, formula *Smix* 1 dengan konsentrasi 30% dan rasio 3:1 dipilih sebagai formula optimum untuk tahap karakterisasi lebih lanjut karena merupakan satu-satunya formula yang mampu menghasilkan sistem nanoemulsi yang jernih dibandingkan variasi konsentrasi lainnya yang masih menunjukkan kekeruhan.

5.3 Formulasi Sediaan Nanoemulsi

Formulasi nanoemulsi merupakan tahapan penting dalam pengembangan sediaan karena komposisi setiap komponen akan memengaruhi karakteristik fisik, stabilitas, serta kemampuan penghantaran bahan aktif. Keberhasilan pembentukan nanoemulsi ditentukan oleh pemilihan fase minyak, fase air, surfaktan, dan kosurfaktan yang mampu membentuk sistem dispersi stabil dengan ukuran droplet pada skala nanometer. Keseimbangan antara fase minyak, fase air, dan campuran surfaktan-kosurfaktan (*Smix*) menjadi faktor utama dalam menghasilkan nanoemulsi yang homogen, transparan, serta memiliki stabilitas yang baik selama penyimpanan^{77,94}.

Berdasarkan hasil studi diagram fase pseudo-terner yang telah dilakukan, diperoleh bahwa *Smix* 1 yang terdiri atas Tween 80 dan PEG 400 dengan rasio 3:1 pada konsentrasi 30% mampu menghasilkan sistem nanoemulsi yang jernih. Sebaliknya, penggunaan *Smix* pada konsentrasi yang lebih rendah masih

menghasilkan sistem yang tampak keruh sehingga pembentukan nanoemulsi belum berlangsung secara optimal. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan yang memadai diperlukan untuk menurunkan tegangan antarmuka antara fase minyak dan fase air sehingga terbentuk droplet berukuran nano yang terdispersi secara merata. Kejernihan sistem yang diperoleh mengindikasikan terbentuknya droplet berukuran kecil dengan distribusi yang lebih homogen, yang pada akhirnya berkontribusi terhadap peningkatan stabilitas fisik nanoemulsi⁹⁵.

Pada penelitian ini, Sea Buckthorn Oil (SBO) dan Rosehip Seed Oil (RSO) digunakan sebagai fase minyak. Kedua minyak tersebut diketahui mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti asam lemak esensial, tokoferol, karotenoid, dan senyawa fenolik yang berpotensi memberikan manfaat bagi kesehatan kulit. Namun, kandungan asam lemak tak jenuh yang tinggi menyebabkan kedua minyak tersebut rentan mengalami oksidasi akibat paparan cahaya, oksigen, maupun peningkatan suhu selama penyimpanan. Oleh karena itu, formulasi dalam bentuk nanoemulsi dipilih sebagai sistem penghantaran yang mampu meningkatkan perlindungan terhadap komponen bioaktif dan membantu mempertahankan stabilitasnya selama penyimpanan.

Tween 80 digunakan sebagai surfaktan karena memiliki sifat nonionik dan nilai hydrophilic-lipophilic balance (HLB) yang tinggi sehingga sesuai untuk membentuk sistem emulsi minyak dalam air (M/A). Surfaktan ini berfungsi menurunkan tegangan antarmuka antara fase minyak dan fase air sehingga mempermudah pembentukan droplet berukuran kecil. Sementara itu, PEG 400 digunakan sebagai kosurfaktan yang berperan meningkatkan fleksibilitas lapisan antarmuka serta membantu proses pembentukan droplet yang lebih kecil dan seragam. Kombinasi surfaktan dan kosurfaktan diketahui dapat meningkatkan kestabilan sistem nanoemulsi melalui pembentukan lapisan pelindung yang lebih efektif pada permukaan droplet⁷⁷.

Fase air digunakan dalam jumlah yang lebih besar dibandingkan fase minyak karena nanoemulsi yang dihasilkan termasuk tipe minyak dalam air (M/A). Pada sistem ini, SBO dan RSO terdispersi sebagai droplet-droplet kecil dalam fase air yang berfungsi sebagai medium pendispersi. Penggunaan fase air yang dominan memberikan keuntungan berupa kenyamanan aplikasi pada kulit, mudah diratakan, serta menghasilkan sensasi yang lebih ringan dibandingkan

sistem yang kaya minyak. Namun demikian, kandungan air yang tinggi dapat meningkatkan risiko pertumbuhan mikroorganisme sehingga diperlukan penambahan bahan pengawet untuk menjaga mutu dan keamanan sediaan selama penyimpanan. Untuk mencegah pertumbuhan mikroba selama penyimpanan, ditambahkan DMDM Hydantoin sebagai bahan pengawet dengan konsentrasi 0,5%. Bahan ini dipilih karena memiliki spektrum aktivitas antimikroba yang luas, mudah larut dalam air, serta stabil pada rentang pH yang umum digunakan dalam formulasi topikal. Penggunaan DMDM Hydantoin dalam konsentrasi yang sesuai dapat membantu mempertahankan kualitas mikrobiologis sediaan tanpa memberikan pengaruh terhadap stabilitas sistem nanoemulsi⁹⁷.

Selain itu, formulasi juga dilengkapi dengan Butylated Hydroxytoluene (BHT) sebagai antioksidan. Penambahan BHT bertujuan untuk menghambat proses oksidasi pada SBO dan RSO yang kaya akan asam lemak tak jenuh. BHT merupakan antioksidan lipofilik yang larut dalam fase minyak sehingga efektif melindungi komponen minyak dari pembentukan radikal bebas dan produk oksidasi selama proses pembuatan maupun penyimpanan. Penggunaan antioksidan dalam sistem berbasis lipid diketahui dapat meningkatkan stabilitas oksidatif dan mempertahankan aktivitas senyawa bioaktif yang terkandung di dalamnya^{96,97}.

Secara keseluruhan, formula nanoemulsi SBO–RSO dengan Smix 1 (Tween 80: PEG 400 perbandingan 3:1) pada konsentrasi 30% menunjukkan kemampuan terbaik dalam membentuk sistem yang jernih dan homogen. Kombinasi tersebut dinilai mampu mengoptimalkan proses emulsifikasi serta menghasilkan sistem nanoemulsi yang berpotensi memberikan stabilitas yang baik selama penyimpanan. Penambahan bahan pendukung seperti DMDM Hydantoin, BHT, dan dapar sitrat juga berkontribusi dalam menjaga mutu fisik, kimia, dan mikrobiologis sediaan sehingga formula yang diperoleh layak untuk dilanjutkan pada tahap karakterisasi dan evaluasi stabilitas lebih lanjut.

5.4 Karakterisasi Sediaan Nanoemulsi

5.4.1 Uji Organoleptik

Berdasarkan hasil pengamatan pada lampiran 3.1, NE-SRO yang diformulasikan menunjukkan penampakan yang jernih, transparan, dan tidak

memperlihatkan adanya pemisahan fase. Kondisi tersebut mengindikasikan bahwa sistem nanoemulsi berhasil terbentuk dengan baik. Keberhasilan pembentukan sistem ini dipengaruhi oleh pemilihan surfaktan dan kosurfaktan yang tepat dalam campuran Smix, baik dari segi jenis, rasio, maupun konsentrasinya. Kombinasi Smix yang optimal mampu menurunkan tegangan antarmuka antara fase minyak dan fase air sehingga mempermudah pembentukan droplet berukuran nano. Droplet yang berukuran sangat kecil akan terdistribusi secara merata dalam medium pendispersi dan menghasilkan sistem yang tampak bening atau transparan. Selain itu, nanoemulsi umumnya memiliki ukuran droplet kecil dari 100 nm yang berkontribusi terhadap peningkatan luas permukaan dan kestabilan sistem disperse^{98,99}.

Tingkat kejernihan nanoemulsi juga dipengaruhi oleh komposisi fase minyak yang digunakan. Konsentrasi minyak yang relatif rendah dapat mengurangi hamburan cahaya sehingga cahaya lebih mudah melewati sistem dispersi. Akibatnya, nilai transmittan yang dihasilkan menjadi tinggi dan sediaan terlihat lebih jernih. Nilai persen transmittan yang mendekati atau melebihi 90% menunjukkan bahwa ukuran droplet yang terbentuk berada pada rentang nano dan tersebar secara homogen dalam sistem. Karakteristik tersebut merupakan salah satu indikator keberhasilan formulasi nanoemulsi yang stabil dan berkualitas baik^{98,99}.

Selain faktor formulasi, metode pembuatan juga berperan penting dalam menentukan karakteristik akhir nanoemulsi. Pada penelitian ini digunakan metode ultrasonikasi yang termasuk dalam teknik emulsifikasi berenergi tinggi. Gelombang ultrasonik menghasilkan fenomena kavitasi yang mampu menciptakan gaya geser tinggi sehingga droplet minyak dapat terpecah menjadi ukuran yang lebih kecil. Semakin efektif proses pemecahan droplet, semakin sempit distribusi ukuran partikel yang diperoleh dan semakin baik homogenitas sistem nanoemulsi. Penggunaan ultrasonikasi juga terbukti mampu menghasilkan droplet dengan ukuran puluhan nanometer serta nilai indeks polidispersitas yang rendah, sehingga meningkatkan kestabilan fisik nanoemulsi selama penyimpanan^{100–102}.

Dengan demikian, keberhasilan pembentukan NE-SRO yang jernih dan transparan tidak hanya dipengaruhi oleh pemilihan komposisi Smix yang sesuai, tetapi juga oleh penggunaan konsentrasi fase minyak yang tepat. Kombinasi

faktor-faktor tersebut menghasilkan sistem nanoemulsi dengan ukuran droplet yang kecil, distribusi partikel yang homogen, dan stabilitas yang baik sehingga berpotensi meningkatkan kualitas serta performa sediaan.

5.4.2 Pengujian Tipe Nanoemulsi

Sistem emulsi secara umum diklasifikasikan menjadi dua tipe utama, yaitu emulsi minyak dalam air (M/A) dan emulsi air dalam minyak (A/M). Selain kedua tipe tersebut, terdapat pula emulsi ganda yang memiliki struktur lebih kompleks, seperti minyak dalam air dalam minyak (M/A/M) dan air dalam minyak dalam air (A/M/A). Perbedaan tipe emulsi ditentukan oleh fase yang berperan sebagai fase terdispersi dan fase kontinu dalam sistem, sehingga identifikasi tipe emulsi menjadi salah satu parameter penting dalam karakterisasi nanoemulsi¹⁰³.

Penentuan tipe nanoemulsi pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode *dye solubility test* dengan bantuan pewarna metilen biru. Metode tersebut didasarkan pada sifat metilen biru yang mudah larut dalam air sehingga dapat digunakan untuk mengidentifikasi fase kontinu pada sistem nanoemulsi. Pengujian dilakukan sebanyak tiga kali replikasi untuk memastikan konsistensi hasil yang diperoleh. Apabila pewarna dapat menyebar secara merata dalam sediaan, maka fase kontinu yang mendominasi adalah air dan nanoemulsi dikategorikan sebagai tipe minyak dalam air (M/A). Sebaliknya, apabila pewarna tidak dapat terdispersi dengan baik, maka sistem tersebut termasuk tipe air dalam minyak (A/M)¹⁰⁴.

Berdasarkan hasil pengamatan pada Gambar 3.2, metilen biru terdispersi secara homogen dalam sediaan NE-SRO, yang menunjukkan bahwa nanoemulsi yang terbentuk merupakan tipe minyak dalam air (M/A). Hasil tersebut mengindikasikan bahwa fase air berfungsi sebagai fase kontinu dengan proporsi yang lebih besar dibandingkan fase minyak. Karena metilen biru memiliki sifat hidrofilik, pewarna akan lebih mudah larut dan menyebar pada fase air sehingga menghasilkan warna yang merata pada seluruh sistem nanoemulsi. Karakteristik ini menjadi indikator bahwa fase luar nanoemulsi adalah air, sedangkan fase minyak berada dalam bentuk droplet yang terdispersi di dalamnya⁵⁷.

Nanoemulsi tipe M/A banyak digunakan dalam formulasi topikal karena memiliki kemampuan yang baik dalam meningkatkan penghantaran bahan aktif melalui kulit. Ukuran droplet yang sangat kecil memberikan luas permukaan yang

besar sehingga kontak antara bahan aktif dan permukaan kulit menjadi lebih optimal. Selain itu, fase air sebagai medium kontinu dapat membantu meningkatkan kenyamanan penggunaan karena menghasilkan sensasi yang ringan, mudah diratakan, serta tidak meninggalkan rasa berminyak setelah aplikasi. Karakteristik tersebut menjadikan nanoemulsi tipe M/A lebih disukai dalam pengembangan sediaan topikal dibandingkan tipe A/M, terutama untuk tujuan peningkatan penetrasi zat aktif ke lapisan kulit^{105,106}.

Keunggulan lain dari nanoemulsi tipe M/A adalah kemampuannya dalam meningkatkan pelepasan dan penyerapan bahan aktif yang bersifat lipofilik. Droplet minyak berukuran nano dapat bertindak sebagai pembawa (*carrier*) yang efektif sehingga zat aktif lebih mudah berdifusi menembus lapisan stratum korneum. Selain mendukung peningkatan bioavailabilitas, sistem nanoemulsi juga diketahui mampu menjaga stabilitas bahan aktif selama penyimpanan serta mengurangi kemungkinan terjadinya iritasi pada kulit. Dengan kombinasi sifat tersebut, nanoemulsi tipe M/A memiliki prospek yang baik sebagai sistem penghantaran obat topikal yang efektif, stabil, dan aman untuk digunakan dalam jangka panjang^{68,107}.

Secara keseluruhan, hasil pengujian menunjukkan bahwa sediaan NE-SRO memiliki tipe nanoemulsi minyak dalam air (M/A). Tipe ini memberikan berbagai keuntungan, antara lain kenyamanan penggunaan, kemampuan penetrasi bahan aktif yang lebih baik, stabilitas fisik yang memadai, serta potensi peningkatan efektivitas terapi melalui sistem penghantaran obat topikal yang lebih efisien.

5.4.3 Penetapan Nilai pH, Bobot Jenis, dan Viskositas

Berdasarkan hasil pengujian pada Tabel 4.4, sediaan nanoemulsi NE-SRO menunjukkan nilai pH sebesar $6,17 \pm 0,0424$, bobot jenis $1,0822 \pm 0,0163$ g/mL, dan viskositas $1,0538 \pm 0,0204$ cP. Hasil tersebut menunjukkan bahwa formulasi nanoemulsi yang dibuat memiliki karakteristik fisik yang baik dan memenuhi parameter mutu sediaan nanoemulsi.

Nilai pH merupakan salah satu parameter penting dalam evaluasi sediaan nanoemulsi karena berkaitan dengan stabilitas sistem serta keamanan penggunaan, terutama untuk aplikasi topikal. Nilai pH sediaan NE-SRO berada pada rentang netral hingga sedikit asam sehingga masih sesuai dengan rentang

pH fisiologis kulit, yaitu sekitar 4,5–6,5. Kondisi ini menunjukkan bahwa sediaan memiliki potensi yang rendah untuk menyebabkan iritasi pada kulit. Selain itu, kestabilan pH juga menandakan bahwa tidak terjadi degradasi komponen formulasi selama proses pembuatan maupun penyimpanan awal. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa nanoemulsi yang stabil umumnya memiliki pH pada rentang 4,5–8,0 karena rentang tersebut mampu mempertahankan kestabilan fase dispersi dan efektivitas surfaktan dalam sistem nanoemulsi^{107,108}.

Hasil pengukuran bobot jenis sebesar 1,0622 g/mL menunjukkan bahwa sediaan memiliki homogenitas yang baik. Bobot jenis yang mendekati fase cair pembawa menandakan bahwa distribusi komponen minyak, surfaktan, kosurfaktan, dan air dalam sistem berlangsung merata. Nilai bobot jenis juga dapat dipengaruhi oleh konsentrasi bahan penyusun, terutama surfaktan dan fase minyak yang digunakan dalam formulasi nanoemulsi. Semakin homogen suatu sistem, maka kemungkinan terjadinya pemisahan fase akan semakin kecil sehingga stabilitas fisik sediaan dapat dipertahankan^{109,110}.

Viskositas sediaan NE-SRO diperoleh sebesar 1,0538 cP. Nilai tersebut menunjukkan bahwa nanoemulsi memiliki sifat alir yang rendah atau encer, sehingga dapat mempermudah proses aplikasi dan penyebaran sediaan. Viskositas yang rendah pada nanoemulsi umumnya disebabkan oleh ukuran droplet yang sangat kecil dan distribusi partikel yang merata dalam medium dispersi. Sistem nanoemulsi dengan viskositas rendah juga mengindikasikan bahwa proses emulsifikasi berlangsung dengan baik dan tidak terjadi agregasi partikel yang dapat meningkatkan kekentalan sediaan. Beberapa penelitian melaporkan bahwa nanoemulsi yang stabil memiliki viskositas rendah hingga sedang, tergantung komposisi surfaktan dan fase minyak yang digunakan^{111–113}.

Secara keseluruhan, hasil evaluasi pH, bobot jenis, dan viskositas menunjukkan bahwa sediaan nanoemulsi NE-SRO telah memenuhi karakteristik fisik yang diharapkan. Kombinasi nilai pH yang sesuai, bobot jenis yang stabil, serta viskositas rendah mengindikasikan bahwa formulasi nanoemulsi memiliki stabilitas fisik yang baik dan berpotensi memberikan efektivitas optimal pada penggunaannya.

5.4.4 Hasil Pengukuran Droplet dan Indeks Polidispersitas (IPD)

Berdasarkan hasil pengukuran pada Tabel 4.4, sediaan nanoemulsi NE-SRO memiliki ukuran droplet sebesar $13,3 \pm 0,2$ nm dan indeks polidispersitas (IPD) sebesar $0,249 \pm 0,028$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa sediaan nanoemulsi yang dihasilkan telah memenuhi karakteristik fisik nanoemulsi yang baik, terutama ditinjau dari ukuran partikel dan distribusi ukuran droplet.

Ukuran droplet merupakan parameter utama dalam evaluasi nanoemulsi karena berpengaruh terhadap stabilitas, kejernihan, penetrasi, serta kemampuan penghantaran zat aktif. Nanoemulsi umumnya memiliki ukuran droplet pada rentang 10–200 nm. Ukuran droplet yang kecil dapat meningkatkan luas permukaan kontak sehingga memperbaiki stabilitas sistem dan meningkatkan kemampuan absorpsi bahan aktif. Nilai ukuran droplet NE-SRO sebesar 13,3 nm menunjukkan bahwa formulasi yang dibuat berhasil membentuk sistem dispersi berukuran nano dengan distribusi partikel yang sangat halus. Ukuran partikel yang kecil juga menunjukkan bahwa proses emulsifikasi berjalan optimal sehingga energi yang diberikan mampu memecah fase minyak menjadi droplet berukuran sangat kecil^{114,115}.

Ukuran droplet yang berada pada kisaran nano diketahui mampu meningkatkan kestabilan fisik sediaan karena dapat mengurangi terjadinya sedimentasi, flokulasi, maupun koalesensi antartikel. Selain itu, ukuran partikel yang kecil akan menghasilkan tampilan sediaan yang lebih jernih dan homogen. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa nanoemulsi dengan ukuran droplet kurang dari 200 nm memiliki stabilitas yang lebih baik dibandingkan emulsi konvensional karena distribusi partikelnya lebih seragam dan tahan terhadap pemisahan fase selama penyimpanan^{116,117}.

Indeks polidispersitas (IPD) digunakan untuk mengetahui tingkat keseragaman distribusi ukuran partikel dalam suatu sistem nanoemulsi. Semakin kecil nilai IPD, maka distribusi ukuran partikel semakin homogen. Pada penelitian ini diperoleh nilai IPD sebesar 0,249, yang menunjukkan bahwa sistem nanoemulsi memiliki distribusi ukuran partikel yang relatif seragam. Nilai IPD di bawah 0,4 menandakan bahwa nanoemulsi memiliki tingkat homogenitas yang baik dan kestabilan sistem yang tinggi. Distribusi ukuran droplet yang homogen dapat mencegah terjadinya agregasi partikel sehingga sistem tetap stabil selama penyimpanan^{116,118}.

Nilai IPD yang rendah juga menunjukkan bahwa kombinasi surfaktan dan kosurfaktan dalam formulasi mampu menurunkan tegangan antarmuka secara optimal sehingga terbentuk droplet dengan ukuran yang seragam. Selain dipengaruhi oleh jenis surfaktan, ukuran droplet dan nilai IPD juga dipengaruhi oleh metode homogenisasi, tekanan, serta lama proses emulsifikasi. Penggunaan surfaktan nonionik seperti Tween diketahui efektif dalam menghasilkan nanoemulsi dengan ukuran droplet kecil dan distribusi partikel yang homogen^{119,120}.

Secara keseluruhan, hasil pengujian ukuran droplet dan indeks polidispersitas menunjukkan bahwa sediaan nanoemulsi NE-SRO memiliki karakteristik fisik yang baik. Ukuran droplet yang sangat kecil serta distribusi partikel yang homogen mengindikasikan bahwa formulasi nanoemulsi yang dihasilkan stabil dan berpotensi meningkatkan efektivitas penghantaran zat aktif dalam sediaan.

5.4.5 Pengujian % Transmittan

Berdasarkan hasil pengujian pada Tabel 4.5, sediaan nanoemulsi NE-SRO dengan rasio 3:1 dan konsentrasi 30% menunjukkan nilai transmittan sebesar 90,83%. Nilai transmittan merupakan salah satu parameter penting dalam karakterisasi nanoemulsi karena menggambarkan tingkat kejernihan sistem dispersi. Semakin tinggi nilai transmittan yang diperoleh, maka semakin jernih tampilan sediaan dan semakin kecil ukuran droplet yang terbentuk dalam sistem nanoemulsi. Hasil tersebut menunjukkan bahwa sediaan NE-SRO memiliki penampilan yang hampir menyerupai larutan bening sehingga mengindikasikan terbentuknya droplet berukuran nano secara homogen.

Persentase transmittan berkaitan erat dengan kemampuan cahaya untuk menembus sistem dispersi. Nanoemulsi dengan ukuran droplet sangat kecil akan menyebabkan hamburan cahaya menjadi lebih rendah sehingga cahaya dapat melewati sistem dengan lebih baik dan menghasilkan nilai transmittan yang tinggi. Nilai transmittan di atas 90% umumnya menunjukkan bahwa sistem nanoemulsi memiliki ukuran partikel dalam rentang nanometer dan distribusi partikel yang cukup seragam. Kondisi ini sesuai dengan hasil pengujian ukuran droplet sebelumnya yang menunjukkan ukuran partikel sebesar 13,3 nm dengan indeks polidispersitas rendah^{121,122}.

Tingginya nilai transmitan pada sediaan NE-SRO juga menunjukkan bahwa kombinasi fase minyak, surfaktan, dan kosurfaktan mampu membentuk sistem dispersi yang stabil. Surfaktan berperan dalam menurunkan tegangan antarmuka antara fase minyak dan fase air sehingga proses pembentukan droplet berukuran kecil dapat berlangsung lebih optimal. Semakin efektif surfaktan bekerja, maka semakin kecil ukuran droplet yang dihasilkan dan semakin jernih sistem nanoemulsi yang terbentuk. Penelitian terdahulu melaporkan bahwa penggunaan surfaktan nonionik seperti Tween dapat menghasilkan nanoemulsi dengan kejernihan tinggi dan stabilitas fisik yang baik^{122,123}.

Selain dipengaruhi oleh ukuran droplet, nilai transmitan juga dapat digunakan sebagai indikator kestabilan fisik nanoemulsi. Sistem nanoemulsi yang jernih menandakan bahwa tidak terjadi agregasi maupun koalesensi partikel. Apabila terjadi penggabungan droplet, maka ukuran partikel akan meningkat dan menyebabkan sediaan tampak keruh sehingga nilai transmitan menurun. Oleh karena itu, nilai transmitan sebesar 90,83% menunjukkan bahwa formulasi nanoemulsi NE-SRO memiliki kestabilan dispersi yang baik^{124,125}.

Hasil penelitian ini sejalan dengan beberapa penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa nanoemulsi dengan ukuran droplet kecil umumnya menghasilkan persen transmitan tinggi dan tampilan yang transparan atau semitransparan. Pada penelitian formulasi nanoemulsi minyak kunyit, nilai transmitan meningkat seiring dengan semakin kecilnya ukuran droplet yang terbentuk dalam sistem^{78,112}. Dengan demikian, hasil pengujian transmitan pada sediaan NE-SRO menunjukkan bahwa formulasi yang dibuat telah berhasil membentuk sistem nanoemulsi yang jernih, homogen, dan stabil.

5.5 Uji Stabilitas Fisik Nanoemulsi

5.5.1 Uji Heating Cooling

1) Uji Organoleptik

Berdasarkan hasil uji stabilitas *heating cooling* pada Tabel 4.6, sediaan nanoemulsi NE-SRO tidak menunjukkan adanya perubahan organoleptik selama enam siklus pengujian pada suhu 4°C dan 40°C. Parameter yang diamati meliputi warna, kejernihan, bau, serta pemisahan fase, dan seluruh hasil pengamatan menunjukkan kondisi stabil tanpa perubahan yang berarti. Sediaan

tetap memiliki warna jernih kekuningan, aroma khas SBO dan RSO, serta tidak mengalami pemisahan fase selama proses pengujian. Hasil tersebut menunjukkan bahwa formulasi nanoemulsi yang dibuat memiliki kestabilan fisik yang baik terhadap perubahan suhu ekstrem.

Uji *heating cooling* merupakan salah satu metode percepatan stabilitas yang digunakan untuk mengevaluasi kemampuan sediaan dalam mempertahankan karakteristik fisiknya selama penyimpanan pada kondisi suhu berbeda. Pengujian dilakukan secara berulang pada suhu rendah dan tinggi untuk mengetahui kemungkinan terjadinya ketidakstabilan, seperti koalesensi, flokulasi, kremasi, maupun pemisahan fase. Nanoemulsi yang tetap stabil setelah beberapa siklus pengujian menunjukkan bahwa sistem dispersi memiliki kemampuan yang baik dalam mempertahankan ukuran dan distribusi droplet^{126,127}.

Tidak terjadinya perubahan warna dan kejernihan pada sediaan menunjukkan bahwa komponen minyak dan surfaktan dalam formulasi mampu mempertahankan kestabilan sistem selama perlakuan suhu. Kejernihan yang tetap terjaga mengindikasikan bahwa ukuran droplet nanoemulsi tetap berada pada rentang nanometer dan tidak mengalami agregasi partikel. Apabila terjadi peningkatan ukuran droplet akibat penggabungan partikel, maka sediaan umumnya akan tampak lebih keruh dan berpotensi mengalami pemisahan fase. Dengan demikian, kestabilan kejernihan selama pengujian menunjukkan bahwa formulasi NE-SRO memiliki sistem dispersi yang homogen dan stabil^{128,129}. Tidak adanya perubahan bau selama pengujian juga mengindikasikan bahwa komponen minyak dalam sediaan tidak mengalami degradasi oksidatif akibat pengaruh suhu. Perubahan aroma pada nanoemulsi umumnya terjadi apabila terjadi kerusakan senyawa aktif atau oksidasi fase minyak selama penyimpanan. Stabilitas aroma pada penelitian ini menunjukkan bahwa surfaktan dan sistem emulsifikasi mampu melindungi fase minyak dari kerusakan selama proses *heating cooling*^{128,129}.

Selain itu, tidak ditemukannya pemisahan fase selama enam siklus pengujian menunjukkan bahwa gaya tarik antarmuka antara fase minyak dan fase air tetap stabil. Stabilitas tersebut dipengaruhi oleh kemampuan surfaktan dalam menurunkan tegangan antarmuka sehingga droplet tetap terdispersi secara merata. Nanoemulsi yang stabil umumnya memiliki ukuran droplet kecil

dan distribusi partikel homogen sehingga dapat mencegah terjadinya koalesensi selama penyimpanan pada suhu ekstrem^{129,130}.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa nanoemulsi stabil tidak menunjukkan perubahan organoleptik maupun pemisahan fase setelah dilakukan uji *heating cooling* dan penyimpanan pada berbagai kondisi suhu. Pada penelitian nanoemulgel ekstrak *Petrosia sp.*, formulasi tetap stabil dan tidak mengalami perubahan bentuk maupun warna setelah dilakukan pengujian stabilitas fisik¹³⁰. Oleh karena itu, hasil pengujian *heating cooling* pada sediaan NE-SRO dapat disimpulkan telah memenuhi parameter kestabilan fisik nanoemulsi dan menunjukkan bahwa formulasi memiliki ketahanan yang baik terhadap perubahan suhu selama penyimpanan.

2) Penetapan Nilai pH

Berdasarkan hasil pengujian pH setelah dilakukan uji *heating cooling*, sediaan nanoemulsi NE-SRO mengalami sedikit penurunan nilai pH dari 6,17 menjadi 6,08 setelah melalui enam siklus penyimpanan pada suhu 4°C dan 40°C. Meskipun terjadi penurunan, perubahan nilai pH tersebut masih tergolong kecil dan tetap berada dalam rentang pH yang aman serta sesuai untuk sediaan nanoemulsi. Hasil ini menunjukkan bahwa formulasi NE-SRO memiliki stabilitas pH yang baik terhadap pengaruh perubahan suhu selama proses penyimpanan. Nilai pH merupakan parameter penting dalam evaluasi stabilitas nanoemulsi karena berhubungan dengan kestabilan kimia, efektivitas surfaktan, serta keamanan penggunaan sediaan. Perubahan pH yang terlalu besar dapat mengindikasikan terjadinya degradasi komponen formulasi, oksidasi fase minyak, atau ketidakstabilan sistem dispersi. Pada penelitian ini, penurunan pH yang terjadi relatif kecil sehingga menunjukkan bahwa komponen penyusun nanoemulsi masih mampu mempertahankan kestabilannya selama pengujian *heating coolin*⁹⁵.

Penurunan nilai pH setelah siklus pemanasan dan pendinginan dapat dipengaruhi oleh perubahan kondisi fisik dan kimia pada fase minyak maupun surfaktan akibat paparan suhu ekstrem secara berulang. Suhu tinggi dapat memicu terjadinya hidrolisis atau oksidasi sebagian komponen minyak sehingga menghasilkan senyawa yang bersifat lebih asam. Namun, apabila perubahan pH yang terjadi tidak terlalu jauh dan masih dalam rentang syarat, maka sistem nanoemulsi masih dikategorikan stabil. Penelitian sebelumnya menyebutkan

bahwa stabilitas nanoemulsi sangat dipengaruhi oleh suhu, pH, dan karakteristik emulsifier yang digunakan dalam formulasi¹³¹. Kestabilan pH pada sediaan NE-SRO juga menunjukkan bahwa surfaktan yang digunakan mampu mempertahankan tegangan antarmuka antara fase minyak dan fase air selama proses *heating cooling*. Sistem nanoemulsi yang stabil umumnya memiliki kemampuan mempertahankan ukuran droplet dan distribusi partikel meskipun mengalami perubahan suhu. Hal tersebut penting karena perubahan ukuran droplet dapat memengaruhi interaksi antarfasa yang kemudian berdampak pada perubahan nilai pH sediaan¹³².

Selain itu, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nanoemulsi NE-SRO masih berada pada rentang pH yang sesuai untuk sediaan topikal sehingga berpotensi aman digunakan tanpa menimbulkan iritasi. Rentang pH yang mendekati pH fisiologis juga dapat membantu mempertahankan stabilitas bahan aktif dalam formulasi. Penelitian lain melaporkan bahwa nanoemulsi yang stabil terhadap pengaruh lingkungan, termasuk suhu dan pH, cenderung mempertahankan karakteristik fisiknya lebih baik selama penyimpanan jangka Panjang¹³³. Dengan demikian, hasil pengujian pH setelah uji *heating cooling* menunjukkan bahwa sediaan nanoemulsi NE-SRO memiliki kestabilan fisik dan kimia yang baik. Penurunan pH yang terjadi masih dalam batas normal dan tidak menunjukkan adanya kerusakan formulasi, sehingga sediaan dapat dikatakan memenuhi parameter stabilitas nanoemulsi.

3) Pengujian bobot jenis dan viskositas

Pengujian bobot jenis dan viskositas dilakukan untuk mengevaluasi kestabilan fisik nanoemulsi NE-SRO selama perlakuan *heating-cooling*. Parameter ini penting karena perubahan bobot jenis dan viskositas dapat menggambarkan adanya perubahan struktur internal sistem dispersi yang berpotensi memengaruhi stabilitas sediaan.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa bobot jenis nanoemulsi NE-SRO mengalami penurunan setelah melewati siklus *heating-cooling*. Penurunan tersebut mengindikasikan adanya perubahan susunan fase terdispersi dan fase pendispersi akibat paparan suhu yang berulang. Selama proses pemanasan dan pendinginan, droplet nanoemulsi dapat mengalami perubahan ukuran maupun distribusi partikel sehingga memengaruhi massa jenis sistem secara

keseluruhan. Fluktuasi suhu diketahui dapat meningkatkan mobilitas molekul dan mempercepat terjadinya fenomena ketidakstabilan seperti agregasi, flokulasi, maupun *Ostwald ripening* yang pada akhirnya menyebabkan perubahan karakteristik fisik nanoemulsi^{134,135}. Penurunan bobot jenis yang terjadi pada penelitian ini masih dapat diterima apabila tidak disertai pemisahan fase, penggumpalan, maupun perubahan organoleptik. Nanoemulsi yang stabil umumnya mampu mempertahankan distribusi droplet secara homogen meskipun mengalami perlakuan penyimpanan dan perubahan suhu. Stabilitas tersebut dipengaruhi oleh ukuran droplet yang kecil, distribusi ukuran partikel yang seragam, serta kemampuan surfaktan dalam mempertahankan lapisan antarmuka minyak-air^{135–137}.

Selain bobot jenis, hasil pengujian menunjukkan bahwa viskositas nanoemulsi NE-SRO juga mengalami penurunan selama pengujian *heating-cooling*. Penurunan viskositas dapat disebabkan oleh meningkatnya energi kinetik molekul ketika sistem mengalami pemanasan sehingga gaya tarik antarmolekul menjadi lebih lemah. Kondisi tersebut menyebabkan hambatan aliran berkurang dan nilai viskositas menurun. Selain itu, siklus suhu berulang dapat memengaruhi struktur jaringan antardroplet yang terbentuk dalam nanoemulsi sehingga sistem menjadi lebih encer dibandingkan kondisi awal^{138,139}. Perubahan viskositas juga berkaitan erat dengan stabilitas ukuran droplet. Apabila terjadi pembesaran droplet akibat koalesensi atau *Ostwald ripening*, maka interaksi antarpartikel dalam sistem dapat berubah dan menyebabkan penurunan kekentalan sediaan. Beberapa penelitian melaporkan bahwa suhu penyimpanan yang lebih tinggi cenderung mempercepat perubahan karakteristik fisik nanoemulsi, termasuk viskositas dan ukuran partikel, karena meningkatnya frekuensi tumbukan antar droplet¹³⁸.

Meskipun terjadi penurunan bobot jenis dan viskositas, hasil tersebut tidak secara langsung menunjukkan ketidakstabilan nanoemulsi apabila perubahan yang terjadi masih berada dalam rentang yang dapat diterima dan tidak disertai pemisahan fase. Menurut berbagai penelitian, nanoemulsi yang memiliki ukuran droplet kecil dan distribusi partikel yang homogen cenderung tetap stabil terhadap perlakuan *heating-cooling*. Oleh karena itu, evaluasi parameter lain seperti ukuran partikel, indeks polidispersitas, pH, serta

pengamatan organoleptik tetap diperlukan untuk memastikan kestabilan sediaan secara menyeluruh^{135,136,140}.

Berdasarkan hasil pengujian dapat disimpulkan bahwa perlakuan *heating-cooling cycle* menyebabkan penurunan bobot jenis dan viskositas nanoemulsi NE-SRO. Perubahan tersebut diduga terjadi akibat pengaruh fluktuasi suhu terhadap struktur internal sistem nanoemulsi dan interaksi antar droplet. Namun demikian, selama tidak terjadi pemisahan fase maupun perubahan fisik, nanoemulsi masih dapat dikategorikan memiliki stabilitas fisik yang baik.

5.5.2 Uji Sentrifugasi

Uji sentrifugasi merupakan salah satu metode *accelerated stability test* yang digunakan untuk mengevaluasi kestabilan fisik nanoemulsi dalam waktu singkat. Pengujian ini dilakukan dengan memberikan gaya sentrifugal yang tinggi sehingga dapat mempercepat terjadinya fenomena ketidakstabilan, seperti kremasi (*creaming*), sedimentasi, flokulasi, koalesensi, maupun pemisahan fase. Nanoemulsi yang tetap homogen setelah proses sentrifugasi menunjukkan kemampuan yang baik dalam mempertahankan kestabilan sistem dispersinya^{94,141}. Berdasarkan hasil pengujian pada Tabel 4.8, sediaan nanoemulsi NE-SRO tidak menunjukkan adanya pemisahan fase maupun pengendapan pada seluruh waktu pengamatan, yaitu mulai dari 30 hingga 300 menit. Hal ini ditandai dengan tidak ditemukannya lapisan minyak atau air yang terpisah serta tidak terbentuknya endapan selama proses pengujian. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa nanoemulsi NE-SRO memiliki stabilitas fisik yang baik terhadap pengaruh gaya sentrifugal yang diberikan.

Tidak terjadinya pemisahan fase menunjukkan bahwa sistem nanoemulsi mampu mempertahankan distribusi droplet secara merata selama pengujian. Stabilitas tersebut dapat dikaitkan dengan ukuran droplet yang sangat kecil serta kemampuan surfaktan dan kosurfaktan dalam menurunkan tegangan antarmuka antara fase minyak dan fase air. Ukuran droplet yang berada pada skala nanometer menghasilkan gerakan Brown yang cukup besar sehingga dapat menghambat terjadinya sedimentasi maupun kremasi akibat perbedaan densitas antar fase. Selain itu, lapisan surfaktan yang menyelimuti permukaan droplet

berperan sebagai penghalang sterik dan elektrostatik yang mampu mencegah terjadinya agregasi dan koalesensi^{136,142}.

Hasil penelitian ini sejalan dengan berbagai laporan yang menyatakan bahwa nanoemulsi yang memiliki distribusi ukuran partikel homogen dan nilai stabilitas yang baik umumnya mampu bertahan terhadap pengujian sentrifugasi tanpa menunjukkan pemisahan fase. Ketahanan terhadap gaya sentrifugal menjadi indikator bahwa gaya tarik antar droplet relatif kecil sehingga proses flokulasi dan koalesensi tidak terjadi. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa sistem emulsi masih berada dalam keadaan stabil secara kinetik^{143,144}. Selain itu, tidak ditemukannya endapan selama pengujian menunjukkan bahwa tidak terjadi agregasi partikel yang dapat menyebabkan peningkatan ukuran droplet secara drastis. Menurut beberapa penelitian, pembentukan agregat yang berlebihan akan meningkatkan massa partikel sehingga mempercepat terjadinya sedimentasi atau pemisahan fase ketika sampel diberikan gaya sentrifugal. Oleh karena itu, ketiadaan endapan pada nanoemulsi NE-SRO mengindikasikan bahwa interaksi antar droplet masih dapat dikendalikan dengan baik oleh sistem surfaktan yang digunakan^{94,145}.

Keberhasilan nanoemulsi NE-SRO mempertahankan homogenitas selama pengujian sentrifugasi juga menunjukkan bahwa formulasi yang digunakan mampu menghasilkan sistem dispersi yang stabil. Stabilitas tersebut sangat penting karena berhubungan langsung dengan mutu sediaan selama penyimpanan. Nanoemulsi yang stabil akan lebih mampu mempertahankan distribusi bahan aktif, mencegah perubahan penampilan fisik, serta menjaga efektivitas produk selama masa simpan^{136,144}. Berdasarkan hasil pengujian sentrifugasi dapat disimpulkan bahwa sediaan nanoemulsi NE-SRO memiliki stabilitas fisik yang baik. Tidak adanya pemisahan fase dan pengendapan selama pengujian menunjukkan bahwa sistem nanoemulsi mampu mempertahankan homogenitasnya meskipun diberikan percepatan gravitasi yang tinggi. Hasil ini mengindikasikan bahwa formulasi nanoemulsi NE-SRO berpotensi memiliki kestabilan yang baik selama proses penyimpanan.

5.6 Uji Stabilitas Penyimpanan Produk

5.6.1 Uji Organoleptik

Uji organoleptik merupakan salah satu parameter penting dalam evaluasi stabilitas fisik nanoemulsi karena dapat memberikan gambaran awal mengenai perubahan karakteristik sediaan selama penyimpanan. Pengamatan organoleptik dilakukan terhadap bau, warna, kejernihan, dan pemisahan fase pada berbagai kondisi suhu penyimpanan. Perubahan pada parameter tersebut umumnya menunjukkan adanya ketidakstabilan sistem dispersi yang dapat memengaruhi mutu dan penerimaan produk oleh pengguna^{144,146}. Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel 4.9 dan Tabel 4.10, sediaan nanoemulsi NE-SRO yang disimpan pada suhu 25°C dan 40°C selama 30 hari tidak menunjukkan perubahan pada seluruh parameter yang diamati. Bau, warna, dan kejernihan sediaan tetap sama sejak hari ke-0 hingga hari ke-30, serta tidak ditemukan adanya pemisahan fase selama periode penyimpanan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa formulasi nanoemulsi NE-SRO mampu mempertahankan karakteristik fisiknya dengan baik pada kedua kondisi suhu penyimpanan.

Tidak adanya perubahan warna selama penyimpanan mengindikasikan bahwa komponen penyusun nanoemulsi relatif stabil terhadap pengaruh suhu dan waktu penyimpanan. Perubahan warna pada nanoemulsi umumnya berkaitan dengan terjadinya degradasi bahan aktif, oksidasi fase minyak, atau interaksi antarkomponen dalam formulasi. Oleh karena itu, warna yang tetap stabil menunjukkan bahwa sistem nanoemulsi mampu melindungi komponen yang terkandung di dalamnya dari proses degradasi yang dapat memengaruhi kualitas produk^{141,147}. Parameter bau juga tidak mengalami perubahan selama penyimpanan. Stabilitas aroma menunjukkan bahwa tidak terjadi proses oksidasi atau kerusakan komponen volatil pada sediaan. Pada sistem nanoemulsi, keberadaan surfaktan dan ukuran droplet yang sangat kecil dapat membantu menjaga kestabilan fase minyak sehingga senyawa yang mudah menguap lebih terlindungi dari pengaruh lingkungan. Kondisi ini menjadi salah satu indikator bahwa formulasi memiliki kestabilan yang baik selama masa penyimpanan^{56,148}.

Hasil pengamatan kejernihan menunjukkan bahwa nanoemulsi tetap mempertahankan penampilan yang jernih selama 30 hari penyimpanan. Kejernihan merupakan karakteristik khas nanoemulsi yang dipengaruhi oleh ukuran droplet yang sangat kecil sehingga hamburan cahaya yang terjadi relatif

rendah. Apabila selama penyimpanan terjadi agregasi, flokulasi, atau koalesensi droplet, maka sediaan biasanya akan tampak lebih keruh. Oleh karena itu, tidak adanya perubahan kejernihan pada nanoemulsi NE-SRO mengindikasikan bahwa distribusi ukuran droplet tetap stabil dan tidak terjadi peningkatan ukuran partikel selama penyimpanan^{59,148}. Selain itu, tidak ditemukannya pemisahan fase pada seluruh waktu pengamatan menunjukkan bahwa sistem nanoemulsi memiliki stabilitas kinetik yang baik. Pemisahan fase merupakan salah satu bentuk ketidakstabilan fisik yang dapat terjadi akibat flokulasi, koalesensi, terbentuk krim (*creaming*), sedimentasi, maupun *Ostwald ripening*. Ketidakstabilan tersebut biasanya dipicu oleh perubahan suhu, perbedaan densitas antar fase, atau menurunnya kemampuan surfaktan dalam mempertahankan lapisan antarmuka minyak dan air. Tidak terjadinya pemisahan fase pada penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi komponen penyusun nanoemulsi mampu mempertahankan kestabilan sistem dispersi selama penyimpanan pada suhu 25°C maupun 40°C^{94,141,149}.

Stabilitas organoleptik yang diperoleh pada penelitian ini juga menunjukkan bahwa penyimpanan pada suhu 40°C selama 30 hari belum memberikan pengaruh yang berarti terhadap karakteristik fisik nanoemulsi. Suhu tinggi umumnya dapat mempercepat terjadinya ketidakstabilan melalui peningkatan frekuensi tumbukan antar droplet dan perubahan sifat antarmuka. Namun, hasil penelitian menunjukkan bahwa formulasi NE-SRO masih mampu mempertahankan homogenitas dan penampilan fisiknya, sehingga dapat dikatakan memiliki stabilitas penyimpanan yang baik dalam kondisi pengujian yang dilakukan^{57,146}. Berdasarkan hasil pengamatan organoleptik dapat disimpulkan bahwa nanoemulsi NE-SRO memiliki kestabilan fisik yang baik selama penyimpanan 30 hari pada suhu 25°C dan 40°C. Tidak adanya perubahan bau, warna, kejernihan, maupun pemisahan fase menunjukkan bahwa formulasi mampu mempertahankan karakteristik fisiknya selama masa penyimpanan sehingga berpotensi memberikan mutu produk yang tetap terjaga hingga akhir periode pengujian^{56,144}.

5.6.2 Penetapan Nilai pH

Pengukuran pH merupakan salah satu parameter penting dalam evaluasi stabilitas nanoemulsi karena dapat menggambarkan perubahan kimia yang

terjadi selama penyimpanan. Nilai pH yang stabil menunjukkan bahwa komponen penyusun nanoemulsi masih mampu mempertahankan integritasnya, sedangkan perubahan pH dapat mengindikasikan adanya reaksi degradasi, hidrolisis, oksidasi, maupun interaksi antar komponen dalam sistem dispersi. Oleh karena itu, pemantauan pH secara berkala diperlukan untuk memastikan kualitas dan kestabilan sediaan selama masa penyimpanan^{94,144}. Berdasarkan hasil pengujian stabilitas penyimpanan, nilai pH nanoemulsi NE-SRO mengalami penurunan selama periode penyimpanan 30 hari. Namun, penurunan yang terjadi relatif kecil dan tidak menunjukkan perubahan. Hasil ini mengindikasikan bahwa sistem nanoemulsi masih mampu mempertahankan kestabilan kimianya selama penyimpanan. Perubahan pH umumnya masih dapat diterima selama nilai pH tetap berada dalam rentang yang sesuai dengan tujuan penggunaan sediaan dan tidak menyebabkan perubahan karakteristik fisik lainnya, seperti pemisahan fase atau perubahan organoleptic^{136,150}.

Penurunan pH yang terjadi diduga berkaitan dengan proses hidrolisis sebagian komponen fase minyak yang menghasilkan senyawa asam bebas selama penyimpanan. Selain itu, reaksi oksidasi pada komponen lipid juga dapat menghasilkan produk degradasi yang bersifat lebih asam sehingga menyebabkan penurunan nilai pH secara bertahap. Fenomena serupa telah dilaporkan pada berbagai sistem nanoemulsi berbasis minyak, di mana penyimpanan pada suhu tertentu dapat memicu pembentukan asam lemak bebas yang berkontribusi terhadap penurunan pH sediaan^{94,151}. Meskipun demikian, penurunan pH menunjukkan bahwa proses degradasi yang terjadi masih berada pada tingkat yang rendah. Hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh kemampuan surfaktan dalam membentuk lapisan pelindung pada permukaan droplet sehingga dapat menghambat kontak langsung antara fase minyak dengan lingkungan sekitarnya. Lapisan antarmuka yang stabil berperan penting dalam mempertahankan kestabilan fisik dan kimia nanoemulsi selama penyimpanan.

Selain dipengaruhi oleh reaksi kimia, perubahan pH juga dapat berkaitan dengan perubahan ukuran droplet dan kestabilan sistem dispersi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ketidakstabilan nanoemulsi yang ditandai dengan agregasi atau koalesensi droplet sering kali disertai perubahan nilai pH yang cukup besar. Pada penelitian ini, tidak ditemukannya pemisahan fase maupun

perubahan organoleptik selama penyimpanan menunjukkan bahwa penurunan pH yang terjadi belum memengaruhi kestabilan fisik nanoemulsi secara nyata. Dengan demikian, perubahan pH yang diamati lebih mengarah pada proses perubahan kimia ringan yang masih dapat ditoleransi oleh sistem^{153,154}. Suhu penyimpanan juga berperan dalam memengaruhi nilai pH nanoemulsi. Peningkatan suhu dapat mempercepat laju reaksi hidrolisis dan oksidasi sehingga berpotensi menyebabkan perubahan pH yang lebih besar dibandingkan pada suhu ruang. Namun, hasil pengamatan menunjukkan bahwa nanoemulsi NE-SRO masih mampu mempertahankan kestabilan pH selama periode penyimpanan yang dilakukan. Kondisi ini menunjukkan bahwa formulasi yang digunakan memiliki ketahanan yang cukup baik terhadap pengaruh suhu penyimpanan^{136,155}.

Secara keseluruhan, hasil pengujian menunjukkan bahwa nanoemulsi NE-SRO mengalami penurunan nilai pH selama penyimpanan, tetapi perubahan tersebut masih memenuhi rentang syarat sediaan. Hal ini mengindikasikan bahwa sistem nanoemulsi memiliki stabilitas kimia yang baik dan masih mampu mempertahankan karakteristiknya selama masa penyimpanan. Stabilitas pH yang relatif terjaga juga didukung oleh hasil pengujian organoleptik yang tidak menunjukkan adanya perubahan warna, bau, kejernihan, maupun pemisahan fase selama periode pengamatan.

5.6.3 Pengujian Bobot Jenis dan Viskositas

Pengujian bobot jenis dan viskositas dilakukan untuk mengevaluasi stabilitas fisik nanoemulsi selama penyimpanan. Kedua parameter tersebut merupakan indikator penting karena mampu menggambarkan perubahan struktur sistem dispersi, interaksi antar komponen penyusun, serta kemungkinan terjadinya ketidakstabilan seperti flokulasi, koalesensi, maupun pemisahan fase. Berdasarkan hasil pengujian, nilai bobot jenis nanoemulsi pada suhu 25°C dan 40°C tidak menunjukkan perubahan yang berarti selama periode penyimpanan. Kondisi tersebut mengindikasikan bahwa komposisi fase minyak, fase air, dan surfaktan tetap terdistribusi secara homogen sehingga tidak terjadi perubahan massa jenis sistem secara nyata. Stabilitas bobot jenis menunjukkan bahwa formulasi mampu mempertahankan karakteristik fisiknya meskipun disimpan pada suhu yang berbeda. Menurut Ashaolu nanoemulsi yang stabil umumnya

memiliki distribusi droplet yang seragam sehingga perubahan densitas selama penyimpanan relatif kecil¹⁵⁶.

Selain bobot jenis, hasil pengujian viskositas juga memperlihatkan bahwa nilai viskositas tidak mengalami perubahan selama penyimpanan. Stabilitas viskositas menunjukkan bahwa ukuran droplet dan jaringan internal nanoemulsi tetap terjaga sehingga tidak terjadi peningkatan maupun penurunan hambatan aliran secara nyata. Perubahan viskositas biasanya berkaitan dengan proses agregasi droplet, koalesensi, atau perubahan struktur antarmuka akibat degradasi surfaktan. Oleh karena itu, viskositas yang relatif konstan menunjukkan bahwa sistem nanoemulsi masih memiliki stabilitas fisik yang baik^{157,158}.

Suhu penyimpanan merupakan salah satu faktor yang dapat memengaruhi karakteristik nanoemulsi. Peningkatan suhu berpotensi meningkatkan energi kinetik droplet sehingga peluang terjadinya tumbukan antarpartikel menjadi lebih besar. Akan tetapi, apabila konsentrasi surfaktan cukup untuk mempertahankan lapisan antarmuka, maka droplet tetap stabil dan perubahan viskositas maupun bobot jenis dapat diminimalkan. Hal ini menunjukkan bahwa sistem nanoemulsi memiliki ketahanan terhadap variasi suhu penyimpanan yang digunakan dalam penelitian^{59,144}. Hasil tersebut menunjukkan bahwa formulasi nanoemulsi yang dikembangkan memiliki stabilitas fisik yang baik selama masa penyimpanan. Stabilitas bobot jenis dan viskositas mengindikasikan bahwa tidak terjadi perubahan struktur dispersi yang dapat memengaruhi mutu sediaan. Dengan demikian, nanoemulsi masih memenuhi karakteristik fisik yang diharapkan dan berpotensi mempertahankan performanya selama penyimpanan.

5.6.4 Pengukuran Ukuran Droplet dan Indeks Polidispersitas

Pengujian ukuran droplet dan indeks polidispersitas (IPD) dilakukan untuk mengevaluasi stabilitas fisik nanoemulsi setelah penyimpanan dipercepat selama 30 hari pada suhu 40°C. Kedua parameter tersebut merupakan indikator utama dalam menilai kestabilan nanoemulsi karena berkaitan dengan homogenitas sistem dispersi, distribusi ukuran partikel, serta kemungkinan terjadinya agregasi atau koalesensi selama penyimpanan. Pengukuran umumnya dilakukan menggunakan metode *Dynamic Light Scattering* (DLS), yang mampu

menentukan ukuran hidrodinamik droplet beserta distribusinya secara akurat^{158,159}.

Berdasarkan hasil pengujian pada Tabel 4.11, ukuran droplet nanoemulsi mengalami peningkatan dari $13,3 \pm 0,2$ nm pada hari ke-0 menjadi $517 \pm 81,1$ nm setelah penyimpanan selama 30 hari pada suhu 40°C . Peningkatan ukuran droplet tersebut menunjukkan bahwa selama penyimpanan terjadi perubahan pada sistem dispersi nanoemulsi. Kenaikan suhu penyimpanan dapat meningkatkan energi kinetik droplet sehingga frekuensi tumbukan antarpartikel menjadi lebih tinggi, apabila lapisan surfaktan yang melindungi permukaan droplet tidak lagi mampu memberikan penghalang sterik atau elektrostatis secara optimal, maka droplet dapat saling bergabung (koalesensi) atau mengalami agregasi sehingga menghasilkan ukuran partikel yang lebih besar. Kondisi ini merupakan salah satu mekanisme ketidakstabilan fisik yang umum dijumpai pada sistem nanoemulsi selama penyimpanan^{59,94}. Meskipun demikian, peningkatan ukuran droplet tidak selalu menunjukkan kerusakan total pada sistem nanoemulsi. Beberapa penelitian melaporkan bahwa penyimpanan pada suhu tinggi dapat mempercepat terjadinya *Ostwald ripening*, yaitu perpindahan molekul fase minyak dari droplet berukuran kecil menuju droplet yang lebih besar akibat adanya perbedaan kelarutan. Proses tersebut menyebabkan diameter rata-rata droplet meningkat secara bertahap tanpa disertai pemisahan fase secara langsung, fenomena ini sering menjadi penyebab utama bertambahnya ukuran droplet selama uji stabilitas dipercepat^{59,160}.

Berbeda dengan ukuran droplet, hasil pengukuran menunjukkan bahwa nilai IPD mengalami sedikit penurunan, yaitu dari $0,249 \pm 0,028$ menjadi $0,235 \pm 0,035$ setelah penyimpanan. Nilai IPD yang berada di bawah 0,4 menunjukkan bahwa distribusi ukuran droplet masih tergolong sempit atau relatif homogen. Dengan demikian, meskipun ukuran rata-rata droplet meningkat secara nyata, distribusi ukuran partikel di dalam sistem masih cukup seragam. Hal ini mengindikasikan bahwa pertumbuhan droplet terjadi secara relatif merata dan belum menyebabkan terbentuknya populasi partikel dengan ukuran yang sangat bervariasi. Nilai IPD yang rendah juga mencerminkan bahwa proses emulsifikasi menghasilkan sistem dengan homogenitas yang baik^{116,160}.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ukuran droplet dan nilai IPD tidak selalu berubah secara searah. Ukuran droplet dapat meningkat akibat proses

koalesensi atau *Ostwald ripening*, sedangkan nilai IPD tetap rendah apabila seluruh populasi droplet mengalami pertumbuhan dengan laju yang relatif seragam. Oleh karena itu, evaluasi stabilitas nanoemulsi tidak cukup hanya didasarkan pada satu parameter, tetapi harus mempertimbangkan hubungan antara ukuran droplet, distribusi ukuran partikel, viskositas, serta pengamatan visual terhadap kemungkinan terjadinya pemisahan fase^{159,161}. Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa penyimpanan selama 30 hari pada suhu 40°C menyebabkan peningkatan ukuran droplet yang cukup besar, sehingga mengindikasikan adanya penurunan stabilitas fisik nanoemulsi. Namun demikian, nilai IPD yang tetap berada di bawah 0,4 menunjukkan bahwa distribusi ukuran droplet masih relatif homogen. Dengan demikian, formulasi nanoemulsi masih mampu mempertahankan keseragaman distribusi partikel meskipun terjadi pertumbuhan ukuran droplet selama penyimpanan. Hasil ini mengindikasikan bahwa sistem nanoemulsi mengalami perubahan fisik akibat pengaruh suhu penyimpanan, tetapi belum menunjukkan heterogenitas distribusi ukuran partikel yang tinggi.