BAB V
PEMBAHASAN

5.1. Optimasi Jenis Surfaktan dan Kosurfaktan

Berdasarkan hasil optimasi surfaktan dan kosurfaktan pada Tabel 4.1, setiap kombinasi *Smix* menunjukkan karakteristik kejernihan yang berbeda. Kombinasi Cremophor RH-40 dengan PEG 400 (*Smix 1*) serta Tween 80 dengan Span 80 (*Smix 5*) menghasilkan penampakan translucent. Sebaliknya, kombinasi yang mengandung propilenglikol sebagai kosurfaktan, yaitu *Smix* 2 dan *Smix* 4, menunjukkan penampakan keruh. Perbedaan tingkat kejernihan tersebut berkaitan dengan kemampuan masing-masing kombinasi surfaktan dan kosurfaktan dalam menurunkan tegangan antarmuka antara fase minyak dan fase air sehingga memengaruhi pembentukan dan stabilitas droplet nanoemulsi. Surfaktan dan kosurfaktan yang mampu menurunkan tegangan antarmuka secara efektif akan menghasilkan sistem yang lebih homogen dan stabil[86].

Smix 3 yang terdiri atas Tween 80 dan PEG 400 menghasilkan tingkat kejernihan tertinggi dibandingkan kombinasi lainnya. Hal ini dikarenakan Tween 80 merupakan surfaktan nonionik dengan nilai HLB tinggi yang umum digunakan untuk membentuk nanoemulsi tipe minyak dalam air (*oil in water*)[87]. Sedangkan PEG 400 sebagai kosurfaktan membantu menurunkan tegangan antarmuka dan meningkatkan fleksibilitas lapisan antarmuka[86]. Selain itu, penggunaan PEG 400 dalam sistem nanoemulsi telah dilaporkan dapat meningkatkan kapasitas pemuatan obat dan permeabilitas formulasi[88].

Smix 1 yang terdiri atas Cremophor RH-40 dan PEG 400 menghasilkan sistem translucent. Cremophor RH-40 merupakan surfaktan nonionik yang memiliki nilai HLB tinggi dan kapasitas emulsifikasi yang baik sehingga sesuai digunakan dalam sistem emulsi minyak dalam air (o/w). Namun, tingkat kejernihan yang dihasilkan masih lebih rendah dibandingkan *Smix* 3 yang mengandung Tween 80 dan PEG 400. Perbedaan tersebut menunjukkan bahwa meskipun kedua surfaktan memiliki karakteristik yang sesuai untuk sistem o/w, efektivitas pembentukan nanoemulsi juga dipengaruhi oleh

interaksi antara surfaktan, kosurfaktan, dan fase minyak yang digunakan dalam formulasi[79].

Smix 2 yang terdiri atas Cremophor RH-40 dan propilen glikol menghasilkan sistem yang keruh. Hasil serupa juga diperoleh pada *Smix* 4 yang menggunakan Tween 80 dan propilen glikol sebagai kosurfaktan. Perbedaan ini menunjukkan bahwa jenis kosurfaktan memengaruhi karakteristik sistem yang terbentuk. Komposisi campuran surfaktan dan kosurfaktan (*Smix*) diketahui berperan penting dalam kemampuan pembentukan nanoemulsi[89]. Oleh karena itu, propilenglikol pada formulasi ini diduga belum mampu menghasilkan sistem nanoemulsi yang optimal pada kombinasi surfaktan yang digunakan.

Smix 5 yang terdiri atas Tween 80 dan Span 80 menghasilkan sistem translusen. Hasil ini dipengaruhi oleh karakteristik Span 80 yang memiliki nilai HLB rendah dan bersifat lebih lipofilik dibandingkan Tween 80[90]. Kombinasi Tween 80 dan Span 80 dapat membantu menyesuaikan nilai HLB campuran surfaktan, namun keberadaan Span 80 yang lebih lipofilik dapat menyebabkan pembentukan droplet yang tidak sehomogen sistem yang menghasilkan kejernihan sempurna, sehingga sistem yang terbentuk hanya bersifat translusen. Berdasarkan hasil penelitian, *Smix* 3 merupakan *Smix* yang dipilih untuk dilakukan pegujian selanjutnya dengan surfaktan Tween 80 dan PEG 400.

5.2. Pembuatan Nanoemulsi dan Studi Diagram *pseudo-tarner*

Tahap awal dalam pengembangan nanoemulsi minyak biji delima dilakukan melalui studi diagram fase pseudo-terner untuk menentukan kombinasi surfaktan dan kosurfaktan yang paling efektif dalam membentuk sistem nanoemulsi yang stabil. Diagram fase pseudo-terner digunakan untuk memetakan daerah pembentukan nanoemulsi berdasarkan variasi komposisi minyak, fase air, dan campuran surfaktan-kosurfaktan (*Smix*)[91]. Melalui pendekatan ini dapat diketahui konsentrasi minimum yang masih mampu menghasilkan sistem nanoemulsi dengan karakteristik jernih, homogen, dan stabil. Pada penelitian ini, studi diagram fase pseudo-terner dilakukan menggunakan tiga variasi rasio *Smix*, yaitu 1:1, 2:1, dan 3:1. Masing-masing rasio diuji pada rentang konsentrasi 10% hingga 90% (v/v). Variasi tersebut bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh perbandingan surfaktan dan kosurfaktan terhadap

kemampuan sistem dalam menurunkan tegangan antarmuka serta membentuk droplet berukuran nano[92]. Hasil diagram fase pseudo-terner menunjukkan adanya perbedaan kemampuan emulsifikasi pada setiap rasio *Smix* yang digunakan.

Rasio *Smix* 1:1 mulai menghasilkan sistem yang jernih dan transparan pada konsentrasi 50%. Pada rasio *Smix* 2:1, karakteristik yang sama dapat diperoleh pada konsentrasi 40%. Sementara itu, rasio Smix 3:1 mampu membentuk nanoemulsi yang jernih pada konsentrasi paling rendah, yaitu 30%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa peningkatan proporsi surfaktan dalam campuran *Smix* memberikan kemampuan emulsifikasi yang lebih baik sehingga proses pembentukan nanoemulsi menjadi lebih efisien. Surfaktan yang lebih dominan mampu menurunkan tegangan antarmuka antara fase minyak dan fase air secara lebih optimal, sehingga menghasilkan dispersi droplet yang lebih kecil dan seragam[79].

Setelah diperoleh rasio *Smix* 3:1 pada konsentrasi 30% sebagai kombinasi yang menunjukkan kejernihan terbaik pada konsentrasi terendah, dilakukan pengujian lanjutan dengan menurunkan konsentrasi Smix menjadi 25%, 26%, 27%, 28%, dan 29%. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui batas konsentrasi minimum yang masih dapat mempertahankan karakteristik nanoemulsi yang jernih dan transparan[79]. Namun, hasil pengamatan menunjukkan bahwa seluruh konsentrasi tersebut belum mampu menghasilkan sistem dengan tingkat kejernihan yang setara dengan konsentrasi 30%. Oleh karena itu, konsentrasi 30% tetap dipilih sebagai konsentrasi optimum untuk formulasi nanoemulsi minyak biji delima.

Kejernihan dan transparansi yang terbentuk pada sistem nanoemulsi mengindikasikan bahwa ukuran droplet yang dihasilkan relatif kecil dan terdistribusi secara merata dalam medium dispersi. Semakin kecil ukuran droplet yang terbentuk, semakin rendah hamburan cahaya yang terjadi sehingga sistem akan tampak lebih jernih[93]. Berdasarkan hasil studi diagram fase pseudo-terner tersebut, *Smix* 3 dengan rasio 3:1 dan konsentrasi 30% dipilih sebagai formula optimum untuk tahap formulasi dan karakterisasi nanoemulsi selanjutnya. Penentuan konsentrasi yang akan digunakan pada tahap formulasi selanjutnya dilakukan melalui pengujian turbiditas guna menilai tingkat kejernihan sistem nanoemulsi.

Pengujian transmitan dilakukan untuk mengevaluasi kejernihan dan transparansi nanoemulsi berdasarkan kemampuan sistem dalam meneruskan cahaya pada rentang panjang gelombang tampak menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Nilai transmitan yang tinggi, terutama mendekati 100%, menunjukkan bahwa formulasi memiliki tingkat kejernihan dan transparansi yang baik. Sebaliknya, nilai transmitan yang rendah mengindikasikan meningkatnya hamburan cahaya oleh fase terdispersi sehingga sistem cenderung tampak lebih keruh. Tingkat hamburan cahaya pada nanoemulsi dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti ukuran droplet, jumlah fase terdispersi, serta perbedaan indeks refraksi antar komponen dalam sistem[94].

Pengujian % transmitan dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengevaluasi tingkat kejernihan nanoemulsi yang terbentuk. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 650 nm dengan akuades sebagai blanko[95]. Sebelum pengukuran, sampel nanoemulsi dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian nilai transmitan dicatat dan pengujian dilakukan sebanyak tiga kali replikasi untuk memperoleh hasil yang lebih akurat dan dapat direproduksi. Prinsip pengujian ini didasarkan pada kemampuan sistem nanoemulsi dalam meneruskan cahaya yang melewati sampel. Semakin tinggi nilai transmitan yang diperoleh, semakin besar cahaya yang dapat diteruskan sehingga sistem tampak lebih jernih dan transparan. Sebaliknya, nilai transmitan yang rendah menunjukkan terjadinya hamburan cahaya yang lebih besar sehingga sistem cenderung tampak keruh[94]. Nilai persen transmitan yang ideal pada nanoemulsi berkisar antara rentang 90-100%. Kisaran transmitan tersebut merupakan visual nanoemulsi yang optimal, yang ditunjukkan dalam visual jernih dan transparan[73].

Berdasarkan hasil uji % transmitan pada konsentrasi 30% stabil berada pada rentang 91,2 hingga 92,4 Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 4.2 dan 4.3. Nilai tersebut mengindikasikan terjadinya pembetukan nanoemulsi yang mampu menghasilkan ukuran tetesan yang kecil. Semakin tinggi nilai persen transmitan menunjukkan ukuran droplet nanoemulsi yang terbentuk semakin halus. Hasil persen transmitan tinggi dari nanoemulsi menunjukkan bahwa nanoemulsi yang terbentuk tampak jernih karena ukuran droplet yang sangat kecil dapat melewatkan berkas cahaya sehingga menunjukkan pengukuran transmitan yang tinggi[96].

5.3. Karakterisasi Sediaan Nanoemulsi

Nanoemulsi yang telah diformulasikan selanjutnya dikarakterisasi guna menilai kualitas fisik dan kestabilan sistem dispersi yang terbentuk. Hasil karakterisasi digunakan sebagai dasar dalam pemilihan formula terbaik untuk diaplikasikan ke dalam sediaan serum *sheet mask* nanoemulsi minyak biji delima. Parameter yang diamati meliputi sifat organoleptik, tipe emulsi, nilai pH, viskositas, ukuran droplet, dan indeks polidispersitas.

5.3.1. Uji Organoleptik

Pengujian organoleptik dilakukan sebagai evaluasi awal untuk mengamati karakteristik fisik nanoemulsi yang terbentuk. Pengamatan ini meliputi warna, aroma, kejernihan, serta adanya pemisahan fase atau ketidakstabilan sistem emulsi. Parameter tersebut digunakan untuk menilai kualitas fisik dan homogenitas nanoemulsi, karena perubahan organoleptik dapat mengindikasikan terjadinya ketidakstabilan selama proses formulasi[97]. Berdasarkan pengujian pada tabel 4.4, diperoleh sediaan nanoemulsi minyak biji delima membentuk sistem monofase yang jernih. Kejernihan nanoemulsi dipengaruhi oleh kondisi proses formulasi, terutama suhu dan kecepatan pengadukan yang digunakan selama pembuatan[98]. Sediaan nanoemulsi yang dihasilkan memiliki warna kuning pucat yang berasal dari minyak biji delima sebagai bahan aktif. Selain itu, sediaan memiliki aroma khas yang merupakan karakteristik alami minyak biji delima. Berdasarkan hasil pengamatan organoleptik, nanoemulsi menunjukkan penampakan yang homogen, jernih, dan tidak mengalami pemisahan fase sehingga dapat dinyatakan memenuhi persyaratan organoleptik yang ditetapkan. Hasil pengujian dapat dilihat pada Lampiran 8.

5.3.2. Uji Tipe Emulsi

Uji tipe emulsi dilakukan untuk menentukan fase kontinu dan fase terdispersi pada sistem nanoemulsi yang terbentuk. Pengujian ini menggunakan metode pewarnaan (*dye solubilization test*) dengan eosin, yaitu zat warna yang larut dalam air tetapi tidak larut dalam minyak. Prinsip pengujian ini didasarkan pada kemampuan eosin untuk terdispersi secara merata pada fase kontinu yang bersifat hidrofilik. Apabila warna eosin menyebar secara homogen ke seluruh sistem nanoemulsi, maka menunjukkan bahwa air merupakan fase luar (*continuous phase*) sehingga

nanoemulsi termasuk tipe minyak dalam air (*oil in water*/O/W). Sebaliknya, apabila pewarna tidak terdistribusi secara merata, maka sistem emulsi tergolong tipe air dalam minyak (*water in oil*/W/O)[99]. Penggunaan eosin dalam uji tipe emulsi didasarkan pada kemudahannya dalam memberikan identifikasi awal terhadap jenis emulsi yang terbentuk. Berdasarkan data pada Tabel 4.4 dan Lampiran 9 diperoleh penyebaran warna eosin yang homogen pada seluruh sediaan, sehingga nanoemulsi minyak biji delima dapat dikategorikan sebagai emulsi tipe minyak dalam air (O/W). Dengan demikian, hasil pengujian menunjukkan bahwa tipe emulsi yang dihasilkan telah sesuai dengan karakteristik nanoemulsi yang diharapkan.

5.3.3. Uji penetapan pH

Uji penetapan pH dilakukan untuk mengetahui derajat keasaman atau kebasaan nanoemulsi yang dihasilkan. Nilai pH merupakan salah satu parameter penting dalam karakterisasi sediaan karena dapat memengaruhi stabilitas formulasi, keamanan penggunaan, serta efektivitas bahan aktif. pH didefinisikan sebagai logaritma negatif dari konsentrasi ion hidronium (H_3O^+) dalam suatu larutan yang menunjukkan tingkat keasaman atau kebasaan sistem. Secara umum, larutan dengan pH kurang dari 7 bersifat asam, pH 7 bersifat netral, sedangkan pH lebih dari 7 bersifat basa[100]. Oleh karena itu, pengukuran pH perlu dilakukan untuk memastikan bahwa nanoemulsi yang dihasilkan memiliki karakteristik yang sesuai dengan tujuan penggunaannya.

Minyak biji delima memiliki stabilitas pH pada rentang 4,5 – 6,5[75]. Secara fisiologis, kulit memiliki pH yang cenderung asam. Oleh karena itu, sediaan topikal diharapkan memiliki pH yang mendekati pH kulit agar tidak mengganggu fungsi lapisan pelindung kulit, mencegah iritasi, dan tetap menjaga keseimbangan mikroflora normal pada permukaan kulit[101] Sebaliknya, pH yang tidak sesuai dapat mengganggu fungsi pelindung alami kulit serta memengaruhi keseimbangan mikroflora normal pada permukaan kulit selain itu pH yang tidak sesuai dapat memengaruhi muatan pada permukaan droplet sehingga menurunkan gaya tolak elektrostatik antar droplet dan meningkatkan kemungkinan terjadinya koalesensi yang menyebabkan nanoemulsi menjadi kurang stabil[102]. Berdasarkan data yang disajikan pada Tabel 4.4 dan Lampiran 10 dan 11. Diperoleh nilai pH nanoemulsi minyak biji delima sebesar 5,240

± 0,0735. Nilai tersebut berada dalam rentang pH yang dipersyaratkan untuk sediaan topikal, yaitu 4,5–6,5[75]. Sehingga dapat dinyatakan bahwa nanoemulsi yang dihasilkan telah memenuhi persyaratan pH yang ditetapkan.

5.3.4. Uji Viskositas Oswald

Uji viskositas dilakukan untuk mengetahui tingkat kekentalan nanoemulsi yang dihasilkan. Viskositas merupakan parameter yang menunjukkan hambatan suatu fluida terhadap aliran dan dapat memengaruhi karakteristik serta stabilitas sediaan. Pengukuran viskositas pada penelitian ini dilakukan menggunakan viskometer Ostwald, yang bekerja berdasarkan waktu alir sampel melalui pipa kapiler akibat pengaruh gaya gravitasi. Semakin lama waktu yang dibutuhkan cairan untuk mengalir, maka semakin tinggi nilai viskositasnya[103].

Viskometer Ostwald termasuk jenis viskometer kapiler yang umumnya digunakan untuk mengukur viskositas cairan yang memiliki sifat alir Newtonian. Fluida Newtonian memiliki hubungan yang linier antara laju geser dan tegangan geser, sehingga nilai viskositasnya tetap dan tidak dipengaruhi oleh perubahan gaya geser yang diberikan[104].

Berdasarkan hasil pengujian yang disajikan pada Tabel 4.4 dan Lampiran 12 dan 13. Diperoleh nilai viskositas nanoemulsi minyak biji delima sebesar 5,0708 ± 0,3153 cPs. Nilai tersebut berada dalam rentang viskositas nanoemulsi yang dipersyaratkan, yaitu 1 – 100 cPs[77]. Sehingga menunjukkan bahwa sediaan memiliki kemampuan alir yang baik dan masih mampu mempertahankan sistem dispersi yang stabil. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Lacob Tudos et al (2021) yang menyatakan bahwa viskositas merupakan parameter penting dalam karakterisasi nanoemulsi dan perubahan struktur nanoemulsi dapat diamati melalui perubahan nilai viskositas yang diperoleh[105].

5.3.5. Uji Ukuran Droplet dan Indeks Polidispersitas

Ukuran droplet dan indeks polidispersitas (*polydispersity index*/PDI) merupakan parameter penting dalam karakterisasi nanoemulsi karena dapat menggambarkan kualitas serta stabilitas sistem yang terbentuk[106]. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui ukuruan droplet dan indeks polidispersitas nanoemulsi minyak biji delima. Pengujian ukuran droplet dan indeks polidispersitas (PDI)

dilakukan menggunakan Particle Size Analyzer (PSA). Pengukuran ukuran partikel menggunakan PSA didasarkan pada prinsip *Dynamic Light Scattering* (DLS), yaitu teknik yang menganalisis cahaya hamburan dari partikel yang terdispersi dalam suatu medium. Partikel yang tersuspensi akan mengalami gerak Brown secara kontinu, sehingga menimbulkan perubahan intensitas cahaya hamburan yang selanjutnya digunakan untuk menghitung ukuran partikel[107].

Berdasarkan hasil uji ukuran droplet dan indeks polidispersitas pada nanoemulsi hari ke-0 didapatkan nilai ukuran droplet 339,7 ± 25,4 nilai ukuran droplet yang diperoleh menunjukkan bahwa sediaan yang dihasilkan belum memenuhi kriteria nanoemulsi, karena ukuran droplet yang terbentuk masih berada di atas batas yang dipersyaratkan, yaitu kurang dari 100 nm[108]. Ukuran droplet nanoemulsi dipengaruhi oleh kondisi proses preparasi, terutama intensitas dan waktu sonikasi. Peningkatan parameter sonikasi dapat menurunkan ukuran droplet melalui mekanisme kavitasi yang menghasilkan gaya geser tinggi, sehingga droplet terpecah menjadi ukuran yang lebih kecil. Sebaliknya, apabila energi sonikasi tidak mencukupi, antarmuka antara fase minyak dan fase air tidak dapat terstabilkan dengan baik sehingga dapat terjadi koalesensi yang menyebabkan ukuran droplet menjadi lebih besar. Hal ini sejalan dengan penelitian Carpenter et al 2017 yang menunjukkan bahwa pengaturan waktu sonikasi berperan penting dalam menghasilkan distribusi droplet yang lebih homogen dan stabil [109]. Meskipun ukuran droplet yang diperoleh belum berada dalam rentang yang diharapkan, nilai indeks polidispersitas (PDI) sebesar 0,166 ± 0,013 telah memenuhi kriteria (<0,4). Hal ini menunjukkan bahwa meskipun ukuran droplet cenderung lebih besar, sistem nanoemulsi tetap memiliki distribusi ukuran yang sempit dan relatif seragam. Kondisi tersebut mengindikasikan bahwa nanoemulsi yang terbentuk memiliki tingkat homogenitas yang baik, namun masih diperlukan pengoptimalan parameter proses untuk menghasilkan ukuran droplet yang lebih kecil.

5.4. Stabilitas Sediaan Nanoemulsi Minyak Biji Delima

5.4.1. Uji *Heating Cooling*

Pengujian *heating cooling* dilakukan sebagai bagian dari uji stabilitas dipercepat untuk menilai kemampuan sediaan dalam mempertahankan stabilitasnya ketika terpapar fluktuasi suhu yang ekstrem. Pengujian dilakukan selama enam siklus,

dengan setiap siklus meliputi penyimpanan pada suhu 4 °C selama 48 jam yang diikuti oleh penyimpanan pada suhu 40 °C selama 48 jam. Metode ini digunakan untuk mendeteksi kemungkinan terjadinya perubahan fisik yang dapat memengaruhi mutu sediaan selama penyimpanan[110].

5.4.2. Pengamatan Organoleptik

Berdasarkan data pengamatan organoleptik yang disajikan pada Tabel 4.5, sediaan tetap menunjukkan karakteristik fisik yang konsisten selama pelaksanaan uji *heating cooling*. Pada setiap siklus, sediaan disimpan pada suhu 4 °C selama 48 jam kemudian dipindahkan ke suhu 40 °C selama 48 jam. Hasil pengujian dari siklus pertama hingga siklus keenam menunjukkan bahwa tidak ditemukan adanya perubahan warna maupun terjadinya pemisahan fase. Kondisi tersebut mengindikasikan bahwa paparan suhu rendah dan tinggi secara bergantian tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap sifat organoleptik sediaan[111]. Dengan demikian, sediaan dapat dikatakan memiliki stabilitas fisik yang baik selama pengujian berlangsung.

5.4.3. Uji penetapan pH

Berdasarkan hasil pengujian pH yang disajikan pada Tabel 4.6, terjadi peningkatan nilai pH sediaan setelah dilakukan uji stabilitas *heating cooling* selama enam siklus. Nilai pH awal sebesar 5,240 ± 0,0735 meningkat menjadi 5,797 ± 0,1037 pada akhir siklus ke-6. Perubahan tersebut dipengaruhi oleh paparan suhu rendah (4 °C) dan suhu tinggi (40 °C) secara bergantian selama proses pengujian, yang dapat memengaruhi interaksi antar komponen dalam formulasi sehingga menyebabkan perubahan derajat keasaman sediaan.

Meskipun mengalami peningkatan, nilai pH yang diperoleh masih berada dalam rentang persyaratan pH yang dapat diterima untuk sediaan serum, yaitu 4,5–6,5 [75]. Hasil ini menunjukkan bahwa perubahan pH yang terjadi masih dalam batas yang dapat ditoleransi. Oleh karena itu, sediaan dinyatakan tetap memenuhi persyaratan mutu dan memiliki stabilitas yang baik berdasarkan parameter pH setelah menjalani uji *heating cooling*.

5.4.4. Uji Viskositas Oswald

Berdasarkan hasil pengujian viskositas yang disajikan pada Tabel 4.6, nilai viskositas nanoemulsi mengalami peningkatan dari 5,0708 ± 0,3153 cPs sebelum pengujian menjadi 5,9361 ± 0,2375 cPs setelah dilakukan uji stabilitas *heating–cooling* selama enam siklus. Peningkatan viskositas ini menunjukkan adanya perubahan sifat alir nanoemulsi akibat paparan suhu rendah (4 °C) dan suhu tinggi (40 °C) secara bergantian selama proses penyimpanan. Meskipun terjadi peningkatan nilai viskositas, perubahan yang terjadi tidak terlalu besar dan masih berada dalam rentang persyaratan viskositas nanoemulsi, yaitu 1–100 cPs[77]. Hasil tersebut menunjukkan bahwa nanoemulsi tetap mampu mempertahankan karakteristik fisiknya setelah mengalami perlakuan suhu ekstrem. Dengan demikian, berdasarkan parameter viskositas, nanoemulsi dinyatakan memiliki stabilitas yang baik dan tetap memenuhi persyaratan mutu setelah pengujian *heating cooling*.

5.4.5. Uji Sentrifugasi

Uji sentrifugasi merupakan salah satu metode percepatan (*accelerated stability test*) yang digunakan untuk mengevaluasi stabilitas fisik sediaan dengan mensimulasikan pengaruh gaya gravitasi dalam waktu yang dipercepat, sehingga dapat memprediksi stabilitas jangka panjang suatu sistem[112]. Berdasarkan Tabel 4.7 hasil uji sentrifugasi sediaan nanoemulsi minyak biji delima selama 300 menit dengan interval 30 menit, tidak ditemukan adanya pemisahan fase maupun pengendapan pada seluruh waktu pengamatan. Selain itu, sediaan tetap menunjukkan kejernihan yang konsisten dari awal hingga akhir pengujian. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan nanoemulsi minyak biji delima memiliki stabilitas fisik yang baik serta tetap homogen selama pengujian sentrifugasi berlangsung, sehingga memenuhi persyaratan stabilitas fisik nanoemulsi.

Kestabilan ini dipengaruhi oleh ukuran droplet yang kecil sehingga gerakan Brownian lebih dominan dibandingkan gaya gravitasi, sehingga proses creaming atau sedimentasi dapat diminimalkan menurut Choi et al (2020), nanoemulsi cenderung lebih stabil terhadap pemisahan gravitasi karena ukuran droplet yang sangat kecil mampu menghambat pergerakan fase terdispersi[113]. Namun, nanoemulsi dapat mengalami ketidakstabilan berupa Ostwald ripening selama penyimpanan jangka

panjang akibat difusi molekul dari droplet berukuran kecil ke droplet yang lebih besar karena perbedaan kelarutan antar droplet[114].

5.5. Formulasi dan Karakterisasi Serum *Sheet mask* Nanoemulsi Minyak Biji Delima

Salah satu tahapan penting setelah proses karakterisasi nanoemulsi sebagai bahan aktif dalam sediaan serum *sheet mask* adalah dilakukan karakterisasi terhadap sediaan serum *sheet mask* itu sendiri. Tahap ini bertujuan untuk mengevaluasi sifat fisik dan mutu sediaan serta menentukan formula terbaik yang selanjutnya akan digunakan dalam uji stabilitas. Setiap formula yang dihasilkan kemudian dilakukan serangkaian pengujian meliputi uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH, dan uji viskositas untuk memastikan kesesuaian karakteristik sediaan dengan persyaratan yang diharapkan.

5.5.1. Uji Organoleptik

Hasil uji organoleptik menunjukkan bahwa seluruh formula serum *sheet mask* nanoemulsi minyak biji delima memiliki karakteristik yang seragam. Semua formula berwarna kekuningan yang mengindikasikan keberadaan minyak biji delima dalam sistem nanoemulsi, serta memiliki aroma khas bahan aktif yang tetap terjaga. Selain itu, sediaan menunjukkan konsistensi berupa gel yang homogen dan stabil secara visual pada seluruh formula, sehingga menunjukkan keseragaman karakteristik fisik antar formula yang diamati.

5.5.2. Uji Homegenitas

Hasil pengujian homogenitas sediaan serum *sheet mask* nanoemulsi minyak biji delima disajikan pada Tabel 4.8 dan Lampiran 20. Berdasarkan hasil pengamatan, Formula 1 hingga Formula 5 menunjukkan sediaan yang homogen dengan distribusi komponen yang merata tanpa adanya partikel kasar maupun pemisahan fase. Temuan ini sejalan dengan penelitian Srivastav et al (2026) yang menyatakan bahwa sediaan emulgel yang homogen ditandai oleh penampilan yang seragam, tekstur yang halus, serta tidak menunjukkan adanya agregasi partikel maupun pemisahan fase. Kondisi tersebut mengindikasikan bahwa komponen penyusun formula telah terdispersi secara baik dalam sistem sehingga mampu menghasilkan sediaan dengan karakteristik fisik yang stabil dan memenuhi persyaratan homogenitas[115].

Sebaliknya, Formula 6, Formula 7, dan Formula 8 tidak memenuhi persyaratan homogenitas. Formula 6 dan Formula 7 menunjukkan adanya pemisahan fase, sedangkan Formula 8 masih mengandung partikel kasar. Hasil ini menandakan bahwa komponen formula belum terdistribusi secara merata. Terjadinya pemisahan fase menunjukkan kestabilan sistem yang kurang baik, yang dapat disebabkan oleh kemampuan basis gel yang belum optimal dalam mempertahankan struktur sediaan. Sejalan dengan penelitian Souza Ferreira et al (2026) bahwa jaringan gel yang lemah dapat meningkatkan kemungkinan terjadinya pemisahan fase pada sistem emulgel[116]. Namun, penentuan formula terbaik belum dapat dilakukan hanya berdasarkan parameter homogenitas karena Formula 1 hingga Formula 5 sama-sama memenuhi persyaratan homogenitas. Meskipun demikian, perbedaan konsentrasi carbomer pada masing-masing formula berpotensi memengaruhi karakteristik fisik sediaan. Oleh karena itu, diperlukan evaluasi parameter fisik lainnya untuk menentukan formula yang memberikan karakteristik paling optimal.

5.5.3. Uji Penetapan pH

Pengujian pH dilakukan terhadap delapan formula serum *sheet mask* nanoemulsi minyak biji delima dengan hasil yang disajikan pada Tabel 4.8. Berdasarkan hasil pengujian, seluruh formula memiliki nilai pH dalam rentang 5,120 – 5,910. Nilai tersebut masih berada dalam kisaran pH yang sesuai untuk sediaan topikal, yaitu 4,5–6,5[75] sehingga seluruh formula memenuhi persyaratan pH dan berpotensi aman digunakan pada kulit. Perbedaan nilai pH antarformula dipengaruhi oleh variasi jenis dan konsentrasi basis gel yang digunakan dalam formulasi.

Perbedaan nilai pH antarformula dapat dipengaruhi oleh variasi jenis dan konsentrasi basis gel yang digunakan, karena perbedaan struktur dan sifat ionisasi polimer dapat memengaruhi keseimbangan sistem serta karakteristik fisikokimia sediaan. Variasi konsentrasi polimer juga dapat memengaruhi densitas jaringan gel dan interaksi komponen dalam formulasi, sehingga menyebabkan perbedaan nilai pH yang terukur antar formula[117]. Meskipun demikian, perbedaan tersebut tidak menyebabkan nilai pH keluar dari rentang yang dipersyaratkan, sehingga tidak diperkirakan menimbulkan iritasi maupun ketidaknyamanan pada saat penggunaan.

Oleh karena itu, berdasarkan parameter pH, Formula 1 hingga Formula 8 dinyatakan memenuhi persyaratan mutu sediaan.

5.5.4. Uji Viskositas

Hasil pengujian viskositas serum *sheet mask* nanoemulsi minyak biji delima disajikan pada Tabel 4.8 dan Gambar 4.3. Nilai viskositas yang diperoleh berada pada rentang 379–8080 cPs. Formula 1 hingga Formula 5 yang menggunakan basis carbomer menunjukkan peningkatan viskositas seiring meningkatnya konsentrasi carbomer dari 0,3% menjadi 2%. Hal ini menunjukkan bahwa carbomer mampu membentuk jaringan gel yang semakin rapat sehingga meningkatkan kekentalan sediaan. Temuan ini sejalan dengan penelitian Jokubaite et al (2024) yang melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi carbomer dapat meningkatkan viskositas karena terbentuknya struktur tiga dimensi yang lebih kuat dalam sistem gel[118].

Formula 6 dan Formula 7 yang menggunakan HEC serta Formula 8 yang menggunakan xanthan gum menghasilkan viskositas yang lebih rendah dibandingkan formula berbasis carbomer. Perbedaan ini menunjukkan bahwa jenis polimer yang digunakan berpengaruh terhadap karakteristik reologi sediaan. Berdasarkan persyaratan viskositas serum nanoemulsi yang baik, yaitu 700–2000 cPs[84]. Formula 6, Formula 7, dan Formula 8 tidak memenuhi rentang viskositas yang ditetapkan karena memiliki nilai viskositas di bawah batas minimum. Oleh karena itu, berdasarkan hasil pengujian homogenitas, pH, dan viskositas, Formula 1 yang mengandung carbomer 0,3% dipilih sebagai formula terbaik karena memenuhi seluruh persyaratan yang ditetapkan serta memiliki karakteristik fisik yang paling sesuai untuk sediaan serum *sheet mask* nanoemulsi minyak biji delima.

5.6. *Rheology* Sediaan Serum *Sheet mask* Nnaoemulsi Minyak Biji Delima

Uji rheologi dilakukan untuk mengetahui karakteristik aliran serum *sheet mask* nanoemulsi minyak biji delima setelah penambahan gelling agent. Berdasarkan hasil pengujian, peningkatan *shear rate* dari 16,2 s^{-1} menjadi 162 s^{-1} menyebabkan penurunan viskositas dari 1283,33 cP menjadi 595,33 cP. Hasil tersebut menunjukkan bahwa viskositas sediaan menurun seiring meningkatnya laju geser, sehingga serum *sheet mask* nanoemulsi minyak biji delima memiliki sifat aliran non-Newtonian tipe pseudoplastis (*shear thinning*).

Sifat pseudoplastis ditandai oleh penurunan viskositas ketika gaya geser meningkat akibat terjadinya orientasi dan penataan ulang struktur internal sistem selama proses pengaliran. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Pires et al (2025) yang melaporkan bahwa nanoemulgel menunjukkan perilaku aliran non-Newtonian pseudoplastis, dimana peningkatan *shear rate* menyebabkan penurunan viskositas karena struktur koloid dalam sistem berorientasi mengikuti arah aliran. Karakteristik ini umum ditemukan pada sediaan topikal berbasis polimer dan nanoemulgel[111].

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yaitu Sommatis et al (2022) yang melaporkan bahwa serum berbasis carbomer memiliki sifat aliran pseudoplastis, ditandai dengan tingginya viskositas pada *shear rate* rendah dan penurunan viskositas secara bertahap seiring meningkatnya *shear rate*[110]. Karakteristik ini menguntungkan untuk sediaan topikal karena memungkinkan serum menjadi lebih mudah diratakan pada permukaan kulit selama aplikasi, namun tetap memiliki viskositas yang cukup tinggi saat penyimpanan sehingga stabilitas fisiknya dapat dipertahankan.

5.7. Stabilitas Sediaan Serum *Sheet mask* Nanoemulsi Minyak Biji Delima

5.7.1. Uji Organoleptik

Hasil uji stabilitas organoleptik serum *sheet mask* nanoemulsi minyak biji delima selama penyimpanan pada suhu 25°C dan 40°C disajikan pada Tabel 4.10. Berdasarkan hasil pengamatan selama 30 hari, tidak terjadi perubahan warna maupun pemisahan fase pada sediaan dalam kedua kondisi penyimpanan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa serum *sheet mask* nanoemulsi minyak biji delima mampu mempertahankan karakteristik fisiknya selama masa penyimpanan. Warna sediaan yang tetap konstan mengindikasikan bahwa komponen penyusun formula berada dalam kondisi stabil, sedangkan tidak adanya pemisahan fase menunjukkan bahwa sistem nanoemulsi tetap mampu mempertahankan dispersi fase minyak dalam medium pendispersinya. Dengan demikian, sediaan dapat dinyatakan stabil secara organoleptik selama periode pengujian pada suhu 25°C maupun 40°C.

5.7.2. Uji Homogenitas

Hasil uji homogenitas serum *sheet mask* nanoemulsi minyak biji delima selama penyimpanan pada suhu 25°C dan 40°C disajikan pada Tabel 4.10. Berdasarkan hasil pengamatan selama 30 hari, sediaan tetap homogen tanpa adanya gumpalan maupun partikel yang tidak terdistribusi merata. Hasil ini menunjukkan bahwa seluruh komponen dalam formula tetap tercampur dengan baik selama penyimpanan. Dengan demikian, serum *sheet mask* nanoemulsi minyak biji delima memiliki homogenitas yang baik dan mampu mempertahankan keseragaman sediaan pada kedua kondisi penyimpanan. Hasil pengamatan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 24 dan 25.

5.7.3. Uji Penetapan pH

Uji stabilitas pH dilakukan untuk mengetahui perubahan nilai pH sediaan selama penyimpanan. Nilai pH serum *sheet mask* nanoemulsi minyak biji delima selama penyimpanan pada suhu 25°C dan 40°C disajikan pada Gambar 4.6. Berdasarkan grafik tersebut, terlihat adanya penurunan nilai pH pada kedua kondisi penyimpanan dari hari ke-0 hingga hari ke-30. Meskipun demikian, seluruh nilai pH masih berada dalam rentang pH sediaan topikal, yaitu 4,5–6,5[75] sehingga sediaan tetap memenuhi persyaratan mutu.

Namun Penurunan nilai pH selama penyimpanan dipengaruhi oleh peningkatan suhu yang dapat mempercepat terjadinya degradasi komponen dalam formulasi sehingga menghasilkan senyawa yang lebih bersifat asam. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Folle et al (2024) pada sistem hidrogel berbasis carbomer yang menunjukkan adanya penurunan pH selama penyimpanan pada suhu tinggi (30–40°C), Penulis menjelaskan bahwa suhu penyimpanan yang lebih tinggi dapat mempercepat degradasi komponen formulasi sehingga menyebabkan penurunan pH[119].

Berdasarkan hasil analisis statistik, perubahan nilai pH selama penyimpanan pada suhu 25°C dan 40°C tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan (P>0,05), sehingga pH sediaan dapat dikatakan stabil selama periode penyimpanan.

5.7.4. Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan untuk mengevaluasi kestabilan kekentalan sediaan selama penyimpanan. Berdasarkan Gambar 4.7, nilai viskositas serum *sheet mask*

nanoemulsi minyak biji delima menunjukkan kecenderungan menurun pada suhu 25°C maupun 40°C. Meskipun demikian, seluruh nilai viskositas masih berada dalam rentang persyaratan serum, yaitu 700–2000 cPs[84].

Penurunan viskositas selama penyimpanan dipengaruhi oleh suhu yang dapat meningkatkan mobilitas molekul dalam sistem gel, sehingga viskositas sediaan cenderung menurun. Hasil ini sejalan dengan penelitian Fresno Contreras et al (2001) yang melaporkan bahwa peningkatan suhu menyebabkan penurunan viskositas akibat meningkatnya gerakan molekul dan berkurangnya kemampuan sistem dalam mempertahankan struktur gel. Faktor lain yang memengaruhi peningkatan viskositas adalah konsentrasi basis gel yang digunakan. Semakin tinggi konsentrasi polimer, semakin banyak rantai polimer yang berinteraksi dan membentuk jaringan gel yang lebih padat, sehingga aliran sistem menjadi lebih terhambat dan viskositas meningkat[120]. Hasil ini sejalan dengan penelitian Sanz Tabener et al (2002) yang melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi polimer menyebabkan peningkatan viskositas dan konsistensi gel karena terbentuknya jaringan polimer yang lebih berkembang dan rapat[121].

Berdasarkan hasil analisis statistik, suhu penyimpanan dan interaksi antara waktu dengan suhu berpengaruh signifikan terhadap viskositas sediaan ($p<0,05$), sedangkan waktu penyimpanan tidak berpengaruh signifikan ($p>0,05$). Meskipun demikian, seluruh nilai viskositas masih memenuhi persyaratan, sehingga viskositas sediaan tetap dapat dikatakan stabil selama penyimpanan.

5.7.5. Uji Daya Serap *Sheet mask*

Berdasarkan hasil pengujian, nilai daya serap *sheet mask* mengalami perubahan selama penyimpanan pada suhu 25°C dan 40°C. Pada suhu 25°C, nilai daya serap meningkat dari 793% ± 33,9509 pada hari ke-0 menjadi 1067% ± 46,37776 pada hari ke-3, kemudian menurun hingga 648% ± 40,3016 pada hari ke-14. Tingginya nilai daya serap pada hari ke-3 menunjukkan bahwa matriks *sheet mask* masih mampu mengembang (swelling) secara optimal sehingga kapasitas penyerapan serum meningkat. Kondisi ini memungkinkan lebih banyak cairan terserap dan tertahan di dalam struktur serat *sheet mask*. Sementara itu, pada suhu

40°C nilai daya serap tertinggi diperoleh pada hari ke-7 sebesar 850% ± 151,9261 dan terendah pada hari ke-14 sebesar 755% ± 82,1340.

Perubahan daya serap selama penyimpanan menunjukkan adanya perubahan kemampuan matriks *sheet mask* dalam menyerap dan mempertahankan cairan. Meskipun demikian, seluruh nilai daya serap yang diperoleh masih berada di atas 300%[85], sehingga memenuhi persyaratan daya serap *sheet mask* yang baik. Hasil ini sejalan dengan penelitian Vo et al (2022) yang melaporkan bahwa kemampuan penyerapan cairan dipengaruhi oleh karakteristik matriks dan kemampuan material mengalami *swelling*, sehingga kapasitas absorpsi dapat meningkat maupun menurun selama penyimpanan[122].

Berdasarkan hasil analisis statistik, waktu penyimpanan, suhu penyimpanan, maupun interaksi keduanya tidak berpengaruh signifikan terhadap daya serap sheet mask ($p>0,05$). Dengan demikian, daya serap sheet mask dapat dikatakan tetap stabil selama penyimpanan.

5.7.6. Uji Daya Retensi Air

Berdasarkan hasil pengujian, nilai retensi air *sheet mask* pada suhu 25°C dan 40°C menunjukkan kecenderungan menurun seiring bertambahnya waktu pengamatan dari 15 hingga 45 menit. Pada kedua suhu, seluruh kelompok pengamatan masih memiliki nilai retensi air di atas 200% pada menit ke-15, yang menunjukkan bahwa lembaran *sheet mask* masih mampu mempertahankan kandungan serum dengan baik. Tingginya retensi air pada awal pengamatan menunjukkan bahwa struktur serat *sheet mask* masih efektif dalam menahan cairan di dalam matriksnya.

Nilai retensi air kemudian mengalami penurunan pada menit ke-30 dan menit ke-45. Penurunan tersebut mengindikasikan berkurangnya kemampuan lembaran sheet mask dalam mempertahankan air akibat pelepasan cairan dari matriks serat selama pengujian. Hasil ini sejalan dengan penelitian Vo et al (2022) yang melaporkan bahwa kemampuan material hidrofilik dalam menahan air dapat menurun seiring berjalannya waktu karena terjadinya pelepasan air dari struktur material[122].

Meskipun demikian, sebagian besar kelompok pengamatan masih menunjukkan nilai retensi air di atas 200%[85] hingga menit ke-30, sehingga memenuhi

persyaratan retensi air *sheet mask* yang baik menurut. Hasil tersebut menunjukkan bahwa setelah penyimpanan pada suhu 25°C maupun 40°C, lembaran *sheet mask* masih memiliki kemampuan yang baik dalam mempertahankan kandungan serum selama pengujian retensi air.

Berdasarkan hasil analisis statistik, hanya waktu pengamatan yang berpengaruh signifikan terhadap nilai retensi air ($p<0,05$), sedangkan lama penyimpanan dan interaksi kedua faktor tidak berpengaruh signifikan ($p>0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa retensi air sediaan tetap stabil selama penyimpanan.