

Formulasi dan Studi Stabilitas *Self-Nano Emulsifying Propolis* menggunakan Minyak Kesturi, Cremophor RH 40 dan PEG 400 sebagai Pembawa

(Formulation and stability studies of propolis self-nano emulsifying using castor oil, cremophor RH 40 dan PEG 400 as the carriers)

Yandi Syukri*, Ziyatul Kholidah &, Lutfi Chabib

Jurusan Farmasi Universitas Islam Indonesia, Jl. Kaliurang No.Km. 14,5, Krawitan, Umbulmartani, Sleman, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta

ABSTRACT: Propolis is a poorly-water soluble resin produced by bees with antibacterial, antioxidant and anti-inflammatory activities. Self-nano emulsifying (SNE) is one of the drug delivery methods to improve drug solubility of poorly water-soluble. This study aimed to prepare a formulation of transparent and stable of propolis loading SNE with castor oil, cremophor RH40, and PEG 400 as the carriers. The preparation of SNE was conducted by mixing propolis with the vehicle. The spontaneous nanoemulsion area was constructed by the ternary phase diagram. The characterization includes particle size, zeta potential, transmittance, thermodynamic stability, robustness to dilution, and accelerated stability test. The nanoemulsion area was found in Formulae (F) 1 to F9 with a range composition of castor oil (10-30%), cremophor RH 40 (40-80%), and PEG 400 (10-40%). The nine formulas showed transmittance values at 96-99%, particle size 10-40 nm zeta potential less than -40 mV and stable during thermodynamic stability test. The accelerated stability test showed that F5 (20: 70: 10) produces the optimal SNE formula with no phase separation and precipitation. The transmittance was obtained between 97-99%, particle size in range 15-17 nm, polydispersity index value of 0,1-0,2. It can be concluded that SNE propolis with castor oil (20%), cremophor RH40 (70%), and PEG 400 (10%) as vehicle produces SNE with transparent characteristics and most stable.

Keywords: propolis; self-nano emulsifying; castor oil; cremophor RH 40; PEG 400.

ABSTRAK: Propolis merupakan resin yang sukar larut dalam air yang dihasilkan lebah, berkhasiat sebagai antibakteri, antioksidan, serta antiinflamasi. Salah satu metode untuk meningkatkan kelarutan obat adalah teknologi *self-nano emulsifying* (SNE). Penelitian ini bertujuan untuk membuat formulasi SNE propolis yang jernih dan stabil dengan pembawa minyak kesturi, cremophor RH 40, dan PEG 400. Preparasi SNE dilakukan dengan mencampurkan propolis dengan pembawa. Area nanoemulsi ditentukan dengan konstruksi diagram fase terner. Karakterisasi dilakukan dengan penentuan ukuran partikel, zeta potensial, transmittansi, stabilitas termodinamika, uji ketahanan, dan uji stabilitas dipercepat. Daerah nanoemulsi terdapat pada Formula (F) 1 sampai F9 dengan rentang komposisi minyak kesturi (10-30%), cremophor RH 40 (40-80%), dan PEG 400 (10-40%). Kesembilan formula menghasilkan nilai transmittansi 96-99%, ukuran partikel 10-40 nm, dan zeta potensial kurang dari -40 mV dan stabil pada uji stabilitas termodinamika. Uji ketahanan menunjukkan hasil yang baik pada F4 (10: 50: 40), F5 (20: 70: 10), dan F6 (20: 60: 20). Uji stabilitas dipercepat, F5 menghasilkan SNE yang paling optimal karena tidak teramati pemisahan fase dan pengendapan. Nilai transmittansi diperoleh pada rentang 97-99%, ukuran partikel 16-19 nm, dan nilai indeks polidispersitas 0,1-0,2. Disimpulkan, bahwa SNE propolis dengan pembawa minyak kesturi (20%), cremophor RH 40 (70%), dan PEG 400 (10%) menghasilkan SNE dengan karakteristik yang jernih dan paling stabil.

Kata kunci: propolis; *self-nano emulsifying*; minyak kesturi, cremophor RH 40; PEG 400.

Pendahuluan

Propolis merupakan campuran resin yang diproduksi oleh lebah dari tunas dan kulit pohon yang dikonsumsi dan digunakan untuk melindungi sarang dari jamur maupun bakteri. Propolis mengandung beberapa senyawa seperti polifenol dan flavonoid, asam aromatik, diterpenoid, dan triterpenoid [1]. Aktivitas biologi yang dimilikinya ialah anti-*cryptosporidium* yang diteliti dari

propolis Mesir [2], antibakteri [3], antiinflamasi [4], antioksidan [5], dan antikanker [6]. Meskipun demikian, propolis dilaporkan memiliki kelarutan yang rendah dan bioavailabilitas yang kurang baik dikarenakan adanya komponen aglikon dari senyawa flavonoid yang banyak terdapat di dalam propolis [7].

Article history

Received: 28 Des 2019

Accepted: 29 Des 2019

Published: 30 Des 2019

Access this article



*Corresponding Author: Yandi Syukri

Jurusan Farmasi Universitas Islam Indonesia, Jl. Kaliurang No.Km. 14,5, Krawitan, Umbulmartani, Sleman, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta 55584 | Email: yandisyukri@uii.ac.id

Bioavailabilitas oral dari senyawa yang sukar larut dalam air dapat ditingkatkan dengan formulasi pembawa lipid, salah satunya dengan teknologi *Self Nano-Emulsifying* (SNE). SNE merupakan campuran isotropik dari obat, lipid, surfaktan dan kosolven hidrofilik yang dapat membentuk droplet emulsi berukuran nano dengan proses secara spontan [8]. Keuntungan dari SNE dibanding pembawa lipid lainnya ialah SNE menyebabkan tegangan antarmuka yang sangat rendah dan area antarmuka minyak dalam air yang besar. Oleh karena itu, SNE memiliki kemampuan yang tinggi dalam melarutkan zat aktif yang sukar larut air sehingga dengan cepat membentuk nanoemulsi minyak dalam air (o/w) apabila kontak dengan cairan lambung. Hal ini menyebabkan obat terlarut secara *in situ* dan diabsorpsi melalui jalur limfatik sehingga tidak mengalami metabolisme lintas pertama [9].

SNE terdiri dari campuran minyak, surfaktan, dan kosurfaktan. Salah satu minyak yang banyak digunakan dalam formulasinya ialah minyak jarak atau minyak kesturi. Penggunaan minyak kesturi sebagai fase minyak dapat mencegah pembentukan peroksida sehingga meningkatkan stabilitas oksidatif dan masa simpan (shelf life) sediaan [10]. Formulasi thalidomide yang mengandung minyak kesturi sebagai fase minyak menghasilkan karakteristik nanopartikel dengan ukuran 112-196 nm serta nilai zeta potensial negatif sehingga dapat mencerminkan stabilitas yang baik. Surfaktan yang sering digunakan dalam formula SNE adalah cremophor RH40. Penggunaan surfaktan dengan HLB tinggi seperti cremophor RH40 akan meningkatkan efisiensi pembentukan nanoemulsi spontan (*self-emulsification*) [11]. Selain itu, cremophor RH40 juga dilaporkan dapat menghambat fenomena *Ostwald ripening* pada nanoemulsi sehingga meningkatkan stabilitas sediaan hingga beberapa bulan. PEG 400 adalah kosurfaktan nonionik bersifat hidrofilik dengan HLB 13,1. Penambahan kosurfaktan digunakan untuk mengurangi tegangan antarmuka bersama surfaktan dan meningkatkan fleksibilitas lapisan O/W untuk membentuk nanoemulsi spontan [11]. Berdasarkan penelitian sebelumnya, PEG 400 telah digunakan dalam pembuatan SNE andrografolid dengan ukuran partikel 12 nm dan zeta potensial -46,3 mV [12].

Propolis yang beredar di pasaran telah diformulasi dalam bentuk sediaan larutan (*solutio*), krim, dan serbuk dengan *capsul softgel*, namun belum dikembangkan suatu sediaan yang mampu meningkatkan kelarutan dari propolis. Penelitian ini bertujuan untuk membuat formula SNE propolis dengan karakteristik yang jernih dan stabil menggunakan minyak kesturi, cremophor RH40, dan PEG 400 sebagai pembawa.

Metode Penelitian

Bahan

Propolis diperoleh dari CV Rumah Lebah Jawa Timur, minyak kesturi dan PEG 400 dari CV. Brataco Indonesia dan cremophor RH40 diperoleh dari BASF Indonesia.

Konstruksi Diagram Fase Terner

Pembuatan diagram fase terner dilakukan dengan memplot 10-50% (b/b) fase minyak, 10-80% (b/b) surfaktan, dan 10-40% (b/b) kosurfaktan yang merepresentasikan daerah *self nano-emulsifying*. Semua formulasi yang telah diencerkan sebelumnya (1: 100) diamati pembentukan nanoemulsi dengan parameter nilai transmitan yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV 1800, Japan) dengan panjang gelombang 650 nm, serta pengamatan kejernihan secara visual. Panjang gelombang ini menunjukkan cairan yang jernih dengan menggunakan aquabidest sebagai blanko. Formulasi dengan nilai transmitan lebih dari 80% dengan penampakan visual jernih dan tanpa pengendapan kemudian dipilih untuk konstruksi diagram fase terner menggunakan *software* Triplot.

Pembuatan SNE Propolis

Propolis (750 mg) dilarutkan dalam (5 mL) campuran minyak, surfaktan, dan kosurfaktan menggunakan *ultrasonik homogenizer* (model 300 131 V / T, USA). Selanjutnya, semua formula disimpan pada suhu kamar untuk digunakan lebih lanjut.

Karakterisasi SNE Propolis

Pengukuran Transmitan. Prekonsentrat SNE propolis diencerkan 1: 100 dengan aquabidest untuk dilakukan pengukuran nilai transmitan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV 1800, Japan) pada panjang gelombang 650 nm dengan aquabidest sebagai blanko [12].

Pengukuran Ukuran Partikel. Penentuan ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan alat *particle size analyzer* (Horiba SZ-100). Larutan sampel dimasukkan ke dalam kuvet dan dibaca oleh alat *particle size analyzer* [12].

Pengukuran Zeta Potensial. Penentuan zeta potensial dilakukan dengan menggunakan alat *particle size analyzer* (Horiba SZ-100). Sampel dimasukkan ke dalam kuvet khusus zeta. Larutan sampel diletakkan dan dibaca oleh alat *particle size analyzer* [12].

Uji Stabilitas Termodinamika

Uji Sentrifugasi. Prekonsentrat SNE propolis diencerkan dengan aquabidest (1: 25) ke dalam tube lalu dilakukan sentrifugasi menggunakan sentrifugator (Nuve

NF-400) dengan kecepatan 4000 rpm selama 30 menit. Semua formulasi diamati secara visual untuk mengetahui ada atau tidaknya pemisahan fase dan pengendapan [13].

Siklus panas-dingin. Formula yang stabil pada uji sentrifugasi disimpan pada suhu 4°C dan 40°C dengan masing-masing 3 siklus selama 48 jam. Formulasi terpilih pada uji ini ditandai dengan tidak adanya *cracking, creaming*, pemisahan fase, koalesensi, atau inversi fase. Selanjutnya, formula disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 30 menit untuk diamati ada atau tidaknya pemisahan fase dan pengendapan [12].

Siklus beku-cair. Formula yang stabil pada uji pemanasan dan pendinginan kemudian disimpan pada suhu -20°C dan 25°C selama 48 jam dengan masing-masing 3 siklus lalu dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 30 menit untuk diamati ada atau tidaknya pemisahan fase maupun pengendapan [12].

Uji Ketahanan terhadap Pengenceran

Formula SNE yang stabil selama uji stabilitas termodinamika dilakukan pengenceran menggunakan aquabidest 1: 25, 1: 50, 1: 100 dan 1: 250, lalu dievaluasi ukuran partikel dan zeta potensial Formula dengan nilai zeta potensial dan ukuran partikel yang tidak berubah signifikan pada berbagai pengenceran kemudian dipilih untuk uji stabilitas dipercepat [14].

Uji Stabilitas Dipercepat

Prekonsentrat SNE terpilih disimpan dalam *climatic chamber* dengan kondisi penyimpanan 40°C ± 2°C/75% RH ± 5% RH [15]. Diamati perubahan pada transmitan, zeta potensial, dan ukuran partikel menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan *particle size analyzer* pada bulan ke-1, 2, 3 [13].

Hasil dan Diskusi

Konstruksi Diagram Fase Terner

Komposisi formula untuk pembuatan diagram fase terner dapat dilihat pada [Tabel 1](#). Diagram fase terner dikonstruksi untuk mengidentifikasi daerah emulsifikasi yang terjadi secara spontan dan mengoptimalkan konsentrasi minyak, surfaktan serta kosurfaktan dalam formulasi SNE. Hasil yang diperoleh ([Tabel 1](#)) menunjukkan Formula (F) 1 sampai F8 dengan komposisi minyak kesturi 10-20% b/v menghasilkan nanoemulsi yang jernih, transparan, tidak adanya presipitasi, dan memiliki nilai transmitan pada rentang 96-100%. Sementara itu, F9 sampai F16 ([Tabel 1](#)) dengan konsentrasi minyak kesturi 30-50% b/v

menunjukkan formula makroemulsi dengan penampakan sediaan berwarna keruh dan putih susu secara visual, serta nilai transmitan kurang dari 80%. Hasil ini menandakan bahwa penggunaan surfaktan kurang dari 30% disertai dengan peningkatan konsentrasi minyak kesturi lebih dari 30% akan menghasilkan emulsi yang keruh. Daerah nanoemulsi spontan terdapat pada formulasi dengan komposisi minyak kesturi (10-30%), cremophor RH40 (40-80%), dan PEG 400 (10-40%). Area emulsifikasi terjadi karena adanya pengurangan tegangan permukaan dan fluidisasi film surfaktan pada lapisan antarmuka yang diakibatkan oleh Smix (surfaktan dan kosurfaktan). Sementara itu, kekeruhan teramati pada formulasi dengan minyak kesturi (30%), cremophor RH40 (30-50%), dan PEG 400 (10-40%). Pemisahan fase terjadi pada formulasi minyak kesturi (40-50%), cremophor RH40 (10-40%), dan PEG 400 (10-40%) yang menandakan daerah makroemulsi ([Gambar 1](#)). Kekeruhan sediaan secara visual meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi minyak kesturi dikarenakan berkurangnya proporsi surfaktan yang dibutuhkan untuk mengemulsifikasi fase minyak. Area nanoemulsi yang cukup luas disebabkan karena kesamaan panjang rantai karbon kedua komposisi dari derivat minyak kesturi, yaitu cremophor RH40 (*polyoxy 40 hydrogenated* minyak kesturi) dan minyak kesturi yang digunakan sehingga dapat membantu cremophor RH40 menggabungkan tetesan minyak secara seragam. Sementara itu, PEG 400 berperan dalam membantu solubilisasi dengan menurunkan polaritas dari sistem solvent.

Karakterisasi SNE

Transmitan

Nanoemulsi merupakan campuran isotropik yang stabil secara termodinamik. Istilah isotropik salah satunya mengacu pada parameter kejernihan, oleh karena itu, pengukuran transmitan dilakukan untuk mengetahui tingkat kejernihan sistem dispersi berdasarkan absorbansi larutan aquabidest pada panjang gelombang 630 nm [12]. Hasil pengukuran transmitan SNE propolis dapat dilihat pada [Table 1](#). Nilai transmitan yang mendekati 100% dapat mengindikasikan ukuran partikel berada pada rentang nanometer.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, nilai transmitan semua formulasi berada pada interval 96-99%. Nilai transmitan tertinggi pada F2 sebesar 99,29%, dan terendah pada F8 sebesar 96,32%. Persen transmitan menurun proporsional seiring bertambahnya konsentrasi minyak yang digunakan, karena kurangnya konsentrasi surfaktan yang dibutuhkan untuk mengemulsifikasi fase minyak [16]. Sementara itu, berkurangnya rasio minyak

akan meningkatkan nilai transmitan mendekati 100%, sehingga dapat memperjelas kejernihan formulasi secara visual [17]. F1-F7 tidak mengalami perubahan kejernihan pada penyimpanan selama 24 jam setelah pengenceran. Hasil ini memberikan indikasi awal tidak adanya agregasi atau peningkatan ukuran partikel setelah 24 jam pasca pengenceran.

Ukuran Partikel

Ukuran partikel merupakan salah satu karakterisasi penting dalam kestabilan nanoemulsi dan titik kritis untuk meningkatkan ketersediaan hayati suatu obat. Hasil karakterisasi ukuran partikel (Tabel 1) yang didapat berkisar antara 10-40 nm yang menandakan formulasi masuk ke dalam rentang nanoemulsi. F1-F7 menghasilkan ukuran partikel berkisar 12-20 nm. Sementara itu, pada F8 dan F9 terjadi peningkatan ukuran partikel secara proporsional dengan meningkatnya konsentrasi minyak. Nanoemulsi dengan kandungan minyak yang tinggi menyebabkan

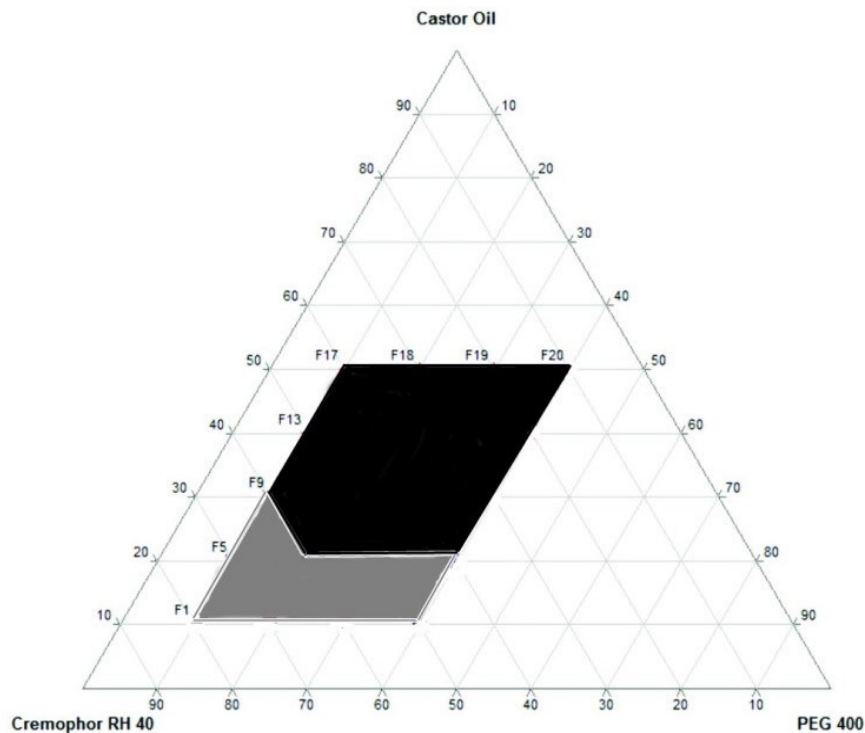
formulasi tidak selalu stabil dan dapat meningkatkan ukuran partikel atau pemisahan fase sediaan dikarenakan kurangnya konsentrasi surfaktan untuk menurunkan tegangan antarmuka antara lapisan o/w [18]. Hasil ini relevan dengan penelitian sebelumnya, penggunaan surfaktan melebihi 40% terbukti dapat memperkecil ukuran partikel, hal ini dikarenakan stabilisasi tetesan minyak sebagai akibat dari lokalisasi oleh molekul surfaktan pada antarmuka o/w [19]. Penambahan kosurfaktan dapat memperkecil ukuran partikel, karena kosurfaktan berguna untuk melarutkan sejumlah besar surfaktan hidrofilik atau obat hidrofobik pada pembawa SNE.

Istilah indeks polidispersitas digunakan untuk menggambarkan tingkat ketidakseragaman partikel [20]. Hasil yang diperoleh ke-sembilan formulasi memiliki indeks polidispersitas kurang dari 0,4, hal ini menunjukkan sampel memiliki distribusi ukuran partikel yang cukup baik.

Tabel 1. Karakterisasi Ukuran Partikel, Indeks Polidispersitas, Zeta Potensial, dan Transmitan SNE Propolis dengan Pembawa Minyak Kesturi, Cremophor RH40, dan PEG 400 (n= 3)

Formula	Minyak kesturi (%)	Cremophor RH40 (%)	PEG 400 (%)	Ukuran partikel (nm)	Indeks polidispersitas	Zeta Potensial (mV)	Transmitan (%)	Stabilitas termodinamika
1	10	80	10	14,73 ± 0,68	0,40 ± 0,03	-55,16 ± 0,20	99,07 ± 0,00	Stabil
2	10	70	20	12,46 ± 0,83	0,33 ± 0,01	-46,80 ± 0,56	99,29 ± 0,00	Stabil
3	10	60	30	15,2 ± 1,09	0,47 ± 0,01	-54,57 ± 0,90	98,38 ± 0,00	Stabil
4	10	50	40	14,30 ± 0,43	0,32 ± 0,02	-55,20 ± 0,70	99,04 ± 0,00	Stabil
5	20	70	10	17,50 ± 0,36	0,30 ± 0,02	-45,47 ± 0,05	98,65 ± 0,00	Stabil
6	20	60	20	17,73 ± 0,11	0,39 ± 0,01	-52,67 ± 0,38	98,35 ± 0,00	Stabil
7	20	50	30	20,36 ± 0,05	0,26 ± 0,02	-46,70 ± 0,60	98,27 ± 0,00	Stabil
8	20	40	40	44,03 ± 0,05	0,35 ± 0,02	-56,17 ± 1,00	96,32 ± 0,00	Stabil
9	30	60	10	44,23 ± 0,20	0,24 ± 0,04	-48,57 ± 1,52	97,57 ± 0,00	Stabil
10	30	50	20	NA	NA	NA	73,13 ± 0,01	NA
11	30	40	30	NA	NA	NA	29,87 ± 0,01	NA
12	30	30	40	NA	NA	NA	40,58 ± 0,06	NA
13	40	50	10	NA	NA	NA	80,01 ± 0,00	NA
14	40	40	20	NA	NA	NA	27,70 ± 0,01	NA
15	40	30	30	NA	NA	NA	0,92 ± 0,00	NA
16	40	20	40	NA	NA	NA	7,11 ± 0,12	NA

Keterangan : NA= data ini tidak diambil karena tidak membentuk nanoemulsi karena nilai transmitan dibawah 80% yang menunjukkan makro-emulsi yang keruh



Gambar 1. Diagram fase Terner SNE dengan komposisi minyak kesturi, cremophor RH40, dan PEG 400

Zeta Potensial

Zeta potensial menunjukkan tingkat tolakan antara partikel yang berdekatan dan bermuatan serupa dalam sistem dispersi [21]. Formulasi dengan nilai zeta potensial tinggi (lebih dari ± 30 mV) akan memberikan stabilitas yang baik karena dapat mencegah agregasi partikel akibat gaya tolak-menolak yang cukup tinggi, sebaliknya, nilai zeta yang rendah akan menyebabkan gaya tarik-menarik antar partikel semakin besar dan mengakibatkan sistem dispersi mengalami flokulasi. Hasil yang didapatkan menunjukkan semua formulasi memiliki nilai zeta potensial berkisar -40 hingga -50 mV. F2, F5, F7, dan F9 memiliki zeta potensial kurang dari -40 mV, sementara formulasi lainnya menunjukkan nilai zeta potensial kurang dari -50 mV. SNE yang mengandung propolis bermuatan negatif pada permukaannya sebagaimana tercermin dari nilai potensial zeta di atas, kemungkinan dikarenakan adanya minyak kesturi. Hal tersebut menandakan semua formulasi memenuhi kriteria sediaan yang stabil.

Stabilitas Termodinamika

Pengujian stabilitas termodinamika menunjukkan bahwa ke-sembilan formula stabil dan tidak mengalami perubahan stabilitas fisik seperti presipitasi, *creaming*, maupun koalesensi selama pengujian, sebagaimana tersaji pada Tabel 1 dan Gambar 2. SNE mengalami pelarutan

secara *in situ* untuk membentuk sistem nanoemulsi, hal ini mengharuskan formulasi SNE memiliki stabilitas yang baik sehingga tidak mengalami presipitasi, *creaming* atau *cracking* [22]. Uji sentrifugasi menggambarkan stabilitas SNE terhadap gaya gravitasi. Ukuran tetesan yang kecil dapat meminimalkan gaya gravitasi dan gerak Brown pada partikel yang dapat mencegah terjadinya *creaming* dan sedimentasi [23]. Oleh karena itu, pengujian stabilitas dilakukan dengan uji sentrifugasi, *heating-cooling cycle*, dan *freeze-thawing cycle* untuk mengevaluasi kestabilan sediaan dengan parameter pemisahan fase dan presipitasi.

Uji Ketahanan terhadap Pengenceran

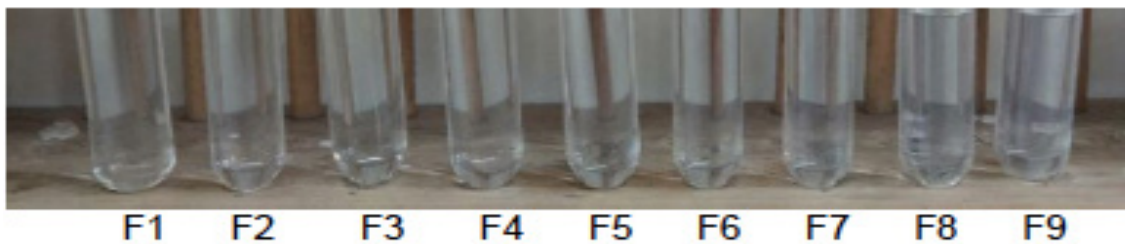
Kemampuan formula SNE untuk diencerkan tanpa terjadi pemisahan fase dan pengendapan merupakan hal yang sangat penting karena kegunaannya sebagai sistem penghantaran obat. Ketika SNE terlarut dalam volume tinggi cairan lambung, SNE akan terdispersi dengan cepat dan mengurangi kapasitas pelarutan obat karena tingginya kandungan surfaktan atau kosurfaktan hidrofilik, sehingga berpotensi menghasilkan supersaturasi (kejenuhan). Hal tersebut menimbulkan risiko untuk pengendapan obat sebelum obat masuk ke usus halus. Oleh karena itu, SNE harus dirancang untuk meminimalkan supersaturasi di saluran gastrointestinal atau setidaknya untuk mempertahankan periode yang cukup untuk

memungkinkan pengosongan lambung sebelum terjadi pengendapan obat [24]. Pengujian ini dilakukan untuk mengamati kesamaan karakteristik nanoemulsi terhadap berbagai tingkat pengenceran dan memastikan bahwa obat tidak akan membentuk sedimentasi [25]. Hasil pengujian ukuran partikel setelah dilakukan pengenceran disajikan pada Tabel 2.

Berdasarkan hasil yang didapatkan, F4, F4 dan F6 dipilih menjadi formula yang lolos uji ketahanan dikarenakan memiliki ukuran partikel yang tidak berubah signifikan setelah dilakukan pengenceran 1: 25, 1: 50, dan 1: 250 kali. F4 menghasilkan ukuran partikel pada rentang 11-14 nm, F5 menghasilkan ukuran partikel pada rentang 12-16 nm, sementara F6 menghasilkan ukuran partikel 11-18 nm. Keseragaman hasil ukuran partikel pada berbagai variasi pengenceran dibutuhkan untuk memperbaiki profil pelepasan obat secara *in vivo* [26] dan mencegah obat mengalami presipitasi. Kejenuhan atau supersaturasi kemungkinan terjadi dalam formulasi yang

mengandung proporsi tinggi surfaktan yang larut dalam air atau kosolvent. Dalam beberapa kasus, selama proses pencernaan lipid (atau surfaktan) di mana hidrolisis terjadi sehingga terbentuk molekul polar juga dapat merangsang perubahan struktur koloid, sehingga menyebabkan perubahan kelarutan obat dan dapat memfasilitasi pengendapan obat [24].

Berdasarkan hasil, F4, F5, dan F6 menunjukkan ukuran partikel yang cenderung konstan dan menghasilkan distribusi ukuran partikel dengan frekuensi yang seragam pada diameter partikel 10-100 nm. Sementara itu, F1, F2, F3, F7, F8, dan F9 terjadi perubahan ukuran partikel yang cukup signifikan pada berbagai variasi pengenceran, juga teramati kekeruhan sediaan pada formula 8 dan 9 sehingga tidak memenuhi kriteria. nanoemulsi yang stabil dan tahan terhadap pengenceran. Selanjutnya, formula 4, 5, dan 6 yang lolos pada uji ketahanan dilakukan pengujian stabilitas dipercepat selama 4 minggu.



Gambar 2. Stabilitas termodinamik nanoemulsi SNE propolis F1-F9 dengan pembawa minyak kesturi, cremophor RH40, dan PEG 400

Tabel 2. Ukuran Partikel Uji *Robustness* SNE Propolis dengan Pembawa Minyak Kestur, Cremophor RH40, dan PEG 400 (n= 3)

Formula	Ukuran partikel (nm)			
	1: 25	1: 50	1: 100	1: 250
1	12,17 ± 0,70	9,70 ± 1,37	14,73 ± 0,68	12,4 ± 0,43
2	13,10 ± 0,30	8,83 ± 0,68	12,46 ± 0,83	13,4 ± 0,46
3	12,03 ± 0,49	9,30 ± 0,51	15,2 ± 1,09	14,43 ± 0,25
4	11,33 ± 0,40	11,06 ± 0,15	14,30 ± 0,43	14,7 ± 0,52
5	14,46 ± 0,32	12,57 ± 0,40	17,50 ± 0,36	16,53 ± 0,3
6	11,87 ± 0,40	15,83 ± 0,05	17,73 ± 0,11	18,37 ± 0,61
7	13,47 ± 0,15	16,76 ± 0,20	20,36 ± 0,05	21,13 ± 0,05
8	32,97 ± 0,29	23,07 ± 0,15	44,03 ± 0,05	30,63 ± 0,75
9	24,43 ± 0,37	19,37 ± 0,45	44,23 ± 0,20	25,47 ± 0,57

Stabilitas Dipercepat

Pengujian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek penyimpanan sediaan selama 3 bulan pada kondisi yang telah diatur ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/75\% \text{RH} \pm 5\% \text{RH}$). Hasil uji stabilitas dipercepat tersaji pada [Tabel 3](#). [Tabel 3](#) menunjukkan bahwa formula 4 (1: 5: 4) dan formula 5 (2: 7: 1) menghasilkan nilai transmitan pada rentang 95-99% sementara formula 6 (2: 6: 2) menghasilkan nilai transmitan pada range 98-99%. Hal ini menandakan proses emulsifikasi sampel yang baik karena dapat mentransmisikan sinar UV dengan tinggi. Ketiga formula teramati stabil secara fisik, tidak ditemukan adanya pengendapan, pemisahan fase atau perubahan warna selama penyimpanan.

Penggunaan minyak kesturi sebagai fase minyak dalam sediaan SNE mampu meningkatkan stabilitas dikarenakan terdapat senyawa *ricinoleic acid* (RA) yang merupakan kandungan utama di dalam minyak kesturi. RA memiliki banyak gugus hidroksil yang berperan mencegah pembentukan peroksida sehingga dapat meningkatkan stabilitas oksidatif minyak [\[10\]](#). Penggunaan cremophor RH40 juga dapat menghambat fenomena *Ostwald ripening*

pada sistem nanoemulsi sehingga mampu meningkatkan stabilitas sediaan hingga penyimpanan beberapa bulan. Lipid asam lemak rantai panjang (13-21 karbon) seperti minyak kesturi juga dilaporkan meningkatkan stabilitas SNE dari SNE yang mengandung indometasin [\[27\]](#). Nilai ukuran partikel ketiga formula menunjukkan kurang dari 12-17 nm selama bulan ke-1, 2, dan 3 penyimpanan ([Tabel 3](#)). Indeks polidispersitas yang dihasilkan ketiga formula berkisar pada rentang 0,02-0,1. Hal ini menandakan distribusi ukuran partikel yang baik (monodispersi) [\[22\]](#).

[Tabel 3](#) menunjukkan formula 5 merupakan formulasi SNE paling stabil selama penyimpanan ditandai dengan nilai ukuran partikel yang cenderung konstan. F5 menggunakan konsentrasi cremophor RH40 yang lebih tinggi dibanding F4 dan F6 yang secara langsung mempengaruhi kestabilan sediaan. Hal ini relevan dengan pernyataan Nepal et al (2010) bahwa ukuran partikel nanoemulsi dipengaruhi oleh konsentrasi surfaktan. Meningkatnya konsentrasi surfaktan menghasilkan ukuran tetesan emulsi yang lebih kecil dikarenakan peningkatan molekul surfaktan untuk menyerap di sekitar area antarmuka O/W sehingga dapat

Tabel 3. Nilai Transmitan, Ukuran Partikel, dan Indeks Polidispersitas SNE Propolis dengan Pembawa Minyak Kesturi, Cremophor RH40, dan PEG 400 selama Uji Stabilitas (n= 3)

Formula	Penyimpanan	Transmitan (%)	Ukuran partikel (nm)	Indeks polidispersitas
4	Minggu 1	99,58 ± 0,00	19,16 ± 0,92	0,34 ± 0,06
	Minggu 2	98,15 ± 0,00	16,63 ± 0,68	0,35 ± 0,10
	Minggu 3	95,16 ± 0,24	18,13 ± 0,40	0,36 ± 0,03
	Minggu 4	98,94 ± 0,01	15,87 ± 1,25	0,28 ± 0,02
	Bulan 2	98,53 ± 0,00	17,03 ± 0,76	0,31 ± 0,06
	Bulan 3	97,79 ± 0,03	15,3 ± 0,26	0,24 ± 0,13
5	Minggu 1	99,02 ± 0,01	16,9 ± 0,75	0,10 ± 0,06
	Minggu 2	97,95 ± 0,11	17,67 ± 0,37	0,06 ± 0,02
	Minggu 3	95,72 ± 0,01	19,13 ± 0,45	0,03 ± 0,02
	Minggu 4	99,07 ± 0,01	17,86 ± 0,28	0,11 ± 0,05
	Bulan 2	98,67 ± 0,00	16,80 ± 0,90	0,21 ± 0,03
	Bulan 3	97,82 ± 0,00	15,5 ± 0,17	0,21 ± 0,01
6	Minggu 1	99,25 ± 0,01	17,60 ± 0,55	0,22 ± 0,15
	Minggu 2	97,37 ± 0,01	15,40 ± 0,65	0,07 ± 0,04
	Minggu 3	97,06 ± 0,00	18,36 ± 0,30	0,22 ± 0,12
	Minggu 4	98,53 ± 0,02	16,30 ± 0,20	0,14 ± 0,04
	Bulan 2	98,68 ± 0,00	16,23 ± 0,37	0,22 ± 0,03
	Bulan 3	98,11 ± 0,01	12,90 ± 0,23	0,28 ± 0,06

menurunkan ukuran tetesan emulsi melalui penurunan tegangan antarmuka [29]. Selain itu, penurunan ukuran tetesan emulsi menunjukkan susunan surfaktan yang rapat pada lapisan antarmuka minyak dan air sehingga meningkatkan efek stabilisasi pada tetesan minyak dengan membentuk *barrier* mekanik yang kuat untuk mencegah koalesensi [30].

Kesimpulan

Formulasi SNE dengan pembawa minyak kesturi, cremophor RH40, dan PEG 400 memberikan pengaruh terhadap karakteristik dan stabilitas sediaan SNE propolis. Berdasarkan serangkaian uji stabilitas diperoleh formula 5 dengan perbandingan minyak: surfaktan: kosurfaktan (20: 70: 10) memberikan hasil yang paling optimal dibandingkan formula 4 (10: 50: 40) dan formula 6 (20: 60: 20), dengan karakterisasi nilai transmitansi antara 97-99%, ukuran partikel antara 15-17 nm, dan indeks polidispersitas 0,1-0,2 serta menghasilkan SNE yang homogen dan stabil, ditandai dengan tidak adanya pemisahan fase dan pengendapan selama pengujian stabilitas.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Riset dan Teknologi RI atas pembiayaan penelitian ini (Nomor kontrak: 042/DIRDPPM/70/DPPM/PTUPT-KEMRISTEKDIKTI/II/2018).

Referensi

- [1] Al-Ghamdi AA, Bayaqoob NIM, Rushdi AI, Alattal Y, Simoneit BRT, El-Mubarak AH, et al. Chemical compositions and characteristics of organic compounds in propolis from Yemen. *Saudi J Biol Sci* 2017;24:1094–103. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.012>.
- [2] Soufy H, El-Beih NM, Nasr SM, Abd El-Aziz TH, Khalil FAM, Ahmed YF, et al. Effect of Egyptian propolis on cryptosporidiosis in immunosuppressed rats with special emphasis on oocysts shedding, leukogram, protein profile and ileum histopathology. *Asian Pac J Trop Med* 2017;10:253–62. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.03.004>.
- [3] Chen Y-W, Ye S-R, Ting C, Yu Y-H. Antibacterial activity of propolins from Taiwanese green propolis. *J Food Drug Anal* 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2017.10.002>.
- [4] Bueno-Silva B, Franchin M, Alves C de F, Denny C, Colón DF, Cunha TM, et al. Main pathways of action of Brazilian red propolis on the modulation of neutrophils migration in the inflammatory process. *Phytomedicine* 2016;23:1583–90. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.09.009>.
- [5] Lopes AA, Ferreira TS, Nesi RT, Lanzetti M, Pires KMP, Silva AM, et al. Antioxidant action of propolis on mouse lungs exposed to short-term cigarette smoke. *Bioorg Med Chem* 2013;21:7570–7. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2013.10.044>.
- [6] Vit P, Huq F, Barth O, Campo M, Pérez-Pérez E, Tomás-Barberán F, et al. Use of Propolis in Cancer Research. *Br J Med Med Res* 2015;8:88–109. <https://doi.org/10.9734/BJMMR/2015/16216>.
- [7] Di Pierro F, Zanvit A, Colombo M. Role of a proprietary propolis-based product on the wait-and-see approach in acute otitis media and in preventing evolution to tracheitis, bronchitis, or rhinosinusitis from nonstreptococcal pharyngitis. *Int J Gen Med* 2016;Volume 9:409–14. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S118967>.
- [8] Parmar K, Patel J, Sheth N. Self nano-emulsifying drug delivery system for Embelin: Design, characterization and in-vitro studies. *Asian J Pharm Sci* 2015;10:396–404. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2015.04.006>.
- [9] Kassem AA, Mohsen AM, Ahmed RS, Essam TM. Self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) with enhanced solubilization of nystatin for treatment of oral candidiasis: Design, optimization, in vitro and in vivo evaluation. *J Mol Liq* 2016;218:219–32. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2016.02.081>.
- [10] Patel VR, Dumancas GG, Viswanath LCK, Maples R, Subong BJJ. Castor Oil: Properties, Uses, and Optimization of Processing Parameters in Commercial Production. *Lipid Insights* 2016;9:LPI.S40233. <https://doi.org/10.4137/LPI.S40233>.
- [11] Mahmoud H. Design and optimization of self-nanoemulsifying drug delivery systems of simvastatin aiming dissolution enhancement. *Afr J Pharm Pharmacol* 2013;7:1482–500. <https://doi.org/10.5897/AJPP2013.2987>.
- [12] Syukri Y, Martien R, Lukitaningsih E, Nugroho AE. Novel Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) of andrographolide isolated from *Andrographis paniculata* Nees: Characterization, in-vitro and in-vivo assessment. *J Drug Deliv Sci Technol* 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.06.014>.
- [13] Sawant K, Gupta S, Chavhan S. Selfnanoemulsifying drug delivery system for adenovir dipivoxil: Design, characterization, in vitro and ex vivo evaluation. *Colloids Surf.A Physicochem. Eng. Asp.*,392. 2011. p. 145-155. *Colloids SurfA Physicochem Eng Asp*392 P 145-155 2011. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.09.048>
- [14] Syukri Y, Fitriani H, Pandapotan H, Nugroho BH. Formulation, Characterization and Stability of Ibuprofen-Loaded Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS). *Indones J Pharm* 2019;30:105–13. <http://dx.doi.org/10.14499/indonesianjpharm30iss2pp105-113>
- [15] Anonim. Guidance for Industry Q1A(R2) Stability Testing of New Drug Substances and Products. Center for Biologics Evaluation and Research Food and Drug Administration; 2003.
- [16] Chaudhary S, Aqil M, Sultana Y, Kalam MA. Self-nanoemulsifying drug delivery system of nabumetone improved its oral bioavailability and anti-inflammatory effects in rat model. *J Drug Deliv Sci Technol* 2019;51:736–45. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.04.009>.
- [17] Senapati PC, Sahoo SK, Sahu AN. Mixed surfactant based (SNEDDS) self-nanoemulsifying drug delivery system presenting efavirenz for enhancement of oral bioavailability. *Biomed Pharmacother* 2016;80:42–51. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.02.039>.
- [18] Mostafa D, El-Alim S, Asfour M. Transdermal nanoemulsions of *Foeniculum vulgare* mill. essential oil: preparation, characterization and evaluation of antidiabetic potential. *J Drug Deliv Sci Technol* 2015;29:99–106. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2015.06.021>
- [19] Soni MGC, Prajapati SK, Chaudhri N. Self Nanoemulsion: Advance Form Of Drug Delivery System. *World J Pharm Pharm Sci* 2014;3:27.
- [20] Ezzati Nazhad Dolatabadi J, Hamishehkar H, Valizadeh H. Development of dry powder inhaler formulation loaded with alendronate solid lipid nanoparticles: solid-state characterization and aerosol dispersion performance. *Drug Dev Ind Pharm* 2015;41:1431–7. <https://doi.org/10.3109/03639045.2014.956111>.
- [21] Parmar N, Singla N, Amin S, Kohli K. Study of cosurfactant effect on nanoemulsifying area and development of lercanidipine loaded (SNEDDS) self nanoemulsifying drug delivery system. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2011;86:327–38. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.04.016>.

- [22] Kassem AA, Mohsen AM, Ahmed RS, Essam TM. Self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) with enhanced solubilization of nystatin for treatment of oral candidiasis: Design, optimization, in vitro and in vivo evaluation. *J Mol Liq* 2016;218:219–32. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2016.02.081>.
- [23] Fk A, Jg B. A Review on Self Emulsifying Nanoemulsion 2017:17.
- [24] Kazi M. Lipid-Based Nano-Delivery for Oral Administration of Poorly Water Soluble Drugs (PWSDs): Design, Optimization and in vitro Assessment. In: Maiti S, Sen KK, editors. *Adv. Technol. Deliv. Ther., InTech*; 2017. <https://doi.org/10.5772/65710>.
- [25] Jumaryatno P, Chabib L, Awaluddin R. Stability Study of Ipomoea reptans Extract Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) as Anti-Diabetic Therapy. *J Appl Pharm Sci* 2018;8:11–4. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2018.8903>.
- [26] Balakumar K, Raghavan CV, selvan NT, prasad RH, Abdu S. Self nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) of Rosuvastatin calcium: Design, formulation, bioavailability and pharmacokinetic evaluation. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2013;112:337–43. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.08.025>.
- [27] Prasad D, Chauhan H, Atef E. Studying the effect of lipid chain length on the precipitation of a poorly water soluble drug from self-emulsifying drug delivery system on dispersion into aqueous medium: Lipid chain length and precipitation from SEDDS. *J Pharm Pharmacol* 2013;65:1134–44. <https://doi.org/10.1111/jphp.12077>.
- [28] Nepal PR, Han H-K, Choi H-K. Preparation and in vitro–in vivo evaluation of Witepsol® H35 based self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) of coenzyme Q10. *Eur J Pharm Sci* 2010;39:224–32. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2009.12.004>.
- [29] Wang L, Dong J, Chen J, Eastoe J, Li X. Design and optimization of a new self-nanoemulsifying drug delivery system. *J Colloid Interface Sci* 2009;330:443–8. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2008.10.077>.
- [30] Xi J, Chang Q, Chan CK, Meng ZY, Wang GN, Sun JB, et al. Formulation Development and Bioavailability Evaluation of a Self-Nanoemulsified Drug Delivery System of Oleanolic Acid. *AAPS PharmSciTech* 2009;10:172–82. <https://doi.org/10.1208/s12249-009-9190-9>.



Copyright © 2019 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)