



## Karakterisasi Nanoemulsi Minyak Tulang Ikan Sidat dengan Ekstrak Daun Salam dan Uji Aktivitas Antihiperlipidemia

Fea Prihapsara<sup>a\*</sup>, Anif Nur Artanti<sup>b,c</sup>, Melati Sekar Hasna Hanun<sup>b</sup>, Salsabila Nanda Fatihah<sup>b</sup>,  
Fadhilla Nur Cahyani<sup>b</sup>, Sholichah Rohmani<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret  
Jalan Ir. Sutami 36 A, Jebres Surakarta 57126 Indonesia

<sup>b</sup>Program Studi D3 Farmasi, Sekolah Vokasi, Universitas Sebelas Maret  
Jalan Kolonel Sutarto No.150K, Jebres Surakarta 57126 Indonesia

<sup>c</sup>Pusat Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Biodiversitas, Universitas Sebelas Maret  
Jalan Ir. Sutami 36 A, Jebres Surakarta 57126 Indonesia

\*Corresponding author: [fea.prihapsara@staff.uns.ac.id](mailto:fea.prihapsara@staff.uns.ac.id)

DOI: 10.20961/alchemy.19.1.61169.14-22

Received 10 May 2022, Accepted 30 September 2022, Published 22 March 2023

### Kata kunci:

antihiperlipidemia;  
daun salam;  
nanoemulsi;  
tulang ikan sidat.

**ABSTRAK.** Pemanfaatan limbah terbuang dari pengolahan ikan sidat (*Anguilla spp.*) dapat diekstraksi menjadi minyak yang kaya manfaat. Kandungan asam lemak tak jenuh yang tinggi dalam minyak ikan sidat bermanfaat untuk kesehatan salah satunya sebagai antihiperlipidemia. Kombinasi dengan ekstrak bahan alam yaitu ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp) diharapkan memiliki efek sinergis sebagai agen antihiperlipidemia. Formulasi kombinasi kedua bahan tersebut dibuat dalam sistem penghantaran obat berbasis *lipid-based drug delivery system* (LBDDS) yaitu dalam bentuk nanoemulsi dengan tujuan untuk meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitas. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kandungan minyak tulang ikan sidat, karakteristik formula nanoemulsi minyak tulang ikan sidat-ekstrak daun salam (NME) dan aktivitas antihiperlipidemia formula NME. Minyak tulang ikan sidat mengandung komposisi SAFA (*Saturated Fatty Acid*) 40,02%, MUFA (*Mono Unsaturated Fatty Acid*) 45,58% dan PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acid*) 14,40% yang termasuk asam lemak rantai sedang hingga rantai panjang. Formula NME memenuhi kriteria ukuran partikel nanoemulsi yaitu sebesar 36,45 nm dengan nilai indeks polidispersitas (PI) sebesar 0,199 serta potensial zeta -21,20 mV. Kombinasi NME-Simvastatin paling efektif menurunkan kadar kolesterol total pada mencit (*Mus musculus*).

### Keywords:

antihyperlipidemic;  
bay leaf;  
nanoemulsion;  
bone eel.

**ABSTRACT.** Nanoemulsion Characterization of Eel Bone Oil with Bay Leaf Extracts and Antihyperlipidemic Activity Test. The utilization of waste from processing eel (*Anguilla spp.*) can be extracted into beneficial oil. The high content of unsaturated fatty acids in eel fish oil is beneficial for health, such as anti-hyperlipidemia. In combination with extracts of natural ingredients, bay leaf extract (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp) is expected to have a synergistic effect as an antihyperlipidemic agent. The combination formula of the two ingredients was made in a lipid-based drug delivery system (LBDDS) in the form of a nanoemulsion to increase solubility and bioavailability. This study aimed to analyze the content of eel bone oil, the characteristics of the nanoemulsion formula of bay leaf extract-eel bone oil (NME), and the antihyperlipidemic activity of the NME formula. Eel bone oil contains a composition of SAFA (*Saturated Fatty Acid*) of 40.02%, MUFA (*Mono Unsaturated Fatty Acid*) of 45.58%, and PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acid*) of 14.40%, which includes medium-to long-chain fatty acids. The NME formula has a particle size of 36.45 nm, a polydispersity index (PI) of 0.199, and a zeta potential of -21.2 mV. The combination of NME-Simvastatin is the most effective in influencing changes in lipid profiles.

## PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara berkembang dengan masyarakat yang menjalani kehidupan yang beragam dan kurang memperhatikan kebiasaan makan dan olahraga yang sehat. Perilaku konsumsi makanan yang tidak sehat dan kurangnya aktivitas fisik tanpa disadari menyebabkan kerusakan metabolisme lipid yang meningkatkan risiko penyakit seperti diabetes, stroke, dan jantung (Chehade *et al.*, 2013). Pengobatan kondisi hiperlipidemia telah banyak dilakukan menggunakan obat sintetik, akan tetapi kekhawatiran terhadap efek samping yang ditimbulkannya membuat obat yang berasal dari bahan alam menjadi alternatif karena dianggap memiliki efek samping minimal.

Salah satu kandungan bahan yang memiliki aktivitas antihiperlipidemia adalah asam lemak tak jenuh yang juga banyak terdapat dalam minyak ikan, salah satunya ikan sidat (*Anguilla spp.*). Minyak ikan sidat memiliki

kandungan asam lemak tak jenuh yang tinggi yaitu asam oleat (47,65%), asam linoleat (4,84%) dan asam dokosaheksaenoat (8,67%) (Faoziyah, 2018). Limbah selalu dihasilkan selama pengolahan ikan sidat, karena kebanyakan hanya daging yang digunakan, tetapi kepala, isi perut dan duri dibuang. Pengolahan ikan ini tidak dimanfaatkan secara optimal, padahal merupakan sumber senyawa bioaktif yang kuat seperti peptida bioaktif, omega-3, mineral, polisakarida, antioksidan, vitamin, asam lemak tak jenuh dan enzim (Ngo *et al.*, 2012). Kandungan asam lemak dalam tulang ikan merupakan asam lemak tak jenuh rantai sedang hingga panjang yang mampu meningkatkan daya kestabilan formulasi obat, meningkatkan transpor obat melalui limfatik untuk mengurangi metabolisme lintas pertama, mencegah degradasi oksidasi, dan berguna dalam mengatasi tingginya kolesterol serta menurunkan risiko jantung koroner (Savale, 2015). Eksplorasi mengenai kandungan komponen dalam minyak tulang ikan sidat belum pernah dilakukan sebelumnya.

Bahan alami lain yang memiliki efek antihiperlipidemia yaitu daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp), yang sering dimanfaatkan dalam bentuk ekstrak. Pemberian ekstrak daun salam mampu menurunkan kadar trigliserida pada dosis 180 mg/kg BB tikus putih (Nugroho *et al.*, 2012). Daun salam mengandung flavonoid dan glikosida, seperti kaempferol, kuersetin, apigenin, dan luteolin (Batool *et al.*, 2020). Kemampuan kuersetin memodulasi metabolisme lipid dengan merangsang gen lipoprotein transpor terbalik kolesterol dan melalui gen sitokin anti-inflamasi akan mengakibatkan berkurangnya pembentukan plak aterosklerotik dengan asupan kuersetin tunggal (Garelnabi *et al.*, 2014). Di samping itu, daun salam juga memiliki efek antidiabetik menjanjikan yang mungkin dicapai dengan mekanisme seperti metformin (Algariri *et al.*, 2013). Abnormalitas lipoprotein dan lipid ditunjukkan juga pada diabetes tipe dua akibat resistensi sel terhadap hormon insulin. Umumnya, insulin bekerja dalam menghambat *hormone-sensitive* lipase, mengaktifkan lipoprotein lipase, menghambat produksi VLDL hepatic, meningkatkan ekspresi reseptor LDL B/E, mengaktifkan *Lecithin-Cholesterol Acyl Transferase* (LCAT) (Verges, 2009). Jika aktivitas insulin terhambat, maka hal ini dapat bermanifestasi terhadap peningkatan kadar lipid dalam darah.

Ekstrak tumbuhan memiliki keterbatasan, yaitu kelarutan yang rendah sehingga berefek pada tingkat bioavailabilitas yang rendah (Nazari-Vanani *et al.*, 2018). Salah satu pengembangan formula sediaan berbasis *natural product*, melalui peningkatan kelarutan dan stabilitas, adalah modifikasi *lipid-based drug delivery system* (LBDDS) (Ijaz *et al.*, 2018). Salah satu bentuk formulasi LBDDS yang umum diaplikasikan adalah nanoemulsi. Nanoemulsi dipilih menjadi alternatif formulasi karena memiliki kelebihan dari segi stabilitas, *applicability* yang lebih mudah, dan kapasitas *loading* senyawa lipofilik yang lebih baik dibandingkan sistem lipid lainnya (Herneisey *et al.*, 2016). Nanoemulsi merupakan sistem koloid dengan nanodroplet berukuran kurang dari 200 nm sehingga mampu meningkatkan bioavailabilitas zat aktif (Marwaha and Dabas, 2019). Komponen utama nanoemulsi adalah ekstrak, minyak, surfaktan, dan ko-surfaktan. Minyak merupakan komponen penentu dalam pembentukan nanoemulsi karena sebagai pembawa zat aktif sehingga jenis yang dipilih berdasarkan pada kelarutan zat aktif (Singh *et al.*, 2017). Minyak tulang ikan sidat dapat diformulasi menjadi nanoemulsi yang baik karena tersusun dari asam lemak rantai hidrokarbon menengah dan panjang (Beandrade, 2018; Aprilya *et al.*, 2021). Penelitian sebelumnya telah dilakukan diantaranya adalah karakterisasi nanoemulsi dengan pembawa minyak ikan dan zat aktif dari bahan alam (Zhong *et al.*, 2018; Djamil *et al.*, 2020) dan uji antihiperlipidemia pada minyak ikan sidat (Kontostathi *et al.*, 2021).

Berdasarkan penelusuran literatur, penelitian mengenai kombinasi dari ekstrak daun salam dan minyak tulang ikan sidat dalam sediaan nanoemulsi sebagai agen antihiperlipidemia belum pernah dilakukan. Efek sinergisme dari kedua bahan tersebut diharapkan menjadi inovasi terbaru sehingga dapat dikembangkan menjadi produk alternatif obat antihiperlipidemia.

## METODE PENELITIAN

### Material

Alat yang digunakan adalah timbangan analitik Joanlab dengan ketelitian 0,1 mg (JAB1204, China), oven (Mettler, Germany), inkubator (Mettler, Germany), *rotary evaporator* (RVO 400 SD Boeco, Germany), *waterbath* (Grant, USA), *vortex* (Heidolph REAX Top, Germany), *sonicator* (Branson 1510, USA), *magnetic stirrer* (IKA C-MAG HS 7, Germany), spektrofotometer UV/Vis (Perkin Elmer Lambda 25, USA), *Particle Size Analyzer* (PSA) (Horiba SZ – 100, Japan), *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS) (Thermo Scientific Trace-1310; USA), *Transmittan Electron Microscope* (TEM) (JEOL JEM 1400, Japan), alat-alat gelas (IWAKI Pyrex, Japan) dan untuk aklimatisasi hewan uji menggunakan 30 buah kandang dan seperangkat alat pemberian makan.

Bahan yang digunakan untuk membuat minyak tulang ikan sidat adalah limbah tulang ikan sidat yang diperoleh dari peternak ikan sidat di Surakarta dan pelarut berupa metanol dan kloroform yang dibeli dari Merck (Darmstadt, Jerman). Bahan penyusun komponen nanoemulsi lainnya berupa ekstrak etanol daun salam, Tween 80, propilen glikol, dan akuabides diperoleh dari Laboratorium Farmasi UNS. Uji aktivitas antihiperlipidemia menggunakan hewan uji 30 ekor mencit (*Mus musculus*) dengan berat kurang lebih 20 gram. Bahan pakan dan perlakuan hewan uji berupa propiltiourasil 0,05%, akuades, minyak babi murni, kuning telur bebek, serta pelet diperoleh dari Laboratorium Biologi UNS. Kit uji antikoolesterol Cholesterol FS Diasys Microlab 300 dibeli dari supplier General Labora (Yogyakarta, Indonesia) serta Simvastatin (bets no. D10511BJ) sebagai kontrol positif.

### Ekstraksi dan Uji Kandungan Komponen Minyak Tulang Ikan Sidat

Sebanyak 200 g limbah ikan sidat dimaserasi dengan 200 mL kloroform, dan 400 mL metanol. Selama proses tersebut, dilakukan pengadukan sesekali selama 3 – 4 hari. Selanjutnya maserat hasil penyaringan, dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60 – 70 °C untuk mendapatkan minyak tulang ikan sidat. Analisa komponen minyak tulang ikan sidat menggunakan instrumen GC-MS dengan kondisi operasional detektor FID pada suhu 260 °C berdasarkan metode *methylester* dengan kolom HP-88, *Length* 100 m.

### Pembuatan dan Uji Karakterisasi Nanoemulsi Minyak Tulang Ikan Sidat dengan Ekstrak Daun Salam

Formula dasar nanoemulsi terdiri dari 0,5 g ekstrak daun salam; 0,55 mL minyak tulang ikan sidat; 4,10 mL Tween 80; dan 0,35 mL PEG 400. Semua bahan dicampur kemudian di-*vortex* selama satu menit, disonikasi selama 15 menit, diinkubasi dengan *waterbath* pada suhu 45 °C selama 10 menit, dan di-*stirrer* selama 30 menit dengan kecepatan 100 rpm (Prihapsara *et al.*, 2017). Sebanyak 100 µL nanoemulsi ditambahkan dengan akuades hingga 5 mL, diaduk hingga homogen, dan di-*vortex* selama 30 detik. Campuran tersebut kemudian dianalisis dengan alat *Particle Size Analyzer* (PSA) metode *Dynamic Light Scattering* (DLS) untuk menentukan ukuran partikel, distribusi ukuran partikel, dan potensial zeta nanoemulsi (Puspita *et al.*, 2016).

Karakterisasi bentuk dan ukuran nanopartikel dilakukan dengan menggunakan *Transmission Electron Microscopy* (TEM). Karakterisasi dengan TEM memastikan visualisasi droplet berada dalam ukuran nanometer dan dalam bentuk *triangular* atau *spherical*. TEM dioperasikan pada tegangan 300 kV dengan sampel formula NME yang sebelumnya didispersikan ke dalam akuabides dengan konsentrasi 0,05 mg/mL.

### Uji Aktivitas Antihiperlipidemia

Sebanyak 30 ekor mencit (*Mus musculus*) dengan berat kurang lebih 20 g diaklimatisasi selama kurang lebih 1 minggu (7 hari) untuk beradaptasi dengan lingkungannya disertai pemberian pakan secara *ad libitum*. Perlakuan hewan uji dibagi dalam 5 kelompok (sesuai Tabel 1) di mana 1 kelompok (kontrol normal) tidak diberikan induksi hiperlipidemia, sedangkan 4 kelompok diberikan induksi hiperlipidemia. Induksi hiperlipidemia, selain diberikan pakan secara *ad libitum*, juga diberikan tambahan berupa 1 mL minyak babi dan 2,5 mL kuning telur per 20 g BB mencit per hari, serta penambahan propiltiourasil 0,05% pada air minum. Induksi hiperlipidemia dilakukan dari hari ke-0 sampai hari ke-28. Pada hari ke-28 sampai hari ke-45, diberikan pakan *ad libitum* dan tambahan perlakuan masing-masing kelompok hewan uji sesuai dengan Tabel 1.

**Tabel 1.** Perlakuan hewan uji.

Kelompok	Perlakuan (hari ke-28 sampai dengan hari ke-45)
Kontrol normal	Mencit tanpa induksi hiperlipidemia
Kontrol negatif	Mencit induksi hiperlipidemia
Kontrol positif	Mencit induksi hiperlipidemia ditambah Simvastatin 0,026 mg/20 g BB mencit per hari
NME	Mencit induksi hiperlipidemia ditambah NME setara dengan dosis ekstrak daun salam 14 mg/20 g BB mencit per hari
Kombinasi NME-Simvastatin	Mencit induksi hiperlipidemia ditambah NME setara dengan dosis ekstrak daun salam 14 mg/20 g BB mencit per hari dan Simvastatin 0,013 mg/20 g BB mencit per hari

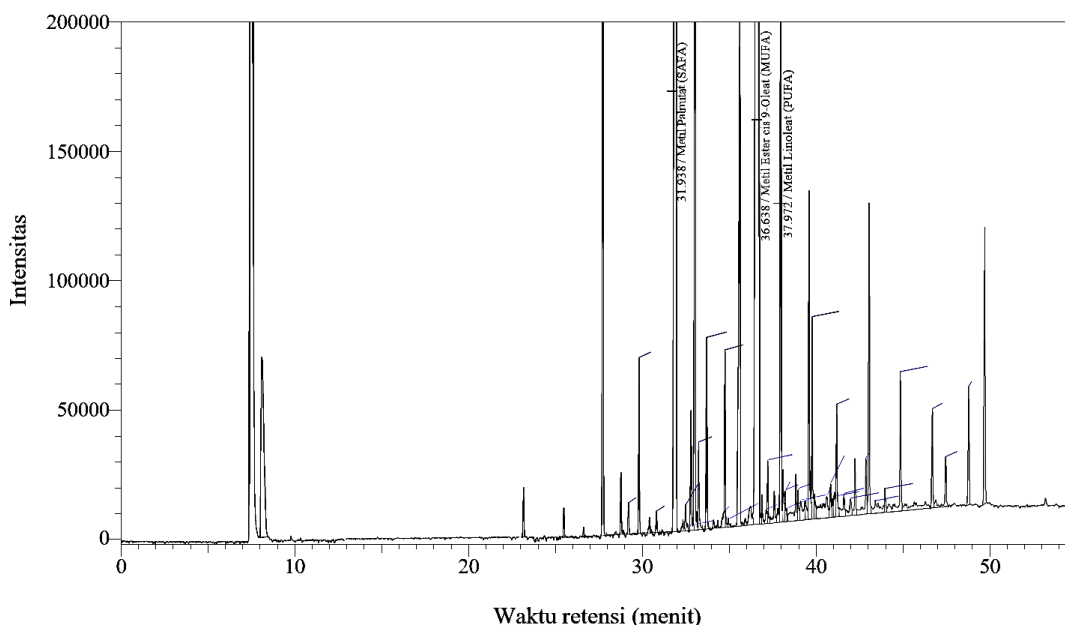
Darah mencit diambil sebelum pemberian perlakuan (hari ke-0 setelah aklimatisasi atau awal induksi hiperlipidemia), hari ke-28 (akhir induksi hiperlipidemia), dan hari ke-45 (akhir pemberian perlakuan). Sebanyak 0,5 mL darah ditarik melalui sinus orbital dengan kapiler mikrohematokrit. Serum darah dipisahkan dari sel darah dengan sentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit. Serum dikumpulkan dalam tabung mikro, yang dapat disimpan dalam *freezer* -20 °C sebelum pengukuran kolesterol darah selesai (Sa'adah *et al.*, 2017). Pengukuran

kadar kolesterol total serum darah dilakukan dengan metode kolorimetrik enzimatis *CHOD-PAP* (*Cholesterol Oxidase-Peroxisidase Aminoantypirin*) dengan cara kerja mengikuti prosedur dari kit DiaSys® (*Diagnostic System International*).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi dan Hasil Uji Kandungan Komponen Minyak Ikan Sidat

Hasil analisa kromatogram diperoleh kandungan minyak tulang ikan sidat berupa asam lemak jenuh dan tidak jenuh ditunjukkan pada [Gambar 1](#). Kromatogram minyak tulang ikan sidat diperoleh antara lain golongan SAFA (*Saturated Fatty Acid*) dengan konsentrasi terbesar yaitu metil palmitat (waktu retensi: 31,938 menit), MUFA (*Mono Unsaturated Fatty Acid*) dengan konsentrasi terbesar yaitu metil ester *cis*-9-oleat (waktu retensi: 36,638 menit) dan PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acid*) dengan konsentrasi terbesar yaitu metil linoleat (waktu retensi: 37,972 menit).



**Gambar 1.** Kromatogram minyak tulang ikan sidat.

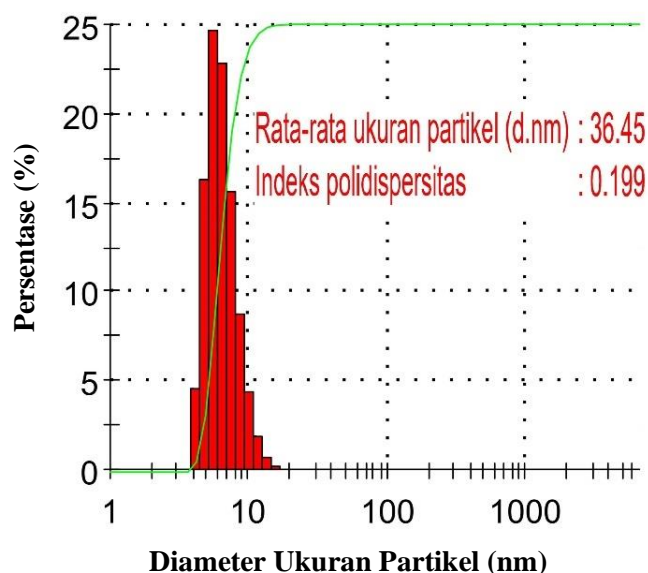
Pada [Tabel 2](#) diperoleh komposisi total kandungan minyak tulang sidat yaitu golongan SAFA sebesar 40,03%, MUFA sebesar 45,58% dan PUFA 14,40%. Minyak tulang ikan sidat ini dilaporkan juga mampu meningkatkan transpor obat untuk mengurangi metabolisme lintas pertama. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan pada penelitian analisis kandungan minyak ikan sidat segar ([Widyasari \*et al.\*, 2014](#)) yaitu golongan SAFA 22,78%, MUFA 32,84% dan PUFA 11,44%. Disamping memiliki nilai nutrisi yang tinggi dengan adanya kandungan MUFA dan PUFA, pemanfaatan minyak tulang ikan sidat sebagai salah satu komponen dalam formulasi obat tradisional akan meningkatkan nilai ekonomi, karena selama ini pemanfaatan ikan sidat hanya pada bagian daging saja yang dikonsumsi, sedangkan bagian tulang belum dimanfaatkan.

Pada [Tabel 2](#) diketahui bahwa komponen tertinggi yang terdapat dalam minyak tulang ikan sidat yang diekstraksi dengan pelarut kloroform adalah komponen *cis*-9-oleic methyl ester sebesar 34,25% yang termasuk golongan MUFA dan metil palmitat sebesar 21,47% yang termasuk golongan SAFA. Selain komponen tersebut, pada golongan PUFA juga terdapat komponen terbesar yaitu metil linoleat sebesar 5,69%. Dari hasil penelitian diketahui bahwa kandungan MUFA dalam minyak tulang ikan sidat paling besar dibandingkan dengan golongan lain. Minyak tulang ikan sidat (*Anguilla spp.*) diekstraksi dari bagian tulang ikan sidat menggunakan metode maserasi yang bertujuan untuk mengurangi jumlah asam lemak trans, terbukti pada uji asam lemak hanya mengandung satu jenis asam lemak trans yaitu metil ester asam trans-9-elaidik (0,42%).

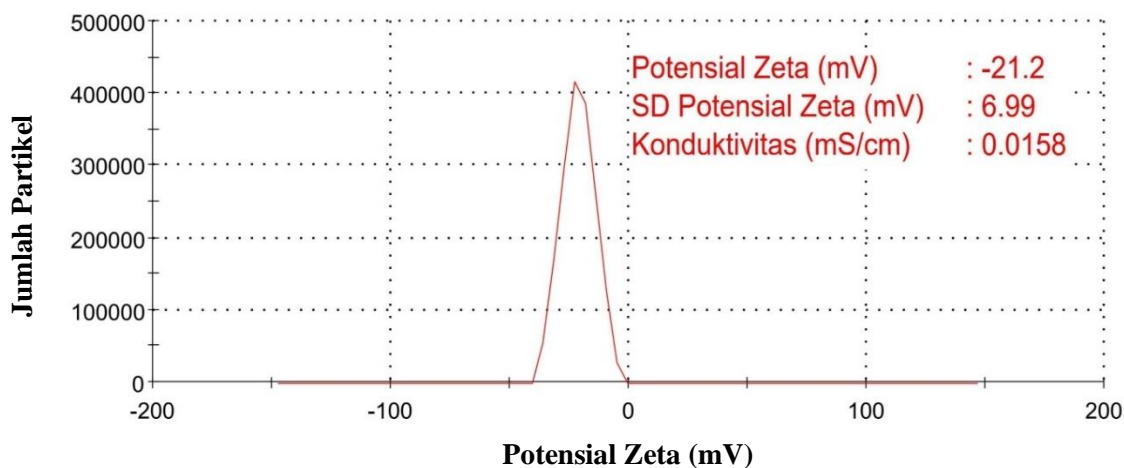
**Tabel 2.** Hasil analisis GC-MS minyak tulang ikan sidat.

Nama Komponen		%
<b>Golongan SAFA (Saturated Fatty Acid)</b>	<b>40,03</b>	
Metil butirrat		2,87
Metil laurat		0,23
Metil tridekanoat		0,18
Metil tetradekanoat		3,86
Metil pentadekanoat		0,98
Metil palmitat		21,47
Metil heptadekanoat		1,21
Metil oktadekanoat		4,36
Metil arakidat		0,57
Metil cis-11-eikosenoat		1,89
Metil heneikosanoat		1,13
Metil dokosanoat		0,24
Metil lignoserat		1,03
<b>Golongan MUFA (Mono Unsaturated Fatty Acid)</b>	<b>45,58</b>	
Metil ester asam miristoleat		0,64
Metil ester asam cis 10-pentadekenoat		0,14
Metil palmitoleat		7,02
Metil ester asam cis 10-heptadekenoat		1,05
Metil ester asam trans-9-elaidik		0,42
Metil ester cis-9-oleat		34,25
Metil erukat		0,52
Metil nervonat		1,54
<b>Golongan PUFA (Poly Unsaturated Fatty Acid)</b>	<b>14,40</b>	
Metil ester asam linolelaidat		0,76
Metil linoleat		5,69
Metil ester asam gamma-linolenat		0,53
Metil linolenat		1,20
Metil ester asam cis-11,14-eikosadienoat		1,35
Metil ester asam cis-8,11,14-eikosatrienoat		0,34
Metil ester asam cis-11,14,17-eikosatrienoat		1,63
Metil cis-5,8,11,14-eikosatetraenoat		0,53
Cis-4,7,10,13,16,19-dokosaheksaenoat		2,37
<b>Total</b>	<b>100,00</b>	

### Uji Karakterisasi Nanoemulsi Minyak Tulang Ikan Sidat-Ekstrak Daun Salam

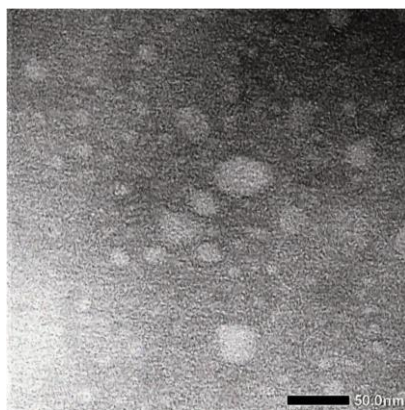
**Gambar 2.** Distribusi ukuran partikel nanoemulsi minyak tulang ikan sidat-ekstrak daun salam.

Droplet dinyatakan berukuran nano apabila ukurannya kurang dari 100 nm (Savale, 2015). Hasil pengujian ukuran partikel dengan *Particle Size Analyzer* (PSA) menunjukkan bahwa formula NME memenuhi kriteria ukuran partikel nanoemulsi yaitu sebesar 36,45 nm dengan nilai indeks polidispersitas (PI) sebesar 0,199 (Gambar 2). Karakterisasi ukuran partikel dilakukan untuk memastikan emulsi yang terbentuk adalah suatu nanoemulsi atau berukuran nanopartikel, serta untuk mengetahui keseragaman ukuran droplet nanoemulsi. Ukuran droplet nanoemulsi merupakan faktor penting untuk mengevaluasi sistem *self-emulsification*, karena akan menentukan tingkat pelepasan dan kecepatan obat untuk diabsorpsi (Parmar *et al.*, 2011). Nilai indeks polidispersitas (PI) digunakan untuk memperkirakan kisaran distribusi ukuran partikel suatu sampel dan untuk menentukan apakah terdapat agregasi dimana distribusi ukuran partikel dapat dikatakan monodispers apabila PI antara 0,01 dan 0,7 (Wahyuningsih *et al.*, 2017). Nilai PI <0,7 menunjukkan bahwa distribusi ukuran partikel semakin homogen (Gaumet *et al.*, 2008).



**Gambar 3.** Potensial zeta nanoemulsi minyak tulang ikan sidat-ekstrak daun salam.

Penentuan potensial zeta dilakukan untuk mengetahui kestabilan dari formula NEM yang dihasilkan. Nilai potensial zeta yang tinggi pada suatu sediaan nanoemulsi dapat menghindari terjadinya koalesensi dengan gaya tolak menolak antar partikel sehingga formula yang dihasilkan lebih stabil. Hasil pengujian potensial zeta pada formula NEM yaitu sebesar -21,2 mV (Gambar 3). Koefisien negatif yang dihasilkan pada potensial zeta tersebut menunjukkan bahwa terdapat muatan negatif pada permukaan partikel formula NEM yang dihasilkan. Nilai potensial zeta  $> \pm 20$  mV dapat memberikan kestabilan yang cukup terhadap suatu nanopartikel, di mana apabila nilai potensial zeta berada pada rentang -5 mV hingga +5 mV menunjukkan bahwa kestabilan dari nanopartikel rendah dan akan lebih cepat terjadi agregasi (Honary and Zahir, 2013). Nilai potensial zeta yang dihasilkan pada formula ini tinggi sehingga meminimalkan potensi terjadinya agregasi.



**Gambar 4.** Hasil TEM nanoemulsi minyak tulang ikan sidat-ekstrak daun salam dengan perbesaran 80000 $\times$ .

Karakterisasi NME dengan TEM bertujuan untuk mengetahui bentuk dan ukuran droplet NME. Dari hasil karakterisasi diperoleh bentuk droplet formula NEM dominan bulat dan terdistribusi secara acak pada perbesaran

80000× (Gambar 4). Partikel berbentuk *spherical* memiliki kemampuan yang lebih baik dalam menembus membran seluler. Tampak ukuran droplet rata-rata antara 10 – 20 nm. Ukuran partikel yang divisualkan dari hasil TEM tampak lebih kecil dari pada yang didapat menggunakan PSA (Gambar 2). Prinsip kedua metode pengukuran tersebut berbeda di mana pada TEM, agar mudah ditembus oleh elektron maka sampel yang dibaca harus lebih tipis sedangkan prinsip pengukuran menggunakan PSA bersifat hidrodinamik dimana ukuran partikel dari sampel dipengaruhi oleh densitas cairan.

### Uji Aktivitas Antihiperlipidemia

Tabel 3 menunjukkan bahwa kelompok kombinasi NME-Simvastatin memperlihatkan penurunan kadar kolesterol total dengan persentase tertinggi (27,94%) dibanding dengan kelompok perlakuan yang lainnya. Pada kelompok kombinasi hanya diberikan setengah dosis simvastatin. Penurunan kadar kolesterol kelompok kombinasi tidak berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok NME ( $p > 0,05$ ). Berdasarkan hasil penelitian ini, formula NME memberikan efek yang signifikan terhadap penurunan kadar kolesterol total darah.

**Tabel 3.** Perubahan kadar kolesterol total kelompok perlakuan hewan uji.

Kelompok Perlakuan	Kadar Kolesterol Total (mg/dL) hari ke-			Persen Penurunan Kadar Kolesterol Total (%)
	0	28	45	
Kontrol normal	138,40±38,85	133,65±19,20	133,00±17,92	-0,49*
Kontrol negatif	116,78±2,70	129,20±21,80	117,65±13,74	-8,94
Kontrol positif	138,70±20,00	130,63±18,15	116,20±12,95	-11,04
NME	139,15±19,02	147,53±20,90	112,83±21,32	-23,52*
Kombinasi NME-Simvastatin	115,00±17,80	130,80±16,66	94,25±17,33	-27,94*

\*Keterangan:  $p < 0,05$  versus kontrol positif

Ukuran partikel yang telah dihasilkan pada penelitian ini, yaitu sebesar 36,45 nm menjadikan formula NME mudah diabsorpsi di dalam saluran pencernaan. Formula nanoemulsi sebagai penghantar senyawa herbal sangat penting untuk menghindari pengendapan ekstrak supaya mampu diabsorpsi oleh lapisan dalam usus (Vanitasagar and Subhashini, 2013). Droplet nanoemulsi mampu melintasi dan diserap oleh sel enterosit serta sel M (*microfold*) di dalam saluran gastrointestinal melalui *Peyer's patches* (PPs), yaitu sistem limfatik (GALT/*gut-associated lymphoid tissue*) yang berupa lapisan epitel tunggal yang terdiferensiasi menjadi sel enterosit absorpsi yang terdapat di sepanjang lapisan usus. Sel enterosit menghasilkan enzim *digestive* dan memiliki mikrofili yang berperan untuk memperluas permukaan penyerapan (Pridgen *et al.*, 2015). Setelah diinternalisasi di dalam tubuh, droplet nanoemulsi (<200 nm) ini akan difagositosis oleh makrofag dan didistribusikan ke seluruh tubuh melalui sirkulasi darah (Kulkarni and Feng, 2013). Makrofag dapat digunakan sebagai agen pembawa senyawa obat, karena mampu bergerak melintasi sawar darah otak untuk mencapai jaringan target yang mengalami inflamasi. Pemanfaatan formulasi nanopartikel sangat efektif pada sel target, karena mampu memperlambat aksi pelepasan senyawa obat yang telah terfagositosis oleh makrofag (Pei and Yeo, 2016).

Sel M (*microfold*) yang terdapat pada usus akan mengambil partikel zat aktif melalui pinositosis dan membawanya melalui dinding usus, kemudian melalui proses transitosis akan difagositosis oleh makrofag dan didegradasikan menjadi fragmen-fragmen yang lebih kecil lagi menuju target. Selain melalui mekanisme tersebut, droplet nanoemulsi dapat melintasi sel usus melalui ruang antar sel yang berukuran 4 – 8 Å (Angstrom) pada manusia dan 10 – 15 Å pada mencit dengan meningkatkan permeabilitas jaringan epitel tersebut (1 Å = 0,1 nm). *polietilen glikol* (PEG) yang digunakan sebagai kosurfaktan mampu mencegah melekatnya protein opsonin pada permukaan nanopartikel, memperbaiki stabilitas obat secara *in vivo*, memperlama waktu paruh, memperlambat metabolisme, mengurangi klirens, dan dapat memperpanjang waktu edar sirkulasi serta memperbaiki profil farmakokinetiknya (Minji and Yangha, 2010). Dengan demikian, formula NME pada penelitian ini telah mampu meningkatkan bioavailabilitas dan daya serap senyawa aktif dalam tubuh, serta memberikan efek terapeutik yang maksimal.

### KESIMPULAN

Minyak tulang ikan sidat mengandung SAFA (*Saturated Fatty Acid*) 40,02%, MUFA (*Mono Unsaturated Fatty Acid*) 45,58% dan PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acid*) 14,40% yang termasuk asam lemak rantai sedang hingga rantai panjang. Formula NME memenuhi kriteria ukuran partikel nanoemulsi yaitu sebesar 36,45 nm

dengan nilai indeks polidispersitas (PI) sebesar 0,199 serta potensial zeta -21,2 mV. Kombinasi NME-Simvastatin paling efektif menurunkan kadar kolesterol total pada mencit (*Mus musculus*).

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Tim Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian (LPPM) Universitas Sebelas Maret di mana kegiatan ini dibiayai oleh Dana Non APBN UNS tahun anggaran 2021 dengan nomor kontrak 260/UN27.22/HK.07.00/2021.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Algariri, K., Meng, K. Y., Atangwho, I. J., Asmawi, M. Z., Sadikun, A., Murugaiyah, V., and Ismail, N., 2013. Hypoglycemic and Antihyperglycemic Study of *Gynura procumbens* Leaf Extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(5), 358–366. [https://doi.org/10.1016/s2221-1691\(13\)60077-5](https://doi.org/10.1016/s2221-1691(13)60077-5).
- Aprilya, A., Rahmadevi, R., and Meirista, I., 2021. Nanoemulsion Formulation with Fish Oil (*Oleum Iecoris Aselli*) Base Ingredients. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 3(3), 370–375. <http://dx.doi.org/10.25026/jsk.v3i3.309>.
- Batool, S., Khera, R. A., Hanif, M. A., and Ayub, M. A. (2020). *Bay Leaf. in Medicinal Plants of South Asia* (pp. 63–74). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2017-0-02046-3>.
- Beandrade, M. U., 2018. Formulasi dan Karakterisasi SNEDDS Ekstrak Jinten Hitam (*Nigella sativa*) dengan Fase Minyak Ikan Hiu Cucut Botol (*Centrophorus Sp*) serta Uji Aktivitas Immunostimulan. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 1(5), 234–244. <http://dx.doi.org/10.20961/jpscr.v3i1.15506>.
- Chehade, J. M., Gladysz, M., and Mooradian, A. D., 2013. Dyslipidemia in Type 2 Diabetes: Prevalence, Pathophysiology, and Management. *Drugs*, 73(4), 327–339. <https://doi.org/10.1007/s40265-013-0023-5>.
- Djamil, R., Zaidan, S., Butar, V. B., and Pratami, D. K., 2020. Formulasi Nanoemulsi Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus (L.) Moench.*) dan Uji Aktifitas Antikolesterol secara In-Vitro. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 18(1), 75–80. <https://doi.org/10.35814/JIFI.V18I1.820>.
- Faoziyah, A. R., 2018. Penentuan Karakteristik Minyak Ikan Sidat Hasil Nelayan Kabupaten Cilacap sebagai Bahan Baku Sediaan Farmasi Terstandar. *Journal of Health (JoH)*, 5(2), 87–91. <https://dx.doi.org/10.30590/vol5-no2-p87-91>.
- Garelnabi, M., Mahini, H., and Wilson, T., 2014. Quercetin Intake with Exercise Modulates Lipoprotein Metabolism and Reduces Atherosclerosis Plaque Formation. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 11(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/1550-2783-11-22>.
- Gaumet, M., Vargas, A., Gurny, R., and Delie, F., (2008). Nanoparticles for Drug Delivery: The Need for Precision in Reporting Particle Size Parameters. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 69(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2007.08.001>.
- Herneisey, M., Williams, J., Mirtic, J., Liu, L., Potdar, S., Bagia, C., Cavanaugh, J. E., and Janjic, J. M., 2016. Development and Characterization of Resveratrol Nanoemulsions Carrying Dual-Imaging Agents. *Therapeutic Delivery*, 7(12), 795–808. <https://doi.org/10.4155/tde-2016-0050>.
- Honary, S., and Zahir, F., 2013. Effect of Zeta Potential on the Properties of Nano-Drug Delivery Systems-A Review (Part 1). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(2), 255–264. <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v12i2.19>.
- Ijaz, H., Qureshi, J., Tulain, U. R., Iqbal, F., Danish, Z., Fayyaz, A., and Sethi, A., 2018. Lipid Particulate Drug Delivery Systems: A Review. *Bioinspired, Biomimetic and Nanobiomaterials*, 7(2), 109–121. <https://doi.org/10.1680/jbibn.16.00039>.
- Kontostathi, M., Isou, S., Mostratos, D., Vasdekis, V., Demertzis, N., Kourounakis, A., Vitsos, A., Kyriazi, M., Melissos, D., and Tsitouris, C., 2021. Influence of Omega-3 Fatty Acid-Rich Fish Oils on Hyperlipidemia: Effect of Eel, Sardine, Trout, and Cod Oils on Hyperlipidemic Mice. *Journal of Medicinal Food*, 24(7), 749–755. <https://doi.org/10.1089/jmf.2020.0114>.
- Kulkarni, S. A., and Feng, S. S., 2013. Effects of Particle Size and Surface Modification on Cellular Uptake and Biodistribution of Polymeric Nanoparticles for Drug Delivery. *Pharmaceutical Research*, 30(10), 2512–2522. <https://doi.org/10.1007/s11095-012-0958-3>.
- Marwaha, R. K., and Dabas, A., 2019. Bioavailability of Nanoemulsion Formulations vs Conventional Fat Soluble Preparations of Cholecalciferol (D3)—An Overview. *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma*, 10(6), 1094–1096. <https://doi.org/10.1016/j.jcot.2019.07.014>.
- Minji, K., and Yangha, K., 2010. Hypocholesterolemic Effects of Curcumin Via Up-Regulation of Cholesterol 7 $\alpha$ -Hydroxylase in Rats Fed A High Fat Diet. *Nutrition Research and Practice*, 4(3), 191–195.



- <https://doi.org/10.4162/nrp.2010.4.3.191>.
- Nazari-Vanani, R., Azarpira, N., and Heli, H., 2018. Development of Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Systems for Oil Extracts of Citrus Aurantium L. Blossoms and Rose Damascena and Evaluation of Anticancer Properties. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 47, 330–336. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.08.003>.
- Ngo, D.-H., Vo, T.-S., Ngo, D.-N., Wijesekara, I., and Kim, S.-K., 2012. Biological Activities and Potential Health Benefits of Bioactive Peptides Derived from Marine Organisms. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51(4), 378–383. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.06.001>.
- Nugroho, A. A., Hikmayani, N. H., and Djumaga, S., 2012. Pengaruh Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum (Wight) Walp*) terhadap Penurunan Kadar Trigliserida Darah Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*). *Biofarmasi*, 10(2), 40–45. <https://doi.org/10.13057/biofar/f100202>.
- Parmar, N., Singla, N., Amin, S., and Kohli, K. 2011. Study of Cosurfactant Effect on Nanoemulsifying Area and Development of Lercanidipine Loaded (SNEDDS) Self Nanoemulsifying Drug Delivery System. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 86(2), 327–338. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.04.016>.
- Pei, Y., and Yeo, Y., 2016. Drug Delivery to Macrophages: Challenges and Opportunities. *Journal of Controlled Release*, 240, 202–211. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2014.06.018>.
- Pridgen, E. M., Alexis, F., and Farokhzad, O. C., 2015. Polymeric Nanoparticle Drug Delivery Technologies for Oral Delivery Applications. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 12(9), 1459–1473. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2014.06.018>.
- Prihapsara, F., Harini, M., Widiyani, T., Artanti, A. N., and Ani, I. L., 2017. Antidiabetic Activity of Self Nanoemulsifying Drug Delivery System from Bay Leaves (*Eugenia Polyantha Wight*) Ethyl Acetate Fraction. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 176(1), 12004. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/176/1/012004>.
- Puspita, O. E., Suwaldi, S., and Nugroho, A. K., 2016. Optimization of Self Nanoemulsifying Drug Delivery System for Pterostilbene. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 4(2). <https://doi.org/10.14499/JFPS>.
- Sa'adah, N. N., Purwani, K. I., Nurhayati, A. P. D., and Ashuri, N. M., 2017. Analysis of Lipid Profile and Atherogenic Index in Hyperlipidemic Rat (*Rattus Norvegicus Berkenhout, 1769*) that Given The Methanolic Extract of Parijoto (*Medinilla speciosa*). *AIP Conference Proceedings*, 1854(1), 20031. <http://dx.doi.org/10.1063/1.4985422>.
- Savale, S. K., 2015. A Review-Self Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS). *International Journal of Research in Pharmaceutical and Nano Sciences*, 4(6), 385–397. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.06.001>.
- Singh, Y., Meher, J. G., Raval, K., Khan, F. A., Chaurasia, M., Jain, N. K., and Chourasia, M. K., 2017. Nanoemulsion: Concepts, Development and Applications in Drug Delivery. *Journal of Controlled Release*, 252, 28–49. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.03.008>.
- Vanitasagar, S., and Subhashini, N. J. P., 2013. Novel Self-Nanoemulsion Drug Delivery System of Fenofibrate with Improved Bio-Availability. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(2), 511–521.
- Verges, B., 2009. Lipid Modification in Type 2 Diabetes: The Role of LDL and HDL. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 23(6), 681–685. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2009.00739.x>.
- Wahyuningsih, I., Sugiyanto, S., Yuswanto, Y., and Martein, R., 2017. Uji Kelarutan untuk Seleksi Fase Minyak, Surfaktan dan Kosurfaktan dalam Preparasi *Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS)* Furosemid. *Jurnal Ilmu Farmasi Dan Farmasi Klinik*, 99–104. <http://dx.doi.org/10.31942/jiffk.v0i0.1351>.
- Widyasari, R. A. H. E., Kusharto, C.M., B., Wiyono E.S., and Suseno, S. H., 2014. Nutritive Value and Fatty Acids Profile of Fresh Indonesian Eel (*Anguilla bicolor*) and Kabayaki. *Jurnal Sains Kesehatan Malaysia*, 12(1), 41–46. <https://doi.org/10.17576/jskm-1201-2014-06>.
- Zhong, J., Yang, R., Cao, X., Liu, X., and Qin, X., 2018. Improved Physicochemical Properties of Yogurt Fortified with Fish Oil/Γ-Oryzanol by Nanoemulsion Technology. *Molecules*, 23(1), 56. <https://doi.org/10.3390/molecules23010056>.