



Optimasi Komposisi Emulgator Formula Emulsi Air Dalam Minyak Jus Buah Stroberi (*Fragaria vesca* L.) dengan Metode *Simplex Lattice Design*

Optimization Emulgator Composition Of Water In Oil Emulsion Of Strawberry Fruits (*Fragaria vesca* L.) Based On Simplex Lattice Design Method

Dian Eka Ermawati^{1*}, Suwaldi Martodihardjo¹, and T.N.Saifullah Sulaiman¹

¹ Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNS, Surakarta

² Bagian Farmasetika, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta

³ Bagian Farmasetika, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta

*email korespondensi: dianekaerma@gmail.com

Abstrak: Kadar antosianin dan flavonoid dalam buah stroberi (*Fragaria vesca* L.) selama proses perlakuan akan mengalami penurunan. Sehingga dibutuhkan formulasi yang tepat untuk dapat menstabilkan kandungan antioksidan buah stroberi. Sediaan emulsi a/m menggunakan emulgator antara lain span 80, croduret 50 ss, dan propilen glikol yang dapat menghasilkan sediaan dengan stabilitas fisik yang baik dan mampu menstabilkan kandungan antioksidan dalam buah stroberi. Metode optimasi yang digunakan adalah *Simplex Lattice Design* dengan bantuan *software Design Expert® 7.1.5*. Batas atas dan batas bawah masing-masing komponen yaitu 1:1:1. Proporsi komposisi optimum span 80, croduret 50 ss, dan propilen glikol sediaan emulsi a/m buah stroberi berdasarkan *SLD* dari parameter stabilitas fisik : viskositas, rasio pemisahan (F), dan diameter globul emulsi adalah 2% : 4% : 2%. Hasil respon viskositas sebesar -0.85 log P.as, diameter globul emulsi 1.59 μm dan rasio pemisahan 0.99 cm. Nilai prediksi *SLD* untuk viskositas sebesar -0.56 log P.as, diameter globul emulsi 3.26 μm dan rasio pemisahan 0.97, tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara hasil observasi dengan prediksi.. Kadar flavonoid sebesar 23.30% b/v dan antosianin 13.23% b/v. Kadar flavonoid dan antosianin formula optimum emulsi a/m buah stroberi sebesar 20.00% b/v dan 11.67% b/v. Komposisi optimum emulgator mampu menstabilkan kandungan antioksidan buah stroberi karena penurunan kadar antioksidan menjadi $\pm 14\%$ setelah proses perlakuan.

Kata kunci : emulgator, emulsi a/m, *simplex lattice design*, antioksidan, buah stroberi

Abstract: Concentration of anthocyanins and flavonoids in strawberry (*Fragaria vesca* L.) would decline during process. Therefore, an optimum formulation is necessary to stabilize antioxidant capacity. Emulsion consists of water and oil components were not mixed with each other, thus requiring emulgator to create a system that was homogeneous and stable especially the concentration of antioxidant compounds in strawberry fruits. An emulsion water and oil used emulgator span 80, croduret 50 ss, and propylene glycol is able to produce an optimum formula of water/oil emulsion with good physical stability and stabilize the antioxidants ingredient. The optimization with *Simplex Lattice Design* method using *Design Expert® software 7.1.5*. Low limit and upper limit each components of emulgator were 1:1:1. Water/oil emulsion of strawberry fruits that use combination of 2% Span80, 4% croduret 50 ss, and 2% propylene glycol produced a physically stable emulsion with the observation results had no significant difference to the prediction results of *Simplex Lattice Design* (p-value > 0.05). The observation results of viscosity value was -0.85 log P.as, 1.59 μm diameter of emulsion globule, and 0.99 cm of separation ratio (F). The prediction value by SLD were -0.56 log P.as of viscosity, diameter of emulsion globule of 3.26 μm and 0.97 cm of separation ratio (F). Strawberry fruits contains 23.3% of flavonoid, and 13.23% of anthocyanin. The optimum formula had 20% of flavonoids and 11.67% of anthocyanin. Combination of emulgator can stable the antioxidant compound of strawberry fruits into water/oil emulsion formula. The antioxidant compounds in optimum formula decreased just $\pm 14\%$ after formulation process.

Keywords : *emulgator, water/oil emulsion, SLD, antioksidant, strawberry fruits*

1. Pendahuluan

Buah stroberi terkenal karena warnanya yang menarik, rasanya lezat, beraroma sedap, serta banyak mengandung nutrisi yang bermanfaat bagi kesehatan. Warna merah buah stroberi dikarenakan dua tipe zat warna antosianin, yang juga merupakan sumber antioksidan, yaitu *pelargonidin-3-O-glucoside* adalah pigmen warna merah cerah dan *cyanidin* adalah pigmen warna merah tua (Gössinger dkk., 2009). Kandungan total antosianin dalam buah stroberi antara 200-600 mg/kg, *pelargonidin-3-O-glucoside* sebagai glikon sekitar 77-90% diikuti *pelargonidin-3-rut 6-11%* sebagai aglikon dan *cyanidin-3-glucoside* sebagai glikon 3-10% (da Silva dkk., 2007). Kandungan aktif antosianin dan kuersetin dalam buah stroberi selama proses perlakuan, jumlahnya akan mengalami penurunan masing-masing 53% untuk kandungan *pelargonidin-3-O-glucoside* (Bursac Kovačević dkk., 2009) dan 40% untuk kandungan flavonoid kuersetin (Häkkinen dkk., 2000). Antosianin jus buah stroberi yang merupakan antioksidan, memiliki stabilitas dan daya penetrasi ke dalam kulit yang rendah. Bentuk sediaan topikal, akan memberikan efek optimal apabila zat aktif mampu lepas dari pembawanya, kemudian kemampuan dalam menembus lapisan kulit sampai ke target aksinya.

Emulsi dalam sediaan kosmetik dapat mengontrol pelepasan dan mengoptimalkan penyebaran komponen aktif sediaan kosmetik terutama transpor komponen hidrofilik sampai ke lapisan kulit terdalam, sehingga meningkatkan efek bioaktif dari sediaan kosmetik (Ali dkk., 2012). Tipe emulsi yang dipilih sebagai sistem pembawa adalah emulsi a/m (air/minyak). Sediaan emulsi a/m yang stabil membutuhkan emulgator yang tepat, agar dapat menyatukan komponen air dan minyak. Emulgator yang biasa digunakan adalah span

80, cremofor, dan propilen glikol karena memiliki fungsi tidak hanya sebagai emulgator, namun juga sebagai humektan, *emollient* serta *co solven* (Rowe dkk., 2013). Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan komposisi optimum dari tiga komponen emulgator yaitu : span 80, croduret 50 dan propilen glikol menggunakan metode *Simplex Lattice Design*. *Simplex Lattice Design (SLD)* merupakan suatu metode optimasi yang digunakan untuk mendapatkan komponen formula dengan jumlah proporsi komposisi bahan dalam campuran, sehingga didapatkan campuran komposisi bahan yang optimal hanya dengan menggunakan beberapa perbandingan (Bolton dan Bon, 2003).

Peneliti belum menemukan penelitian mengenai optimasi komposisi tiga emulgator dalam pembuatan sediaan emulsi jus buah stroberi. Hasil penelitian ini diharapkan diperoleh komposisi optimum tiga jenis emulgator yaitu span 80, croduret 50, dan propilen glikol sehingga diperoleh sediaan emulsi a/m yang stabil, dan dapat melindungi komponen aktif antosianin dan flavonoid akibat pengaruh lingkungan.

2. Bahan dan Metode

2.1. Alat dan Bahan

Alat

Alat gelas, *stirrer* kecepatan 100-2000 rpm (Stuart *Overhead Stirrer*), neraca analit (Sartorius BP 310P), mikropipet, pH meter (Hanna), pH-*indicator strips* (E.Merck), *hotplate*, *magnetic stirrer* (Stuart CB162), spektrofotometer UV-VIS (Genesys 10 UV *Scanning*), alat difusi tipe Franz (Pearmea Gear, dibuat oleh laboratorium proses material Departemen Teknik Fisika ITB), Viskometer *Brookfield cone and plate* (DV-I Prime), mikroskop digital (Olympus CX-41), *sentrifuge* kecepatan 600-6000 rpm (5804R), pipet volume 1,0 mL (*pyrex*), *climated chamber* suhu 45°C, lemari pendingin (toshiba), stopwatch (QQ), *Moisture Ballance* (Ohaus MB23, Germany), alat *Freez-Drying* (alpha LD plus), membran selofan (*Spectrapor membrane tubing MW cutoff 6000-8000*), *Blander* (National), alat-alat gelas (*pyrex*).

Bahan

Buah stroberi segar dipanen di desa Banyuroto, Kecamatan Sawangan, Magelang, Jawa Tengah, Span 80 (Bratachem), Isopropil miristat kualitas p.a (E.Merck), etanol 96% p.a (E.Merck), aquadest, propilen glikol farmasetis (Bratachem), croduret 50 ss (CRODA), HCl 0,1% (E.Merck), PEG-400 (Bratachem), polygel Ca (Bratachem), TEA (Bratachem), Tween 80 (Bratachem), reagen DPPH (Sigma), baku kuersetin (sigma), KCl (E.Merck), CH₃COONa (E.Merck), Na₂HPO₄ (dinatrium fosfat) anhidrat (E.Merck), KH₂PO₄ (mono kalium fosfat), HCl 37% p.a (E.Merck), kertas whattmann No.1, kertas saring, *shed snake skin* (pemelihara ular, Yogyakarta), NaCl (E.Merck), Asam Benzoat (Bratachem), asam sitrat (Bratachem).

2.2. Penyiapan sampel buah stroberi

Tanaman stroberi meliputi daun, tangkai, bunga, dan buah stroberi, dilakukan identifikasi di Laboratorium Taksonomi Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Buah stroberi yang sudah matang, berwarna merah dipetik dan dicuci dengan air mengalir. Buah stroberi yang sudah bersih, selanjutnya ditimbang seberat 2,0 kg

kemudian diblender dan disaring. Larutan jus buah stroberi tersebut dikeringkan dengan metode *freeze-drying* hingga mudah untuk diremah (Departemen Kesehatan, 2009).

2.3. Deteksi Kandungan Aktif Buah Stroberi dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

2.3.1. Penetapan kadar flavonoid total

Larutan stok baku kuersetin I 25mg/25 mL diambil sejumlah 1,0 mL ad 50,0 mL etanol 96% p.a (stok II). Larutan stok II diambil sejumlah 100,0 μ L; 200,0 μ L; 300,0 μ L; 400,0 μ L; dan 500 μ L ke dalam labu takar 5,0 mL kemudian ditambahkan etanol 96% p.a. untuk mendapatkan seri kadar. Seri larutan tersebut diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimum flavonoid.

Larutan uji buah stroberi 500 mg/5,0 mL dalam etanol 96% p.a dilakukan penggojogan selama 30 detik, selanjutnya larutan disaring. Filtrat buah stroberi diambil sejumlah 1,0 mL ke dalam labu takar 50,0 mL dan ditambahkan etanol 96% p.a. Larutan jus buah stroberi kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimum kuersetin dengan menggunakan blanko larutan etanol 96% p.a.

2.3.2. Penetapan kadar antosianin total

Buah stroberi ditimbang 1,0 gram dan dilarutkan dengan menggunakan campuran larutan HCl 0,1%-etanol 96% p.a pada perbandingan 85%-15% (Tonutare dkk., 2014) dalam labu takar 10,0 mL, kemudian disaring menggunakan kertas *whatmann* no.1. *Scanning* dilakukan pada rentang panjang gelombang 200-700 nm untuk mengetahui panjang gelombang maksimum.

Masing-masing sejumlah 1,0 mL dalam labu takar 50,0 mL dan ditambahkan dengan larutan dapar KCl 0,025 M pH 1 dan dapar CH₃COONa 0,4 M pH 4,5. Larutan selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimal antosianin dan pada panjang gelombang 700 nm. Kadar antosianin total dalam buah stroberi dihitung menggunakan rumus (Tonutare dkk., 2014).

2.4. Optimasi formula emulsi air/minyak buah stroberi

Formula emulsi primer a/m yang tertera pada tabel 1, konsentrasi jus buah stroberi yang sebagai komponen aktif adalah 1% dihitung terhadap bobot total sediaan yang dibuat. Komponen emulgator yaitu span 80, croduret 50, dan propilen glikol adalah komponen yang akan dilakukan optimasi dengan metode *Simplex Lattice Design*. Penentuan aras tinggi dan aras rendah berdasarkan persentase penggunaan komponen emulgator pada sediaan topikal (Rowe dkk., 2013), tersaji pada tabel 2. Penentuan perbandingan komposisi emulgator span 80, croduret 50, dan propilen glikol dalam sediaan emulsi a/m, dengan menggunakan *software Desain Expert 7.1.5*. Nilai batas atas dan bawah tersebut dimasukkan dalam *software Desain Expert 7.1.5* setelah itu akan didapatkan 14 formula dengan perbandingan komposisi emulgator yang berbeda.

Tabel 1. Orientasi formula emulsi a/m jus buah stroberi

Tahap pembuatan	Bahan	Komposisi (% b/v)
-----------------	-------	-------------------

		Formula I	Formula II
Emulsi Primer A/M	Jus buah stroberi	1	1
	Pelarut yang sesuai*	12	17
	Asam Benzoat	0,1	0,1
	Span 80	8	13
	Croduret 50		
	Propilen Glikol		
	Isopropil Miristat	18,9	28,9

*Hasil stabilitas fase air yang menstabilkan warna merah jus buah stroberi

Kombinasi pelarut PEG 400-HCl 0,1% (15%-85%) merupakan hasil uji pelarut optimal bebas alkohol untuk melarutkan buah stroberi serta menstabilkan warna dan kandungan aktif buah stroberi. Komponen emulsi primer a/m dengan isopropil miristat sebagai fase minyak, dan menggunakan pelarut PEG 400-HCl 0,1% (15%-85%) sebagai fase air. Emulgator yang digunakan adalah span 80, croduret 50, dan propilen glikol. Buah stroberi 1,0 gram dilarutkan dengan 12,0 mL pelarut, kemudian disaring dan ditambahkan asam benzoat 0,1%. Sejumlah 19,0 mL isopropil miristat sebagai fase minyak dituang ke dalam beker gelas 250,0 mL, selanjutnya ditambahkan campuran emulgator span 80, croduret 50 dan propilen glikol, aduk dengan menggunakan *stirrer* pada kecepatan 2000 rpm. Fase air yang mengandung buah stroberi dituangkan sedikit demi sedikit ke dalam campuran emulgator dan fase minyak, pengadukan dilakukan selama 15 menit pada suhu ruang ($25\pm 2^\circ\text{C}$) hingga terbentuk emulsi a/m yang homogen (Lachman dkk., 2007).

Tabel 2. Penentuan aras rendah dan aras tinggi berdasarkan konsentrasi penggunaan emulgator pada sediaan topikal

Faktor	Span 80		Croduret 50		Propilen Glikol	
Konsentrasi	1-15%		1-10%		1-15%	
Formula	I	II	I	II	I	II
Aras Rendah	2	3	2	3	2	3
Aras Tinggi	4	7	4	7	4	7

2.5. Evaluasi stabilitas fisik emulsi a/m jus buah stroberi

2.5.1. Pengamatan diameter globul emulsi primer a/m

Emulsi a/m jus buah stroberi dituangkan di atas objek gelas secukupnya, lalu ditambahkan akuades kemudian dihomogenkan menggunakan spatula. Larutan ditutup dengan objek gelas dengan ukuran lebih kecil, lalu dilakukan pengamatan dengan mikroskop digital pada perbesaran 40x skala objektif. Mikroskop terintegrasi dengan layar yang akan menampilkan gambar bentuk globul dengan skala ukuran diameter emulsi a/m (Lachman dkk., 2007).

2.5.2. Fase pemisahan emulsi a/m jus buah stroberi

Emulsi a/m masing-masing sejumlah 7,0 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, selanjutnya dilakukan pemutaran menggunakan alat sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Dilakukan pengamatan ada tidaknya pemisahan fase.

2.5.3. Viskositas emulsi a/m jus buah stroberi

Emulsi a/m sejumlah 15,0 mL dituangkan ke dalam gelas aluminium pada alat *viscometer Brookfield cone and plate* pada suhu konstan (25°C) dengan kecepatan *spindle* 50-100 rpm selama 7,5 menit.

2.5.4. Penentuan perbandingan komposisi optimum komponen emulgator span 80, croduret 50, dan propilen glikol

Data uji parameter sifat fisik sediaan emulsi a/m yaitu viskositas, rasio pemisahan (F), dan diameter globul emulsi selanjutnya dimasukkan kedalam kolom respon. Data uji parameter sifat fisik sediaan emulsi a/m kemudian dianalisa menggunakan *software Desain Expert 7.1.5*. Berdasarkan persamaan *matematis* masing-masing respon, maka akan didapatkan diagram *counter plot* masing-masing parameter stabilitas fisik emulsi a/m. Diagram *counter plot* masing-masing parameter stabilitas fisik emulsi a/m kemudian dibuat diagram *super imposed counter plot* untuk menentukan daerah optimum.

2.6. Penetapan kadar flavonoid dan antosianin formula optimum

Formula optimum mikroemulgel buah stroberi ditimbang seksama 1,0 gram, kemudian dilarutkan dengan etanol 96% p.a hingga batas pada labu takar 10,0 mL (stok I), larutan kemudian *divortex* untuk menghomogenkan campuran. Larutan stok I diambil sejumlah 1,0 mL ke dalam labu takar 50,0 mL kemudian ditambahkan etanol 96% p.a, selanjutnya disaring menggunakan kertas saring. Dilakukan pembacaan absorbansi filtrat pada panjang gelombang maksimal flavonoid. (Häkkinen dkk., 2000).

Formula optimum mikroemulgel buah stroberi ditimbang seksama 1,0 gram, selanjutnya dilarutkan dengan menggunakan kombinasi larutan HCl 0,1%-etanol 96% p.a (85%-15%) sampai tanda batas yang tertera pada labu takar 10,0 mL (stok). Larutan stok selanjutnya disaring kemudian diambil masing-masing sejumlah 1,0 mL ke dalam labu takar 50,0 mL, lalu ditambahkan dapar KCl 0,025 M pH 1 dan dapar CH₃COONa 0,4 M pH 4,5 sampai tanda batas pada labu takar. Masing-masing larutan selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimal antosianin dan panjang gelombang 700 nm.

2.7. Analisa data

2.7.1. Perhitungan kadar flavonoid buah stroberi dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier hasil dari pembuatan kurva baku antara konsentrasi flavonoid dengan nilai absorbansi. Nilai Y adalah nilai absorbansi buah stroberi.

$$Y = Bx + A \dots \dots \dots (1)$$

2.7.2. Perhitungan kadar antosianin buah stroberi dengan menggunakan rumus (Tonutare dkk., 2014) :

$$A = (A \lambda_{max} - A \lambda_{700nm}) \text{ pH } 1,0 - (A \lambda_{max} - A \lambda_{700nm}) \text{ pH } 4,5 \dots \dots \dots (2)$$

Total antosianin sebagai pelargonin dihitung dengan rumus :

$$\text{Total Antosianin } \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{(A \times BM \times FP \times 1000)}{\epsilon \times l} \dots \dots \dots (3)$$

Keterangan :

ϵ : 15.600 L/mol

BM : 445

l : tebal kuvet (cm)

FP : faktor pengenceran
 λ_{max} : serapan paling tinggi sampel
 $\lambda_{700\text{ nm}}$: serapan antosianin stroberi

2.7.3. Perhitungan rasio pemisahan (F) uji stabilitas fisik mikroemulsi a/m dengan sentrifugasi, dengan menggunakan rumus :

$$F = \frac{V_u}{V_o} \dots \dots \dots (4)$$

Keterangan :
 F : rasio pemisahan
 V_u : volume emulsi yang masih stabil (cm)
 V_o : volume seluruh emulsi (cm)

2.7.4. Data hasil uji stabilitas fisik formula optimum mikroemulsi a/m maupun mikroemulgel buah stroberi dengan hasil prediksi *Simplex Lattice Design* dianalisa dengan uji statistik *Student's t-Test* satu arah dengan tingkat kepercayaan 95% terhadap setiap parameter.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Preparasi Buah Stroberi

Hasil identifikasi anatomi dan morfologi tanaman stroberi yang meliputi daun, tangkai, bunga dan buah stroberi menyebutkan bahwa tanaman stroberi yang berasal dari Desa Banyuroto Magelang adalah tanaman stroberi dari Familia : *Rosaceae*, Genus : *Fragaria*, serta Spesies : *Fragaria vesca* L. atau tanaman stroberi liar.

Proses *freeze drying* dilakukan dengan tujuan untuk mengurangi kandungan air yang terkandung dalam buah stroberi hingga mencapai < 10% sehingga dapat menghambat reaksi enzimatis, serta melindungi dari tumbuhnya mikroba (Departemen Kesehatan, 2009), namun tanpa menggunakan pemanasan, sehingga tidak merusak kandungan aktif yang tidak stabil terhadap suhu dan pH. Proses *freeze drying* dilakukan selama 96 jam hingga didapatkan sampel kering buah stroberi. Berat buah stroberi setelah mengalami proses *freeze drying* selama 96 jam adalah 279,24 gram dari bobot awal buah stroberi 2000,0 gram, sehingga dapat dihitung randemen sampel adalah 13,96%. Sampel buah stroberi disimpan didalam *freezer* lemari pendingin sebelum digunakan, karena penyimpanan pada suhu rendah dapat menstabilkan warna serta kandungan aktif buah stroberi sampai lebih dari satu tahun (Gössinger dkk., 2009). Hasil penimbangan sampel buah stroberi adalah 1,02 gram, setelah dilakukan pemanasan pada suhu 105°C dengan menggunakan alat *Moisture Ballance* bobotnya akhir menjadi 0,88 gram. *Moisture content* atau kandungan zat menguap yang masih terkandung dalam buah stroberi adalah 13,46%.

3.2. Penetapan kadar flavonoid dan antosianin total buah stroberi

Hasil pengukuran panjang gelombang maksimal flavonoid kuersetin dalam pelarut etanol 96% p.a pada rentang 200-600 nm adalah 377 nm. Nilai koefisien korelasi diatas 0,99 menunjukkan bahwa metode analisa yang digunakan memiliki linearitas yang baik, dan dapat memberikan respon yang proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel (Miller dan Miller, 2005). Berdasarkan hasil pengukuran absorbansi buah stroberi, maka dipilih kurva baku flavonoid kuersetin pada rentang konsentrasi 2,0-10,0 $\mu\text{g/mL}$. Hubungan antara kadar flavonoid kuersetin dengan nilai absorbansinya diperoleh

persamaan kurva baku $y = 0,0675x - 0,004$. Rata-rata kadar flavonoid dalam buah stroberi pada stok II (2 mg/mL) adalah 4,652 $\mu\text{g/mL}$, atau sama dengan 23,3%.

Hasil *scanning* panjang gelombang maksimum buah stroberi dalam pelarut HCl 0,1%-etanol adalah 496 nm terdapat dua peak pada 271 nm dan 496 nm, berdasarkan hasil uji *scanning* panjang gelombang larutan buah stroberi memiliki kandungan antosianin yang mendekati nilai panjang gelombang *pelargonin-3,5-diglucoside*. Menurut (da Silva dkk., 2007) pigmen dominan dalam buah stroberi adalah *pelargonin-3-diglucoside* dengan prosentase 77-90%. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimal antosianin dalam pelarut HCl 0,1-etanol 96% p.a (85%-15%) adalah 496 nm, *scanning* dilakukan pada rentang panjang gelombang 350-550 nm. Setelah dihitung menggunakan rumus Tonutare dkk (2014) didapatkan rata-rata kadar antosianin jus buah stroberi yang dihitung sebagai *pelargonin-3,5-diglucoside* adalah 13,23% didalam kadar sampel jus buah stroberi 2,01 mg/mL atau 265,77 ppm.

3.3. Evaluasi dan optimasi formula emulsi a/m dengan metode *Simplex Lattice Design*

Setelah dibuat 14 formula emulsi primer sesuai hasil *run software Desain Expert 7.1.5* maka tahap selanjutnya adalah melakukan evaluasi stabilitas fisik emulsi a/m jus buah stroberi yang meliputi : viskositas, diameter globul emulsi, dan rasio pemisahan (F). Hasil uji stabilitas fisik emulsi a/m tersaji pada Tabel-3.

3.3.1. Viskositas

Viskositas dijadikan parameter uji stabilitas emulsi karena semakin tinggi viskositas emulsi maka kecepatan pemisahan emulsi akan semakin berkurang, misalnya *creaming*, yaitu memisahkannya fase terdispersi yang membentuk lapisan diatas permukaan fase kontinyu. Persamaan yang diperoleh merupakan persamaan *special cubic*. Terdapat faktor interaksi antara span 80-croduret 50-propilen glikol, dimana interaksi ketiga faktor memberikan pengaruh positif atau meningkatkan viskositas emulsi a/m jus buah stroberi dengan harga koefisien yaitu + 3,47.

3.3.2. Fase Pemisahan

Emulsi menjadi tidak stabil karena terjadinya *creaming*, *breaking*, *coalescence*, inversi dan faktor lainnya. Umumnya untuk dapat mengamati peristiwa rusaknya emulsi diperlukan waktu yang tidak singkat, namun dalam beberapa penelitian, uji stabilitas dipercepat digunakan untuk mempersingkat waktu pengamatan. Gaya sentrifugasi yang tepat akan menyebabkan pemisahan minyak dengan merusak lapisan emulgator yang terabsorpsi disekeliling masing-masing butiran. Semakin stabil emulsi, maka semakin besar gaya sentrifugasi yang dibutuhkan untuk dapat merusak lapisan emulgator. Model *quadratic* menyatakan bahwa interaksi kedua faktor memberikan pengaruh negatif atau menurunkan stabilitas emulsi, yaitu interaksi antara komponen span 80-croduret 50 memiliki pengaruh lebih besar dengan harga koefisien -0,34 bila dibandingkan dengan interaksi antara span 80-propilen glikol dengan harga koefisien -0,17.

3.3.3. Diameter globul emulsi a/m

Hasil pengukuran diameter globul emulsi mempunyai ukuran yang *polydispers* (heterogen) yaitu tidak seragam atau bermacam-macam dalam rentang 1,59 μm - 9,69 μm .

Ukuran tetes minyak yang semakin kecil menyebabkan luas permukaan semakin besar, maka area yang terabsorpsi juga semakin luas (Perez-Moral dkk., 2014). Interaksi masing-masing dua faktor komponen emulgator memberikan pengaruh positif atau berpotensi meningkatkan ukuran diameter globul emulsi yang terbentuk, dengan interaksi terbesar antara komponen span 80-croduret 50 dengan harga koefisien terbesar yaitu +4,63. Interaksi ketiga komponen *emulsifier* tidak berpengaruh terhadap besar kecilnya diameter globul emulsi yang terbentuk.

Tabel-3. Hasil parameter respon fisik emulsi a/m jus buah stroberi

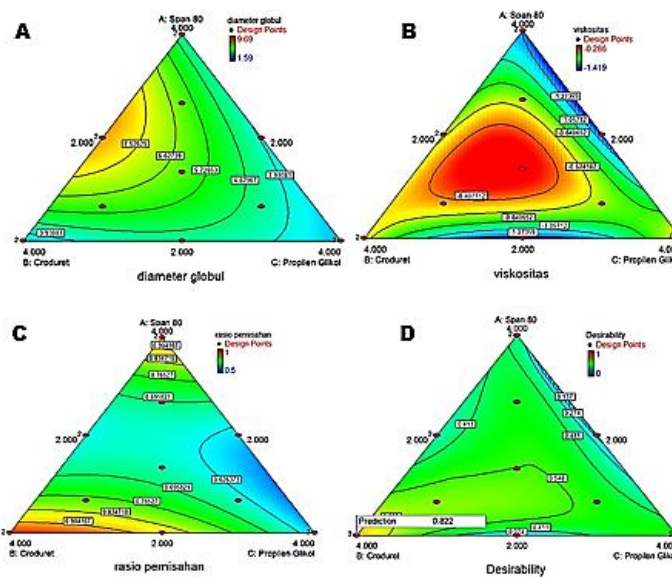
Run	Komponen			Respon		
	Span 80 (%)	Croduret 50 (%)	Propilen Glikol (%)	Diameter globul (µm)	Viskositas (log P.as)	Rasio Pemisahan (F)
1	2,00	2,00	4,00	1,59	-0,525	0,56
2	2,00	4,00	2,00	2,86	-0,625	0,92
3	3,00	2,00	3,00	4,24	-1,419	0,60
4	3,33	2,33	2,33	5,22	-0,538	0,74
5	3,00	3,00	2,00	9,69	-0,453	0,67
6	2,00	4,00	2,00	4,09	-0,539	1,00
7	4,00	2,00	2,00	3,03	-1,278	0,94
8	2,00	3,00	3,00	5,20	-1,339	0,84
9	2,33	2,33	3,33	4,77	-0,795	0,75
10	4,00	2,00	2,00	5,61	-1,339	1,00
11	2,33	3,33	2,33	3,94	-0,286	0,90
12	3,00	3,00	2,00	8,34	-0,972	0,59
13	2,00	2,00	4,00	4,09	-0,447	0,60
14	2,67	2,67	2,67	6,51	-0,366	0,50

Tabel-4. Analisa komposisi optimum berdasarkan Simplex Lattice Design [response variable]

<i>Response variable</i>	<i>Mathematical equation</i>	<i>Mathematical modelling</i>	<i>p-value [ANOVA] p>0,005</i>
Diameter globul	$-5,75 (A) - 8,47 (B) + 0,32 (C) + 4,63 (A)(B) + 0,18 (A)(C) + 1,28 (B)(C)$	<i>quadratic</i>	0,028
Viskositas	$10,06 (A) + 10,99 (B) + 12,58 (C) - 6,69 (A)(B) - 7,47 (A)(C) - 7,75 (B)(C) + 3,47 (A)(B)(C)$	<i>Special cubic</i>	0,005
Rasio Pemisahan [harga F]	$0,98 (A) + 0,45 (B) - 0,07 (C) - 0,34 (A)(B) - 0,17 (A)(C) + 0,09 (B)(C)$	<i>quadratic</i>	0,005

Berdasarkan hasil optimasi yang dilakukan dengan bantuan piranti lunak *Desain Expert versi 7.1.5* diperoleh dua solusi formula yang sesuai dengan target optimasi yang diharapkan. Formula yang dipilih dari dua solusi tersebut adalah formula dengan nilai *desirability* yang paling besar. *Desirability* merupakan sebuah nilai yang menyatakan kedekatan antara proses optimasi yang dilakukan dengan target yang ingin dicapai. Nilai *desirability* ini berkisar antara nol sampai dengan satu. Nilai *desirability* yang mendekati satu menandakan bahwa variabel respon yang dipilih dapat mencapai titik optimum sesuai

dengan target yang dikehendaki, sedangkan nilai *desirability* yang mendekati nol menandakan bahwa optimasi sulit dilakukan dengan berdasarkan variabel respon yang dipilih. Hasil optimasi formula optimum tersaji pada tabel-5. Terpilih satu formula optimum yaitu formula dengan perbandingan komposisi emulgator span 80 sebesar 2%, croduret 50 sebesar 4%, dan propilen glikol sebesar 2% yang memiliki nilai *desirability* 0,822.



Gambar-1. Diagram counter plot masing-masing parameter stabilitas fisik dan diagram super impose komposisi formula optimum berdasarkan SLD

Tabel 3. Hasil optimasi formula optimum emulsi a/m dengan piranti lunak DX 7.1.5

Span 80	Croduret 50	Propilen Glikol	Diameter Globul	Viskositas	Rasio Pemisahan	<i>Desirability</i>
2,000	4,000	2,000	3,262	-0,560	0,974	0,822
2,000	2,081	3,919	3,241	-0,638	0,621	0,526

Hasil verifikasi respon formula optimum prediksi *Simplex Lattice Design* dengan bantuan piranti lunak *DX 7.1.5* dan hasil uji disajikan pada table-6. Berdasarkan hasil analisa statistik dengan taraf kepercayaan 95% diperoleh bahwa perbedaan yang ada antara data prediksi dan data uji untuk semua parameter stabilitas fisik emulsi primer jus buah stroberi, memiliki perbedaan yang tidak bermakna (*p-value* lebih besar dari 0,05). Dapat disimpulkan bahwa antara data prediksi dengan data uji memiliki nilai yang sama atau tidak berbeda secara statistik.

3.4. Penetapan kadar flavonoid dan antosianin formula optimum emulsi a/m buah stroberi

Penetapan kadar flavonoid dalam formula optimum menggunakan persamaan kurva baku kuersetin dengan rentang konsentrasi 0,4-2,0 µg/mL. Hasil perhitungan linearitas kurva baku kuersetin dalam pelarut etanol 96% p.a didapatkan persamaan kurva baku yaitu $y = 0,0763x + 0,0017$ dari harga koefisien korelasi (*r*) lebih dari 0,99. Hasil absorbansi formula optimum sediaan emulsi a/m buah stroberi didapatkan rata-rata kadar flavonoid dalam formula optimum emulsi a/m buah stroberi adalah 4,472 µg/mL, atau sama dengan

20%. Menurut penelitian yang menyebutkan bahwa buah stroberi mengandung flavonoid kuersetin 0,17mg/100g, setelah mengalami perlakuan atau proses pembuatan sediaan pada suhu ruang, maka kadar kuersetin akan mengalami penurunan sebesar 40% (Häkkinen dkk., 2000).

Penetapan kadar antosianin menggunakan rumus Tonutare dkk (2014), dimana kadar antosianin total dihitung sebagai pelargonin, sesuai dengan komponen terbesar penyusun zat warna merah pada buah stroberi yang digunakan dalam penelitian ini. Prinsip perhitungan kadar antosianin adalah perlakuan kondisi pH yang berbeda yaitu pH 1 dan pH 4,5. Pada pH 1 diasumsikan warna merah buah stroberi stabil pada serapan yang optimum, sedangkan pada pH 4,5 tidak terdapat pigmen warna antosianin dan memiliki absorbansi mendekati nol. Kadar antosianin dalam konsentrasi 2,01 mg/mL buah stroberi yang dihitung sebagai pelargonin adalah 11,67%.

4. Kesimpulan

Proporsi komposisi optimum span 80, croduret 50 ss, dan propilen glikol sediaan emulsi a/m buah stroberi berdasarkan *SLD* dari parameter stabilitas fisik : viskositas, rasio pemisahan (F), dan diameter globul emulsi adalah 2% : 4% : 2%. Hasil respon viskositas sebesar $-0.85 \log P.as$, diameter globul emulsi 1.59 μm dan rasio pemisahan 0.99 cm. Nilai prediksi *SLD* untuk viskositas sebesar $-0.56 \log P.as$, diameter globul emulsi 3.26 μm dan rasio pemisahan 0.97, tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara hasil observasi dengan prediksi berdasarkan statistik *student's t-test* Kadar flavonoid sebesar 23.30% b/v dan antosianin 13.23% b/v. Kadar flavonoid dan antosianin formula optimum emulsi a/m buah stroberi masing-masing sebesar 20.00% b/v dan 11.67% b/v. Komposisi optimum emulgator mampu menstabilkan kandungan antioksidan buah stroberi dengan penurunan kadar antioksidan $\pm 14\%$ setelah proses perlakuan.

Daftar Pustaka

- Ali, M.D., Alam, M.I., Shamim, M., Imam, F., Anwer, T., Siddiqui, M.R., dkk., 2012. Design and Characterization of Nanostructure Topical Gel of Betamethasone Dipropionate for Psoriasis.
- Bolton, S. dan Bon, C., 2003. *Pharmaceutical Statistics: Practical and Clinical Applications, Revised and Expanded*, 4 edition. ed. CRC Press, New York.
- Kubo, H., Fujii, K., Kawabe, T., Matsumoto, S., Kishida, H., dan Hosoe, K., 2008. Food content of ubiquinol-10 and ubiquinone-10 in the Japanese diet. *Journal of Food Composition and Analysis*, **21**: 199–210.
- Korać, R., Krajišnik, D., Savić, S., Pantelić, I., Jovančić, P., Cekić, N., dkk., 2014. A new class of emulsion systems – Fast inverted o/w emulsions: Formulation approach, physical stability and colloidal structure. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **461**: 267–278.
- Lee, J., Durst, W.R., Wrolstad, E.R. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruits Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by pH Differential Methods : Collaborative Study. *Journal of AOAC International* Vol.88, No.5, 2005.
- Musa, K.H., Abdullah, A., Kuswandi, B., dan Hidayat, M.A., 2013. A novel high throughput method based on the DPPH dry reagent array for determination of antioxidant activity. *Food Chemistry*, **141**: 4102–4106.
- Patras, A., Brunton, N.P., Tiwari, B.K., dan Butler, F., 2009. Stability and Degradation Kinetics of Bioactive Compounds and Colour in Strawberry Jam during Storage. *Food and Bioprocess Technology*, **4**: 1245–1252.

- Patel D.M. and Patel N.M. Gastroretentive drug delivery system of carbamazepine: Formulation optimization using simplex lattice design : A technical note, AAPS PharmSciTech. 2007; 8(1): 82–86.
- Prajapati S. D. and Patel D.L. Floating matrix tablets of domperidone : formulation and optimization using simplex lattice design. Thai J. Pharm. Sci. 2009; 33:113-122.
- Sapei, L. dan Hwa, L., 2014. Study on the Kinetics of Vitamin C Degradation in Fresh Strawberry Juices. *Procedia Chemistry*, International Conference and Workshop on Chemical Engineering UNPAR 2013 (ICCE UNPAR 2013) **9**: 62–68.
- Satish, K.M., Saugat, A., Ameya, A.D. Application of Simplex Lattice Design in Formulation and Development of Buoyant Matrices of Dipyridamole. Journal : Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol.2[12] pp.107-111. Desember 2012. Doi : 10.7324/JAPS.2012.21221.
- Suhesti, T.S., Fudholi, A., Martien, R., Application of Simplex Lattice Design for The Optimization of The Pyroxicam Nanosuspensions Formulation using Evaporative Antisolvent Technique. Journal : International Journal of Pharmaceutical and Clinical research. 2016. 8[5] suppl : 433-439. ICPAPS 2015. Faculty of Pharmacy. Gadjah Mada University. Yogyakarta.
- Vollrath, K.M., Subongkot, T., Ngawhirunpat, T. Model Membrane From Shed Snake Skins. World Academy of Science Engineering and Technology. International Journal of Medical Health, Biomedical and Pharmaceutical Engineering Vol : 7, No : 10, 2013.
- Wang, S.Y. dan Jiao, H., 2000. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**: 5677–5684.
- Zhu, Q., Nakagawa, T., Kishikawa, A., Ohnuki, K., dan Shimizu, K., 2015. In vitro bioactivities and phytochemical profile of various parts of the strawberry (*Fragaria × ananassa* var. Amaou). *Journal of Functional Foods*, **13**: 38–49.