

# FORMULASI DAN STABILITAS MIKROEMULSI O/W DENGAN METODE EMULSIFIKASI SPONTAN MENGGUNAKAN VCO DAN MINYAK SAWIT SEBAGAI FASE MINYAK: PENGARUH RASIO SURFAKTAN-MINYAK

Formulation and Stability of O/W Microemulsion by Spontaneous Emulsification Method Using VCO and Palm Oil as oil Phase: Effect of Surfactant Oil Ratio

Setyaningrum Ariviani<sup>1</sup>, Sri Raharjo<sup>2</sup>, Sri Anggrahini<sup>2</sup>, Sri Naruki<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Sebelas Maret,  
Jl. Ir. Sutami No. 36A, Kentingan, Surakarta 57126

<sup>2</sup>Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian,  
Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora No. 1 Bulaksumur, Yogyakarta 55281  
Email: setya\_ariviani@yahoo.com

## ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk (1) formulasi mikroemulsi o/w dengan variasi rasio surfaktan-minyak, (2) menentukan stabilitas mikroemulsi terhadap sentrifugasi, pemanasan dan penyimpanan suhu ruang, dan (3) karakterisasi mikroemulsi dengan stabilitas terbaik. Mikroemulsi dibuat menggunakan campuran tiga surfaktan *food grade* yaitu surfaktan HLB rendah (span 80), sedang (span 20 atau span 40), dan tinggi (tween 80), dengan rasio surfaktan minyak 2, 3, 4 dan 5. VCO dan minyak kelapa sawit digunakan sebagai fase minyak, 10  $\mu$ M bufer fosfat pH 7 sebagai fase *aqueous*. Mikroemulsi o/w terbentuk pada rasio surfaktan minyak 3 atau lebih untuk penggunaan VCO dan pada rasio surfaktan minyak yang lebih tinggi (yaitu 4 atau 5) untuk penggunaan minyak sawit sebagai fase minyak. Mikroemulsi dengan fase minyak VCO yang stabil terhadap sentrifugasi, pemanasan maupun penyimpanan suhu ruang adalah mikroemulsi dengan rasio surfaktan-minyak 4 atau 5, sedangkan penggunaan minyak sawit sebagai fase minyak menghasilkan mikroemulsi yang stabil pada rasio surfaktan-minyak 4. Mikroemulsi dengan rasio surfaktan-minyak 4 memperlihatkan stabilitas terbaik. Mikroemulsi tersebut memiliki distribusi ukuran partikel monomodal, rerata diameter partikel dan viskositas mencapai  $21,7 \pm 0,02$ nm dan  $6,0 \pm 0,10$ cp (VCO),  $22,9 \pm 0,15$ nm dan  $6,2 \pm 0,05$ cp (minyak sawit).

**Kata kunci:** Mikroemulsi, formulasi, stabilitas, surfaktan minyak

## ABSTRACT

This study was aimed to (1) formulate o/w microemulsion using different surfactant oil ratio, (2) determine the microemulsions stability toward centrifugation, heating and storage at room temperature, and (3) characterize microemulsions which were shown the best stability. Microemulsions were prepared using ternary food grade surfactant with low HLB (span 80), medium HLB (span 20 or span 40) and high HLB (tween 80), and surfactant oil ratio 2,3,4 and 5. VCO and palm oil were used as oil phase, whereas 10  $\mu$ M phosphate buffer pH 7 was used as aqueous phase. O/W microemulsion were formed at surfactant oil ratio 3 or more for VCO and at higher surfactant oil ratio (i.e 4 or 5) when palm oil was used as oil phase. Microemulsions with VCO as oil phase which were stable toward centrifugation, heating treatment and storage at room temperature i.e. microemulsions with surfactant oil ratio 4 or 5, while the use of palm oil as oil phase produce stable microemulsions at surfactant oil ratio 4. Microemulsions with surfactant oil ratio 4 showed the best stability. This microemulsions have a monomodal particle size distribution, the mean particle diameter and viscosity reached  $21.7 \pm 0.02$ nm and  $6.0 \pm 0.10$ cp (VCO),  $22.9 \pm 0.15$ nm and  $6.2 \pm 0.05$ cp (palm oil).

**Keywords:** Microemulsion, formulation, stability, surfactant, oil

## PENDAHULUAN

Sistem pembawa (*delivery system*) diperlukan untuk memfasilitasi dispersi komponen bioaktif lipofilik dalam sistem hidrofilik (McClements dkk., 2007). Sistem pembawa berbasis emulsi minyak dalam air (oil in water, o/w) merupakan cara yang sangat cocok untuk enkapsulasi, perlindungan dan membawa komponen bioaktif (*nutraceutical*) yang tidak larut air dalam rangka aplikasi pangan fungsional maupun farmasi sehingga meningkatkan solubilitas, stabilitas, bioaksesibilitas, dan bioaktivitasnya (Chakraborty dkk., 2009; McClements dan Li, 2010; Huang dkk., 2010). Emulsi o/w terdiri atas droplet minyak yang dikelilingi oleh lapisan antarmuka tipis yang terdiri dari molekul-molekul emulsifier, terdispersi dalam fase kontinu yang *aqueous* (McClements dkk., 2007). Menurut Rao dan McClements (2012), nanoemulsi dan mikroemulsi o/w merupakan dua jenis sistem emulsi yang cocok untuk enkapsulasi dan pembawa komponen lipofilik pada industri minuman.

Emulsi dapat dibedakan menjadi emulsi konvensional, mikroemulsi dan nanoemulsi berdasarkan ukuran partikel fase terdispersi, stabilitas dan kenampakannya. Emulsi konvensional memiliki ukuran partikel yang lebih besar, yaitu  $\geq 100$  nm, mikroemulsi dan nanoemulsi yang memiliki ukuran partikel sangat halus, yaitu  $< 25$  nm untuk mikroemulsi dan  $< 100$  nm untuk nanoemulsi (Rao and McClements, 2011<sup>b</sup>; Ziani dkk., 2012). Emulsi konvensional dan nanoemulsi stabil secara kinetika (*kinetically stable*), mikroemulsi stabil secara termodinamika (*thermodynamically stable*) (Anton and Vandamme, 2011; Mason dkk., 2006; McClements, 2010). Emulsi konvensional memiliki kenampakan keruh atau tidak tembus cahaya (buram), mikroemulsi kenampakannya jernih (transparan), sedangkan nanoemulsi kenampakannya cenderung transparan atau sedikit keruh (McClements dan Rao, 2011).

Dalam industri pangan, emulsi dan nanoemulsi biasanya diproduksi menggunakan metode energi tinggi, seperti homogenisasi tekanan tinggi, mikrofluidisasi dan sonikasi (Rao dan McClements, 2011<sup>b</sup>; Yang dkk., 2012). Ada beberapa keterbatasan penggunaan metode energi tinggi, yaitu tingginya biaya peralatan dan operasional, kebutuhan daya tinggi, potensi kerusakan peralatan, dan sulitnya menghasilkan droplet dengan ukuran sangat kecil dari bahan yang "*food grade*" (Yang dkk., 2012).

Menurut Anton dan Vandamme (2011) dan Flanagan dan Singh (2006), mikroemulsi dapat dibuat tanpa melibatkan energi tinggi yaitu dengan emulsifikasi spontan. Mikroemulsi dengan emulsifikasi spontan dapat dibentuk pada rasio surfaktan-minyak (SOR = *surfactant oil ratio*) lebih dari 1 (Yang dkk., 2012). Rao dan McClements (2011<sup>a</sup>) menyatakan bahwa mikroemulsi umumnya lebih mudah dibuat daripada

nanoemulsi dan emulsi namun memerlukan konsentrasi surfaktan yang lebih tinggi. Tim peneliti dalam penelitian ini telah melakukan berupa penelitian terkait mikroemulsi, antara lain Ariviani (2009) yang telah berhasil membuat mikroemulsi  $\beta$ -karoten yang stabil terhadap pH (4-7), suhu (105°C, 5 jam) dan penyimpanan (suhu ruang, 2 bulan) dengan metode emulsifikasi menggunakan beberapa jenis minyak dan kombinasi surfaktan "*food grade*" yang memiliki HLB tinggi, sedang dan rendah dengan rasio surfaktan minyak 5. Ariviani dkk. (2011<sup>a</sup>) mengkaji tentang potensi mikroemulsi  $\beta$ -karoten dalam menghambat fotooksidasi vitamin C sistem *aqueous* dan Ariviani dkk. (2011<sup>b</sup>) yang meneliti tentang aplikasi mikroemulsi  $\beta$ -karoten untuk menghambat kerusakan fotooksidatif vitamin C pada sari buah jeruk.

Penelitian ini bertujuan untuk formulasi mikroemulsi o/w menggunakan variasi rasio surfaktan minyak, menentukan stabilitasnya terhadap sentrifugasi, pemanasan dan penyimpanan suhu ruang serta karakterisasi mikroemulsi dengan stabilitas terbaik. Minyak yang digunakan adalah *virgin coconut oil* (VCO) yang kaya asam lemak rantai medium dan minyak kelapa sawit yang kaya asam lemak rantai panjang. Menurut SNI 7381:2008, VCO merupakan minyak yang diperoleh dari daging buah kelapa (*Cocos nucifera* L.) tua yang segar dan diproses dengan diperas dengan atau tanpa penambahan air, tanpa pemanasan atau pemanasan tidak lebih dari 60°C dan aman dikonsumsi manusia (Anonim, 2008). VCO merupakan minyak yang kaya asam lemak rantai sedang, seperti asam lemak kaprat (C10:0) (5,21%), laurat (C12:0) (48,66%), maupun miristat (C14:0) (17,82%) (Dayrit dkk., 2007). Di antara minyak pangan dengan asam lemak dominan rantai panjang, minyak kelapa sawit merupakan minyak yang paling banyak dikonsumsi di dunia sejak tahun 2005 (Abdullah, 2011; Badrun, 2010). Penggunaan minyak sawit di Indonesia terutama untuk pangan (98,36%), dan tingkat konsumsinya cenderung meningkat dari tahun ke tahun (Respati dkk., 2010).

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Bahan yang dipergunakan: span 80 (merck), span 40 (sigma), span 20 (sigma), tween 80 (merck), aquades, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> dan Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (merck), *virgin coconut oil* (VCO), minyak kelapa sawit "tropikal". Alat yang dipergunakan: hotplate magnetic arec velp scientifica, neraca analitik, oven memmert, sentrifuse, spektrofotometer UV-visshimadzu Uv 1650 pc, pH meter Schott, zetasizer nanoZS Malvern, viskosimeter Brookfield, dan peralatan gelas.

**Formulasi Mikroemulsi**

Mikroemulsi dibuat tanpa homogenisasi, yaitu dengan metode emulsifikasi spontan. Formula yang digunakan untuk pembuatan mikroemulsi disajikan pada Tabel 1. Formulasi mikroemulsi pada penelitian ini menggunakan *mixed surfactant* yaitu kombinasi 3 macam surfaktanon ionik HLB rendah (Span 80, HLB 4.3) sedang (Span 40 (HLB 6.7), Span 20 (HLB 8.6)) dan HLB tinggi (Tween 80, HLB 15), dengan perbandingan HLB rendah : HLB sedang: HLB tinggi = (10 : 5 : 85) (b/b). Pada penelitian ini digunakan 2 macam minyak yaitu VCO dan minyak kelapa sawit. Fase *aqueous* menggunakan 10 mM buffer fosfat pH 7 (Rao dan McClements, 2012; Hur dkk., 2009; Hur dkk., 2011) dengan proporsi 75 dan 80% b/b.

Teknik pembuatan mikroemulsi dengan menambahkan air pada campuran minyak-surfaktan dengan cara pengadukan dan pemanasan menggunakan *hotplate magnetic stirrer* suhu 70°C selama 20 menit. Urutan pembuatannya dengan mencampurkan *mixed* surfaktan dan minyak, diaduk dan dipanaskan dengan *hotplate magnetic stirrer*, setelah 10 menit ditambahkan fase *aqueous* (Ariviani, 2009). Formula yang menghasilkan mikroemulsi ditandai dengan kenampakannya jernih (transparan) dan turbiditasnya kurang dari 1%. Turbiditas ditentukan dengan mengukur absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer Uv-vis pada 502 nm. Turbiditas dihitung dengan persamaan: turbiditas (%) x lebar kuvet (cm) = 2,303 x absorbansi (Fletcher dan Suhling, 1998).

**Uji Stabilitas**

Formula yang menghasilkan mikroemulsi selanjutnya diuji stabilitas fisiknya dengan metode Chodkk. (2008) yang

menyatakan bahwa mikroemulsi yang stabil ditandai dengan nilai turbiditas kurang dari 1% setelah disentrifugasi dengan kecepatan 2.300g selama 15 menit, setelah pemanasan oven 105°C selama 5 jam dan setelah penyimpanan pada suhu ruang selama 2 bulan. Uji stabilitas pada penelitian ini meliputi uji stabilitas dipercepat dan uji stabilitas selama penyimpanan suhu ruang selama 8 minggu. Untuk uji stabilitas dipercepat, sampel mikroemulsi sebanyak 10 g dalam tabung bertutup disentrifugasi (2.300g, 15 menit) atau dipanaskan menggunakan oven (105°C, 5 jam). Turbiditas mikroemulsi ditentukan sebelum dan setelah perlakuan uji stabilitas. Pada uji stabilitas terhadap penyimpanan suhu ruang, sampel mikroemulsi dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu tanpa perlakuan, dengan perlakuan sentrifugasi (2300g, 15 menit) dan kelompok dengan perlakuan pemanasan oven (105°C, 5 jam). Turbiditas ditentukan pada penyimpanan minggu ke 0, 2, 4, 6, dan 8.

**Karakterisasi Mikroemulsi Stabil**

Mikroemulsi formula terpilih, dikarakterisasi dengan pengukuran viskositas, distribusi dan rerata ukuran partikel droplet. Viskositas ditentukan dengan viskosimeter Brookfield menggunakan spindle 61, kecepatan 60 rpm pada suhu 25°C. Distribusi ukuran partikel dan rerata ukuran partikel mikroemulsi ditentukan menggunakan zetasizer nano ZS Malvern pada suhu 25°C.

**Analisis Data**

Data dianalisis menggunakan ANOVA pada taraf 0.05 dan untuk menguji perbedaan antar perlakuan dilakukan uji DMRT pada taraf signifikansi yang sama.

Tabel 1. Formula mikroemulsi

Rasio surfaktan minyak (b/b)	Formula	Proporsi surfaktan				10mM Bufer fosfat pH 7	
		Span 80	Span 40	Span 20	Tween 80	75%b/b	80%b/b
2	R1A	10	5		85	√	
	R1B	10	5		85		√
	R1C	10		5	85	√	
	R1D	10		5	85		√
3	R2A	10	5		85	√	
	R2B	10	5		85		√
	R2C	10		5	85	√	
	R2D	10		5	85		√
4	R3A	10	5		85	√	
	R3B	10	5		85		√
	R3C	10		5	85	√	
	R3D	10		5	85		√

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Formulasi Mikroemulsi O/W**

Formulasi mikroemulsi pada penelitian ini menggunakan *mixed surfactant* yaitu kombinasi 3 macam surfaktan non ionik HLB rendah (span 80), sedang (span 20, span 40) dan HLB tinggi (tween 80), dengan perbandingan HLB rendah : HLB sedang: HLB tinggi = (10 : 5 : 85) (b/b). Span dan Tween digunakan karena potensi iritasi dan toksisitasnya rendah (Flanagan dan Singh, 2006). Tadros dkk. (2004) melaporkan bahwa penggunaan *mixed surfactant* menghasilkan tegangan antarmuka yang lebih kecil dibandingkan penggunaan masing-masing surfaktan secara sendiri-sendiri, dan mikroemulsi bisa terbentuk jika tegangan antarmukanya rendah (Lv dkk., 2006).

Formula yang menghasilkan mikroemulsi ditandai dengan kenampakannya yang jernih (transparan) dan turbiditasnya yang rendah (Zhang dkk., 2008; Zhang dkk., 2009). Menurut Cho dkk. (2008), mikroemulsi memiliki kenampakan jernih (transparan) dan nilai turbiditasnya kurang dari 1%. Tabel 2 dan Tabel 3 menunjukkan kenampakan dan turbiditas berbagai formula mikroemulsi yang dibuat. Data pada kedua tabel tersebut memperlihatkan bahwa mikroemulsi terbentuk pada rasio surfaktan minyak 3, 4, maupun 5 dengan penggunaan VCO sebagai fase minyak. Penggunaan minyak kelapa sawit sebagai fase minyak menghasilkan mikroemulsi pada rasio surfaktan minyak 4 dan 5, sedangkan pada rasio surfaktan minyak 3, mikroemulsi hanya terbentuk pada penggunaan surfaktan HLB sedang span 40 dan proporsi fase aqueous 80% (R2B).

Tabel 2. Kenampakan dan turbiditas mikroemulsi dengan VCO sebagai fase minyak

Formula	Kenampakan	Turbiditas (%)
R1A	Putih susu	> 1
R1B	Putih susu	> 1
R1C	Putih susu	> 1
R1D	Putih susu	> 1
R2A	Jernih	0,435
R2B	Jernih	0,513
R2C	Jernih	0,893
R2D	Jernih	0,689
R3A	Jernih	0,229
R3B	Jernih	0,162
R3C	Jernih	0,273
R3D	Jernih	0,274
R4A	Jernih	0,154
R4B	Jernih	0,152
R4C	Jernih	0,132
R4D	Jernih	0,143

Ket: R1, R2, R3, R4: rasio surfaktan minyak berturut-turut 2, 3, 4 dan 5. A, B : HLB sedang Span 40, C, D: HLB sedang Span 20. A,C : fase aqueous 75%, B dan D: fase aqueous 80%

Tabel 3. Kenampakan dan turbiditas mikroemulsi dengan minyak kelapa sawit sebagai fase minyak

Formula	Kenampakan	Turbiditas (%)
R2A	Keruh	> 1
R2B	Jernih	0,630
R2C	Sangat keruh	> 1
R2D	Sangat keruh	> 1
R3A	Jernih	0,351
R3B	Jernih	0,329
R3C	Jernih	0,355
R3D	Jernih	0,356
R4A	Jernih	0,277
R4B	Jernih	0,415
R4C	Jernih	0,179
R4D	Jernih	0,216

Ket: R1, R2, R3, R4: rasio surfaktan minyak berturut-turut 2, 3, 4 dan 5. A, B : HLB sedang Span 40, C, D: HLB sedang Span 20. A,C : fase aqueous 75%, B dan D: fase aqueous 80%

Paul dan Moulik (2001) menyatakan bahwa jika trigliserida sebagai fase minyak, rentang komposisi sistem minyak - air - surfaktan yang mampu membentuk mikroemulsi lebih sempit karena trigliserida bersifat berpermukaan aktif sehingga tidak mampu membentuk lapisan minyak pada sistem amphifilik-air. Kecocokan panjang rantai surfaktan dan minyak merupakan faktor yang penting dalam pembentukan mikroemulsi (Bayrak dan Iscan, 2005).

Menurut Ziani dkk. (2012), jenis minyak dan rasio surfaktan terhadap minyak mempengaruhi sifat dispersi koloid yang terbentuk. Pada rasio surfaktan minyak yang relatif tinggi terbentuk mikroemulsi, namun pada rasio surfaktan minyak yang rendah yang terbentuk adalah emulsi. Yang dkk. (2012) membuat mikroemulsi dengan menggunakan trigliserida rantai sedang (Mygliol 812) sebagai fase minyak, tween 80 dan atau tween 85 sebagai surfaktan dan buffer pH 3.5 sebagai fase *aqueous*. Hasilnya menunjukkan bahwa mikroemulsi dengan emulsifikasi spontan dapat dibentuk pada rasio surfaktan-minyak (*surfactant oil ratio*, SOR) lebih dari 1. Rao dan McClement (2011<sup>b</sup>) yang membuat mikroemulsi dari minyak lemon dan surfaktan tween 80 dengan pemanasan sederhana (90°C, 30 menit), hasilnya menunjukkan bahwa mikroemulsi terbentuk pada rasio surfaktan minyak lebih dari 2. Mikroemulsi umumnya lebih mudah dibuat daripada nanoemulsi maupun emulsi, namun memerlukan konsentrasi surfaktan yang lebih tinggi (Rao dan McClement., 2011<sup>b</sup>; Anton dan Vandamme, 2011; Ziani dkk., 2012).

**Stabilitas Mikroemulsi**

Turbiditas mikroemulsi sebanding dengan rerata diameter partikel dropletnya, oleh karena itu perubahan turbiditas mikroemulsi dapat digunakan untuk memperoleh informasi tentang perubahan stabilitasnya. Stabilitas

mikroemulsi dapat ditentukan berdasarkan turbiditasnya yang rendah (kurang dari 1%) setelah sentrifugasi, pemanasan maupun penyimpanan suhu ruang (Cho dkk., 2008). Tabel 4 dan 5 memperlihatkan turbiditas mikroemulsi dengan VCO maupun minyak kelapa sawit sebagai fase minyak pada uji stabilitas dipercepat.

Tabel 4. Turbiditas mikroemulsi dengan penggunaan VCO sebagai fase minyak pada ujistabilitas dipercepat

Formula	Turbiditas awal (%)	Turbiditas setelah sentrifugasi (%)	Turbiditas setelah pemanasan (%)
R2A	0,435 ± 0,059 <sup>d</sup>	0,495 ± 0,035 <sup>d</sup>	> 1
R2B	0,513 ± 0,076 <sup>d</sup>	0,563 ± 0,112 <sup>d</sup>	> 1
R2C	0,893 ± 0,057 <sup>f</sup>	0,990 ± 0,080 <sup>f</sup>	> 1
R2D	0,689 ± 0,004 <sup>e</sup>	0,713 ± 0,002 <sup>e</sup>	> 1
R3A	0,229 ± 0,078 <sup>bc</sup>	0,258 ± 0,104 <sup>bc</sup>	0,152 ± 0,005 <sup>d</sup>
R3B	0,162 ± 0,005 <sup>ab</sup>	0,182 ± 0,001 <sup>ab</sup>	0,148 ± 0,015 <sup>cd</sup>
R3C	0,273 ± 0,056 <sup>c</sup>	0,317 ± 0,096 <sup>c</sup>	0,178 ± 0,005 <sup>e</sup>
R3D	0,274 ± 0,010 <sup>c</sup>	0,320 ± 0,011 <sup>c</sup>	0,194 ± 0,010 <sup>f</sup>
R4A	0,154 ± 0,013 <sup>a</sup>	0,168 ± 0,005 <sup>a</sup>	0,134 ± 0,010 <sup>c</sup>
R4B	0,152 ± 0,073 <sup>a</sup>	0,189 ± 0,037 <sup>a</sup>	0,108 ± 0,002 <sup>ab</sup>
R4C	0,132 ± 0,001 <sup>a</sup>	0,165 ± 0,011 <sup>a</sup>	0,117 ± 0,014 <sup>b</sup>
R4D	0,143 ± 0,021 <sup>a</sup>	0,148 ± 0,023 <sup>a</sup>	0,100 ± 0,007 <sup>a</sup>

Ket: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (p>0.05)

Tabel 5. Turbiditas mikroemulsi dengan penggunaan minyak kelapa sawit sebagai fase minyak pada uji stabilitas dipercepat

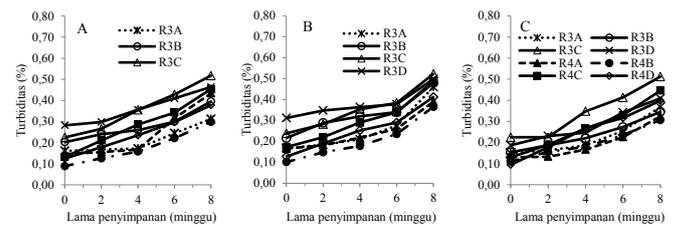
Formula	Turbiditas awal (%)	Turbiditas setelah sentrifugasi (%)	Turbiditas setelah pemanasan (%)
R2B	0,630 ± 0,031 <sup>e</sup>	0,662 ± 0,002 <sup>c</sup>	>1
R3A	0,351 ± 0,072 <sup>c</sup>	0,349 ± 0,043 <sup>b</sup>	0,182 ± 0,016 <sup>ab</sup>
R3B	0,329 ± 0,013 <sup>bc</sup>	0,362 ± 0,044 <sup>b</sup>	0,200 ± 0,011 <sup>ab</sup>
R3C	0,355 ± 0,008 <sup>c</sup>	0,415 ± 0,008 <sup>b</sup>	0,223 ± 0,019 <sup>b</sup>
R3D	0,356 ± 0,007 <sup>c</sup>	0,410 ± 0,099 <sup>b</sup>	0,340 ± 0,113 <sup>d</sup>
R4A	0,277 ± 0,069 <sup>b</sup>	0,351 ± 0,090 <sup>b</sup>	>1
R4B	0,415 ± 0,018 <sup>d</sup>	0,420 ± 0,007 <sup>b</sup>	>1
R4C	0,179 ± 0,024 <sup>a</sup>	0,208 ± 0,047 <sup>a</sup>	0,138 ± 0,021 <sup>a</sup>
R4D	0,216 ± 0,015 <sup>a</sup>	0,241 ± 0,004 <sup>a</sup>	0,163 ± 0,037 <sup>ab</sup>

Ket: angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (p>0.05)

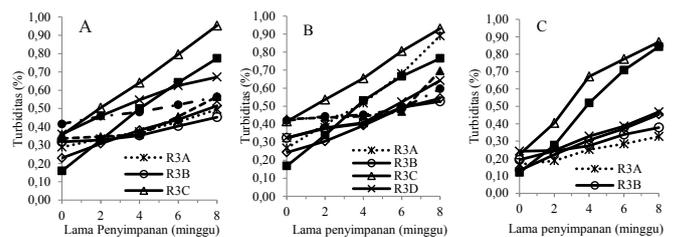
Formula berpengaruh terhadap stabilitas mikroemulsi yang dihasilkan. Formula mikroemulsi yang stabil terhadap sentrifugasi maupun pemanasan pada penggunaan VCO sebagai fase minyak adalah formula dengan rasio surfaktan minyak 4 dan 5. Formula mikroemulsi dengan minyak kelapa sawit sebagai fase minyak membentuk mikroemulsi stabil pada rasio surfaktan minyak 4. Formula dengan rasio surfaktan minyak 5 membentuk mikroemulsi yang stabil hanya pada penggunaan surfaktan HLB sedang span 20 (R4C, R4D).

Stabilitas mikroemulsi dengan penggunaan kombinasi surfaktan tidak hanya ditentukan oleh macam kombinasi surfaktan tetapi juga proporsi surfaktan yang digunakan (Cho dkk., 2008). Rasio surfaktan minyak dan jenis minyak mempengaruhi stabilitas dispersi koloid (Zaini dkk., 2012).

Stabilitas penyimpanan pada suhu ruang selama 8 minggu hanya dilakukan pada sampel mikroemulsi yang stabil terhadap uji stabilitas dipercepat, hasilnya ditunjukkan pada Gambar 1 (VCO) dan Gambar 2 (sawit).



Gambar 1. Stabilitas penyimpanan mikroemulsi dengan fase minyak VCO. A: tanpa perlakuan, B: setelah sentrifugasi (2300g, 15 menit), C: setelah pemanasan oven (105°C, 5 jam).



Gambar 2. Stabilitas penyimpanan mikroemulsi dengan minyak sawit sebagai fase minyak. A: tanpa perlakuan, B: setelah sentrifugasi (2300g, 15 menit), C: setelah pemanasan oven (105°C, 5 jam).

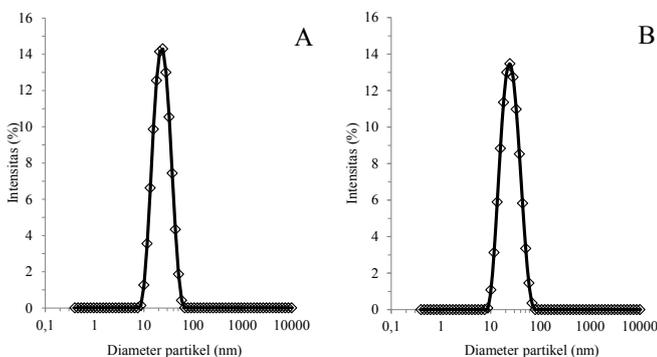
Semua mikroemulsi yang diuji memperlihatkan turbiditas kurang dari satu pada akhir periode pengujian. Hal ini mengindikasikan bahwa keseluruhan formula yang stabil pada uji stabilitas dipercepat juga memperlihatkan stabilitas penyimpanan suhu ruang selama 8 minggu. Turbiditas mikroemulsi cenderung mengalami peningkatan selama penyimpanan. Cho dkk. (2008) yang mengkaji stabilitas mikroemulsi o/w selama penyimpanan pada suhu ruang juga memperlihatkan hasil yang serupa, yaitu selama penyimpanan terjadi peningkatan turbiditas mikroemulsi. Peningkatan turbiditas ini dikarenakan terjadinya peningkatan ukuran partikel droplet fase terdispersi. Menurut Dai dkk. (2014), peningkatan ukuran droplet minyak mikroemulsi o/w selama penyimpanan disebabkan karena aglomerasi maupun fusi dari droplet. Faktor utama yang mempengaruhi aglomerasi adalah zeta potensial dari droplet mikroemulsi. Nilai absolut zeta potensial droplet harus lebih besar dari 25 mV supaya aglomerasi tidak terjadi. Nilai zeta potensial dari droplet mikroemulsi dalam penelitian ini berkisar antara -5,17 sampai

– 11,4. Zeta potensial yang rendah menyebabkan tidak adanya tolakan elektrostatis (*electrostatic repulsion*) yang cukup besar yang terbentuk antar droplet, sehingga mengakibatkan terjadinya aglomerasi droplet.

Secara keseluruhan, pada penggunaan VCO sebagai fase minyak, formula dengan rasio surfaktan minyak 5, proporsi fase aqueous (bufer fosfat pH 7) 80%, surfaktan HLB sedang span 40 (R4B) memperlihatkan stabilitas terbaik. Hal ini ditunjukkan oleh nilai turbiditasnya yang terkecil setelah perlakuan pemanasan, sentrifugasi (Tabel 3) maupun penyimpanan (Gambar 1). Formula mikroemulsi dengan minyak sawit sebagai fase minyak yang menunjukkan stabilitas terbaik adalah formula dengan rasio surfaktan minyak 4, proporsi fase *aqueous* 80%, surfaktan HLB sedang span 40 (R3B), sedangkan formula R4B tidak stabil terhadap pemanasan. Formula R3B memperlihatkan kecepatan peningkatan turbiditas yang lebih lambat selama penyimpanan yang ditunjukkan oleh grafiknya yang lebih landai dibanding yang lain (Gambar 2). Formula ini meskipun memiliki turbiditas yang lebih besar dibanding formula R4C maupun R4D, namun memperlihatkan turbiditas yang tidak berbeda setelah perlakuan panas (Tabel 5). Mikroemulsi formula R3B selanjutnya dipilih untuk dikarakterisasi pada tahapan berikutnya. Hal ini mengingat mikroemulsi formula tersebut dengan fase minyak VCO juga memperlihatkan stabilitas yang cukup baik. Selain itu, rasio surfaktan minyak yang lebih kecil berarti proporsi minyak lebih besar dan proporsi surfaktan lebih kecil. Proporsi minyak yang lebih besar diharapkan akan meningkatkan kapasitas mikroemulsi sebagai sistem pembawa komponen bioaktif hidrofobik. Proporsi surfaktan yang lebih kecil akan memperkecil biaya produksi.

**Karakteristik Mikroemulsi Terpilih**

Menurut Fanun (2012), mikroemulsi merupakan sistem transparan yang terdiri dari dua cairan yang tidak saling melarutkan, yang distabilkan oleh lapisan antarmuka surfaktan atau campuran surfaktan. Mikroemulsi memiliki kenampakan yang transparan karena ukuran partikelnya lebih



Gambar 3. Distribusi ukuran partikel droplet mikroemulsi dengan fase minyak VCO (A) dan minyak kelapa sawit (B)

kecil dari panjang gelombang cahaya (Anton dan Vandame, 2011; McClements, 2010).

Karakterisasi mikromemulsi dalam penelitian ini dilakukan dengan pengukuran distribusi ukuran partikel droplet, rerata diameter partikel droplet, dan viskositasnya. Ziani dkk. (2012) menyatakan bahwa nanoemulsi dan mikroemulsi memiliki jari-jari droplet < 100 nm, sedangkan emulsi memiliki ukuran droplet yang lebih besar. Mikroemulsi dan nanoemulsi memiliki ukuran droplet sangat halus, yaitu  $r < 50$  nm untuk mikroemulsi dan  $r < 100$  nm untuk nanoemulsi (Rao dan McClements, 2011<sup>b</sup>). Viskositas mikroemulsi perlu ditentukan untuk karakterisasi fisik. Viskositas yang rendah pada suhu ruang berguna untuk aplikasi mikroemulsi pada produk pangan cair seperti minuman (Cho dkk., 2008).

Gambar 3 memperlihatkan bahwa distribusi ukuran partikel droplet mikroemulsi terpilih dengan fase minyak VCO (A) dan minyak kelapa sawit (B) adalah monomodal (hanya memiliki satu puncak). Indeks polidispersitas (PDI) kedua mikroemulsi sangat rendah, yaitu 0,109 – 0,114 (VCO) dan 0,134 – 0,140 (minyak sawit). Indeks polidispersitas (PDI) menunjukkan keseragaman ukuran, semakin kecil nilai PDI mengindikasikan ukuran yang semakin seragam. Gambar 3 juga menunjukkan bahwa ukuran diameter partikel droplet kedua mikroemulsi sangat kecil yaitu 10 – 100nm. Hal ini membuktikan bahwa dispersi koloid yang terbentuk terbukti merupakan mikroemulsi. Mikroemulsi memiliki ukuran partikel droplet fase terdispersi kurang dari 1µm (5 – 100 nm) (Flanagan dan Sing, 2006). McClements (2010) menyatakan bahwa mikroemulsi memiliki ukuran diameter partikel 5 – 50 nm, sedangkan nanoemulsi dan emulsi memiliki ukuran diameter yang lebih besar, yaitu 20 – 100 nm untuk nanoemulsi dan 0.1 – 100µm untuk emulsi.

Tabel 6. Ukuran partikel dan viskositas mikroemulsi terpilih

Parameter	Mikroemulsi VCO	Mikroemulsi minyak sawit
Rerata diameter partikel (nm)	21,7 ± 0,02 <sup>a</sup>	22,9 ± 0,15 <sup>b</sup>
Viskositas (cp)	6,0 ± 0,10 <sup>a</sup>	6,2 ± 0,05 <sup>b</sup>

Ket: angka yang diikuti huruf yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata ( $p > 0.05$ )

Data pada Tabel 6 menunjukkan bahwa jenis minyak berpengaruh terhadap diameter partikel droplet mikroemulsi yang dihasilkan. Rerata diameter partikel mikroemulsi dengan fase minyak VCO lebih kecil daripada penggunaan minyak sawit sebagai fase minyak. Hasil ini mengindikasikan bahwa minyak yang kaya asam lemak rantai sedang (*medium chain triglyceride* (MCT)) menghasilkan mikroemulsi dengan ukuran partikel yang lebih kecil dibanding minyak yang kaya

asam lemak rantai panjang (*long chain triglyceride* (LCT)). Penelitian Salvia-Trujillo dkk. (2013) memperlihatkan bahwa nanoemulsi dengan fase minyak jagung (LCT) memiliki rerata diameter partikel yang signifikan lebih besar daripada Miglyol 812 (MCT) ( $p < 0.05$ ). Yang dan McClements (2013) melaporkan bahwa rerata diameter partikel emulsi minyak jagung (LCT) sedikit lebih besar dibanding emulsi Miglyol 812 (MCT) ( $p < 0.1$ ).

Mikroemulsi VCO maupun minyak sawit formula terpilih memiliki viskositas yang sangat rendah. Fanun (2010) menyatakan bahwa salah satu sifat unik mikroemulsi adalah viskositasnya yang sangat rendah. Mikroemulsi VCO memperlihatkan viskositas yang lebih rendah dibanding minyak sawit.

## KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa jenis minyak dan rasio surfaktan minyak berpengaruh terhadap pembentukan dan stabilitas mikroemulsi yang dibuat dengan metode emulsifikasi spontan menggunakan kombinasi surfaktan tween 80, span 40 atau span 20, dan span 80. Mikroemulsi formula terpilih (R3B) memiliki distribusi ukuran partikel monomodal, rerata diameter partikel dan viskositas berturut-turut  $21,7 \pm 0,02\text{nm}$  dan  $6,0 \pm 0,10\text{cp}$  (VCO),  $22,9 \pm 0,15\text{nm}$  dan  $6,2 \pm 0,05\text{cp}$  (minyak sawit).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terselenggara atas dukungan penyediaan dana Hibah Penelitian Madya BPOTN UNS tahun 2013.

## DAFTAR PUSTAKA

Abdullah, R. (2011). World palm oil supply, demand, price and prospects: focus on Malaysian and Indonesian palm oil industries. *Oil Palm Industry Economic Journal* **11**(2): 13-25.

Anonim (2008). *SNI 7381:2008, Minyak Kelapa Virgin (VCO)*. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.

Anton, N. dan Vandamme, T.F. (2011). Nano-emulsions and micro-emulsions: clarifications of the critical differences. *Pharmaceutical Research* **28**: 978-985.

Ariviani, S. (2009). *Formulasi Mikroemulsi  $\beta$ -Keroten untuk Menghambat Kerusakan Vitamin C dalam Sistem Aqueous Akibat Fotooksidasi*. Tesis. Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Ariviani, S., Raharjo, S. dan Hastuti, P. (2011<sup>a</sup>). Potensi mikroemulsi  $\beta$ -karoten dalam menghambat fotooksidasi vitamin C sistem aqueous. *Journal Teknologi dan Industri Pangan* **12**(1): 33-39.

Ariviani, S., Raharjo, S. dan Hastuti, P. (2011<sup>b</sup>). Aplikasi mikroemulsi  $\beta$ -karoten untuk menghambat kerusakan fotooksidatif vitamin C pada sari buah jeruk. *Agritech* **31**(3): 180-189.

Badrun, M. (2010). Lintasan fakta: minyak kelapa sawit lebih efisien. Dalam: Badrun M. dan Supriono, A. *Lintasan Tiga Puluh Tahun Pengembangan Kelapa Sawit*. Bab 2, hal. 7- 16. Direktorat Jenderal Perkebunan, Kementerian Pertanian, Republik Indonesia bekerjasama dengan Gabungan Pengusaha Kelapa Sawit Indonesia.

Bayrak, Y. dan Iscan, M. (2005). Studies on the phase behavior of the system non ionic surfactant/alcohol/alkane/H<sub>2</sub>O. *Colloids and Surfaces* **268**: 99-103.

Chakraborty, S., Shukla, D., Mishra, B. dan Singh, S. (2009). Lipid - an emerging platform for oral delivery of drugs with poor bioavailability. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **73**(1): 1-15.

Cho, Y.H., Kim, S., Bae, E.K., Mok, C.K. dan Park, J. (2008). Formulation of a cosurfactant-free o/w microemulsion using nonionic surfactant mixtures. *Journal of Food Science* **73** (3): E115-E121.

Dai, J., Kim, S.M., Shin Il-S., Kim, J.D., Lee, H.Y., Shin, W.C. dan Kim, J-C. (2014). Preparation and stability of fucoxanthin-loaded microemulsions. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* **20**: 2103-2110.

Dayrit, F.M., Buenafe, O.E.M., Chainani, E.T., de Vera, I.M.S., Dimzon, I.K.D., Gonzales, E.G. dan Santos, J.E.R. (2007). Standards for essential composition and quality factors of commercial virgin coconut oil and its differentiation from RBD coconut oil and copra oil. *Philippine Journal of Science* **136** (2): 119-129.

Fanun, M. (2010). Formulation and characterization of microemulsions based on mixed nonionic surfactants and peppermint oil. *Journal of Colloid and Interface Science* **343**: 496-503.

Fanun, M. (2012). Microemulsions as delivery systems. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* **17**: 306-313.

Flanagan, J. dan Singh, H. (2006). Microemulsions: a potential delivery system for bioactive in food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **4**: 221-237.

- Fletcher, P.D.I. dan Suhling, K. (1998). Interactions between weakly charged oil-in-water microemulsion droplets. *Langmuir* **14**: 4065-4069.
- Huang, Q., Yu, H. dan Ru, Q. (2010). Bioavailability and delivery of nutraceuticals using nanotechnology. *Journal of Food Science* **75** (1): R51-R57.
- Hur, S.J., Decker, E.A. dan McClements, D.J. (2009). Influence of initial emulsifier type on microstructural changes occurring in emulsified lipids during *in vitro* digestion. *Food Chemistry* **114**: 253-262.
- Hur, S.J., Joo, S.T., Lim, B.O., Decker, E.A. dan McClements, D.J. (2011). Impact of salt and lipid type on *in vitro* digestion of emulsified lipid. *Food Chemistry* **126**: 1559-1564.
- Lv, F.F., Li, N., Zheng L.Q. dan Tung, C.H (2006). Studies on the stability of the chloramphenicol in the microemulsion free of alcohols. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **62**: 288-294.
- McClements, D.J dan Rao, J. (2011). Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **51**: 285-330.
- McClements, D.J. dan Li, Y. (2010). Structured emulsion-based delivery systems: controlling the digestion and release of lipophilic food components. *Advances in Colloid and Interface Science* **159**(2): 213-228.
- McClements, D.J., Decker, E.A, dan Weiss, J. (2007). Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of Food Science* **72**(8): R109-R124.
- Paul, B.K. dan Moulik, S.P. (2001). Uses and applications of microemulsions. *Current Science* **80**(8): 990-1001.
- Rao, J. dan McClements, D.J. (2011<sup>a</sup>). Food-grade microemulsions, nanoemulsions and emulsions: Fabrication from sucrose monopalmitate and lemon oil. *Food Hydrocolloids* **25**: 1413-1423.
- Rao, J. dan McClements, D.J. (2011<sup>b</sup>). Formation of flavor oil microemulsions, nanoemulsions and emulsions: influence of composition and preparation method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **59**: 5026-5035.
- Rao, J. dan McClements, D.J. (2012). Food-grade microemulsions and nanoemulsions: Role of oil phase composition on formation and stability. *Food Hydrocolloids* **29**: 326-334.
- Respati, E., Sabarella, Susanti, A.A., Noviati, Nantoro, P., Ekanantari dan Megawaty. (2010). Kelapa sawit. *Dalam: Taufik, Y., Nuryati, L. dan Respati, E (ed). Outlook Komoditas Pertanian Perkebunan*, bab 2, hal. 5-22. Pusat Data dan Informasi Pertanian Kementerian Pertanian.
- Salvia-Trujillo, L., Qian, C., Martin-Belloso, O. dan McClements, D.J. (2013). Modulating  $\beta$ -carotene bioaccessibility by controlling oil composition and concentration in edible nanoemulsions. *Food Chemistry* **139**: 878-884.
- Schubert, H. dan Engel, R. (2004). Product and formulation engineering of emulsions. *Chemical Engineering Research and Design* **82**(A9): 1137-1143.
- Tadros, T., Izquierdo, P. dan Solans, J.E. (2004). Formation and stability of nano-emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science* **108**: 303-318.
- Yang, Y., Marshall-Breton, C., Leser, M.E., Sher, A.A. dan McClements, D.J. (2012). Fabrication of ultrafine edible emulsions: Comparison of high-energy and low-energy homogenization methods. *Food Hydrocolloids* **29**: 398-406.
- Yang, Y. dan McClements, D.J. (2013). Vitamin E bioaccessibility: influence of carrier oil type on digestion and release of emulsified  $\alpha$ -tocopherol acetate. *Food Chemistry* **141**: 473-481.
- Zhang, H., Shen, Y, Weng, P., Zhao, G. Feng, F. dan Zheng, X. (2009). Antimicrobial activity of a food-grade fully dilutable microemulsion against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology* **135**: 211-215.
- Zhang, H., Shen, Y., Bao, Y., He, Y., Feng, F. dan Zheng, X. (2008). Characterization and synergistic antimicrobial activities of food-grade dilution-stable microemulsions against *Bacillus subtilis*. *Food Research International* **41**: 495-499.
- Ziani, K., Fang, Y. dan McClements, D.J. (2012). Fabrication and stability of colloidal delivery systems for flavor oils: Effect of composition and storage conditions. *Food Research International* **46**: 209-216.