

## **Formulasi Gel Nanopartikel Fibroin Kepompong Ulat Sutera (*Bombyx mori* Linn.) serta Penentuan Nilai Faktor Pelindung Surya secara *In Vitro***

The Formulation of Nanoparticle Fibroin Gel of Silkworm Cocoon (*Bombyx mori* Linn.) and In Vitro Sun Protection Factor Determination

<sup>1</sup>Mira Melinda Nandih, <sup>2</sup>Gita Cahya Eka Darma, <sup>3</sup>Amila Gadri

<sup>1,2,3</sup>*Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jl. Tamansari No. 1 Bandung 40116*

*email: <sup>1</sup>mira.melinda96@gmail.com, <sup>2</sup>g.c.ekadarma@gmail.com, <sup>3</sup>amilagadriapt@gmail.com*

**Abstract.** Silkworm cocoon (*Bombyx mori* Linn.) known for its benefits in medical and cosmetic application. It contains two main proteins fibroin and sericin. Silk Fibroin (SF) nanoparticles has potential as an UV protection product. This research aims to obtain a sunscreen gel formulation containing fibroin nanoparticles based on its Sun Protection Factor (SPF) value. The research was started with degumming silk, then the obtained fibroin fibers were formed into nanoparticles by desolvation method using 70% acetone. The particle size of nanoparticles were measured by Particle Size Analyzer. The in-vitro determination of FPS value was conducted using the UV-Vis spectrophotometer with wave length at 290-320 nm. The base gel was optimized and fibroin nanoparticle is formulated into gel preparations contains 5% fibroin nanoparticles, carbomer 934, triethanolamine, propylenglycol, Na-EDTA, methyl paraben, propyl paraben, fragrant, and aquadest. The result showed that the average of fibroin particle size obtained was 1,231  $\mu\text{m}$ . The sunscreen gel containing 5% of desolvated fibroin particles has an SPF value of 6.63 and classified as sunscreens with extra protection levels. The sunscreen gel was stated as stable based on heating-cooling cycle and stability evaluation method at room temperature for 5 weeks.

**Keywords:** Fibroin, nanoparticle, sun protection factor, gel.

**Abstrak.** Kepompong ulat sutera (*Bombyx mori* Linn.) dikenal memiliki manfaat dalam bidang medis dan kosmetika, mengandung dua protein utama yaitu fibroin dan serisin. Nanopartikel Silk Fibroin (SF) memiliki potensi sebagai produk untuk melindungi dari sinar UV. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh formula sediaan gel tabir surya yang mengandung nanopartikel fibroin berdasarkan nilai faktor pelindung surya (FPS) yang dimilikinya. Diawali dengan proses degumming silk, serat fibroin yang diperoleh dibuat menjadi nanopartikel dengan metode desolvasi menggunakan aseton 70%. Nanopartikel diukur ukuran partikelnya menggunakan Particle Size Analyzer. Penentuan nilai FPS secara in- vitro dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 290-320 nm. Selanjutnya dilakukan optimasi basis gel dan nanopartikel fibroin diformulasi menjadi sediaan gel yang mengandung nanopartikel fibroin 5%, carbomer 934, trietanolamin, propilenglikol, Na-EDTA, metil paraben, propil paraben, fragrance, dan aquadest. Diperoleh ukuran partikel fibroin rata-rata sebesar 1,231  $\mu\text{m}$ . Sediaan gel mengandung partikel fibroin hasil desolvasi dengan konsentrasi 5% memiliki nilai FPS sebesar 6,63 dan digolongkan sebagai tabir surya dengan tingkat perlindungan ekstra. Sediaan dinyatakan stabil setelah dilakukan uji stabilitas fisik heating-cooling cycle dan stabilitas pada suhu ruang selama 5 minggu.

**Kata Kunci:** Fibroin, nanopartikel, faktor pelindung surya, gel.

### **A. Pendahuluan**

Kulit sebagai lapisan pelindung tubuh dapat dipengaruhi oleh lingkungan luar, baik berupa sinar matahari, iklim, maupun faktor-faktor kimiawi. Paparan sinar UV yang berlebihan dapat mencetuskan timbulnya kanker. Sinar (Wijayakusuma, 2005:5). Berdasarkan hal tersebut maka perlu digunakan pelindung pada kulit untuk mengurangi paparan sinar UV, salah satunya dapat berasal dari bahan alam yaitu kepompong ulat sutera. Fibroin merupakan komponen inti kepompong yang kandungannya mencapai 70%. Residu asam amino serat fibroin yang terdiri dari fenilalanin, tirosin, triptofan berperan dalam higroskopisitas dan anti radiasi sinar UV. Nanopartikel SF memiliki kemampuan dalam melawan radiasi sinar UV yaitu 200-400 nm. (Mondal, 2007: 63; Zhang *et al.*, 2006:886). Gel merupakan bentuk sediaan

semisolida yang banyak digunakan untuk kosmetika. Sediaan gel dipilih karena gel memiliki kelebihan yaitu mudah dioleskannya sebenarnya yang baik, memberikan efek dingin, serta daya lekat yang baik namun tidak menyumbat pori-pori kulit (Voigt, 1996:317).

Rumusan masalah yang dari penelitian ini yaitu berapa nilai faktor pelindung surya (FPS) nanopartikel fibroin ulat sutera serta bagaimana formulasi gel nanopartikel fibroin ulat sutera (*Bombyx mori* Linn.) yang memenuhi persyaratan farmasetika. Penelitian ini bertujuan memperoleh formula sediaan gel tabir surya yang mengandung fibroin ulat sutera (*Bombyx mori* Linn.) berdasarkan nilai FPS yang dimilikinya.

## B. Landasan Teori

Fibroin dengan susunan kimianya  $C_{12}H_{26}N_5O_6$  adalah bagian dalam dari serat sutera yang merupakan inti dari tiap lembar serat, meliputi kurang lebih 75% bagian dari berat sutera. Fibroin merupakan protein biomakromolekul yang disusun dari 5507 asam amino dan terdiri dari enam urutan residu yang berulang (Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser) (Mondal *et al.*, 2007:64; Zhou *et al.*, 2001:1991-122) Fibroin memiliki dua bentuk, bentuk kristalin dari fibroin memegang peranan dalam fungsi mekanik sedangkan bentuk amorf yang memiliki residu asam amino yang lebih besar memegang peranan dalam higroskopisitas dan fungsi sebagai anti radiasi sinar ultraviolet. (Mita *et al.*, 1994:583; Sakabe, 1989:487).

Radiasi sinar UV dapat terbagi menjadi 3 kategori yaitu radiasi UV A yang dapat menekan fungsi sistem kekebalan tubuh, menjadi penyebab nekrosis pada sel endotel, dan terjadinya kerusakan pembuluh darah. Radiasi UV B diketahui dapat menyebabkan efek kulit terbakar, dan radiasi UV C 200-280 nm (Deore *et al.*, 2012:72). Faktor pelindung surya (FPS) adalah sebuah rasio dari respon kulit terhadap paparan sinar UV berdasarkan minimum eritema dosis (MED) kulit yang terlindungi oleh tabir surya terhadap MED kulit yang tidak terlindungi oleh tabir surya. FPS mengindikasikan berapa lama kulit dapat berada di bawah paparan sinar matahari langsung tanpa menyebabkan kulit terbakar. Tabir surya berdasarkan mekanismenya dibagi menjadi tabir surya kimia dapat mencegah sinar UV mencapai kulit dengan cara menyerap, memantulkan atau memancarkan sinar UV, dan tabir surya fisik yang mencegah sinar UV mengenai kulit dengan cara memantulkan atau memancarkan sinar (Draeos *et al.*, 2006:137).

## C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Pada penelitian ini digunakan kepompong ulat sutera yang diperoleh dari peternakan kepompong ulat sutera yang berada di Desa Kadudampit Kecamatan Kadudampit Kabupaten Sukabumi, Jawa Barat. Determinasi kepompong ulat sutera yang dilakukan di Laboratorium Zoologi, SITH, Institut Teknologi Bandung dan diketahui bahwa bahan yang digunakan yaitu kepompong ulat sutera dari spesies *Bombyx mori* Linn. Tahap selanjutnya proses *degumming* yaitu proses penghilangan zat perekat pada kepompong atau yang disebut seresin menggunakan larutan  $Na_2CO_3$  0,05% sebagai garam basa. Perolehan dari tahap ini adalah serat fibroin murni sebesar sebesar 77,631% yang mendekati persentase kadar teoritis fibroin.

Larutan fibroin dibuat dengan melarutkan *degummed silk* di dalam pelarut Ajisawa (1998) yang dimodifikasi yaitu campuran aquademineralisasi, etanol dan  $CaCl_2$  dimana  $CaCl_2$  diganti dengan  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  yang lebih mudah diperoleh dan lebih ekonomis (Darma, 2015:33). Proses pelarutan fibroin ini merubah bentuk polimorf  $\beta$ -sheet (*Silk II*) yang berbentuk kristalin dan tidak larut dalam air menjadi bentuk *random coil*/ $\alpha$ -sheet (*Silk I*) yang berbentuk amorf dan lebih larut dalam air (Teramoto *et al.*,,

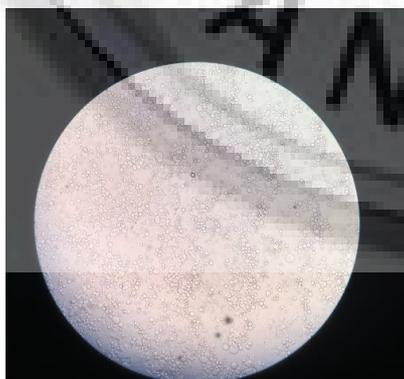
2006:6-8; Vepari *et al.*, 2007:991). Mekanisme terjadinya pelarutan fibroin diawali dengan proses *swelling* serat fibroin yang diakibatkan oleh adanya air dan etanol kemudian kalsium klorida berpenetrasi dan memutus ikatan hidrogen yang mengikat antar asam amino sehingga merubah bentuk  $\beta$ -sheet *Silk II* menjadi *Silk I* (Du, *et al.*, 2009:62; Jin, *et al.*, 2003:1057; Monti, 1998:297).

Pembentukan nanopartikel fibroin dilakukan menggunakan metode desolvasi. Metode ini merupakan metode pembentukan nanopartikel tipe *bottom-up* dimana nanopartikel terbentuk dari sistem molekular kemudian membentuk partikel yang berukuran lebih besar. Agen desolvasi yang digunakan yaitu aseton 70%. Penambahan agen desolvasi akan menurunkan jumlah air sehingga menjaga molekul fibroin agar tetap terdispersi didalam air karena berkurangnya rantai fibroin yang terhidrasi. Pada titik tertentu hidrasi menjadi sangat rendah sehingga terjadi presiptasi protein dan membentuk nanopartikel fibroin. Pembentukan nanopartikel fibroin terjadi akibat kembali berubahnya struktur *random coil/ $\alpha$ -sheet* (*Silk I*) menjadi  $\beta$ -sheet (*Silk II*) (Azaremi *et al.*, 2006:124-132; Kuzuhara, *et al.*, 1987:199-207; Werber *et al.*, 2000:91-102).

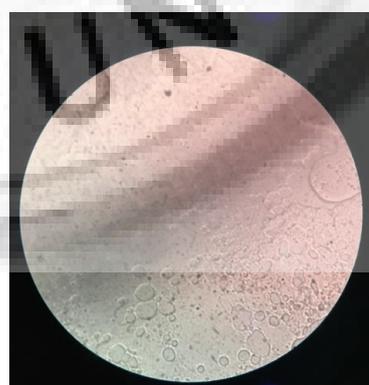
Hasil yang diperoleh dari proses pembuatan nanopartikel yaitu nanopartikel dan mikropartikel yang berbentuk globul-globul gel berwarna putih sesuai dengan metode rujukan yaitu Zhang (2006:887-888). Partikel fibroin yang terbentuk diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 2,5; 26; 125. Dilihat dari hasil mikroskopik partikel yang terbentuk memiliki bentuk globul globul dengan berbagai ukuran. Persentase jumlah partikel berukuran nano yang terbentuk yaitu sebanyak 6% sedangkan yang berukuran mikro sebesar 11% dari total sampel yang diukur.

**Tabel 1.** Hasil Pengujian Ukuran Partikel Menggunakan PSA

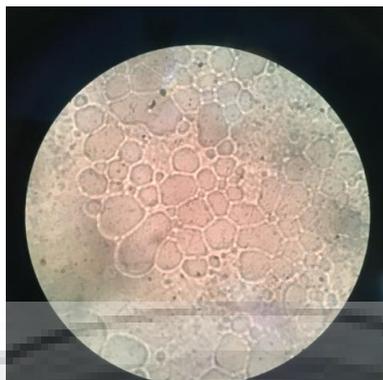
Parameter	Ukuran partikel ( $\mu\text{m}$ )
Rata-rata partikel	1,231
Partikel terkecil	0,148
Partikel terbesar	2,92
Partikel terbanyak	1,669



**Gambar 1.** Mirooskopik Nanopartikel Fibroin pada Perbesaran 2,5



**Gambar 2.** Mirooskopik Nanopartikel Fibroin pada Perbesaran 26



**Gambar 3.** Mirooskopik Nanopartikel Fibroin pada Perbesaran 125

Penentuan nilai faktor pelindung surya (FPS) dilakukan secara *in-vitro* menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Larutan nanopartikel fibroin dengan konsentrasi 50.000 ppm memiliki nilai FPS sebesar 6,6282, dan dapat digolongkan sebagai tabir surya yang memiliki tingkat perlindungan terhadap sinar matahari ekstra menurut Wasitaatmadja (1997:122). Aktivitas pelindung surya yang dimiliki oleh nanopartikel fibroin merupakan peran dari asam amino yang menjadi penyusun dari fibroin. Asam amino didalam fibroin yang memiliki aktivitas tersebut adalah fenilalanin, tirosin, triptofan. Ketiga asam amino tersebut diketahui memiliki gugus benzen yang dapat menyerap sinar yang diberikan. Berdasarkan hal ini diketahui bahwa nanopartikel fibroin dapat digolongkan kedalam tabir surya kimia yang bekerja mencegah sinar UV mencapai kulit dengan cara menyerap sinar tersebut (Nguyen *et al.*, 2005:157-159; Zhang *et al.*, 2006:886).

**Tabel 2.** Perhitungan Nilai FPS Larutan Nanopartikel Fibroin

$\lambda$ (nm)	Absorbansi rata-rata	EE x I	Absorbansi x EE x I x CF
290	1,955	0,0150	0,2933
295	1,083	0,0817	0,8848
300	0,737	0,2874	2,1181
305	0,587	0,3278	1,9242
310	0,503	0,1864	0,9376
315	0,465	0,0839	0,3901
320	0,445	0,018	0,0801
	Nilai FPS		6,6282

Untuk mendapatkan formulasi gel mengandung nanopartikel fibroin yang baik dan stabil maka terlebih dahulu dilakukan optimasi basis gel dengan menggunakan dua jenis *gelling agent* yaitu HPMC dan carbomer 934. Carbomer 934 dipilih sebagai *gelling agent* karena dapat membentuk fase gel yang bening juga merupakan bahan pembentuk gel atau pengental yang baik dan melepaskan zat aktif dengan baik pula (Ansel, 1989:390). Pembuatan sediaan gel dilakukan triplo untuk selanjutnya lakukan pengujian stabilitas fisik sediaan menggunakan metode *heating-cooling* dimana sediaan disimpan pada suhu dingin ( $4 \pm 2$ ) °C selama 24 jam kemudian dipindahkan pada tempat penyimpanan bersuhu ( $40 \pm 2$ )°C selama 24 jam, selama 6 siklus. Penyimpanan dilakukan pada suhu ekstrim yaitu diatas suhu penyimpanan yang seharusnya, suhu ekstrim dapat menginduksi meningkatkan derajat degradasi kimiawi atau perubahan

fisika sediaan. Setiap siklusnya sediaan dilakukan pengujian fisik atau organoleptis seperti warna, bau, konsistensi, dan untuk mengamati ada atau tidaknya pemisahan gel.

**Tabel 3.** Formulasi Sediaan

Bahan	% (b/b)
Nanopartikel fibroin	5
Carbomer 934	1
TEA	1,2
Propilenglikol	15
Na-EDTA	0,05
Metil paraben	0,18
Propil paraben	0,02
Fragrance	q.s
Aquadest	add 100

Uji organoleptis pada sediaan meliputi warna, bau, dan konsistensi. Setelah pengujian *heating-cooling* selama 6 siklus tidak terjadi perubahan warna sediaan dan bila dibandingkan dengan sediaan kontrol tidak terlihat adanya perubahan warna. Bau sediaan setelah dilakukan pengujian selama 6 siklus tetap berbau vanilla tetapi tingkat kekuatan bau sedikit menurun seiring dengan bertambahnya siklus.

Uji homogenitas sediaan dilakukan untuk melihat ketersebaran atau homogenitas dari zat aktif. Pada pengujian stabilitas sediaan yang disimpan pada suhu ruang selama 5 minggu, tidak mengalami penurunan homogenitas yang ditandai dengan terdispersinya nanopartikel fibroin secara merata pada seluruh bagian gel dan tidak ditemukan adanya penumpukan atau penggumpalan gel mau

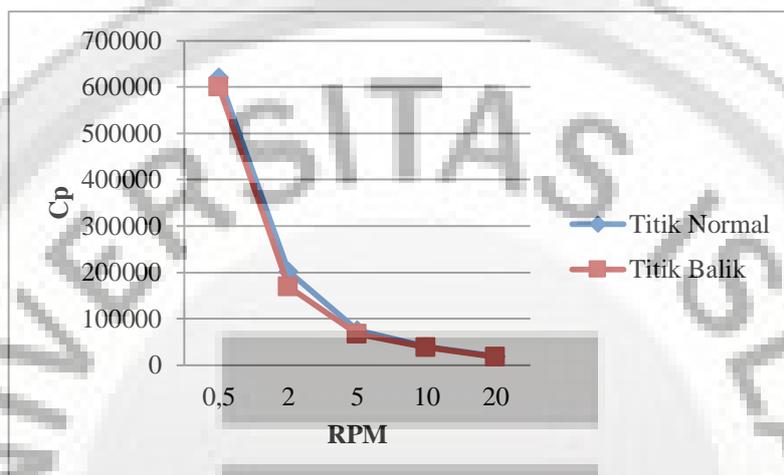
pH sediaan setelah pengujian stabilitas pada suhu ruang selama 5 minggu mengalami kenaikan disetiap minggunya. Pada minggu ke 1 pH sediaan yaitu 5,838 dan pada minggu ke 5 pH sediaan yaitu 6,068. Berdasarkan hasil tersebut perubahan pH akibat penambahan nanopartikel fibroin masih dalam rentang pH yang diterima oleh kulit sehingga masih dapat dinyatakan bahwa stabilitas pH sediaan stabil. Kenaikan pH sediaan dapat dipengaruhi oleh proses *syneresis* gel akibat pengaruh lingkungan selama proses penyimpanan.

Setelah pengujian stabilitas pada suhu ruang selama 5 minggu terjadi penurunan diameter sebar. Pada minggu ke 0 diameter sebar sediaan sebesar 3,357 cm sedangkan pada minggu ke 5 terjadi penurunan daya sebar yaitu menjadi 3,053.

Penurunan kemampuan sebar sediaan sejalan dengan meningkatnya konsistensi dan viskositas sediaan. Meskipun mengalami penurunan daya sebar, gel nanopartikel fibroin masuk kedalam kriteria sediaan yang mudah menyebar karena memiliki nilai daya sebar didalam rentang 3-5 cm (Garg *et al.*, 2002:84-104).

Setelah dilakukan pengujian stabilitas pada suhu ruang selama 5 minggu sediaan mengalami kenaikan viskositas. Viskositas sediaan yang diukur pada minggu ke 1 yaitu sebesar 16.845,833 cps, dan pada minggu ke 5 sebesar 28.400 cps.. Selama proses penyimpanan gel carbomer dapat mengalami proses *syneresis*, yang sangat dipengaruhi oleh pH. Pada saat pH rendah atau asam *syneresis* dapat terjadi kemungkinan akibat berkurangnya ionisasi dari gugus karboksil dan pembentukan ikatan hidrogen intramolekuler sehingga hilangnya hidrasi air. Hal tersebut akan menurunkan interaksi pelarut dengan molekul polimer, pelarut yang memisah akan menguap sehingga

konsistensi atau viskositas gel akan meningkat (Allen, 1998:263). Viskositas sediaan yang tinggi akan membuat konsistensi menjadi semakin besar dan daya sebar sediaan semakin kecil. Berdasarkan bentuk kurva yang diperoleh sediaan gel nanopartikel fibroin memiliki sifat aliran tiksotropik karena seiring dengan penambahan kecepatan geser semakin menurun pula viskositasnya. Selain itu grafik titik normal tidak berhimpitan dengan grafik titik baliknya. Hal ini sesuai dengan yang disebutkan dalam Lachman, *et al.* (1989:497) bahwa larutan pembentuk gel (*gelling agent*) memiliki aliran tiksotropik yang khas, dan menunjukkan aliran non-newton yang dikarakterisasi oleh penurunan viskositas dan peningkatan laju aliran.



**Gambar 4.** Grafik Rheologi Gel Fibroin

#### D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pembuatan nanopartikel fibroin menggunakan metode desolvasi menghasilkan rata-rata ukuran partikel sebesar 1,231  $\mu\text{m}$ . Sediaan gel yang mengandung partikel fibroin hasil desolvasi dengan konsentrasi 5% memiliki aktivitas sebagai tabir surya dengan nilai faktor pelindung surya sebesar 6,63 dan dapat digolongkan sebagai tabir surya yang memiliki tingkat perlindungan ekstra. Sediaan gel nanopartikel fibroin merupakan sediaan yang stabil berdasarkan hasil uji stabilitas fisik *heating-cooling* dan uji stabilitas pada penyimpanan suhu ruang selama 5 minggu.

#### E. Saran

Dapat dilakukan pembuatan nanopartikel menggunakan metode lain agar diperoleh partikel fibroin dengan ukuran yang lebih kecil, dan perlu dilakukannya uji iritasi dan uji hedonik.

#### Daftar Pustaka

- Allen, L.V., (1998). *The Art, Science, and Technology of Pharmaceutical compounding*, Second Edition, American Pharmaceutical Assosiation, Washington.
- Azarmi, S., Huang, Y., Chen, H., Mcquarie, S., Abrams, D., Roa, W., Finlay, W.H, Miller, G.G., L'enberg, J. (2006). Optimization of Two Steps Desolvation Methode Preparing Gelatin Nanoparticles and Cell Uptake Studies in 143 B Osteosarcoma Cancer Cells, *J. Pharm, Pharmaceut Sci* Vol. 9.
- Darma, G.C. (2015). *Pembentukan Spontan Komplek Polielektrolit Fibroin Sutra dengan Alginat Sebagai Model Penghantaran Obat* [Tesis], Institut Teknologi Bandung,

Bandung.

- Deore, S.L., Kombade, S., Baviskar, B.A., Khadabadi, S.S. (2012). Photoprotective Antioxidant Phytochemicals. *International Journal of Phytopharmacy*, May-Jun Vol. 2.
- Draelos, MD Zoe Diana. Thaman, Lauren A. (2006). *Cosmetiic Formulation of Skin Care Products*. Taylor & Francis Group, New York.
- Du, C., Jin, J., Li, Y., Kong, X., Wei, K., Yao, J. (2009). Novel Silk Fibroin/Hydroxyapatite Composite Film Structre and Properties, *Master Sci Eng C* 29.
- Garg, A., Aggarwal, D., Garg, S., Sigala, A.K. (2002). *Spreading of Semisolid Formulation*. Pharmaceutical Technologi, USA.
- Jin, H-J., Kaplan, D.L. (2003). Mechanism of Silk Processing in Insects and Spiders, *Nature* 424.
- Kuzuhara, K., Asukara, T., Tomoda, R., Matsunaga, T. (1987). Use of Silk Fibroin for Enzyme Membrane, *J. Biothechnol* Vol 5.
- Lachman, L., Lieberman, H.A., Kanig, J.L. (1994) *Teori dan Praktek Farmasi Industri Edisi Ketiga* Terjemahan oleh Siti Suyatmi. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Mita, K., Ichimura & T.C James. (1994). *Highly Repetive Structure and Its Organization of Silk Fibroin Gene*. *J Mol Evol*.
- Mondal, M., Trivedy, K., Nirmal, Kumar, S. (2007) The Silk Protein, Sericin, adn Fibroin in Silkworm, *Bombyx mori* Linn., *Capsian Journal of Enviornmental Science*, Iran. Vol. 5
- Monti, P., Freddi, G., Bertoluzza, A., Kasai, N., Tsukada, M. (1998). Spectroscopic Studies of silk Fibroin From *Bombyx mori*, *J. Raman Spectrosc.* 29
- Nguyen, N., dan Rigel, D.S. (2005). *Photoprotection and The Prevention of Photocarcinogenesis*. In *Sunscreens: Regulation and Commercial Development* Eds: Shaat, N.A Third Edition. Departement of Dermatology, New York University School of Medicine New York.
- Sakabe, H., Ito, T., Miyamoto, Y., Noishiki dan W.S., Ha. (1989). *In Vivo Blood Compatibility of Regenerated Silk Fibroin*. SEN-1 GAKKAISHI, Jepang
- Teramoto H, Kakazu A, Asakura T. (2006). Native Structure and Degradation Pattern of Silk Sericin Studied by <sup>13</sup>C NMR Spectroscopy, *Macromolecules*.
- Vepari, C., Kaplan, D.L. (2007). Silk as biomaterial, *Prog. Polym. Sci.*, 32.
- Wasitaatmadja, S.M. (1997). *Penuntun Ilmu Kosmetik Medik*. Penerbit UI Press, Jakarta.
- Werber, C., Coester, C., Kreuter, J, Langer, K. (2000). Desolvation Process and Surface Characterization of Protein Nanoparticle, *International Journal Pharm* 194.
- Wijayakusuma, Hembing. (2005). *Atasi Kanker dengan Tanaman Obat*. Puspa Swara, Jakarta.
- Zhang, Yu-Qing, *et, al.* (2006). Formation of Silk Fibroin Nanoparticles in Water-Miscible Organic Solvent adn Their Characterization, *Journal of Nanoparticle Reasearch* Vol. 9. Springer.
- Zhou., Li, G.Y., Shao, Z.Z. (2001). Structure of *Bombyx mori* Silk Fibroin Based on The DFT Chemical Shift Calculation, *J Phys Chem B*, 105