

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Deskripsi Metode Pendekatan *Review* Artikel

Review artikel merupakan suatu analisis yang bertujuan untuk menggabungkan, meninjau, dan meringkas beberapa hasil dari 2 bahkan lebih penelitian sejenis berdasarkan data yang telah ditemukan lalu ditarik dan diambil kesimpulannya dari artikel tersebut.

Teknik ini menganalisis dari berbagai penelitian yang telah dilakukan oleh peneliti terdahulu, kemudian diinterpretasikan untuk kemudian ditarik kesimpulannya. Hasil analisis penelitian tersebut kemudian digunakan sebagai dasar atau acuan untuk menerima bahkan mendukung hipotesis, serta dapat juga digunakan untuk menolak maupun menggugurkan hipotesis yang telah diajukan oleh beberapa peneliti lain sebelumnya (Sukmawati, 2020).

Adapun proses yang dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Mencari artikel terkait dengan penelitian yang dilakukan
2. Melakukan perbandingan dari artikel-artikel penelitian sebelumnya yang telah didapatkan
3. Hasil perbandingan dan pembahasan disimpulkan

B. Informasi Jumlah dan Jenis Artikel

Dalam *review* artikel kali ini digunakan sebanyak 5 artikel dan jenis artikel yang digunakan adalah 3 artikel internasional dan 2 artikel nasional. 3

artikel internasional sudah terindeks Scimago Journal Rank dan 2 artikel nasional terindeks SINTA yang dipublikasi sepuluh tahun terakhir.

Tabel 3.1 Informasi Artikel dan Keterangan Akreditasi

Judul Artikel	Nama Jurnal	Keterangan Akreditasi
Optimasi Pembuatan Nanoemulsi <i>Virgin Coconut Oil</i> (VCO)	Jurnal Kimia	SINTA/S3
Pengembangan, Evaluasi, dan Uji Aktivitas Antiinflamasi Akut Sediaan Nanoemulsi spontan Minyak Jintan Hitam	Jurnal Farmasi Indonesia (JFI)	SINTA/S3
Development of New Indonesian Propolis Extract-Loaded Selfemulsifying: Characterization, Stability and Antibacterial Activity	Advanced Pharmaceutical Bulletin	Indeks Scopus /H-indeks 29
Preparation of <i>Virgin Coconut Oil</i> Nanoemulsions by Phase Intervension Temperature Method	Advanced Materials Research	Indeks Scopus /H-indeks 33
Bromelain Encapsulated in Self Assembly Nanoemulsion Exhibits Better Debridement Effect in Animal Model of Burned Skin	Journal of Nano Research	Indeks Scopus /H-indeks 22

C. Isi Artikel

1. Artikel Pertama

Judul Artikel : Optimasi Pembuatan Nanoemulsi *Virgin Coconut Oil* (VCO)

Nama jurnal : Jurnal Kimia (SINTA/S3)

Penerbit : Progam Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Volume & halaman : Volume 1 & halaman 8-12

Tahun terbit : 2018

Penulis artikel : N.M.D. Listyorini, N.L.P.D. Wijayanti, K. Widnyani Astuti

Isi artikel

Tujuan Penelitian : Memperoleh perbandingan minyak (VCO), surfaktan dan kosurfaktan yang dapat membentuk nanoemulsi yang memenuhi persyaratan menggunakan SNEDDS.

Metode Penelitian

Desain : Eksperimental

Sampel : VCO, Chremophor RH 40, PEG 400 & Etanol

Instrument : Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi pipet ukur (*IWAKI Pyrex*), gelas beker (*IWAKI Pyrex*), botol vial 20 mL, pipet tetes, aluminium foil, plastik ikan, timbangan analitik ($KERN_{ALJ}$), *ballfiller*, sentrifugator ultra (*SORVALL® Picco*), spatel logam (*OneMed*), magnetik stirrer (*LabTech®Corning PC-420D*), dan sonikator (*BRANSON®*), spektrofotometer UV-Vis (*GENESYS*), zeta potensial dan ukuran partikel (*DelsaTMNano C Particle Analyzer, Beckman Coulter*).

Metode analisa : Nanoemulsi dibuat dengan cara mencampurkan VCO sebagai fase minyak dengan kosurfaktan (PEG

400 atau Etanol) dan surfaktan (Cremophor RH40 atau Tween 20) dengan perbandingan 1: 8: 1, 1: 7: 2 dan 2: 7: 1 yang memperoleh 12 formula, masing-masing dimasukkan dalam botol vial 20 mL, diaduk dengan pengaduk magnetik selama 2 jam dengan kecepatan 100 rpm. Campuran disonikasi menggunakan sonikator tipe *bath* selama 1 jam. Campuran kemudian ditambahkan dengan air deion dengan perbandingan fase minyak : air deion = 1 : 5. Campuran diaduk dengan menggoyanggoyangkan wadah hingga terbentuk nanoemulsi (Rachmawati *et al*, 2010).

Hasil Penelitian : Uji evaluasi yang dilakukan terhadap ke-12 sediaan nanoemulsi yaitu uji stabilitas fisik dan persen transmittan. Uji stabilitas fisik menggunakan sentrifugasi untuk mengetahui ada tidaknya pemisahan fase yang terjadi akibat adanya gaya gravitasi (Stephanie, 2015).

Berdasarkan hasil dari persen transmittan, maka dapat disimpulkan bahwa persen transmittan formula 2 dan formula 7 yang berada antara rentang 98-100%. F2 mempunyai persen transmittan 98,2 % dan tidak ada pemisahan fase.

Tabel 3.2 Hasil Uji Stabilitas Fisik dan Persen Transmittan

Formula	Stabilitas Fisik	Persen Transmittan
F1	Ada pemisahan fase	52,5 %
F2	Tidak ada pemisahan fase	98,2 %
F3	Tidak ada pemisahan fase	97,9%
F4	Ada pemisahan fase	42,7%
F5	Tidak ada pemisahan fase	97,3%
F6	Ada pemisahan fase	22,6%
F7	Tidak ada pemisahan fase	98,4%
F8	Ada pemisahan fase	1,4%
F9	Tidak ada pemisahan fase	91,6%
F10	Ada pemisahan fase	13,4%
F11	Tidak ada pemisahan fase	13,5%
F12	Ada pemisahan fase	5,9%

Jika hasil persen transmittan mendekati persen transmittan air yakni 100%, maka sampel tersebut memiliki kejernihan atau transparansi yang mirip dengan air (Stephanie, 2015). Semakin jernih atau semakin besar nilai transmittan maka dapat diperkirakan tetesan nanoemulsi telah mencapai ukuran nanometer.

Tabel 3.3 Hasil Uji Karakteristik Artikel 1

Formula	Zeta Potensial	Ukuran Partikel	Indeks Polidispersitas
F2	0,14 mV	20,8 nm	0,345
F7	0,48 mV	20,6 nm	0,356

Tabel diatas menunjukkan bahwa system koloid nanoemulsi stabil karena memiliki nilai zeta potensial yang telah sesuai rentang yaitu antara -30 mV sampai + 30 mV. Nanoemulsi memiliki ukuran

partikel yang bagus apabila dibawah 100 nm, dan juga nanoemulsi ditargetkan untuk memiliki ukuran partikel berada pada rentang 20-200 nm, yang dianggap aman dan dapat menyerap pada stratum korneum untuk pengiriman obat melalui kulit. Indeks polidispersitas yang baik memiliki nilai di bawah 0,5, sedangkan nilai di atas 0,5 menunjukkan bahwa distribusi partikel yang non-seragam (Suciati, Aliyandi & Satrialdi, 2014).

Kesimpulan dan saran : Formula yang memenuhi persyaratan pembentukan nanoemulsi dengan menggunakan SNEDDS yaitu F2 dan F7. F2 yaitu VCO: Cremophor RH40: PEG 400 (1: 8:1) dan F7 yaitu VCO: Cremophor RH40: Etanol (1: 7: 2). Perlu dilakukan uji TEM (*Transmission Electron Microscopy*) pada formula optimum nanoemulsi.

2. Artikel Kedua

Judul Artikel : Pengembangan, Evaluasi, dan Uji Aktivitas Antiinflamasi Akut Sediaan Nanoemulsi Spontan Minyak Jintan Hitam

Nama jurnal : Jurnal Farmasi Indonesia (JFI) (SINTA/S3)

Penerbit : Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia (UMI), Makassar Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung

Volume & halaman : Volume 7 & halaman 77-83

Tahun terbit : 2014

Penulis artikel : Audia Triani Olli, Jessie Sofi a Pamudji, Diky Mudhakhir, dan Maria Immaculata Iwo

Isi artikel

Tujuan Penelitian : Dalam penelitian ini akan dikembangkan suatu sediaan dari minyak jintan hitam yang berbasis sistem penghantaran nanoemulsi dengan tujuan untuk meningkatkan bioavailabilitasnya.

Metode Penelitian

Desain : Eksperimental

Sampel : Minyak Jintan Hitam, VCO, Minyak Zaitun, Chremophor RH 40, Tween 20, Tween 80, PEG 400

Instrument : Neraca analitik (Mettler Toledo R XS205), pengaduk magnetik, *stirrer* (IKA® RW 20 Digital), sonikator tipe *bath* (Nagoya S Ultrasonic Cleaner GB- 928), HPLC (Hewlett Packard), kolom HPLC (Phenomenex® Luna C18), particle analyzer (DelsaTM Nano C Particle Analyzer, Beckman Coulter), viskometer (Brookfield® DV),

Transmission Electron Microscopy (TEM, JEOL JEM 1400), pH meter (Mettler Toledo R S20), mikropipet (Bio-Rad®), alat mikrosentrifugasi (Hsiang Tai®), vortex (IKAR Genius 3) plethysmometer, dan alat gelas lain yang digunakan di laboratorium.

Metode analisa : Pembuatan SNES dilakukan dengan melakukan optimasi campuran minyak dengan surfaktan dan kosurfaktan. Dua jenis minyak yaitu VCO dan Minyak Zaitun serta tiga jenis surfaktan, Tween 20, Tween 80 dan Cremophor RH 40 serta PEG 400 sebagai kosurfaktan digunakan untuk mendapatkan campuran yang paling optimal untuk sistem SNES. Setelah fase minyak terbentuk, minyak jintan hitam ditambahkan ke dalam sistem. Dengan penambahan air pada fase minyak jintan hitam, nanoemulsi akan terbentuk secara spontan dengan pengadukan ringan.

Hasil Penelitian : Campuran VCO:Cremophor RH 40:PEG 400 pada perbandingan konsentrasi 1:7:2 adalah formula yang paling optimal, karena memberikan tampilan visual sebagai nanoemulsi dengan ukuran partikel yang paling kecil. Jumlah minyak jintan yang paling

optimal yang bisa dimasukkan ke dalam fase minyak dan membentuk SNES adalah 200 μL per 1 g fase minyak.

Tabel 3.4 Hasil Uji Artikel 2

Formula	Minyak jintan hitam per 1 g SNES	Pengamatan visual	Rata rata diameter partikel (nm)	Indeks polidispersitas
F1	50	Jernih kuning kecoklatan	26,7	0,310
F2	75	Jernih kuning kecoklatan	40,2	0,38
F3	100	Jernih kuning kecoklatan	66,6	0,299
F4	150	Jernih kuning kecoklatan	72,0	0,317
F5	175	Jernih kuning kecoklatan	86,9	0,278
F6	200	Jernih kuning kecoklatan	89,0	0,254
F7	225	Keruh kecoklatan	142,0	0,245

Dari hasil uji sentrifugasi, diperoleh hasil tidak adanya pemisahan antara fase minyak dan fase air dari SNES. Hal ini menunjukkan bahwa SNES minyak jintan hitam cukup stabil selama penyimpanan. Setelah uji stabilitas fisik dengan siklus freeze thaw, menunjukkan distribusi ukuran partikel yang kurang baik selama penyimpanan, hal ini berhubungan dengan ukuran partikel yang relatif kecil dengan potensial zeta yang semakin menurun memungkinkan adanya kecenderungan partikel untuk bersatu.

Dari hasil uji antiinflamasi yang dilakukan, SNEs minyak jintan hitam tidak memberikan aktivitas antiinflamasi dengan rata-rata persen inflamasi yang

tertinggi diantara seluruh kelompok yaitu sebesar 38,76 % bahkan lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol yang diberikan VCO dan kelompok yang diberikan minyak jintan hitam (31,51% dan 21,70%).

Kesimpulan dan saran : Nanoemulsi minyak jintan hitam dalam penelitian ini merupakan formula optimum yang mampu menghasilkan nanoemulsi yang jernih dengan ukuran partikel $57,6 \pm 13.04$ nm, indeks polidispersitas $0,288 \pm 0,033$, dan potensial zeta $0,243 \pm 0,136$ mV. Hasil uji stabilitas stabil secara fisik, walaupun pada siklus ketiga *freeze thaw* menunjukkan perbedaan yang signifikan pada indeks polidispersi dan potensial zeta dengan siklus sebelumnya. Dari hasil uji aktivitas antiinflamasi tidak menunjukkan aktivitas anti inflamasi. Untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan evaluasi pelepasan minyak jintan hitam serta perlu melakukan uji aktivitas antiinflamasi kronik.

3. Artikel Ketiga

Judul Artikel : Development of New Indonesian Propolis Extract-Loaded Selfemulsifying: Characterization, Stability and Antibacterial Activity

Nama jurnal Advanced Pharmaceutical Bulletin (SJR)

Penerbit : Tabriz University of Medical Science, Faculty of Pharmacy

Volume & halaman : Volume 11 & halaman 120-129

Tahun terbit : 2020

Penulis artikel : Yandi Syukri1, Annisa Fitria1, Suci Hanifah, Muthiah Idrati

Isi artikel

Tujuan Penelitian : Penelitian ini bertujuan untuk menyusun, mengkarakterisasi, menguji stabilitas dan evaluasi aktivitas antibakteri propolis extract-loaded self-emulsifying (PESE) dari indonesia.

Metode Penelitian

Desain : Eksperimental

Sampel : Propolis, Castor Oil, VCO, Chremophor RH 40, Kolliphor EL, PEG 400

Instrument : Spektrofotometer UV-vis (Shimadzu UV 1800, Jepang), penganalisis ukuran partikel (Horiba SZ 100, Jepang), sentrifugator.

Metode analisa : Minyak, surfaktan / pengemulsi, dan kosurfaktan dipilih sebagai pembawa untuk PESE. Formulasi melalui uji kelarutan ekstrak propolis pada masing-masing pembawa, dilanjutkan dengan evaluasi dari wilayah nanoemulsi dalam diagram fase terner pseudo. Pra-konsentrasi PESE disiapkan dengan penambahan 150 mg / mL ekstrak propolis dilanjutkan dengan karakterisasi transmisi, ukuran partikel, potensial zeta, stabilitas termodinamika, ketahanan terhadap pengenceran, dan stabilitas yang dipercepat.

Hasil Penelitian : Hasil dari artikel ini menunjukkan bahwa kombinasi minyak jarak, Cremophor RH 40, dan pembawa PEG 400 memiliki fase komposisi minyak 10% – 30%, surfaktan 40% –80%, dan 10% -40% kosurfaktan. Rentang fase VCO, Cremophor RH 40, dan PEG 400 adalah 10% –20% minyak, 40% - 80% surfaktan, dan 10% -40% kosurfaktan, sedangkan kombinasi minyak jarak, Kolliphor EL, dan PEG 400 terdiri dari 10% –30% minyak, 30% –80% surfaktan, dan 10% –40% pengemulsi. Oleh karena itu, komposisi Minyak jarak (minyak), Kolliphor EL

(surfaktan), dan PEG 400 (kosurfaktan) dipilih sebagai pembawa untuk formulasi.

Hasil uji *transmittance* menunjukkan F1 sampai F11 memiliki lebih dari 80% *transmittance* dan dapat dijelaskan sebagai larutan yang jernih. Ukuran partikel diidentifikasi untuk 11 formulasi yang dipilih di bawah wilayah nanoemulsi dari diagram fase pseudoternary dengan kriteria penerimaan untuk variabel kurang dari 100 nm. sedangkan pada 11 formula ukuran partikelnya dibawah 50 nm, Meningkat ukuran partikel ditunjukkan dengan peningkatan konsentrasi minyak, seperti pada formulasi 8 (F8) sampai dengan formulasi 11 (F11), dimana ukuran partikel meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi minyak (20% -30%). Semua formulasi memiliki nilai zeta potensial kurang dari -30 mV. 11 formulasi juga menunjukkan bahwa semuanya lulus tes sentrifugasi, *heating-cooling* test, ditunjukkan dengan tidak adanya presipitasi dan pemisahan fase dan dengan hasil larutan yang jernih. 11 formulasi lolos tes *freeze-thaw* karena mereka tidak menunjukkan fase

pemisahan atau presipitasi selama enam siklus freeze-thaw.

Dari 11 formulasi semuanya memiliki ukuran partikel yang lebih kecil dari 200 nm, tapi formulasi terbaik dengan ukuran partikel yang baik, stabil dan memiliki perubahan signifikan adalah F5, F6, F7, F8. Sementara F1-F4 ukuran partikelnya berubah signifikan dan larutan tampak berawan. Penemuan partikel yang tidak stabil mungkin disebabkan oleh penggunaan kolliphor EL yang dapat membentuk agregat dan menyebabkan koagulasi setelah pengenceran pada tingkat tertentu.

Kesimpulan dan saran : Nanoemulsi dalam penelitian ini memiliki 20 formula, semua formula memiliki zeta potensial kurang dari -30mV sehingga dinilai memiliki formulasi yang stabil. Untuk hasil uji freeze thaw menunjukkan semua formula tidak ada pemisahan fase sehingga memiliki stabilitas yang baik. Untuk persen *transmittance* dan ukuran partikel, hanya F1 sampai F11 yang memiliki hasil yang baik. Persen *transmittance* yang didapat sebesar 80% dan ukuran partikel dibawah 50 nm sehingga dianggap memiliki hasil yang jernih. Semua formulasi juga ditemukan

stabil selama 3 bulan penyimpanan di uji stabilitas dipercepat, dan aktivitas antibakterinya terhadap *E. coli* dan *S. aureus* lebih tinggi dari ekstrak propolis.

4. Artikel Keempat

Judul Artikel : Preparation of Virgin coconut oil nanoemulsions by phase inversion temperature method.

Nama jurnal : Advanced Materials Research (SJR)

Penerbit : Trans Tech Publications

Volume & halaman : Volume 1060 & halaman 99-102

Tahun terbit : 2014

Penulis artikel : Hafiz Mahmood Hasan, Jiraporn Leanpolchareanchai, Anchalee Jintapattanakit

Isi artikel

Tujuan Penelitian : Pembuatan nanoemulsi minyak kelapa menggunakan surfaktan chremophor RH 40 yang merupakan surfaktan nonionik berdasarkan metode PIT.

Metode Penelitian

Desain : Eksperimental

Sampel : VCO (minyak kelapa)

Instrument : *Magnetic stirrer*, zetasizer nano ZS {Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, UK) dan laser dropper velocimetry (LDV).

Metode analisa : Persiapan dan karakterisasi nanoemulsion minyak kelapa: Nanoemulsi minyak kelapa dibuat dengan mencampurkan cremophor RH 40, minyak kelapa dan larutan NaCl 6% (w/w) dan perlahan dilakukan pemanasan dengan pengadukan terus menerus sampai 90°C. Kemudian dilakukan pendinginan progresif dari 90°C menjadi 60°C. Tiga siklus suhu (90-60-90-60-90°C) diterapkan untuk mencapai proses inversi. Ketika temperatur sistem turun ke PIT yaitu 75 C, dimana sistem itu muncul cahaya dengan kilatan biru, sistem didinginkan dengan cepat melalui pengenceran dengan air dingin sebanyak 2 kali.

Karakterisasi nanoemulsi yang diperoleh ditinjau dari ukuran partikel, distribusi ukuran (PDI) dan rata-rata jumlah penghitungan diukur dengan spektroskopi korelasi foton (PCS) menggunakan Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, UK) pada 25°C. Potensi zeta diperoleh dengan laser dropper velocimetry (LDV) menggunakan Zetasizer Nano ZS.

Studi stabilitas: Sampel disimpan pada suhu yang berbeda yaitu 4, 30 dan 40°C di bawah perlindungan

cahaya untuk jangka waktu dua bulan. Stabilitas fisik nanoemulsi minyak kelapa dalam kondisi penyimpanan ini dipelajari sehubungan dengan ukuran partikel dan PDI.

Hasil Penelitian : Diagram terner dibuat untuk mengoptimalkan proporsi konstituen sebelum pengenceran pendingin, yang dapat mendukung pembentukan nanoemulsi. Berdasarkan diagram tersebut, jumlah minyak kelapa 5% dan 30% (w / w), 10% dan 80% (w / w) dari cremophor RH40 dan 5% dan 85% (w / w) untuk pembentukan nanoemulsi.

Fase minyak yaitu minyak kelapa disiapkan dengan konsentrasi 25% (w/w) sebelum pengenceran pendinginan. Terdapat 4 formulasi dengan konsentrasi surfaktan yang berbeda, semua formulasi muncul disperse putih tembus pandang tanpa sedimetas. Ukuran partikel rata-rata nanoemulsi dalam kisaran 36-49 nm dengan muatan permukaan (-)2,4 - (-)6,5. PDI <0,1 dengan pola distribusi monomodal. Ukuran partikel nanoemulsi cenderung menurun dengan meningkatnya konsentrasi surfaktan. Hal ini bisa terbentuk antara

minyak dan surfaktan dengan peningkatan konsentrasi surfaktan.

Semua formulasi mempunyai tampilan yang sama yaitu disperse putih tembus cahaya tanpa creaming, koalesens, atau tidak terdapat pemisahan ketika disimpan dalam suhu 4, 30, dan 40° C. tidak ada perubahan pada ukuran partikel dan PDI (indeks polidispersitas) setelah 2 bulan. Seperti diketahui bahwa minyak kelapa menjadi padat pada suhu rendah, nanoemulsi minyak kelapa terbukti stabil pada suhu 4°C tanpa terjadi rekristalisasi minyak.

Kesimpulan dan saran: Penelitian ini mendemonstrasikan pembentukan nanoemulsi minyak kelapa dengan cara metode emulsifikasi energi rendah yaitu PIT menggunakan cremophor RH 40 sebagai surfaktan nonionik. Proporsi penyusun minyak kelapa, cremophor RH40 dan larutan NaCl 6% (w/w) untuk pembuatan nanoemulsion ditemukan menjadi: 5% -30% (w / w), 10% -80% (w / w) dan 5% -85% (w / w). Nanoemulsi minyak kelapa tampak bening dengan ukuran partikel pada kisaran 36-49 nm dan PDI <0,1. Semua formulasi stabil hingga 2 bulan bila

disimpan pada suhu 4, 30 dan 40°C dan terlindung dari cahaya.

5. Artikel Kelima

Judul Artikel : Bromelain Encapsulated in Self Assembly Nanoemulsion Exhibits Better Debridement Effect in Animal Model of Burned Skin

Nama jurnal : Journal of Nano Research (SJR)

Penerbit : Trans Tech Publications

Volume & halaman : Volume 40 & halaman 158-166

Tahun terbit : 2016

Penulis artikel : Heni Rachmawati, Evi Sulastril, Maria Immaculata Iwol, Dewi Safitri, Annisa Rahma

Isi artikel

Tujuan Penelitian : Menyelidiki nanoemulsi bromelain dan formulasinya menjadi gel untuk meningkatkan keefektifannya dalam pengobatan luka bakar

Metode Penelitian

Desain : Eksperimental

Sampel : Bromelain

Instrument : Mettler Toledo® S20, Photon Correlation Spectroscopy (PCS) dan Electrophoretic Light Scattering (ELS).

Metode analisa : Sebelum bromelain berinkorporasi, protein didispersikan dalam Soy PC untuk meningkatkan kelarutan minyak. Kompleks dispersi padat PC bromelain-kedelai dibuat dengan mencampurkan bromelain dengan Soy PC dengan perbandingan 1: 4 dalam tris HCl buffer pH 7 kemudian dikering-bekukan selama 24 jam. Kemudian ditambahkan bromelain-PC kering menjadi dua gram nanoemulsi fase internal yang terdiri dari VCO atau Vitamin E asetat sebagai minyak, Cremophor RH-40 sebagai surfaktan dan PEG 400 sebagai ko-surfaktan. Berbagai jumlah bromelain ditambahkan ke dalam fase internal (fase minyak 1, 3, 5, 7, 9, 10 dan 12 mg / 2 g). Campuran ini diaduk selama dua jam pada 100 rpm dan kemudian disonikasi (Branson® model 5510) selama satu jam. Selanjutnya, fase minyak yang mengandung bromelain dicampur dengan air deionisasi (dengan perbandingan 1: 4) hingga terbentuk secara spontan nanoemulsi bromelain. Beberapa parameter diukur seperti pH menggunakan Mettler Toledo® S20, ukuran tetesan dan distribusi ukuran menggunakan

Photon Correlation Spectroscopy (PCS) dan potensi zeta oleh *Electrophoretic Light Scattering* (ELS).

Morfologi dari nanoemulsi diamati menggunakan mikroskop elektron transmisi (TEM; JEM 1400, JEOL, Jepang). Sekitar 10 μL sampel dijatuhkan di empat spesimen dan ditutup dengan grid 400 mesh. Setelah 1 menit, 10 μL uranyl asetat dijatuhkan di atas bingkai, dan dibiarkan mengering selama 30 menit sebelum observasi di bawah mikroskop elektron.

Stabilitas kimia dan fisik nanoemulsi dipelajari dengan mengamati pemisahan fasa, menentukan ukuran partikel, indeks polidispersitas, zeta potensial dan analisis kandungan bromelain menggunakan spektrofotometer UV-Visible. Sampel disimpan pada suhu kamar dan evaluasi dilakukan pada hari ke 0 (hari produksi), hari ke 3, hari ke 5, hari ke-7, hari ke-9, hari ke-12 dan ke-14. Tes gravitasi juga dilakukan untuk menilai stabilitas fisik nanoemulsi dibandingkan dengan emulsi konvensional. Emulsi dan nanoemulsi disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 12.000 rpm.

Hasil Penelitian : Nanoemulsi yang mengandung 3% fase minyak, 15% Cremophor RH40, dan 5% PEG ini memiliki tampilan yang jelas dan ukuran tetesan di bawah 100 nm. Karena itu, formula ini dipilih sebagai sistem yang cocok untuk nanoemulsi bromelain. Setelah tujuh hari disimpan pada suhu kamar, nanoemulsi menggunakan Vitamin E Acetate (VEA) menunjukkan tampilan fisik yang mirip dengan performa awal yang berarti sistem ini tetap terjaga homogenitasnya selama periode penyimpanan. Jumlah bromelain tertinggi yang dapat dimasukkan ke dalam nanoemulsi adalah 9 mg per 2 g fase minyak.

Terdapat 7 formulasi, dengan jumlah bromelain untuk 2 g SNE secara berurutan adalah 1 mg, 3 mg, 5 mg, 7 mg, 9 mg, 10 mg, 12 mg. Formulasi 10 mg dan 12 mg memiliki penampilan larutan yang berawan sedangkan sisanya terlihat seperti larutan yang jelas. Formulasi 10 mg dan 12 mg juga memiliki ukuran partikel 110 nm dan 126 nm, sedangkan formulasi lainnya memiliki ukuran partikel dibawah 100 nm. Nilai indeks polidispersitas pada semua formulasi berkisar antara 0,123 – 0,346.

Nanoemulsi yang dibuat dengan VEA (Vitamin E) menunjukkan stabilitas fisik yang lebih baik dibandingkan dengan VCO serta kombinasi VCO dan VEA (gbr. 3a). Nanoemulsi bromelain dalam VEA dipertahankan ukuran tetesan kurang dari 100 nm dengan indeks polidispersitas 0,5 setelah penyimpanan selama 14 hari.

Kesimpulan dan saran : Nanoemulsi mengandung 3% fase minyak, 15% cremophor RH40, dan 5% PEG 400 memiliki penampilan yang jelas dan ukuran tetesan di bawah 100 nm. Kombinasi Cremophor RH40 dan PEG 400 mampu membentuk *self-nanoemulsion*. Setelah tujuh hari penyimpanan pada suhu kamar, nanoemulsi yang disiapkan dengan VEA menunjukkan stabilitas fisik yang lebih baik daripada yang memiliki VCO serta kombinasi VCO dan VEA. Dibandingkan dengan bromelain murni, system nanoemulsi menunjukkan pengurangan kontraksi luka yang lebih baik sampai hari ke-14 pengamatan serta parameter lain yang relevan untuk efek penyembuhan luka. Matriks gel menahan pelepasan bromelain, menghasilkan efek

penyembuhan luka yang lebih rendah tetapi mungkin memiliki aktivitas yang lama.

