

Nanoemulsi Katekin Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.): Formulasi dan Aktivitas Antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Enterobacter aerogenes*

Nanoemulsion Purified Catechin Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.): Formulation and Antimicrobial Activity against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Enterobacter aerogenes*

Nurul Inaya Muhtar¹, Soraya Ratnawulan Mita^{1*}, Sri Agung Fitri Kusuma²

¹Departemen Farmasi dan Teknologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jatinangor, Indonesia

²Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jatinangor, Indonesia

Abstract

Gambir (Uncaria gambir Roxb), a plant native to Indonesia, has long been recognized in traditional medicine. The primary active component in gambir is catechin, which possesses various biological activities, including broad-spectrum antimicrobial properties. However, catechin faces challenges related to low stability, necessitating its formulation into a nanoemulsion to enhance both its stability and effectiveness. This study aims to evaluate whether an optimized nanoemulsion formulation of catechin can improve its antimicrobial activity. The methodology includes assessing the antimicrobial effectiveness of catechin powder and catechin nanoemulsion using the agar diffusion method, as well as determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) through the microdilution method. Antimicrobial activity was tested against three bacterial strains: Staphylococcus aureus ATCC 6538, Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027, and Enterobacter aerogenes ATCC 13048. The optimal formulation consisted of a combination of Tween 80 and Span 80 as surfactants (15%), PEG 400 as a co-surfactant (7%), and isopropyl myristate (IPM) as the oil phase (10%). This nanoemulsion formulation demonstrated a transmittance value of 91,9%. Based on the antimicrobial activity results, the catechin nanoemulsion exhibited enhanced antimicrobial effects compared to catechin powder. The nanoemulsion containing 2% catechin showed the highest antimicrobial activity against all three tested bacteria. These findings are expected to provide new insights into the potential application of catechin nanoemulsion as a more effective antimicrobial agent.

Keywords: antimicrobial, catechin, nanoemulsion

PUBLISHED BY:

Sarana Ilmu Indonesia (salnesia)

Address:

Jl. Dr. Ratulangi No. 75A, Baju Bodoa, Maros Baru,
Kab. Maros, Provinsi Sulawesi Selatan, Indonesia

Email:

info@salnesia.id, jika@salnesia.id

Phone:

+62 85255155883

Article history:

Submitted 17 Desember 2024

Accepted 30 Agustus 2025

Published 31 Agustus 2025



Abstrak

Gambir (*Uncaria gambir* Roxb), tanaman asli Indonesia, telah lama dikenal dalam pengobatan tradisional. Komponen aktif utama dalam gambir adalah katekin, yang memiliki berbagai aktivitas biologis, termasuk sifat antimikroba spektrum luas. Namun, katekin menghadapi tantangan terkait stabilitas yang rendah, sehingga diperlukan formulasi dalam bentuk nanoemulsi untuk meningkatkan stabilitas dan efektivitasnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi apakah formulasi nanoemulsi katekin yang dioptimalkan dapat meningkatkan aktivitas antimikroba. Metodologi yang digunakan mencakup pengujian efektivitas antimikroba katekin bubuk dan nanoemulsi katekin menggunakan metode difusi agar, serta penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (*Minimum Inhibitory Concentration*, MIC) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (*Minimum Bactericidal Concentration*, MBC) melalui metode mikrodilusi. Aktivitas antimikroba diuji terhadap tiga strain bakteri: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, dan *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048. Komposisi optimal terdiri atas kombinasi surfaktan Tween 80 dan Span 80 (15%), kosurfaktan PEG 400 (7%), serta fase minyak isopropil miristat (10%). Formulasi ini menunjukkan nilai transmitansi sebesar 91,9%. Berdasarkan hasil uji aktivitas antimikroba pada katekin dan nanoemulsi katekin, dapat disimpulkan bahwa formulasi nanoemulsi katekin meningkatkan aktivitas antimikroba senyawa katekin. Nanoemulsi yang mengandung 2% katekin menunjukkan aktivitas antimikroba tertinggi terhadap ketiga bakteri yang diuji. Hasil penelitian ini diharapkan memberikan wawasan baru tentang potensi penggunaan nanoemulsi katekin sebagai agen antimikroba yang lebih efektif.

Kata Kunci: antimikroba, katekin, nanoemulsi

*Penulis Korespondensi:

Soraya Ratnawulan Mita, email: soraya@mail.unpad.ac.id



This is an open access article under the **CC-BY** license

Highlight:

- Formulasi katekin dalam bentuk nanoemulsi terbukti meningkatkan aktivitas antimikrobanya secara signifikan dibandingkan dengan bentuk serbuk katekin biasa.
- Nanoemulsi yang mengandung 2% katekin menunjukkan aktivitas antimikroba tertinggi terhadap ketiga bakteri uji, yaitu *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Enterobacter aerogenes*.
- Formulasi optimal nanoemulsi (menggunakan surfaktan Tween 80 dan Span 80, kosurfaktan PEG 400, dan fase minyak isopropil miristat) menghasilkan sediaan yang stabil dengan nilai transmitansi mencapai 91,9%

PENDAHULUAN

Penelitian dan pengembangan obat-obatan berbahan dasar alami belakangan ini mendapatkan perhatian yang signifikan dari para peneliti di seluruh dunia. Bahan alami dianggap sebagai salah satu sumber utama senyawa bioaktif yang memiliki potensi besar dalam dunia kedokteran. Pengobatan tradisional yang berbasis bahan alami sering kali lebih disukai karena biayanya yang terjangkau dan risiko efek samping yang lebih rendah dibandingkan dengan farmasi modern. Salah satu tanaman asli Indonesia yang

banyak digunakan dalam pengobatan tradisional adalah gambir (*Uncaria gambir* Roxb), yang banyak ditemukan di Sumatra Barat dan Sumatra Selatan. Tanaman ini kaya akan senyawa fenolik, dengan katekin sebagai komponen utama yang memberikan berbagai aktivitas biologis (Rahmi et al., 2021).

Katekin merupakan senyawa flavonoid dengan aktivitas farmakologis luas, termasuk antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, antiseptik oral, antialergi, dan aplikasi dalam pengobatan luka bakar maupun diare (Kamal et al., 2020; Ningsih dan Rahayuningsih, 2019). Aktivitas antimikroba katekin telah dibuktikan terhadap berbagai patogen, seperti *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Enterobacter aerogenes* (Bazzaz et al., 2016; Aponte, 2018, Zhou et al., 2022). Namun demikian, penggunaan katekin dalam formulasi sediaan topikal maupun kosmetik masih terbatas karena sifat fisikokimianya yang kurang menguntungkan, seperti kelarutan rendah, rasa pahit, serta kestabilan yang rentan mengalami oksidasi (Yeni et al., 2020). Dari sisi karakteristik fisikokimia, katekin memiliki pH 4–5, densitas 0,9332, berat molekul 290,26, dan indeks bias 1,3755. Sementara itu, pendekatan komputasional juga menunjukkan bahwa katekin memiliki TPSA 10,38 yang menandakan bioavailabilitas baik, tetapi masih terkendala kelarutan dan stabilitas (Putra et al., 2020). Tantangan-tantangan ini menegaskan perlunya teknologi penghantaran yang mampu meningkatkan solubilitas dan kestabilan katekin.

Nanoemulsi merupakan salah satu sistem penghantaran yang mampu meningkatkan kelarutan, stabilitas, dan penetrasi zat aktif karena memiliki ukuran droplet yang sangat kecil (<500 nm), stabilitas kinetik baik, serta kemampuan solubilisasi tinggi (Cunha et al., 2020; Garla et al., 2024). Selain itu, nanoemulsi banyak digunakan dalam formulasi kosmetik karena dapat meningkatkan efektivitas antimikroba, mempercepat pelepasan zat aktif, dan memberikan stabilitas jangka panjang (Nurfauziah dan Rusdiana, 2018). Dengan mempertimbangkan karakteristik fisikokimia katekin yang cenderung hidrofilik tetapi memiliki kelarutan rendah, sistem nanoemulsi menjadi platform yang relevan untuk meningkatkan performanya dalam sediaan topikal. Peningkatan kelarutan sebesar 24,4% yang dicapai pada bentuk nanokatekin, yaitu dari 43,98% menjadi 63,38% menunjukkan bahwa pengecilan ukuran partikel dapat memperbaiki sifat disolusi dan stabilitas katekin. Hal ini memperkuat alasan ilmiah bahwa katekin layak diformulasikan dalam bentuk nanoemulsi.

Meskipun berbagai penelitian telah mengkaji aktivitas farmakologis katekin, eksplorasi mengenai potensinya dalam bentuk nanoemulsi sebagai antimikroba untuk aplikasi kosmetik masih sangat terbatas. Hingga kini belum terdapat penelitian yang secara spesifik mengoptimasi nanoemulsi katekin serta mengevaluasi efektivitas antimikrobanya terhadap bakteri kontaminan yang menjadi parameter wajib keamanan sediaan farmasi seperti kosmetik. BPOM menegaskan bahwa keberadaan *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Enterobacter aerogenes* harus negatif dalam seluruh produk kosmetik.

Dengan demikian, penelitian ini menjadi langkah awal yang penting dalam menyediakan data ilmiah mengenai aktivitas antimikroba katekin dan nanoemulsi katekin. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan bagi penelitian lanjutan dalam merancang dan memformulasikan nanoemulsi katekin sebagai agen antimikroba yang lebih aman dan efektif untuk sediaan farmasi, sejalan dengan meningkatnya kebutuhan industri terhadap bahan baku farmasi di Indonesia.

Oleh karena itu, penelitian ini berfokus pada evaluasi aktivitas antimikroba katekin dan nanoemulsi katekin terhadap *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*

aeruginosa, dan *Enterobacter aerogenes* menggunakan metode difusi agar dan mikrodilusi untuk menentukan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC). Selain itu, penelitian ini juga mengevaluasi karakteristik fisikokimia sediaan nanoemulsi katekin.

METODE

Penelitian ini menggunakan beberapa peralatan antara lain autoklaf (Gea®), homogenizer (IKA® Eurostar), inkubator (Labnet®), mikropipet (DragonLab®), magnetic stirrer (Thermo®), particle size analyzer (Horiba®), vortex, viskometer (B-ONE®), dan sentrifugator (Sartorius®). Bahan utama yang digunakan adalah serbuk katekin dari ekstrak gambir dengan kemurnian >96,12% yang diperoleh dari Laboratorium STFI Bandung. Bahan formulasi nanoemulsi meliputi Tween 80, Span 80, PEG 400, dan isopropil miristat, sedangkan bahan formulasi gel meliputi karbomer 940, TEA, gliserin, BHT, dan aquadest. Media mikrobiologi yang digunakan adalah Mueller Hinton Agar (MHA), Mueller Hinton Broth (MHB), Sabouraud Dextrose Agar (SDA), Sabouraud Dextrose Broth (SDB), dan Tryptone Soya Agar (TSA). Mikroorganisme uji yang digunakan adalah *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, dan *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Padjadjaran.

Uji aktivitas antimikroba katekin dilakukan menggunakan metode difusi agar dengan perforator berdiameter 8 mm. Suspensi bakteri disiapkan dengan mengambil 1–2 ose koloni bakteri dan disuspensikan dalam 10 mL NaCl 0,9% steril hingga kekeruhan setara dengan standar McFarland 0,5 ($1-2 \times 10^8$ CFU/mL) dengan absorbansi 0,08–0,13. Sebanyak 20 μ L suspensi bakteri diinokulasikan ke dalam cawan petri steril yang berisi media MHA, kemudian dibuat lubang menggunakan perforator dan diisi dengan larutan katekin pada konsentrasi 50 mg/mL dan 25 mg/mL sebanyak 100 μ L menggunakan beberapa pelarut, yaitu DMSO 10%, DMSO 10% pada suhu 50°C, aquadest pada suhu 50°C, dan etanol 96% untuk menentukan pelarut yang paling efektif berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk setelah inkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) menggunakan metode mikrodilusi pada microplate 96-well dengan medium MHB, sedangkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan menumbuhkan kembali kultur dari sumur yang tidak menunjukkan pertumbuhan pada media agar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Formulasi nanoemulsi katekin diawali dengan optimasi basis nanoemulsi menggunakan Tween 80 dan Span 80 sebagai surfaktan dengan variasi konsentrasi 10%, 15%, dan 17%, serta PEG 400 sebagai kosurfaktan pada konsentrasi 5%, 7%, dan 10%, dengan isopropil miristat (10%) sebagai fase minyak dan aquadest sebagai fase air. Pembuatan nanoemulsi dilakukan dengan mencampurkan surfaktan dan kosurfaktan menggunakan magnetic stirrer pada suhu 60°C selama 10 menit, kemudian ditambahkan aquadest dan dicampurkan dengan fase minyak yang mengandung katekin, selanjutnya dihomogenkan selama 2 jam 30 menit pada suhu ruang dan disonikasi selama 5 menit. Basis nanoemulsi dipilih berdasarkan nilai persen transmitansi yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 650 nm. Nanoemulsi yang diperoleh kemudian diuji aktivitas antimikrobanya menggunakan metode difusi agar terhadap tiga bakteri uji pada konsentrasi 1–5%. Evaluasi sediaan nanoemulsi meliputi uji organoleptik, pH, viskositas, stabilitas sentrifugasi, uji freeze–thaw selama

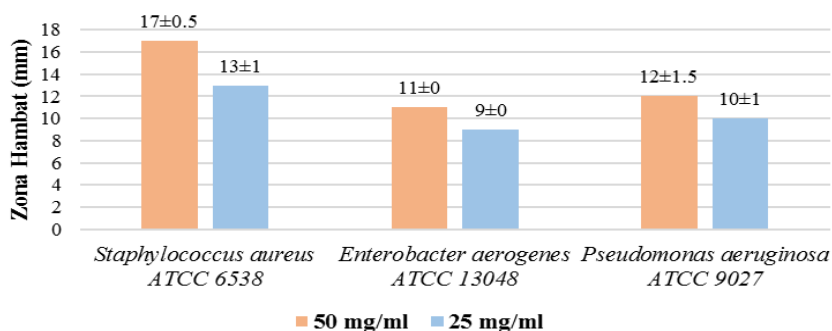
6 siklus, serta penentuan ukuran partikel, potensial zeta, dan indeks polidispersitas menggunakan particle size analyzer.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas antimikroba katekin

Senyawa katekin memiliki banyak manfaat dalam industri farmasi, diantaranya sebagai bahan baku obat maupun kosmetik. Katekin memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba, mampu menurunkan kadar kolesterol, menurunkan kadar triasilgliserol, juga mampu mengatasi obesitas (Alioes et al., 2019; Katada et al., 2020; Jubair et al., 2022; Kong et al., 2022; Mita et al., 2022). Dalam bidang kosmetik, katekin berperan sebagai *UV protector*, melembabkan bibir, dan sebagai antipenuaan ((Kamal et al., 2020; Lee et al., 2020; Masyita et al., 2022).

Dalam penelitian ini, katekin yang dilarutkan dengan menggunakan pelarut etanol 96% memiliki aktivitas antimikroba terhadap ketiga bakteri uji yaitu *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. aerogenes*. Hasil pengujian dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil ini karena katekin lebih mudah larut pada pelarut polar dan semipolar (Musdja et al., 2018). Berdasarkan hasil pengujian kontrol pelarut, diketahui bahwa etanol 96% tidak memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri uji.



Gambar 1. Grafik aktivitas antimikroba katekin dengan etanol 96% terhadap tiga bakteri uji

Berdasarkan Gambar 1 dapat diketahui bahwa senyawa katekin dari tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) memiliki aktivitas antimikroba paling baik terhadap bakteri Gram positif (*S. aureus*) dibandingkan dengan bakteri Gram negatif (*P. aeruginosa* dan *E. aerogenes*), hal ini karena perbedaan struktur sel bakteri Gram positif lebih sederhana daripada Gram negatif.

Struktur dinding sel bakteri Gram positif lebih sederhana dengan komponen terbesar adalah peptidoglikan sehingga memudahkan senyawa masuk ke dalam sel. Struktur dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks karena terdiri dari lapisan luar lipoprotein, lapisan tengah lipopolisakarida yang berperan sebagai penghalang masuknya bahan bioaktif, dan lapisan dalam berupa peptidoglikan (Rini dan Rochmah, 2020).

Katekin memiliki aktivitas antimikroba dengan mengikat protein membran sel bakteri, pengikatan ini didominasi oleh interaksi elektrostatik antara dinding sel bakteri dengan senyawa katekin. Bakteri Gram positif, seperti *S. aureus*, memiliki dinding sel tipe lisin yang bermuatan positif sehingga dapat menyerap epigallocatechin gallate (EGCG), yang bermuatan negatif dengan kuat. Sementara itu, bakteri Gram negatif meskipun memiliki dinding sel jenis asam diaminopimelat yang juga bermuatan positif,

menyerap EGCG secara lemah. Hal ini disebabkan oleh keberadaan lapisan lipopolisakarida yang bersifat bermuatan negatif. Perbedaan sifat adhesi permukaan sel antara bakteri Gram positif dan Gram negatif inilah yang menjelaskan mengapa bakteri Gram positif umumnya lebih sensitif terhadap katekin dibandingkan bakteri Gram negatif (Renzetti et al., 2020).

Struktur dinding sel bakteri terdiri dari zat peptidoglikan, dimana zat ini terdiri dari polimer pengulangan dari dua gula (N-asetil glukosamin dan asam N-asetilmuramat) dan dalam polimer ini terdapat rantai samping peptida memanjang dari gula dan membentuk ikatan silang, satu peptida ke yang lain. Hubungan silang peptidoglikan dimediasi oleh enzim bakteri yang disebut *Penicillin Binding Protein* (PBP) (Hauss, 2007).

Salah satu mekanisme utama aktivitas antimikroba adalah penghambatan sintesis dinding sel. Penghambatan sintesis dinding sel dapat terjadi dengan menghambat kerja dari PBP, enzim yang mengkatalisis berbagai langkah dalam sintesis peptidoglikan. Beberapa PBP juga dihambat oleh senyawa katekin. Salah satu PBP yang dihambat oleh katekin adalah PBP2A, enzim ini terdapat pada bakteri *S. aureus*. Jika PBP dihambat, ikatan silang (*cross-linking*) antara rantai peptidoglikan tidak dapat terbentuk dengan sempurna. Akibatnya, dinding sel menjadi lemah dan tidak stabil (Hauss, 2007).

Matriks ekstraseluler biofilm bakteri terdiri dari polisakarida, DNA, dan amiloid. Amiloid adalah fibril tidak larut yang terbentuk dari berbagai jenis protein, di antaranya Fap dan curli sangat relevan untuk virulensi bakteri. Amiloid sangat stabil terhadap enzim proteolitik dan deterjen, sehingga biofilm sulit dihilangkan. Namun, biofilm dapat diserang oleh katekin. Ditemukan bahwa katekin tidak hanya memengaruhi protein patologis yang terkait dengan penyakit Alzheimer dan Parkinson, tetapi juga amiloid fungsional yang secara alami terdapat pada beberapa bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Renzetti et al., 2020).

Katekin dapat menghambat pembentukan fibril yang biasanya terbentuk dari protein. Fibril ini penting untuk pembentukan dan stabilitas biofilm, sehingga menghambat fibrilasi yang berarti mengganggu kemampuan bakteri untuk membentuk biofilm dan bertahan di permukaan. Selain itu, katekin merombak fibril yang sudah ada menjadi bentuk lain yang tidak berbahaya (non-amiloid). Agregat non-amiloid ini tidak berfungsi dengan cara yang sama dengan fibril amiloid, yang biasanya sangat stabil dan sulit dihancurkan oleh sistem imun atau antibiotik (Renzetti et al., 2020).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Musdja et al. (2018), hasil pengukuran kebocoran protein, asam nukleat, ion K⁺ dan Ca²⁺ dari membran sel, ditemukan bahwa ekstrak katekin dan gambir menyebabkan kerusakan membran sel plasma dan koagulasi nukleoid. Kerusakan membran sel plasma dan koagulasi nukleoid oleh katekin lebih buruk dibandingkan dengan ekstrak gambir.

Hasil penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) antimikroba katekin terhadap bakteri

Pengujian aktivitas antimikroba untuk KHM dilakukan dengan metode mikrodilusi. Metode dilusi lebih sensitif dan mampu menjamin homogenitas antara media, bahan uji, serta suspensi bakteri. Dengan metode ini, bahan uji lebih mudah berinteraksi dengan bakteri karena suspensi bakteri tersebar merata (Munira dan Nasir, 2023). Penentuan nilai KHM hanya dilakukan terhadap tiga bakteri uji dan tidak dilakukan terhadap fungi karena berdasarkan hasil pengujian aktivitas antimikroba dengan metode difusi agar, tidak terdapat aktivitas antimikroba senyawa katekin terhadap fungi.

Hasil pengujian KHM dari katekin terhadap *S. aureus*, *P. aeruginosa*, dan *E. aerogenes* dapat dilihat pada Tabel 2. Pengamatan penentuan nilai KHM ditentukan dengan melihat tingkat kejernihan tiap kolom plate dan didapatkan hasil untuk *S. aureus* kejernihan pada konsentrasi 1,56 mg/mL, *E. aerogenes* kejernihan pada konsentrasi 12,5 mg/mL dan *P. aeruginosa* kejernihan pada konsentrasi 3,12 mg/mL. Perbandingan nilai KHM katekin juga telah diteliti sebelumnya oleh Musdja et al. (2018), di mana ekstrak gambir dibandingkan dengan katekin dan menunjukkan, bahwa katekin mempunyai aktivitas antibakteri lebih sensitif dibandingkan ekstrak gambir.

Tabel 2. Grafik aktivitas antimikroba katekin dengan etanol 96% terhadap tiga bakteri uji

Mikroba uji	KHM	KBM	Rasio KBM/KHM
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	1,56 mg/mL	6 mg/mL	3,8
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	12,5 mg/mL	25 mg/mL	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	6,25 mg/mL	25 mg/mL	4

Hasil penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dapat dilihat pada Tabel 2. Nilai KBM dianggap sebagai konsentrasi terendah zat aktif dimana tidak ada koloni yang terbentuk atau yang mampu mematikan lebih dari 99,99% bakteri yang ada (Cristina, 2021). Selain itu, untuk membedakan dengan jelas kemampuan menghambat ataupun membunuh senyawa katekin yang diuji, rasio antara KBM dan KHM untuk ketiga bakteri uji ditentukan, dapat dilihat pada Tabel 2 Rasio KBM/KHM ≤ 4 menunjukkan efek bakterisidal, sedangkan rasio >4 menunjukkan efek bakteriostatik (Klimek et al., 2021). Dengan demikian, senyawa katekin dari tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) menunjukkan efek bakterisidal terhadap bakteri *S. aureus*, *E. aerogenes*, dan *P. aeruginosa*.

Optimasi dan formulasi nanoemulsi katekin

Optimasi nanoemulsi katekin dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan. Surfaktan divariasikan berdasarkan nilai HLB butuh fase minyak yaitu isopropil miristat. Isopropil miristat memiliki nilai HLB 12, Tween 80 sebesar 15 dan Span 80 sebesar 4,3. Dari hasil perhitungan HLB diketahui bahwa persentase Tween 80 yang akan digunakan sebesar 72% dan Span 80 sebesar 28%. Kemudian dilakukan variasi jumlah persentase keseluruhan surfaktan yang akan digunakan.

Kosurfaktan ditambahkan dalam sistem nanoemulsi yang nantinya akan bekerja sama dengan surfaktan dalam memudahkan proses pengurangan ukuran partikel. Kosurfaktan bekerja secara sinergis dengan molekul surfaktan untuk menghasilkan sistem nanoemulsi yang stabil (Begum et al., 2024).

Setelah observasi secara visual keseluruhan formula, maka selanjutnya tingkat kejernihan nanoemulsi dianalisis melalui pengukuran persen transmitansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa nilai transmitansi optimum terdapat pada formula 6 dengan nilai % transmitansi 91,9%. Nilai persentase transmitansi mendekati 100%, yang berarti tingkat kejernihan nanoemulsi mendekati kejernihan air suling dan dapat dikatakan bening serta stabil karena memungkinkan memiliki ukuran tetapan nano (<100 nm) (Reddy dan Gubbiyappa, 2022).

Hal ini dipengaruhi oleh persentase dari surfaktan dan ko-surfaktan. Berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Mardiyanto et al. 2024, peningkatan konsentrasi Tween 80

dan PEG 400 yang sesuai dapat meningkatkan persentase transmittan. Namun, pada konsentrasi rendah PEG 400 akan menyebabkan persentase transmittan juga ikut menurun (Mardiyanto et al., 2024).

Formulasi nano memberikan peluang untuk meningkatkan kinerja suatu senyawa dengan memodifikasi komposisi, dan ukuran partikel dengan tujuan meningkatkan efektivitas dan mengurangi efek samping. Dalam hal ini, nanoemulsi juga dapat dikatakan sebagai sistem nano yang menguntungkan, karena kemampuannya dalam meningkatkan kelarutan, stabilitas, dan efektivitas senyawa (Tavares et al., 2023).

Dalam penelitian ini, senyawa katekin gambir diformulasikan dalam sistem nanoemulsi untuk meningkatkan efektivitasnya sebagai agen antimikroba yang nantinya akan dilanjutkan untuk pengujian efektivitas pengawet dalam sediaan gel. Berdasarkan hasil penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM), katekin memiliki konsentrasi bunuh minum terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 6 mg/mL (0,6%), sedangkan pada bakteri *Enterobacter aerogenes* dan *P. aeruginosa* senyawa katekin memiliki konsentrasi bunuh minum pada 25 mg/mL (2,5%).

Oleh karena itu, diformulasikan nanoemulsi katekin dengan beberapa variasi konsentrasi katekin yaitu 1% (formula A1), 2% (formula A2), 3% (formula A3), 4% (formula A4), dan 5% (formula A5) yang dapat dilihat pada Tabel 3. Hasil visual formulasi dapat dilihat pada Gambar 2. Diharapkan dengan sistem nanoemulsi ini, aktivitas senyawa katekin dapat meningkat dengan konsentrasi yang lebih kecil maka diformulasikan juga di bawah nilai KBM.

Berdasarkan hasil optimasi basis nanoemulsi dengan pengujian nilai transmittan, didapatkan formula terbaik pada F6 yang terdiri dari surfaktan 15% (Tween 80 11% dan Span 80 4%), ko-surfaktan PEG 400 7%, dan isopropil miristat sebagai fase minyak 10%.

Tabel 3. Formula nanoemulsi katekin

Bahan	Formula (W/V%)					
	AX	A1	A2	A3	A4	A5
Tween 80	11	11	11	11	11	11
Span 80	4	4	4	4	4	4
Isopropyl miristat	10	10	10	10	10	10
PEG 400	7	7	7	7	7	7
Katekin	-	1	2	3	4	5



Gambar 2. Visual formula Nanoemulsi Katekin

Pengukuran pH dilakukan terhadap nanoemulsi katekin yang telah diformulasikan sebelumnya, dengan lima konsentrasi katekin yang berbeda. Hasil evaluasi pH nanoemulsi katekin untuk kelima konsentrasi menunjukkan nilai 4,8-5,2 dapat dilihat pada Tabel 4.

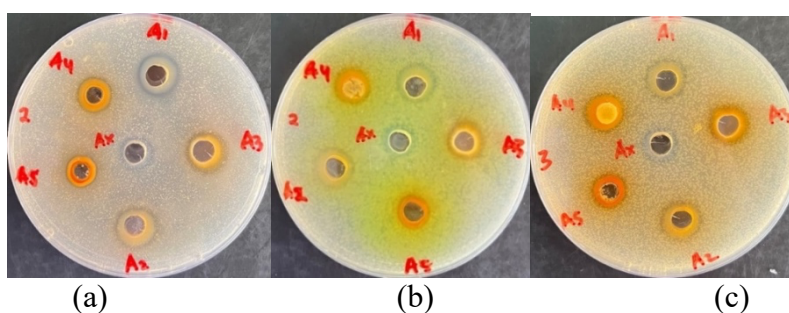
Tabel 4. Hasil uji organoleptik dan pH nanoemulsi katekin

Formula	Pemeriksaan	
	Organoleptik	pH
A1	Bening kuning kecoklatan	5,0
A2	Bening coklat	5,2
A3	Bening coklat kemerahan	5,2
A4	Bening coklat kemerahan	5,0
A5	Bening coklat kemerahan	4,8

Katekin memiliki stabilitas yang tinggi pada kondisi asam tetapi cenderung kurang stabil dalam suasana basa. Oleh karena itu, senyawa ini bertindak sebagai asam dan lebih stabil dalam larutan dengan pH rendah (Santoso, 2022).

Uji aktivitas antimikroba nanoemulsi katekin

Aktivitas antimikroba nanoemulsi katekin dievaluasi menggunakan metode difusi agar terhadap tiga jenis bakteri uji, yaitu *S. aureus*, *P. aeruginosa*, dan *E. aerogenes*. Uji aktivitas antimikroba ini menggunakan lima formulasi nanoemulsi katekin yang masing-masing memiliki konsentrasi katekin yang berbeda. Di antara ketiga jenis mikroba uji, nanoemulsi katekin menunjukkan efek penghambatan terkuat terhadap *S. aureus*. Hasil pengujian dapat dilihat pada Gambar 3 dan Tabel 5.



Gambar 3. Aktivitas antimikroba nanoemulsi katekin (a) *Staphylococcus aureus* (b) *Pseudomonas aeruginosa* (c) *Enterobacter aerogenes*

Dari hasil uji aktivitas antimikroba nanoemulsi katekin 2%, dapat diketahui bahwa sistem nanoemulsi, mampu meningkatkan aktivitas antimikroba katekin dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih tinggi. Hal ini memungkinkan dipengaruhi oleh kadar zat aktif yang tinggi dalam sediaan dapat meningkatkan viskositas dari sistem emulsi dan berpengaruh pada proses difusi pada media agar. Katekin dengan pelarut etanol memiliki aktivitas terhadap ketiga bakteri uji, namun efektivitas katekin lebih tinggi jika diformulasikan ke dalam sediaan nanoemulsi.

Ukuran partikel nano dapat meningkatkan efektivitas antibakteri, karena ukuran partikel yang kecil mampu memasuki sel bakteri dengan lebih mudah. Ketika partikel nano masuk ke dalam sel bakteri, mereka dapat memicu terjadinya stres oksidatif, yaitu kondisi di mana terjadi peningkatan jumlah molekul reaktif seperti oksigen reaktif (reactive oxygen species, ROS). Molekul ROS sangat reaktif dan dapat merusak struktur penting dalam sel bakteri, seperti membran, protein, dan DNA (Tavares et al., 2023).

Tabel 5. Hasil pengujian aktivitas antimikroba nanoemulsi katekin

Test organism	Katekin 1%	Katekin 2%	Katekin 3%	Katekin 4%	Katekin 5%
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	6,5 ± 0,5 mm	6 ± 1 mm	5 ± 0,5 mm	4,5 ± 0,5 mm	1,5 ± 0,5 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	3,5 ± 0,5 mm	4,5 ± 0,5 mm	3 ± 1 mm	2 ± 0,5 mm	1 ± 0,5 mm
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	2,5 ± 0,5 mm	4 ± 0,5 mm	3 ± 0 mm	2 ± 0,5 mm	1 ± 0,5 mm

Evaluasi nanoemulsi katekin 2%

Uji organoleptis, pH, dan viskositas nanoemulsi

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antimikroba nanoemulsi katekin, diketahui bahwa diantara kelima sediaan nanoemulsi katekin yang memiliki aktivitas yang baik terhadap tiga mikroba uji adalah nanoemulsi yang mengandung 2% katekin. Oleh karena itu, dilakukan evaluasi fisik terhadap nanoemulsi katekin 2% sebelum diformulasikan dalam sediaan gel untuk diuji efektivitasnya sebagai pengawet.

Evaluasi fisik nanoemulsi meliputi uji organoleptik, pH, dan viskositas selama 28 hari. Evaluasi ini bertujuan untuk mengetahui kualitas dari nanoemulsi yang telah diformulasikan selama penyimpanan pada suhu ruang (25°C). Hasil pengujian organoleptik menunjukkan bahwa nanoemulsi katekin 2% yang telah disimpan pada suhu ruang stabil, karena sediaan tetap jernih dan tidak terjadi pemisahan fase selama penyimpanan.

Pada pengujian pengukuran pH selama 28 hari pada suhu ruang (25°C), nanoemulsi katekin 2% pH berkisar antara 5,1-5,2. Senyawa katekin cenderung stabil pada kondisi pH asam (Santoso, 2022). Berdasarkan hasil pengamatan dapat diketahui bahwa formulasi nanoemulsi yang memiliki pH 5,1-5,2 stabil karena tidak terjadi pemisahan fase atau perubahan warna selama penyimpanan.

Pengukuran viskositas nanoemulsi katekin 2% juga dilakukan selama 28 hari pada suhu ruang (25°C). Hasil pengukuran viskositas nanoemulsi katekin 2% berkisar antara 182 ± 6,4 hingga 186 ± 15 mPa.s dan untuk basis nanoemulsi memiliki viskositas berkisar antara 93 ± 15 hingga 108 ± 23. Nilai viskositas yang ideal untuk sediaan nanoemulsi berkisar antara 1-200 mPa.s (Rastuti et al., 2023). Nanoemulsi katekin 2% memiliki viskositas sediaan nanoemulsi yang ideal.

Uji sentrifugasi

Uji sentrifugas dilakukan untuk melihat ada atau tidak adanya perubahan dalam formulasi nanoemulsi, seperti sedimentasi atau pemisahan fase pada sistem nanoemulsi katekin (Akhter et al., 2024). Hasil pengujian menunjukkan bahwa tidak adanya pemisahan fase pada formulasi nanoemulsi katekin 2%.

Uji Freeze Thaw

Pengujian *freeze thaw* dilakukan selama 6 siklus, dimana dalam satu siklus terdiri dari 24 jam pada suhu 4°C dan 24 jam pada suhu 40°C, pada akhir setiap siklus diamati ada tidaknya pemisahan fase. Setiap siklus, sediaan nanoemulsi tetap jernih dan tidak terjadi pemisahan fase. Formulasi yang menunjukkan transparansi dengan fase tunggal dan tidak ada kekeruhan setelah siklus memiliki stabilitas yang baik (Akhter et al.,

2024). Selain pengamatan visual, juga dilakukan pengukuran viskositas dan pH yang dimana hasilnya tetap stabil.

Penentuan ukuran partikel, potensial zeta, dan indeks polidispersitas

Penentuan ukuran partikel, potensial zeta, dan indeks polidispersitas menggunakan alat *Particle Size Analyzer*. Hasil analisis untuk nanoemulsi katekin 2% didapatkan rata-rata ukuran partikel sebesar 37,4 nm. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 6. Rasio surfaktan terhadap fase minyak diyakini memiliki dampak pada ukuran tetesan, distribusi ukuran, dan kestabilan emulsi (Walia et al., 2022).

Tabel 6. Hasil penentuan ukuran partikel, potensial zeta, dan polidispersitas nanoemulsi katekin 2%

Formula	Ukuran Partikel	Indeks Polidispersitas	Potensial Zeta
Nanoemulsi katekin 2%	37,4 nm	0,17	-35,3 mV

Pada konsentrasi surfaktan yang lebih rendah (7,5% w/v), jumlah molekul surfaktan tidak memadai untuk menutupi permukaan tetesan secara sempurna, sehingga menyebabkan terjadinya flokus dan koalesensi yang mengakibatkan peningkatan ukuran partikel. Oleh karena itu, peningkatan konsentrasi surfaktan akan memungkinkan lebih banyak molekul surfaktan berpindah dari fase minyak ke fase air dalam emulsi, sehingga membentuk tetesan nanoemulsi yang lebih halus. Secara umum, dalam persiapan nanoemulsi dengan pendekatan energi rendah, diperlukan konsentrasi surfaktan yang lebih tinggi (>10%) (Walia et al., 2022).

Nanoemulsi yang memiliki ukuran partikel kurang dari 100 nm, dapat mencegah terjadinya ketidakstabilan fisik seperti pemisahan atau pengendapan, serta flokulasi globul selama penyimpanan (Rodrigues et al., 2018). Selain itu, kombinasi Tween 80 dan PEG 400 berperan signifikan dalam mengurangi ukuran partikel (Taher et al., 2022).

Hasil analisis untuk nanoemulsi katekin 2% didapatkan nilai PDI < 0,3, dapat dilihat pada Tabel 6. Nilai PDI digunakan untuk menggambarkan tingkat ketidakteraturan distribusi ukuran partikel. Nilai PDI ≤ 0,3 menunjukkan tingkat homogenitas yang dapat diterima dan menunjukkan keseragaman ukuran partikel yang homogen (Danaei et al., 2018).

Hasil pengukuran zeta potensial nanoemulsi katekin 2% didapatkan -35,3 mV. Nilai zeta potensial digunakan untuk mengukur tingkat tolakan listrik antar molekul, yang bertujuan untuk memastikan stabilitas nanoemulsi. Nilai zeta potensial yang negatif membantu menjaga stabilitas nanoemulsi selama penyimpanan dengan mencegah penggumpalan dan koalesensi sistem nanoemulsi (Turki et al., 2024).

KESIMPULAN

Katekin dari tanaman gambir (*Uncaria gambir Roxb.*) memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATTC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 9027, *Enterobacter aerogenes* ATTC 13048. Namun tidak memiliki aktivitas terhadap fungi *Candida albicans* ATTC 10231, dan *Aspergillus niger* ATTC 16404. Sistem nanoemulsi yang paling stabil dengan menggunakan kombinasi surfaktan Tween 80 dan Span 80 (15%), kosurfaktan PEG 400 (7%), fase minyak isopropil miristat (10%), dan katekin 2%. Sistem nanoemulsi mampu meningkatkan aktivitas

antimikroba katekin pada konsentrasi 2%. Formula nanoemulsi katekin 2% stabil selama pengujian stabilitas suhu ruang (25°C) dan uji *freeze thaw*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi Republik Indonesia atas dukungan dan fasilitas yang diberikan dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Akhter, A., Shirazi, J.H., Khan, H.M., Hussain, M.D., Kazi, M., 2024. Development and Evaluation of Nanoemulsion Gel Loaded with Bioactive Extract of Cucumis Melo Var. *Agrestis*: A Novel Approach For Enhanced Skin Permeability and Antifungal Activity. *Heliyon* 10(15), 1-22. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.E35069>
- Alioes, Y., Sukma, R.R., Sekar, S.L., 2019. Effect of Gambir Catechin Isolate (*Uncaria Gambir Roxb.*) Against Rat Triacylglycerol Level (*Rattus Novergicus*). IOP Conference Series: Earth And Environmental Science 217, 1-7. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/217/1/012020>
- Aponte, T.R., 2018. Green Tea Polyphenol EGCG-S As An Antimicrobial Agent. [Theses]. Montclair State University, New Jersey.
- Bazzaz, B.S., Sarabandi, S., Khameneh, B., Hosseinzadeh, H., 2016. Effect of Catechins, Green Tea Extract and Methylxanthines in Combination with Gentamicin Against Staphylococcus Aureus and Pseudomonas Aeruginosa. *Journal of Pharmacopuncture* 19(4), 312–318. <https://doi.org/10.3831/KPI.2016.19.032>
- Begum, S., Sahu, P., Vinode, R., Patel, A., Alomary, M.N., Begum, M.Y., Jamous, Y.F., Siddiqua, A., Fatease, A.A., Ansari, M.A., 2024. Antimicrobial Nanoemulsion: A Futuristic Approach in Antibacterial Drug Delivery System. *Journal of Saudi Chemical Society* 28(4), 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2024.101896>
- Cunha, S., Costa, C.P., Moreira, J.N., Lobo, J.M., Silva, A.C., 2020. Using The Quality by Design (Qbd) Approach to Optimize Formulations of Lipid Nanoparticles and Nanoemulsions: A Review. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* 28, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2020.102206>
- Danaei, M., Dehghankhold, M., Ataei, S., Davarani, F., Javanmard, R., Dokhani, A., Khorasani, S., Mozafari, M.R., 2018. Impact of Particle Size and Polydispersity Index on The Clinical Applications of Lipidic Nanocarrier Systems. *Pharmaceutics* 10(2), 1-12. <https://doi.org/10.3390/Pharmaceutics10020057>
- Garla, V., Shaik, S.H., Gugulothu, D., Malakapogu, R.B., Sk, A.R., Deepa, N., Kusuma, P.K., 2024. Entacapone Nanoemulsion: Formulation Design, Optimization, and Evaluation. *Research Square*, 1-29. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4081418/v1>
- Hauss, D.J., 2007. Oral Lipid-Based Formulations: Enhancing The Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs. CRC Press, Boca Raton.
- Jubair, N., Mogana, R., Fatima, A., Mahdi, Y.K., Abdullah, N.H., 2022. Evaluation of Catechin Synergistic and Antibacterial Efficacy on Biofilm Formation and *Acra* Gene Expression of Uropathogenic *E. Coli* Clinical Isolates. *Antibiotics* 11(9), 1-18. <https://doi.org/10.3390/Antibiotics11091223>

- Kamal, S., Surya, S., Krismon, E.M., 2020. The Formulation of Lip Balm by Using Gambir Catechin (*Jncaria Gambir Roxb.*) and its Hedonic Test. Proceedings of The Seminar Nasional 1 Baristand Industri Padang 2020, 33–38. <https://doi.org/10.32698/GCS-SNIIBIPD3431>
- Katada, S., Yanagimoto, A., Matsui, Y., Hibi, M., Osaki, N., Kobayashi, S., Katsuragi, Y., 2020. Effect of Tea Catechins with Caffeine on Energy Expenditure in Middle-Aged Men and Women: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Crossover Trial. *European Journal of Nutrition* 59(3), 1163–1170. <https://doi.org/10.1007/S00394-019-01976-9>
- Klimek, K., Tyśkiewicz, K., Miazga-Karska, M., Dębczak, A., Rój, E., Ginalska, G., 2021. Bioactive Compounds Obtained from Polish “Marynka” Hop Variety Using Efficient Two-Step Supercritical Fluid Extraction and Comparison of Their Antibacterial, Cytotoxic, and Anti-Proliferative Activities in Vitro. *Molecules* 26(8), 1-18. <https://doi.org/10.3390/Molecules26082366>
- Kong, C., Zhang, H., Li, L., Liu, Z., 2022. Effects of Green Tea Extract Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) on Oral Disease-Associated Microbes: A Review. *Journal of Oral Microbiology* 14(1), 1-14. <https://doi.org/10.1080/20002297.2022.2131117>
- Lee, S., Yu, J.S., Phung, H.M., Lee, J.G., Kim, K.H., Kang, K.S., 2020. Potential Anti-Skin Aging Effect of (-)-Catechin Isolated from The Root Bark of *Ulmus Davidiana* Var. *Japonica* in Tumor Necrosis Factor- α -Stimulated Normal Human Dermal Fibroblasts. *Antioxidants* 9(10), 1-13. <https://doi.org/10.3390/Antiox9100981>
- Lin, Y.H., Tsai, M.J., Fang, Y.P., Fu, Y.S., Huang, Y.B., Wu, P.C., 2018. Microemulsion Formulation Design and Evaluation for Hydrophobic Compound: Catechin Topical Application. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 161, 121–128. <https://doi.org/10.1016/J.Colsurfb.2017.10.015>
- Mardiyanto, M., Mohadi, R., Fithri, N.A., Kurniawan, G., 2024. Optimization of Nanoemulsion Formula Containing Erythromycin with VCO and Varying Concentrations of Tween-80 and PEG-400. *Science and Technology Indonesia* 9(3), 697–709. <https://doi.org/10.26554/Sti.2024.9.3.697-709>
- Masyita, M., Sayekti, E., Nurlina, N., 2022. Flavonoid Compounds of The Catechin from Wungu (*Graptophyllum Pictum* (L.) Griff) Leaves and The Sun Protecting Factor Value. *Jurnal Akademika Kimia* 11(1), 31–38. <https://jurnal.fkipuntad.com/index.php/jak/article/view/1262>
- Mita, S.R., Abdassah, M., Supratman, U., Shiono, Y., Rahayu, D., Sopyan, I., Wilar, G., 2022. Nanoparticulate System for The Transdermal Delivery of Catechin As An Antihypercholesterol: in Vitro and in Vivo Evaluations. *Pharmaceuticals* 15(9), 1-28. <https://doi.org/10.3390/Ph15091142>
- Munira, M., Nasir, M., 2023. Uji Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Daun Kirinyuh (*Chromolaena Odorata*) dari Geothermal Ie Seum Aceh Besar terhadap *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal SAGO Gizi dan Kesehatan* 4(2), 179-185. <https://doi.org/10.30867/Gikes.V4i2.1107>
- Musdja, M.Y., Elvita, L., Rahayu, N., 2018. Effects of Gambir (*Uncaria Gambir Roxb*) Catechins on Burn Wound Healing in Male Rats: Proceedings of BROMO Conference 261–271. <https://www.scitepress.org/Papers/2018/98456/98456.pdf>
- Ningsih, E., Rahayuningsih, S., 2019. Extraction, Isolation, Characterisation and Antioxidant Activity Assay of Catechin Gambir (*Uncaria Gambir* (Hunter). *Roxb.* *Jurnal Al-Kimia* 7(2), 177-188. <https://doi.org/10.24252/Al-Kimia.V7i2.7800>

- Nurfauziah, R., Rusdiana, T., 2018. Review: Formulasi Nanoemulsi untuk Meningkatkan Kelarutan Obat Lipofilik. *Farmaka* 6(1), 354-360. <https://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/17502/pdf>
- Putra, P.P., Fauzana, A., Lucida, H., 2020. In Silico Analysis Of Physical-Chemical Properties, Target Potential, and Toxicology of Pure Compounds from Natural Products. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 7(3), 107-117. <https://doi.org/10.24198/ijpst.V7i3.26403>
- Rahmi, M., Rita, R.S., Yetti, H., 2021. Gambir Catechins (Uncaria Gambir Roxb) Prevent Oxidative Stress in Wistar Male Rats Fed A High-Fat Diet. *Majalah Kedokteran Andalas* 44(7), 436-441. <https://jurnal.mka.fk.unand.ac.id/index.php/art/article/view/860>
- Rastuti, U., Widyaningsih, S., Chasani, M., Habibie, R.K., Elly, V.F.R., Zia, S.K., 2023. Formulation, Characterization, and Sunscreen Potential Evaluation of Nutmeg Leaf Essential Oil Nanoemulsions (*Myristica Fragrans Houtt.*). *Molekul* 18(3), 351-359. <https://doi.org/10.20884/1.Jm.2023.18.3.6872>
- Reddy, M.R., Gubbiyappa, K.S., 2022. Formulation Development, Optimization and Characterization of Pemigatinib-Loaded Supersaturable Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Systems. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences* 8(45), 1-12. <https://doi.org/10.1186/S43094-022-00434-4>
- Renzetti, A., Betts, J.W., Fukumoto, K., Rutherford, R.N., 2020. Antibacterial Green Tea Catechins from A Molecular Perspective: Mechanisms of Action and Structure Activity Relationships. *Food and Function* 11(11), 9370-9396. <https://doi.org/10.1039/D0FO02054K>
- Rini, C.S., Rochmah, J., 2020. Buku Ajar Mata Kuliah Bakteriologi Dasar. Umsida Press, Sidoarjo.
- Rodrigues, F., Diniz, L., Sousa, R., Honorato, T., Simão, D., Araújo, C., Gonçalves, T., Rolim, L., Goto, P., Tedesco, A., Siqueira-Moura, M., 2018. Preparation and Characterization of Nanoemulsion Containing A Natural Naphthoquinone. *Química Nova* 41(7), 756-761. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170247>
- Sabiti, F.B., Sukarno, S., 2024. Formulation and Characterization of Mefenamic Acid Self Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Preparations. *Open Access Indonesian Journal of Medical Reviews* 4(1), 561-565. <https://doi.org/10.37275/Oaijmr.V4i1.461>
- Santoso, B., 2022. Teknologi Pengolahan Gambir. CV. Amerta Media, Jawa Tengah.
- Taher, S.S., Al-Kinani, K.K., Hammoudi, Z.M., Ghareeb, M.M., 2022. Co-Surfactant Effect of Polyethylene Glycol 400 on Microemulsion Using BCS Class II Model Drug. *Journal of Advanced Pharmacy Education and Research* 12(1), 63-69. <https://doi.org/10.51847/1h17tzqgyi>
- Tavares, T.M.B., Almeida, H.M.D.E.S., Lage, M.V.M., Feitosa, M.V.M., Júnior, A.A.S., 2023. Nanoemulsions: A Promising Strategy in The Fight Against Bacterial Infections. *Medical Sciences Forum* 24(1), 1-6. <https://doi.org/10.3390/ECA2023-16402>
- Turki, S.S., Mohammed, N., Muhialdin, B.J., Hussin, A.S., 2024. Nanoemulsion of Amber Rice Bran Oil (*Oryza Sativa L.*), Characterization and Properties. *Tikrit Journal for Agricultural Sciences* 24(2), 260-279. <https://doi.org/10.25130/Tjas.24.2.19>
- Walia, N., Zhang, S., Wismer, W., Chen, L., 2022. A Low Energy Approach to Develop Nanoemulsion by Combining Pea Protein and Tween 80 and Its Application for

- Vitamin D Delivery. *Food Hydrocolloids for Health* 2, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.fhfh.2022.100078>
- Yeni, G., Syamsu, K., Suparno, O., Mardiyati, E., Silfia, Syafri, E., Nazir, N., Fudholi, A., 2020. Improving The Stability of Catechin from Gambier in B-Cyclodextrin and Nanoemulsion-Based Inclusion Complexes. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 980(1), 1-10. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/980/1/012048>
- Zhou, P., Tang, D., Zou, J., Wang, X., 2022. An Alternative Strategy for Enhancing Stability and Antimicrobial Activity of Catechins by Natural Deep Eutectic Solvents. *LWT* 153, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112558>