



"Tema : 7 (Ilmu Dasar dan Rekayasa Keteknikan)"

**FORMULASI NANOEMULSI MINYAK ATSIRI DAUN PALA
(*MYRISTICA FRAGRANS* HOUTT) SERTA UJI AKTIVITASNYA
SEBAGAI ANTIBAKTERI *PROPIONIBACTERIUM ACNES***

Undri Rastuti¹, Zufahair² dan Alfiyah Turrohmah³

¹Fakultas MIPA, Universitas Jenderal Soedirman

²Fakultas MIPA, Universitas Jenderal Soedirman

³Fakultas MIPA, Universitas Jenderal Soedirman

ABSTRAK

Minyak daun pala merupakan salah satu minyak atsiri yang memberi aktivitas biologis sebagai antibakteri. Efisien dan efektifitas minyak atsiri daun pala dapat ditingkatkan melalui teknologi nanoemulsi. Nanoemulsi mempunyai kapasitas kelarutan yang lebih tinggi daripada larutan miselar yang sederhana, serta lebih stabil daripada dispersi dan emulsi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui formulasi dan karakterisasi nanoemulsi minyak atsiri daun pala serta aktivitasnya terhadap uji antibakteri *Propionibacterium acnes*. Pembuatan nanoemulsi menggunakan metode energi rendah menggunakan tween 80 sebagai surfaktan dan propilen glikol sebagai kosurfaktan dengan tiga variasi konsentrasi minyak yaitu 1, 3, dan 5%, selain itu juga dibuat formulasi emulsi dari minyak yang diencerkan dengan konsentrasi minyak yang sama dengan nanoemulsi. Karakterisasi nanoemulsi meliputi uji organoleptis, uji pH, uji sentrifugasi, uji *freeze-thaw cycle*, uji tipe nanoemulsi, uji viskositas, uji persen transmittan pengukuran distribusi ukuran partikel. Hasil pengujian organoleptis, sentrifugasi, dan *freeze-thaw cycle* nanoemulsi menunjukkan penampakan jernih dan stabil, sedangkan pada emulsi masih terdapat sediaan yang keruh dan kurang stabil. Hasil pengujian pH, tipe nanoemulsi, viskositas, persentase transmittan, dan distribusi ukuran partikel menunjukkan hasil yang baik dan sesuai dengan referensi. Emulsi memiliki pH, tipe emulsi, dan viskositas yang baik, namun emulsi dengan konsentrasi minyak daun pala 5% tidak dapat digolongkan sebagai emulsi yang baik karena memiliki persentase transmittan yang lebih kecil dari 90% dan memiliki penampakan yang keruh. Hasil zona hambat antibakteri *P. acne* nanoemulsi 1, 3, 5% berturut-turut yaitu $13,035 \pm 0,475$; $13,530 \pm 0,490$; $14,805 \pm 0,265$ mm. Hasil zona hambat yang diperoleh menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat.

Kata Kunci : Antibakteri, emulsi, nanoemulsi, minyak atsiri daun pala (*Myristica fragrans* Houtt).

ABSTRACT



Prosiding Seminar Nasional dan Call for Papers

"Pengembangan Sumber Daya Perdesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan XIII"
17-18 Oktober 2023
Purwokerto

Nutmeg leaf oil is one of the essential oils that provides biological activity as an antibacterial. Efficiency and effectiveness of nutmeg leaf essential oil can be increased through nanoemulsion technology. Nanoemulsions have a higher solubility capacity than simple micellar solutions, and are more stable than emulsions and dispersions. The purpose of this study was to determine the formulation and characterization of nutmeg leaf essential oil nanoemulsion and its activity against *Propionibacterium acnes* antibacterial test. The nanoemulsion was prepared using a low energy method using tween 80 as a surfactant and propylene glycol as a cosurfactant with three variations of oil concentration, namely 1, 3, and 5%, in addition to that, emulsion and oil formulations were also diluted with the same oil concentration as nanoemulsion. Nanoemulsion characterization includes organoleptic test, pH test, centrifugation test, freeze-thaw cycle test, nanoemulsion type test, viscosity test, percent transmittance test measuring particle size distribution. The results of organoleptic, centrifugation, and freeze-thaw cycle nanoemulsion tests showed a clear and stable appearance, while the emulsion still contained cloudy and less stable preparations. The test results for pH, nanoemulsion type, viscosity, transmittance percentage, and particle size distribution showed good results and were in accordance with the references. The emulsion has a good pH, emulsion type, and viscosity, but an emulsion with a concentration of 5% nutmeg leaf oil cannot be classified as a good emulsion because it has a transmittance percentage far from 90% and has a cloudy appearance. The results of the antibacterial inhibition zone of *P. acne* nanoemulsion 1,3,5% were 13.035 ± 0.475 ; 13.530 ± 0.490 ; 14.805 ± 0.265 mm. The inhibition zone results obtained showed strong antibacterial activity.

Keywords : Antibacterial, emulsion, nanoemulsion, nutmeg leaf essential oil (*Myristica fragrans* Houtt).

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan penghasil minyak atsiri seperti minyak cengkeh, minyak gaharu, minyak serai wangi, minyak nilam, minyak pala, dan sebagainya. Minyak atsiri dari daun pala ialah salah satu dari macam minyak atsiri dengan kemampuan memberikan aktivitas biologis melalui mekanisme perlindungan terhadap proses pembusukan dan oksidasi oleh mikroorganisme sehingga dapat diaplikasikan sebagai antivirus, antioksidan, antibakteri, dan insektisida (Rafaela *et al.*, 2012). Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya oleh Rastuti *et al.* (2013), minyak pala berasal dari daun yang segar dan juga kering memiliki lima komponen kimia terbesar yakni sabinen, terpinen-4-ol, α -pinen, β -pinen, dan β -phellandren yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri pada *Escherichia coli* (*E. coli*) serta pada *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (Tully dan Wibowo, 2019).

Minyak atsiri mempunyai ciri khas yaitu mudah menguap (volatil) di suhu kamar serta cenderung tidak stabil. Sehingga dalam pemanfaatan minyak atsiri perlu untuk diformulasikan menjadi bentuk yang relatif lebih stabil contohnya yaitu partikel nano. Sediaan berukuran nano dapat mencegah kerusakan yang terjadi pada emulsi seperti sedimentasi, flokulasi, *creaming*, dan koalesen karena mempunyai luas permukaan cukup besar. Penelitian ini adalah pengembangan sediaan minyak atsiri daun pala yang diharapkan memiliki sifat kelarutan dan penyerapan yang lebih baik. Contoh penggunaan nanoemulsi minyak atsiri yakni pada uji aktivitas nanoemulsi minyak atsiri daun kemangi sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhi* menunjukkan bahwa terdapat aktivitas antibakteri dengan terbentuk zona bening sekitar cakram yang memiliki diameter 8,3 mm (Kristiani *et al.*, 2019).

Penelitian ini adalah pengembangan sediaan minyak atsiri daun pala yang diharapkan memiliki sifat kelarutan dan penyerapan lebih baik. Berdasarkan penelitian sebelumnya, minyak atsiri daun pala telah diuji aktivitasnya sebagai antibakteri pada beberapa bakteri namun belum ada yang diuji terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) serta dalam bentuk sediaan nanoemulsi sebagai antibakteri.



Prosiding Seminar Nasional dan Call for Papers

"Pengembangan Sumber Daya Perdesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan XIII"

17-18 Oktober 2023

Purwokerto

Nanoemulsi yang diperoleh digunakan sebagai uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. acnes*. Penggunaan bakteri *P. acnes* merupakan bakteri yang kerap menyerang kulit terutama kulit remaja yang mengalami pubertas. Bakteri *P. acnes* merupakan bakteri penyebab jerawat yaitu bakter *acne vulgaris*, yakni suatu peradangan dari *pilosebaceus* dan sebum menyumbat (Hidayah, 2016).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 6 bulan (Agustus 2022-Januari 2023) di Laboratorium Kimia Organik dan Biokimia, Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Jenderal Soedirman. Penelitian terdiri dari 2 tahap yaitu sintesis dan karakterisasi nanoemulsi minyak atsiri daun pala, serta uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*.

Sintesis nanoemulsi minyak (Vior, et al., 2013)

Sintesis nanoemulsi dari minyak daun pala diawali yaitu dengan pembuatan formulasi untuk membentuk sediaan yang stabil. Formula nanoemulsi minyak daun pala dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Formulasi nanoemulsi minyak daun pala.

Bahan	Formula 1 (%)	Formula 2 (%)	Formula 3 (%)	Formula 4 (%)
Minyak daun pala	0	1	3	5
Tween 80	20	20	20	20
Propilen glikol	15	15	15	15
Aquadest	65	64	62	60
Total	100% (50mL)			

Minyak daun pala, tween 80 dan propilen glikol dibuat 4 formula dimasukkan ke dalam gelas beker. Campuran diaduk selama 30 menit dengan menggunakan pengaduk magnetik dengan kecepatan 750 rpm pada suhu 50 °C. Fase minyak secara perlahan ditambah *aquadest* dan dihomogenkan kembali selama 5 jam pada suhu 50 °C dengan kecepatan 1200 rpm.

Formulasi emulsi minyak daun pala

Formulasi yang digunakan yaitu pada Tabel 1. Pembuatan emulsi dilakukan dengan penambahan tween 80, propilen glikol, minyak daun pala, dan *aquadest* dalam erlenmeyer kemudian diaduk dengan pengaduk magnetik kecepatan 750 rpm pada suhu 50 °C selama 3 menit (Hasrawati et al., 2016).

Karakterisasi sediaan emulsi dan nanoemulsi minyak

a. Uji Organoleptis

Uji organoleptis dapat dilakukan dengan cara mencari 10 orang yang bersedia menjadi responden untuk mengamati sediaan nanoemulsi secara visual dan langsung yang meliputi: bau, warna, kejernihan, serta terjadi atau tidaknya pemisahan pada kedua fase (Utami, 2012).

b. Uji pH

Pengujian pH dilakukan menggunakan pH meter pada suhu ruang. Pengujian dilakukan dengan mencelupkan elektroda ke dalam sediaan sampai nilai pH muncul (Priya et al, 2015).

c. Uji Sentrifugasi

Uji sentrifugasi dilakukan memasukkan 2 mL sediaan ke dalam eppendorf kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 6.000 rpm selama 30 menit. Dilakukan pengamatan karakterisasi fisik meliputi pengamatan perubahan warna, pemisahan fase, dan kejernihan (Utami, 2012).

d. Uji Freeze-thaw cycle

Uji Freeze-thaw cycle dilakukan dengan cara sediaan nanoemulsi disimpan di suhu 4 °C selanjutnya dipindahkan pada suhu 40 °C. Proses penyimpanan pada masing-masing suhu yaitu selama



Prosiding Seminar Nasional dan Call for Papers

"Pengembangan Sumber Daya Perdesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan XIII"

17-18 Oktober 2023

Purwokerto

24 jam (satu siklus). Pengujian dilakukan sebanyak empat siklus, lalu diamati perubahan dalam stabilitas fisik dari sediaan nanoemulsi seperti: pH dan organoleptis (Utami, 2012).

e. Uji Tipe Emulsi dan Nanoemulsi

Pengujian tipe emulsi dan nanoemulsi dilakukan dengan mencampurkan zat warna larut air, yaitu metilen biru pada sediaan nanoemulsi. Jika metilen biru larut maka sediaan tipe minyak dalam air (o/w) dan jika partikel bergerombol maka termasuk tipe air dalam minyak (w/o) (Rahmaniyah, 2018).

f. Uji Viskositas

Uji viskositas dilakukan menggunakan alat viscometer Ostwald. Sampel sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam viscometer Ostwald kemudian dihisap menggunakan filler hingga tanda batas atas viscometer Ostwald. Waktu penurunan sampel dihitung dari tanda batas atas hingga tanda batas bawah pada alat viscometer Ostwald, kemudian dihitung viskositasnya (Utami, 2012).

g. Uji persen transmittan

Pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 650 nm dan menggunakan aquadest sebagai blanko. Apabila hasil persen transmittan sampel mendekati 100%, maka sampel tersebut memiliki kejernihan yang mirip dengan air (Utami, 2012).

h. Pengukuran distribusi ukuran partikel

Ukuran partikel nanoemulsi diukur menggunakan alat *Particel Size Analyzer* (PSA) yang dilakukan dengan mengirimkan sampel ke laboratorium Universitas Negeri Yogyakarta. Cahaya yang dihamburkan akan dibaca oleh detektor foton pada sudut tertentu sehingga dapat menentukan ukuran partikel. Kisaran ukuran partikel nanoemulsi adalah 10-100 nm (Devarajan & Ravichandran, 2011).

Uji aktivitas antibakteri

a. Peremajaan bakteri

Bakteri stok dibiakkan ke dalam media NA dengan cara menggoreskan sebanyak satu ose bakteri ke media NA miring lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

b. Pengenceran minyak daun pala

Minyak daun pala diencerkan dengan DMSO. Minyak daun pala diencerkan dengan volume 1, 3, dan 5%. Pelarut DMSO digunakan karena tidak memiliki aktivitas antimikroba (Mudatsir, 2007).

c. Uji difusi

Sebanyak satu ose bakteri dari stok biakan diambil lalu diinkubasi di dalam 10 mL media cair NB selama 18-24 jam pada suhu 37 °C. Sebanyak 5 mL biakan bakteri diambil lalu diukur nilai OD (*Optical Density*) pada panjang gelombang 620 nm. Apabila nilai OD > 1 diambil biakan sebanyak 50 µL, bila OD < 1 diambil biakan 100 µL. Sebanyak 15 mL media NA bersuhu ±40 °C dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat, biakkan bakteri disebar di atas media tersebut. Media NA dilubangi menggunakan *crock bor* diameter 6 mm. Sampel uji adalah formulasi minyak atsiri, emulsi, nanoemulsi daun pala 0; 1; 3; 5 %, kontrol negatif formulasi tanpa minyak, dan kontrol positif *chloramphenicol*. Setiap sampel uji dimasukkan sebanyak 30 µL ke dalam sumur media padat. Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu 37 °C, kemudian dilakukan perhitungan zona hambat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pembuatan nanoemulsi

Pembuatan dari nanoemulsi pada penelitian tersusun dari minyak daun pala, tween 80 (surfaktan), propilen glikol (kosurfaktan), dan *aquadest*. Minyak daun pala merupakan bahan utama dalam penelitian ini serta zat aktif yang akan digunakan pada uji antibakteri. Tween 80 berfungsi sebagai agen pengemulsi dengan toksisitas rendah dan juga tidak dapat mengiritasi kulit (Rowe *et al.*, 2009). Propilen glikol merupakan kosurfaktan yang berfungsi mendukung surfaktan, menambah fluiditas antarmuka dan kemungkinan meningkatkan entropi dari sistem (Yuliasari & Hamdan, 2012). Fasa minyak (Minyak daun pala, surfaktan, dan kosurfaktan) yang dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* berfungsi



Prosiding Seminar Nasional dan Call for Papers

"Pengembangan Sumber Daya Perdesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan XIII"
17-18 Oktober 2023

Purwokerto

memecah partikel minyak atsiri daun pala menjadi bentuk nano. Penelitian ini menggunakan emulsi dan minyak daun pala sebagai pembanding. Pembuatan emulsi dilakukan dengan penambahan tween 80, propilen glikol, minyak daun pala, dan *aquadest* ke dalam Erlenmeyer kemudian formulasi diaduk menggunakan pengaduk magnetik dengan kecepatan 750 rpm pada suhu 50 °C selama 3 menit (Hasrawati *et al.*, 2016).

2. Karakterisasi emulsi dan nanoemulsi minyak daun pala

a. Uji organoleptis

Uji organoleptis menggunakan 10 responden untuk mendeskripsikan keadaan fisik nanoemulsi. Uji organoleptis yang dilakukan meliputi warna, bau, kejernihan, dan pemisahan fase. Hasil uji organoleptis pada emulsi dan nanoemulsi tidak mengalami perubahan signifikan di minggu pertama hingga keempat. Hasil uji organoleptis dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Hasil uji organoleptis

Pengamatan	Konsentrasi minyak daun pala (%)	Minggu							
		Emulsi				Nanoemulsi			
		1	2	3	4	1	2	3	4
Warna	0	Tkn	Tkn	Tkn	Tkn	Tkn	Tkn	Tkn	Tkn
	1	Kn	Kn	Kn	Kn	Kn	Kn	Kn	Kn
	3	Kn	Kn	Kn	Kn	Kn	Kn	Kn	Kn
	5	Kn	Kn	Kn	Kn	Kn	Kn	Kn	Kn
Bau	0	Th	Th	Th	Th	Th	Th	Th	Th
	1	Hr	Hr	Hr	Hr	Hr	Hr	Hr	Hr
	3	Hr	Hr	Hr	Hr	Hr	Hr	Hr	Hr
	5	Hr	Hr	Hr	Hr	Hr	Hr	Hr	Hr
Kejernihan	0	Jn	Jn	Jn	Jn	Jn	Jn	Jn	Jn
	1	Jn	Jn	Jn	Jn	Jn	Jn	Jn	Jn
	3	Jn	Jn	Jn	Jn	Jn	Jn	Jn	Jn
	5	Tjn	Tjn	Tjn	Tjn	Jn	Jn	Jn	Jn
Pemisahan fase	0	Sh	Sh	Sh	Sh	Sh	Sh	Sh	Sh
	1	Sh	Sh	Sh	Sh	Sh	Sh	Sh	Sh
	3	Sh	Sh	Sh	Sh	Sh	Sh	Sh	Sh
	5	Sh	Sh	Sh	Sh	Sh	Sh	Sh	Sh

Keterangan :

Warna

Tkn : Tidak Kuning

Kn : Kuning

Kejernihan

Tjn : Tidak Jernih

Jn : Jernih

Bau

Th : Tidak Harum

Hr : Harum

Pemisahan fase

Sh : Sangat Homogen

b. Uji pH

Penentuan nilai pH yaitu menggunakan alat pH meter digital dalam 3 kali pengulangan. Pembuatan nanoemulsi pada penelitian ini adalah untuk penggunaan pada kulit, sehingga nilai pH yang diperoleh harus berada pada rentang pH kulit antara 4,5 hingga 7,5 (Ali & Yosipovitch, 2013). Hasil pengukuran nilai pH disajikan pada Tabel 3.



Tabel 3 Hasil pengukuran pH

Konsentrasi minyak daun pala (%)	pH	
	Emulsi	Nanoemulsi
0	5,83±0,007	5,93±0,010
1	5,80±0,007	5,90±0,007
3	5,78±0,010	5,88±0,010
5	5,77±0,007	5,86±0,007

Berdasarkan pengukuran pH emulsi dan nanoemulsi hasil dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi minyak daun pala, semakin tinggi konsentrasi minyak daun pala maka pH emulsi dan nanoemulsi semakin menurun. Hal ini disebabkan pH minyak atsiri secara umum bersifat asam. Penurunan pH setiap konsentrasi masih pada kisaran pH kulit di antara 4-7, sehingga termasuk aman digunakan dan tidak menyebabkan iritasi (Ali & Yosipovitch, 2013). Emulsi memiliki pH yang lebih rendah dibandingkan pH nanoemulsi karena emulsi kurang stabil (Habibie, 2022).

c. Uji Sentrifugasi

Pengujian sentrifugasi dilakukan untuk mengetahui perubahan fisik pada emulsi dan nanoemulsi setelah dilakukan sentrifugasi dengan parameter seperti tingkat kekeruhan, pemisahan fase, dan presipitasi. Hasil uji sentrifugasi sediaan emulsi dan nanoemulsi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 Hasil uji sentrifugasi

Pengamatan setelah sentrifugasi	Emulsi				Nanoemulsi			
	Konsentrasi minyak daun pala (%)							
	0	1	3	5	0	1	3	5
Kekeruhan	Tda	Tda	Tda	Tda	Tda	Tda	Tda	Tda
Pemisahan fase	Tda	Tda	Tda	Tda	Tda	Tda	Tda	Tda
Presipitasi	Tda	Tda	Tda	Tda	Tda	Tda	Tda	Tda

Keterangan :

Tda = Tidak Ada

Hasil yang diperoleh setelah dilakukan uji sentrifugasi pada masing-masing sediaan emulsi dan nanoemulsi menunjukkan bahwa tidak terjadi perubahan dari segi kekeruhan, pemisahan fase, dan presipitasi. Nanoemulsi minyak daun pala yang dibuat memiliki kestabilan fisik yang cukup baik sehingga tidak mengalami perubahan fisik (Gupta *et al.*, 2010).

d. Uji Freeze-thaw Cycle

Uji *freeze-thaw cycle* bertujuan mengetahui akibat perubahan temperatur terhadap kestabilan dari sediaan. Sediaan disimpan 24 jam (satu siklus) pada suhu 4 °C dan 40 °C, dilakukan selama 4 siklus. Hasil uji *freeze-thaw cycle* sediaan emulsi dan nanoemulsi minyak daun pala disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5 Hasil uji freeze-thaw cycle

Pengamatan	Konsentrasi minyak daun pala (%)	<i>Freeze-thaw cycle</i>			
		Emulsi		Nanoemulsi	
		Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah
Warna	0	Kn	Kn	Kn	Kn
	1	Kn	Kn	Kn	Kn
	3	Kn	Kn	Kn	Kn
	5	Kn	Kn	Kn	Kn
Kejernihan	0	Jn	Jn	Jn	Jn
	1	Jn	Jn	Jn	Jn
	3	Jn	Jn	Jn	Jn



Prosiding Seminar Nasional dan Call for Papers

"Pengembangan Sumber Daya Perdesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan XIII"
17-18 Oktober 2023

Purwokerto

	5	Tjn	Tjn	Jn	Jn
	0	Th	Th	Th	Th
Bau	1	Hr	Hr	Hr	Hr
	3	Hr	Hr	Hr	Hr
	5	Hr	Hr	Hr	Hr
	0	Tda	Tda	Tda	Hr
Pemisahan fase	1	Tda	Tda	Tda	Hr
	3	Tda	Tda	Tda	Tda
	5	Tda	Tda	Tda	Tda
	0	Tda	Tda	Tda	Tda
Presipitasi	1	Tda	Tda	Tda	Tda
	3	Tda	Tda	Tda	Tda
	5	Tda	Tda	Tda	Tda

Keterangan :

Tjn = Tidak Jernih

Jn = Jernih

Kn = Kuning

Hr = Harum

Th = Tidak harum

Tda = Tidak Ada

Hasil uji freeze-thaw cycle emulsi dan nanoemulsi minyak daun pala memiliki tingkat kestabilan yang baik karena tidak terjadi perubahan baik dari segi warna, kejernihan, bau, pemisahan fasa, dan presipitasi, menunjukkan bahwa sediaan nanoemulsi stabil terhadap perubahan suhu (Adhi, 2022).

e. Uji Tipe Emulsi dan Nanoemulsi

Pengujian tipe emulsi dan nanoemulsi dilakukan dengan menggunakan zat warna larut dalam air yaitu metilen biru. Hasil uji tipe emulsi dan nanoemulsi dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6 Hasil uji tipe emulsi dan nanoemulsi

Sampel	Konsentrasi minyak daun pala (%)	Kelarutan	Tipe nanoemulsi
Nanoemulsi	1	Larut	O/W
	3	Larut	O/W
	5	Larut	O/W
Emulsi	1	Larut	O/W
	3	Larut	O/W
	5	Larut	O/W

Hasil menunjukkan bahwa metilen biru larut dalam sediaan emulsi dan nanoemulsi minyak daun pala, sehingga sediaan termasuk dalam tipe minyak dalam air (o/w) karena sediaan emulsi dan nanoemulsi minyak daun pala terdispersi sempurna dalam air (Hermanto *et al.*, 2010).

f. Uji Viskositas

Uji viskositas emulsi dan nanoemulsi dilakukan dengan menggunakan alat viscometer Ostwald. Menurut Gupta *et al.* (2010), viskositas nanoemulsi berkisar antara 1-200 mPas. Pengukuran waktu alir emulsi dan nanoemulsi sebanyak 3 kali (triplo). Hasil uji viskositas dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7 Hasil uji viskositas

Konsentrasi minyak daun pala (%)	Viskositas (mPas)	
	Emulsi	Nanoemulsi
1	13,818±0,039	12,450±0,039
3	15,248±0,064	15,175±0,039
5	18,141±0,039	17,252±0,065

Hasil uji viskositas nanoemulsi dan emulsi minyak daun pala, nilai viskositas meningkat seiring bertambahnya konsentrasi minyak daun pala pada sediaan. Nilai viskositas emulsi secara umum lebih



daripada viskositas nanoemulsi, akibat homogenitas emulsi lebih rendah sehingga sifat surfaktan yang memiliki viskositas tinggi lebih dominan pada emulsi. Tingkat homogenitas juga mempengaruhi ukuran droplet, sehingga emulsi memiliki viskositas lebih tinggi dari nanoemulsi (Costa et al., 2012).

g. Uji Persen Transmitan

Pengujian persentase transmitan dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 650 nm (Adhi, 2022). Pengujian sebanyak 3 kali pengulangan pada setiap konsentrasi dan menggunakan *aquadest* sebagai blanko. Perbandingan nilai persen transmitan disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8 Nilai persen transmitan

Konsentrasi (%)	% Transmitan	
	Emulsi	Nanoemulsi
1	96,013±0,006	99,807±0,057
3	95,047±0,057	99,173±0,101
5	44,227±0,095	97,223±0,137

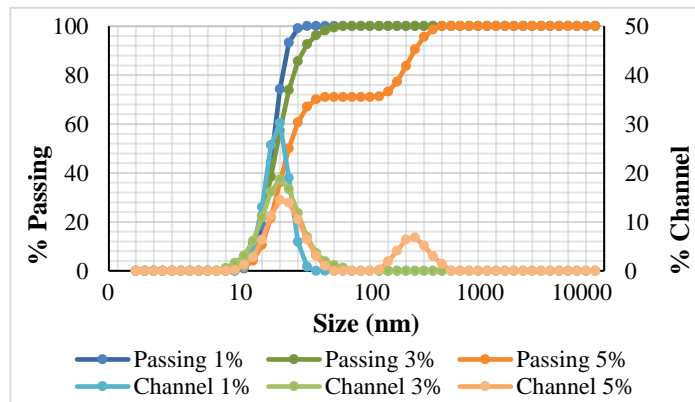
Berdasarkan Tabel 8 formula dari nanoemulsi yang baik memiliki visual yaitu jernih dan juga transmitan 90-100% atau mendekati persen transmitan air yaitu 100% yang mengindikasikan bahwa nanoemulsi memiliki sifat jernih dan transparan (Ali & Hussein, 2017). Nilai persen transmitan pada emulsi lebih rendah daripada nanoemulsi karena homogenitas emulsi yang rendah (Costa et al., 2012).

h. Pengujian Distribusi Ukuran Partikel

Pengujian distribusi partikel terhadap minyak daun pala dilakukan menggunakan alat Particle Size Analyzer (PSA). Hasil pengukuran distribusi partikel nanoemulsi dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9 Ukuran partikel nanoemulsi

Sampel (%)	Ukuran partikel (nm)	Volume (%)
1	12,92	100
3	13,4	100
5	15,36	73,2
	168,4	26,8



Gambar 1. Grafik distribusi ukuran partikel nanoemulsi

Hasil diperoleh ukuran partikel nanoemulsi 1 dan 3% memenuhi kriteria ukuran partikel nanoemulsi karena rentang ukuran di bawah 100 nm (Gupta et al., 2010). Nanoemulsi 5% belum memenuhi kriteria karena memiliki 2 puncak dengan salah satunya bernilai lebih dari 100 nm. Hal ini menunjukkan bahwa nanoemulsi minyak daun pala 5% masih kurang homogen.

3. Pengujian antibakteri *P. Acnes*

a. Regenerasi Bakteri

Regenerasi bakteri dilakukan untuk mendapatkan atau memperbarui sediaan bakteri pada media



Prosiding Seminar Nasional dan Call for Papers

"Pengembangan Sumber Daya Perdesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan XIII"
 17-18 Oktober 2023
 Purwokerto

yang baru sehingga diperoleh bakteri muda. Peremajaan stok bakteri menggunakan media Nutrient Agar (NA) dalam wadah tabung reaksi yang telah memadat dalam keadaan miring 30° untuk memperluas permukaan media agar. Pemandahan bakteri dari media yang lama ke dalam media baru menggunakan teknik goresan atau streak plate (Colome, 2001). Hasil peremajaan bakteri *P. acnes* digunakan untuk uji potensi antibakteri pada nanoemulsi dan emulsi minyak daun pala.

b. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Diameter zona hambat yang dihasilkan menunjukkan sensitivitas zat antibakteri terhadap bakteri yang digunakan. Zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dengan di daerah bening dikurangi diameter crotch bor yang digunakan yakni sebesar 6 mm. Formulasi emulsi dan nanoemulsi uji antibakteri pada Tabel 1. Hasil uji antibakteri dapat disajikan di Tabel 10.

Tabel 10 Hasil uji antibakteri

Sampel	Zona hambat (mm)*			
	0%	1%	3%	5%
Minyak daun pala	0,000±0,000	8,080±2,828	8,560±0,014	11,810±2,461
Emulsi	0,000±0,000	11,040±0,014	11,520±0,707	12,305±0,361
Nanoemulsi	0,000±0,000	13,035±0,672	13,530±0,693	14,805±0,375
Kloramfenikol		23,290±0,354		

*Rata-rata dari pengujian duplo

Hasil aktivitas antibakteri semakin besar disebabkan karena besar zona hambat seiring kenaikan konsentrasi minyak daun pala. Sediaan dalam bentuk nanoemulsi terbukti meningkatkan aktivitas antibakteri dari minyak daun pala ditunjukkan meningkatnya luas zona hambat pada konsentrasi yang sama. Kontrol negatif yakni emulsi dan nanoemulsi minyak daun pala 0% serta pelarut DMSO tidak memberikan zona hambat menunjukkan formulasi tanpa minyak daun pala tidak memiliki aktivitas antibakteri (Ali & Hussein, 2017). Daya hambat yang diperoleh pada sediaan emulsi dan nanoemulsi 1, 3, dan 5 % serta kontrol minyak daun pala 5% memiliki aktivitas antibakteri yang kuat, sedangkan pada kontrol minyak daun pala 1 dan 3% memiliki aktivitas antibakteri yang sedang, merujuk pada Hapsari (2015) dengan daya hambat sangat kuat (> 20 mm), kuat (10-20 mm), sedang (5-10 mm), dan lemah (<5 mm). Uji statistika dengan uji ANOVA dan uji Pos Hoc Test Tukey. Hasil uji ANOVA dan uji Pos Hoc Tes Tukey dapat dilihat pada Tabel 11. Nilai menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar kelompok uji (p < 0,001) sehingga dilanjutkan Pos Hoc Test dengan uji Tukey (Arif, 2022).

Tabel 11 Hasil uji pos hoc test tukey data zona hambat

D _{msky}	D	K-(E)	K-(N)	K+	M ₁	M ₃	M ₅	E ₁	E ₃	E ₅	N ₁	N ₃	N ₅
D		*1.000	*1.000	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
K-(E)	*1.000		*1.000	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
K-(N)	*1.000	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
K+	<0.001	<0.001	<0.001		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
M ₁	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001		*1.000	*0.131	*0.356	*0.195	*0.064	*0.022	*0.010	*0.002
M ₃	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	*1.000		*0.250	*0.582	*0.356	*0.129	*0.045	*0.021	*0.003
M ₅	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	*0.131	*0.250		*1.000	*1.000	*1.000	*0.992	*0.916	*0.342
E ₁	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	*0.356	*0.582	*1.000		*1.000	*0.990	*0.818	*0.577	*0.125
E ₃	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	*0.195	*0.356	*1.000	*1.000		*1.000	*0.962	*0.812	*0.239
E ₅	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	*0.064	*0.129	*1.000	*0.990	*1.000		*1.000	*0.992	*0.572
N ₁	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	*0.022	*0.045	*0.992	*0.818	*0.962	*1.000		*1.000	*0.901
N ₃	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	*0.010	*0.021	*0.916	*0.577	*0.812	*0.992	*1.000		*0.989
N ₅	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	*0.002	*0.003	*0.342	*0.125	*0.239	*0.572	*0.901	*0.989	

Keterangan :

* = Tidak berbeda bermakna

M₅ = Minyak 5%



Prosiding Seminar Nasional dan Call for Papers

"Pengembangan Sumber Daya Perdesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan XIII"
17-18 Oktober 2023

Purwokerto

D	= Pelarut DMSO	E ₁	= Emulsi 1%
K-(E)	= Kontrol negatif emulsi	E ₃	= Emulsi 3%
K-(N)	= Kontrol negatif nanoemulsi	E ₅	= Emulsi 5%
K+	= Kontrol positif	N ₁	= Nanoemulsi 1%
M ₁	= Minyak 1%	N ₃	= Nanoemulsi 3%
M ₃	= Minyak 3%	N ₅	= Nanoemulsi 5%

Berdasarkan hasil uji *Tukey*, terlihat adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,001$) pada nilai signifikansi rata-rata zona hambat bakteri kelompok DMSO, kontrol negatif, dan kontrol positif, sehingga disimpulkan bahwa semua larutan uji mempunyai aktivitas antibakteri. Proses kerja minyak daun pala sebagai antibakteri berkaitan dengan senyawa α -pinen dan β -pinen yang mampu merusak membran sel bakteri selektif permeabel (Quatrin *et al.*, 2017). Mekanisme antibakteri juga disebabkan surfaktan yang mempengaruhi kelarutan senyawa antimikroba minyak atsiri (Simmonazzi *et al.*, 2018).

KESIMPULAN

1. Nanoemulsi minyak daun pala dengan konsentrasi 1, 3, dan 5% memiliki karakteristik berwarna kuning, jernih, memiliki bau aromatik, dan bersifat homogen. Nilai transmitansi dari ketiga konsentrasi berturut-turut sebesar $99,807 \pm 0,057$; $99,173 \pm 0,101$; dan $97,223 \pm 0,137\%$. Nilai viskositas nanoemulsi sebesar $12,450 \pm 0,067$; $15,175 \pm 0,067$; dan $17,252 \pm 0,112$ mPas. Nilai pH nanoemulsi sebesar $5,90 \pm 0,007$; $5,88 \pm 0,010$; $5,86 \pm 0,007$. Semua formula nanoemulsi termasuk dalam tipe *oil in water* (*o/w*). Nanoemulsi memiliki stabilitas yang cukup tinggi. Ukuran partikel dari masing-masing konsentrasi adalah 12,92 (1%); 13,4 (3%); dan 15,36 serta 168,4 (5%) nm.
2. Aktivitas antibakteri *Propionibacterium acnes* dari nanoemulsi minyak daun pala positif ditandai adanya zona hambat, serta semua formula nanoemulsi minyak daun pala memiliki aktivitas antibakteri lebih baik daripada emulsi. Zona hambat dari sediaan nanoemulsi pada konsentrasi 1, 3, dan 5% adalah $13,035 \pm 0,672$; $13,530 \pm 0,693$; $14,805 \pm 0,375$ mm, sedangkan zona hambat sediaan emulsi pada konsentrasi 1, 3, dan 5% adalah $11,040 \pm 0,014$; $11,520 \pm 0,707$; $12,305 \pm 0,361$ mm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Jenderal Soedirman melalui dana BLU Program Riset Dasar Unsoed (RDU).

DAFTAR PUSTAKA

Adhi, A.K. (2022). Formulasi Nanoemulsi Sereh Wangi (*Cymbopogon nardus L.*) dan Uji Aktivitas Antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes* dan Antijamur terhadap *Candida albicans*. *Skripsi*. Purwokerto: FMIPA Universitas Jenderal Soedirman.

Ali, H. H., & Hussein, A. A. (2017). Oral Nanoemulsions of Candesartan Cilexetil: Formulation, Characterization and In Vitro Drug Release Studies. *Aaps Open*. 3(1), 1-16.

Ali, S. M., & Yosipovitch, G. (2013). Skin pH: From Basic Science to Basic Skin Care. *Acta dermato-venereologica*. 93(3), 261-269.

Arif, I. (2022). Uji Aktivitas Analgesik Nanoemulsi Minyak Atsiri Daun Pala (*Myristica fragrans*) pada Mencit (*Mus musculus*) dengan Metode Induksi Asam Asetat. *Skripsi*. Purwokerto: FMIPA Universitas Jenderal Soedirman.



Prosiding Seminar Nasional dan Call for Papers

"Pengembangan Sumber Daya Perdesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan XIII"
17-18 Oktober 2023
Purwokerto

- Colome, J.S. (2001). *Laboratory Exercises in Microbiology*. New York: West Publishing Company.
- Devarajan, V. & Ravichandran, V. (2011). Nanoemulsions: as Modified Drug Delivery Tool. *International Journal of Comprehensive Pharmacy*. 2(4): 1-6.
- Gupta, P.K., Gupta, S., Pandit, J.K., Kumar, A., & Sawaroop, P. (2010). Pharmaceutical Nanotechnology Novel Nanoemulsion High Energy Emulsification Preparation, Evaluation and Application. *The Pharma Research*. (3): 117-138.
- Habibie, R.K.. (2022). Formulasi, Karakterisasi, dan Pengujian Potensi Tabir Surya Nanoemulsi Minyak Atsiri Daun Pala (*Myristica Fragrans* Houtt). *Skripsi*. Purwokerto: FMIPA Universitas Jenderal Soedirman.
- Hapsari, E. (2015). Uji Antibakteri Ekstrak Herba Meniran (*Phyllanthus niruri*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Bacillus cereus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Pendidikan Biologi. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- Hasrawati, A., Hasyim, N., & Irsyad, N. A. (2016). Pengembangan Formulasi Mikroemulsi Minyak Sereh (*Cymbopogon nardus*) Menggunakan Emulgator Surfaktan Nonionik. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 3(1), 151-154.
- Hermanto S, Muawanah A dan Wardhani P. (2010). Analisis Tingkat Kerusakan Lemak Nabati dan Lemak Hewani Akibat Proses Pemanasan. *Jurnal Kimia Valensi UIN Syarif Hidayatullah*. 1(6), 262-268.
- Hidayah, N. D. (2016). Uji Aktivitas Ekstrak Metanol Klika Anak Dara (*Croton oblongus burm F.*) terhadap Bakteri Penyebab Jerawat. *Skripsi*. Makassar: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin.
- Kristiani, M., Septiana L. R., Klara Y., & Meilina S. (2019). Formulasi dan Uji Aktivitas Nanoemulsi Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum basilicum L.*) terhadap *Salmonella typhii*. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 16(1): 14-23.
- Mudatsir, M. (2007). Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kehidupan Mikroba Dalam Air. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 7(1), 23-30.
- Priya, S., Koland M., dan Suchetha K. N. (2015). Nanoemulsion Components Screening of Quetiapine Fumarate: Effect Of Surfactant and Co Surfactant. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 8(6): 136-140.
- Quatrin, P. M., Verdi, C. M., de Souza, M. E., de Godoi, S. N., Klein, B., & Santos, R. C. V. (2017). Antimicrobial and antibiofilm activities of nanoemulsions containing *Eucalyptus globulus* oil against *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida sp.* *Microbial pathogenesis*. 112, 230-242.
- Rahmaniyah. (2018). Perbandingan Formulasi Sistem Nanoemulsi dan Nanoemulsi Gel Hidrokortison dengan Variasi Konsentrasi Fase Minyak Palm Oil. *Skripsi*. Malang: Farmasi-UIN.



Prosiding Seminar Nasional dan Call for Papers

"Pengembangan Sumber Daya Perdesaan dan Kearifan Lokal Berkelanjutan XIII"
17-18 Oktober 2023
Purwokerto

Rastuti, U., Widyaningsih S., Kartika, D. & Ningsih D.R. (2013). Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Pala dari Banyumas terhadap *Stapylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta Identifikasi Senyawa Penyusunannya, *Jurnal Ilmiah Kimial*. 8: 197-203.

Rowe, R. C., Sheskey, P., & Quinn, M. (2009). *Handbook of pharmaceutical excipients*. Libros Digitales-Pharmaceutical Press.

Tully, C.H. dan M. A. Wibowo. (2019). Antibakteri Minyak Atsiri Daun Pala Segar dan Kering (*Myristica fragrans* Houtt.) dari Pulau Lemukutan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 8(1): 86-90.

Utami, S. S. (2012). Formulasi dan Uji Penetrasi in Vitro Nanoemulsi, Nanoemulsi Gel, dan Gel Kurkumin. *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Vior, M.C.G., Monteagudo E., Dixelio L.E., & Awruch A. 2011. A Comparative Study of A Novel Lipophilic Phthalocyanine Incorporates into Nanoemulsion Formulations: Photophysics, Size, Solubility and Thermodynamic Stability. *Dyes and Pigments*. 91: 208-214.

Yuliasari & S. Hamdan (2012) Karakterisasi Nanoemulsi Minyak Sawit Merah yang Disiapkan dengan High Pressure Homogenizer. *Prosiding Insinas*. Bandung, Asdep Relevansi Program Riptek, Deputi Bidang Relevansi dan Produktivitas Iptek, Kementerian Riset dan Teknologi. 25-28.