

**FORMULASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI NANOEMULGEL
EKSTRAK DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix D.C*) TERHADAP
BAKTERI *Staphylococcus epidermidis* PENYEBAB JERAWAT**

Skripsi

Oleh :

**Muhammad Muzhaffar Athallah
2018031036**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

**FORMULASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
NANOEMULGEL EKSTRAK DAUN JERUK PURUT (*Citrus
hystrix D.C*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus epidermidis*
PENYEBAB JERAWAT**

Oleh :

Muhammad Muzhaffar Athallah

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA FARMASI**

Pada

**Program Studi Farmasi
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

Judul Skripsi : **FORMULASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI NANOEMULGEL EKSTRAK DAUN JERUK PURUT (Citrus hystrix D.C) TERHADAP BAKTERI Staphylococcus epidermidis PENYEBAB JERAWAT**

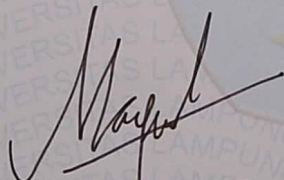
Nama Mahasiswa : *Muhammad Muzhaffar Athallah*

No. Pokok Mahasiswa : 2018031036

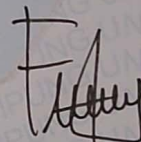
Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran

MENYETUJUI
Komisi Pembimbing



Andi Nafisah T.A.M. S.Farm., M.Sc.
NIP. 198902232020122015



Femmy Andrifianie., S.Farm., M.Farm.
NIP. 199009222022032013

MENGETAHUI
Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Evi Kurniawaty, M.Sc
NIP. 197601202003122001

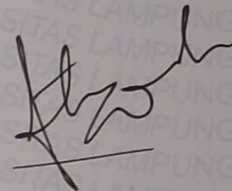
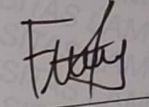
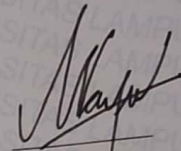
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

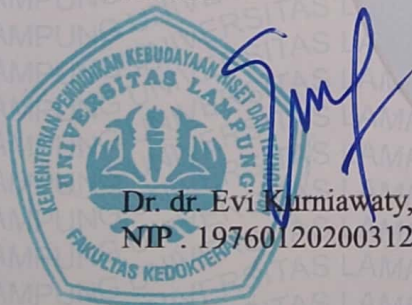
Ketua : Andi Nafisah T.A.M. S.Farm., M.Sc.

Sekretaris : Femmy Andrifianie., S.Farm., M.Farm.

**Penguji
Bukan Pembimbing** : Apt. M.Fitra Wardana.S. S.Farm. M.farm.



2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung



Dr. dr. Evi Kurniawaty, M.Sc
NIP. 197601202003122001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 15 Agustus 2024

LEMBAR PERNYATAAN

FORMULASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI NANOEMULGEL EKSTRAK DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* D.C) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus epidermidis* PENYEBAB JERAWAT adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam Masyarakat akademik atau disebut plagiarism. Hal intelektual atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini, apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 16 Agustus 2024

Pe



Muhammad Muzhaffar Athallah
NPM. 2018031036

ABSTRAK

FORMULASI DAN UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI SEDIAAN NANOEMULGEL EKSTRAK DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix*) TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus epidermidis* PENYEBAB JERAWAT

Oleh

Muhammad Muzhaffar Athallah

Latar Belakang: Penelitian ini mengembangkan nanoemulgel dari ekstrak daun jeruk purut untuk mengobati jerawat yang disebabkan oleh *Staphylococcus epidermidis*. Daun tersebut efektif sebagai antibakteri berkat alkaloid, Flavonoid, dan tanin. Nanoemulsi dipilih untuk meningkatkan kelarutan dan stabilitas formulasi, dijadikan sediaan nanoemulgel praktis dan merata dalam penghantaran obat

Metode: Penelitian ini adalah penelitian eksperimental untuk mengetahui konsentrasi optimum ekstrak daun jeruk purut dalam menghambat bakteri *Staphylococcus epidermidis*, karakteristik sediaan nanoemulgel dan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Hasil: Berdasarkan penelitian, konsentrasi optimal ekstrak daun jeruk purut adalah 10%, dengan zona hambat mencapai 26,2 mm yang diklasifikasikan sebagai sangat kuat. Nanoemulsi memiliki persentase transmisi antara 97-99%, ukuran partikel rerata 294,86 nm, *polidispersitas* 0,34, potensial zeta -11,13 Mv, morfologi menunjukkan fase (m/a), dan diameter zona hambat rata-rata 33,3 mm. Nanoemulgel yang diformulasikan menunjukkan karakteristik organoleptik berwarna hijau kekeruhan, aroma daun jeruk purut yang lembut, semi padat dengan pH 5, dan diameter zona hambat rata-rata 32,1 mm terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*, menunjukkan aktivitas yang kuat.

Kesimpulan: Daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) optimal pada konsentrasi 10% dalam menghambat bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan dapat diformulasikan menjadi sediaan nanoemulgel yang mampu menghambat bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

Kata Kunci: Antibakteri, *Staphylococcus epidermidis*, Daun jeruk purut, nanoemulsi, Nanoemulgel.

ABSTRACT

FORMULATION AND TEST OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF NANOEMULGEL EXTRACT OF KAFFIR LIME LEAF (*Citrus hystrix*) AGAINST *Staphylococcus epidermidis* BACTERIA CAUSING ACNE

By

Muhammad Muzhaffar Athallah

Background: This research develops a nanoemulgel from kaffir lime leaf extract to treat acne caused by *Staphylococcus epidermidis*. The leaves are effective as antibacterial agents due to alkaloids, Flavonoids, and tanins. Nanoemulsion enhances solubility and stability, forming a practical delivery system.

Methods: This experimental study aims to determine the optimal concentration of kaffir lime leaf extract to inhibit *Staphylococcus epidermidis*, characterize the nanoemulgel formulation, and test its antibacterial activity.

Results: The optimal concentration is 10%, with an inhibition zone of 26.2 mm classified as very strong. Nanoemulsion shows 97-99% transmittance, average particle size 294.86 nm, polydispersity index 0.34, zeta potential -11.13 mV, (m/a) phase morphology, and 33.3 mm average inhibition zone diameter. Nanoemulgel has green turbidity, mild kaffir lime leaf aroma, semi-solid texture (pH 5), and 32.1 mm average inhibition zone diameter against *Staphylococcus epidermidis*, indicating strong activity.

Conclusion: Kaffir lime leaves (*Citrus hystrix*) at 10% effectively inhibit *Staphylococcus epidermidis* and can be formulated into a nanoemulgel for this purpose.

Keywords: Antibacterial, *Staphylococcus epidermidis*, Kaffir lime leaves, nanoemulsion, Nanoemulgel.

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
DAFTAR SINGKATAN	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti	4
1.4.2 Manfaat Bagi Institusi.....	4
1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix DC</i>)	5
2.1.1 Morfologi	5
2.1.2 Klasifikasi Ilmiah.....	6
2.1.3 Kandungan	6
2.1.4 Manfaat	7
2.2 Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix D.C</i>)	8

2.2.1 Metode Pembuatan Ekstrak Daun Jeruk Purut.....	8
2.2.2 Evaluasi Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix D.C</i>).....	9
2.3 Nanoemulsi	9
2.3.1 Komponen nanoemulsi.....	10
2.3.2 Metode Pembuatan nanoemulsi.....	10
2.3.3 Evaluasi nanoemulsi.....	11
2.4 Nanoemulgel.....	11
2.4.1 Metode Pembuatan Nanoemulgel.....	13
2.4.2 Evaluasi Nanoemulgel.....	14
2.5 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	14
2.5.1 Morfologi.....	15
2.5.2 Klasifikasi.....	15
2.5.3 Patogenesis	16
2.6 Antibakteri.....	16
2.6.1 Uji Aktivitas Antibakteri.....	16
2.7 Bahan Tambahan.....	17
2.7.1 Polysorbate 80 (Tween 80).....	17
2.7.2 Polietilenglikol 400 (PEG 400).....	17
2.7.3 Virgin Coconut Oil (VCO).....	17
2.7.4 Carbopol 940	18
2.7.5 Gliserin	18
2.7.6 Propilen Glikol	18
2.7.7 Metil Paraben dan Propil Paraben	18
2.7.8 Aquadest	18
2.8 Kerangka Teori.....	19
2.9 Kerangka Konsep.....	21

2.10 Hipotesis	21
2.10.1 Hipotesis Null (H0)	21
2.10.2 Hipotesis Alternatif (H1)	22
BAB III METODE PENELITIAN	23
3.1 Desain Penelitian	23
3.2 Tempat Dan Waktu penelitian	23
3.2.1 Tempat Penelitian	23
3.3 Bahan Uji Penelitian	24
3.3.1 Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i> DC).....	24
3.3.2 Mikroba Uji	25
3.4 Variabel Penelitian	25
3.4.1 Variabel Independen	25
3.4.2 Variabel Dependen.....	25
3.5 Definisi Operasional Variabel	26
3.6 Alat dan Bahan	27
3.6.1 Alat	28
3.6.1 Bahan.....	28
3.7 Prosedur	29
3.7.1 Pembuatan Ekstrak Etanol dan Ekstrak Delipidasi	29
3.7.2 Skrining Fitokimia.....	29
3.7.3 Uji Aktivitas Antibakteri ekstrak	31
3.7.4 Pembuatan Nanoemulsi	32
3.7.5 Karakterisasi Nanoemulsi.....	33
3.7.6 Pembuatan Nanoemulgel.....	35
3.7.7 Karakterisasi Nanoemulgel	36
3.8 Analisis Data	37

3.9 Etika Penelitian	38
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
4.1 Hasil Penelitian	39
4.1.1 Etika Penelitian.....	40
4.1.2 Determinasi Tanaman	40
4.1.3 Ekstraksi	40
4.1.4 Delipidasi Ekstrak Daun Jeruk Purut	42
4.1.5 Identifikasi Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut	43
4.1.5 Skrining Fitokimia.....	44
4.1.6 Uji pendahuluan aktivitas Antibakteri	44
4.1.7 Karakterisasi Nanoemulsi.....	50
4.1.8 Karakterisasi Nanoemulgel	53
4.1.9 Uji aktivitas Antibakteri	55
4.2 Pembahasan.....	58
4.2.1 Determinasi Tanaman	58
4.2.2 Ekstraksi	59
4.2.3 Delipidasi.....	59
4.2.2 Skrining Fitokimia.....	60
4.2.3 Karakterisasi Nanoemulsi.....	62
4.2.4 Karakterisasi Nanoemulgel	64
4.2.5 Uji pendahuluan dan Uji Aktivitas Antibakteri	64
BAB V KESIMPULAN.....	67
5.1 Kesimpulan	67
5.2 Saran	67
DAFTAR PUSTAKA.....	68
LAMPIRAN.....	77

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Klasifikasi Ilmiah Tanaman Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix D.C</i>)	6
Tabel 2. Klasifikasi Ilmiah bakteri <i>Staphylococcus epidermidis</i>	15
Tabel 3. Definisi Operasional Variabel	26
Tabel 4. Formula Acuan Nanoemulsi	32
Tabel 5. Formula Modifikasi Nanoemulsi	32
Tabel 6. Formulasi Nano Emulgel dengan acuan yang telah di Modifikasi	35
Tabel 7. Identifikasi Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix D.C</i>) tidak Terdelipidasi.....	43
Tabel 8. Identifikasi Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix D.C</i>) Terdelipidasi.....	44
Tabel 9. Hasil Skrining Fitokimia	44
Tabel 10. Hasil Diameter Zona Hambat Bakteri <i>Staphylococcus Epidermidis</i> pada Ekstrak Tidak Terdelipidasi Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix D.C</i>). ...	46
Tabel 11. Hasil Diameter Zona Hambat Bakteri <i>Staphylococcus Epidermidis</i> pada Ekstrak Terdelipidasi Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix D.C</i>).	47
Tabel 12. Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol 96% Daun Jeruk Purut (<i>Citrus Hystrix D.C</i>) terhadap Bakteri <i>Staphylococcus Epidermidis</i>	47
Tabel 13. Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Diameter Zona Hambat Ekstrak Terdelipidasi Daun Jeruk Purut (<i>Citrus Hystrix D.C</i>) terhadap Bakteri <i>Staphylococcus Epidermidis</i>	48
Tabel 14. Hasil Uji <i>One Way Anova</i> Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol 96% Daun Jeruk Purut (<i>Citrus Hystrix D.C</i>) terhadap Bakteri <i>Staphylococcus</i> <i>Epidermidis</i>	48

Tabel 15. Hasil Uji <i>One Way Anova</i> Diameter Zona Hambat Ekstrak Terdelipidasi Daun Jeruk Purut (<i>Citrus Hystrix D.C</i>) terhadap Bakteri <i>Staphylococcus Epidermidis</i>	48
Tabel 16. Hasil Uji <i>Post Hoc</i> LSD Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix D.C</i>) terhadap Bakteri <i>Staphylococcus Epidermidis</i>	49
Tabel 17. Hasil Uji <i>Post Hoc</i> LSD Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix D.C</i>) Terdelipidasi terhadap Bakteri <i>Staphylococcus Epidermidis</i>	49
Tabel 18. Hasil Uji Persen Transmittan.....	51
Tabel 19. Hasil Diameter Zona Hambat Pada Sediaan Nanoemulsi dan Sediaan Nanoemulgel.....	52
Tabel 20. Hasil Diameter Zona Hambat Sediaan Nanoemulsi dan Nanoemulgel terhadap Bakteri <i>Staphylococcus Epidermidis</i>	56
Tabel 21. Hasil Uji Normalitas Dan Homogenitas Diameter Zona Hambat Nanoemulsi dan Nanoemulgel terhadap Bakteri <i>Staphylococcus Epidermidis</i>	57
Tabel 22. Hasil Uji <i>One Way Anova</i> Diameter Zona Hambat Nanoemulsi dan Nanoemulgel Daun Jeruk Purut (<i>Citrus Hystrix D.C</i>) terhadap Bakteri <i>Staphylococcus Epidermidis</i>	57
Tabel 23. Hasil Uji <i>Post Hoc</i> LSD Diameter Zona Hambat Nanoemulsi dan Nanoemulgel Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix D.C</i>) Terdelipidasi terhadap Bakteri <i>Staphylococcus Epidermidis</i>	58
Tabel 24. Kategori Respon Hambat Pertumbuhan Mikroba	65

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix D.C</i>)	6
Gambar 2. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	15
Gambar 3. Kerangka teori	20
Gambar 4. Kerangka Konsep	21
Gambar 5. Hasil diameter zona hambat pada ekstrak sebelum dan sesudah delipidasi	45
Gambar 6. Penampakan organoleptis nanoemulsi	50
Gambar 7. Morfologi nanoemulsi dilihat dari mikroskop + Optilab	53
Gambar 8. Penampakan organoleptis nanoemulgel	54
Gambar 9. Hasil diameter zona hambat pada sediaan nanoemulsi dan sediaan nanoemulgel	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Persetujuan Etik	76
Lampiran 2. Determinasi Tanaman	77
Lampiran 3. Sertifikat Hasil Pengujian	79
Lampiran 4. Kegiatan Penelitian.....	80
Lampiran 5. Analisis Data.....	91
Lampiran 6. Hasil Uji Partikel	95

DAFTAR SINGKATAN

- LSD : Least Significant Difference
ml : Milliter
mm : Millimeter
nm : Nanometer
PEG : Polietilenglikol
PI : Polidispersitas
Snedds : *Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Acne Vulgaris atau yang sering disebut jerawat, merupakan kondisi peradangan yang umumnya disebabkan oleh beberapa jenis bakteri, salah satunya adalah *Staphylococcus epidermidis* (Wardania *et al.*, 2020). Pengobatan infeksi jerawat yang disebabkan oleh *Staphylococcus epidermidis* menjadi tantangan besar akibat resistensinya terhadap berbagai antibiotik. Oleh karena itu, diperlukan penelitian yang fokus pada pengembangan metode pengobatan yang efektif, terutama berdasarkan sumber-sumber alami (Chabi & Momtaz, 2019).

Daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) menunjukkan efek antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* secara *in vitro* yaitu dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan bakteri tersebut. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa konsentrasi hambat minimum (KHM) dari ekstrak daun jeruk purut terhadap *Staphylococcus epidermidis* adalah 0,18%. (Rosmalawati., *et al*, 2022). Ekstrak daun jeruk purut stabil dalam formulasi serta menunjukkan aktivitas antibakteri yang kuat terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. Hal ini memperlihatkan potensi penggunaan ekstrak daun jeruk purut dalam pengobatan (Marwarni., *et al*, 2022).

Ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) mengandung senyawa bioaktif metabolit sekunder seperti alkaloid, Flavonoid, dan tanin yang memiliki potensi sebagai antimikroba termasuk terhadap *Staphylococcus epidermidis* (Zhao *et al.*, 2023).

Nanoemulgel adalah sistem penghantaran yang inovatif yang menggabungkan keunggulan nanoteknologi dengan sifat gel. Sistem ini memiliki kemampuan meningkatkan efisiensi penyerapan bahan aktif oleh kulit. Selain itu, gel adalah bentuk sediaan topikal yang memberikan kenyamanan penggunaan, penyerapan yang cepat, dan kemampuan untuk melepaskan bahan aktif secara terkendali (Donthi *et al.*, 2023). Nanoemulgel telah terbukti efektif dalam meningkatkan permeabilitas dan retensi bahan aktif pada kulit, sehingga cocok untuk aplikasi topikal dengan potensi aktivitas antibakteri (Anand *et al.*, 2019).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa terjadi peningkatan stabilitas ekstrak herbal yang awalnya kurang stabil dalam air dengan merancang nanoemulsi. Penggunaan nanoemulsi mengurangi dosis yang diperlukan untuk mencapai efek terapeutik, dapat mengurangi potensi efek samping, serta membuka peluang dalam penggunaan nanoteknologi untuk meningkatkan efektivitas terapi herbal dan mengatasi kendala-kendala umum terkait dengan ekstrak tumbuhan, seperti masalah kelarutan. (McClements, 2021).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul, “Formulasi Sediaan Nanoemulgel Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C*) Sebagai Antibakteri *Staphylococcus epidermidis* Penyebab Jerawat” Penelitian ini penting dilakukan untuk pengembangan penggunaan obat herbal.

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapakah konsentrasi ekstrak yang paling optimal untuk memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*?
2. Apakah konsentrasi yang memberikan daya hambat paling optimal terhadap *Staphylococcus epidermidis* dapat diformulasikan menjadi sediaan nanoemulgel?
3. Bagaimanakah aktivitas antibakteri dari sediaan nanoemulgel ekstrak jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*?
4. Bagaimanakah karakteristik fisik SNEDDS (*Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System*) dan nanoemulgel ekstrak jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) yang terbentuk?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk Mengetahui formula yang terbaik untuk memberikan daya hambat paling optimal terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* pada sediaan nanoemulgel ekstrak jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*), serta untuk mengetahui karakteristik nanoemulgel yang akan terbentuk.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak yang terbaik untuk memberikan daya hambat paling optimal terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*.
2. Untuk mengetahui apakah konsentrasi terbaik yang memberikan daya hambat terbesar terhadap *Staphylococcus epidermidis* dapat diformulasikan menjadi sediaan nanoemulgel.
3. Untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari sediaan nanoemulgel ekstrak jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

4. Untuk Mengetahui karakteristik fisik nanoemulgel ekstrak jeruk purut yang akan terbentuk.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan pengalaman peneliti tentang pemanfaatan daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*), dimulai dari cara pengolahan daun, pengekstrakan, formulasi sediaan nanoemulgel hingga uji daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

1.4.2 Manfaat Bagi Institusi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi ilmiah untuk penelitian selanjutnya dalam pengembangan sediaan nanoemulgel dengan kandungan ekstrak jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) sebagai sistem penghantaran obat yang efektif dalam mengatasi masalah jerawat akibat bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini dapat menjadi sumber informasi kepada masyarakat mengenai pemanfaatan daun dari tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jeruk Purut (*Citrus hystrix DC*)

Jeruk purut (*Citrus hystrix DC*) merupakan salah satu jenis tanaman buah yang populer di Asia Tenggara, terutama Indonesia. Tanaman ini dikenal tidak hanya karena buahnya yang khas, tetapi juga karena daunnya yang memiliki beragam manfaat dalam masakan dan pengobatan tradisional (Tuasamu, 2018).

2.1.1 Morfologi

Warna daun hijau lumut, bentuk daun tunggal, oval, berlekuk di bagian tengah daun, pangkal dan ujung daun meruncing, bagian lekukan membulat, tepi daun berlekuk bergerigi kecil, Permukaan bagian atas daun halus dan mengkilap (sekitar 20 -30), permukaan atas daun licin serta mengkilap dan berbau khas, berukuran daun berkisar 7,3 – 8,0 centimeter panjang dan 2,5 – 3 centimeter lebar nya (Tuasamu, 2018).



Gambar 1. Daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) (Sumber : Tuasamu, 2018)

2.1.2 Klasifikasi Ilmiah

Tabel 1. Klasifikasi Ilmiah Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C*) (Tuasamu, 2018)

Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Sub divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Marga	: <i>Citrus</i>
Jenis	: <i>Citrus hystrix D.C.</i>

2.1.3 Kandungan

Komposisi kimia daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dapat bervariasi tergantung pada faktor-faktor seperti varietas tumbuhan, kondisi pertumbuhan, dan metode pengolahan (Do Espirito *et al.*, 2021). Daun jeruk purut telah lama dikenal karena sifat antimikroba alaminya. Ekstrak dari daun jeruk purut mengandung berbagai senyawa aktif yang telah terbukti memiliki aktivitas antimikroba.

Senyawa-senyawa ini memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme, termasuk berbagai jenis bakteri dan jamur (Rahman *et al.*, 2023).

Senyawa yang terdapat dalam daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) yang berfungsi sebagai antibakteri adalah fenol, flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, terpenoid (Siregar *et al*, 2020).

2.1.4 Manfaat

Antimikroba yang berbeda. alkaloid dikenal dapat menghambat pertumbuhan bakteri baik gram positif maupun gram negatif. Sementara flavonoid bekerja sebagai agen antibakteri dengan cara mengganggu fungsi membran sitoplasma bakteri (Siregar *et al.*, 2020).

Selain itu, tanin berfungsi dalam mengendapkan protein yang pada gilirannya dapat mempengaruhi peptidoglikan, komponen penting dalam dinding sel bakteri. Oleh karena itu, terdapat penelitian sebelumnya yang memformulasikan ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) sebagai agen terapeutik sekaligus kosmetika untuk mengobati kulit akibat bakteri *Staphylococcus epidermidis* dengan daya hambat kuat (Siregar *et al.*, 2020).

2.2 Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C*)

Ekstrak adalah bentuk sediaan cair, kental, atau kering yang dihasilkan dari ekstraksi simplisia menggunakan metode yang tepat. Ekstrak dari daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) memiliki sifat kental dengan lapisan minyak di permukaannya, berwarna hijau gelap, dan aroma khas yang khas (Rosmainar, 2021).

2.2.1 Metode Pembuatan Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*)

Daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) yang berwarna hijau dan dalam keadaan baik dipotong kecil-kecil, dicuci, dan dikeringkan dengan angin tanpa terpapar langsung sinar matahari. Setelah itu, daun dihaluskan dengan cara diblender dan direndam menggunakan pelarut etanol 96%, diaduk pada awal proses dan setelah 12 jam, dengan total waktu ekstraksi selama 24 jam sebelum disaring. Hasil ekstrak kemudian dimasukkan ke dalam rotary evaporator untuk memperoleh ekstrak kental (Rosmainar, 2021).

Dalam proses ekstraksi ini, langkah delipidasi bertujuan untuk membersihkan ekstrak tanaman dengan menghilangkan senyawa yang tidak diinginkan, seperti lipid. Proses ini penting karena lipid dapat mengganggu isolasi senyawa aktif, menurunkan kemurnian, dan mempengaruhi karakteristik produk akhir. Dengan menggunakan pelarut yang tepat, delipidasi meningkatkan konsentrasi senyawa bioaktif, menghasilkan ekstrak yang lebih berkualitas tinggi, aman, dan stabil untuk aplikasi farmasi dan kosmetik (Adjeng *et al.*, 2023).

2.2.2 Evaluasi Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix D.C*)

Evaluasi ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) terdiri atas beberapa prosedur, yaitu:

1. Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan mengevaluasi ekstrak berdasarkan empat aspek, yakni pengamatan terhadap bentuk dan warna, penilaian terhadap rasa, serta penciuman terhadap aroma ekstrak yang dihasilkan. (Ahmad *et al.*, 2018).

2. Uji Penapisan Fitokimia

Tujuan dari uji penapisan fitokimia adalah untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak tanaman, termasuk golongan senyawanya, dengan menguji langsung pada ekstrak tanaman (Herli *et al.*, 2019)

2.3 Nanoemulsi

Nanoemulsi merupakan teknik formulasi farmasi yang menggabungkan fase air dan fase minyak dengan bantuan surfaktan dan kosurfaktan sebagai stabilisator, dengan ukuran nano. Keunggulan utamanya adalah meningkatkan kelarutan obat-obatan yang bersifat lipofilik, sehingga mempermudah pengiriman obat ke target terapeutik yang dituju.

2.3.1 Komponen nanoemulsi

Dalam formulasi Nanoemulsi terdiri dari tiga penyusun yaitu:

1. Fase minyak

Fase minyak akan memberikan sifat *hydrophobic* kepada nanoemulsi dan mengandung zat aktif bermanfaat atau bahan yang ingin diantarkan atau diemulsikan ke dalam sediaan. (Choi & McClements, 2020)

2. Surfaktan

Fungsi surfaktan dalam nanoemulsi adalah untuk mengurangi tegangan permukaan antara fase minyak dan fase air, sehingga memungkinkan mereka untuk beremulsi. (Al-Hussaniy *et al.*, 2023)

3. Ko-Surfaktan

Fungsi utama ko-surfaktan adalah untuk meningkatkan efek surfaktan dan membantu dalam mengoptimalkan viskositas sistem emulsi dan meningkatkan stabilitasnya (Algahtani *et al.*, 2020).

2.3.2 Metode Pembuatan nanoemulsi

Menurut (Asadinezhad *et al.*, 2019) pembuatan nanoemulsi terbagi menjadi dua yaitu:

1. Metode Energi Tinggi

Sistem nanoemulsi yang dibuat dengan menggunakan perangkat mekanik seperti homogenizer tekanan tinggi, *microfluidizer*, dan *ultrasonicator*. Energi tekanan tinggi yang di terapkan dapat memecah partikel hingga menghasilkan tetesan kecil dengan ukuran nanopartikel.

2. Metode Energi Rendah

sistem nanoemulsi yang terbentuk dari sedikit intensitas pengadukan senyawa kimia. Metode ini dilakukan dengan emulsifikasi inversi fase dan *self-emulsifying* atau emulsi spontan.

2.3.3 Evaluasi nanoemulsi

Berikut Karakterisasi Nanoemulsi menurut (Suryani *et al*, 2019) terdiri atas beberapa prosedur, yaitu :

1. Pengukuran Persen Transmittan: Sampel nanoemulsi diukur persen transmittannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Nilai persen transmittan dihitung berdasarkan intensitas cahaya yang ditransmisikan oleh sampel.
2. Ukuran Partikel: Analisis ukuran partikel dilakukan dengan metode PSA (*Particle Size Analyzer*), termasuk evaluasi indeks *polidispersitas* dan pengukuran potensial zeta. Ini penting untuk mengevaluasi dimensi partikel, distribusi partikel, dan muatan partikel dalam nanoemulsi.
3. Morfologi Sediaan: Analisis visual dilakukan menggunakan mikroskop cahaya. Struktur dan distribusi partikel dalam nanoemulsi diamati dan direkam untuk memahami sifat fisik dan morfologi sediaan nanoemulsi

2.4 Nanoemulgel

Nanoemulgel, sebuah inovasi dalam sistem pengiriman obat, memadukan daya dorong nanoteknologi dengan karakteristik unik gel. Nanoemulsi, yang merupakan komponen utama nanoemulgel, merupakan emulsi dengan partikel-partikel berukuran sangat kecil, seringkali berada dalam kisaran nanometer. Sifat ini memungkinkan nanoemulgel untuk meningkatkan signifikan efisiensi penyerapan bahan aktif oleh kulit, memungkinkan bahan aktif mencapai lapisan yang lebih dalam dengan lebih efektif (Donthi *et al*, 2023).

Sementara itu, gel merupakan bentuk sediaan topikal yang menawarkan keunggulan nyata dalam hal kenyamanan penggunaan. Gel memberikan penyerapan yang cepat, sehingga bahan aktif dapat segera terserap oleh kulit. Selain itu, gel memiliki kemampuan untuk melepaskan bahan aktif secara terkendali, yang sangat diperlukan dalam pengobatan infeksi bakteri (Donthi *et al.*, 2023).

2.4.1 Metode Pembuatan Nanoemulgel

Metode pembuatan nanoemulgel dimulai dengan menyiapkan larutan gel menggunakan bahan pengental, seperti karbomer atau xanthan gum, yang dilarutkan dalam air. Bahan pengental ini memberikan tekstur kental dan stabil pada produk akhir, yang penting untuk memastikan bahwa gel dapat menempel dengan baik pada kulit saat diaplikasikan. Proses pencampuran bahan pengental harus dilakukan dengan hati-hati untuk memastikan bahwa tidak ada gumpalan yang terbentuk, sehingga larutan gel menjadi halus dan siap untuk proses selanjutnya (Donthi *et al.*, 2023).

Setelah larutan gel siap, langkah berikutnya adalah mencampurkan nanoemulsi ke dalam larutan gel tersebut. Nanoemulsi adalah campuran minyak dan air yang memiliki ukuran partikel sangat kecil, sehingga lebih mudah diserap oleh kulit. Pada tahap ini, penting untuk melakukan pengadukan yang cermat agar kedua komponen terdispersi dengan baik dan membentuk campuran yang homogen. Dispersi yang homogen memastikan bahwa nanoemulgel memiliki konsistensi yang merata, dan senyawa aktif terdistribusi secara merata di seluruh gel. Hal ini akan meningkatkan efektivitas dan stabilitas produk, sehingga nanoemulgel siap digunakan dalam berbagai aplikasi, seperti produk perawatan kulit atau terapi topikal (Hussain *et al.*, 2016).

2.4.2 Evaluasi Nanoemulgel

Berikut Karakterisasi Nanoemulgel menurut (Ahmad *et al.*, 2018). terdiri atas beberapa prosedur, yaitu :

Karakterisasi Nanoemulgel terdiri atas beberapa prosedur, yaitu:

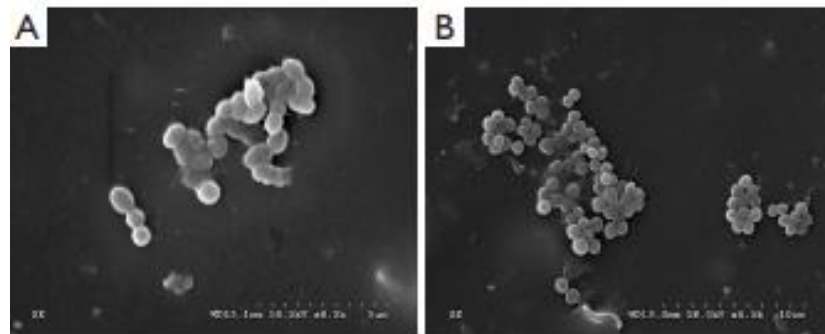
1. Organoleptis dilakukan dengan mengamati bentuk, warna, dan aroma dari sediaan gel untuk mengevaluasi aspek visual dan sensoriknya.
2. Pengujian pH menggunakan kertas indikator universal untuk menentukan tingkat keasaman atau kebasaan sediaan gel.
3. Pengujian daya sebar dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan sediaan gel dalam menyebar secara merata dan efektif pada permukaan yang diinginkan.

2.5 *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis adalah salah satu spesies bakteri yang termasuk dalam kelompok *Staphylococcus*, yang merupakan gram positif dan berbentuk bulat (kokus). Bakteri ini secara alami terdapat pada kulit manusia dan membran mukosa, menjadikannya bagian dari flora normal tubuh. Meskipun sering dianggap sebagai bakteri non-patogenik, *S. epidermidis* dapat berperan sebagai patogen oportunistik, terutama pada individu dengan sistem kekebalan tubuh yang lemah atau yang memiliki perangkat medis implan.

2.5.1 Morfologi

Staphylococcus epidermidis merupakan gram positif dengan bentuk *Coccus* bergerombol menyerupai buah anggur, berdiameter 0,5-1,5 μm , *staphylococcus epidermidis* biasanya berwarna ungu atau biru saat menggunakan pewarnaan gram. Ini menunjukkan bahwa mereka adalah bakteri gram-positif, (Aviany & Pujiyanto, 2020).



Gambar 2. *Staphylococcus epidermidis* (Lei et al., 2021)

2.5.2 Klasifikasi

Tabel 2. Klasifikasi Ilmiah bakteri *Staphylococcus epidermidis* (Lei et al., 2021)

Domain	: <i>Bacteria</i>
Kingdom	: <i>Eubacteria</i>
Phylum	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Bacillales</i>
Famili	: <i>Staphylococcaceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>Staphylococcus epidermidis</i>

2.5.3 Patogenesis

Staphylococcus epidermidis adalah spesies CoNS (*coagulase-negative staphylococci*) yang paling sering ditemui pada kulit manusia dan penyebab utama infeksi CoNS. penelitian terbaru juga mengungkapkan bahwa *Staphylococcus epidermidis* menghasilkan sejenis racun, *phenol-soluble modulins* (PSM) atau dalam bahasa Indonesia modulin larut fenol, yang berpotensi membunuh sel darah merah dan putih manusia, berpotensi berkontribusi terhadap bentuk penyakit yang menjadi lebih agresif (Otto, 2014).

Staphylococcus epidermidis sangat mungkin melakukan kontak dekat dengan *Staphylococcus aureus* dan mentransfer informasi genetik ke patogen tersebut. terdapat bukti yang menunjukkan bahwa faktor yang memfasilitasi patogenesis *Staphylococcus aureus* berasal dari *Staphylococcus epidermidis* (Munawaroh & Khoirunnisa, 2023).

2.6 Antibakteri

Senyawa antibakteri adalah zat kimia yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba seperti bakteri. Mekanisme kerja yang menjadi sasaran senyawa antibakteri melibatkan kerusakan pada dinding sel bakteri, membran sel bakteri, dan elemen lainnya (Pertiwi *et al.*, 2022).

2.6.1 Uji Aktivitas Antibakteri

Metode difusi sumuran adalah pendekatan uji antibakteri yang melibatkan penempatan sampel uji di atas agar yang telah diinokulasi dengan bakteri. Selama proses inkubasi, senyawa dalam sampel akan berdifusi melalui agar dan membentuk zona di mana pertumbuhan bakteri terhambat atau terhenti. Metode ini digunakan karena kemudahan penggunaannya, biaya yang terjangkau, serta kemampuan evaluasi cepat aktivitas antibakteri dan sensitivitas bakteri terhadap senyawa tertentu (Gummuluri *et al.*, 2019).

2.7 Bahan Tambahan

Dalam formulasi produk, pemilihan bahan tambahan merupakan aspek penting yang dapat mempengaruhi stabilitas, tekstur, dan efektivitas akhir dari produk tersebut. Bahan tambahan berfungsi untuk meningkatkan kualitas dan karakteristik fisik produk, serta memastikan bahwa komponen utama dapat berfungsi secara optimal. Pada bagian ini, akan dibahas berbagai bahan tambahan yang digunakan dalam penelitian ini, termasuk sifat dan manfaat masing-masing.

2.7.1 Polysorbate 80 (Tween 80)

Polysorbate 80 adalah bahan yang sangat berguna karena kemampuannya untuk menciptakan dan mempertahankan campuran homogen dari zat-zat yang biasanya tidak dapat bercampur seperti minyak dan air dalam pembuatan emulsi (Riquelme *et al.*, 2019).

2.7.2 Polietilenglikol 400 (PEG 400)

PEG 400 membantu dalam menjaga stabilitas emulsi dengan mencegah minyak dan air untuk memisahkan kembali setelah dicampur dan juga membantu dalam menciptakan tekstur yang baik (Yaghoubi *et al.*, 2015).

2.7.3 Virgin Coconut Oil (VCO)

VCO dapat membantu menjaga stabilitas emulsi dengan cara mencegah minyak dan air untuk memisahkan diri setelah dicampur (Ghaywat *et al.*, 2021). VCO juga bersifat lembab yang dimaksudkan sebagai basis yang baik untuk bahan aktif serta membantu penyerapan yang baik ke dalam kulit (Mulia *et al.*, 2018).

2.7.4 Carbopol 940

Karbopol atau karbomer dipergunakan dalam formulasi farmasi dan kosmetik cair atau semi padat sebagai pengubah reologi serta pengemulsi umur. Karbomer digunakan pada pembuatan emulsi minyak dalam air untuk pemberian eksternal. Formulasi mencakup krim, gel, lotion serta salep. (Rowe, 2009)

2.7.5 Gliserin

Dalam formulasi farmasi topikal dan kosmetik, gliserin digunakan terutama karena sifat humektan dan emoliennya. Gliserin juga digunakan dalam gel *aqueous* dan *non-aqueous* (Rowe, 2009).

2.7.6 Propilen Glikol

Propilen Glikol adalah pelarut umum yang lebih baik daripada gliserin dan melarutkan berbagai macam bahan, seperti kortikosteroid, fenol, obat sulfa, barbiturat, vitamin (A dan D), sebagian besar alkaloid, dan banyak anestesi local (Rowe, 2009).

2.7.7 Metil Paraben dan Propil Paraben

Formulasi farmasi topikal dan kosmetik, gliserin digunakan terutama karena sifat humektan dan emoliennya. gliserin juga digunakan dalam gel *aqueous* dan *non-aqueous* (Rowe, 2009)

2.7.8 Aquadest

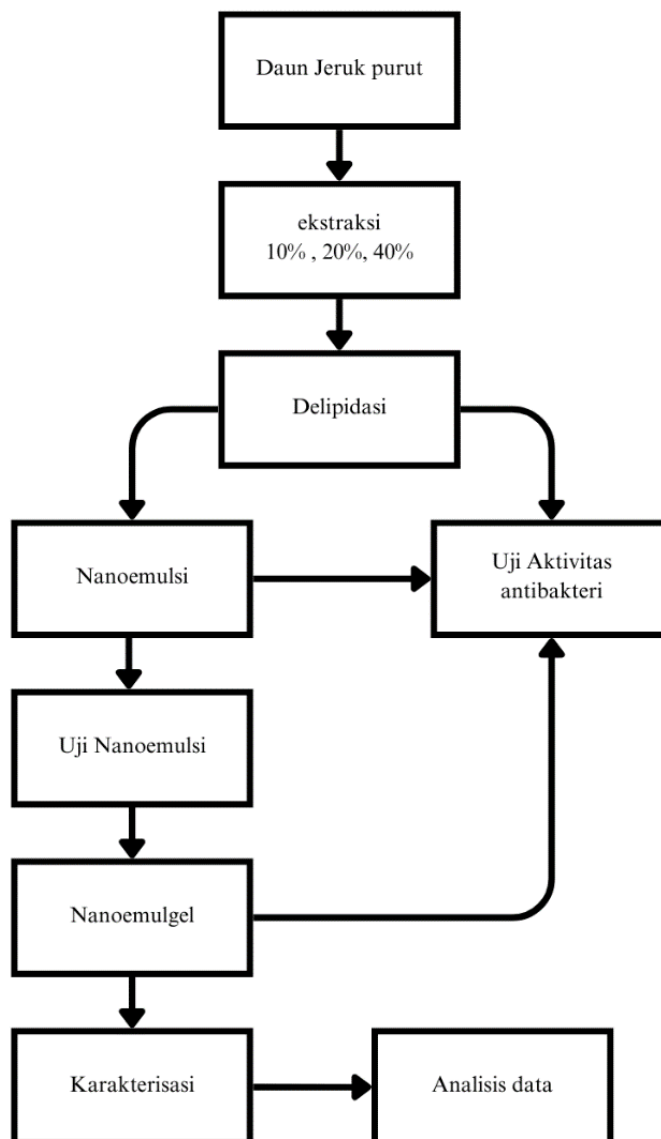
Aquadest adalah air yang telah melewati proses destilasi, yang minim kontaminan dan mineral lainnya. Ini menjadikan aquadest menjadi air murni dan bebas dari zat-zat yang dapat mempengaruhi stabilitas produk (Husni *et al.*, 2020).

2.8 Kerangka Teori

Tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix*) berpotensi sebagai antibakteri dan alternatif untuk mengatasi resistensi antibiotik (Rosmalawati *et al.*, 2022). Ekstrak daun jeruk purut mengandung flavonoid yang efektif melawan berbagai jenis bakteri (Indriyani *et al.*, 2022).

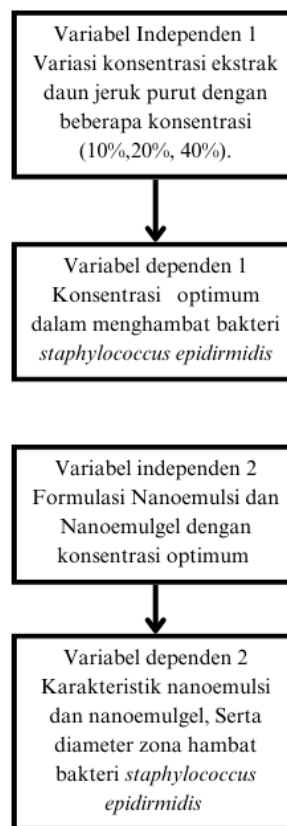
Nanoemulsi gel adalah pilihan yang baik sebagai antibiotik kulit karena nanopartikel dalam sediaan ini memiliki kemampuan penetrasi tinggi ke lapisan *epidermidis* kulit, meningkatkan bioavailabilitas zat aktifnya, selain itu, sediaan gel memiliki beberapa keunggulan, seperti tidak lengket, mudah diformulasikan tanpa memerlukan energi besar, stabil, dan memiliki tampilan yang menarik (Setiawati *et al.*, 2021).

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dalam formulasi nanoemulgel sebagai agen antibakteri yang efektif terhadap *Staphylococcus epidermidis*, dengan mempertimbangkan keunggulan teknologi nanoemulsi yang mampu meningkatkan bioavailabilitas dan penetrasi zat aktif ke dalam lapisan epidermis kulit.



Gambar 3. Kerangka teori (Rahman *et al.*, 2023; Siregar *et al.*, 2020; Choi & McClements, 2020)

2.9 Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

2.10 Hipotesis

2.10.1 Hipotesis Null (H0)

Formula nanoemulgel ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) tidak dapat diformulasikan dalam bentuk sediaan nanoemulgel. Sehingga tidak memenuhi karakteristik persyaratan sediaan nanoemulgel dan tidak memiliki diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus epidermidis*.

2.10.2 Hipotesis Alternatif (H1)

Formula nanoemulgel ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dapat diformulasikan dalam bentuk sediaan nanoemulgel. Formula optimum hasil formulasi nanoemulgel ekstrak daun jeruk purut memenuhi karakteristik persyaratan sediaan nanoemulgel dan memiliki diameter zona hambat terhadap *Staphylococcus epidermidis*.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental yang menggunakan ekstrak etanol dari daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*). Ekstrak tersebut diformulasikan dalam bentuk sediaan nanoemulsi dan selanjutnya diformulasikan menjadi nanoemulgel untuk bertindak sebagai agen antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* menggunakan metode nanoemulsi energi rendah. Selain itu, karakteristik nanoemulsi dan karakteristik fisik dari sediaan nanoemulgel juga diuji.

3.2 Tempat Dan Waktu penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di beberapa tempat yang dapat menunjang rangkaian kegiatan penelitian yang dilakukan, yaitu:

1. Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung merupakan tempat untuk melakukan determinasi tanaman daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dan uji morfologi nanoemulsi.
2. Laboratorium Farmasetika dan Teknologi Formulasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung tempat dilaksanakannya proses maserasi, delipidasi, memformulasikan sediaan, serta uji karakteristik sediaan nanoemulgel daun jeruk purut.

3. Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung sebagai tempat pelaksanaan proses evaporasi ekstrak daun jeruk purut.
4. Laboratorium Kimia Analisis Fakultas Kedokteran Universitas Lampung menjadi tempat dilaksanakannya skrining fitokimia pada ekstrak kental dan ekstrak delipidasi.
5. Laboratorium Biokimia Biologi Molekuler dan Fisiologi Analisis Fakultas Kedokteran Universitas Lampung menjadi tempat dilaksanakannya formulasi nanoemulsi daun jeruk purut.
6. Laboratorium Kesehatan Daerah (Labkesda) Provinsi Lampung untuk melakukan uji Aktivitas antibakteri *staphylococcus epidermidis*
7. Laboratorium Nanosains dan Teknologi Institut Teknologi Bandung sebagai tempat untuk melakukan karakterisasi nanoemulsi daun jeruk purut.

3.3 Bahan Uji Penelitian

Dalam penelitian ini, pemilihan bahan uji merupakan langkah krusial yang bertujuan untuk mengevaluasi potensi ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC*) terhadap mikroba *Staphylococcus epidermidis*. Bahan uji terdiri dari sumber alami yang diharapkan memiliki aktivitas antimikroba dan mikroba uji yang relevan untuk mendapatkan data yang akurat dan berharga.

3.3.1 Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix DC*)

Daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) yang digunakan dalam penelitian ini didapat dari desa Beringin, kecamatan Abung Kunang, Lampung Utara, Lampung.

3.3.2 Mikroba Uji

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus epidermidis*, yang didapat dari Unit Pelayanan Terpadu Daerah Balai Laboratorium Kesehatan Daerah (Labkesda) Provinsi Lampung, sebagaimana dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

3.3.3 Media Uji

Media uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah MHA (*Mueller Hinton Agar*) yang didapat dari Unit Pelayanan Terpadu Daerah Balai Laboratorium Kesehatan Daerah (Labkesda) Provinsi Lampung.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

3.4.1 Variabel Independen

Variabel independen dalam penelitian terdiri dari dua variabel yaitu rancangan formula nanoemulgel ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dengan tiga konsentrasi berbeda dan uji aktivitas antibakteri formula sediaan nanoemulgel ekstrak daun jeruk purut untuk mendapatkan diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

3.4.2 Variabel Dependen

Variabel dependen dari rancangan formula nanoemulgel ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) adalah formula optimum. Sedangkan variabel dependen dari uji aktivitas antibakteri formula sediaan nanoemulgel ekstrak daun jeruk purut adalah diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*.

3.5 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3. Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi	Cara ukur	Hasil	Skala
Ekstrak kulit daun jeruk purut (<i>Citrus hystrix D.C</i>)	Ekstrak antibakteri adalah senyawa alami yang dapat menghambat atau membunuh bakteri. (Wulandari <i>et al.</i> , 2019)	Warna: Gunakan spektrofotometer atau penilaian visual dengan standar warna. Aroma: Dinilai oleh panel sensori terlatih. Tekstur: Ukur dengan viskometer untuk menentukan tingkat kekentalan. (Wulandari <i>et al.</i> , 2019)	Warna: Hijau gelap atau coklat tua. Aroma: Kuat, khas, dan pahit. Tekstur: Cairan kental. (Wulandari <i>et al.</i> , 2019)	Ordinal
Sediaan nanoemulsi ekstrak kulit buah jeruk purut (<i>Citrus hystrix D.C</i>)	Nanoemulsi adalah dispersi tetesan minyak berukuran nano dalam fase air atau cairan lainnya. (Wilson <i>et al.</i> , 2022)	Evaluasi formula berupa Partikel Nano, persen transmittan, zeta potensial, indeks polidispersitas, dan morfologi. (Souto <i>et al.</i> , 2022)	nanoemulsi berkisar antara 20 hingga 200 nm, dengan nanoemulsi ultrafine memiliki partikel di bawah 100 nm (Souto <i>et al.</i> , 2022)	Numerik

Variabel	Definisi	Cara ukur	Hasil	Skala
Sediaan nanoemulgel ekstrak kulit buah jeruk purut (<i>Citrus hystrix D.C</i>)	Nanoemulsi gel adalah sistem yang menggabungkan nanoemulsi dan gel untuk aplikasi topikal dengan peningkatan penetrasi bahan aktif. (Mandal & Vishvakarma, 2023)	Organoleptis Pengujian pH Dan Pengujian Daya Sebar (Khalifa <i>et al.</i> , 2023).	Organoleptis : mengamati bentuk, warna, dan bau dari sediaan gel. Pengujian pH : dilakukan menggunakan kertas indikator universal. Pengujian (Khalifa <i>et al.</i> , 2023)	Numerik
Diameter zona hambat pertumbuhan <i>Staphylococcus epidermidis</i> bakteri	Daerah bening pada media uji menandakan tidak ada pertumbuhan bakteri (Pertiwi <i>et al.</i> , 2022)	Dengan menggunakan Jangka Sorong (Pertiwi <i>et al.</i> , 2022)	<5 mm: Lemah 6-10 mm: Sedang 11-20 mm: Kuat > 21 mm: Sangat kuat (Pertiwi <i>et al.</i> , 2022)	Ordinal

3.6 Alat dan Bahan

Pada penelitian ini, berbagai alat dan bahan diperlukan untuk mencapai tujuan eksperimen yang telah ditentukan. Alat-alat yang digunakan memiliki peran penting dalam memastikan proses pengujian berjalan dengan baik dan hasil yang diperoleh akurat. Selain itu, pemilihan bahan yang tepat juga merupakan faktor kunci dalam eksperimen ini, untuk menjamin keandalan data yang dihasilkan. Berikut adalah rincian mengenai alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini.

3.6.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah aluminium foil (Klinpak®), autoclave (GEA®), beaker glass (Iwaki®), blender (Phillips®), cawan penguap (Pyrex®), cawan petri (Pyrex®), corong pisah (Pyrex®), gelas ukur (Iwaki®), handscoon (Sensi Glove®), jarum ose (MICO®), jangka sorong digital, kamera mikroskop OptiLab (MICONOS®), laminar air flow (Thermo Scientific®), magnetic stirrer, masker medis (Altamed®), mikropipet (Socorex®), mikroskop optik (Olympus®), nephelometer (Fisher®), oven (Mettler®), inkubator (Mettler®), *particle size analyzer* (Horiba Sz 100z®), pH meter strip, pinset (Onemed®), pipet tetes, pipet volume (Iwaki®), rak dan tabung reaksi (Iwaki®), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu®), timbangan analitik (Shimadzu®), timbangan digital, toples kaca, *vacuum rotary evaporator* (IKA®), vortex (BIOSAN®), dan yellow tip (Onemed®).

3.6.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C), kultur bakteri *Staphylococcus epidermidis*, etanol 96% (JK Care®), aquadest (Water One®), n-heksan (Pallav®), media MHA (Merck®), NaCl 0,9% (Merck®), kapas steril (Onemed®), clindamycin, virgin coconut oil (Safiya®), polietilen glikol 400 (PEG 400) (Brataco®), Tween 80 (Polysorbate 80) (Brataco®), propilparaben (Brataco®), metil paraben, propilen glikol (Brataco®), gliserin, dan Carbopol 940.

3.7 Prosedur

Dalam penelitian ini, serangkaian prosedur dilakukan untuk mengevaluasi potensi ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) sebagai agen antibakteri. Prosedur yang diuraikan di bawah ini mencakup pembuatan ekstrak etanol, skrining fitokimia, uji aktivitas antibakteri, pembuatan nanoemulsi, dan karakterisasi nanoemulsi serta nanoemulgel. Setiap langkah dirancang untuk memastikan bahwa ekstrak yang dihasilkan berkualitas tinggi dan efektif dalam aplikasinya.

3.7.1 Pembuatan Ekstrak Etanol dan Ekstrak Delipidasi

Prosedur pembuatan ekstrak dilakukan selama 3 x 24 jam menggunakan 500 gram simplisia daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*), dimaserasi secara kinetik menggunakan larutan etanol 96%. Perhari larutan diganti, dimana setiap pergantian menggunakan 2,5 liter etanol 96%. Filtrat disaring kemudian pelarut diuapkan menggunakan *vaccum rotary evaporator* bersuhu 60 Celcius dengan kecepatan 80 rpm selama 60 menit hingga diperoleh ekstrak kental.

Lalu di delipidasi dilakukan dengan pelarutan ekstrak dengan 250 etanol dan n-heksan dengan perbandingan 1:1 proses dilakukan hingga 3 kali lalu pelarut diuapkan menggunakan *vaccum rotary evaporator* seperti yang belum di delipidasi (Christian., 2022)

3.7.2 Skrining Fitokimia

Untuk mengetahui kandungan senyawa fitokimia dalam ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*), dilakukan serangkaian uji skrining. Uji ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan senyawa bioaktif, seperti alkaloid, fenol, flavonoid, saponin, tanin, dan triterpenoid, yang berperan penting dalam aktivitas antibakteri.

Dengan melakukan uji ini, diharapkan dapat diperoleh pemahaman yang lebih baik mengenai potensi ekstrak sebagai agen terapeutik. Berikut adalah penjelasan mengenai prosedur dan hasil dari masing-masing uji (Pranata., 2024).

1. Uji Alkaloid:

Langkah: Tambahkan 0,5 gram sampel ke dalam tabung. Teteskan 5 tetes kloroform dan 5 tetes pereaksi Mayer.

Hasil: Jika larutan berubah menjadi putih kecoklatan, alkaloid hadir dalam sampel.

2. Uji Fenol:

Langkah: Masukkan 5 mL aquadest ke dalam 0,5 gram ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dan dipanaskan selama 10 menit. Saring dalam keadaan masih panas. Setelah didiamkan dan filtrat menjadi dingin, tambahkan FeCl₃ sebanyak 1,5 tetes.

Hasil: Positif jika larutan berubah warna menjadi hijau kebiruan, ungu, atau hitam pekat.

3. Uji Flavonoid:

Langkah: Campur 0,5 gram sampel dengan 0,5 gram serbuk Mg dan 5 ml HCl pekat.

Hasil: Positif jika larutan berubah menjadi merah atau kuning dengan timbulnya busa.

4. Uji Saponin:

Langkah: Campur 0,5 gram sampel dengan 2,5 ml aquadest dan kocok selama 30 detik.

Hasil: Positif jika terbentuk busa yang stabil selama 10 menit.

5. Uji Tanin:

Langkah: Tambahkan 0,5 gram sampel dengan 1 tetes larutan FeCl₃ 10%.

Hasil: Positif jika larutan berwarna hitam kebiruan.

6. Uji Triterpenoid:

Langkah: Tambahkan 1 gram ekstrak dengan 5 tetes CH₃COOH glasial dan 1 ml H₂SO₄ pekat.

Hasil: Positif jika larutan berubah warna menjadi merah atau ungu (Harborne, 1987).

3.7.3 Uji Aktivitas Antibakteri ekstrak

Pembuatan media untuk bakteri, pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dimulai dengan cara di timbang media sebanyak 8,4 gram dan lalu dilarutkan dalam labu erlenmeyer dengan pelarut aquadest dengan volume 300 ml, kemudian dihomogenkan dengan cara pemanasan. Media disterilisasi dengan memakai autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan untuk membiakan dan meremajakan bakteri, dengan cara menginokulasikan 1 ose biakan murni bakteri *Staphylococcus epidermidis* dalam tabung berisi 2 mL larutan NaCl 0,9% hingga mencapai kekeruhan yang sesuai dengan standar kekeruhan 0,5 McFarland.

Langkah Pengujian anti bakteri sebagai berikut :

1. Bakteri yang telah diolah dituangkan ke dalam cawan petri yang sudah diisi dengan media *Mueller Hinton Agar* (MHA), dan dihomogenkan dengan mengguncangnya hingga merata
2. Buat 5 lubang sumuran menggunakan microtip dengan diameter 6 mm setelah itu. Pada lubang ke 1, 2, dan 3 masing-masing diisi 50µL ekstrak dengan konsentrasi 10%, 20%, dan 40%. Kemudian untuk lubang ke 4 merupakan kontrol positif, yaitu clindamycin sebanyak 50µL. Pada lubang ke 5 merupakan kontrol negatif, yaitu aquadest 50µL.
3. Dalam langkah berikutnya, cawan petri yang berisi sampel diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 Celcius.

4. Setelah inkubasi, zona terang (*clear zone*) yang terbentuk di sekitar lubang pada media diamati dan diukur dengan menggunakan jangka sorong.
5. diamati dan diukur dengan menggunakan jangka sorong ditentukan konsentrasi optimum untuk membuat sediaan.
6. Setelah sediaan dibuat dilakukan pengujian seperti diatas, dengan menggunakan sediaan. Pada lubang ke 1 dan 2 masing-masing diisi 50 μ L nanoemulsi dan larutan nanoemulgel. Kemudian untuk lubang ke 3 merupakan kontrol positif, yaitu clindamycin sebanyak 50 μ L. Pada lubang ke 4 dan 5 merupakan kontrol negatif, yaitu basis sediaan 50 μ L (Pertiwi *et al.*, 2022)

3.7.4 Pembuatan Nanoemulsi

Rancangan formula dibuat berdasarkan sumber literatur yang menghasilkan formula terbaik.

Tabel 4. Formula Acuan Nanoemulsi (Setiawati *et al.*, 2021)

No	Bahan	Formula Acuan
1	Ekstrak Temulawak	0,5 %
2	Tween 80	6 ml
3	PEG 400	1 ml
3	Minyak ikan cucut botol	1 ml
4	Aquadest	Ad 100 ml

Tabel 5. Formula Modifikasi Nanoemulsi

No	Bahan	Formula Acuan
1	Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix D.C</i>)	X %
2	Tween 80	6 %
3	PEG 400	1 %
4	VCO	1 %
5	Aquadest	Ad 100 ml

Langkah pembuatan nanoemulsi sebagai berikut :

1. Siapkan fase 1 dengan mencampurkan ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) ke dalam virgin coconut oil (VCO) sebagai fase minyak. Homogenkan campuran menggunakan vortex dengan kecepatan 1500 rpm.
2. Persiapkan fase 2 yang terdiri dari Tween 80 (surfaktan) dan PEG 400 (kosurfaktan). Tambahkan fase 2 ke dalam campuran fase minyak (fase 1) yang sudah terbentuk di vortex.
3. Lanjutkan homogenisasi menggunakan vortex hingga fase 1 dan fase 2 tercampur dengan baik.
4. Secara perlahan, tambahkan aquadest ke dalam campuran SNEDDS (*Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System*) secara bertahap. Amati visualnya untuk memastikan bahwa SNEDDS telah terhomogenisasi dengan baik. (Naseema *et al.*, 2021)

Pengamatan nanoemulsi dilaksanakan untuk menilai efektivitas formula ekstrak dalam menghasilkan nanoemulsi (Majeed *et al.*, 2019)

3.7.5 Karakterisasi Nanoemulsi

Karakterisasi nanoemulsi merupakan langkah penting untuk mengevaluasi sifat fisik dan kimia dari sediaan yang dihasilkan. Proses ini membantu memastikan bahwa nanoemulsi memiliki ukuran partikel yang sesuai, distribusi yang merata, serta stabilitas yang baik. Berikut adalah langkah-langkah yang dilakukan dalam karakterisasi nanoemulsi:

1. Pengukuran Persen transmittan: Proses dimulai dengan pengukuran persen transmittan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Sampel nanoemulsi dipersiapkan dalam wadah transparan yang sesuai dan ditempatkan di dalam spektrofotometer. Kemudian, pada panjang gelombang yang telah ditentukan, transmittan sampel diukur.

Nilai persen transmittan dihitung berdasarkan intensitas cahaya yang ditransmisikan oleh sampel. rumus sederhana: Persen Transmittan (%) = $(\text{Intensitas Transmisi} / \text{Intensitas Awal}) \times 100$

2. Ukuran Partikel : Analisis komprehensif terhadap ukuran partikel dilaksanakan melalui penggunaan metode PSA (*Particle Size Analyzer*), evaluasi indeks *polidispersitas*, dan pengukuran potensial zeta. Pendekatan ini bertujuan untuk menilai dimensi sebenarnya dari partikel, konsistensi distribusi partikel dalam sediaan, serta muatan partikelnya. Hal ini memungkinkan pemahaman mendalam terhadap kualitas fisikokimia sediaan, yang berperan krusial dalam mempertahankan stabilitas sistem nanoemulsi
3. Morfologi sediaan: Langkah terakhir adalah analisis visual menggunakan mikroskop cahaya. Sampel nanoemulsi diletakkan di bawah mikroskop, dan lensa optilab ditambahkan untuk menghubungkannya ke kamera yang kemudian disalurkan ke laptop untuk analisis lebih lanjut .

Struktur dan distribusi partikel dalam nanoemulsi diamati dan direkam menggunakan mikroskop, yang memungkinkan pemahaman yang lebih mendalam tentang sifat fisik dan morfologi nanoemulsi yang dikarakterisasi (Suryani *et al*, 2019).

3.7.6 Pembuatan Nanoemulgel

Rancangan formula dibuat berdasarkan sumber literatur yang menghasilkan formula terbaik

Tabel 6. Formulasi Nano Emulgel dengan acuan (Setiawati *et al.*, 2021) yang telah di Modifikasi

No	Bahan	Formula Acuan (%)	Fungsi
1	Nanoemulsi Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix D.C</i>)	10	Antibakteri (Siregar <i>et al.</i> , 2020)
2	Carbopol 940	1	Gelling Agent (Rowe, 2009)
3	Gliserin	5	Gel Vehicle (Rowe, 2009)
4	Propilen Glikol	15	Humectan, Solvent/Cosolvent (Rowe, 2009)
5	Metil Paraben	0,2	Pengawet (Rowe, 2009)
6	Propil Paraben	0,05	Pengawet (Rowe, 2009)
7	Aquadest	Ad 100	Pelarut (Husni <i>et al.</i> , 2020)

1. Siapkan fase gel dengan mencampurkan Carbopol 940 dengan aquadest. Aduk secara perlahan agar Carbopol larut dan membentuk gel yang kental dan transparan.
2. Tambahkan gliserin, Propilen Glikol, metil paraben, dan propil paraben ke dalam gel yang telah terbentuk.
3. Campurkan nanoemulsi yang telah dibuat pada gel yang telah dibuat. Aduk secara perlahan namun merata untuk mengintegrasikan nanoemulsi ke dalam gel secara homogen. (Naseema *et al.*, 2021).

3.7.7 Karakterisasi Nanoemulgel

Karakterisasi nanoemulgel adalah langkah penting dalam penelitian ini untuk mengevaluasi sifat fisik dan kimia dari formulasi yang dihasilkan. Nanoemulgel, yang merupakan kombinasi antara nanoemulsi dan gel, dirancang untuk meningkatkan kelarutan dan stabilitas zat aktif yang sulit larut.

Proses karakterisasi ini mencakup pengukuran ukuran partikel, distribusi ukuran, viskositas, dan pH, yang semuanya berkontribusi pada efektivitas dan keamanan formulasi. Dengan memahami karakteristik ini, diharapkan dapat dikembangkan formulasi yang optimal untuk aplikasi penghantaran obat yang lebih baik.

1. Organoleptis

Organoleptis dilakukan dengan mengamati bentuk, warna, dan bau dari sediaan gel.

2. Pengujian pH

Pengujian pH dilakukan menggunakan kertas indikator universal. Selanjutnya, pH meter dimasukkan ke dalam sediaan, didiamkan beberapa saat sampai terdapat perubahan warna pada kertas pH, dan hasilnya dicocokkan pada pH indikator universal. pH yang baik untuk sediaan gel berada pada rentang pH kulit 4,5-6,5..

3. Pengujian Daya Sebar

Pengujian Daya Sebar dilakukan dengan cara sebanyak 0,5 g sediaan gel diletakkan di atas kaca dan ditumpu dengan kaca lain di atas sediaan gel, kemudian ditambahkan beban seberat 50 g dan didiamkan selama 1 menit. Setelah itu, diameter gel diukur. Daya sebar gel yang baik terletak pada rentang 5-7 cm.. (Ahmad *et al.*, 2018).

3.8 Analisis Data

Dalam penelitian ini, analisis statistik dilakukan untuk menentukan konsentrasi maksimal ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) yang akan diuji, yaitu konsentrasi 10%, 20%, dan 40%, terhadap kemampuan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis*. Hasil data dievaluasi menggunakan uji Shapiro-Wilk untuk menilai distribusi data, apakah normal atau tidak, serta uji Levene untuk memeriksa homogenitas data. Jika data terbukti terdistribusi normal dan homogen, maka analisis dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*.

Apabila ditemukan perbedaan signifikan, dilakukan uji lanjutan Post Hoc LSD untuk mengetahui perbandingan antar kelompok. Namun, jika data tidak memenuhi kriteria normalitas dan homogenitas, uji Kruskal-Wallis digunakan sebagai alternatif. Hipotesis dianggap signifikan jika nilai $p < 0,05$ dan dianggap tidak signifikan jika nilai $p > 0,05$. Semua analisis data ini dilaksanakan menggunakan perangkat lunak SPSS versi 25 (Chandra *et al.*, 2022).

Setelah menemukan formula yang terbaik untuk memberikan daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*, dilakukan karakterisasi, Ini bertujuan untuk menilai aktivitas nanoemulsi ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*).

Selanjutnya, formula yang terbaik untuk memberikan daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* diformulasikan menjadi bentuk nanoemulgel, dikarakterisasi dan di uji aktivitas antibakteri kembali pada *Staphylococcus epidermidis* dengan menggunakan analisis statistik yang sama seperti uji pendahuluan, kemudian akan dianalisis untuk menilai kategori aktivitas nya.

3.9 Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik penelitian (*ethical clearance*) dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

BAB V

KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

1. Daya hambat ekstrak paling optimal di dapat pada konsentrasi 10% pada ekstrak yang terdelipidasi.
2. Formula nanoemulgel ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) berhasil diformulasikan dengan efektif dalam bentuk sediaan nanoemulgel.
3. Diameter zona hambat menunjukkan bahwa nanoemulgel ekstrak daun jeruk purut memiliki potensi sebagai agen antimikroba yang efektif.
4. Sediaan gel ini memiliki tiga karakteristik utama. Pertama, warnanya hijau yang agak keruh. Kedua, baunya samar-samar aroma daun jeruk purut. Ketiga, bentuk gelnya semi padat, yang tidak terlalu kental maupun terlalu cair.

5.2 Saran

1. Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut terhadap variasi campuran dalam formula nanoemulgel ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC*) agar dapat menghasilkan formulasi yang optimal. Hal ini dapat menjadi kontribusi dalam pengembangan pengetahuan.
2. Disarankan untuk melakukan penelitian lebih lanjut terhadap efektivitas nanoemulgel ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC*) dalam aktivitas antibakteri, antioksidan, antikanker, dan aspek lainnya yang relevan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adjeng, A. N. T., Sarry, E. P., & Ali, N. F. M. (2023). Hair growth-promoting activity of hair tonic containing delipidated ethanol extract of *Capsicum frutescens* L. leaves on male rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 16(7), 3305–3310.
- Ahmad, J., Gautam, A., Komath, S., Bano, M., Garg, A., & Jain, K. (2018). Topical Nano-emulgel for Skin Disorders: Formulation Approach and Characterization. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 14(1), 36–48. <https://doi.org/10.2174/1574891x14666181129115213>
- Algahtani, M. S., Ahmad, M. Z., & Ahmad, J. (2020). Nanoemulgel for improved topical delivery of retinyl palmitate: Formulation design and stability evaluation. *Nanomaterials*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/nano10050848>
- Al-Hussaniy, H. A., Almajidi, Y. Q., Oraibi, A. I., & Alkarawi, A. H. (2023). Nanoemulsions as medicinal components in insoluble medicines. *Pharmacia*, 70(3), 537–547. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e107131>
- Ali, A., Ali, A., Rahman, M. A., Warsi, M. H., Yusuf, M., & Alam, P. (2022). Development of Nanogel Loaded with Lidocaine for Wound-Healing: Illustration of Improved Drug Deposition and Skin Safety Analysis. *Gels*, 8(8). <https://doi.org/10.3390/gels8080466>
- Anand, K., Ray, S., Rahman, M., Shaharyar, A., Bhowmik, R., Bera, R., & Karmakar, S. (2019). Nano-emulgel: Emerging as a Smarter Topical Lipidic Emulsion-based Nanocarrier for Skin Healthcare Applications. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 14(1), 16–35. <https://doi.org/10.2174/1574891x14666190717111531>
- Anggita, D., Nurisyah, S., & Wiriansya, E. P. (2022). Mekanisme Kerja Antibiotik: Review Article. *UMI Medical Journal*, 7(1), 46–58. <https://doi.org/10.33096/umj.v7i1.149>
- Asadinezhad, S., Khodaiyan, F., Salami, M., Hosseini, H., & Ghanbarzadeh, B. (2019). Effect of different parameters on orange oil nanoemulsion particle size: Combination of low energy and high energy methods. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(4), 2501–2509.

- Asiri, A. M., Inamuddin, & Mohammad, A. (2019). Applications of Nanocomposite Materials in Dentistry. *Applications of Nanocomposite Materials in Dentistry*, 9(2), 1–349. <https://doi.org/10.1016/C2016-0-05060-X>
- Chabi, R., & Momtaz, H. (2019). Virulence factors and antibiotic resistance properties of the *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from hospital infections in Ahvaz, Iran. *Tropical Medicine and Health*, 47(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s41182-019-0180-7>
- Chandra, V. E., Yanti, S. N., Mardhia, M., & Mahyarudin, M. (2022). Uji aktivitas antibakteri air perasan jeruk sambal (*Citrus microcarpa* Bunge) terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. *Majalah Kedokteran Andalas*, 45(2), 134–143.
- Choi, S. J., & McClements, D. J. (2020). Nanoemulsions as delivery systems for lipophilic nutraceuticals: strategies for improving their formulation, stability, functionality and bioavailability. *Food Science and Biotechnology*, 29(2), 149–168. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00731-4>
- Christian, Y. E., Rahmat, D., & Farida, Y. (2022). Formulasi nanoemulgel ekstrak daun cantigi (*Vaccinium varingiaefolium* Miq.) sebagai antioksidan. *Majalah Farmasetika*, 7(5), 478–493.
- Danaei, M., Dehghankhold, M., Ataei, S., Hasanzadeh 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), 1–17. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10020057>
- Donthi, M. R., Munnangi, S. R., Krishna, K. V., Saha, R. N., Singhvi, G., & Dubey, S. K. (2023). Nanoemulgel: A Novel Nano Carrier as a Tool for Topical Drug Delivery. *Pharmaceutics*, 15(1), 1–28. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15010164>
- Erliani, D., Sari, M., Purno Yudanti, G., Fitrianiingsih, S., Hidayati, R., & Zahro, D. F. (2024). Variasi Guar Gum Dan Karbopol 940 Sebagai Gelling Agent Terhadap Uji Sifat Fisik Dan Kimia Sediaan Gel Ekstrak Etanol 96% Buah Salak (*Salacca Zalacca*). *Cendekia Journal Of Pharmacy*, 8(1), 2599–2155. <Http://Cjp.Jurnal.Stikescendekiautamakudus.Ac.Id>
- Goel, R., Bhardwaj, S., & Bana, S. (2023). Pharmaceutical excipients. Dosage Forms, Formulation Developments and Regulations: Recent and Future Trends in *Pharmaceutics*, Volume 1, 1, 311–348. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91817-6.00003-6>
- Herli, M. A., & Wardaniati, I. (2019). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Ketapang yang Tumbuh di Sekitar Univ. Abdurrab, Pekanbaru. *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)*, 2(2), 38–42. <https://doi.org/10.36341/jops.v2i2.1024>

- Husni, E., Ismed, F., & Afriyandi, D. (2020). Standardization study of simplicia and extract of calamondin (*Citrus microcarpa bunge*) peel, quantification of hesperidin and antibacterial assay. *Pharmacognosy Journal*, 12(4), 777–783. <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.111>
- Hussain, A., Samad, A., Singh, S. K., Ahsan, M. N., Haque, M. W., Faruk, A., & Ahmed, F. J. (2016). Nanoemulsion gel-based topical delivery of an antifungal drug: In vitro activity and in vivo evaluation. *Drug Delivery*, 23(2), 652–667. <https://doi.org/10.3109/10717544.2014.933284>
- Illiyyin Akib, N., Saraswati Hendra, N., Eka Purnama Putri, A., Indradewi Armadhani, F., Nafisah Tendri Adjeng, A., & Mahmudah, Atul. (2021). [45] Akib, N. I., Hendra, N. S., Putri, A. E., Armadhani, F. I., Adjeng, A. N., & Mahmudah, R. (2021). Preparasi Fitosom Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Sebagai Antioksidan. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*, Vol. 3 No. 3, 393-404. *Jfsp*, 7(3), 2579–4558. [Http://Journal.Ummgl.Ac.Id/Index.Php/Pharmacy](http://Journal.Ummgl.Ac.Id/Index.Php/Pharmacy)
- Inda Setiawati, M., Issusilaningtyas, E., & Setiyabudi, L. (2021). Optimasi Formula Nanoemulsi Gel Ekstrak Buah Bakau Hitam (*Rhizophora mucronatalamk.*) Dengan Variasi Gelling Agent HPMC, Carbopol 940 Dan Viscolam Mac 10. *Jurnal Ilmiah JOPHUS: Journal Of Pharmacy UMUS*, 2(02), 50–61. <https://doi.org/10.46772/jophus.v2i02.431>
- Jha, A. K., & Sit, N. (2022). Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 579–591.
- Khalifa, N. E., Abdallah, M. H., Elghamry, H. A., Khojali, W. M. A., Khafagy, E. S., El-Sayed El-Horany, H., & Shawky, S. (2023). Development of Tea Tree Oil Based Nanoemulgel Loaded with Azithromycin for Enhancing the Antibacterial Activity. *Processes*, 11(6), 1–13. <https://doi.org/10.3390/pr11061836>
- Kimia, J., Kimia, P., Aktif, Z. A. T., & Sabun, P. (2022). *SPIN*. 4(100), 23–36. <https://doi.org/10.20414/spin.v4i1.4801>
- Lei, Y., Xu, Y., Jing, P., Xiang, B., Che, K., Shen, J., ... & Huang, Y. (2021). The effects of TGF- β 1 on *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation in a tree shrew biomaterial-centered infection model. *Annals of Translational Medicine*, 9(1)
- Liew, S. N., Utra, U., Alias, A. K., Tan, T. B., Tan, C. P., & Yussof, N. S. (2020). Physical, morphological and antibacterial properties of lime essential oil nanoemulsions prepared via spontaneous emulsification method. *LWT*, 128, 109388.
- Majeed, A., Bashir, R., Farooq, S., & Maqbool, M. (2019). Preparation,

- Characterization and Applications of Nanoemulsions: An Insight. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 9(2), 520–527. <https://doi.org/10.22270/jddt.v9i2.2410>
- Mandal, S., & Vishvakarma, P. (2023). Future Aspects And Applications Of Nanoemulgel Formulation For Topical Lipophilic Drug Delivery. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 10(01), 2023.
- Mardikasari, S. A., A. N., T. A. M., W. O., S. Z., & E. J. (2017). Formulasi dan Uji Stabilitas Lotion dari Ekstrak Etanol Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Sebagai Antioksidan. *Jurnal Farmasi*, 3(2), 28–32.
- Marwarni, R., & Dalimunthe, G. I. (2022). Formulasi Foot Spray Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix* D.C.) Sebagai Penghilang Bau Kaki Serta Uji Aktivitas Antibakteri. *Farmasainkes: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 1(2), 90–99. <https://doi.org/10.32696/Fjfsk.V1i2.1103>
- McClements, D. J. (2021). Advances in edible nanoemulsions: Digestion, bioavailability, and potential toxicity. *Progress in Lipid Research*, 81(December 2020), 101081. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2020.101081>
- McClements, D. J. (2021). Advances in edible nanoemulsions: Digestion, bioavailability, and potential toxicity. *Progress in Lipid Research*, 81, 101081.
- Mudhafar, M., Zainol, I., Jaafar, C. N., Alsailawi, H. A., Majhool, A. A., & Alsaady, M. (2020). Phytochemical screening and characterization of *Meliadubia* leaves extract for antimicrobial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Indian Journal of Ecology*, 47(2), 493–496.
- Mulia, K., Putri, G. A., & Krisanti, E. (2018). Encapsulation of mangosteen extract in virgin coconut oil based nanoemulsions: Preparation and characterization for topical formulation. *Materials Science Forum*, 929 MSF, 234–242. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/MSF.929.234>
- Munawaroh, R., & Khoirunnisa. (2023). Fraksi Aktif Antibakteri dari Ekstrak Etanolik Daun Johar (*Cassia siamea* Lam.) terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan Bioautografinya Active Antibacterial Fraction from Ethanolic Extract of Johar Leaves (*Cassia siamea* Lam.) against *Staphylococcus epi*. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 20(2), 129–139.
- Naseema, A., Kovooru, L., Behera, A. K., Kumar, K. P. P., & Srivastava, P. (2021). A critical review of synthesis procedures, applications and future potential of nanoemulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 287, 102318. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102318>
- Otto, M. (2014). *Staphylococcus epidermidis* pathogenesis. In *Staphylococcus Epidermidis: Methods and Protocols* (pp. 17–31). Springer.
- Pereira, A. D. E. S., Oliveira, H. C., Fraceto, L. F., & Santaella, C. (2021).

- Nanotechnology potential in seed priming for sustainable agriculture. *Nanomaterials*, 11(2), 1–29. <https://doi.org/10.3390/nano11020267>
- Pertiwi, F. D., Rezaldi, F., & Puspitasari, R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 7(2), 57–68. <https://doi.org/10.33474/e-jbst.v7i2.471>
- Pranata, C., & Yaturramadhan, H. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum Piloselloides*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Epidermidis* Antibacterial Activity Test Of Dragon Scale Leaf Ethanol Extract (*Drymoglossum Piloselloides*) Againts Bacteria *Staphyloc.* 6(2), 123–130.
- Puji Kurniawati Rahman, Hamiseh, & Teguh Setiawan Wibowo. (2023). Pharmacological Activities of *Citrus hystrix*. *Indonesian Journal of Interdisciplinary Research in Science and Technology*, 1(7), 641–650. <https://doi.org/10.55927/marcopolo.v1i7.5813>
- Riquelme, N., Zúñiga, R. N., & Arancibia, C. (2019). Physical stability of nanoemulsions with emulsifier mixtures: Replacement of tween 80 with quillaja saponin. *Lwt*, 111(February), 760–766. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.067>
- Rosmainar, L. (2021). Formulasi Dan Evaluasi Sediaan Sabun Cair Dari Ekstrak Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix*) Dan Kopi Robusta (*Coffea Canephora*) Serta Uji Cemar Mikroba. *Jurnal Kimia Riset*, 6(1), 58. <https://doi.org/10.20473/Jkr.V6i1.25554>
- Rosmalawati, T. A., Noorhamdani, N., & Widiatmoko, A. (2022). Uji Efektivitas Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix* D.C.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Staphylococcus epidermidis* Secara In Vitro. *Majalah Kesehatan*, 9(1), 8–15. <https://doi.org/10.21776/ub.majalahkesehatan.2022.009.01.2>
- Sadik, F., & Rifqah Amalia Anwar, A. (2022). Standarisasi Parameter Spesifik Ekstrak Etanol Daun Pegagan (*Centella asiatica* L.) Sebagai Antidiabetes. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 4(1), 1–9. <https://doi.org/10.37311/jssc.v4i1.13310>
- Shailesh D Ghaywat, Pooja S Mate, Yogesh M Parsutkar, Ashwini D Chandimeshram, & Milind J Umekar. (2021). Overview of nanogel and its applications. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 16(1), 040–061. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2021.16.1.0196>
- Siregar, S., Indriani, I., Vincentia Ade Rizky, V., Visensius Krisdianilo, V., & Anna Teresia Marbun, R. (2020). Perbandingan Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Dan Daun Jeruk Purut (*Citrus Hystrix*) Terhadap Bakteri *Escherichia Coli*. *Jurnal Farmasimed (Jfm)*, 3(1), 39–46. <https://doi.org/10.35451/jfm.v3i1.524>

- Slamet, S., Anggun, B. D., & Pambudi, D. B. (2020). Uji Stabilitas Fisik Formula Sediaan Gel Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lamk.). *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 13(2), 115–122. <https://doi.org/10.48144/jiks.v13i2.260>
- Souto, E. B., Cano, A., Martins-Gomes, C., Coutinho, T. E., Zielińska, A., & Silva, A. M. (2022). Microemulsions and Nanoemulsions in Skin Drug Delivery. *Bioengineering*, 9(4), 1–22. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9040158>
- Sriram, G., Teja, K. V., & Vasundhara, K. A. (2019). Antimicrobial efficacy of novel ethanolic extract of morinda citrifolia against enterococcus faecalis by agar well diffusion and broth dilution methods - An invitro study. *Brazilian Dental Science*, 22(3), 365–370. <https://doi.org/10.14295/bds.2018.v22i3.1731>
- Studi Farmasi, P. (2023). Haris Munandar Nasution 1*) , Anny Sartika Daulay 1). Daeng Elysa Putri Mambang 1) 1), 6(4), 1748–1758.
- Thao Nguyen Luu, Thi Minh Ngoc Nguyen, Xuan Son Ly, Ngoc Thuan Nguyen, Tan Viet Pham, Hong Thien Van, Thanh Tho Le, Quoc Hung Nguyen, & Ngoc Nam Trinh. (2022). Chemical Composition, Antibacterial And Antioxidant Activities Of Acetone Extract From Leaf And Fruit Peel Of Citrus hystrix. *Journal of Science and Technology - IUH*, 60(06), 4–13. <https://doi.org/10.46242/jstiuh.v60i06.4620>
- Tuasamu, Y. (2018). Karakterisasi Morfologi Daun dan Anatomi Stomata pada Beberapa Species Tanaman Jeruk (*Citrus* sp). *Agrikan: Jurnal Agribisnis Perikanan*, 11(2), 85. <https://doi.org/10.29239/j.agrikan.11.2.85-90>
- Tungadi, R., Thomas, N. A., & Gobel, W. G. Van. (2021). Formulasi, Karakterisasi, Dan Evaluasi Drops Liquid Self Nano-Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Astaxanthin. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 1(3), 168–178. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v1i3.11400>
- Wardania, A. K., Malfadinata, S., & Fitriana, Y. (2020). Uji Aktivitas Antibakteri Penyebab Jerawat Staphylococcus epidermidis Menggunakan Ekstrak Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*). *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 1(1), 14. <https://doi.org/10.31764/lf.v1i1.1206>
- Wilson, R. J., Li, Y., Yang, G., & Zhao, C. X. (2022). Nanoemulsions for drug delivery. *Particuology*, 64, 85–97. <https://doi.org/10.1016/j.partic.2021.05.009>
- Wulandari, Y. W., Supriyadi, S., & Anwar, C. (2019). Comparison between Hydrodistillation with Steam Explosion and Conventional Hydrodistillation in Kaffir Lime Oil Extraction. *AgriTECH*, 39(4), 306. <https://doi.org/10.22146/agritech.38497>

- Yaghoubi, A., Ghojzadeh, M., Abolhasani, S., Alikhah, H., & Khaki-Khatibi, F. (2015). Correlation of Serum Levels of Vitronectin, Malondialdehyde and Hs-CRP With Disease Severity in Coronary Artery Disease. *Journal of Cardiovascular and Thoracic Research*, 7(3), 113–117. <https://doi.org/10.15171/jcvtr.2015.24>
- Zhao, Z., Wang, Y., Nian, M., Lv, H., Chen, J., Qiao, H., Yang, X., Li, X., Chen, X., Zheng, X., & Wu, S. (2023). Citrus hystrix: a review of phytochemistry, pharmacology and industrial applications research progress. *Arabian Journal of Chemistry*, 16(11), 105236. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.105236>