

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI NANOEMULSI EKSTRAK ETANOL
96% DAUN JAMBU METE (*Anacardium occidentale L.*)
PADA KONSENTRASI OPTIMAL TERHADAP
Staphylococcus aureus DAN *Escherichia coli***

(Skripsi)

**Oleh
LOISA NOPRATITY REZA
2218031047**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI NANOEMULSI EKSTRAK ETANOL
96% DAUN JAMBU METE (*Anacardium occidentale L.*)
PADA KONSENTRASI OPTIMAL TERHADAP
Staphylococcus aureus DAN *Escherichia coli***

Oleh
LOISA NOPRATITY REZA

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
2026**

Judul Skripsi : **UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI NANOEMULSI EKSTRAK ETANOL 96% DAUN JAMBU METE (*Anacardium occidentale L.*) PADA KONSENTRASI OPTIMAL TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

Nama Mahasiswa : **Toisa Noprativity Reza**

No. Pokok Mahasiswa : 2218031047

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran




Afriyani, M.Farm
NIP.199504172022032022


Atri Sri Ulandari, M.Farm
NIP.199407022025062008

2. Dekan Fakultas Kedokteran



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

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Afriyani, M.Farm



Sekretaris : Atri Sri Ulandari, M.Farm



Penguji

Bukan Pembimbing : apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr.dr.Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.

NIP.197601202003122001



Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 21 April 2026

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Loisa Nopracity Reza

Nomor Pokok Mahasiswa : 2218031047

Tempat Tanggal Lahir : Prabumulih, 18 November 2004

Alamat : Lubuk Raman, Kec. Rambang Niru, Kab. Muara
Enim, Prov. Sumatera Selatan

Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI NANOEMULSI EKSTRAK ETANOL 96% DAUN JAMBU METE (*Anacardium occidentale L.*) PADA KONSENTRASI OPTIMAL TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau disebut plagiarisme.
2. Hal intelektual atas karya ilmiah ini disertakan 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, 21 April 2026
Pembuat Pernyataan,



Loisa Nopracity Reza

NPM.2218031047

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Prabumulih tanggal 18 November 2004 sebagai anak kedua dari tiga bersaudara, dari pasangan Bapak Yanuar Mulya Riza dan Ibu Reshi Mandora. Penulis menempuh pendidikan dasar di SD Negeri 13 Lubuk Raman. Melanjutkan pendidikan menengah pertama di SMP Negeri 4 Prabumulih dan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 2 Prabumulih.

Penulis melanjutkan studi di Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2022. Penulis aktif sebagai anggota Himpunan Mahasiswa Farmasi Universitas Lampung dan mengemban tanggungjawab sebagai Wakil Kepala Departemen Dinas Kajian, Strategi, dan Advokasi periode 2025/2026. Penulis juga aktif sebagai anggota Dinas Kajian, Aksi, Strategi, dan Advokasi Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung periode 2024/2025. Selama berkuliah, penulis berkesempatan menjadi Asisten Praktikum Teknologi Formulasi Sediaan Solid pada tahun 2025 dan Asisten Praktikum Teknologi Formulasi Sediaan Steril pada tahun 2026.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Bismillahirrahmanirrahim

فَنَادَاهَا مِنْ تَحْتِهَا أَلَّا تَحْزَنِي قَدْ جَعَلَ رَبُّكِ تَحْتَكِ سَرِيًّا

Dia (Jibril) berseru kepadanya dari tempat yang rendah, “Janganlah engkau bersedih. Sungguh, Tuhanmu telah menjadikan anak sungai di bawahmu”

(QS. Maryam: 24)

“Hatiku tenang karena mengetahui bahwa apa yang melewatkanmu tidak akan pernah menjadi takdirku, dan apa yang menjadi takdirku tidak akan pernah melewatkanmu”

-Umar Bin Khattab-

“Carpe Diem! Seize the day. Make your lives extraordinary.”

-Dead Poets Society-

SANWACANA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat, kasih sayang, serta pertolongan-Nya yang senantiasa mengiringi langkah penulis. Tanpa kehendak-Nya, perjalanan yang panjang dalam menyelesaikan skripsi ini tidak akan sampai pada titik ini. Sholawat serta salam semoga senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW, yang mengajari arti keteguhan, kesabaran, dan keikhlasan dalam menuntut ilmu. Atas ridho-Nya maka skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Nanoemulsi Ekstrak Etanol 96% Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale L.*) pada Konsentrasi Optimal Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*” dapat diselesaikan sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana farmasi di Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa penelitian ini tidak akan dapat terselesaikan tanpa dukungan, bantuan, dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. dr. Rani Himayani, S.Ked., Sp.M selaku KETua Program Studi Farmasi;
4. Ibu Afriyani, M.Farm selaku Pembimbing I. Penulis menyampaikan terima kasih atas segala waktu, perhatian, kesabaran, serta bimbingan yang diberikan selama perkuliahan serta selama proses penyusunan skripsi ini. Semoga Allah membalas segala kebaikan yang telah diberikan;
5. Ibu Atri Sri Ulandari, M.Farm selaku pembimbing II dan Pembimbing Akademik. Penulis menyampaikan terima kasih atas ketersediaan

meluangkan waktu, memberikan arahan, serta masukan bagi penulis sejak awal perkuliahan. Semoga Allah membalas segala kebaikan yang telah diberikan;

6. Bapak apt. Ramadhan Triyandi, S.Farm., M.Si selaku pembahas. Terima kasih telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran serta memberikan ilmu dan bimbingan selama dalam menyelesaikan skripsi ini;
7. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas ilmu serta bimbingan yang telah diberikan selama proses perkuliahan;
8. Seluruh staff dan civitas akademik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang telah membantu selama perkuliahan dan penyusunan skripsi ini;
9. Orang tua tercinta, Ibu Reshi Mandora dan Bapak Yanuar Mulya Riza yang selalu percaya pada penulis bahkan saat penulis meragukan diri sendiri. Terima kasih atas kasih sayang yang tidak pernah berkurang dan dukungan yang menguatkan penulis hingga sampai di titik ini. Terima kasih telah selalu membantu penulis menahan semua rasa takut dan khawatir, kemudian menjadikannya kekuatan untuk selalu melanjutkan langkah. Semoga Allah senantiasa menjaga dan melimpahkan kesehatan pada Mama dan Papa.
10. Saudara penulis tersayang, Ayuk Wawa dan Jibrán yang memberikan inspirasi dan pembelajaran bagi penulis tentang kesabaran dalam menuntut ilmu. Terima kasih atas doa, dukungan, dan kebersamaan yang selalu menjadi penguat bagi penulis;
11. Nenek tercinta yang selalu mendoakan dan mendukung penulis. Semoga Allah senantiasa melindungi, serta melimpahkan kesehatan bagi kalian semua;
12. Kharis, Charen, dan Depi, sahabat yang telah menjadi seperti saudara bagi penulis dan selalu menjadi tempat berbagi bagi penulis. Terima kasih telah menemani setiap proses dalam hidup penulis sejak kecil hingga sekarang. Terima kasih atas dukungan mental, saran, serta masukan selama penulis mengerjakan skripsi. Semoga kita senantiasa diberikan kekuatan dan kemudahan dalam berjuang dalam meraih cita-cita;

13. Shanda, Putik, dan Clar, sahabat seperjuangan penulis selama masa kuliah. Terima kasih atas kebersamaan, dukungan, serta berbagai cerita dan perjuangan yang telah kita lalui bersama hingga sampai pada titik ini;
14. Triana, sahabat penulis selama masa penelitian yang menjadi teman seperjuangan dalam melalui setiap proses. Kehadirannya menjadikan penulis memiliki teman untuk berbagi cerita dan saling menguatkan, untuk itu penulis ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya;
15. Teman-teman seperbimbingan, Vanesya, Ariza, Nadine yang selalu memberikan semangat dan dukungan kepada penulis;
16. Mba Retha dan Mba Amel yang selama penelitian selalu memberikan bantuan dan ilmu kepada penulis;
17. Teman-teman Kastrad Himafarsi yang telah kebersamai penulis melewati hari-hari sibuk dan bahagia slama berorganisasi;
18. Teman-teman Kastrad BEM FK Unila yang menemani penulis berproses dalam berorganisasi;
19. DPA 25 METATA25AL, Adin kur, Yunda Nis, Nara, Ghina, Ni Komang, Aul, Asbor, Nawra, Fay, Alfi, Meera Justin, Revo, Atha. Terima kasih atas segala kebersamaan dan telah membantu penulis beradaptasi pada awal perkuliahan;
20. Semua teman Angkatan Farmasi 22 TROPOMYOSIN sebagai teman seperjuangan selama berkuliah;
21. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang telah memberikan dukungan kepada penulis

Bandar Lampung, 21 April 2026

Penulis,

Loisa Noprativity Reza

ABSTRACT

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF A NANOEMULSION CONTAINING 96% ETHANOL EXTRACT OF CASHEW LEAVES (*Anacardium occidentale L.*) AT AN OPTIMAL CONCENTRATION AGAINST *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli*

By:

LOISA NOPRATITY REZA

Background: Bacterial infections caused by *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* remain a significant health concern, particularly due to increasing antibiotic resistance. Cashew leaves (*Anacardium occidentale L.*) contain secondary metabolites with antibacterial potential. Nanoemulsion formulation is expected to improve stability and effectiveness.

Methods: The extract was obtained by maceration using 96% ethanol as the solvent and subsequently formulated into a nanoemulsion using a high-energy method. Evaluation of the formulation included organoleptic assessment, pH, viscosity, homogeneity, and stability tests. Characterization was performed using a particle size analyzer to determine particle size, polydispersity index, and zeta potential. Antibacterial activity was evaluated using the well diffusion method.

Results: The nanoemulsion met the required evaluation criteria and demonstrated particle sizes within the nanometer range with a relatively homogeneous distribution. Antibacterial testing revealed differences in inhibition zone diameters against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, measuring $6,85 \pm 0,28$ mm (moderate category) and $4,28 \pm 0,16$ mm (weak category), respectively.

Conclusion: The nanoemulsion of 96% ethanol extract of cashew leaves exhibited good physicochemical characteristics and demonstrated potential as an antibacterial agent against Gram-positive and Gram-negative bacteria.

Keywords: Nanoemulsion, Cashew Leaves, Antibacterial, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI NANOEMULSI EKSTRAK ETANOL 96% DAUN JAMBU METE (*Anacardium occidentale L.*) PADA KONSENTRASI OPTIMAL TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

Oleh:

LOISA NOPRATITY REZA

Latar belakang: Infeksi bakteri akibat *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menjadi masalah kesehatan, terutama dengan meningkatnya resistensi antibiotik. Daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) mengandung metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antibakteri. Formulasi dalam bentuk nanoemulsi diharapkan dapat meningkatkan stabilitas dan efektivitasnya.

Metode: Ekstrak diperoleh dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dan diformulasikan menjadi nanoemulsi menggunakan metode *high energy methode*. Evaluasi sediaan meliputi uji organoleptik, pH, viskositas, homogenitas, dan stabilitas. Karakterisasi dilakukan dengan *particle size analyzer* untuk menentukan ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial. Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran.

Hasil: Nanoemulsi memenuhi persyaratan evaluasi sediaan dan memiliki ukuran partikel dalam rentang nano dengan distribusi yang relatif homogen. Uji antibakteri menunjukkan adanya perbedaan zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yaitu secara berurutan sebesar $8,38 \pm 0,33$ yang terkategori sedang dan $4,28 \pm 0,16$ yang terkategori lemah.

Kesimpulan: Nanoemulsi ekstrak etanol 96% daun jambu mete memiliki karakteristik fisikokimia yang baik dan berpotensi sebagai agen antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif.

Kata kunci: Nanoemulsi, Daun Jambu Mete, Antibakteri, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR TABEL	v
BAB I PENDAHULUAN	
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	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti	4
1.4.3 Manfaat Bagi Institusi.....	4
1.4.4 Manfaat Bagi Masyarakat	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman Jambu Mete.....	6
2.1.1 Taksonomi Tanaman Jambu Mete.....	6
2.1.2 Morfologi Tanaman Jambu Mete	6
2.1.3 Kandungan dan Khasiat Tanaman Jambu Mete	7
2.2 Metabolit Sekunder	8
2.2.1 Alkaloid	8
2.2.2 Tanin	8
2.2.3 Flavonoid	9
2.2.4 Saponin	10
2.2.5 Terpenoid	11
2.3 Metode Ekstraksi	11
2.3.1 Maserasi	11
2.3.2 Perkolasi.....	13
2.3.3 Soxhlet	13

2.3.4 Refluks	13
2.3.5 Ultrasonikasi	14
2.3.6 Infusa	14
2.4 Skrining Fitokimia.....	14
2.5 Nanoemulsi.....	15
2.5.1 Metode Pembuatan Nanoemulsi	15
2.6 Bakteri Uji	19
2.6.1 Bakteri Gram Positif	19
2.6.2 Bakteri Gram Negatif.....	23
2.7 Metode Uji Bakteri	27
2.7.1 Metode Difusi	27
2.7.2 Metode Dilusi	29
2.8 Kerangka Penelitian	30
2.8.1 Kerangka Teori	30
2.8.2 Kerangka Konsep.....	31
2.9 Hipotesis	32
2.9.1 Hipotesis Null (H ₀).....	32
2.9.2 Hipotesis Alternatif (H ₁)	32

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian	33
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	33
3.2.1 Tempat Penelitian	33
3.2.2 Waktu Penelitian.....	34
3.3 Alat dan Bahan Penelitian	34
3.3.1 Alat Penelitian.....	34
3.3.2 Bahan Penelitian	34
3.4 Variabel Penelitian	35
3.4.1 Variabel Bebas	35
3.4.2 Variabel Terikat	35
3.4.3 Variabel Kontrol	35
3.5 Definisi Operasional	35
3.6 Sampel Penelitian	36
3.6.1 Kelompok Perlakuan dalam Uji Aktivitas Antibakteri.....	37
3.7 Prosedur Penelitian.....	37
3.7.1 Determinasi Tanaman	37
3.7.2 Preparasi Sampel.....	38
3.7.3 Skrining Fitokimia	39
3.7.4 Formulasi Nanoemulsi	40
3.7.5 Evaluasi Sediaan Nanoemulsi.....	41
3.7.6 Karakterisasi Sediaan Nanoemulsi	42
3.7.7 Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Nanoemulsi	43

3.8 Alur Penelitian.....	47
3.9 Pengolahan dan Analisis Data.....	48
3.10 Etik Penelitian	48

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian.....	49
4.1.1 Hasil Determinasi Tanaman.....	49
4.1.2 Hasil Rendemen Ekstrak Etanol 96% Daun Jambu Mete.....	50
4.1.3 Hasil Skrinning Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Daun Jambu Mete	50
4.1.4 Hasil Formulasi Nanoemulsi Ekstrak Daun Jambu Mete	51
4.1.5 Hasil Uji Evaluasi Nanoemulsi Ekstrak Daun Jambu Mete	51
4.1.6 Hasil Uji Karakterisasi Nanoemulsi Ekstrak Daun Jambu Mete.....	54
4.1.7 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	57
4.1.8 Hasil Analisis Data Sediaan Nanoemulsi Ekstrak Daun Jambu Mete..	60
4.2 Pembahasan	62
4.2.1 Ekstraksi Daun Jambu Mete (<i>Anacardium occidentale L.</i>)	62
4.2.2 Skrinning Fitokimia Daun Jambu Mete.....	63
4.2.3 Formulasi Nanoemulsi Ekstrak Daun Jambu Mete	65
4.2.4 Uji Evaluasi Sediaan Nanoemulsi.....	66
4.2.5 Uji Karakterisasi Sediaan Nanoemulsi	70
4.2.6 Uji Aktivitas Antibakteri	77

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan.....	84
5.2 Saran	84

DAFTAR PUSTAKA	85
-----------------------------	-----------

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Morfologi Daun Jambu Mete.....	7
Gambar 2.2. Struktur Senyawa Alkaloid.....	8
Gambar 2.3. Struktur Senyawa Tanin	9
Gambar 2.4. Struktur Senyawa Flavonoid	10
Gambar 2.5. Struktur Senyawa Saponin.....	10
Gambar 2.6. Struktur Senyawa Terpenoid	11
Gambar 2.7. Metode Ekstraksi Maserasi.....	12
Gambar 2.8. Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	21
Gambar 2.9. Morfologi <i>Staphylococcus epidermidis</i>	22
Gambar 2.10. Morfologi <i>Escherichia coli</i>	24
Gambar 2.11. Morfologi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26
Gambar 2.12. Kerangka Teori	31
Gambar 2.13. Kerangka Konsep	32
Gambar 3.1. Pengukuran Diameter Zona Hambat.....	49
Gambar 3.2. Alur Penelitian	47
Gambar 4.1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	62
Gambar 4.2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri <i>Escherichia coli</i>	63

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Taksonomi Daun Jambu Mete.....	6
Tabel 2.2. Taksonomi <i>Staphylococcus aureus</i>	20
Tabel 2.3. Taksonomi <i>Staphylococcus epidermidis</i>	22
Tabel 2.4. Taksonomi <i>Escherichia coli</i>	23
Tabel 2.5. Taksonomi <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
Tabel 3.1. Definisi Operasional.....	35
Tabel 3.2. Kelompok Perlakuan dalam Uji Antibakteri.....	39
Tabel 3.3. Formulasi Sediaan Nanoemulsi.....	40
Tabel 3.4. Kategorisasi Zona Hambat Bakteri	46
Tabel 4.1. Hasil Determinasi Daun Jambu Mete.....	52
Tabel 4.2. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol 96% Daun Jambu Mete	54
Tabel 4.3. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 96% Daun Jambu Mete.....	54
Tabel 4.4. Hasil Formulasi Nanoemulsi Ekstrak Etanol 96% Daun Jambu Mete.....	55
Tabel 4.5. Hasil Evaluasi Uji Organoleptik.....	55
Tabel 4.6. Hasil Evaluasi Uji pH.....	56
Tabel 4.7. Hasil Evaluasi Uji Viskositas.....	56
Tabel 4.8. Hasil Evaluasi Uji Stabilitas.....	57
Tabel 4.9. Hasil Uji Karakterisasi Ukuran Partikel.....	58
Tabel 4.10 Hasil Uji Karakterisasi Indeks Polidispersitas.....	59
Tabel 4.11 Hasil Uji Karakterisasi Zeta Potensial.....	60
Tabel 4.12 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	61

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Etik Penelitian.....	107
Lampiran 2. Hasil Determinasi Tanaman.....	108
Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Ekstrak.....	111
Lampiran 4. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Jambu Mete.....	112
Lampiran 5. Formulasi Sediaan Nanoemulsi.....	113
Lampiran 6. Uji Evaluasi Sediaan Nanoemulsi.....	114
Lampiran 7. Uji Karakterisasi Sediaan Nanoemulsi.....	116
Lampiran 8. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	125
Lampiran 9. Hasil Analisis Data.....	131
Lampiran 10. Proses Ekstraksi.....	132

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit akibat infeksi menjadi salah satu tantangan utama kesehatan masyarakat di dunia. Meskipun berbagai upaya pencegahan telah dilakukan, termasuk peningkatan higiene, imunisasi, dan ketersediaan antibiotik, kasus infeksi bakteri tetap memberikan rasio angka kesakitan dan kematian yang cukup tinggi, terutama di negara berkembang (Sriram *et al.*, 2021). Di Indonesia, infeksi kulit dan jaringan lunak masih sering dijumpai pada pelayanan kesehatan dan menjadi salah satu penyebab utama pasien mencari pengobatan maupun menjalani perawatan (Santosaningsih *et al.*, 2018). Tingginya kejadian infeksi ini mendorong penggunaan antibiotik secara luas, yang pada akhirnya berkontribusi terhadap munculnya resistensi antibiotik yang berdampak pada meningkatnya biaya pengobatan, memperpanjang lama rawat inap, serta meningkatkan risiko komplikasi pasien (Gach *et al.*, 2024).

Bakteri yang sering menjadi penyebab infeksi pada manusia antara lain *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, yang masing-masing mewakili kelompok bakteri gram positif dan gram negatif. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri berbentuk kokus yang dapat menjadi flora normal pada kulit dan membran mukosa, namun juga berperan sebagai patogen oportunistik penyebab infeksi mulai dari infeksi kulit hingga sistemik. Sementara itu, *Escherichia coli* merupakan bakteri berbentuk batang yang umumnya hidup sebagai flora normal di usus, tetapi patotipenya dapat menyebabkan infeksi usus maupun ekstraintestinal seperti infeksi saluran

kemih, sepsis, dan meningitis neonatal (Gherardi, 2023; Braz, Melchior and Moreira, 2020). Kedua bakteri ini memiliki kemampuan adaptasi yang tinggi, seperti pembentukan biofilm, produksi toksin, serta variasi genetik yang berkontribusi terhadap peningkatan virulensi dan resistensi terhadap antibiotik (Zheng et al., 2018). Kondisi ini mencerminkan meningkatnya tantangan dalam penanganan infeksi, sehingga pengembangan terapi alternatif yang efektif dan aman menjadi semakin penting (Breyne et al., 2017).

Kebutuhan akan terapi yang efektif dan aman dapat dijawab melalui pemanfaatan bahan alam. Tanaman yang berpotensi adalah jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) khususnya bagian daun yang telah diketahui mengandung berbagai metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin, fenolik, dan saponin (Belgis, 2024). Penelitian sebelumnya oleh (Giwa & Oluwafemi, 2025) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun jambu mete memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50 mg/ml sebesar $7,25 \pm 0,28$ mm. Sementara itu, penelitian lain oleh (Astuty et al., 2022) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 5% sebesar $5,75 \pm 1,76$. Temuan-temuan tersebut memperkuat potensi daun jambu mete sebagai agen antibakteri alami.

Pemanfaatan ekstrak etanol daun jambu mete sebagai antibakteri alami dalam bentuk konvensional masih menghadapi kendala yang dapat menurunkan efektivitasnya. Hambatan utamanya adalah bioavailabilitas senyawa aktif yang relatif rendah karena kesulitannya menembus membran biologis dan kecenderungannya mengalami metabolisme cepat sebelum mencapai target kerja (Budiman et al., 2024). Untuk mengatasi keterbatasan tersebut, dikembangkan sistem formulasi nanoemulsi, yaitu dispersi koloid dengan ukuran droplet sangat kecil, umumnya berada pada rentang 20-200 nm, yang distabilkan oleh surfaktan sehingga mampu meningkatkan kelarutan senyawa metabolit dalam medium berair (Preeti et al., 2023). Ukuran partikel yang sangat kecil memberikan luas permukaan yang besar, sehingga meningkatkan

laju disolusi, permeabilitas membran, dan pada akhirnya bioavailabilitas bioaktif, serta memungkinkan distribusi senyawa aktif lebih homogen dan penetrasi ke dalam sel target menjadi lebih efisien (Kaur *et al.*, 2024; Deveci, 2025).

Pemanfaatan ekstrak etanol daun jambu mete dalam bentuk nanoemulsi masih jarang diteliti. Sebagian besar studi sebelumnya lebih menekankan pada uji aktivitas antibakteri ekstrak konvensional tanpa mengeksplorasi formulasi nanoemulsi ekstrak secara spesifik. Selain itu, hubungan antara sifat fisik nanoemulsi dan efektivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* juga belum banyak dipelajari. Maka dari itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan tujuan megembangkan nanoemulsi ekstrak daun jambu mete yang terkarakterisasi dengan baik, stabil, dan memiliki aktivitas antibakteri optimal, sehingga dapat menjadi alternatif terapi berbasis bahan alam yang efektif dan aman.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah hasil uji fisikokimia serta karakterisasi ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial dari nanoemulsi ekstrak etanol 96% daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) memenuhi syarat evaluasi sediaan?
2. Bagaimana hasil uji aktivitas antibakteri nanoemulsi ekstrak etanol 96% daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan gram negatif *Escherichia coli*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan aktivitas antibakteri dari nanoemulsi ekstrak etanol 96% daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui hasil uji fisikokimia serta karakterisasi ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial dari nanoemulsi ekstrak etanol 96% daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) memenuhi syarat evaluasi sediaan
2. Untuk mengetahui hasil uji aktivitas antibakteri nanoemulsi ekstrak etanol 96% daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan gram negatif *Escherichia coli*

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi sebagai referensi untuk peneliti lain yang berfokus pada pengembangan terkait uji potensi antibakteri nanoemulsi ekstrak etanol 96% daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.4.2 Manfaat Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah dalam memperluas wawasan dan pengetahuan mengenai efektivitas nanoemulsi ekstrak etanol 96% daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

1.4.3 Manfaat Bagi Institusi

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi akademik bagi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan menambah data ilmiah mengenai potensi daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) sebagai bahan antibakteri alami. Hasil penelitian ini juga sejalan dengan

visi dari Fakultas Kedokteran Universitas Lampung yang berkonsentrasi pada *agromedicine*.

1.4.4 Manfaat Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan wawasan kepada masyarakat tentang potensi daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) sebagai bahan antibakteri alami.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Jambu Mete

Jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) tergolong dalam famili *Anacardiaceae* yang merupakan tanaman hijau tahunan. Tanaman ini berasal dari wilayah tropis di Amerika Selatan, khususnya di daerah Brasil bagian timur laut (Swamy, 2023).

2.1.1 Taksonomi Tanaman Jambu Mete

Taksonomi tanaman jambu mete menurut (Swamy, 2023) dapat dilihat pada **Tabel 2.1**.

Tabel 2.1. Taksonomi Daun Jambu Mete

Tingkatan Taksonomi	Nama Ilmiah
Kerajaan	<i>Plantae</i>
Divisi	<i>Magnoliophyta</i>
Kelas	<i>Magnoliopsida</i>
Bangsa	<i>Sapindales</i>
Suku	<i>Anacardiaceae</i>
Marga	<i>Anacardium</i>
Jenis	<i>Anacardium occidentale L.</i>
Nama umum	Jambu mete

Sumber: (Swamy, 2023)

2.1.2 Morfologi Tanaman Jambu Mete

Daun jambu mete memiliki morfologi, yaitu memiliki bentuk oval hingga elips lebar dan ujung yang membentuk bulat dan pangkal yang tumpul. Tekstur daun tebal dan kaku, permukaan atas (*adaxial*) mengkilap sedangkan bagian bawah (*abaxial*) yang kusam dan kasar.

Umumnya, daun jambu mete memiliki panjang pada kisaran 8-20 cm dan lebar 5-10 cm, susunannya menyirip dengan tulang daun utama menonjol jelas di bagian bawah daun. Bagian permukaan atas daun bersifat hidrofobik, sementara bagian bawah daun bersifat hidrofilik karena perbedaan ketebalan pada lapisan lilin kutikular dan struktur epidermis (Ramos *et al.*, 2022).



Gambar 2.1. Morfologi Daun Jambu Mete

(Ramos *et al.*, 2022)

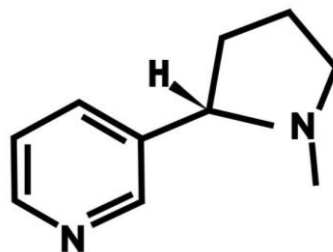
2.1.3 Kandungan dan Khasiat Tanaman Jambu Mete

Daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) terbukti mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, dan terpenoid. Senyawa metabolit sekunder tersebut memiliki khasiat fisiologis seperti antibakteri, antiinflamasi, antimikroba, dan antijamur (Artika, 2021). Ekstrak daun jambu mete dalam pelarut etanol terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif maupun negatif. Aktivitas antibakteri tersebut sifatnya korespondensi dependen yang artinya, besar zona hambat dipengaruhi oleh besaran konsentrasi yang berbanding lurus. Dengan sifatnya sebagai antibakteri tersebut, daun jambu mete berpotensi dikembangkan sebagai sumber bahan baku antibakteri alami untuk pengembangan obat herbal dan produk kesehatan tradisional (Artika, 2021)

2.2 Metabolit Sekunder

2.2.1 Alkaloid

Alkaloid merupakan sekelompok senyawa organik yang bersifat basa dan mengandung satu atau lebih atom nitrogen yang biasanya dalam bentuk heterosiklik. Alkaloid sebagai antibakteri bekerja dengan beberapa mekanisme, antara lain mengganggu sintesis dinding sel bakteri, meningkatkan permeabilitas membran, serta dengan menghambat sintesis asam nukleat dan protein intraseluler. Beberapa kelas dari alkaloid terbukti dapat menghambat bakteri gram positif, yaitu isoquinoline dan indole. Selain itu, beberapa kelas lainnya terbukti dapat menghambat aktivitas bakteri gram negatif (Yan *et al.*, 2021)



Gambar 2.2. Struktur Senyawa Alkaloid

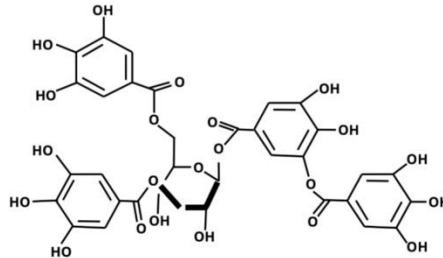
(Luciana *et al.* 2024)

2.2.2 Tanin

Tanin merupakan jenis senyawa polifenol yang memiliki kemampuan untuk berikatan dengan protein. Adapun fungsi biologis tanin meliputi sifat astringennya, yang dapat membantu dalam mengencangkan jaringan tubuh. Senyawa ini juga memiliki aktivitas antimikroba yang dapat mencegah pertumbuhan bakteri serta mikroorganisme lainnya (Hidayah *et al.*, 2020)

Tanin bekerja dengan cara berinteraksi dengan faktor adhesi pada permukaan bakteri, kemudian membentuk kompleks bersama polisakarida dan ion logam. Interaksi ini mengganggu proses fisiologis sel bakteri. Selain itu, tannin mampu menonaktifkan materi genetik

bakteri sehingga menghambat pertumbuhan, serta dapat bersifat toksik terhadap membran sel bila kadarnya melebihi batas hambat maksimum. Tanin juga memiliki kemampuan untuk berikatan dengan polipeptida pada dinding sel bakteri, yang menyebabkan perubahan struktur dinding sel, kerusakan membran, hingga terjadinya lisis dan kematian sel bakteri (Luh Budi Artaningsih *et al.*, 2018)

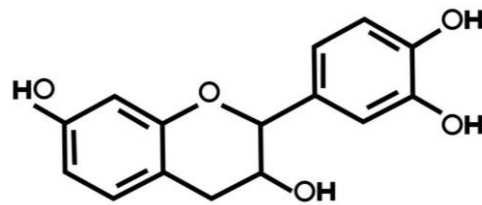


Gambar 2.3. Struktur Senyawa Tanin

(Elgailani & Ishak, 2016)

2.2.3 Flavonoid

Flavonoid termasuk dalam kelompok senyawa polifenol yang secara umum ditemukan pada buah, sayuran, dan biji-bijian. Flavonoid memiliki struktur senyawa dasar berupa dua cincin aromatik yang disatukan oleh rantai karbon tiga (Prima *et al.*, 2021). Mekanisme penghambatan bakteri oleh flavonoid bersifat kompleks dan belum sepenuhnya dipahami. Beberapa literatur menyebutkan bahwa flavonoid mampu menghambat pertumbuhan bakteri melalui proses perombakan struktur membran sel bakteri. Flavonoid dapat berikatan pada permukaan membran sel, mengganggu fungsi normal membran, sehingga menyebabkan kerusakan dan kematian sel bakteri (Mere, Bintang and Safithri, 2021) Gambar 2.4. Struktur Senyawa Flavonoid

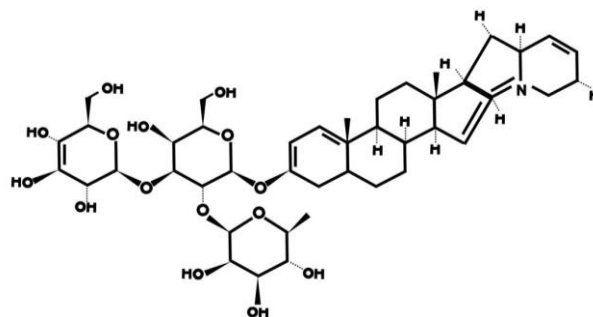


Gambar 2.4. Struktur Senyawa Flavonoid

(Wang, Li and Bi, 2018)

2.2.4 Saponin

Saponin merupakan senyawa golongan glikosida yang terikat pada molekul gula. Saponin memiliki sifat yang sama seperti detergen, yang memiliki kemampuan membentuk busa yang larut dalam air. Saponin dikenal memiliki sifat imunodilator yang mampu membantu meningkatkan daya tahan tubuh, serta memiliki aktivitas antimikroba yang membantu melindungi tubuh dari infeksi (Shaban *et al.*, 2021). Mekanisme kerja saponin sebagai agen antibakteri dilakukan dengan cara merusak fungsi membran sitoplasma bakteri yang mengakibatkan kebocoran pada sel. Saponin menurunkan tegangan permukaan sel bakteri, sehingga menyebabkan keluarnya cairan intraseluler dari dalam sel sehingga menyebabkan terganggunya integritas membran dan akhirnya menyebabkan kematian sel bakteri (Nugraha, Achmad and Sitompul, 2019) Gambar 2.5. Struktur Senyawa Saponin.

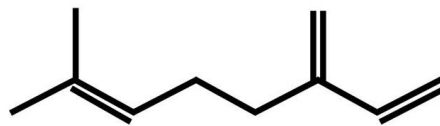


Gambar 2.5. Struktur Senyawa Saponin

(Sutardi, 2017)

2.2.5 Terpenoid

Terpenoid merupakan senyawa organik yang tersusun dari isoprene dan memberikan aroma yang khas pada tanaman. Mekanisme antibakteri oleh terpenoid dilakukan dengan interaksi dengan porin, yaitu protein transmembran yang berada pada membran luar sel bakteri dapat berinteraksi sehingga membentuk ikatan polimer yang kuat. Proses ini mengakibatkan perubahan atau kerusakan pada struktur porin, yang selanjutnya menurunkan tingkat permeabilitas dinding sel bakteri. Interaksi ini pada akhirnya akan mempengaruhi metabolisme bakteri yang akan menyebabkan pertumbuhan bakteri menjadi terhambat atau mengalami kematian sel



Gambar 2.6. Struktur Senyawa Terpenoid

(Nugroho, 2017)

2.3 Metode Ekstraksi

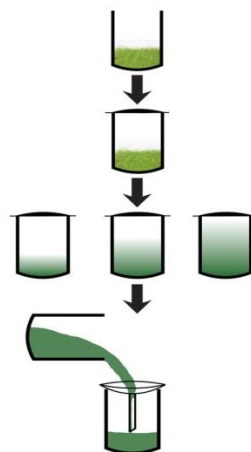
Ekstraksi merupakan suatu proses dengan memisahkan bagian berkhasiat dari tanaman dengan prinsip penggunaan suatu pelarut yang diuji melalui prosedur standar. Tujuan ekstraksi adalah pemisahan metabolit tanaman yang larut sehingga diperoleh senyawa yang dituju. Tahapan dalam proses ekstraksi yaitu pertama, pelarut akan menembus matriks pada bahan, kemudian zat akan terlarut ke dalam pelarut, selanjutnya, zat terlarut berdifusi keluar dari matriks padat, terakhir, larutan ekstrak akan dikumpulkan (Zhang, Lin and Ye, 2018).

2.3.1 Maserasi

Maserasi merupakan metode ekstraksi paling sederhana dan paling banyak digunakan. Metode ini dilakukan dengan cara merendam sampel pada pelarut tertentu yang sesuai di dalam wadah yang inert (Triwanda,

Hastuti and Rahardjo, 2022). Ekstraksi dengan metode maserasi umumnya digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat volatil dan termolabil seperti pigmen, antosianin, dan senyawa aromatik. Proses ini dapat memecahkan dinding sel tumbuhan sehingga dapat menyebabkan perpindahan senyawa fitokimia dari matriks bahan alam ke pelarut yang digunakan. Pengadukan dapat dilakukan secara berkala atau terus-menerus untuk mempercepat proses ekstraksi hingga tercapai titik jenuh, yaitu kondisi kesetimbangan antara konsentrasi senyawa metabolit dalam bahan dan pelarut. Setelah proses maserasi selesai, dilakukan penyaringan campuran menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari ampas bahan. Untuk memperoleh rendemen yang tinggi, proses maserasi dapat diulangi sampai tiga kali dengan menggunakan rendemen hasil ekstraksi sebelumnya, karena pada tahap awal masih tersisa senyawa aktif yang belum sepenuhnya terambil dan dapat diekstraksi kembali (Nugroho, 2017)

Untuk meminimalisir hilangnya pelarut karena penguapan, proses maserasi harus dilakukan dalam wadah tertutup rapat. Setelah maserasi, filtrat dipekatkan dengan evaporasi vakum. Dalam maserasi, pemilihan pelarut yang tepat sangat penting karena senyawa fitokimia target sangat bergantung pada pelarut yang digunakan (Rasyad Arrofiqi *et al.*, 2024)



Gambar 2.7 Metode Ekstraksi Maserasi
(Nugroho, 2017)

2.3.2 Perkolasi

Proses perkolasi dilakukan dengan cara mengalirkan pelarut secara perlahan dalam bentuk tetesan melalui bahan padat. Selama proses berlangsung, pelarut menembus bahan tanaman secara bertahap sehingga senyawa aktif dapat terekstraksi. Ekstraksi menggunakan metode ini memiliki kelebihan yaitu efisiensi ekstraksi, kualitas hasil, hingga fleksibilitas pelarut. Namun, metode ini memiliki kelemahan antara lain penggunaan pelarut yang banyak, hingga biaya yang tinggi (Luciana *et al.*, 2024)

2.3.3 Soxhlet

Metode ekstraksi soxhlet banyak digunakan untuk pemisahan senyawa dari bahan padat dengan menggunakan pelarut panas. Metode ini melibatkan pemanasan pelarut hingga menguap, kemudian uap tersebut akan terkondensasi dan menetes ke bahan dalam thimble, sehingga terjadi ekstraksi berulang sampai pelarut tidak lagi berwarna pekat. Keunggulan proses ini yaitu efisiensi bahan dan tidak memerlukan filtrasi tambahan. Namun, prosesnya membutuhkan energi yang besar dan memerlukan waktu yang lama (Luciana *et al.*, 2024)

2.3.4 Refluks

Ekstraksi metode refluks merupakan metode cara panas dengan adanya bantuan pendingin. Metode ini dilakukan dalam durasi tertentu dengan volume pelarut yang relatif tetap, disertai penggunaan pendingin balik untuk mencegah penguapan pelarut. Proses refluks biasanya dilakukan berulang, umumnya antara tiga hingga enam kali siklus (Aprilyanie, Handayani and Syarif, 2023). Pada metode ini, rendemen ekstrak yang dihasilkan sangat tinggi dikarenakan proses ekstraksi ini berlangsung pada suhu tinggi sehingga akan mempercepat kerusakan sel dan jaringan tumbuhan serta mempercepat proses kelarutan (Nugroho, 2017)

2.3.5 Ultrasonikasi

Metode ultrasonikasi merupakan pengembangan dari metode maserasi, dengan frekuensi tinggi, yaitu sekitar 20.000 Hz, melebihi ambang pendengaran manusia. Prosesnya, bahan yang telah dicampur dengan pelarut dimasukkan ke dan ditempatkan pada alat *ultrasonic bath* yang menghasilkan gelombang suara berfrekuensi tinggi. Gelombang tersebut menghasilkan tekanan mekanis pada jaringan sel, akibat adanya getaran kuat sehingga menyebabkan kerusakan dinding sel dan melarutkan senyawa metabolit ke dalam pelarut (Nugroho, 2017)

2.3.6 Infusa

Metode infusa adalah teknik ekstraksi yang memanfaatkan pelarut berupa air yang dipanaskan. Prinsip kerja dari metode ini adalah didasarkan pada proses difusi molekuler, di mana senyawa aktif akan berpindah dari simplisia ke pelarut akibat adanya perbedaan konsentrasi. Pada metode ini, suhu panas berperan penting dalam meningkatkan energi kinetik molekul, mempercepat pelarutan, serta membantu penghancuran dinding sel simplisia agar senyawa bioaktif lebih mudah terlepas ke dalam pelarut (Luciana *et al.*, 2024)

2.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan langkah awal yang dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif yang terdapat dalam suatu tanaman. Tahapan ini sangat penting dalam proses penelitian fitokimia karena berfungsi untuk mengidentifikasi metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, dan steroid. Setiap golongan senyawa tersebut memiliki aktivitas biologis yang berbeda dan berpotensi sebagai sumber bahan aktif dalam pengembangan obat alami. Prinsip pada metode ini adalah reaksi kimia yang terjadi antara senyawa dalam ekstrak dengan reagen spesifik yang akan menghasilkan perubahan warna atau endapan tertentu sebagai indikator keberadaan golongan senyawa tersebut (Maheshwaran *et al.*, 2024)

Skrining fitokimia bersifat kualitatif, artinya hasil dari tahapan ini hanya menunjukkan ada atau tidaknya senyawa tertentu tanpa memberikan informasi kuantitatif mengenai jumlah atau konsentrasinya. Proses ini bertujuan untuk memberikan indikasi awal mengenai potensi yang dimiliki suatu sampel bioaktivitas suatu tanaman obat sebelum dilakukan analisis lanjutan. Hasil skrining fitokimia sangat dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan saat proses ekstraksi, karena pelarut memiliki kemampuan selektif dalam melarutkan senyawa tertentu. Oleh karena itu, pemilihan metode ekstraksi dan pelarut yang sesuai menjadi aspek penting dalam menentukan keberhasilan dan akurasi hasil pada proses skrining fitokimia (Maheshwaran *et al.*, 2024)

2.5 Nanoemulsi

Nanoemulsi merupakan sistem dispersi yang terdiri atas dua atau lebih fase yang saling tidak tercampur, misalnya antara minyak dan air, yang distabilkan oleh keberadaan surfaktan pada antarmuka keduanya. Sistem ini bersifat stabil secara termodinamika dan digunakan sebagai pembawa atau penghantar obat, di mana fase minyak terdispersi ke dalam fase air atau fase air terdispersi ke fase minyak dalam bentuk tetesan berukuran sangat kecil, umumnya berada dalam rentang 20-200 nanometer (Ermawati *et al.*, 2023)

2.5.1 Metode Pembuatan Nanoemulsi

2.5.1.1 *Low Energy Method*

Low Energy Method merupakan metode pembentukan nanoemulsi yang memerlukan energi yang rendah. Proses ini dinilai lebih efisien karena dalam prosesnya, hanya memanfaatkan energi kimia internal dalam sistem, sehingga hanya membutuhkan pengadukan yang ringan. Pada umumnya, metode ini melibatkan mekanisme inversi fase serta proses emulsifikasi spontan (*self-emulsification*) (Kumar *et al.*, 2019)

a. Emulsifikasi Spontan

Metode emulsifikasi spontan menghasilkan nanoemulsi pada suhu konstan. Proses ini dimulai dengan mencampurkan fase minyak secara perlahan ke dalam fase air yang mengandung surfaktan dan ko-surfaktan. Pembentukan nanoemulsi sangat bergantung pada pengaturan terhadap rasio dan konsentrasi surfaktan, ko-surfaktan, dan fase minyak. Parameter-parameter ini harus dikontrol dengan cermat karena secara langsung mempengaruhi ukuran dan distribusi tetesan yang terbentuk dalam sistem nanoemulsi (Ermawati *et al.*, 2023)

Nanoemulsi yang diperoleh melalui metode emulsifikasi spontan mampu mempertahankan kestabilan hingga 30 hari pada suhu ruang, meskipun mengalami ketidakstabilan ketika disimpan pada suhu yang tinggi. Metode emulsifikasi spontan dinilai efisien dalam menghasilkan nanoemulsi yang stabil, jika parameter formulasi dan kondisi proses dikendalikan secara optimal (Ermawati *et al.*, 2023)

b. *Phase Inversion Temperature* (PIT)

Metode *Phase Inversion Temperature* (PIT) bekerja dengan memanfaatkan perubahan karakter lipofilik surfaktan non-ionik yang meningkat seiring bertambahnya suhu, sehingga dapat membentuk sistem nanoemulsi. Prinsip utama dari metode ini adalah bahwa pada suhu rendah, gugus surfaktan non-ionik akan lebih mudah untuk membentuk emulsi tipe minyak dalam air (O/W). Namun, saat suhu meningkat karakter hidrofilik surfaktan berkurang dan menjadi lebih lipofilik, sehingga terjadi pembalikan fase menjadi emulsi air dalam minyak (W/O). Teknik ini memiliki keterbatasan pada skala industri karena memerlukan pemilihan surfaktan yang sangat selektif serta ukuran droplet cenderung semakin kecil

dengan meningkatnya konsentrasi surfaktan, dan nanoemulsi yang dihasilkan melalui metode ini dapat stabil hingga sekitar satu bulan (Ermawati *et al.*, 2023)

c. *Phase Inversion Composition (PIC)*

Metode ini juga dikenal dengan emulsi titik inversi, yaitu teknik yang memanfaatkan perubahan sifat hidrofilik-lipofilik surfaktan untuk menghasilkan nanoemulsi. Dalam prosesnya, penambahan garam pada sistem emulsi minyak dalam air (O/W) yang mengandung surfaktan ionik dapat mengubah muatan listrik surfaktan, sehingga sistem berbalik membentuk emulsi dalam minyak (W/O). Proses pembentukan nanoemulsi dengan teknik ini hanya memerlukan energi mekanik yang rendah, namun waktu yang dibutuhkan relatif lebih lama dibandingkan metode emulsifikasi spontan (Ermawati *et al.*, 2023)

2.5.1.2 *High Energy Method*

Metode *High Energy Method* menggunakan energi mekanik yang tinggi untuk menghasilkan gaya destruktif yang kuat, sehingga mampu memecah droplet berukuran besar menjadi droplet nano. Penggunaan perangkat mekanik seperti ultrasonikator, *mikrofluidizer*, dan *homogenizer* bertekanan tinggi akan menghasilkan gaya destruktif. Penggunaan alat-alat tersebut memungkinkan tercapainya ukuran partikel yang sangat kecil dan distribusi droplet yang lebih homogen (Kumar *et al.*, 2019)

a. *Homogenizer Tekanan Tinggi*

Pada metode ini, mikroemulsi akan dialirkan melalui lubang inlet berukuran sangat kecil, di mana gaya vibrasi dan geser yang tinggi akan memecah partikel menjadi droplet berukuran nano. Teknik ini mampu menghasilkan globul nanoemulsi

berukuran sangat halus, bahkan dapat mencapai 1 nm, terutama jika digunakan laju geser tinggi dan molekul dengan rantai panjang seperti polimer atau surfaktan (Ermawati *et al.*, 2023)

b. Ultrasonikasi

Metode ultrasonikasi memanfaatkan gelombang suara berfrekuensi tinggi untuk mentransfer energi ke dalam sistem, sehingga memungkinkan dispersi satu fase cair ke dalam fase lainnya. Pada proses ini, energi ultrasonik diberikan dalam makroemulsi, dan melalui getaran serta fenomena kavitasi, droplet minyak berukuran besar akan pecah menjadi partikel berukuran nano (Ermawati *et al.*, 2023)

Pembentukan nanoemulsi pada metode ini berlangsung menjadi dua mekanisme utama. Pertama, gelombang ultrasonik berfrekuensi tinggi menimbulkan osilasi pada antarmuka antara dua fase, yang membantu proses dispersi droplet minyak ke dalam fase kontinu. Kedua, fluktuasi tekanan akibat gelombang ultrasonik menyebabkan terbentuknya gelombang mikro di dalam cairan. Ketika gelombang ini pecah, terjadi turbulensi kuat pada antarmuka minyak dan air (Ermawati *et al.*, 2023)

c. Alat Kecepatan Tinggi (*Rotor-stator*)

Metode ini memanfaatkan *rotor-stator* berkecepatan tinggi untuk menghasilkan gaya hidrodinamik yang kuat, sehingga mampu mencampurkan fase minyak dan fase air secara intensif. Proses pencampuran ini menghasilkan geseran mekanik tinggi yang membantu pembentukan droplet, namun kemampuan dispersi yang dihasilkan umumnya tidak sebaik metode energi tinggi lainnya seperti homogenisasi tekanan

tinggi atau ultrasonikasi. Selain itu, penggunaan alat ini dapat menimbulkan peningkatan suhu akibat energi geser, yang berpotensi mempengaruhi kestabilan dan karakteristik formulasi nanoemulsi (Ermawati *et al.*, 2023)

d. Mikrofluidisasi

Secara prinsip, *mikrofluidizer* bekerja dengan mekanisme yang serupa dengan *homogenizer* bertekanan tinggi, perbedaannya terletak pada desain dan sistem aliran fluida di dalam alat. Dalam prosesnya, cairan dialirkan melalui saluran sempit dengan kecepatan tinggi, sehingga terjadi gaya intensi dan fenomena kavitasi yang mampu memecah droplet menjadi partikel berukuran nano. Kombinasi gaya tersebut menghasilkan nanoemulsi dengan ukuran partikel yang sangat halus serta kestabilan yang tinggi (Pavoni *et al.*, 2020)

2.6 Bakteri Uji

Bakteri uji merupakan mikroorganisme yang digunakan sebagai model atau indikator dalam pengujian aktivitas antimikroba suatu zat. Pemilihan bakteri uji didasarkan pada karakteristik tertentu yang mewakili kelompok bakteri patogen atau non patogen, sehingga dapat menunjukkan aktivitas dan spektrum kerja suatu antimikroba. Penggunaan bakteri uji akan memungkinkan peneliti menilai kemampuan suatu bahan dalam menghambat atau membunuh bakteri (Hossain *et al.*, 2024)

2.6.1 Bakteri Gram Positif

a. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif berbentuk kokus yang biasanya tersusun berkelompok menyerupai buah anggur. Bakteri ini bersifat tidak bergerak atau non motil, tidak membentuk spora, serta termasuk dalam golongan fakultatif anaerob yang mampu

berkembang dengan baik pada lingkungan dengan maupun tanpa oksigen (Pinho *et al.*, 2025). Secara biokimia, *Staphylococcus aureus* bersifat katalase positif dan koagulase positif, yang membedakannya dari spesies *Staphylococcus* lainnya. Selain sebagai flora normal pada kulit dan mukosa hidung, bakteri ini dapat menjadi patogen oportunistik penyebab banyak infeksi seperti infeksi kulit serta penyakit berat seperti pneumonia, sepsis, dan endokarditis (Pinho *et al.*, 2025)

1. Taksonomi

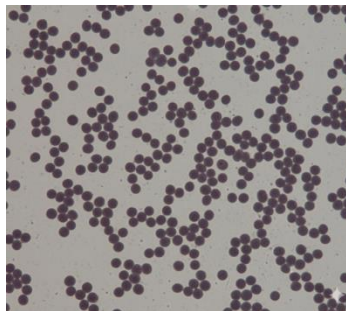
Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* menurut (Gherardi, Di Bonaventura and Savini, 2018) dijabarkan pada **tabel 2.2**

Tabel 2.2 Taksonomi *Staphylococcus aureus*

Kategori	Keterangan
Domain	<i>Bacteria</i>
Kingdom	<i>Eubacteria</i>
Filum	<i>Firmicutes</i>
Kelas	<i>Bacilli</i>
Ordo	<i>Bacillales</i>
Famili	<i>Staphylococcaceae</i>
Genus	<i>Staphylococcus</i>
Spesies	<i>Staphylococcus aureus</i>

2. Morfologi

Staphylococcus aureus digambarkan sebagai bakteri gram positif berbentuk kokus dengan diameter sekitar 0,7-1,2 μm yang tersusun seperti kelompok buah anggur yang tidak teratur (Pingkan *et al.*, 2022)



Gambar 2.8. Morfologi *Staphylococcus aureus*
(Gherardi, Di Bonaventura and Savini, 2018)

3. Patogenitas

Patogenitas *Staphylococcus aureus* berkaitan erat dengan berbagai faktor virulensi yang berperan penting terhadap kemampuannya dalam menyebabkan infeksi pada manusia maupun hewan. *Staphylococcus aureus* menghasilkan berbagai komponen seperti protein A yang dapat mengikat imunoglobulin dan menghambat proses fagositosis oleh sel imun, serta toksin seperti enterotoksin dan toksin sindrom syok toksik (TSST-1) yang menjadi penyebab keracunan makanan dan sindrom syok toksik. (Baron, 1996; Umarudin, 2023)

b. Staphylococcus epidermidis

Bakteri *Staphylococcus epidermidis* tergolong dalam bakteri gram positif flora normal pada manusia. Meskipun umumnya bersifat komensial dan berperan menjaga homeostatis kulit, bakteri ini juga dapat bersifat patogen oportunistik, terutama pada infeksi yang berkaitan dengan implan dan pembentukan biofilm yang resisten terhadap antibiotik (Severn and Horswill, 2023)

1. Taksonomi

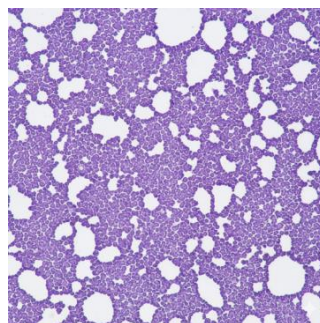
Klasifikasi bakteri *Staphylococcus epidermidis* menurut (Severn and Horswill, 2023) diuraikan dalam **Tabel 2.3**.

Tabel 2.3 Taksonomi *Staphylococcus epidermidis*

Kategori	Keterangan
Domain	<i>Bacteria</i>
Kingdom	<i>Eubacteria</i>
Filum	<i>Firmicutes</i>
Kelas	<i>Bacilli</i>
Ordo	<i>Bacillales</i>
Famili	<i>Staphylococcaceae</i>
Genus	<i>Staphylococcus</i>
Spesies	<i>Staphylococcus epidermidis</i>

2. Morfologi

Secara morfologi, bakteri ini berbentuk kokus yang tersusun oleh kelompok yang menyerupai anggur. Bakteri ini mampu menghasilkan berbagai protein adhesin yang berperan penting dalam kolonisasi kulit. Selain itu, bakteri ini memiliki berbagai protein permukaan yang membantu menempel pada sel kulit dan matriks ekstraseluler yang menunjukkan morfologi khas *Staphylococcus* kemampuan tinggi untuk berkolonisasi pada jaringan dan benda asing (Severn and Horswill, 2023)



Gambar 2.9. Morfologi *Staphylococcus epidermidis*

(Severn and Horswill, 2023)

3. Patogenitas

Staphylococcus epidermidis memiliki patogenitas oportunistik yang sangat bergantung pada kondisi ruang dan lingkungannya. Meskipun umumnya sebagai bakteri komensal kulit, bakteri ini dapat menjadi penyebab utama infeksi terkait implan medis melalui pembentukan biofilm yang melindungi sel bakteri dari sistem imun antibiotik. Patogenitasnya diperkuat oleh kemampuan menghasilkan faktor virulensi seperti protease (EcpA) yang dapat merusak protein kulit, serta *fenol-soluble* modulins yang bersifat sitotoksik dan imunomodulator (Severn and Horswill, 2023)

2.6.2 Bakteri Gram Negatif

a. *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif berbentuk batang (basil), bersifar motil, serta tidak menghasilkan spora. Bakteri ini tumbuh optimal pada suhu 37°C dan sering digunakan sebagai indikator kebersihan serta adanya kontaminasi pada produk makanan (Musthari, Riadi and Situmeang, 2019)

1. Taksonomi

Klasifikasi bakteri *Escherichia coli* menurut (Yu, Banting and Neumann, 2021) ditunjukkan pada **Tabel 2.4**

Tabel 2.4. Taksonomi *Escherichia coli*

Kategori	Keterangan
Domain	<i>Bacteria</i>
Kingdom	<i>Monera</i>
Filum	<i>Proteobacteria</i>
Kelas	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordo	<i>Enterobacterales</i>
Famili	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	<i>Escherichia</i>
Spesies	<i>Escherichia coli</i>

2. Morfologi

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang dengan ukuran sekitar 1-3 μm panjang 0,4-0,7 μm lebar, dan memiliki flagela peritrik. Koloni *Escherichia coli* dalam media nutrient agar tampak bulat, halus, berwarna abu-abu keputihan. Pewarnaannya menunjukkan warna merah muda, menandakan dinding sel tipis yang tersusun atas lapisan peptidoglikan (Yu, Banting and Neumann, 2021)



Gambar 2.10. Morfologi *Escherichia coli*

(Yu, Banting and Neumann, 2021)

3. Patogenitas

Escherichia coli merupakan bakteri patogen yang memiliki beberapa jenis strain dengan mekanisme patogenesis yang berbeda-beda. Enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC) menghasilkan dua jenis enterotoksin, yaitu toksin tahan panas (LT-I dan LT-II) serta toksin tahan panas (STa dan STb), yang berperan dalam peningkatan sekresi ion dan air di usus sehingga menyebabkan diare cair. Enteropatogenik *Escherichia coli* (EPEC) menyebabkan kerusakan mikrovili pada epitel usus halus melalui proses attachment and effacement, yang dimediasi oleh pili dan gen pada lokus penipisan enterosit, serta melibatkan sistem sekresi tipe III untuk memasukkan protein virulen ke dalam sel inang (Umarudin, 2023)

Enteroagregatif *Escherichia coli* (EAEC) memiliki kemampuan untuk membentuk biofilm kental di permukaan usus, yang melindungi bakteri dari sistem imun dan antibiotik, serta menghasilkan toksin yang memicu sekresi cairan berlebih. Sementara itu, Enterohemoragik *Escherichia coli* (EHEC) menghasilkan racun shiga yang menghambat sintesis protein pada sel endotel ginjal dan dapat menyebabkan sindrom untuk hemolitik. Adapun Enteroinvasif *Escherichia coli* (EIEC) memiliki kemampuan menyerang dan merusak epitel kolon melalui mekanisme invasi intraseluler yang menyebabkan inflamasi dan ulserasi sehingga menimbulkan gejala disentri (Umarudin, 2023)

b. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa termasuk salah satu flora normal pada usus serta kulit manusia. Bakteri ini bersifat saprofit, namun dapat juga menjadi penyebab penyakit serius pada individu dengan pertahanan tubuh yang lemah (Umarudin, 2023)

1. Taksonomi

Klasifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ditunjukkan pada **Tabel 2.5.**

Tabel 2.5. Taksonomi *Pseudomonas aeruginosa*

Kategori	Keterangan
Domain	<i>Bacteria</i>
Kingdom	<i>Monera</i>
Filum	<i>Pseudomonadota</i>
Kelas	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordo	<i>Pseudomonadales</i>
Famili	<i>Pseudomonaceae</i>
Genus	<i>Pseudomonas</i>
Spesies	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Sumber: (Umarudin, 2023)

2. Morfologi

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri yang berbentuk batag dengan ukuran sekitar 0,6 x 2 μm . Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif, dan umumnya tersusun secara tunggal, berpasangan, atau kadang membentuk rantai pendek. Pertumbuhannya sangat baik pada berbagai jenis media dengan suhu optimal antara 37-42°C. Serta bersifat anaerob obligat (Umarudin, 2023)



Gambar 2.1. Morfologi *Pseudomonas aeruginosa*

(Umarudin, 2023)

3. Patogenitas

Pseudomonas aeruginosa dapat bersifat patogen karena memiliki banyak faktor yang mendukung kemampuannya dalam menimbulkan penyakit. Kemampuannya menempel pada sel inang dengan bantuan flagela dan pili tipe IV, serta membentuk lapisan pelindung berupa biofilm yang membuatnya sulit dibasmi. Bakteri ini juga dapat menghasilkan berbagai racun enzim seperti eksotoksin A, elastase, dan protease yang dapat merusak jaringan tubuh. Bakteri ini menjadi penyebab infeksi berat, terutama pada pasien dengan daya tahan tubuh lemah dan sering kali sulit diobati karena sifatnya yang resisten terhadap banyak antibiotik.

2.7 Metode Uji Bakteri

2.7.1 Metode Difusi

a. Metode Sumuran

Metode difusi sumuran termasuk salah satu teknik yang umum digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri. Prinsip dari metode ini yaitu dengan membuat sumuran atau lubang kecil pada media agar padat yang telah diinokulasikan bakteri uji, kemudian sumuran tersebut diisi dengan larutan atau ekstrak pada konsentrasi tertentu. Selama inkubasi, senyawa aktif akan berdifusi ke dalam media dan menghambat pertumbuhan bakteri di sekitarnya. Adanya zona bening disekitar sumuran, yang disebut zona hambat, menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari senyawa yang di uji (Purnamaningsih dan Supadmi., 2020).

Media yang sering digunakan adalah *Muller Hinton Agar (MHA)* karena mampu mendukung pertumbuhan bakteri serta memberikan hasil yang konsisten. Suspensi bakteri dengan kekeruhan standar diinokulasikan secara merata, lalu dibuat sumuran berdiameter 6 mm. Masing-masing sumuran diisi dengan dengan senyawa uji, biasanya sekita 50 µl dengan variasi konsentrasi tertentu. Selanjutnya, cawan agar diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi selesai, diameter zona hambat yang muncul diukur menggunakan alat ukur jangka sorong (Purnamaningsih dan Supadmi., 2020).

b. Metode Cakram

Metode difusi cakram merupakan metode yang umum dipakai untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri dari suatu senyawa atau ekstrak. Prinsip dasar metode ini adalah dengan menempatkan cakram kertas steril yang telah direndam dalam larutan uji dengan konsentrasi tertentu pada permukaan media agar padat yang sebelumnya telah diinokulasikan suspensi bakteri uji. Suspensi bakteri biasanya

disiapkan dengan menyesuaikan tingkat kekeruhan sesuai standar McFarland 0,5 agar konsentrasi bakteri seragam dan hasil pengujian lebih terkontrol. Pada saat yang sama, cakram antibiotik komersial digunakan sebagai kontrol positif untuk memastikan kepekaan bakteri, sedangkan cakram kosong atau yang direndam pelarut berfungsi sebagai kontrol negatif. Setelah cakram diletakkan secara aseptis pada media agar, kemudian cawan diinkubasi dalam kondisi terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam. Selama masa inkubasi, senyawa aktif dalam larutan uji berdifusi ke dalam media agar dan berinteraksi dengan bakteri, aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat berupa area bening di sekitar cakram tempat pertumbuhan bakteri terhambat (Muiz *et al.*, 2021).

c. Metode Silinder

Metode difusi silinder termasuk salah satu cara yang digunakan untuk menilai aktivitas antibakteri dari suatu ekstrak terhadap bakteri uji. Prosesnya diawali dengan menyiapkan suspensi bakteri yang disetarakan dengan standar McFarland, kemudian dicampurkan ke dalam media agar cair yang telah disterilkan dan media tersebut dituangkan ke cawan petri dan dibiarkan memadat. Selanjutnya, pada permukaan agar diletakkan silinder uji yang berfungsi sebagai wadah untuk kontrol maupun sampel ekstrak dengan konsentrasi berbeda. Kontrol negatif biasanya berupa aquadest steril, sedangkan kontrol positif menggunakan antibiotik standar, lalu dibandingkan dengan beberapa variasi konsentrasi ekstrak (Hartanti *et al.*, 2023).

Setiap silinder kemudian ditetaskan larutan sesuai perlakuan menggunakan mikropipet dan seluruh prosedur dilakukan dalam kondisi aseptis untuk mencegah kontaminasi. Setelah itu, cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C, umumnya selama 24 jam. Aktivitas antibakteri diamati dari terbentuknya zona hambat atau area bening di sekitar silinder, yang menunjukkan penghambatan bakteri. Diameter

zona hambat tersebut kemudian diukur menggunakan alat ukur seperti jangka sorong untuk menilai efektivitas antibakteri dari ekstrak yang diuji (Hartanti *et al.*, 2023).

2.7.2 Metode Dilusi

a. Dilusi Cair (*Broth Dilution Test*)

Metode dilusi cair merupakan salah satu teknik yang umum digunakan untuk menguji aktivitas antibakteri dengan cara mengamati pertumbuhan bakteri pada media cair yang mengandung berbagai konsentrasi sampel uji. Prinsipnya adalah mencampurkan ekstrak atau senyawa uji dengan media cair steril, kemudian diinokulasi dengan suspensi bakteri uji yang kekeruhannya telah distandarkan menggunakan McFarland. Selain itu, disiapkan pula kontrol positif dengan antibiotik standar serta kontrol negatif tanpa bakteri untuk memastikan validitas hasil (Pakadang *et al.*, 2021).

Setelah dilakukan inokulasi, media diinkubasi pada suhu 37°C selama waktu tertentu. Hasil pengamatan digunakan untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (MIC), yakni konsentrasi terendah dari sampel yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Untuk mengetahui konsentrasi bunuh minimum (MBC), inkubasi biasanya diperpanjang guna melihat apakah bakteri benar-benar mati atau hanya terhambat pertumbuhannya (Padakang *et al.*, 2021).

b. Dilusi Padat (*Solid Dilution Test*)

Metode ini merupakan teknik yang digunakan dalam menentukan konsentrasi bunuh minimum (MBC). Pada metode ini memiliki prinsip yang sama seperti dilusi cair, hanya saja media yang digunakan merupakan media padat. Perlakuan dilakukan dengan mikroba uji diinokulasikan ke dalam media agar yang telah dicampur dengan agen antimikroba pada konsentrasi tertentu. Kelebihan dari

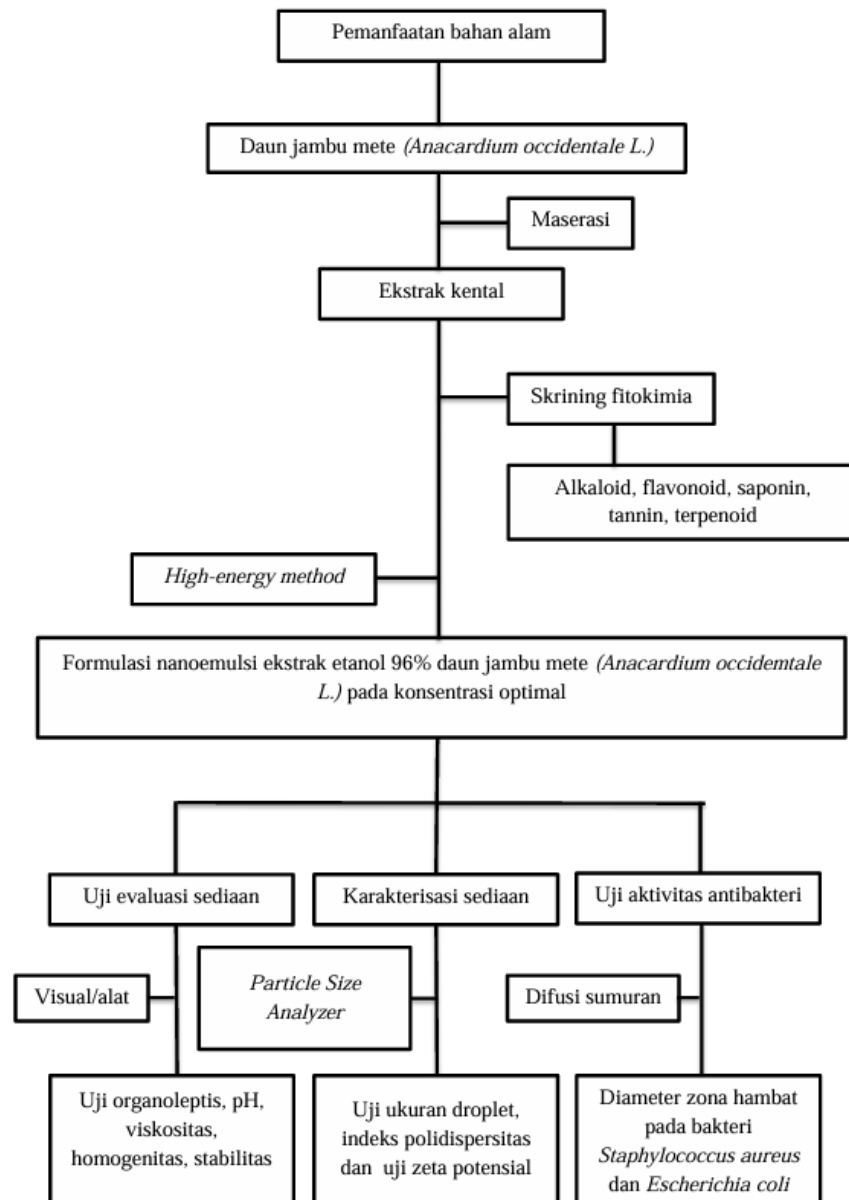
metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba dapat dipakai sekaligus untuk menguji beberapa jenis mikroba (Fitriana *et al.*, 2019).

2.8 Kerangka Penelitian

2.8.1 Kerangka Teori

Penelitian ini berangkat dari bahan alam, yaitu daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) yang sejak lama dikenal mengandung berbagai senyawa aktif dengan potensi biologis. Daun ini kemudian diekstraksi dengan metode maserasi hingga diperoleh ekstrak kental yang selanjutnya diuji secara fitokimia untuk mengetahui kandungan metabolit sekundernya, yaitu adanya alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin, kelompok senyawa yang sering dilaporkan memiliki kemampuan antibakteri. Temuan ini menjadi dasar untuk mengembangkan ekstrak daun jambu mete ke bentuk sediaan yang lebih efektif, yakni nanoemulsi.

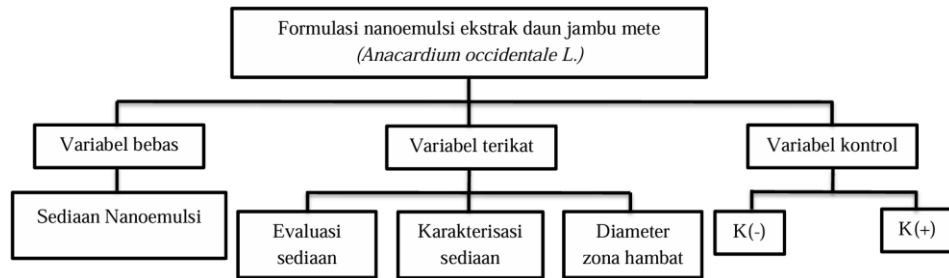
Proses formulasi dilakukan dengan metode *high-energy method* yang mampu menghasilkan droplet berukuran sangat kecil, sehingga diharapkan dapat meningkatkan stabilitas fisik sediaan sekaligus memperkuat efek antibakteri. Nanoemulsi yang diperoleh kemudian dilakukan evaluasi sediaan, yaitu uji organoleptis, pH, viskositas, homogenitas, dan stabilitas guna memastikan mutu sediaan. Karakterisasi juga dilakukan dengan alat khusus yaitu *particle size analyzer* guna mengetahui ukuran droplet dan nilai zeta potensial, karena parameter ini berkaitan dengan kestabilan sistem nanoemulsi. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran menggunakan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* sebagai bakteri uji. Zona hambat yang muncul di sekitar sumuran kemudian diamati dan diukur diameternya untuk menunjukkan sejauh mana nanoemulsi daun jambu mete dapat menghambat pertumbuhan bakteri.



Gambar 2.11. Kerangka Teori

2.8.2 Kerangka Konsep

Sediaan nanoemulsi akan diformulasikan dalam formulasi optimal sebagai variabel bebas. Variabel kontrol yaitu sediaan tanpa ekstrak daun jambu mete sebagai kontrol negatif dan antibiotik ciprofloxacin ($10\mu\text{mL}$) sebagai kontrol positif. Adapun variabel terikat yaitu evaluasi sediaan nanoemulsi, karakterisasi sediaan nanoemulsi, dan diameter zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.



Gambar 2.12. Kerangka Konsep

2.9 Hipotesis

2.9.1 Hipotesis Null (H0)

1. Hasil uji fisikokimia dan karakterisasi ukuran partikel dan zeta potensial dari nanoemulsi ekstrak etanol 96% daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) tidak memenuhi syarat evaluasi sediaan nanoemulsi
2. Tidak terdapat perbedaan zona hambat pemberian nanoemulsi ekstrak etanol 96% daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. dan *Escherichia coli*

2.9.2 Hipotesis Alternatif (H1)

1. Hasil uji fisikokimia dan karakterisasi ukuran partikel dan zeta potensial dari nanoemulsi ekstrak etanol 96% daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) memenuhi syarat evaluasi sediaan nanoemulsi
2. Terdapat perbedaan zona hambat pemberian nanoemulsi ekstrak etanol 96% daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. dan *Escherichia coli*

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam penelitian eksperimental yang memformulasikan ekstrak daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) sebagai sediaan nanoemulsi dengan potensi sebagai antibakteri. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran untuk mengetahui efek nanoemulsi ekstrak (*Anacardium occidentale L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di:

1. Laboratorium Botani Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung untuk melakukan uji determinasi daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*).
2. Laboratorium Kimia Analisis Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk melakukan pembuatan ekstrak etanol 96% daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*).
3. Laboratorium Farmasetika Dasar Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk melakukan pembuatan sediaan nanoemulsi.
4. *Characterization Laboratory* Fakultas Teknik Universitas No. untuk melakukan karakterisasi sediaan nanoemulsi ekstrak etanol 96% daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*).

5. Laboratorium Mikrobiologi dan Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung untuk melakukan uji antibakteri sediaan nanoemulsi ekstrak etanol 96% daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian uji potensi antibakteri nanoemulsi berbasis ekstrak etanol 96% daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* ini akan dilakukan pada bulan Oktober 2025 – Januari 2026.

3.3 Alat dan Bahan Penelitian

3.3.1 Alat Penelitian

Particle Size Analyzer, *Rotary evaporator* (Buchi®), oven (Mammert®), incubator (Faithful®), waterbath, *magnetic stirrer*, Viskometer Brookfield (Ametek®), Ph meter, bejana maserasi, timbangan analitik (Shimadzu®), Erlenmeyer (Pyrex®), gelas beaker, rak tabung reaksi (Pyrex®), jangka sorong, mikropipet (Iwaki®), cawan petri (Normax®), cawan porselen (Pyrex®), corong kaca, batang pengaduk, pipet tetes (Pyrex®), gunting, pinset, sudip, jarum ose.

3.3.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu ekstrak daun jambu mete, tween 80, polietilene glikol 400, aquadest, etanol 96%, *virgin coconut oil*, larutan standar McFarland 0,5, reagen mayer, reagen dragendorff, reagen wagner, serbuk mg, HCl pekat, asam asetat anhidra, asam sulfat pekat, masker kertas saring, aluminium foil, MHA (*Mueller Hinton Agar*), bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah formulasi nanoemulsi ekstrak etanol 96% daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*).

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah hasil uji evaluasi pada sediaan nanoemulsi, hasil karakterisasi sediaan nanoemulsi, dan ukuran diameter zona hambat (mm) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

3.4.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah sediaan nanoemulsi tanpa ekstrak daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) sebagai kontrol negatif dan antibiotik ciprofloxacin (10 μ /ml) sebagai kontrol positif.

3.5 Definisi Operasional

Definisi operasional merupakan suatu pernyataan mengenai prosedur atau tindakan yang diperlukan untuk mengukur atau mengidentifikasi terjadinya suatu variabel dalam konteks tertentu (Harvey *et al.*, 2024).

Tabel 3.1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat ukur	Hasil ukur	Skala ukur
Variabel bebas	Formulasi nanoemulsi ekstrak etanol 96% daun jambu mete (<i>Anacardium occidentale L.</i>)	Timbangan	Formulasi nanoemulsi	Rasio
Variabel terikat				
Diameter zona hambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus</i>	Zona hambat adalah area bening (tidak ada pertumbuhan mikroba) yang	Jangka sorong	Zona hambat dalam satuan mm	Rasio

<i>aureus</i>	terbentuk di sekitar antibakteri di agar setelah periode inkubasi, dimana senyawa antibakteri telah berdifusi ke dalam medium agar dengan konsentrasi yang cukup untuk menghambat pertumbuhan mikroba (Shen <i>et al.</i> , 2024)					
Variabel terikat						
Uji sediaan nanoemulsi	evaluasi	Evaluasi sediaan nanoemulsi	Syarat masing-masing uji evaluasi	mutu	Uji organoleptis, uji Ph, uji homogenitas, uji viskositas, uji stabilitas	Kategori numerik
Variabel terikat						
Karakterisasi nanoemulsi	Karakterisasi nanoemulsi		<i>Particel analyzer</i>	<i>size</i>	Uji ukuran droplet dan zeta potensial	Rasio
Variabel kontrol						
Formula kontrol negatif (-) ekstrak	Formulasi nanoemulsi tanpa ekstrak		Jangka sorong	Zona dalam mm	hambat satuan	Rasio
Variabel kontrol						
Formulasi kontrol positif (+)	Antibiotik ciprofloxacin (10 μ /ml)		Jangka sorong	Zona dalam mm	hambat satuan	Rasio

3.6 Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah sediaan nanoemulsi ekstrak etanol 96% daun jambu mete. Adapun kontrol negatif (-) yaitu nanoemulsi tanpa ekstrak dan kontrol antibiotik ciprofloxacin (10 μ /ml). Pada penelitian ini, setiap formulasi nanoemulsi termasuk kontrol positif dan kontrol negatif, dilakukan tiga kali pengujian ulang dengan total kelompok perlakuan sebanyak tiga kelompok pada dua bakteri, sehingga total pengulangan mencapai 18 kali. Pengulangan tiga kali ini mengacu pada penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa pengujian antibakteri dilakukan dengan tiga kali

pengulangan untuk setiap perlakuan sebagai standar minimal replikasi guna menjamin konsistensi serta keabsahan data (Manso *et al.*, 2023)

3.6.1 Kelompok Perlakuan dalam Uji Aktivitas Antibakteri

Pada penelitian ini, kelompok perlakuan uji aktivitas antibakteri adalah sebanyak tiga kelompok. Kelompok uji dapat dilihat pada **Tabel 3.2**

Tabel 3.2. Kelompok Perlakuan dalam Uji Antibakteri

No.	Kelompok	Perlakuan
1.	K(-)	Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> diuji dengan nanoemulsi tanpa ekstrak daun jambu mete
2.	F	Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> yang diuji dengan nanoemulsi ekstrak daun jambu mete pada konsentrasi optimal hasil penelitian terkait.
3.	K(+)	Kelompok <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i> yang diuji dengan antibiotik ciprofloxacin (10 μ /ml)

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan identitas spesies yang digunakan dalam penelitian, sehingga kesesuaian bahan dengan tujuan penelitian dapat terjamin. Identifikasi dilakukan berdasarkan ciri morfologi makroskopik seperti bentuk daun dan susunan daun, tepi daun, warna, serta karakteristik batang dan tangkai, kemudian dibandingkan dengan kunci determinasi maupun spesimen herbarium sebagai pembanding. Selain pengamatan makroskopik, penentuan spesies juga dapat diperkuat dengan karakteristik tambahan seperti bau khas, tekstur simplisia, atau uji mikroskopik sederhana bila diperlukan. Pendekatan ini sesuai dengan metode identifikasi botani yang diterapkan pada penelitian tanaman obat (Ramadani *et al.*, 2017) Proses determinasi tanaman pada penelitian ini akan dilakukan oleh Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

3.7.2 Preparasi Sampel

3.7.2.1 Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Jambu Mete

Pembuatan serbuk simplisia dimulai dengan tahap pencucian dan sortasi basah untuk memisahkan kotoran serta bagian yang rusak. Selanjutnya, daun dipotong dengan ukuran sekitar 2 cm sebelum masuk tahap pengeringan (Dharma *et al.*, 2020). Pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan di bawah sinar matahari. Penelitian sebelumnya oleh (Wahdaningsih *et al.*, 2023) menunjukkan bahwa metode pengeringan dengan matahari menghasilkan tingkat flavonoid total dan fenol total yang lebih tinggi dibandingkan dengan pengeringan oven. Setelah kering, daun digiling menggunakan blender hingga halus, lalu diayak untuk memperoleh serbuk yang seragam.

3.7.2.2 Pembuatan Ekstrak Daun Jambu Mete

Pembuatan ekstrak daun jambu mete menggunakan pelarut etanol 96%. Pemilihan etanol 96% sebagai pelarut didasarkan pada kemampuannya dalam mengekstrak senyawa polar dan semi-polar, sehingga lebih optimal dibanding etanol absolut yang cenderung hanya melarutkan senyawa nonpolar (Junior *et al.*, 2025). Metode ekstraksi yang dipilih pada penelitian ini adalah maserasi. Metode ini memiliki kelebihan berupa peralatan dan prosedur yang sederhana, tingkat ekstraksi tinggi, serta fleksibilitas dalam pemilihan pelarut sesuai dengan komponen yang ingin dipilih (Garcia-Vaquero *et al.*, 2018)

Pembuatan ekstrak diawali dengan penimbangan satu bagian serbuk kering simplisia, dalam penelitian ini sebanyak 1.000 mg ke dalam maserator, kemudian tambahkan 10 bagian pelarut, dalam penelitian ini yaitu sebanyak 10 L (Kementerian Kesehatan RI, 2017). Kemudian, sampel direndam selama 3x24

jam dengan diaduk sesekali. Setelah 3x24 jam, sampel kembali dimaserasi selama 3x24 jam. Kemudian, filtrat etanol 96% disaring untuk memperoleh ekstrak murni. Selanjutnya, proses penguapan dilakukan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C guna menghilangkan pelarut sekaligus memekatkan ekstrak (Pedro *et al.*, 2025). Ekstrak kemudian dikeringkan lebih lanjut menggunakan *waterbath* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental (Nurwaini, Hakiki and Kusumowati, 2024). Kemudian, dilakukan perhitungan rendemen dengan syarat rendemen pada ekstrak kental daun jambu mete yaitu tidak kurang dari 7,8% (Kementerian Kesehatan RI, 2017). Rumus perhitungan rendemen sebagai berikut (Alviola Bani *et al.*, 2023).

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

3.7.3 Skrining Fitokimia

3.7.3.1 Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 g ekstrak kental dilarutkan dalam aquadest dan ditambahkan 1 ml asam klorida 2N, kemudian dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit. Kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff, Mayer, dan Wagner. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentunya endapan berwarna jingga pada pereaksi Dragendorff, endapan putih pada pereaksi Mayer, dan warna jingga pada pereaksi Wagner (Purwanti *et al.*, 2025).

3.7.3.2 Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak kental dilarutkan oleh 10 ml aquadest dan ditambahkan serbuk mg 0,5 g. Kemudian ditambahkan 5 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna kuning jingga hingga merah menunjukkan hasil positif adanya kandungan flavonoid (Purwanti *et al.*, 2025)

3.7.3.3 Uji Saponin

Sebanyak 0,5 g ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml air panas. Setelah didinginkan, larutan dikocok kuat selama 10 detik. Apabila terbentuk busa stabil dengan tinggi 1-10 cm yang bertahan lebih dari 10 menit, maka sampel dinyatakan positif mengandung saponin (Purwanti *et al.*, 2025)

3.7.3.4 Uji Tanin

Sebanyak 0,5 g ekstrak kental dicampurkan dengan 10 ml larutan FeCl_3 . Terbentuknya warna hijau hingga biru pekat menunjukkan hasil positif adanya kandungan tanin (Purwanti *et al.*, 2025)

3.7.3.4 Uji Terpenoid

Sebanyak 1 ml sampel ekstrak dimasukkan pada tabung reaksi dan ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidra serta 1 tetes asam sulfat pekat. Sampel dinyatakan mengandung terpenoid apabila terjadi perubahan warna menjadi jingga (Purwanti *et al.*, 2025)

3.7.4 Formulasi Nanoemulsi

3.7.4.1 Formula Sediaan Nanoemulsi

Formulasi nanoemulsi ekstrak daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*) pada **Tabel 3.3**.

Tabel 3.3 Formulasi Sediaan Nanoemulsi

Nama Zat	Fungsi	Jumlah (%)
Ekstrak daun jambu mete	Zat aktif	5%
Tween 80	Surfaktan	60%
Polietilene Glikol 400	Ko-surfaktan	10%
Virgin coconut oil	Fase minyak	25%

3.7.4.2 Metode Pembuatan Nanoemulsi

Pembuatan nanoemulsi dilakukan dengan menggunakan *High energy methode*. Langkah kerja dilakukan sebagai berikut (Fitriah *et al.*, 2023):

1. Pembuatan nanoemulsi ekstrak daun jambu mete diawali dengan persiapan bahan ekstrak daun jambu mete dan komponen lainnya yaitu *virgin coconut oil (VCO)* dan campuran surfaktan dan kosurfaktan, yaitu tween 80 dan PEG sesuai dengan komposisi hasil optimasi.
2. Dibuat campuran tween 80 dan PEG 400 lalu ditambahkan fase minyak, yaitu *virgin coconut oil (VCO)*.
3. Ekstrak daun jambu mete ditambahkan pada campuran kemudian dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 1400 rpm selama 5 menit. Kemudian dilakukan ultrasonikasi selama 40 menit

3.7.5 Evaluasi Sediaan Nanoemulsi

3.7.5.1 Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan dengan memanfaatkan kemampuan indra manusia untuk menilai sifat fisik sediaan. Evaluasi organoleptik pada nanoemulsi meliputi pengamatan terhadap warna, bau, kejernihan, serta adanya pemisahan fase. Pemeriksaan ini bertujuan sebagai bentuk pengawasan mutu sediaan (Widyastuti and Saryanti, 2023)

3.7.5.2 Uji Ph

Pengukuran Ph dilakukan dengan menggunakan Ph meter. Elektroda pada Ph meter dikalibrasi dengan menggunakan larutan Ph netral, dan larutan Ph asam. Selanjutnya, elektroda dicuci dengan aquadest atau air bebas mineral, keringkan menggunakan tisu. Elektroda yang telah dikalibrasi dicelupkan ke dalam sampel

sediaan nanoemulsi hingga menunjukkan pembacaan yang stabil. Persyaratan Ph sediaan oral yaitu 4-7 (Widyastuti and Saryanti, 2023).

3.7.5.3 Uji Viskositas

Pengujian viskositas pada sediaan nanoemulsi dilakukan dengan menggunakan alat Viskometer Brookfield No. 3 dengan kecepatan putaran 30 rpm. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kekentalan sediaan nanoemulsi. Adapun rentang viskositas pada sediaan nanoemulsi yang baik adalah 10-2000 Cps (Widyastuti and Saryanti, 2023)

3.7.5.5 Uji Stabilitas

Uji stabilitas dilakukan dengan menempatkan formula nanoemulsi dalam botol kaca berkapasitas 100 ml. Pengujian dilakukan melalui enam siklus penyimpanan, yaitu menyimpan sediaan pada suhu dingin 4°C di lemari es, kemudian dipindahkan ke suhu ruang selama 48 jam. Setelah setiap siklus, sediaan diamati untuk menilai adanya perubahan berupa Ph dan viskositas (Widyastuti and Saryanti, 2023)

3.7.6 Karakterisasi Sediaan Nanoemulsi

3.7.6.1 Uji Ukuran Droplet

Pengujian ukuran droplet sediaan nanoemulsi dilakukan dengan menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA). Formulasi nanoemulsi dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian dibaca ukuran partikelnya. Ukuran partikel yang memenuhi rentang nanopartikel yaitu pada 20-200 nm (Hernawan Nugroho and Permata Sari, 2018).

3.7.6.2 Uji Indeks Polidispersitas

Pengujian indeks polidispersitas (PDI) nanoemulsi dilakukan dengan prinsip *Dynamic Light Scattering* (DLS) menggunakan alat *Particle Size Analyzer*. Nilai PDI dianalisis sebagai indikator homogenitas ukuran droplet, di mana nilai $PDI \leq 0,3$ merupakan distribusi ukuran yang cukup sempit dan seragam serta mencerminkan stabilitas fisik nanoemulsi yang baik (Akhter *et al.*, 2024).

3.7.6.2 Uji Zeta Potensial

Analisis zeta potensial dilakukan dengan menggunakan *Particle Size Analyzer*. Sampel nanoemulsi diambil secukupnya, dimasukkan dalam kuvet, kemudian ditempatkan pada holder. Selanjutnya, dipilih menu pengukuran zeta potensial (dalam satuan Mv) untuk memperoleh nilai kestabilan koloid dari sediaan. Syarat zeta potensial yang baik untuk sediaan nanoemulsi adalah ± 30 Mv (Widyastuti and Saryanti, 2023)

3.7.7 Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Nanoemulsi

3.7.7.1 Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat bertujuan untuk mencegah kontaminasi oleh mikroorganisme. Alat yang akan digunakan dibungkus dengan aluminium foil, kemudian dipanaskan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15. Peralatan gelas, yaitu pinset disterilisasi dengan api menggunakan bunsen (Jildeh *et al.*, 2021).

3.7.7.2 Pembuatan Larutan McFarland

Larutan McFarland 0,5 dibuat dengan mencampurkan larutan Barium Klorida (BaCl_2) dan Asam Sulfat (H_2SO_4) pada konsentrasi 1.5×10^8 CFU/ml sehingga menghasilkan endapan

Barium Sulfat yang menyebabkan kekeruhan sesuai standar (Mahesh *et al.*, 2025).

3.7.7.3 Pembuatan Media MHA (*Mueller Hinton Agar*)

Media *Mueller Hinton Agar* disiapkan dengan menimbang 38 g serbuk MHA dan melarutkannya dalam 1000 ml air terdeionisasi/aquadest pada gelas beaker. Larutan dipanaskan dengan pengadukan (*hot plate* atau *magnetic stirrer*) hingga mendidih dan tampak bening untuk memastikan semua komponen terlarut sempurna. Setelah itu, larutan didinginkan sedikit dan disterilisasi dengan autoklaf pada 121°C selama 15 menit. Setelah sterilisasi, media dibiarkan mendingin hingga ±45-50°C lalu dituangkan ke dalam cawan petri steril dengan volume penuangan seragam (±15-25 ml per cawan). Piring yang sudah padat kemudian disimpan pada suhu 2-8°C (Ayu Ratmini, 2022).

3.7.7.4 Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan dengan mengambil 1 ose bakteri dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl fisiologis 0,9%. Kemudian tabung reaksi dikocok hingga campuran homogen dan memiliki kekeruhan suspensi sesuai dengan standar McFarland (Tyasningsih *et al.*, 2022).

3.7.7.5 Peremajaan Mikroba

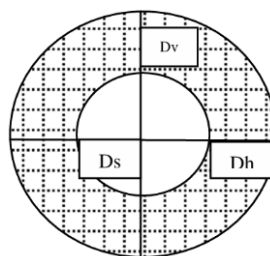
Proses peremajaan bakteri dilakukan dengan mengambil 1 ose bakteri dan goreskan pada media agar, kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Tuttle *et al.*, 2021).

3.7.7.6 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri diawali dengan pembuatan sumuran menggunakan alat pelubang atau pipet. Kemudian, sampel ekstrak ditambahkan ke dalam sumuran. Selanjutnya, cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dan aktivitas antibakteri diamati dari terbentuknya zona hambat di sekitar sumuran (Bubonja-Šonje *et al.*, 2020).

3.7.7.7 Perhitungan Zona Hambat Bakteri

Zona hambat bakteri diamati pada medium setelah proses inkubasi selama 24 jam. Daerah bening yang terbentuk mengelilingi sumuran menunjukkan adanya sensitivitas bakteri terhadap senyawa antimikroba yang diuji. Luas zona hambat ini ditentukan dengan mengukur diameter jernih secara horizontal dan vertikal dengan menggunakan jangka sorong, kemudian hasil pengukuran dinyatakan dalam satuan milimeter (Tansil *et al.*, 2016).



Gambar 3.1. Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat dihitung menggunakan rumus:

$$\frac{(DH + DV)}{2} - DS$$

Keterangan:



: Zona hambat

DV : Diameter vertikal

DH : Diameter horizontal

DS : Diameter sumuran

(Tansil *et al.*, 2016)

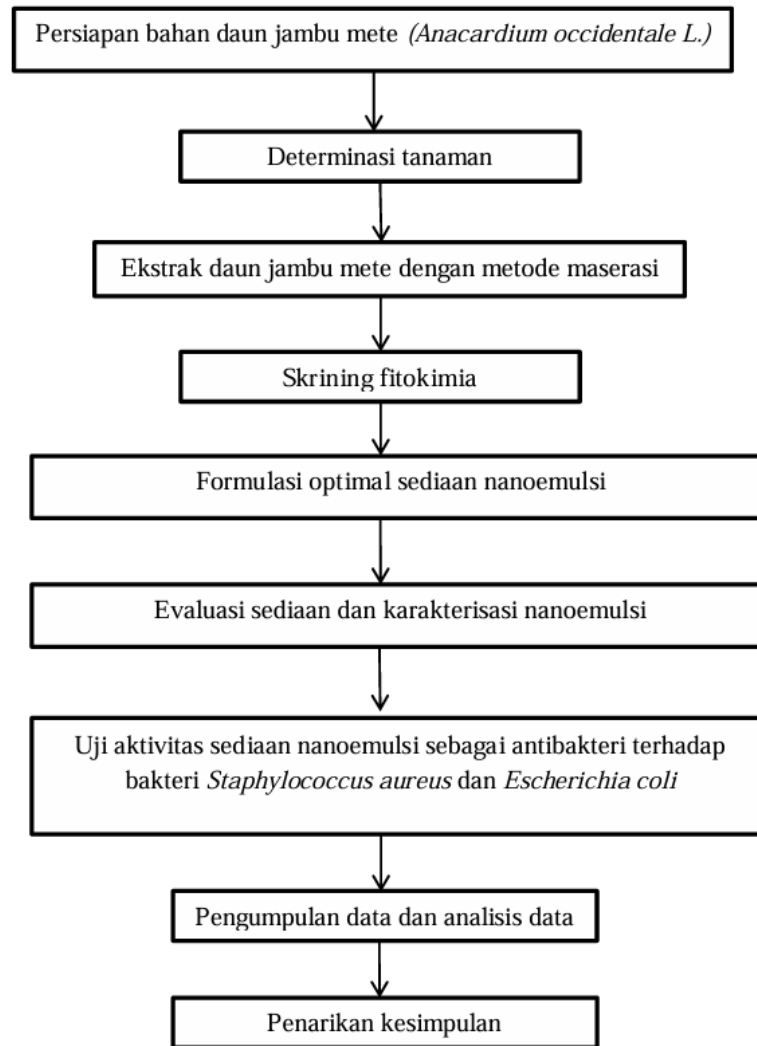
Setelah perhitungan zona hambat, selanjutnya dilakukan kategorisasi terhadap zona hambat. **Tabel 3.4.** merupakan kategorisasi zona hambat bakteri.

Tabel 3.4 Kategorisasi Zona Hambat Bakteri

Kategori	Diameter zona hambat
Lemah	≤ 5 mm
Sedang	5-10 mm
Kuat	10-20 mm
Sangat kuat	≥ 20 mm

Sumber (Sarah *et al.*, 2024)

3.8 Alur Penelitian



Gambar 3.2. Alur Penelitian

3.9 Pengolahan dan Analisis Data

Analisis deskriptif dilakukan untuk menggambarkan hasil evaluasi sediaan nanoemulsi dari seluruh variasi konsentrasi yang diuji, termasuk kontrol positif dan kontrol negatif. Hasil pengujian disajikan dalam bentuk tabel yang mencakup parameter uji organoleptik, Ph, kadar air, bobot jenis, viskositas, dan stabilitas. Setiap pengujian dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan guna memperoleh data yang lebih akurat, dan data yang ditampilkan dilengkapi dengan keterangan agar lebih mudah dipahami.

Untuk analisis perbedaan rata-rata, data yang digunakan berupa hasil pengukuran zona hambat pertumbuhan bakteri pada formulasi, termasuk kelompok kontrol. Analisis kuantitatif ini dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak statistik IBM SPSS. Tahap pertama adalah uji normalitas dengan metode Shapiro-Wilk untuk menentukan distribusi data. Data dinyatakan berdistribusi normal apabila memperoleh nilai $P > 0,05$. Jika data berdistribusi normal, maka perbedaan rata-rata dianalisis menggunakan uji *Two-Way* ANOVA, sedangkan bila data tidak berdistribusi normal digunakan uji non-parametik Kruskal-Wallis.

3.10 Etik Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik dari Komisis Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selaku institusi tempat penelitian dengan No.81/UN26.18/PP.05.02.00/2026. Surat persetujuan etik dapat dilihat pada **Lampiran 1.**

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Hasil uji fisikokimia pada sediaan nanoemulsi berupa uji organoleptik, uji pH, uji viskositas, dan uji stabiitas memenuhi standar parameter sediaan nanoemulsi yang baik. Hasil uji karakterisasi sediaan nanoemulsi yaitu uji ukuran partikel, uji indeks polidispersitas, dan uji zeta potensial memenuhi standar parameter sediaan nanoemulsi yang baik, yaitu secara berurut sebesar 67.0 ± 7.2 ; 0.191 ± 0.078 ; -32.56 ± 0.72 .
2. Nanoemulsi ekstrak etanol 96% daun jambu mete (*Anacardum occidentale L.*) menunjukkan aktivitas antibakteri sedang terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan aktivitas antibakteri lemah terhadap bakteri gram negatif *Escherichia coli*.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka beberapa saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan uji stabilitas sediaan dalam jangka waktu yang lebih lama untuk mengetahui kestabilan fisik nanoemulsi selama penyimpanan.
2. Disarankan dilakukan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode lain, seperti metode dilusi, untuk memperoleh data yang lebih lengkap mengenai potensi daya hambat nanoemulsi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar, A.R. and Haque, M. (2020) "Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes," *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. Wolters Kluwer Medknow Publications, pp. 1–10.
- Akhter, A. et al. (2024) "*Development and evaluation of nanoemulsion gel loaded., Nanoemulsion*". *Heliyon* 12(3), p. 102.
- Alfaro-Rodríguez, M.C. et al. (2022) "Influence of nanoemulsion/gum ratio on droplet size distribution, rheology and physical stability of nanoemulgels containing inulin and omega-3 fatty acids," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(14), pp. 6397–6403.
- Alviola Bani, A. et al. (2023) "Rasio Nilai Rendamen Dan Lama Ekstraksi Maserat Etanol Daging Buah Burahol (*Stelecocharpus Burahol*) Berdasarkan Cara Preparasi Simplisia," *Makassar Natural Product Journal*, 1(3), pp. 2023–176.
- Ananingsih, V.K. et al. (2024) "Formulation of nanoemulsion parijoto fruit extract (*Medinilla Speciosa*) with variation of tweens stabilizers," *Frontiers in Nutrition*, 11.
- Aprilyanie, I., Handayani, V. and Syarif, R.A. (2023) "Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Buah Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.) Dengan Menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)," *Makassar Natural Product Journal*.
- Artika, L. (2021) "Perbandingan Rendemen Dan Kandungan Kimia Ekstrak Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) Dengan Kepolaran Pelarut Yang Berbeda Comparison Of Result And Chemical Content Of Cashwave Leave Extract (*Anacardium occidentale* L.) With Different Solutions," *Jurnal Kesehatan Pharmasi (Jkpharm)*.
- Astuty, E. et al. (2022) "Aktivitas Antibakteri dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Jambu Mete *Anacardium occidentale* L. Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Antibacterial Activity and Phytochemical

Screening of Ethanol Extract of Cashew Leaves *A. occidentale* L. Against *Escherichia coli*,” 10.

- Auda, I.G., Ali Salman, I.M. and Odah, J.G. (2020) “Efflux pumps of Gram-negatif bacteria in brief,” *Gene Reports*. Elsevier Inc.
- Ayu Ratmini, N. (2022) “Antibacterial of Eight Macrofungi Species Against,” *Journal of Tropical Biodiversity*, 2(2).
- Balouiri, M., Sadiki, M. and Ibnsouda, S.K. (2016) “*Ml Analysis*. Xi’an Jiaotong University ethods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review,” *Journal of Pharmaceutica*, pp. 71–79.
- Belgis (2024) “Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Phenolic Compound From *Anacardium occidentale* Leaf Extract,” *Jurnal Medika Nusantara*, 2(2).
- Bhardwaj, V. (2025) “Antimicrobial Potential of *Cocos nucifera* (Coconut) Oil on Bacterial Isolates,” *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer, pp. 1–8.
- Braz, V.S., Melchior, K. and Moreira, C.G. (2020) “*Escherichia coli* as a Multifaceted Pathogenic and Versatile Bacterium,” *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. Frontiers Media S.A.
- Breyne, K et al. (2017) “Efficacy and Safety of Bovine Associated *Staphylococcus aureus* Phage Cocktail in a Murine Model of Mastitis,” *Frontiers in Microbiology*, 8 (Nov).
- Bubonja-Šonje, M., Knezević, S. and Abram, M. (2020) “Challenges to antimicrobial susceptibility testing of plant-derived polyphenolic compounds,” *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*. Sciendo, pp. 300–311.
- Budiman, A. et al. (2024) “Advancing the Physicochemical Properties and Therapeutic Potential of Plant Extracts Through Amorphous Solid Dispersion Systems,” *Polymers*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
- Cahyaningsih, R., Magos Brehm, J. and Maxted, N. (2021) “Setting the priority medicinal plants for conservation in Indonesia,” *Genetic Resources and Crop Evolution*, 68(5), pp. 2019–2050.
- Cholakova, I. et al. (2022) “Method optimization for viscosity measurement of cutaneous solution,” *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 68(03), pp. 271–272.
- Chuacharoen, T., Prasongsuk, S. and Sabliov, C.M. (2019) “Effect of surfactant concentrations on physicochemical properties and functionality of

curcumin nanoemulsions under conditions relevant to commercial utilization,” *Molecules*, 24(15).

- Csicsák, D. *et al.* (2023) “The Effect of the Particle Size Reduction on the Biorelevant Solubility and Dissolution of Poorly Soluble Drugs with Different Acid-Base Character,” *Pharmaceutics*, 15(1).
- da Silva, B.D. *et al.* (2023) “Antioxidant, Antibacterial and Antibiofilm Activity of Nanoemulsion-Based Natural Compound Delivery Systems Compared with Non-Nanoemulsified Versions,” *Foods*, 12(9).
- Danaei, M. *et al.* (2018) “Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems,” *Pharmaceutics*. MDPI AG.
- Deveci, E. (2025) “Nanoemulsions in cosmetics: Enhancing efficacy and stability,” *Journal of Dermatologic Science and Cosmetic Technology*, p. 100107.
- Dewi, M.K. *et al.* (2022) “Improved Activity of Herbal Medicines through Nanotechnology,” *Nanomaterials*. MDPI.
- Elgailani, I. E., & Ishak, C. Y. (2016) “Methods of Extraction and Characterization of Tannins from Some Acacia Species of Sudan.” *Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry*. 17 (1)
- dos Santos, R.D. *et al.* (2025) “Chemical Characterization and Antimicrobial Activity of Essential Oils and Nanoemulsions of *Eugenia uniflora* and *Psidium guajava*,” *Antibiotiks*, 14(1).
- Dubale, S. *et al.* (2023) “Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity Evaluation of Selected Medicinal Plants in Ethiopia,” *Journal of Experimental Pharmacology*, 15, pp. 51–62.
- Ebbensgaard, A. *et al.* (2018) “The role of outer membrane proteins and lipopolysaccharides for the sensitivity of *Escherichia coli* to antimicrobial peptides,” *Frontiers in Microbiology*, 9(SEP).
- Ebrahimi, P. *et al.* (2023) “Chlorophylls as Natural Bioactive Compounds Existing in Food By-Products: A Critical Review,” *Plants*. MDPI.
- Ermawati, D.E., Rohmani, S. and Beandrade, M.U. (2023) *Buku Monograf Sistem Nanoemulsi Untuk Sediaan Kosmetik*. Pena Persada Kerta Utama
- Farooq, S. *et al.* (2021) “A comprehensive review on polarity, partitioning, and interactions of phenolic antioxidants at oil–water interface of food emulsions,” *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(5), pp. 4250–4277.

- Fitriah, W.O.I. *et al.* (2023) “Optimasi dan Karakterisasi Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Sistem (SNEDDS) Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.),” *Jurnal Mandala Pharmacoon Indonesia*, 9(2), pp. 383–395.
- Gach, M.W. *et al.* (2024) “Antimicrobial resistance among common bacterial pathogens in Indonesia: a sistematic review,” *The Lancet Regional Health -Southeast Asia*, 26.
- García-Melero, J. *et al.* (2022) “Rosmarinic Acid-Loaded Polymeric Nanoparticles Prepared by Low-Energy Nano-Emulsion Templating: Formulation, Biophysical Characterization, and In Vitro Studies†,” *Materials*, 15(13).
- Garcia-Vaquero, M. *et al.* (2018) “Extraction and yield optimisation of fucose, glucans and associated antioxidant activities from laminaria digitata by applying response surface methodology to high intensity ultrasound-assisted extraction,” *Marine Drugs*, 16(8).
- Gherardi, G. (2023) “Staphylococcus aureus Infection: Pathogenesis and Antimicrobial Resistance,” *International Journal of Molecular Sciences*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
- Gherardi, G., Di Bonaventura, G. and Savini, V. (2018) “Staphylococcal Taxonomy,” in *Pet-to-Man Travelling Staphylococci: A World in Progress*. Elsevier, pp. 1–10.
- Giwa, O.E. and Oluwafemi, T.N. (2025) “Antibiotic Susceptibility of Bacterial Isolates Exposed to Anacardium occidentale (Cashew) Ethanol Leaf Extract,” *Faculty of Natural and Applied Sciences Journal of Applied Biological Sciences*, 2(4), pp. 1–7.
- Hajrin, W., *et al.* (2024) ‘Formulation and Characterization of Nanoemulsion from *Brucea javanica* Seed Extract’, *International Journal of Pharmaceutical Science and Technology*.
- Handa, M. *et al.* (2021) “Optimization of Surfactant- And Cosurfactant-Aided Pine Oil Nanoemulsions by Isothermal Low-Energy Methods for Anticholinesterase Activity,” *ACS Omega*, 6(1), pp. 559–568.
- Harvey, D. *et al.* (2024) “A consensus-based agreement on a definition of a process variable: findings from a New Zealand nominal group technique study,” *BMC Health Services Research*, 24(1).
- Hassan, I.A. *et al.* (2019) “Sensitivity of Cashew (*Anacardium occidentale*) Leaf Extract against Selected Urinary Tract Pathogens,” *Journal of Advances in Medicine and Medical Research*, pp. 1–6.
- Hernawan Nugroho, B. and Permata Sari, N. (2018) “Formulation of Self Nano Emulsifying Drug Delivery Sistem (SNEDDS) Karamunting Leaf Extract

- (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) Formulasi Self Nano Emulsifying Drug Delivery Sistem (SNEDDS) Ekstrak Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk),” *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 14(1), pp. 1–8.
- Hidayah, H. *et al.* (2020) “Literature Review Article : Aktivitas Triterpenoid Sebagai Senyawa Antiinflamasi,” *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 2023(16), pp. 430–436.
- Hossain, T.J. (2024) “Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity : A review of protocols, advantages, and limitations,” *European Journal of Microbiology and Immunology*, 14(2), pp. 97–115.
- Jacob, S. *et al.* (2024) “Innovations in Nanoemulsion Technology: Enhancing Drug Delivery for Oral, Parenteral, and Ophthalmic Applications,” *Pharmaceutics*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
- Jarzębski, M. *et al.* (2020) “Plant extracts containing saponins affects the stability and biological activity of hempseed oil emulsion system,” *Molecules*, 25(11).
- Junior, R. *et al.* (2025) “Effect of Ethanol Percentage on Phytochemical Constituent, Antioxidant Activity, and Dermatological Potential of *Cayratia trifolia* (L.) Domin,” *Research Article Indonesian Journal of Pharmacy Indonesian J Pharm.*
- Kaczorová, D. *et al.* (2021) “Influence of extraction solvent on the phenolic profile and bioactivity of two achillea species,” *Molecules*, 26(6).
- Kasaai, M.R. (2025) “Oxidative and hydrolytic deteriorations of lipids and several alternative pathways for their protections: An overview,” *Food Nutrition Chemistry*, 3(1), p. 238.
- Kaur, G. *et al.* (2024) “Recent trends and advancements in nanoemulsions: Production methods, functional properties, applications in food sector, safety and toxicological effects,” *Food Physics*. KeAi Publishing Communications Ltd.
- Kumar, M. *et al.* (2019) “Techniques for formulation of nanoemulsion drug delivery sistem: A review,” *Preventive Nutrition and Food Science*. Korean Society of Food Science and Nutrition, pp. 225–234.
- Lee, J.E. *et al.* (2024) “The Influence of Solvent Choice on the Extraction of Bioactive Compounds from Asteraceae: A Comparative Review,” *Foods*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
- Liu, F. *et al.* (2017) “Controlling the potential gastrointestinal fate of β -carotene emulsions using interfacial engineering: Impact of coating lipid droplets with polyphenol-protein-carbohydrate conjugate,” *Food Chemistry*, 221, pp. 395–403..

- Liu, J. *et al.* (2022) “MCT/LCT Mixed Oil Phase Enhances the Rheological Property and Freeze-Thawing Stability of Emulsion,” *Foods*, 11(5).
- Liu, L. *et al.* (2017) “pH-responsive carriers for oral drug delivery: Challenges and opportunities of current platforms,” *Drug Delivery*. Taylor and Francis Ltd, pp. 569–581.
- Liu, Q. *et al.* (2019) “Food-grade nanoemulsions: Preparation, stability and application in encapsulation of bioactive compounds,” *Molecules*. MDPI AG.
- Lu, W., Kelly, A.L. and Miao, S. (2016) “Emulsion-based encapsulation and delivery systems for polyphenols,” *Trends in Food Science and Technology*. Elsevier Ltd, pp. 1–9.
- Luciana SSi, L. *et al.* (2024) “Fitokimia Dan Farmakognosi”. *Media Pustaka Indo*
- Luh Budi Artaningsih, N. *et al.* (2018) “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Gamal (*Gliricidia sepium*) pada Berbagai Konsentrasi terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* secara In-Vitro,” *Jurnal Kesehatan. Online*.
- Maheshwaran, L. *et al.* (2024) “Phytochemical Testing Methodologies and Principles for Preliminary Screening/ Qualitative Testing,” *Asian Plant Research Journal*, 12(5), pp. 11–38.
- Manso, T. *et al.* (2023) “Antibacterial Activity against Clinical Strains of a Natural Polyphenolic Extract from Albariño White Grape Marc,” *Pharmaceuticals*, 16(7).
- McClements, D.J. *et al.* (2021) “Nanoemulsion-Based Technologies for Delivering Natural Plant-Based Antimicrobials in Foods,” *Frontiers in Sustainable Food Systems*. Frontiers Media S.A.
- Mere, J.K., Bintang, M. and Safithri, M. (2021) “Antibacterial Effectiveness of *Syzygium cumini* (L.) Skeels Leaves to *Escherichia coli* pBR322,” *Indo. J. Chem. Res.*, 9(1), pp. 8–14.
- Milkova, V. (2021) “Electrosteric stabilization of oil/water emulsions by adsorption of chitosan oligosaccharides—An electrokinetic study,” *Carbohydrate Polymers*, 265.
- Miyazawa, Taiki *et al.* (2021) “A critical review of the use of surfactant-coated nanoparticles in nanomedicine and food nanotechnology,” *International Journal of Nanomedicine*, 16, pp. 3937–3999.
- Muhammad, A. and Andriyanto, E. (2026) “Analisis Komparatif Metode Difusi Sumuran dan Difusi Cakram dalam Evaluasi Aktivitas Antibakteri Ciprofloxacin terhadap *Escherichia coli* ATCC 35218,” 4(1), pp. 2988–6791.

- Mushtaq, A. *et al.* (2023) “Recent insights into Nanoemulsions: Their preparation, properties and applications,” *Food Chemistry: X*. Elsevier Ltd.
- Musthari, M., Riadi, S. and Situmeang, S.M.F. (2019) “Isolasi Dan Identifikasi Morfologi Dan Uji Aktivitas Antimikroba Terhadap *Escherichia coli* Dan *Candida Albicans* Dari Fermentasi Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*),” *Jurnal Biosains*, 5(2), pp. 59–65.
- Nan, S.N., Luckanagul, J.A. and Panapisal, V.R. (2024) “The Impact of Surfactant Structures and High-Speed Mixing Dynamics in Achieving Nano-Sized Emulsions with Simple High-Speed Homogenization,” *Nanotechnology, Science and Applications*, 17, pp. 273–288.
- Németh, Z. *et al.* (2022) “Quality by Design-Driven Zeta Potential Optimisation Study of Liposomes with Charge Imparting Membrane Additives,” *Pharmaceutics*, 14(9).
- Nugraha, S.E., Achmad, S. and Sitompul, E. (2019) “Antibacterial Activity of Ethyl Acetate Fraction of Passion Fruit Peel (*Passiflora edulis* Sims) on *Staphylococcus Aureus* and *Escherichia coli*,” *Indonesian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research (IDJPCR)*, 02(1), pp. 7–12.
- Nugroho. (2017) “Teknologi Bahan Alam,” *Lambung Mangkurat University Press*.
- Nurwaini, S., Hakiki, I.P. and Kusumowati, I.T.D. (2024) “Formulation of cashew leaf extract peel-off gel mask (*Anacardium occidentale* L.) and its activity test against *Staphylococcus epidermidis*,” in *BIO Web of Conferences*. EDP Sciences..
- Pavoni, L. *et al.* (2020) “An overview of micro-and nanoemulsions as vehicles for essential oils: Formulation, preparation and stability,” *Nanomaterials*. MDPI AG.
- Pedro, V. *et al.* (2025) “Antiulcerative and antioxidant action of hydroalcoholic extract of *Anacardium occidentale* L. leaves in an induced experimental colitis model,” *Acta Cirurgica Brasileira*, 40.
- Pham, D.C. *et al.* (2023) “Fractionation, identification of chemical constituents, and biological properties of cashew (*Anacardium occidentale* L.) leaf extracts,” *Food Science and Nutrition*, 11(12), pp. 7996–8008.
- Pingkan, W., Kaunang, J. and Sihombing, M. (2020) “*Staphylococcus Aureus*.”
- Pinho, M.G., Götz, F. and Peschel, A. (2025) “*Staphylococcus aureus*: a model for bacterial cell biology and pathogenesis,” *Journal of Bacteriology*. American Society for Microbiology.
- Preeti *et al.* (2023) “Nanoemulsion: An Emerging Novel Technology for Improving the Bioavailability of Drugs,” *Scientifica*. Hindawi Limited.

- Preeti *et al.* (2023) “Nanoemulsion: An Emerging Novel Technology for Improving the Bioavailability of Drugs,” *Scientifica*. Hindawi Limited.
- Prima, J.K. *et al.* (2021) “Anti-Inflammatory of Papaya Leaf Extract (Carica Papaya L) Towards Membrane Stabilization of Red Blood Cells,” *Jurnal Kesehatan Prima*, 15.
- Purwanti, R. *et al.* (2025) “Karakteristik Simplisia dan Skrining Fitokimia Senyawa Alkaloid, Flavonoid, Tanin, dan Saponin Ekstrak Etanol Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe Pinnata* (Lam) Pers.) Characterization Of Simplicia And Phytochemical Screening Of Alkaloid, Flavonoid, Tanin And Saponine Of Ethanol Extract Of Cocor Bebek Leaf (*Kalanchoe pinnata* (Lam) Pers.),” 17(1), pp. 2025–2026.
- Rachman, E.S., Widji Soeratri and Tristiana Erawati M (2023) “Characteristics and Physical Stability of Nanoemulsion as a Vehicle for Anti-Aging Cosmetics: A Systematic Review,” *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 10(1), pp. 62–85.
- Rai, S. *et al.* (2021) “Plant-Derived Saponins: A Review of Their Surfactant Properties and Applications,” *Sci*. MDPI.
- Ramos, G.Q. *et al.* (2022) “Correlating Morphology and Multifractal Spatial Patterns of the Leaf Surface Architecture of *Anacardium occidentale* L.,” *Fractal and Fractional*, 6(6).
- Rasyad Arrofiqi, M. *et al.* (2024) “Kajian Literatur: Aplikasi Sejumlah Metode Ekstraksi Konvensional Untuk Mengekstraksi Senyawa Fenolik Dari Bahan Alam,” *Jurnal Farmasi dan Herbal*.
- Sa’adah, H., Ahdyani, R., Latifah, N., Salim, N.L. and Hasani, N. (2025) ‘Pengembangan dan karakterisasi self nano emulsifying system minyak atsiri daun gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) sebagai formulasi inovatif anti-aging serum’, *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 11(2), pp. 605–614.
- Salehi, B. *et al.* (2019) “Anacardium plants: Chemical, nutritional composition and biotechnological applications,” *Biomolecules*. MDPI AG.
- Santosaningsih, D. *et al.* (2018) “Prevalence and characterisation of *Staphylococcus aureus* causing community-acquired skin and soft tissue infections on Java and Bali, Indonesia,” *Tropical Medicine and International Health*, 23(1), pp. 34–44.
- Sarah Tumundo, C., Silvia Wewengkang, D., Studi Farmasi, P., Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, F., Sam Ratulangi, U., & Studi Fisika, P. (2024). “Uji Potensi Antibakteri Ekstrak Spons *Stylissa Carteri* Dari Perairan Poopoh Minahasa Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Ps eudomonas aeruginosa*.” 13(1).

- Sarheed, O., Dibi, M. and Ramesh, K.V.R.N.S. (2020) “Studies on the effect of oil and surfactant on the formation of alginate-based O/W lidocaine nanocarriers using nanoemulsion template,” *Pharmaceutics*, 12(12), pp. 1–21.
- Severn, M.M. and Horswill, A.R. (2023) “*Staphylococcus epidermidis* and its dual lifestyle in skin health and infection,” *Nature Reviews Microbiology*. Nature Research, pp. 971–111.
- Shaban, N.Z. *et al.* (2021) “The antioxidant and anti-inflammatory effects of *Carica Papaya* Linn. seeds extract on CCl₄-induced liver injury in male rats,” *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(1).
- Shafiei, M. *et al.* (2023) “Effect of chemicals on the phase and viscosity behavior of water in oil emulsions,” *Scientific Reports*, 13(1).
- Sharma, N. *et al.* (2010) *nanoemulsion: A new concept of delivery system, Chronicles of Young Scientists.*
- Shen, W. *et al.* (2024) “Principle Investigation and Method Standardization of Inhibition Zone Assay Based on Antimicrobial Peptides Extracted from Black Soldier Fly Larvae,” *BioTech*, 13(3).
- Siakavella, I.K. *et al.* (2020) “Effect of plant extracts on the characteristics of silver nanoparticles for topical application,” *Pharmaceutics*, 12(12), pp. 1–17.
- Sinlapapanya, P. *et al.* (2022) “Ethanolic Cashew Leaf Extract: Antimicrobial Activity, Mode of Action, and Retardation of Spoilage Bacteria in Refrigerated Nile Tilapia Slices,” *Foods*, 11(21).
- Siraj, A. *et al.* (2021) “Nanoemulsions: formation, stability and an account of dietary polyphenol encapsulation,” *International Journal of Food Science and Technology*. John Wiley and Sons Inc, pp. 4193–4205.
- Smail, S.S. *et al.* (2021) “Studies on surfactants, cosurfactants, and oils for prospective use in formulation of ketorolac tromethamine ophthalmic nanoemulsions,” *Pharmaceutics*, 13(4).
- Sridhar, K. *et al.* (2022) “Woodfordia fruticosa extract nanoemulsion: Influence of processing treatment on droplet size and its assessment for in vitro antimicrobial and anti-inflammatory activity”. *Frontiers in Nutrition*
- Sriram, A., *et al.* (2021) “The State of the World’s Antibiotics 2021 A Global Analysis of Antimicrobial Resistance and Its Drivers.” Washington DC.
- Stetefeld, J., McKenna, S.A. and Patel, T.R. (2016) “Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences,” *Biophysical Reviews*. Springer Verlag, pp. 409–427.

- Suryani, S. *et al.* (2020) “A comparative study of virgin coconut oil, coconut oil and palm oil in terms of their active ingredients,” *Processes*, 8(4).
- Sutardi, S. (2017) “Kandungan Bahan Aktif Tanaman Pegagan dan Khasiatnya untuk Meningkatkan Sistem Imun Tubuh,” *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 35(3), p. 121.
- Swamy, K.R.M. (2023) “Origin, Domestication, Taxonomy, Botanical Description, Genetics And Cytogenetics, Genetic Diversity And Breeding Of Cashew (*Anacardium occidentale* L.)”
- Syarifah, A. *et al.* (2024) “Jurnal Farmasi Sains dan Praktis Formulation And Activity Tests Of Nanoemulsion Of Turmeric Rhizome (*Curcuma Longa* L) Extract For Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (Mrsa) Bacteria,” *Jfsp*, 10(3), pp. 2579–4558.
- Tang, S. *et al.* (2025) “Effects of Polyphenols on the Structure, Interfacial Properties, and Emulsion Stability of Pea Protein: Different Polyphenol Structures and Concentrations,” *Molecules*, 30(8).
- Tansil, A.Y.M. *et al.* (2016) “Uji daya hambat ekstrak etanol daun srikaya (*Annona squamosa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*,” *Jurnal e-Biomedik (eBm)*.
- Tarik Alhamdany, A., Saeed, A.M.H. and Alaayedi, M. (2021) “Nanoemulsion and Solid Nanoemulsion for Improving Oral Delivery of a Breast Cancer Drug: Formulation, Evaluation, and a Comparison Study,” *Saudi Pharmaceutical Journal*, 29(11), pp. 1278–1288.
- Tominc, G.C. *et al.* (2024) “Formulation and Characterization of Nanoemulsion Incorporating *Chamomilla recutita* L. Extract Stabilized with Hyaluronic Acid,” *Pharmaceutics*, 16(6).
- Touaitia, R. *et al.* (2025) “*Staphylococcus aureus*: A Review of the Pathogenesis and Virulence Mechanisms,” *Antibiotiks*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
- Triwanda, A., Hastuti, Y.P. and Rahardjo, D.S. (2022). “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tanaman Mangrove (*Rhizophora stylosa*) Terhadap Bakteri *Vibrio Parahaemolyticus* Antibacterial Activities Of Mangrove Plant Extract (*Rhizophora stylosa*) To The Growth Of Bacteria *Vibrio parahaemolyticus*,”
- Truong, D.H. *et al.* (2021) “Effects of solvent—solvent fractionation on the total terpenoid content and in vitro anti-inflammatory activity of *Serevenia buxifolia* bark extract,” *Food Science and Nutrition*, 9(3), pp. 1720–1735.
- Tuttle, A.R., Trahan, N.D. and Son, M.S. (2021) “Growth and Maintenance of *Escherichia coli* Laboratory Strains,” *Current Protocols*, 1(1).

- Tyasningsih, . *et al.* (2022) “Prevalence and antibiotik resistance of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* isolated from raw milk in East Java, Indonesia,” *Veterinary World*, 15(8), pp. 2021–2028.
- Vera, J. *et al.* (2023) “Antioxidant Activity as an Indicator of the Efficiency of Plant Extract-Mediated Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles,” *Antioxidants*, 12(4).
- Wahdaningsih, S. *et al.* (2023) “Effect of Drying Method on Levels of Antioxidant Activity, Total Flavonoid Levels, and Total Phenol Levels in Ethanol Extract of Bawang Dayak (*Eleutherine americana*) Leaves,” *Majalah Obat Tradisional*, 28(1), pp. 37–39.
- Wang, T. yang, Li, Q. and Bi, K. shun (2018) “Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate,” *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. Shenyang Pharmaceutical University, pp. 12–23.
- Wati, D., Mahdiyah, D. and Malahayati, S. (2023) “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Kayu Laban (*Vitex Pubescens* Vahl) Terhadap Bakteri *Shigella flexneri*”. *Sains Medisina*.
- Widyastuti, A.I. and Saryanti, D. (2023) “Formulasi dan Evaluasi Sediaan Nanoemulsi Ekstrak Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* L.),” *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 5(2), pp. 178–185.
- Wilson, R.J. *et al.* (2022) “Nanoemulsions for drug delivery,” *Particuology*, 64, pp. 85–97. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.partic.2021.05.009>.
- Yamamura, R. *et al.* (2023) “Intestinal and fecal pH in human health,” *Frontiers in Microbiomes*. Frontiers Media SA.
- Yan, Y. *Et al.* (2021) “antibiotics Review Research Progress on Antibacterial Activities and Mechanisms of Natura Alkaloids: A Review.” MDPI
- Yang, X. *et al.* (2019) “Antimicrobial susceptibility testing of Enterobacteriaceae: Determination of disk content and Kirby-Bauer breakpoint for ceftazidime/avibactam,” *BMC Microbiology*, 19(1).
- Zhang, Q.W., Lin, L.G. and Ye, W.C. (2018) “Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review,” *Chinese Medicine (United Kingdom)*. BioMed Central Ltd.
- Zheng, Y. *et al.* (2018) “Do amyloid structures formed by *Staphylococcus aureus* phenol-soluble modulins have a biological function” *International Journal of Medical Microbiology*, 308(6), pp. 675–682.
- Zapadka, K.L. *et al.* (2017) “Factors affecting the physical stability (aggregation) of peptide therapeutics,” *Interface Focus*. Royal Society Publishing.

Zhang, M. *et al.* (2023) "Extraction and Analysis of Chemical Compositions of Natural Products and Plants?" *Separations*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).

Zheng, H. *et al.* (2024) "Utilization of nanoemulsion to enhance antibacterial capacity of *Zanthoxylum bungeanum* pericarp essential oils against foodborne pathogenic bacteria," *LWT*.