



Antibacterial Activity of Rosemary Oil Against *Propionibacterium acnes* and The Formulation into Nanoemulsion System

Sani E. Priani*, Rizza F. Nurasyfa, G.C. Eka Darma, Sri P. Fitraningsih,
Livia Syafnir, Robby Prayitno

Pharmacy Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, UNISBA

Submitted 19 September 2021; Revised 16 December 2021; Accepted 17 December 2021; Published 20 February 2023

*Corresponding author: egapriani@gmail.com

Abstract

Acne is an inflammatory condition of the pilosebaceous unit that can occur due to infection of *Propionibacterium acnes*. Rosemary essential oil contains various active compounds that have antibacterial activity. Nanoemulsions have been developed as a delivery system to the pilosebaceous unit. This study aimed to determine the antibacterial activity of rosemary oil against *P. acnes* and develop it into a nanoemulsion system. The antibacterial activity was conducted by the agar diffusion method. Rosemary oil contains 1,8-cineole as the main active compound and has antibacterial activity against *P. acnes* with an inhibitory zone of 11.315 ± 0.069 mm at a concentration of 4%. Rosemary oil was successfully developed into a nanoemulsion system using Tween 80 as a surfactant and a combination of ethanol and PEG 400 as a co-surfactant. The rosemary nanoemulsion has a clear physical appearance with an average globule size of 33.50 ± 0.01 nm and a PDI value of 0.45 ± 0.03 . The preparation has good physical stability based on centrifugation, heating cooling, and freeze-thaw tests. The study shows that rosemary oil has antibacterial activity against *P. acnes* and has been successfully developed into nanoemulsion preparations with good characteristics and physical stability.

Keywords: Acne vulgaris, Nanoemulsion, *Propionibacterium acnes*, Rosemary oil.

Aktivitas Antibakteri Minyak Rosemary Terhadap *Propionibacterium acnes* dan Formulasinya Menjadi Sediaan Nanoemulsi

Abstrak

Jerawat adalah kondisi inflamasi kelenjar pilosebacea yang dapat terjadi karena infeksi *Propionibacterium acnes*. Minyak atsiri rosemary mengandung berbagai senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakteri. Nanoemulsi banyak dikembangkan sebagai sistem penghantaran pada kelenjar pilosebacea. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri dari minyak rosemary terhadap *P. acnes* dan mengembangkannya menjadi sediaan nanoemulsi. Uji aktivitas antibakteri minyak rosemary dilakukan dengan metode difusi agar. Minyak rosemary dengan kandungan utama 1,8-cineole memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. acnes* dengan diameter hambat $11,315 \pm 0,069$ mm pada konsentrasi 4%. Minyak rosemary berhasil dikembangkan menjadi sediaan nanoemulsi menggunakan Tween 80 sebagai surfaktan serta kombinasi etanol dan PEG 400 sebagai kosurfaktan. Sediaan nanoemulsi memiliki karakteristik yang baik ditandai dengan penampilan fisik yang jernih dengan rata-rata ukuran globul $33,50 \pm 0,01$ nm dan nilai PDI $0,45 \pm 0,03$. Sediaan memiliki stabilitas fisik yang baik berdasarkan uji sentrifugasi, *heating cooling*, dan *freeze thaw*. Dari hasil uji dapat disimpulkan bahwa minyak rosemary memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. acnes* dan berhasil dikembangkan menjadi sediaan nanoemulsi yang memiliki karakteristik dan stabilitas fisik yang baik.

Kata Kunci: Jerawat vulgaris, Nanoemulsi, *Propionibacterium acnes*, Minyak rosemary.

1. Pendahuluan

Jerawat adalah adalah kondisi inflamasi yang terjadi pada kelenjar pilosebacea/minyak. Kondisi ini banyak terjadi pada area tubuh yang banyak mengandung kelenjar minyak seperti muka, dada, dan punggung¹. Jerawat diketahui terjadi pada sekitar 80% populasi pada usia remaja, berkaitan dengan peningkatan hormon androgen pada pria dan wanita ketika pubertas^{1,2}. Pada kondisi yang berat, masalah jerawat ini dapat mengganggu psikis ataupun kehidupan sosial seseorang³. Inflamasi pada jerawat diketahui dapat terjadi karena perubahan keratinisasi folikel yang mengarah pada komedo, perubahan produksi sebum karena pengaruh hormon, kolonisasi folikel oleh *Propionibacterium acnes*, dan mekanisme inflamasi kompleks yang melibatkan imunitas bawaan dan didapat⁴.

Kolonisasi atau infeksi bakteri pada kelenjar pilosebacea oleh *P. acnes* diketahui menjadi salah satu penyebab utama terjadinya jerawat⁵. Biofilm yang dihasilkan oleh *P. acnes* mengarah pada pengikatan korneosit yang menghasilkan mikrokomedo. *P. acnes* juga mensekresi lipase, faktor kemotaksis, metaloprotease, dan porfirin, yang seluruhnya dapat berinteraksi menyebabkan kerusakan keratinosit dan memicu kondisi inflamasi⁶. Untuk kondisi jerawat yang penyebab utamanya disebabkan oleh infeksi bakteri maka terapi yang sesuai yakni menggunakan senyawa antibakteri.

Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) adalah tanaman herba aromatik yang berasal famili *Lamiaceae*⁷. Selain digunakan sebagai bahan masakan, *rosemary* juga dapat dimanfaatkan untuk tujuan pengobatan karena berbagai kandungan senyawa bioaktif yang dimilikinya. Minyak atsiri dari *rosemary* diketahui mengandung berbagai komponen seperti *1,8-cineole*, *α -pinene*, *camphore*, *camphene*, *β -pinene*, dan *verbenone*. Kandungan senyawa bioaktif tersebut memunculkan berbagai aktivitas farmakologi dari minyak *rosemary* salah satunya aktivitas antibakteri. Minyak *rosemary* diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris*,

Pseudomonas aeruginosa, dan *Escherichia coli* dan juga aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*, dan *Aspergillus niger*⁸. Penelitian lainnya menunjukkan bahwa minyak *rosemary* memiliki aktivitas terhadap *Propionibacterium acnes* akibat berbagai kandungan senyawa yang dimilikinya⁹.

Pengobatan jerawat dapat dilakukan dengan berbagai metode seperti dengan terapi topikal, terapi sistemik, ataupun dengan terapi lainnya seperti *resurfacing*, *dermabrasion*, *chemical peels*, dan *xenografts*. Terapi topikal yang paling banyak digunakan dan umumnya dilakukan dengan pemberian senyawa antibakteri, retinoid, ataupun kombinasinya. Berbagai pendekatan formulasi banyak dikembangkan untuk penghantaran topikal senyawa aktif pada pengobatan jerawat, salah satunya dengan pengembangan nanoemulsi¹⁰. Nanoemulsi adalah suatu sistem isotropik berupa sistem dispersi minyak dan air dengan ukuran globul 10-100 nm yang distabilkan dengan penambahan surfaktan dan kosurfaktan¹¹. Nanoemulsi diketahui sesuai untuk digunakan sebagai penghantaran senyawa lipofilik ke dalam kulit pada terapi jerawat karena mampu meningkatkan penetrasi komponen aktif pada unit pilosebacea yang bersifat lipofilik. Pengaruh dari ukuran globul dan keberadaan surfaktan/kosurfaktan sebagai peningkat penetrasi yang mendukung terjadinya hal tersebut. Penelitian lain juga telah mengembangkan sediaan nanoemulsi untuk penghantaran minyak atsiri pada terapi jerawat dan hasilnya menunjukkan hasil yang baik secara *in vitro* dan *in vivo*¹².

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri dari minyak *rosemary* terhadap *P. acnes* dan mengembangkannya menjadi sediaan nanoemulsi. Evaluasi karakteristik dan stabilitas fisik dilakukan terhadap sediaan nanoemulsi yang dihasilkan.

2. Metode

2.1. Alat

Instrumen yang digunakan pada penelitian ini meliputi inkubator (Memmert), autoclave (Tomy SX-500), magnetic stirrer (Thermolyne S131120-33Q), sonicator bath (Branson CPX2800H-E), spektrofotometri

UV/Vis (Shimadzu UV-1800), *pH meter* (Mettler Toledo, Seven CompactTM S220), sentrifuga (centrifuge Medical Practice 800), viskometer *Brookfield, particle size analyzer* (Horiba sz 100).

2.2. Bahan

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah minyak *rosemary* (Lansida internasional), *tryptone soya broth* (Merck), Cremophor RH40 (BASF), Tween 80 (bratachem), Polietilenglikol/PEG 400 (bratachem), propilenglikol (bratachem), gliserin (bratachem), etanol (Merck).

2.3. Prosedur

2.3.1. Karakterisasi dan penentuan kandungan senyawa minyak *rosemary*

Dalam penelitian ini bahan yang digunakan merupakan minyak atsiri dari tanaman *rosemary* yang diperoleh dari Lansida Group. Karakterisasi minyak atsiri *rosemary* dilakukan dengan melakukan uji organoleptis, penentuan bobot jenis, indeks bias, dan analisis komponen senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri dengan menggunakan gas *chromatography-mass spectrometry* (GC-MS)¹³.

2.3.2. Uji aktivitas antibakteri minyak *rosemary* terhadap *Propionibacterium acnes*

Uji aktivitas antibakteri ini dilakukan secara kuantitatif dengan menggunakan metode difusi agar. Minyak atsiri *rosemary* diencerkan menggunakan gliserin menjadi beberapa konsentrasi, yaitu 0,25; 1; 2; 4; 5 % dengan menggunakan antibiotik klindamisin sebagai pembanding dan gliserin sebagai kontrol negatif. Sebanyak 20 mL media padat (*tryptone soya agar*) yang telah dicairkan (suhu 35-45°C) dituangkan ke dalam cawan petri yang telah berisi 50 µL suspensi bakteri *P. acnes*. Campuran dihomogenkan dengan cara diputar perlahan lalu didiamkan hingga memadat. Setelah memadat dibuat sumur dengan menggunakan perforator diameter 6 mm. Minyak atsiri *rosemary* pada berbagai konsentrasi dan pembanding dimasukkan ke dalam sumur lalu didiamkan dalam suhu

ruangan selama 30-60 menit (pra-inkubasi). Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah inkubasi dilakukan pengukuran diameter hambatan berupa zona bening pada sekeliling sumur¹⁴.

2.3.3. Optimasi formula nanoemulsi *rosemary*

Sebelum dilakukan optimasi formula nanoemulsi, dilakukan uji ketercampuran minyak dengan surfaktan dan kosurfaktan. Surfaktan yang digunakan adalah Tween 20, Tween 80, dan Cremophor RH 40. Sedangkan kosurfaktan yang digunakan adalah PEG 400, propilenglikol, gliserin, dan etanol. Uji ketercampuran dilakukan dengan mencampurkan minyak dengan surfaktan/kosurfaktan pada berbagai perbandingan dalam tabung reaksi (1:1; 1:2; 1:3; 1:4; 1:5). Selanjutnya dilakukan pengembangan sediaan nanoemulsi menggunakan perbandingan minyak dan Smix (surfaktan+kosurfaktan) 1:8; 1:9; 1:10; 1:11; 1:12 pada perbandingan surfaktan dan kosurfaktan 1:1. Sediaan nanoemulsi dibuat dengan mencampurkan minyak, surfaktan dan kosurfaktan dan dipanaskan pada suhu 40°C sambil diaduk. Selanjutnya tambahkan aquadest yang sudah dipanaskan pada suhu yang sama, ke dalam campuran kemudian diaduk menggunakan magnetic stirrer kecepatan 1000 rpm selama 20 menit. Sediaan selanjutnya diultrasonikasi menggunakan *sonicator bath* selama 10 menit. Sebagai skrining awal keberhasilan pembentukan nanoemulsi dilakukan dengan uji organoleptis dan uji % transmittan pada panjang gelombang 650 nm. Formula optimum berdasarkan hasil uji organoleptis dan % transmittan dipilih sebagai formula akhir dengan penambahan pengawet dan antioksidan¹⁵.

2.3.4. Karakterisasi sediaan nanoemulsi *rosemary*

Sediaan akhir nanoemulsi *rosemary* dilakukan karakterisasi lebih lanjut meliputi pengujian organoleptis, % transmittan, pH, viskositas, dan ukuran globul.

Organoleptis: Sediaan dilakukan pengujian warna, bau, dan kejernihan dari sediaan nanoemulsi *rosemary*¹⁶.

Tabel 1. Hasil karakterisasi minyak

Parameter	Hasil
Organoleptis	Cairan tidak berwarna, bau khas
Bobot jenis	0,912 g/mL
Indeks bias	1,469
Kandungan Senyawa Utama : <i>1,8-cineole</i>	23,79 %
<i>camphore</i>	18,97 %
<i>alpha-pinene</i>	17,45 %
<i>camphene</i>	9,33 %
<i>p-cymene</i>	5,84 %

%Transmitan: Pengujian dilakukan dengan melakukan pengukuran % transmitan menggunakan spektrofotometer *UV/Vis* pada panjang gelombang 650 nm menggunakan aquadest sebagai blanko¹⁷.

pH: Pengukuran pH dilakukan secara langsung dengan pH meter yang sudah dikalibrasi.

Viskositas: Pengukuran viskositas dilakukan menggunakan viscometer *Brookfield* pada kecepatan rotasi 100 rpm¹⁶.

Ukuran globul dan poly dispersity index: Penentuan ukuran globul dan *Poly Dispersity Index* (PDI) dilakukan dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA)¹⁸.

2.3.5. Uji stabilitas nanoemulsi *rosemary*

Pengujian stabilitas dilakukan dengan 3 tahapan yakni sentrifugasi, *heating cooling*, dan *freeze thaw*. Uji sentrifugasi dilakukan terhadap sediaan pada kecepatan 3500 rpm selama 30 menit. Uji *heating cooling* dilakukan dengan menyimpan sediaan pada dua suhu berbeda yaitu $4 \pm 1^\circ\text{C}$ dan $40 \pm 1^\circ\text{C}$ masing-masing selama 48 jam dan dilakukan sebanyak tiga siklus. Uji *freeze thaw* dilakukan dengan menyimpan sediaan pada suhu -21°C dan 25°C masing-masing selama tidak kurang dari 48 jam dan dilakukan sebanyak tiga siklus. Selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap kejernihan, pemisahan fase, dan pengendapan dari sediaan nanoemulsi¹⁹.

Tabel 2. Aktivitas antibakteri minyak *rosemary*

Konsentrasi (%)	Diameter hambatan (mm)
0,25	$7,235 \pm 0,009$
1	$9,050 \pm 0,044$
2	$9,985 \pm 0,105$
4	$11,315 \pm 0,069$
5	$12,685 \pm 0,097$

3. Hasil

Minyak *rosemary* pada penelitian ini digunakan sebagai bahan aktif yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Untuk memastikan kualitasnya dilakukan karakterisasi meliputi organoleptis, bobot jenis, indeks bias, dan kandungan senyawa utama dengan GC-MS. Hasil pengujian ditampilkan pada tabel 1. Terlihat bahwa minyak *rosemary* mengandung banyak senyawa yang berkhasiat sebagai antibakteri seperti *1,8-cineole*, *camphore*, *alpha-pinene*, *camphene*, dan *p-cymene*. Minyak *rosemary* selanjutnya diuji aktivitas antibakterinya dengan metode difusi agar terhadap bakteri *Propionibacterium acnes*. Hasilnya ditampilkan pada tabel 2. Dari tabel terlihat bahwa mulai konsentrasi 4% minyak *rosemary* memberikan aktivitas antibakteri yang kuat, karena memberikan diameter hambatan >10 mm. Minyak *rosemary* selanjutnya dikembangkan menjadi sediaan nanoemulsi pada konsentrasi 4%.

Pada pembuatan sediaan nanoemulsi diperlukan surfaktan dan kosurfaktan. Hasil uji ketercampuran antara minyak *rosemary* dengan beberapa surfaktan menunjukkan bahwa minyak memiliki ketercampuran yang paling baik dengan Tween 80 dan Tween 20 (mampu bercampur pada perbandingan 1:1). Pada uji ketercampuran antara minyak dengan kosurfaktan menunjukkan bahwa

Tabel 3. Hasil optimasi formula nanoemulsi minyak *rosemary*

Bahan	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10
<i>M. Rosemary</i>	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Tween 80	16	18	20	22	24	-	-	-	-	-
Tween 20	-	-	-	-	-	16	18	20	22	24
Etanol	8	9	10	11	12	8	9	10	11	12
PEG 400	8	9	10	11	12	8	9	10	11	12
Aquadest ad	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
%Transmitan	13,65±	97,22±	98,95	98,04	99,21 ±	53,77 ±	84,14 ±	93,46 ±	93,46	96,87
	0,14	0,02	± 0,78	± 0,01	0,03	0,12	1,09	0,11	± 0,11	± 0,03

etanol dan PEG 400 memiliki tingkat ketercampuran paling baik dengan minyak *rosemary*. Formulasi sediaan nanoemulsi minyak *rosemary* ditampilkan pada tabel 3. Terhadap seluruh sediaan hasil optimasi formula nanoemulsi dilakukan penapisan awal keberhasilan pembentukan nanoemulsi dengan pengujian organoleptis dan %Transmitan.

Skrining awal untuk evaluasi keberhasilan nanoemulsi menggunakan parameter %Transmitan. Diketahui bahwa nilai %Transmitan > 98% dapat mengindikasikan keberhasilan pembentukan nanoglobul. Berdasarkan hasil pada tabel 4, formula F3 telah memiliki nilai %Transmitan > 98%, sehingga dipilih sebagai formula dasar nanoemulsi *rosemary*. Sediaan nanoemulsi F3 kemudian dikembangkan menjadi sediaan akhir nanoemulsi *rosemary* dengan penambahan fenoksietanol 0,5% sebagai pengawet dan alfa-tokoferol 0,05% sebagai antioksidan. Hasil evaluasi terhadap sediaan akhir nanoemulsi *rosemary* (F3) ditampilkan pada tabel 4 sedangkan grafik distribusi ukuran globul hasil pengukuran PSA ditampilkan pada gambar 1. Hasil menunjukkan bahwa sediaan nanoemulsi F3

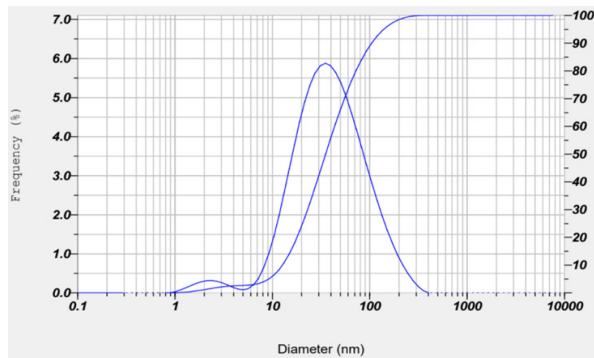
memiliki karakteristik yang baik berdasarkan hasil uji organoleptis, %Transmitan, pH, dan viskositas dan memiliki rata-rata ukuran globul $33,50 \pm 0,01$ nm dengan nilai PDI $0,45 \pm 0,03$. Terhadap sediaan selanjutnya dilakukan uji stabilitas dengan tiga tahapan uji yakni uji sentrifugasi, *heating cooling*, dan *freeze thaw*. Hasilnya bisa dilihat pada tabel 4 dan gambar 2. Sediaan nanoemulsi (F3) memiliki stabilitas yang baik, yang ditandai dengan tidak adanya perubahan fisik nanoemulsi selama uji dalam bentuk terjadinya pengendapan, *creaming*, ataupun pemisahan fase.

4. Pembahasan

Minyak *rosemary* yang digunakan pada penelitian ini memiliki karakteristik yang baik, berdasarkan hasil pengujian organoleptis, berat jenis, indeks bias, dan juga analisis komponen senyawa. Nilai berat jenis berada pada rentang standar yang dipersyaratkan yakni diantara $0,895-0,920^{20}$. Hasil yang sama diperlihatkan pada nilai indeks bias yang berada pada rentang yang dipersyaratkan $1,467-1,474$. Hasil analisis komponen dengan metode GC-MS menunjukkan bahwa komponen utama dari minyak *rosemary* adalah *1,8-cineole*, *camphore*, *alpha-pinene*,

Tabel 4. Hasil evaluasi fisikokimia sediaan nanoemulsi F3

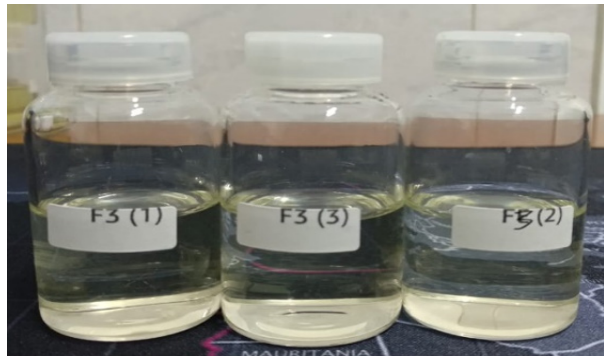
Parameter	Hasil
Organoleptis	Bening, kekuningan, bau khas
%Transmittan	$98,15 \pm 0,04$ %
pH	$5,96 \pm 0,08$
Viskositas	$64,00 \pm 0,00$ cps
Rata-rata ukuran globul	$33,50 \pm 0,01$ nm
<i>Polydispersity index</i> (PDI)	$0,45 \pm 0,03$
Uji sentrifugasi	Stabil
Uji <i>Heating cooling</i>	Stabil
Uji <i>Freeze thaw</i>	Stabil



Gambar 1. Grafik Distribusi Ukuran Globul Nanoemulsi

camphene, dan *p-cymene*. Komponen dengan presentasi tertinggi adalah *1,8-cineole* yang mencapai 23,7%. Hasil yang sama ditunjukkan oleh beberapa penelitian lainnya, yang menunjukkan bahwa komponen senyawa utama dari minyak rosemary adalah *1,8-cineole*¹⁹. Senyawa *1,8-cineole* merupakan senyawa turunan terpenoid, yang diketahui memiliki aktivitas antibakteri yang kuat dengan mekanisme mengganggu metabolisme karbohidrat dan membran sel bakteri^{20,21}. Selain *1,8-cineole* senyawa lainnya juga diketahui memiliki aktivitas antibakteri yakni *camphore*²², *alpha-pinene*²³, *camphene*²⁴, dan *p-cymene*²⁵. Kandungan senyawa aktif tersebut yang mendukung aktivitas antibakteri dari minyak *rosemary*. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa terjadi peningkatan aktivitas antibakteri selaras dengan peningkatan konsentrasi, yang ditandai dengan peningkatan nilai diameter hambat. Pada konsentrasi minyak >4%, minyak *rosemary* menunjukkan aktivitas antibakteri kuat pada *P. acnes* karena memiliki nilai diameter hambat >10 mm²⁶. Penelitian tentang aktivitas minyak rosemary terhadap *P. acnes* juga pernah dilakukan oleh peneliti sebelumnya, yang menunjukkan bahwa nilai KHM minyak adalah 0,056%⁹. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian ini, dimana pada konsentrasi uji 0,25% sudah memberikan nilai diameter hambat, karena persentasenya di atas nilai KHMnya.

Minyak *rosemary* selanjutnya dikembangkan menjadi sediaan nanoemulsi. Dipilih surfaktan dan kosurfaktan yang memiliki ketercampuran yang baik dengan minyak *rosemary* untuk meningkatkan efektifitas pembentukan sistem nanoemulsi.



Gambar 2. Sediaan nanoemulsi *rosemary* (F3)

Surfaktan yang digunakan adalah Tween 80 dan Tween 20. Tween 80/20 adalah jenis surfaktan nonionik yang banyak digunakan pada pengembangan sediaan nanoemulsi karena tingkat iritasinya yang rendah, tidak mudah terpengaruh oleh pH, dan bersifat biokompatibel^{27,28}. Tween sebagai surfaktan berfungsi untuk membentuk lapisan antarmuka di sekeliling globul sehingga mencegah koalesensi atau penggabungan kembali globul menjadi globul yang lebih besar²⁹. Sebagai kosurfaktan digunakan kombinasi etanol dan PEG 400 yang memiliki ketercampuran lebih baik dengan minyak *rosemary* dibandingkan dengan gliserin dan propilenglikol. Kosurfaktan umumnya berupa senyawa alkohol rantai pendek dan ditambahkan ke dalam sediaan nanoemulsi untuk membantu membentuk lapisan antar muka yang rapat dan fleksible pada permukaan globul dan juga menurunkan nilai tegangan permukaan³⁰.

Hasil optimasi menunjukkan formula optimum nanoemulsi adalah F3 yang menggunakan Tween 80 sebagai surfaktan dengan perbandingan minyak dan Smix 1:10. Formula F3 mampu menghasilkan sediaan nanoemulsi yang jernih dengan transmittan >98% pada kombinasi minyak dan Smix terendah. Nilai %Transmittan >98% menunjukkan kejernihan sistem yang sangat baik sehingga bisa mengindikasikan keberhasilan pembentukan nanoglobul³¹. Dari hasil pada tabel 3, secara umum dapat dikatakan bahwa Tween 80 mampu membentuk sistem nanoemulsi minyak *rosemary* yang lebih baik dibandingkan dengan Tween 20. Tween 20 bersifat lebih hidrofil dengan nilai HLB 16,3 dibandingkan

dengan Tween 80 yang memiliki nilai HLB 15. Nilai HLB dari Tween 80 lebih sesuai untuk minyak rosemary yang juga memiliki nilai HLB butuh 15³². Kesesuaian nilai HLB surfaktan dengan HLB butuh minyak dapat membantu meningkatkan efektifitas pembentukan sistem dispersi.

Formula F3 selanjutnya dijadikan sebagai formula akhir sediaan nanoemulsi *rosemary* dengan penambahan pengawet dan antioksidan untuk meningkatkan stabilitas selama penyimpanan. Hasil evaluasi lebih lanjut terhadap F3 ditampilkan pada tabel 4. Dapat dilihat bahwa sediaan memiliki karakteristik fisik yang baik dengan nilai pH yang sesuai dengan nilai pH kulit yakni pada rentang 4-6³³. Nilai viskositas menunjukkan bahwa sediaan memiliki konsistensi cair yang merupakan karakteristik khas dari sediaan nanoemulsi³⁴. Hasil karakterisasi menggunakan *particle size analyzer*, menunjukkan bahwa sediaan memiliki ukuran globul yang baik. Sediaan nanoemulsi minyak *rosemary* F3 memiliki rata rata ukuran globul $33,50 \pm 0,01$ nm yang sesuai dengan batas ukuran globul nanoemulsi, yani pada rentang 10-100 nm³⁵. Nilai PDI dari sistem nanoemulsi $< 0,5$ yang menunjukkan homogenitas dari distribusi ukuran globul³⁶. Hasil uji stabilitas menunjukkan sediaan nanoemulsi minyak *rosemary* (F3) memiliki stabilitas yang baik secara kinetis ditandai dengan tidak adanya perubahan sistem pada uji sentrifugasi, dan juga memiliki stabilitas yang baik secara termodinamis ditandai dengan tidak adanya perubahan sistem setelah pengujian *heating cooling* dan *freeze thaw*. Pada uji stabilitas parameter yang diamati adalah terjadinya pemisahan fase, pengendapan, dan *creaming*.

5. Kesimpulan

Minyak *rosemary* dengan kandungan utama *l,8-cineole* sebesar 23,79%, memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P. acnes* yang memberikan diameter hambat $11,315 \pm 0,069$ mm pada konsentrasi 4%. Minyak *rosemary* berhasil dikembangkan menjadi sediaan nanoemulsi menggunakan Tween 80 sebagai surfaktan serta kombinasi etanol dan PEG 400 sebagai kosurfaktan. Sediaan nanoemulsi

memiliki karakteristik yang baik ditandai dengan penampilan fisik yang jernih dengan rata-rata ukuran globul $33,50 \pm 0,01$ nm dan nilai PDI $0,45 \pm 0,03$. Sediaan nanoemulsi memiliki stabilitas fisik yang baik berdasarkan uji sentrifugasi, *heating cooling*, dan *freeze thaw*.

Daftar Pustaka

1. Suva MA, Patel AM, Sharma N. A Brief Review on Acne Vulgaris : Pathogenesis , Diagnosis and Treatment. Res Rev J Pharmacol. 2016;4(3).
2. Sevimli Dikicier B. Topical treatment of acne vulgaris: efficiency, side effects, and adherence rate. J Int Med Res. 2019;47(7). <https://doi.org/10.1177/0300060519847367>
3. Heng AHS, Chew FT. Systematic review of the epidemiology of acne vulgaris. Sci Rep. 2020;10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62715-3>
4. Tan AU, Schlosser BJ, Paller AS. A review of diagnosis and treatment of acne in adult female patients. Vol. 4, International Journal of Women's Dermatology. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ijwd.2017.10.006>
5. Dréno B, Pécastaings S, Corvec S, Veraldi S, Khammari A, Roques C. Cutibacterium acnes (Propionibacterium acnes) and acne vulgaris: a brief look at the latest updates. Vol. 32, Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. 2018. <https://doi.org/10.1111/jdv.15043>
6. Beylot C, Auffret N, Poli F, Claudel JP, Leccia MT, Del Giudice P, et al. Propionibacterium acnes: An update on its role in the pathogenesis of acne. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. 2014. <https://doi.org/10.1111/jdv.12224>
7. Sánchez-Camargo A del P, Herrero M. Rosemary (Rosmarinus officinalis) as a functional ingredient: recent scientific evidence. Vol. 14, Current Opinion in Food Science. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.12.003>
8. Jiang Y, Wu N, Fu YJ, Wang W, Luo M, Zhao CJ, et al. Chemical composition and

- antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2011;32(1). <https://doi.org/10.1016/j.etap.2011.03.011>
9. Fu Y, Zu Y, Chen L, Efferth T, Liang H, Liu Z, et al. Investigation of antibacterial activity of Rosemary essential oil against *Propionibacterium acnes* with atomic force microscopy. *Planta Med*. 2007;73(12). <https://doi.org/10.1055/s-2007-981614>
 10. Vyas A, Kumar Sonker A, Gidwani B. Carrier-based drug delivery system for treatment of acne. *The Scientific World Journal*. 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/276260>
 11. Pandey P, Gulati N, Makhija M, Purohit D, Dureja H. Nanoemulsion: A Novel Drug Delivery Approach for Enhancement of Bioavailability. *Recent Pat Nanotechnol*. 2020;14(4). <https://doi.org/10.2174/1872210514666200604145755>
 12. Taleb MH, Abdeltawab NF, Shamma RN, Abdelgayed SS, Mohamed SS, Farag MA, et al. *Origanum vulgare* L. Essential oil as a potential anti-acne topical nanoemulsion—in vitro and in vivo study. *Molecules*. 2018;23(9). <https://doi.org/10.3390/molecules23092164>
 13. Belkhdja H, Meddah B, Touil AT, Şekeroğlu N, Sonnet P. Chemical Composition and Properties of Essential Oil of *Rosmarinus Officinalis* and *Populus Alba*. *World J Pharm Pharm Sci*. 2016;5041(9).
 14. Genatrika E, Nurkhikmah I, Hapsari I. Formulasi Sediaan Krim Minyak Jintan Hitam (*Nigella Sativa* L.) Sebagai Antijerawat Terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes*. *PHARMACY*. 2016;13(02).
 15. Annisa R, Mutiah R, Hakim A, Rahmaniya DNK. Formulation design and evaluation of hydrocortisone-loaded nanoemulsion and nanoemulsion gel for topical delivery. In: *AIP Conference Proceedings*. 2019. <https://doi.org/10.1063/1.5115677>
 16. Sabale V, Vora S. Formulation and evaluation of microemulsion-based hydrogel for topical delivery. *Int J Pharm Investig*. 2012; <https://doi.org/10.4103/2230-973x.104397>
 17. Christy GP, Arimurni DA, Wahyudi MDP, Martien R, Tunjung WAS. Formulation and Characterization of Kaffir Lime Oil Nanoemulsion. *Biosci Biotechnol Res Asia*. 2017; <https://doi.org/10.13005/bbra/2525>
 18. Shinde U, Pokharkar S, Modani S. Design and evaluation of microemulsion gel system of nadifloxacin. *Indian J Pharm Sci*. 2012; <https://doi.org/10.4103/0250-474X.106066>
 19. Yang C, Powell CA, Duan Y, Shatters R, Zhang M. Antimicrobial nanoemulsion formulation with improved penetration of foliar spray through citrus leaf cuticles to control citrus huanglongbing. *PLoS One*. 2015; <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133826>
 20. Islam M, Khalid S, Ahmad I, Zuberi SA, Fatima K. ESSENTIAL OILS: PHARMACOPeIAL IDENTIFICATION TESTS AND USES. *Baqai J Heal Sci*. 2018;21(1).
 21. Teneva DG, Goranov BG, Denkova-Kostova RS, Hristova-Ivanova YM, Klisurova DI, Slavchev AK, et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from leaves and flowers of *Rosmarinus officinalis* L. *Bulg Chem Commun*. 2020;52.
 22. Simsek M, Duman R. Investigation of effect of 1,8-cineole on antimicrobial activity of chlorhexidine gluconate. *Pharmacognosy Res*. 2017;9(3). <https://doi.org/10.4103/0974-8490.210329>
 23. Sun Y, Cai X, Cao J, Wu Z, Pan D. Effects of 1,8-cineole on carbohydrate metabolism related cell structure changes of *Salmonella*. *Front Microbiol*. 2018;9(MAY). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01078>
 24. Rahman FA, Priya V, Gayathri R, Geetha R V. In vitro antibacterial activity of camphor oil against oral microbes. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2016;39(1).
 25. Salehi B, Upadhyay S, Orhan IE, Jugran AK, Jayaweera SLD, Dias DA,

- et al. Therapeutic potential of α - and β -pinene: A miracle gift of nature. Vol. 9, *Biomolecules*. 2019. <https://doi.org/10.3390/biom9110738>
26. De Freitas BC, Queiroz PA, Baldin VP, Do Amaral PHR, Rodrigues LLF, Vandresen F, et al. (-)-Camphene-based derivatives as potential antibacterial agents against *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus* spp. *Future Microbiol*. 2020;15(16). <https://doi.org/10.2217/fmb-2020-0131>
 27. Marchese A, Arciola CR, Barbieri R, Silva AS, Nabavi SF, Sokeng AJT, et al. Update on monoterpenes as antimicrobial agents: A particular focus on p-cymene. Vol. 10, *Materials*. 2017. <https://doi.org/10.3390/ma10080947>
 28. Nasri, Harahap U, Silalahi J, Satria D. Antibacterial activity of lactic acid bacteria isolated from dengke naniura of carp (*Cyprinus carpio*) against diarrhea-causing pathogenic bacteria. *Biodiversitas*. 2021;22(8). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220802>
 29. Indrati O, Martien R, Rohman A, Nugroho AK. Development of nanoemulsion-based hydrogel containing andrographolide: Physical properties and stability evaluation. *J Pharm Bioallied Sci*. 2020;12(6). https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_174_20
 30. Koroleva M, Nagovitsina T, Yurtov E. Nanoemulsions stabilized by non-ionic surfactants: Stability and degradation mechanisms. *Phys Chem Chem Phys*. 2018;20(15). <https://doi.org/10.1039/c7cp07626f>
 31. Safaya M, Rotliwala YC. Nanoemulsions: A review on low energy formulation methods, characterization, applications and optimization technique. In: *Materials Today: Proceedings*. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.11.267>
 32. Zeng L, Xin X, Zhang Y. Development and characterization of promising Cremophor EL-stabilized o/w nanoemulsions containing short-chain alcohols as a cosurfactant. *RSC Adv*. 2017;7(32). <https://doi.org/10.1039/C6RA27096D>
 33. Mahtab A, Anwar M, Mallick N, Naz Z, Jain GK, Ahmad FJ. Transungual Delivery of Ketoconazole Nanoemulgel for the Effective Management of Onychomycosis. *AAPS PharmSciTech*. 2016;17(6). <https://doi.org/10.1208/s12249-016-0488-0>
 34. Rodríguez-Rojo S, Varona S, Núñez M, Cocero MJ. Characterization of rosemary essential oil for biodegradable emulsions. *Ind Crops Prod*. 2012;37(1). <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.11.026>
 35. Ali SM, Yosipovitch G. Skin pH: From basic science to basic skin care. Vol. 93, *Acta Dermato-Venereologica*. 2013. <https://doi.org/10.2340/00015555-1531>
 36. Patel RP, Joshi JR. An overview on nanoemulsion: a novel approach. *Int J Pharm Sci Res*. 2012;3(12).
 37. Azeem A, Rizwan M, Ahmad FJ, Iqbal Z, Khar RK, Aqil M, et al. Nanoemulsion components screening and selection: A technical note. *AAPS PharmSciTech*. 2009;10(1). <https://doi.org/10.1208/s12249-008-9178-x>
 38. Pratiwi G, Martien R, Murwanti R. Chitosan nanoparticle as a delivery system for polyphenols from meniran extract (*Phyllanthus niruri* L.): Formulation, optimization, and immunomodulatory activity. *Int J Appl Pharm*. 2019;11(2). <https://doi.org/10.22159/ijap.2019v11i2.29999>