



Physical Stability of *Sea Buckthorn* Oil Nanoemulsion with Tween 80 Variations

Ayu Shabrina*, Icha S. M. Khansa

Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim, Jl Menoreh Tengah X/22 Sampangan, Semarang

Submitted 10 November 2022; Revised 16 November 2022; Accepted 11 December 2022; Published 31 December 2022

*Corresponding author: shabrina@unwahas.ac.id

Abstract

Sea buckthorn oil (SBO) contains fatty acids that have an anti-aging effect. The delivery system of SBO can be improved by a nanoemulsion system. The purpose of this study was to determine the physical stability of SBO nanoemulsion (NSB) with Tween 80 variation. NSB was made with 1% SBO and Tween 80 variation of 35% (FI); 40% (FII) and 45% (FIII). NSB was stored in a climatic chamber at $30 \pm 2^\circ\text{C}$ and RH of $65\% \pm 5\%$ for 90 days. Samples were taken before storage on the 15th, 30th, 60th, and 90th days. Evaluations were carried out including appearance, particle size, polydispersity index (PI), transmittance percentage (TP), pH, and viscosity. Quantitative data were analyzed with multivariate analysis. The result showed that NSB formulas were yellowish-orange and clear. The droplet size in FII and FIII was stable ($p > 0.05$) with a range of 12-15 nm with $PI < 0.5$. All formulas had $TP > 95\%$ with a pH of 7.50–7.6. The viscosity of all formulas was 1.2-1.9 dPa.s and characterized as Newtonian. Increasing the concentration of tween 80 can reduce droplet size and PI. Tween 80 at a concentration of 35-45% produces sea buckthorn nanoemulsion which is stable for 90 days of storage.

Keywords: Nanoemulsion, stability, sea buckthorn, surfactant.

Stabilitas Fisik Nanoemulsi Minyak *Sea Buckthorn* dengan Variasi Tween 80 sebagai Surfaktan

Abstrak

Minyak *sea buckthorn* mengandung asam lemak yang berkhasiat anti-aging. Sistem penghantaran asam lemak untuk kosmetik dapat ditingkatkan melalui pembentukan nanoemulsi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui stabilitas fisik nanoemulsi minyak sea buckthorn (NSB) dengan variasi Tween 80 sebagai surfaktan selama penyimpanan. NSB dibuat dengan kandungan minyak sea buckthorn 1% dan variasi tween 80 adalah 35% (FI); 40% (FII) dan 45% (FIII). NSB disimpan pada climatic chamber pada suhu $30 \pm 2^\circ\text{C}$ dan RH of $65\% \pm 5\%$ selama 90 hari kemudian dilakukan pengambilan sampel sebelum penyimpanan, hari ke-15, 30, 60 dan 90. Evaluasi dilakukan antara lain uji organoleptis, ukuran partikel, indeks polidispersitas, persentase transmittan, pH, viskositas dan sifat alir. Data kuantitatif dianalisis secara statistik dengan analisis multivariat. Hasil organoleptis menunjukkan bahwa seluruh formula NSB stabil dengan tampilan warna kuning-oranye, jernih dan tidak terdapat pemisahan fase. Ukuran droplet pada FII dan FIII stabil ($p > 0,05$) dengan kisaran 12-15 nm. Seluruh formula memiliki persentase transmittan $> 95\%$ dengan pH 7,50–7,66. Viskkositas seluruh formula berada pada kisaran 1,2-1,9 dPa.s dan tipe alir newtonian dan stabil selama penyimpanan. Peningkatan konsentrasi tween 80 dapat menurunkan ukuran droplet dan indeks polidispersitas. Tween 80 pada konsentrasi 35-45% menghasilkan nanoemulsi sea buckthorn yang stabil selama 90 hari penyimpanan.

Kata Kunci: Nanoemulsi, stabilitas, sea buckthorn, surfaktan.

1. Pendahuluan

Minyak *sea buckthorn* (*Hippophae rhamnoides* L.) adalah salah satu sumber bahan untuk kosmetik yang bermanfaat untuk menunda proses penuaan, membantu penyembuhan luka dan memperbaiki struktur kulit. Sediaan emulsi yang mengandung ekstrak *sea buckthorn* dapat memberikan khasiat sebagai antioksidan dengan konsentrasi sebesar 1%¹. Minyak *sea buckthorn* memiliki kandungan asam lemak yang jenuh (asam stearat, asam palmitat), dan asam lemak yang tidak jenuh (asam palmitoleat, asam linoleat, asam oleat, asam α -linolenat) yang sulit terpenetrasi ke dalam kulit². Oleh karena itu, diperlukan suatu sistem penghantaran yang mampu meningkatkan masuknya zat aktif ke dalam kulit.

Nanoemulsi dalam sediaan kosmetik dapat meningkatkan penetrasi zat aktif ke dalam kulit³. Sistem nanoemulsi cocok digunakan untuk sistem penghantaran zat yang bersifat lipofilik, salah satunya adalah minyak nabati. Nanoemulsi dapat dimanfaatkan sebagai salah satu sistem pada sediaan kosmetik karena dapat menghambat terjadinya *creaming*, sedimentasi dan koalesen yang sering ditemukan pada sistem makroemulsi. Bentuk nanoemulsi stabil pada jangka waktu lama secara termodinamika, jernih, transparan, serta memiliki kemampuan melarut tinggi. Kombinasi dari surfaktan dan kosurfaktan dapat meningkatkan stabilitas nanoemulsi dan memperkecil ukuran globul sehingga dapat meningkatkan penetrasi zat aktif ke dalam kulit³.

Tween 80 dan PEG 400 yang digunakan sebagai surfaktan dan ko-surfaktan dapat membentuk nanoemulsi yang stabil³. Tween 80 tidak hanya digunakan sebagai surfaktan namun dapat memperkecil ukuran globul zat lipofilik dalam sistem mikroemulsi dan nanoemulsi. Minyak atsiri yang diformulasikan dengan tween 80 dan PEG 400 dapat mempertahankan stabilitas dan efektivitas zat aktif⁴. PEG 400 sebagai kosurfaktan dapat meningkatkan efektivitas zat aktif obat melalui peningkatan penetrasi. Sistem nanoemulsi yang dibuat dengan kombinasi tween 80 dan PEG 400 sebagai

surfaktan dan ko-surfaktan memiliki tingkat kejernihan dan transparansi yang baik⁵.

Penelitian ini dilakukan modifikasi surfaktan yaitu tween 80 yang dilakukan oleh Shabrina et al. (2022) sebagai eksplorasi lanjutan pemanfaatan minyak nabati yaitu *sea buckthorn*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh nanoemulsi minyak *sea buckthorn* yang stabil secara fisik dan aktivitas antioksidan dengan Tween 80 sebagai surfaktan.

2. Metode

2.1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat gelas (IWAKI), timbangan analitik (OHAUS), *pH meter* (SI Analytics HandyLab 100), viskometer *cone and plate* (Rheosys Merlin VR II®), piknometer, *magnetic stirrer* (SCIOLOGEX MS-H280 Pro), *particle size analyzer* (SZ-100), spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu®), dan *climatic chamber* (Mettler®).

2.2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah minyak *sea buckthorn* (PT. Darjeeling Sembrani Aroma, Bandung) dengan grade teknis. Bahan tambahan yang digunakan dengan grade teknis diperoleh dari PT Multi Kimia Raya Semarang adalah tween, PEG 400, dan benzil alkohol.

2.3. Metode

2.3.1. Pembuatan Nanoemulsi MSB

Nanoemulsi dibuat dengan komposisi minyak SBO 1%, PEG 400 30%, benzil alkohol 1%, dan dicukupkan dengan air terpurifikasi. Penggunaan tween 80 divariasikan masing-masing adalah 35% (FI); 40% (FII); dan 45% (FIII)³.

Benzil alkohol sebanyak dilarutkan dalam aquadest menggunakan *magnetic stirrer* suhu 30°C dengan kecepatan 1000 rpm. Kemudian tween 80 dan PEG 400 ditambahkan sedikit demi sedikit pada campuran benzil alkohol dan aquadest tersebut hingga terbentuk suatu larutan yang jernih (fase air). Minyak *sea buckthorn* ditambahkan sebanyak 1 mL secara tetes demi

tetes ke dalam fase air sampai membentuk nanoemulsi yang jernih dan transparan. Nanoemulsi diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dilakukan dengan waktu kurang lebih 30 menit dan kecepatan 1000 rpm. Variabel bebas dari penelitian ini adalah variasi konsentrasi Tween 80 sebagai surfaktan³.

2.3.2. Uji Stabilitas Nanoemulsi MSB

Sediaan nanoemulsi minyak *sea buckthorn* disimpan dalam *climatic chamber* pada suhu $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, RH $65\% \pm 5\%$, dan diuji selama 3 bulan. Sediaan dilakukan pengambilan sampel sebelum disimpan, hari ke-15, 30, 60, dan 90. Pengujian dilakukan terhadap parameter organoleptis, ukuran partikel, persentase transmitan, pH, viskositas dan sifat alir⁶.

2.3.3. Analisis Data

Data hasil uji stabilitas berupa ukuran partikel, persentase transmitan, pH, viskositas dan antioksidan dianalisis secara statistik dengan uji multivariat. Data yang dijabarkan secara deskripsi adalah organoleptis dan sifat alir.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Organoleptis

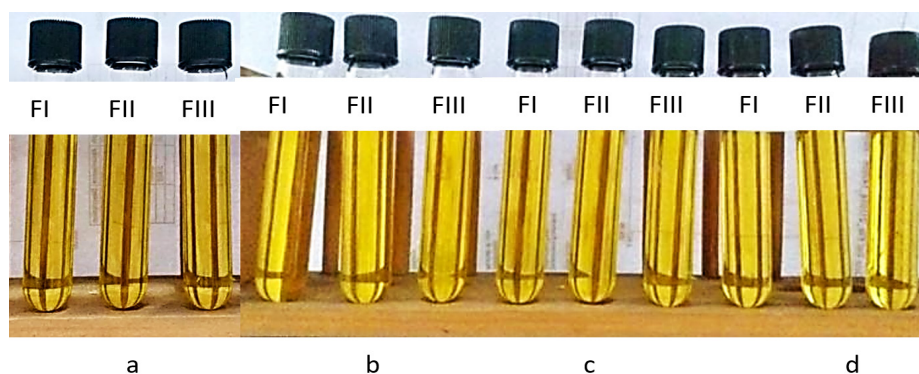
Hasil uji organoleptis pada formula nanoemulsi MSB menunjukkan bahwa sistem yang dihasilkan homogen, terdiri dari satu fase, berwarna kuning-oranye, tekstur berminyak dan memiliki aroma khas minyak nabati. Hasil tampilan fisik dapat dilihat pada gambar 1.

Hasil menunjukkan bahwa selama 30 hari penyimpanan, nanoemulsi MSB tidak mengalami perubahan tampilan fisik. Hal

ini sesuai dengan penelitian Priyani et al. (2020) dan Shabrina et al. (2022) bahwa tween 80 yang dikombinasikan dengan PEG 400 mampu meningkatkan stabilitas sediaan. Tampilan fisik dari nanoemulsi dapat mengindikasikan homogenitas, opasitas, kejernihan dan ukuran droplet minyak⁷. Tween 80 mampu meningkatkan kejernihan tampilan fisik nanoemulsi⁸. Hal ini sejalan dengan persentase transmitan dari nanoemulsi minyak *sea buckthorn* yaitu lebih dari 95% yang menandakan bahwa nanoemulsi memiliki tampilan yang jernih⁹. Hasil menunjukkan bahwa tampilan fisik dari nanoemulsi minyak *sea buckthorn* tidak mengalami perubahan setelah 90 hari penyimpanan. Tween 80 mampu mempertahankan intensitas warna dan kejernihan sejalan dengan hasil persentase transmitan dari minyak *sea buckthorn*. Kejernihan dari nanoemulsi dipengaruhi oleh komposisi surfaktan yaitu tween 80 yang mampu menyusun microstructure dari droplet minyak¹⁰.

3.2. Ukuran Partikel

Hasil pengukuran pengujian pH nanoemulsi minyak *sea buckthorn* untuk FI, FII, dan FIII dapat dilihat pada tabel 1. Hasil nilai pengujian ukuran partikel ketiga formula nanoemulsi minyak *sea buckthorn* memiliki nilai ukuran partikel yang sesuai persyaratan nanoemulsi yaitu 10-100 nm¹¹. Hasil ukuran partikel pada FI selama penyimpanan mengalami peningkatan, hal tersebut karena stabilitas sistem surfaktan dalam nanoemulsi dapat dipengaruhi oleh lamanya waktu penyimpanan dan konsentrasi surfaktan, di mana semakin lama penyimpanan pada nanoemulsi dengan surfaktan rendah, maka



Gambar 1. Nanoemulsi MSB sebelum penyimpanan(a), hari ke-30(b), hari ke-60(c) dan hari ke-90(d)

Tabel 1. Stabilitas ukuran partikel nanoemulsi *sea buckthorn*

Waktu	Ukuran Partikel (nm)*		
	FI	FII	FIII
Sebelum penyimpanan	13,9 ± 2,5	12,7 ± 1,3	13,4 ± 1,6
Hari ke-15	14,1 ± 1,8	12,2 ± 0,2	14,7 ± 1,5
Hari ke-30	15,7 ± 1,5	14,8 ± 0,5	14,4 ± 0,4
Hari ke-60	16,0 ± 0,3 ^{a,b,#}	14,2 ± 1,2	14,8 ± 0,2
Hari ke-90	16,1 ± 1,7 ^{a,b,#}	14,6 ± 0,1	14,9 ± 0,5

*Data disajikan rerata ± standar deviasi dari 3 replikasi

a = berbeda bermakna terhadap ukuran partikel sebelum penyimpanan (FI)

b = berbeda bermakna terhadap ukuran partikel hari ke-15 (FI)

= berbeda bermakna terhadap seluruh ukuran partikel pada seluruh hari

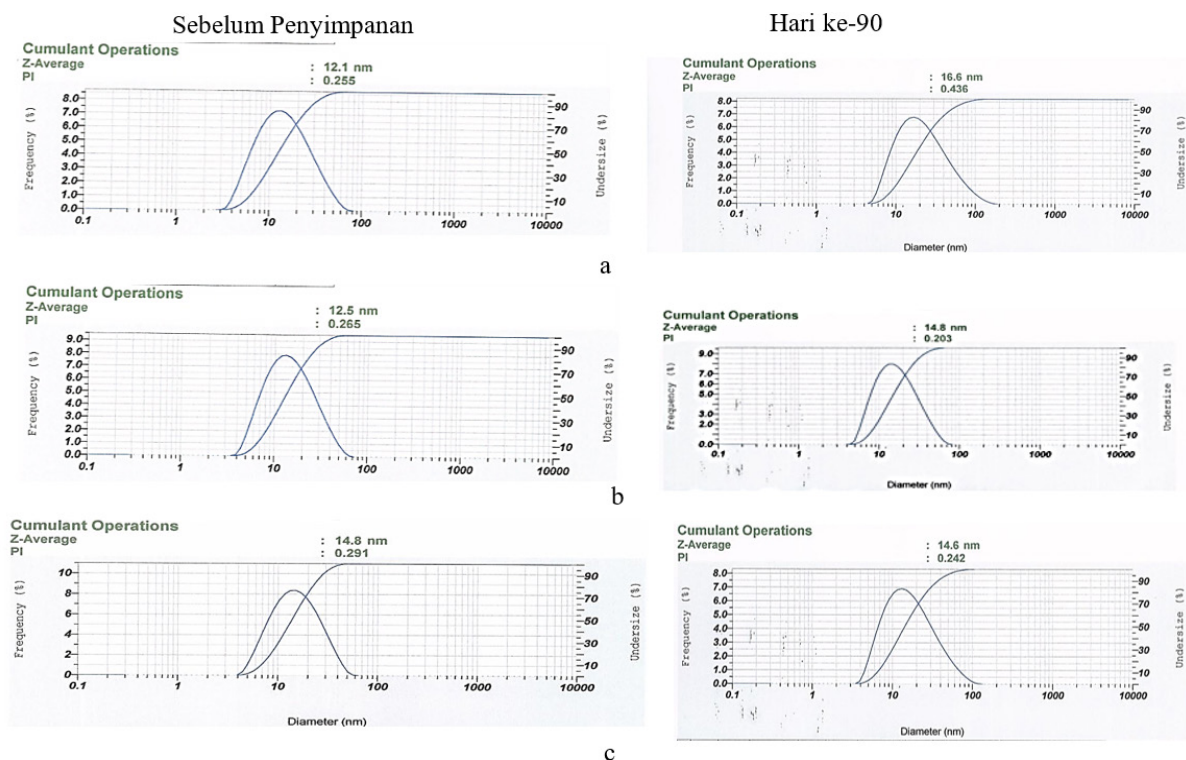
dapat terjadi berpotensi terjadinya *Ostwald ripening*¹². Ostwald ripening dapat terjadi pada nanoemulsi dengan ukuran droplet yang kecil kemudian bergabung menjadi droplet yang lebih besar akibat ikatan surfaktan yang tidak stabil¹³. Konsentrasi Tween 80 mampu mempengaruhi ukuran droplet dan kejernihan di mana peningkatan konsentrasi Tween 80 mampu menurunkan ukuran droplet dan meningkatkan kejernihan¹⁴.

Peran tween 80 sebagai surfaktan dan PEG 400 sebagai ko-surfaktan dapat mempengaruhi hasil akhir nilai ukuran partikel pada nanoemulsi. Surfaktan akan teradsorpsi pada permukaan droplet fase minyak dan akan membentuk misel yang dapat menurunkan tegangan antarmuka sehingga menghasilkan nanoemulsi yang baik dengan ukuran partikel yang kecil¹⁵. Ko-surfaktan akan membantu

dalam mencegah terjadinya pemisahan fase agar tidak bergabung kembali¹⁶.

Hasil pengujian ukuran partikel yang telah dilakukan sejalan dengan penelitian Shabrina (2021) bahwa nanoemulsi dengan tween 80 sebagai surfaktan dan PEG 400 sebagai kosurfaktan menghasilkan ukuran partikel kurang dari 50 nm. Hal ini sejalan dengan penelitian Ahmadi dan Malmiri (2021) bahwa tween 80 mampu menghasilkan nanoemulsi dengan ukuran partikel kurang dari 20 nm.

Distribusi ukuran partikel dapat dilihat pada Gambar 2. Peningkatan konsentrasi Tween 80 tidak mempengaruhi nilai PI pada seluruh formula. Hasil nilai PI sebelum dan setelah 90 hari penyimpanan tidak menunjukkan adanya perbedaan secara statistik ($p = 0,665$). Penggunaan tween 80



Gambar 2. Grafik ukuran partikel dan indeks polidispersitas nanoemulsi MSB FI (a), FII (b) dan FIII (c) sebelum penyimpanan dan hari ke-90

Tabel 2. Stabilitas persentase transmitan nanoemulsi sea buckthorn

Waktu	Persentase Transmitan (%) [*]			
	FI	FII	FIII	
Sebelum penyimpanan	97,777 ± 0,715	97,477 ± 0,644	96,952 ± 0,419	*Data disajikan rerata ± standar deviasi dari 3 replikasi
Hari ke-15	98,267 ± 0,659	97,372 ± 0,764	97,786 ± 0,489	
Hari ke-30	97,916 ± 0,304	97,684 ± 1,125	97,875 ± 0,702	
Hari ke-60	98,568 ± 1,006	98,273 ± 1,519	97,961 ± 1,384	
Hari ke-90	98,391 ± 0,412	97,557 ± 1,152	97,774 ± 0,466	

mampu menjaga stabilitas sistem nanoemulsi dengan mencegah terjadinya agregasi droplet¹⁷. Seluruh formula menunjukkan hasil Polidispersitas Indeks (PI) yaitu kurang dari 0,3 selama 90 hari penyimpanan. Nilai polidispersitas indeks yang mendekati angka 0 menunjukkan bahwa distribusi partikel homogen, sedangkan nilai polidispersitas indeks yang melebihi 0,5 menunjukkan bahwa partikel tidak homogen¹⁸. Nilai polidispersitas indeks yang kecil yaitu kurang dari 0,5 dapat diindikasikan juga bahwa sediaan adalah monodispersi. Sediaan nanoemulsi monodispersi dengan nilai polidispersitas indeks kurang dari 0,5 dapat dihasilkan melalui kombinasi surfaktan dan ko-surfaktan Tween 80 dan PEG 400 yang membuat sistem nanoemulsi menjadi lebih homogen, sehingga mencegah terjadinya *creaming* atau *cracking* yang dapat menyebabkan sediaan menjadi tidak stabil¹⁹.

3.3. Persentase Transmitan

Tingkat kejernihan suatu nanoemulsi dapat diketahui dengan uji persen transmitan. Hasil persentase transmitan nanoemulsi minyak sea buckthorn untuk FI, FII, dan FIII dapat dilihat pada tabel 2. Hasil persentase transmitan seluruh formula menunjukkan lebih dari 95%.

Nilai persen transmitan yang tinggi menunjukkan ukuran partikel dalam sediaan semakin kecil²⁰. Jika sistem pada sediaan

memiliki ukuran partikel sangat kecil ketika dilewati cahaya, maka berkas cahaya akan diteruskan, sehingga warna larutan pada sediaan akan terlihat transparan dan hasil nilai persen transmitan akan semakin besar²¹. Dalam pengujiannya, aquadest digunakan sebagai blanko atau pembanding dikarenakan aquadest tidak memiliki partikel yang dapat menahan transmisi cahaya sehingga cahaya yang dilewatinya akan diteruskan tanpa adanya efek penghamburan cahaya, oleh karenanya aquadest memiliki nilai persen transmitan 100%²².

Nilai persentase transmitan dipengaruhi konsentrasi Tween 80 melalui mekanisme penurunan tegangan permukaan antara fase air dan minyak dalam sistem nanoemulsi sehingga didapatkan ukuran partikel yang kecil dan kejernihan yang tinggi²³. Pengujian persen transmitan yang telah dilakukan sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa nanoemulsi dengan tween 80 dan PEG 400 sebagai surfaktan dan kosurfaktan menghasilkan nilai persen transmitan mendekati 100% yang artinya sediaan memiliki karakteristik fisik jernih dan transparan¹¹.

3.4. pH

Tabel 3 menunjukkan hasil nilai uji pH ketiga formula nanoemulsi minyak *sea buckthorn* masing-masing memiliki nilai pH yang telah sesuai dengan pH sediaan

Tabel 3. Stabilitas pH nanoemulsi sea buckthorn

Waktu	pH [*]			
	FI	FII	FIII	
Sebelum penyimpanan	7,54 ± 0,03	7,57 ± 0,02	7,62 ± 0,05	*Data disajikan rerata ± standar deviasi dari 3 replikasi
Hari ke-15	7,56 ± 0,04	7,63 ± 0,05	7,68 ± 0,06	
Hari ke-30	7,57 ± 0,02	7,59 ± 0,03	7,76 ± 0,03	
Hari ke-60	7,55 ± 0,05	7,66 ± 0,03	7,71 ± 0,04	
Hari ke-90	7,54 ± 0,05	7,57 ± 0,07	7,66 ± 0,07	

Tabel 4. Stabilitas viskositas nanoemulsi sea buckthorn

Waktu	Viskositas (dPa.s)*		
	FI	FII	FIII
Sebelum penyimpanan	1,78 ± 0,90	1,82 ± 0,85	1,63 ± 0,81
Hari ke-15	1,64 ± 0,88	1,48 ± 0,66	1,27 ± 0,63
Hari ke-30	1,53 ± 0,49	1,59 ± 1,18	1,33 ± 1,09
Hari ke-60	1,26 ± 0,86	1,61 ± 0,87	1,76 ± 0,88
Hari ke-90	1,32 ± 0,87	1,44 ± 0,78	1,44 ± 0,76

*Data disajikan rerata ± standar deviasi dari 3 replikasi

topikal yaitu berkisar antara 4,5–8,0. Buah *sea buckthorn* sendiri memiliki pH pada kisaran 2,50–2,73²⁴. Nilai pH yang rendah dikarenakan *sea buckthorn* memiliki komposisi asam lemak jenuh (asam stearat, dan asam palmitat) dan asam lemak tidak jenuh (asam palmitoleat, asam linoleat, asam oleat, dan asam α -linolenat)²⁵. Nilai pH nanoemulsi minyak *sea buckthorn* dapat dikategorikan netral yaitu pada kisaran 7,50–7,66, sehingga sediaan aman untuk digunakan pada kulit²⁶.

Hasil nilai pH nanoemulsi *sea buckthorn* dipengaruhi oleh konsentrasi Tween 80 ($p < 0,05$), di mana semakin tinggi konsentrasi tween 80 yang ditambahkan maka nilai pH sediaan akan semakin tinggi. Hal tersebut dikarenakan pH Tween 80 berada pada kisaran 6,0–8,0. Selama 90 hari penyimpanan, pH nanoemulsi *sea buckthorn* tidak mengalami perubahan yang signifikan pada seluruh formula ($p = 0,43$). Nanoemulsi yang menggunakan variasi tween 80 sebagai surfaktan pada formula dapat menghasilkan nilai pH yang semakin tinggi sesuai dengan kenaikan jumlah surfaktan²⁷.

3.5. Viskositas dan Sifat Alir

Viskositas nanoemulsi *sea buckthorn* dapat dilihat pada tabel 4. Peningkatan konsentrasi tween 80 mampu meningkatkan viskositas sistem nanoemulsi²⁸. Hasil viskositas nanoemulsi minyak *sea buckthorn* menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi tween 80 maka nilai viskositas dapat meningkat. Kenaikan viskositas dapat mempertahankan stabilitas nanoemulsi dengan cara menurunkan pergerakan globul di dalam sistem²⁹. Selama 90 hari penyimpanan, nanoemulsi minyak *sea buckthorn*, viskositas sediaan stabil dan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p =$

0,58). Viskositas seluruh formula berada pada kisaran 1,2 hingga 1,9 dPa.s yang termasuk ke dalam kategori viskositas rendah. Hal ini dikarenakan tipe nanoemulsi adalah minyak di dalam air dengan rasio komponen surfaktan hidrofilik dan air lebih dari 70% sehingga sejalan dengan penelitian³⁰. Nilai viskositas yang rendah akan memudahkan pengguna dalam mengaplikasikan sediaan pada kulit dan memungkinkan zat aktif dapat tersebar secara merata di seluruh area kulit³¹.

Viskositas nanoemulsi minyak *sea buckthorn* FI, FII, dan FIII dapat dilihat pada tabel 4. Sifat alir nanoemulsi *sea buckthorn* adalah newtonian. Sehingga dapat diketahui bahwa sediaan memiliki sifat alir seperti sediaan larutan. Hasil tersebut menunjukkan bahwa partikel yang terbentuk sangat kecil sehingga sediaan nanoemulsi yang terbentuk menyerupai dengan larutan dan mudah mengalir³².

4. Kesimpulan

Nanoemulsi minyak *sea buckthorn* dengan tween 80 konsentrasi 35–45% menghasilkan nanoemulsi minyak *sea buckthorn* yang stabil selama 90 hari penyimpanan.

5. Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada DIPA 2022 Universitas Wahid Hasyim yang telah memberikan dana penelitian melalui skema Penelitian Interdisipliner berdasarkan nomor kontrak 050/LPPM-UWH/PENELITIAN/INTERDISIPLINER/DIPA-UWH/2022.

Daftar Pustaka

1. Kausar R, Akhtar N, Khan HMS, Kiani MH. Effects of flavonoids and

- antioxidants of blackberry on skin whitening and erythema. *Asian J Chem*. 2017;29(6):1365–8.
2. Gęgotek A, Jastrzab A, Jarocka-Karpowicz I, Muszyńska M, Skrzydlewska E. The effect of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil on UV-induced changes in lipid metabolism of human skin cells. *Antioxidants*. 2018;7(9).
 3. Shabrina A, Safitri EI, Fithria RF, Munir M, Sumantri S. Chemical qualitative analysis and spf value stability of nutmeg seed oil in microemulsions with tween 80 and PEG 400 as surfactants and cosurfactants. *Pharmaciana*. 2022;12(1):106.
 4. Shabrina A, Pratiwi AR, Muurukmihadi M. Stabilitas Fisik Dan Antioksidan Mikroemulsi Minyak Nilam Dengan Variasi Tween 80 Dan PEG 400. *Media Farm*. 2020;16(2):185.
 5. Priani SE, Azhari Abdilla S, Suparnan A. Pengembangan Sediaan Mikroemulsi Gel Antijerawat Mengandung Minyak Kulit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl). *J Ilm Farm Farmasyifa*. 2020;3(1):9–17.
 6. FDA. ASEAN guideline on stability study of drug product. ASEAN Guidel Stability Study. *Prod Revis*. 2013;(May):1–40.
 7. Jafari S, McClements D. Nanoemulsions: formulation, applications, and characterization: 1st edition. CRC Press; 2018. 2018 p.
 8. Ahmadi O, Jafarizadeh-Malmiri H. Intensification process in thyme essential oil nanoemulsion preparation based on subcritical water as green solvent and six different emulsifiers. *Green Process Synth*. 2021;10(1):430–9.
 9. Fuentes K, Matamala C, Martínez N, Zúñiga RN, Troncoso E. Comparative study of physicochemical properties of nanoemulsions fabricated with natural and synthetic surfactants. *Processes*. 2021;9(11):7–9.
 10. Chen Z, Zhang S, Li Z, Ma G, Su Z. Construction of a stable w/o nano-emulsion as a potential adjuvant for foot and mouth disease virus vaccine. *Artif Cells, Nanomedicine Biotechnol*. 2017;45(5):897–906.
 11. Mariadi, Prasetyo BE, Adela H, Wiladatika W. Formulation and Characterization of Nanoemulsion of Tread leave Ethanol Extract (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don) as Antihyperglycemic. *Indones J Pharm Clin Res*. 2019;2(2):24–30.
 12. Shaker DS, Ishak RAH, Ghoneim A, Elhuoni MA. Nanoemulsion: A review on mechanisms for the transdermal delivery of hydrophobic and hydrophilic drugs. *Sci Pharm*. 2019;87(3).
 13. Mahajan HS, Mahajan MS, Nerkar PP, Agrawal A. Nanoemulsion-based intranasal drug delivery system of saquinavir mesylate for brain targeting. *Drug Deliv*. 2014 Mar;21(2):148–54.
 14. Parveen R, Baboota S, Ali J, Ahuja A, Ahmad S. Stability studies of silymarin nanoemulsion containing Tween 80 as a surfactant. *J Pharm Bioallied Sci*. 2015;7(4):321–4.
 15. Handa M, Ujjwal RR, Vasdev N, Flora SJS, Shukla R. Optimization of Surfactant- And Cosurfactant-Aided Pine Oil Nanoemulsions by Isothermal Low-Energy Methods for Anticholinesterase Activity. *ACS Omega*. 2021;6(1):559–68.
 16. Thomas S, Vieira CS, Hass MA, Lopes LB. Stability, cutaneous delivery, and antioxidant potential of a lipoic acid and α -tocopherol codrug incorporated in microemulsions. *J Pharm Sci*. 2014;103(8):2530–8.
 17. Nikolovski BG, Ilić JD, Sovilj MN. How to formulate a stable and monodisperse water-in-oil nanoemulsion containing pumpkin seed oil: The use of multiobjective optimization. *Brazilian J Chem Eng*. 2016;33(4):919–31.
 18. Beandrade MU. Formulasi dan Karakterisasi SNEDDS Ekstrak Jinten Hitam (*Nigella sativa*) dengan Fase Minyak Ikan Hiu Cucut Botol (*Centrophorus* Sp) serta Uji Aktivitas Imunostimulan. *JPSCR J Pharm Sci Clin Res*. 2018;3(1):50.
 19. Tungadi R, Wicita P. Formulation, optimization, and characterization of snakehead fish (*Ophiocephalus striatus*)

- powder nanoemulgel. *Brazilian J Pharm Sci.* 2020;56:1–8.
20. Badawi AA, El-Aziz NA, Amin MM, Sheta NM. Topical benzophenone-3 microemulsion-based gels: Preparation, evaluation and determination of microbiological UV blocking activity. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2014;6(8):562–70.
 21. Bhalke RD, Kulkarni SS, Kendre PN, Pande V V, Giri MA. A facile approach to fabrication and characterization of novel herbal microemulsion-based UV shielding cream. *Futur J Pharm Sci.* 2020;6(1):1–10.
 22. Hasrawati A, Hasyim N, Irsyad NA. Pengembangan Formulasi Mikroemulsi Minyak Sereh (*Cymbopogon nardus*) Menggunakan Emulgator Surfaktan Nonionik. *J Fitofarmaka Indones.* 2016;3(1):151–4.
 23. Laxmi M, Bhardwaj A, Mehta S, Mehta A. Development and characterization of nanoemulsion as carrier for the enhancement of bioavailability of artemether. *Artif Cells, Nanomedicine, Biotechnol [Internet].* 2015;43(5):334–44. Available from: <https://doi.org/10.3109/21691401.2014.887018>
 24. Gätlan AM, Gutt G. Sea buckthorn in plant based diets. An analytical approach of sea buckthorn fruits composition: Nutritional value, applications, and health benefits. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(17).
 25. Xu S, Tang Z, Liu H, Wang M, Sun J, Song Z, et al. Microencapsulation of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) pulp oil by spray drying. *Food Sci Nutr.* 2020;8(11):5785–97.
 26. Natasya I. Formulasi dan Sediaan Mikroemulsi Ekstrak Etanol Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) kuntze). *Skripsi.* 2018;
 27. Singh P, Kaur G, Singh A. Physical, morphological and storage stability of Clove oil nanoemulsion based delivery system. *Food Sci Technol Int [Internet].* 0(0):10820132211069470. Available from: <https://doi.org/10.1177/10820132211069470>
 28. Hanifah M, Jufri M. Formulation and stability testing of nanoemulsion lotion containing centella asiatica extract. *J Young Pharm.* 2018;10(4):404–8.
 29. Sondari D, Tursiloadi S. The effect of surfactan on formulation and stability of nanoemulsion using extract of *Centella Asiatica* and *Zingiber Officinale*. *AIP Conf Proc.* 2018;2049(December 2018).
 30. Aini NN, Wijayatri R, Pribadi P. Jurnal Farmasi Sains dan Praktis Nanoemulsion Characteristics Of Ethanol Extract From Leaves Of Various Plants : A Literature Review. 2022;8(3):215–26.
 31. Kim S. Microemulsion Formulation of Natural Plant Oils for Topical Delivery. :2–3.
 32. Nazar MF, Khan AM, Shah SS. Microemulsion system with improved loading of piroxicam: A study of microstructure. *AAPS PharmSciTech.* 2009;10(4):1286–94.