

PENGEMBANGAN FORMULA NANOSTRUCTURED LIPID CARRIER (NLC) SEBAGAI PEMBAWA MINYAK ATSIRI MELATI (*Jasminum officinale* L.) SERTA POTENSI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

Satrialdi¹, Pinesti Anjani Putri¹, dan Yunus Aji Lumintang¹

¹ Kelompok Keilmuan Farmasetika, Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Kota Bandung

ABSTRAK

Potensi penggunaan minyak atsiri sebagai bahan baku obat dan kosmetik sangat menjanjikan, salah satunya minyak atsiri melati (*Jasminum officinale* L.) yang telah dilaporkan memiliki berbagai aktivitas farmakologi. Namun dikarenakan karakteristiknya yang mudah menguap, rentan terdegradasi, dan kelarutannya yang rendah dalam air menyebabkan keterbatasan dalam penggunaannya. Selain itu, dalam konteks penggunaan langsung secara topikal, minyak atsiri melati (MAM) dapat menimbulkan efek iritasi pada kulit. Untuk itu, dalam penelitian ini dikembangkan suatu sistem penghantaran berbasis lipid yakni *nanostructured lipid carrier* (NLC) sebagai pembawa MAM. Pembuatan NLC-MAM dilakukan dengan metode emulsifikasi-sonikasi. Proses optimasi yang dilakukan meliputi optimasi konsentrasi total lipid, optimasi sistem surfaktan dan konsentrasinya, serta optimasi rasio lipid padat dan lipid cair. Selain itu, dilakukan pula optimasi proses sonikasi dengan memvariasikan tahapan sonikasi. Selanjutnya, formula optimum dikarakterisasi meliputi penentuan ukuran partikel dan distribusinya, pengukuran zeta potensial, pengamatan morfologi partikel, dan penetapan efisiensi enkapsulasi. NLC-MAM yang dihasilkan memiliki bentuk sferis dengan ukuran partikel $152,93 \pm 8,18$ nm, indeks polidispersitas $0,37 \pm 0,05$ dan zeta potensial $-21,60 \pm 6,75$ mV. Efisiensi enkapsulasi MAM ke dalam sistem NLC yang diperoleh sebesar $97,65 \pm 2,34\%$, dan tidak mengalami perubahan yang signifikan setelah penyimpanan selama 14 hari. Selanjutnya, potensi aktivitas antioksidan NLC-MAM dievaluasi menggunakan metode peredaman 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa potensi aktivitas antioksidan MAM bebas sebanding dengan MAM yang dienkapsulasi ke dalam sistem NLC. Hal ini menggambarkan bahwa proses pembuatan NLC tidak mempengaruhi potensi aktivitas antioksidan MAM. Selain itu, NLC-MAM yang dihasilkan berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai agen terapeutik maupun kosmetik.

Kata Kunci :

minyak atsiri melati, *nanostructured lipid carrier*, antioksidan.

PENDAHULUAN

Minyak atsiri telah lama dimanfaatkan untuk berbagai kegunaan seperti bahan pewangi, pemberi rasa pada makanan, hingga agen terapeutik dan bahan kosmetik (1). Minyak atsiri merupakan salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan dan dapat diperoleh dari berbagai bagian tumbuhan seperti daun, bunga, buah, biji, rimpang, atau pun batang. Minyak ini tersusun atas gabungan senyawa volatil dengan berbagai konsentrasi. Konstituen utamanya adalah senyawa terpenoid seperti monoterpen, diterpen, atau sesquiterpen; dan sisanya dapat berupa gabungan senyawa hidrokarbon alifatik, alkohol, aldehid, atau ester (2,3). Karena kandungannya yang beragam, minyak atsiri memunculkan berbagai aktivitas yang dapat dimanfaatkan dalam dunia farmasi.

Melati merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri dan umumnya minyak atsiri diambil dari bunga spesies *Jasminum sambac* L., *Jasminum grandiflorum* L., dan *Jasminum officinale* L. (4,5). *Jasminum officinale* L. berasal dari daerah Kaukasus (Turki, Georgia), Himalaya (China, India, Pakistan, Bhutan), serta sekitar Irak dan Iran (6). Di Indonesia, bunga ini banyak dibudidayakan di beberapa daerah seperti Tegal, Pemalang, dan Purbalingga (7). Selain terkenal untuk dimanfaatkan sebagai bahan wewangian, minyak

atsiri melati (MAM) *Jasminum officinale* L. juga dilaporkan memiliki beberapa aktivitas farmakologi seperti antibakteri (8), antispasmodik (9), pereda nyeri (10), serta antioksidan (1). Senyawa utama penyusun MAM yang telah dilaporkan dalam beberapa penelitian antara lain, benzil benzoat (5), nerolidol (11), benzil alkohol, benzil asetat (12), heksenil benzoat, linalool (1), indol (5), metil antranilat (12)(13), dan phytol (11). Beberapa senyawa seperti phytol, nerolidol, benzil benzoat, benzil alkohol, benzil asetat, linalool, dan indol dilaporkan sebagai komponen volatil utama pada MAM (11).

Minyak atsiri secara umum memiliki keterbatasan dalam penghantaran secara langsung karena memiliki karakter volatil, rentan terhadap degradasi, dan kelarutan dalam air yang rendah. Hal ini dapat menyebabkan penurunan aktivitas yang diinginkan atau menimbulkan efek lain yang tidak diinginkan (2,3). Selain permasalahan volatilitas, MAM juga dikategorikan sebagai agen sensitisasi ringan hingga sedang terhadap kulit (13) dan dilaporkan menyebabkan dermatitis kontak berdasarkan beberapa publikasi (5,13). Untuk mengatasi permasalahan tersebut, diperlukan suatu sistem penghantaran obat yang mampu mempertahankan potensi terapeutik MAM dan meminimalisasi efek samping yang tidak

Masuk 26-06-2023

Revisi 21-07-2023

Diterima 24-08-2023

DOI: 10.20956/mff.v27i2.27395

Korespondensi

Satrialdi

satrialdi@itb.ac.id

Copyright

© 2023 Majalah Farmasi Farmakologi Fakultas Farmasi - Makassar

Diterbitkan tanggal

31 Agustus 2023

Dapat Diakses Daring Pada:

<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



diinginkan. Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan proses enkapsulasi minyak atsiri ke dalam suatu sistem penghantaran obat. Enkapsulasi minyak atsiri dapat meningkatkan aktivitas dan kestabilan fisik, melindungi dari degradasi, serta mengurangi evaporasi dan efek toksik. Nanopartikel berbasis lipid merupakan salah satu kandidat potensial yang dapat digunakan untuk menghantarkan minyak atsiri yang memiliki hidrofobisitas yang relatif tinggi.

Nanostructured Lipid Carrier (NLC) merupakan generasi kedua sistem nanopartikel berbasis lipid yang dikembangkan untuk memperbaiki kinerja dari sistem nanopartikel berbasis lipid generasi pertama yakni *Solid Lipid Nanoparticle* (SLN). Perbedaan mendasar antara kedua sistem nanopartikel ini terletak pada penambahan komponen lipid cair pada formulasi NLC. Kehadiran lipid cair ini menyebabkan distorsi pada pembentukan inti kristalin lipid yang menjadi penyebab utama kelemahan sistem SLN yang dapat menyebabkan penurunan kapasitas enkapsulasi obat dan peningkatan proses ekspulsi obat dari struktur SLN (14,15). Selain itu, lipid cair juga dapat meningkatkan kelarutan sebagian besar obat sehingga proses enkapsulasi dapat terjadi dengan optimal dan kapasitas enkapsulasi obat dapat meningkat (16). Untuk menstabilkan sistem NLC, digunakan surfaktan baik dalam bentuk tunggal maupun kombinasi. Kehadiran komponen lipid dapat meningkatkan derajat oklusifitas pada kulit, sehingga dapat meningkatkan efek hidrasi kulit dan memfasilitasi proses penetrasi obat ke dalam kulit.

Pada penelitian ini dikembangkan suatu sistem NLC untuk penghantaran MAM. Proses pengembangan NLC dimulai dari optimasi formula NLC dan proses pembuatan, kemudian dilanjutkan dengan studi karakteristik NLC. Optimasi formula yang dilakukan meliputi optimasi konsentrasi total lipid, optimasi sistem surfaktan dan konsentrasinya, serta optimasi rasio lipid padat dan lipid cair. Sedangkan optimasi proses yang dilakukan bertujuan untuk melihat pengaruh tipe sonikator yang digunakan terhadap karakteristik partikel yang dihasilkan. Setelah memperoleh formula NLC-MAM yang optimal, proses karakterisasi dilakukan meliputi penentuan ukuran partikel dan distribusinya, pengukuran zeta potensial, pengamatan morfologi partikel, penentuan efisiensi enkapsulasi, dan uji aktivitas antioksidan secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Bahan

Minyak atsiri melati (MAM) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Lansida Herbal Technology (Yogyakarta, Indonesia). Sedangkan komponen lipid padat yang digunakan adalah *beeswax* yang didapatkan dari PT. Kalfaro Lab. (Kabupaten Bandung, Indonesia). Selain itu, minyak almon digunakan sebagai komponen lipid cair yang diperoleh dari Happy Green (Jakarta, Indonesia). Untuk pengujian aktivitas antioksidan, digunakan reagen *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) yang diperoleh dari PT. Smart-Lab Indonesia (Tangerang, Indonesia) dan vitamin C sebagai pembanding yang didapatkan dari Merck (Rahway, NJ, USA). Surfaktan dan ko-surfaktan yang digunakan antara lain Tween 80, lesitin, propilen glikol, serta bahan dan pelarut kimia lainnya yang digunakan dalam penelitian ini memiliki grade pro analisis.

Formulasi NLC-MAM

NLC-MAM dibuat dengan menggunakan metode emulsifikasi-sonikasi, merujuk pada penelitian sebelumnya (17) dengan modifikasi minor. Secara detail, fase lipid yang terdiri dari *beeswax*, minyak almon, dan MAM dicampurkan dan dipanaskan hingga suhu 70 °C. Pada wadah lainnya, larutan surfaktan di dalam air dipanaskan hingga mencapai suhu yang sama dengan fase lipid. Kedua fase kemudian dicampurkan dan dihomogenisasi menggunakan

homogenizer dengan kecepatan 8.000 putaran per menit (ppm) selama 4,5 menit. Pre-emulsi yang terbentuk kemudian disonikasi menggunakan sonikator tipe *bath* selama 15 menit untuk menghasilkan NLC-MAM. Produk yang dihasilkan disimpan pada suhu 2-8 °C.

Optimasi formula dan proses pembuatan NLC-MAM

Tabel 1. Optimasi konsentrasi total lipid

Nama Bahan	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)
<i>Beeswax</i>	3,0	2,4	1,8
Minyak almon			
Minyak atsiri melati	7,0	5,6	4,2
Tween 80	2,0	2,0	2,0
Aquades	Ad 100	Ad 100	Ad 100

Tabel 2. Optimasi sistem surfaktan

Nama Bahan	F3 (%)	F4 (%)	F5 (%)
<i>Beeswax</i>	1,8	1,8	1,8
Minyak almon			
Minyak atsiri melati	4,2	4,2	4,2
Tween 80	2,0	1,6	1,6
Lesitin	-	0,4	-
Propilen glikol	-	-	0,4
Aquades	Ad 100	Ad 100	Ad 100

Optimasi formula NLC-MAM yang dilakukan meliputi optimasi konsentrasi total lipid, optimasi sistem surfaktan dan konsentrasinya, serta optimasi rasio lipid padat dan lipid cair. Optimasi konsentrasi total lipid dilakukan dengan memvariasikan jumlah komponen lipid pada konsentrasi 6%, 8%, dan 10% yang diformulasikan menggunakan 2% Tween 80 (Tabel 1). Sedangkan optimasi sistem surfaktan bertujuan untuk melihat pengaruh penambahan ko-surfaktan terhadap karakteristik NLC-MAM yang dihasilkan. Dalam optimasi ini digunakan propilen glikol dan lesitin sebagai kandidat ko-surfaktan yang ditambahkan dengan rasio 1:4 terhadap Tween 80 sebagai surfaktan utama (Tabel 2). Setelah diperoleh sistem surfaktan yang terbaik, selanjutnya dilakukan optimasi konsentrasi sistem surfaktan dengan memvariasikan jumlah surfaktan pada konsentrasi 2% dan 6% (Tabel 3). Optimasi formula lainnya yang dilakukan adalah menentukan rasio lipid padat terhadap lipid cair dengan variasi rasio 3:7, 4:6 dan 2:8 (Tabel 4). Sedangkan optimasi proses pembuatan NLC-MAM yang dilakukan adalah dengan memvariasikan tahapan sonikasi dengan menggunakan sonikator tipe *bath* dan kombinasi antara sonikator tipe *bath* dan *probe*. Pengambilan kesimpulan dalam proses optimasi ini didasarkan pada parameter tampilan visual, ukuran partikel, dan indeks polidispersitas.

Tabel 3. Optimasi konsentrasi sistem surfaktan

Nama Bahan	F5 (%)	F6 (%)
<i>Beeswax</i>	1,8	1,8
Minyak almon		
Minyak atsiri melati	4,2	4,2
Tween 80	1,6	4,8
Propilen glikol	0,4	1,2
Aquades	Ad 100	Ad 100

Tabel 4. Optimasi rasio lipid padat terhadap lipid cair

Nama Bahan	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)
<i>Beeswax</i>	3,0	2,4	1,8
Minyak almon			
Minyak atsiri melati	7,0	5,6	4,2
Tween 80	2,0	2,0	2,0
Aquades	Ad 100	Ad 100	Ad 100

Karakterisasi NLC-MAM

Karakterisasi NLC-MAM yang dilakukan meliputi penentuan ukuran partikel, distribusi ukuran partikel, pengukuran zeta potensial, dan pengamatan morfologi partikel. Ukuran

partikel NLC-MAM ditentukan menggunakan metode Dynamic Light Scattering (DLS) menggunakan instrumen Particle Size Analyzer (Beckman Coulter Delsa Nano C, Brea, CA, USA). Dalam pengukuran ini diperoleh informasi terkait ukuran partikel NLC-MAM serta distribusi ukuran partikel dalam bentuk indeks polidispersitas. Sedangkan zeta potensial diukur menggunakan metode Electrophoretic Light Scattering (ELS) menggunakan instrumen yang sama dengan penentuan ukuran partikel. Untuk pengamatan morfologi partikel NLC-MAM dilakukan menggunakan Transmission Electron Microscopy (TEM) dengan metode negative staining menggunakan uranylless.

Penetapan efisiensi enkapsulasi

Efisiensi enkapsulasi (EE) ditentukan dengan metode tidak langsung. Secara detail, proses penentuan diawali dengan pemisahan NLC-MAM dari MAM yang mungkin tidak terenkapsulasi ke dalam sistem NLC-MAM. Pemisahan dilakukan dengan menggunakan sentrifugal ultrafilter (MWCO 10 kDa) pada kecepatan 10.000 ppm selama 30 menit. Minyak atsiri melati bebas memiliki kemampuan untuk melewati filter, sedangkan NLC-MAM akan tertahan pada filter. MAM bebas diencerkan menggunakan etanol dengan perbandingan 3:1, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 287 nm. Penentuan kadar MAM bebas dilakukan dengan membandingkan absorbansi sampel terhadap absorbansi standar yang dibuat dalam bentuk kurva kalibrasi. Sedangkan efisiensi enkapsulasi dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$EE (\%) = \frac{(konsentrasi\ awal\ MAM - konsentrasi\ bebas\ MAM)}{konsentrasi\ awal\ MAM} \times 100\%$$

Penetapan efisiensi enkapsulasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 (tiga) kali dan dilakukan perbandingan antara efisiensi enkapsulasi NLC-MAM sesaat setelah proses pembuatan dengan NLC-MAM yang telah disimpan pada suhu 2-8 °C selama 14 hari.

Uji aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan NLC-MAM dilakukan dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Sebagai pembanding digunakan vitamin C dan MAM yang tidak dienkapsulasi ke dalam sistem NLC. Larutan DPPH dibuat dengan melarutkan reagen DPPH di dalam metanol hingga diperoleh konsentrasi 200 µg/mL. Sedangkan larutan sampel dan pembanding dibuat dengan melarutkan sampel atau pembanding di dalam etanol hingga tercapai konsentrasi yang diinginkan. Penetapan aktivitas antioksidan dari setiap sampel dan pembanding dilakukan dengan mereaksikan 1 bagian larutan DPPH dengan 3 bagian larutan sampel atau pembanding yang dilanjutkan dengan proses inkubasi selama 30 menit di suhu ruang dengan keadaan gelap. Sebagai patokan absorbansi awal larutan DPPH, 1 bagian larutan DPPH direaksikan dengan 3 bagian etanol. Selanjutnya, dilakukan pengukuran absorbansi campuran pada panjang gelombang 517 nm, kemudian dilakukan perhitungan persen peredaman DPPH dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Peredaman (\%)} = \frac{(\text{absorbansi awal larutan DPPH} - \text{absorbansi sampel})}{\text{absorbansi awal larutan DPPH}} \times 100\%$$

Hasil penetapan aktivitas antioksidan dihitung sebagai mg vitamin C ekuivalen per gram MAM. Penetapan aktivitas antioksidan dilakukan dengan pengulangan sebanyak 3 (tiga) kali untuk setiap sampel dan pembanding yang digunakan.

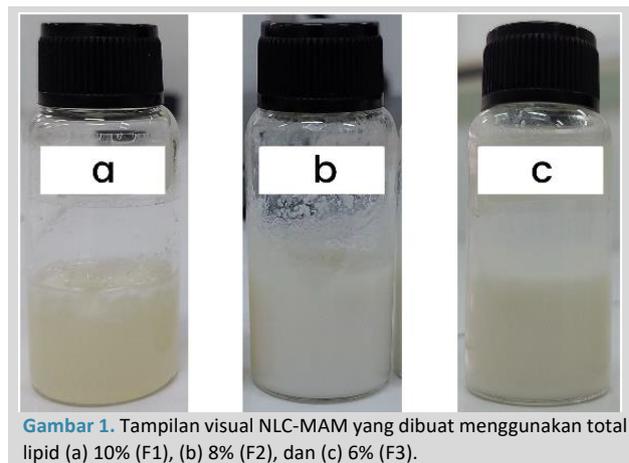
Analisis statistik

Seluruh data kuantitatif yang disajikan merupakan nilai rata-rata dengan standar deviasi (S.D.) dari minimal tiga replikasi percobaan secara independen. Data kuantitatif tersebut kemudian dilakukan analisis statistik untuk mengevaluasi adanya perbedaan bermakna antara dua atau lebih kelompok percobaan. Uji T dilakukan untuk mengevaluasi perbedaan antar dua kelompok percobaan, sedangkan untuk perbandingan antar lebih dari dua kelompok, dilakukan uji ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Student-Newman-Keuls (uji SNK).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi konsentrasi total lipid

Lipid memainkan peranan penting dalam pembentukan sistem NLC, salah satunya dalam proses enkapsulasi zat aktif. Ruang yang terbentuk dalam struktur NLC disusun oleh campuran lipid padat dan lipid cair yang memungkinkan zat aktif bersifat hidrofobik untuk dapat terdeposit dan terenkapsulasi di dalam struktur tersebut. Namun, ketika konsentrasi lipid yang digunakan dalam pembentukan NLC berada pada konsentrasi yang terlalu tinggi dapat berakibat pada penurunan stabilitas fisik NLC yang disebabkan oleh peningkatan proses rekristalisasi lipid (18). Untuk itu, diperlukan suatu proses optimasi untuk menemukan kesetimbangan antara stabilitas fisik NLC yang dihasilkan dengan kemampuan sistem NLC dalam mengenkapsulasi zat aktif yang ingin dihantarkan.



Gambar 1. Tampilan visual NLC-MAM yang dibuat menggunakan total lipid (a) 10% (F1), (b) 8% (F2), dan (c) 6% (F3).

Dalam penelitian ini, dilakukan pembuatan NLC-MAM menggunakan 3 (tiga) variasi konsentrasi total lipid yakni 10% (F1), 8% (F2), dan 6% (F3), dengan perbandingan antara lipid padat dan lipid cair sebesar 3:7. *Beeswax* digunakan sebagai komponen lipid padat, sedangkan komponen lipid cair terdiri dari minyak almond dan MAM. Berdasarkan Gambar 1, variasi total lipid menghasilkan tampilan fisik NLC yang sangat berbeda. NLC yang dibuat menggunakan total lipid 10% (F1) menghasilkan campuran yang tidak homogen dengan sebagian besar lipid mengalami penggumpalan di bagian atas campuran (Gambar 1-a). Ketika total lipid diturunkan menjadi 8% (F2), diperoleh campuran yang lebih baik, namun gumpalan lipid masih ditemukan dalam jumlah yang cukup banyak di bagian atas campuran (Gambar 1-b). Penurunan selanjutnya total lipid menjadi 6% (F3) menghasilkan sistem NLC dengan homogenitas terbaik (Gambar 1-c) relatif terhadap total lipid 8% dan 10%. Untuk itu, total lipid sebesar 6% (F3) dipilih untuk digunakan pada tahapan optimasi berikutnya.

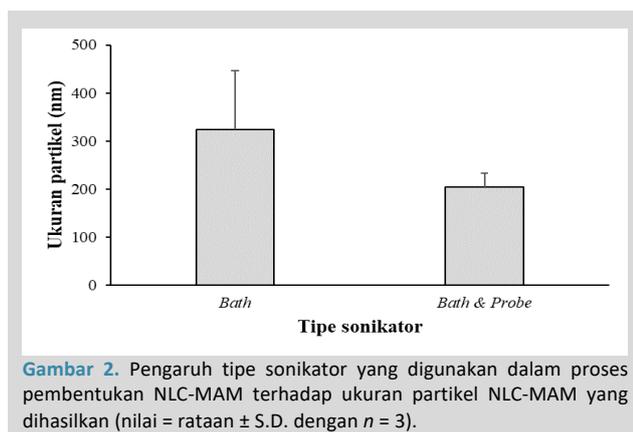
Optimasi sistem surfaktan

Pada awal proses pembuatan NLC-MAM dengan total lipid 6% sesuai hasil optimasi sebelumnya, digunakan sistem

surfaktan tunggal yang terdiri dari 2% Tween 80. Berdasarkan hasil pengukuran partikel menggunakan metode DLS diperoleh NLC dengan ukuran yang sangat besar (>500 nm) dengan tingkat homogenitas distribusi ukuran partikel yang tidak baik, ditandai oleh nilai indeks polidispersitas yang sangat tinggi (>0,5). Hasil ini disebabkan oleh ketidakmampuan surfaktan tunggal yang digunakan dalam menstabilkan permukaan NLC yang dihasilkan. Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan kemampuan stabilisasi surfaktan adalah dengan penambahan ko-surfaktan yang dapat membantu penurunan tegangan permukaan lebih rendah lagi dibanding dari penurunan yang dihasilkan oleh surfaktan tunggal (19). Selain itu, keberadaan ko-surfaktan dapat meningkatkan rigiditas struktur yang dibentuk oleh surfaktan utama pada permukaan NLC, sehingga diperoleh sistem NLC yang lebih stabil.

Ko-surfaktan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari lesitin, suatu surfaktan amfoterik tidak larut air, dan propilen glikol yang merupakan senyawa diol larut air. Rasio antara surfaktan utama (Tween 80) terhadap ko-surfaktan dibuat sama untuk kedua jenis ko-surfaktan yang digunakan, yakni 4:1. Sebagai hasilnya, NLC-MAM yang diformulasikan menggunakan kombinasi Tween 80 dan lesitin (F4) menghasilkan sistem koloidal dengan ukuran partikel yang lebih kecil (~400 nm) dibandingkan dengan NLC-MAM yang dihasilkan menggunakan surfaktan tunggal (F3). Namun, NLC-MAM yang dihasilkan menggunakan kombinasi Tween 80 dan lesitin menunjukkan ketidakstabilan fisik berupa pemisahan fase ketika campuran didiamkan. Hasil yang berbeda diperoleh dari pembuatan NLC-MAM menggunakan kombinasi Tween 80 dan propilen glikol (F5). Sistem koloidal yang terbentuk berwarna putih, homogen dengan ukuran partikel sebesar $323,2 \pm 122,5$ nm dan indeks polidispersitas sebesar $0,37 \pm 0,07$. Hasil ini menggambarkan pengaruh yang signifikan dari keberadaan ko-surfaktan dalam proses pembentukan NLC dan proses stabilisasinya. Selain itu, jenis ko-surfaktan yang digunakan sangat berpengaruh terhadap stabilisasi sistem NLC.

Optimasi tahapan sonikasi



Gambar 2. Pengaruh tipe sonikator yang digunakan dalam proses pembentukan NLC-MAM terhadap ukuran partikel NLC-MAM yang dihasilkan (nilai = rata-rata \pm S.D. dengan $n = 3$).

NLC-MAM dibuat menggunakan metode emulsifikasi-sonikasi. Dalam proses pembuatannya, campuran minyak dan air mengalami proses emulsifikasi membentuk globul berukuran mikrometer melalui pencampuran menggunakan *homogenizer* kinerja tinggi. Selanjutnya, proses pengecilan ukuran globul dilakukan dengan menggunakan teknik sonikasi yang memanfaatkan gelombang suara ultrasonik untuk memecah agregat partikel besar menjadi partikel dengan ukuran yang relatif lebih kecil. Untuk melihat pengaruh proses sonikasi terhadap proses pengecilan ukuran partikel, dilakukan variasi proses sonikasi yang meliputi satu kali proses sonikasi menggunakan sonikator tipe *bath* dan dua kali proses sonikasi menggunakan kombinasi sonikator

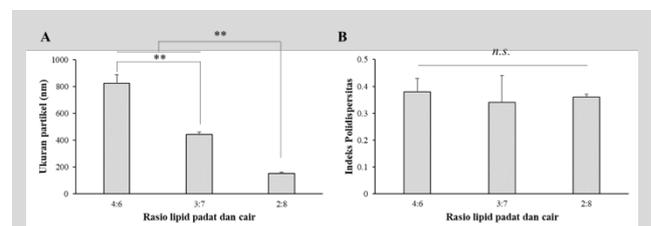
tipe *bath* yang dilanjutkan dengan proses sonikasi menggunakan sonikator tipe *probe*.

Berdasarkan hasil yang tercantum pada Gambar 2, terlihat bahwa tahapan sonikasi sangat mempengaruhi karakteristik fisik NLC yang dihasilkan. Penambahan proses sonikasi menggunakan sonikator tipe *probe* menghasilkan ukuran partikel NLC yang secara signifikan lebih kecil dibandingkan dengan proses sonikasi tunggal menggunakan sonikator tipe *bath*. Selain itu, reproduktibilitas partikel yang dihasilkan pun meningkat secara signifikan yang ditandai oleh rendahnya nilai simpangan baku yang dihasilkan. Hasil ini merepresentasikan proses pengecilan ukuran NLC secara bertahap dalam proses pembuatan NLC sangat dibutuhkan untuk menghasilkan partikel NLC yang berukuran kecil.

Optimasi konsentrasi sistem surfaktan

Optimasi tahapan sonikasi menggunakan kombinasi sonikator tipe *bath* dan tipe *probe* secara efektif telah berhasil memperkecil ukuran partikel NLC-MAM menjadi $204,43 \pm 29,19$ nm dengan indeks polidispersitas sebesar $0,38 \pm 0,05$. Namun, pada sediaan NLC-MAM yang dihasilkan masih ditemukan gumpalan lipid yang menempel pada bagian sonikator. Hal ini menandakan formula NLC-MAM yang diperoleh tidak homogen. Salah satu penyebab ketidakhomogenan yang terjadi disebabkan oleh jumlah total sistem surfaktan yang digunakan belum memadai untuk memberikan efek stabilisasi pada sistem NLC. Untuk itu, tahapan optimasi berikutnya dilakukan peningkatan jumlah total sistem surfaktan yang awalnya 2% (b/b) (F5) menjadi 6% (b/b) (F6). Peningkatan jumlah total sistem surfaktan menghasilkan NLC-MAM dengan ukuran $441,57 \pm 19,00$ nm dan nilai indeks polidispersitas $0,34 \pm 0,10$. Ukuran ini secara statistik berbeda bermakna dari ukuran partikel NLC-MAM yang dihasilkan menggunakan 2% (b/b) sistem surfaktan. Di sisi lain, secara visual diperoleh sistem NLC yang homogen tanpa terbentuknya gumpalan lipid seperti yang menjadi permasalahan ketika menggunakan surfaktan dalam jumlah kecil. Dari hasil ini dapat dilihat bahwa peningkatan jumlah surfaktan dalam pembentukan sistem NLC-MAM dapat meningkatkan homogenitas NLC yang dihasilkan. Hal ini disebabkan oleh ketersediaan molekul surfaktan untuk dapat menstabilkan sistem NLC yang terbentuk, sehingga seluruh bagian lipid dapat terlindungi oleh surfaktan yang ditambahkan. Untuk memperoleh ukuran partikel NLC-MAM yang sesuai target, diperlukan proses optimasi berikutnya.

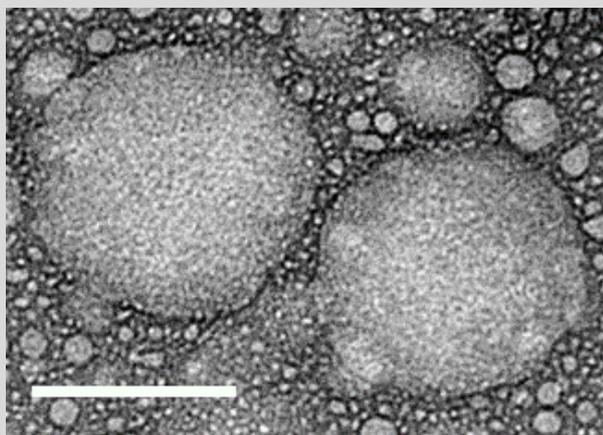
Optimasi rasio lipid padat dan lipid cair



Gambar 3. Pengaruh rasio lipid padat dan cair terhadap A. Ukuran partikel dan B. Indeks polidispersitas. (nilai = rata-rata \pm S.D. dengan $n = 3$; ** $p < 0,01$; n.s. = tidak terdapat perbedaan signifikan berdasarkan uji ANOVA yang diikuti oleh uji SNK).

Komponen lipid padat yang memiliki titik leleh yang relatif tinggi dibanding komponen lipid cair dapat mempengaruhi viskositas campuran (20), yang diperkirakan dapat mempengaruhi secara signifikan ukuran partikel yang terbentuk. Untuk itu, optimasi berikutnya yang dilakukan adalah dengan memvariasikan rasio lipid padat dan lipid cair dalam pembuatan NLC-MAM. Rasio antara lipid padat dan lipid cair yang dipilih dalam optimasi ini terdiri dari 3:7 (F6), 4:6 (F7) dan 2:8 (F8).

Berdasarkan hasil yang diperoleh, peningkatan rasio komponen lipid padat menyebabkan peningkatan ukuran partikel NLC-MAM yang terbentuk (Gambar 3A). Hasil ini sejalan dengan temuan yang dipublikasikan oleh Hu et al. yang menyatakan peningkatan jumlah lipid cair dapat menurunkan viskositas formula, sehingga tegangan permukaan berkurang dan partikel NLC yang dihasilkan lebih kecil (21). Perbedaan rasio lipid padat dan lipid cair tidak mempengaruhi distribusi ukuran partikel NLC-MAM yang terbentuk yang ditandai oleh nilai indeks polidispersitas (Gambar 3B).



Gambar 4. Morfologi NLC-MAM yang diamati menggunakan TEM. Scale bars = 100 nm.

Secara visual, seluruh NLC yang dihasilkan bersifat homogen tanpa terlihat gumpalan lipid pada bagian sonikator dan dinding vial. Hal ini mengonfirmasi hasil optimasi konsentrasi sistem surfaktan bahwa dengan menggunakan sistem surfaktan sebesar 6% dapat menstabilkan sistem NLC-MAM dengan baik. Rasio lipid padat dan lipid cair yang dapat membentuk NLC-MAM dengan ukuran sesuai target adalah 2:8 (F8). Untuk itu, dapat disimpulkan formula NLC-MAM yang optimal tertera pada Tabel 5. Formula optimum ini kemudian digunakan untuk proses karakterisasi selanjutnya termasuk penentuan potensi aktivitas antioksidan.

Tabel 5. Optimasi rasio lipid padat terhadap lipid cair

Nama Bahan	Jumlah (%)	Fungsi
Beeswax	1,2	Lipid padat
Minyak almon	3,6	Lipid cair
Minyak atsiri melati	1,2	Bahan aktif, lipid cair
Tween 80	4,8	Surfaktan
Propilen glikol	1,2	Ko-surfaktan
Aquades	Ad 100	Fase air

Karakterisasi NLC-MAM

Setelah diperoleh formula optimum untuk pembuatan NLC-MAM, penelitian dilanjutkan dengan karakterisasi NLC-MAM yang meliputi penentuan ukuran partikel, distribusi ukuran partikel, pengukuran zeta potensial, dan pengamatan morfologi partikel. Ukuran partikel dan distribusinya diukur menggunakan metode dynamic light scattering (DLS). Prinsip dasar pengukuran ukuran partikel menggunakan metode ini berdasarkan pada perbedaan gerakan Brown dari partikel terdispersi di bawah pengaruh cahaya, dimana semakin besar ukuran partikel, semakin rendah kemampuan berdifusi dan semakin terbatas pergerakannya (22). Berdasarkan data yang tertera pada Tabel 2, NLC-MAM memiliki ukuran di bawah 200 nm dengan distribusi ukuran partikel yang relatif homogen dengan ditandai oleh nilai indeks polidispersitas yang kurang dari 0,5. Ukuran partikel yang diperoleh berada pada rentang target ukuran yang diharapkan yakni berkisar 100-250 nm agar dapat berpenetrasi ke dalam struktur stratum corneum dan terakumulasi di bagian epidermis. Untuk mengonfirmasi ukuran partikel yang diperoleh dengan

menggunakan metode DLS, kami melakukan pengamatan morfologi partikel NLC-MAM menggunakan TEM. Berdasarkan hasil TEM diperoleh informasi bahwa NLC-MAM memiliki ukuran berkisar 150 nm dengan bentuk sferis (Gambar 4). Hasil ini mengonfirmasi ukuran partikel yang terukur menggunakan metode DLS.

Karakteristik berikutnya yang dievaluasi adalah zeta potensial NLC-MAM yang menggambarkan muatan elektrik permukaan partikel. Berdasarkan hasil yang diperoleh, NLC-MAM memiliki zeta potensial yang bernilai negatif (Tabel 6), artinya muatan permukaan NLC-MAM bersifat negatif. Padahal, surfaktan yang digunakan tergolong ke dalam surfaktan non-ionik. Fenomena serupa telah dilaporkan oleh Witayaudom dan Klinkeorn yang membuat NLC dari lemak rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) menggunakan Tween 80 sebagai surfaktan (23). Muatan negatif dapat dihasilkan karena keberadaan ion OH⁻ di dalam air yang memiliki preferensi yang lebih tinggi untuk teradsorpsi ke permukaan partikel lipid. Selain itu, keberadaan minyak almon juga mendukung terbentuknya muatan negatif pada sistem NLC-MAM seperti yang telah dilaporkan sebelumnya dalam sistem nanopartikel berbasis lipid lainnya yang menggunakan minyak almon sebagai komponen lipid utama dan Tween 80 sebagai zat penstabil (24).

Efisiensi enkapsulasi

Dalam proses enkapsulasi suatu bahan bioaktif ke dalam sistem nanopartikel, seringkali ditemukan hanya sebagian molekul bioaktif yang dapat masuk dan terenkapsulasi di dalam nanopartikel. Beberapa bagian molekul bioaktif gagal untuk terenkapsulasi ke dalam sistem nanopartikel dan berada dalam bentuk bebas di dalam cairan fase kontinue. Untuk itu diperlukan penentuan efisiensi enkapsulasi suatu bahan bioaktif di dalam sistem nanopartikel. Efisiensi enkapsulasi menggambarkan keberhasilan enkapsulasi senyawa bioaktif dalam matriks suatu sistem nanopartikel (25). Dalam proses penentuan efisiensi enkapsulasi, diperlukan proses pemisahan yang akurat untuk memisahkan zat aktif yang terenkapsulasi di dalam sistem nanopartikel dengan zat aktif bebas yang tidak terenkapsulasi, tanpa mempengaruhi kualitas dan karakteristik nanopartikel yang dihasilkan (26). Pemilihan metode pemisahan menjadi suatu hal yang kritical dalam proses penentuan efisiensi enkapsulasi dan sangat bergantung pada sifat fisikokimia dari zat aktif yang dienkapsulasi dan karakteristik nanopartikel yang dihasilkan.

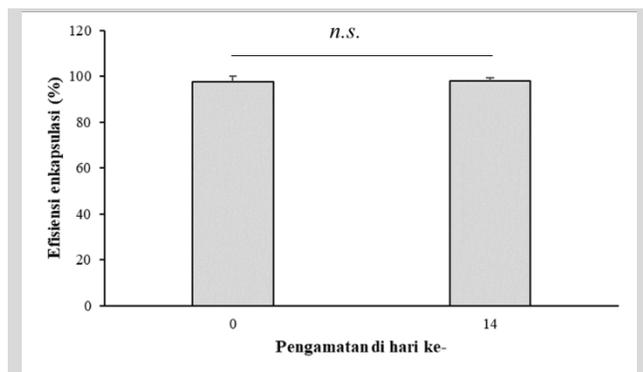
Tabel 6. Karakteristik fisik NLC-MAM

Nama sampel	Ukuran partikel (nm)	Indeks polidispersitas	ζ-potensial (mV)
NLC-MAM	152,93 ± 8,18	0,36 ± 0,01	-21,60 ± 6,75

Nilai = rata-rata ± S.D. (n = 3)

Dalam penelitian ini, proses pemisahan MAM bebas dari NLC-MAM dilakukan dengan menggunakan sentrifugal ultrafiltrasi. Metode ini telah digunakan untuk proses pemisahan minyak atsiri dari sistem nanopartikel berbasis lipid (27). Prinsip pemisahan metode ini menggabungkan proses pemisahan berdasarkan ukuran partikel dengan bantuan gaya sentrifugal. Pada praktiknya, NLC-MAM akan tertahan di bagian membran filter akibat dari ukuran partikel NLC-MAM yang lebih besar dibandingkan dengan ukuran pori membran filter. Sedangkan MAM bebas dapat melewati membran filter dikarenakan ukuran yang kecil dan fluiditasnya yang tinggi. Selanjutnya, proses penentuan efisiensi enkapsulasi dilakukan dengan metode tidak langsung. Metode ini dilakukan dengan cara mengkuantifikasi jumlah MAM bebas di dalam filtrat, kemudian efisiensi enkapsulasi dihitung dengan mengurangkan jumlah tersebut terhadap jumlah MAM yang ditambahkan di awal proses

formulasi. Metode ini relatif mudah untuk dilakukan dibandingkan dengan metode langsung yang membutuhkan proses ekstraksi zat aktif dari sistem NLC.



Gambar 5. Efisiensi enkapsulasi NLC-MAM yang diukur pada hari ke-0 dan hari ke-14 pembuatan. Penyimpanan NLC-MAM dilakukan di suhu 2-8 °C. (nilai = rata-rata ± S.D. dengan $n = 3$. *n.s.* = tidak terdapat perbedaan signifikan berdasarkan uji *paired t-test*).

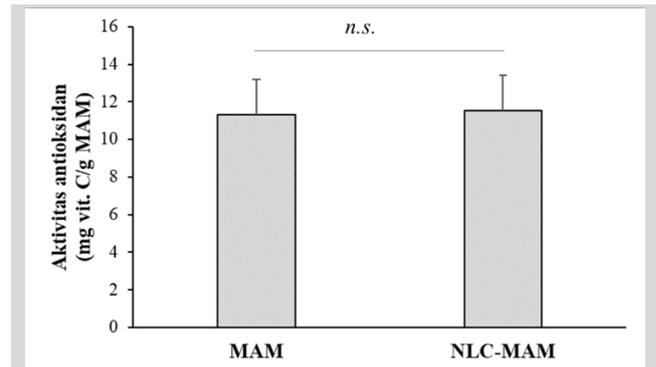
Proses kuantifikasi MAM bebas dilakukan dengan metode spektrofotometri dengan mengukur serapan MAM pada panjang gelombang serapan maksimumnya. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa MAM memiliki serapan maksimum di panjang gelombang 287 nm. Dari hasil ini, kami melakukan pembuatan kurva kalibrasi dan diperoleh hubungan yang linier antara konsentrasi MAM dengan absorbansi pada rentang konsentrasi 12 µg/mL hingga 27 µg/mL dengan nilai R^2 berkisar 0,992. Berdasarkan hasil penentuan efisiensi enkapsulasi, diperoleh hasil sebanyak 97,65 ± 2,34% MAM berhasil terenkapsulasi ke dalam sistem NLC (Gambar 5). Jumlah ini relatif lebih tinggi dibandingkan efisiensi enkapsulasi MAM di dalam sistem mikrokapsul *polymethylmethacrylate* yang sebelumnya telah dilaporkan dengan nilai efisiensi enkapsulasi sebesar 72% [28]. Tingginya efisiensi enkapsulasi ini dikarenakan oleh MAM dalam sistem NLC menjadi bagian integral dari komponen lipid penyusun matriks NLC. Selain itu, matriks NLC yang tersusun dari material berbasis lipid dan bersifat hidrofobik dapat memfasilitasi enkapsulasi MAM dalam jumlah besar. Hasil ini mengindikasikan bahwa sistem NLC yang dihasilkan memiliki potensi yang tinggi untuk digunakan sebagai sistem penghantaran MAM.

Selanjutnya, kami mencoba untuk membandingkan efisiensi enkapsulasi dari NLC-MAM setelah dilakukan penyimpanan selama 14 hari pada suhu 2-8 °C. Dari hasil yang diperoleh, efisiensi enkapsulasi tidak mengalami perubahan yang signifikan setelah disimpan selama 14 hari (Gambar 5). Hasil ini mengindikasikan bahwa sistem NLC yang dibentuk berhasil menjaga stabilitas MAM yang terenkapsulasi di dalamnya. Selain itu, hasil ini mengonfirmasi tidak terjadi proses ekspulsi bahan aktif dari sistem NLC yang disebabkan oleh proses kristalisasi lipid padat seperti yang sering terjadi pada sistem lipid nanopartikel generasi pertama yakni SLN [29].

Aktivitas antioksidan

Berdasarkan sertifikat analisis yang dikeluarkan oleh produsen MAM yang digunakan dalam penelitian ini, terdapat 5 senyawa utama yang terkandung dalam MAM diantaranya benzil asetat (32,31%), benzil benzoat (20,10%), benzil alkohol (9,27%), nerolidol (7,28%), dan linalool (6,92%). Berdasarkan laporan yang dirilis oleh Wei dan Shibamoto, kandungan benzil asetat dalam MAM memiliki peranan penting dalam aktivitas antioksidan (1). Selain itu, linalool juga telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan terhadap kerusakan oksidatif yang diinduksi oleh paparan sinar ultraviolet B (UV B) (30). Berdasarkan fakta tersebut, kami mencoba untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan

MAM, baik dalam bentuk terenkapsulasi di dalam sistem NLC maupun dalam bentuk bebas.



Gambar 6. Aktivitas peredaman DPPH relatif terhadap vitamin C dari sampel MAM dan NLC-MAM. (nilai = rata-rata ± S.D. dengan $n = 3$. *n.s.* = tidak terdapat perbedaan signifikan berdasarkan uji *unpaired t-test*).

Pada penelitian ini, uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode peredaman DPPH. Metode uji ini mengukur kemampuan sampel dalam mereduksi radikal 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) menjadi senyawa non-radikal 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine melalui pengikatan atom hidrogen dari sampel pada senyawa radikal. Reduksi ini mengakibatkan perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning, sehingga dapat dikuantifikasi menggunakan metode spektrofotometri. Berdasarkan hasil penetapan yang tersaji pada Gambar 6, terlihat bahwa aktivitas antioksidan MAM bebas sebanding dengan MAM yang terenkapsulasi di dalam sistem NLC. Hasil ini menunjukkan bahwa tidak terjadi perubahan potensi aktivitas antioksidan MAM yang disebabkan oleh proses pembentukan NLC-MAM yang dilakukan.

KESIMPULAN

Pengembangan sistem penghantaran NLC sebagai pembawa MAM telah berhasil dilakukan menggunakan metode emulsifikasi-sonikasi. Formula NLC-MAM optimum yang diperoleh tersusun dari 6% komponen lipid yang terdiri dari *beeswax*, minyak almond, dan MAM, 6% campuran Tween 80 dan propilen glikol (4:1), dan aquades. NLC-MAM yang dihasilkan memiliki bentuk sferis bermuatan negatif dengan ukuran partikel berkisar 152,93 ± 8,18 nm dengan distribusi ukuran partikel yang cukup homogen, ditandai oleh nilai indeks polidispersitas yang kurang dari 0,5. Sistem penghantaran berbasis lipid yang dihasilkan dalam penelitian ini dapat mengenkapsulasi MAM dalam jumlah besar dengan efisiensi enkapsulasi sebesar 97,65 ± 2,34%. Setelah NLC-MAM disimpan selama 14 hari, tidak ditemukan penurunan efisiensi enkapsulasi, yang menandakan bahwa sistem NLC yang dihasilkan bersifat stabil dan dapat melindungi MAM yang terenkapsulasi di dalamnya. Selanjutnya, berdasarkan hasil pengukuran potensi aktivitas antioksidan, ditemukan bahwa proses enkapsulasi MAM ke dalam sistem NLC tidak menyebabkan penurunan potensi aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh MAM. Secara garis besar, NLC-MAM yang dihasilkan memiliki potensi yang tinggi untuk dikembangkan lebih lanjut untuk penggunaan sebagai agen terapi untuk penggunaan secara topikal maupun dalam bidang kosmetika.

DAFTAR PUSTAKA

- Wei A, Shibamoto T. Antioxidant Activities and Volatile Constituents of Various Essential Oils. *J Agric Food Chem*. 2007 Mar 1;55(5):1737-42.
- Cimino C, Maurel OM, Musumeci T, Bonaccorso A, Drago F, Souto EMB, et al. Essential oils: Pharmaceutical applications and encapsulation strategies into lipid-based delivery systems. *Pharmaceutics*. 2021;13(3):1-35.
- Majeed H, Bian Y-Y, Ali B, Jamil A, Majeed U, Khan QF, et al. Essential oil encapsulations: uses, procedures, and trends. *RSC Adv*. 2015;5(72):58449-63.

4. Ahmed N, Hanani YA, Ansari SY, Anwar S. Chapter 55 - Jasmine (*Jasminum sambac* L., Oleaceae) Oils. In: Preedy Flavor and Safety VRBT-EO in FP, editor. San Diego: Academic Press; 2016. p. 487-94.
5. de Groot AC, Schmidt E. Essential Oils, Part VI: Sandalwood Oil, Ylang-Ylang Oil, and Jasmine Absolute. *Dermat contact, atopic, Occup drug.* 2017;28(1):14-21.
6. Al-Snafi AS. Pharmacology and Medicinal Properties of *Jasminum Officinale*. *Indo Am J P Sci.* 2018;05(04):2191-7.
7. Budianto BH, Sasongko ND. Composition and abundance level of pest mites in jasmine gambier (*Jasminum officinale*) plantation of Purbalingga, Central Java, Indonesia affected by some abiotic factors. *Biodiversitas.* 2022;23(10):5227-32.
8. Hussain M, Bakhsh H, Aziz A, Majeed A, Khan IA. Comparative In vitro study of antimicrobial activities of flower and whole plant of *Jasminum officinale* against some human pathogenic microbes. *J Pharm Altern Med.* 2013;2(4).
9. Rasheed HM, Wahid F, Qayyum R, Shah AJ, Khan T. Chemical composition and pharmacological evaluation of essential oil from *Jasminum officinale* flowers for spasmolytic and vasodilator activities. *Farmacia.* 2020;68(4):722-7.
10. Kaviani M, Maghbool S, Azima S, Tabaei MH. Comparison of the effect of aromatherapy with. 2014;19(6).
11. Wei FH, Chen FL, Tan XM. Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of essential oil of *Jasminum officinale* L var *grandiflorum* flower. *Trop J Pharm Res.* 2015;14(1):149-52.
12. Lo CM, Han J, Wong ESW. Chemistry in Aromatherapy - Extraction and Analysis of Essential Oils from Plants of *Chamomilla recutita*, *Cymbopogon nardus*, *Jasminum officinale* and *Pelargonium graveolens*. *Biomed Pharmacol J.* 2020;13(3):1339-50.
13. Tisserand R, Young R. Toxicity. *Essent Oil Saf.* 2014;23-38.
14. Chauhan I, Yasir M, Verma M, Singh AP. *Nanostructured lipid carriers: A groundbreaking approach for transdermal drug delivery.* *Advanced Pharmaceutical Bulletin.* 2020.
15. Müller RH, Radtke M, Wissing SA. Solid lipid nanoparticles (SLN) and *nanostructured lipid carriers* (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002;54(SUPPL.):131-55.
16. Pople P V., Singh KK. Development and evaluation of colloidal modified nanolipid carrier: Application to topical delivery of tacrolimus. *Eur J Pharm Biopharm.* 2011;79(1):82-94.
17. Soleimanian Y, Goli SAH, Varshosaz J, Sahafi SM. Formulation and characterization of novel *nanostructured lipid carriers* made from beeswax, propolis wax and pomegranate seed oil. *Food Chem.* 2018;244(October 2017):83-92.
18. Loo CH, Basri M, Ismail R, Lau HLN, Tejo BA, Kanthimathi MS, et al. Effect of compositions in *nanostructured lipid carriers* (NLC) on skin hydration and occlusion. *Int J Nanomedicine.* 2013;8:13-22.
19. Rawal SU, Patel MM. Chapter 2 - Lipid nanoparticulate systems: Modern versatile drug carriers. In: Grumezescu AMBT-LN for DT, editor. William Andrew Publishing; 2018. p. 49-138.
20. Khalil RM, El-bary AA, Kassem MA, Ghorab MM, Ahmed MB. Solid lipid nanoparticles for topical delivery of Meloxicam: development and In Vitro characterization. *Eur Sci J.* 2013;4(7):24-6.
21. Hu F-Q, Jiang S-P, Du Y-Z, Yuan H, Ye Y-Q, Zeng S. Preparation and characterization of stearic acid *nanostructured lipid carriers* by solvent diffusion method in an aqueous system. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2005 Nov;45(3-4):167-73.
22. Stetefeld J, McKenna SA, Patel TR. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. *Biophys Rev.* 2016;8(4):409-27.
23. Witayaudom P, Klinkesorn U. Effect of surfactant concentration and solidification temperature on the characteristics and stability of *nanostructured lipid carrier* (NLC) prepared from rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) kernel fat. *J Colloid Interface Sci.* 2017;505:1082-92.
24. Hanieh PN, Bonaccorso A, Zingale E, Cimarelli S, Souto EB, Rinaldi F, et al. Almond oil O/W nanoemulsions: Potential application for ocular delivery. *J Drug Deliv Sci Technol.* 2022;72(December 2021).
25. Wallace SJ, Li J, Nation RL, Boyd BJ. Encapsulation and Release Methodology. 2013;2(4):284-92.
26. Marques SS, Ramos II, Fernandes SR, Barreiros L, Lima SAC, Reis S, et al. Insights on ultrafiltration-based separation for the purification and quantification of methotrexate in nanocarriers. *Molecules.* 2020;25(8).
27. Tortorici S, Cimino C, Ricupero M, Musumeci T, Biondi A, Siscaro G, et al. *Nanostructured lipid carriers* of essential oils as potential tools for the sustainable control of insect pests. *Ind Crops Prod.* 2022;181(December 2021).
28. Teeka P, Chaiyasat A, Chaiyasat P. Preparation of poly (methyl methacrylate) microcapsule with encapsulated jasmine oil. *Energy Procedia.* 2014;56(C):181-6.
29. Patel DK, Kesharwani R, Kumar V. Lipid Nanoparticle Topical and Transdermal Delivery: A Review on Production, Penetration Mechanism to Skin. *Int J Pharm Investig.* 2019;9(4):148-53.
30. Gunaseelan S, Balupillai A, Govindasamy K, Ramasamy K, Muthusamy G, Shanmugam M, et al. Linalool prevents oxidative stress activated protein kinases in single UVB-exposed human skin cells. *PLoS One.* 2017;12(5):1-20.

Sitasi artikel ini: Satrialdi, Putri AP, Lumintang YA. Pengembangan Formula *Nanostructured Lipid Carrier* (NLC) sebagai Pembawa Minyak Atsiri Melati (*Jasminum officinale* L.) serta Potensi Aktivitas Antioksidan *MFF* 2023;27(2):32-38