

COMPARISON OF PHYSICAL STABILITY PROPERTIES OF POMEGRANATE SEED OIL NANOEMULSION DOSAGE FORMS WITH LONG-CHAIN TRIGLYCERIDE AND MEDIUM-CHAIN TRIGLYCERIDE AS THE OIL PHASE

PERBANDINGAN STABILITAS FISIS SEDIAAN NANOEMULSI MINYAK BIJI DELIMA DENGAN FASE MINYAK *LONG-CHAIN TRIGLYCERIDE* DAN *MEDIUM-CHAIN TRIGLYCERIDE*

Sri Hartati Yuliani*, Medaliana Hartini, Stephanie, Bety Pudyastuti and Enade Perdana Istyastono
Faculty of Pharmacy, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta

ABSTRACT

Pomegranate seed oil has antioxidant, anti-inflammatory, and chemo preventive activities. Pomegranate seed oil is lipophilic substance suitable to be prepared in emulsion dosage forms. Long-chain triglyceride (LCT) and medium-chain triglyceride (MCT) are commonly used as oil phase in emulsion dosage forms. This research aimed to compare the use of LCT and MCT in the Nano emulsion formula of pomegranate seed oil dosage forms. Formulation of pomegranate seed oil Nano emulsion was conducted using high energy emulsification. Parameters observed were pH, Nano emulsion type, percent transmittance, viscosity, turbidity, and droplet size before and after 3 cycles of freeze-thaw. The result showed that there was no significant difference between physical properties of pomegranate oil Nano emulsion with LCT as oil phase and pomegranate oil Nano emulsion with MCT as oil phase. Moreover, physical stability of pomegranate oil Nano emulsion with LCT as oil phase was better than pomegranate oil Nano emulsion with MCT as oil phase.

Keywords: Nano emulsion, pomegranate oil, MCT, LCT

ABSTRAK

Minyak biji delima mempunyai aktivitas sebagai antioksidan, antiinflamasi bahkan sebagai antikanker. Sifat minyak biji delima yang lipofil membuatnya cocok dibuat bentuk sediaan emulsi. Minyak rantai panjang (long-chain triglyceride/LCT) banyak digunakan sebagai fase minyak demikian pula minyak rantai sedang. Industri farmasi lebih banyak menggunakan minyak rantai sedang (Medium-chain Triglyceride/MCT). Penelitian yang disajikan dalam artikel ini membandingkan penggunaan LCT dan MCT sebagai fase minyak terhadap sifat dan stabilitas fisis sediaan nanoemulsi minyak biji delima (NMBD). Pembuatan sediaan nanoemulsi minyak biji delima dilakukan dengan metode emulsifikasi energi tinggi dengan surfaktan kombinasi Tween 80-Span 80 dan Tween 80-PEG 400. Nanoemulsi minyak biji delima yang dihasilkan kemudian diuji pH, tipe nanoemulsi, persen transmittan, viskositas, turbiditas dan ukuran droplet sebelum dan setelah 3 siklus freeze-thaw. Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada sifat fisis sediaan nanoemulsi minyak buah delima (NMBD) dengan fase minyak LCT dan MCT. Stabilitas fisis NMBD dengan fase minyak LCT lebih baik dibanding NMBD dengan fase minyak MCT.

Kata kunci: nanoemulsi, minyak biji delima, MCT, LCT

PENDAHULUAN

Delima adalah buah yang mempunyai banyak manfaat. Minyak biji delima mempunyai banyak sekali aktivitas biologis diantaranya adalah antioksidan (Schubert *et al.*, 1999), antiinflamasi (Lansky and Newman, 2007), anti-

mikroba (Ismail *et al.*, 2012), antikanker (Miguel *et al.*, 2010), menghambat *matrix metallo-proteinase-1* (MMP-1), meningkatkan proliferasi dan produksi prokolagen kulit (Aslam *et al.*, 2006). Kandungan aktif minyak biji delima adalah asam punisat (Melo *et al.*, 2014), polifenol, asam palmitat, asam stearat, asam oleat, asam linoleat (Schubert *et al.*, 1999), tokoferol, fitosterol, dan triterpen (Verardo *et al.*, 2014).

Corresponding Author : Sri Hartati Yuliani
Email : yuli_far@usd.ac.id

Minyak biji delima bersifat lipofilik sehingga sediaan yang cocok adalah sediaan emulsi. Sediaan nanoemulsi akan dibuat untuk meningkatkan stabilitasnya. Nanoemulsi memiliki beberapa keuntungan diantaranya dapat meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitas obat, memiliki sistem yang stabil secara kinetika, serta dapat diformulasikan dengan konsentrasi surfaktan dan minyak yang rendah sehingga dapat memberikan rasa nyaman pada kulit tanpa meninggalkan rasa lengket (Bouchemal *et al.*, 2004; Tadros *et al.*, 2004). Fase minyak yang digunakan akan mempengaruhi ukuran *droplet* dan stabilitas nanoemulsi yang terbentuk (Davidov-Pardo and McClements, 2015). Fase minyak dalam nanoemulsi berperan sebagai pembawa yang dapat melarutkan zat aktif yang bersifat lipofilik. Fase minyak membentuk *droplet* dalam medium dispers dengan adanya bantuan surfaktan dan kosurfaktan (Chen *et al.*, 2011). *Long-chain triglyceride (LCT) oil* adalah minyak yang sering digunakan dalam pembuatan nanoemulsi. *Long-chain triglyceride oil* memiliki kemampuan dalam mencegah terjadinya *Ostwald ripening* dan dapat menghasilkan sediaan dengan ukuran *droplet* < 100 nm (Suciati *et al.*, 2014; Wooster *et al.*, 2008), LCT yang digunakan dalam penelitian ini adalah *virgin coconut oil (VCO)*. Selain LCT, minyak lain yang juga sering digunakan dalam pembuatan sediaan nanoemulsi ialah *medium-chain triglycerides (MCT) oil*. MCT *oil* merupakan minyak yang diperoleh dari hasil pemurnian VCO. Proses pemurnian ini melewati tahapan panjang dan membutuhkan biaya yang cukup mahal. Penggunaan MCT *oil* sebagai fase minyak dalam formulasi nanoemulsi pernah dilakukan oleh Silvia *et al.* (2009) yang menghasilkan nanoemulsi dengan ukuran *droplet* 230-280 nm. Dalam penelitian ini akan dibandingkan stabilitas fisis sediaan topikal nanoemulsi minyak biji delima dengan fase minyak LCT dan MCT.

METODOLOGI

Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak biji delima (Eteris Nusantara), Tween 80 (Kualitas Farmasetik, Bratachem), Span 80 (Kualitas Farmasetik, Laboratorium Farmasi dan Teknologi UGM), PEG 400 (Kualitas Farmasetik, Bratachem), LCT oil (*virgin coconut oil*) (Kualitas Teknis, Tekun Jaya), MCT oil (Miglyol 812N), dan akuades.

Pembuatan Nanoemulsi

Formula sediaan topikal nanoemulsi minyak delima seperti pada Tabel 1 (Mahdi *et al.*,

2011; Suciati *et al.*, 2014). Tween 80, PEG 400, minyak biji delima, serta fase minyak yang digunakan yaitu LCT dan MCT *oil* dimasukkan ke dalam gelas beaker dan dicampur dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 10 menit dengan kecepatan 1000 rpm. Setelah 10 menit, *aquadest* ditambahkan sedikit demi sedikit dan kecepatan pengadukan ditingkatkan menjadi 1250 rpm selama 10 menit. Seluruh bahan yang telah tercampur kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *homogenizer* selama 2 menit dan dilanjutkan dengan sonikasi selama 40 menit sambil sesekali diaduk.

Uji pH

Pengukuran pH sediaan dilakukan dengan menggunakan pH meter. Sebelum digunakan, elektroda dikalibrasi atau diverifikasi dengan menggunakan larutan standar dapar pH 4 dan 7. Proses kalibrasi selesai apabila nilai pH yang tertera pada layar telah sesuai dengan nilai pH standar dapar dan stabil. Setelah itu, elektroda dicelupkan ke dalam sediaan. Nilai pH sediaan akan tertera pada layar. Pengukuran pH dilakukan pada suhu ruangan.

Uji tipe nanoemulsi

Pengujian tipe nanoemulsi dilakukan dengan metode dilusi atau pengenceran. Uji ini dilakukan dengan melarutkan sampel ke dalam fase air (1:100) dan fase minyak (1:100). Jika sampel larut sempurna dalam *aquadest*, maka tipe nanoemulsi tergolong dalam tipe minyak dalam air (M/A), sedangkan jika sampel larut sempurna dalam fase minyak, maka tipe nanoemulsi tergolong dalam tipe air dalam minyak (A/M).

Uji persen transmittan

Sampel sebanyak 1mL dilarutkan dalam labu takar 100 mL dengan menggunakan *aquadest*. Larutan diukur persen transmittan pada panjang gelombang 650 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. *Aquadest* digunakan sebagai blanko saat pengujian.

Uji turbiditas

Turbiditas ditentukan dengan mengukur absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 502 nm. Turbiditas dihitung dengan persamaan: turbiditas (%) x lebar kuvet (cm) = 2,303 x absorbansi (Fletcher and Suhling, 1998).

Viskositas

Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer *Merlin VR*. Sebanyak 14 mL sampel dimasukkan ke dalam *cup* dan dipasang pada *solvent trap* yang telah tersedia. Viskometer *Merlin VR* diatur dengan kecepatan 200 rpm, tiga kali putaran, selama 30 detik.

Tabel 1. Formula sediaan nanoemulsi minyak biji delima

Bahan	Fungsi	NMBD-A ^{a)} (%b/b)	NMBD-B ^{a)} (%b/b)	NMBD-C ^{b)} (%b/b)	NMBD-D ^{c)} (%b/b)
Minyak biji delima	Bahan aktif	0,03	0,03	0,03	0,03
LCT	Fase minyak	3	-	3	-
MCT	Fase minyak	-	3	-	3
Tween 80	Surfaktan	9	9	16	16
Span 80	Surfaktan	1	1	-	-
PEG 400	Co-surfaktan	-	-	8	8
Aquadest	Fase air	87	87	73	73

Keterangan : ^{a)}Modifikasi formula Mahdi et al. (2011); ^{b)}Modifikasi formula Suciati et al. (2014)

Viskositas nanoemulsi dapat diketahui dengan mengamati hasil analisis yang ditampilkan oleh komputer melalui *software* MICRA.

Uji ukuran droplet

Ukuran *droplet* diukur dengan menggunakan *particle size analyzer* dengan tipe *dynamic light scattering*. Sebanyak 10 mL sampel diambil dan dimasukkan ke dalam kuvet. Kuvet harus terlebih dahulu dibersihkan sehingga tidak mempengaruhi hasil analisis. Kuvet yang telah diisi dengan sampel kemudian dimasukkan ke dalam sampel *holder* dan dilakukan analisis oleh instrumen.

Stabilitas

Freeze-thaw cycle (Huynh-Ba, 2009).

Masing-masing formula nanoemulsi disimpan pada suhu -10°C dan 30°C/75%RH selama 24 jam sebanyak 3 siklus. Nanoemulsi yang telah melewati *freeze-thaw cycle* diamati organoleptis, terjadinya pemisahan fase, pH, persen transmitan, turbiditas, viskositas, serta ukuran *droplet*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sifat Fisis sediaan nanoemulsi minyak biji delima (NMBD)

Formulasi nanoemulsi minyak biji delima (NMBD) dalam penelitian ini menggunakan dua macam fase minyak yaitu LCT dan MCT dengan tujuan untuk melihat pengaruh dari fase minyak terhadap stabilitas sediaan nanoemulsi yang dihasilkan. Sediaan NMBD yang dihasilkan mempunyai ciri berwarna kuning dengan bau khas, homogen, jernih, pH 5 – 6 serta tidak menunjukkan pemisahan fase. Pengujian persen transmitans sediaan NMBD menunjukkan bahwa sediaan yang terbentuk jernih dengan nilai persen transmitans di atas 99% (tabel 2). Apabila dibandingkan antara sediaan nanoemulsi dengan fase minyak LCT (NMBD-A dan NMBD-C) dengan MCT (NMBD-C dan NMBD-D) tidak terlihat adanya perbedaan dalam respon persen transmitan.

Kejernihan sediaan nanoemulsi biji delima juga diperlihatkan dengan hasil uji turbiditas sediaan, dimana semua formula mempunyai nilai lebih kecil dari 1% (tabel 2). Pengujian persen transmitan dan turbiditas ini menunjukkan bahwa dengan metode pembuatan energi tinggi baik LCT maupun MCT mampu menghasilkan sediaan nanoemulsi.

Viskositas sediaan nanoemulsi yang dibuat dengan metode emulsifikasi energi tinggi berkisar antara 10 – 2000 cPa.s (Gupta *et al.*, 2010). Viskositas sediaan NMBD berkisar antara 13 - 26 cPa.s, sediaan nanoemulsi yang mengandung surfaktan kombinasi Tween 80-PEG 400 (NMBD-C dan NMBD-D) mempunyai viskositas yang lebih besar dibandingkan sediaan dengan kombinasi surfaktan Tween 80-Span 80 (NMBD-A dan NMBD-B). Hal tersebut terjadi karena jumlah surfaktan kombinasi Tween 80-PEG 400 lebih banyak dibandingkan kombinasi Tween-Span 80 sehingga ikatan antara surfaktan dengan fase minyak dan fase air juga lebih banyak dan mengakibatkan tahanan untuk mengalir menjadi lebih besar.

Ukuran droplet dinyatakan dengan 2 cara yaitu ukuran droplet rata-rata dan persentasi ukuran droplet yang kurang dari 100 nm. NMBD-A dan NMBD-B mempunyai ukuran droplet rata-rata kurang dari 100 nm sedangkan ukuran droplet rata-rata NMBD-C dan NMBD-D lebih dari 100 nm. Simpangan baku yang didapat pada pengujian ukuran droplet cukup besar. Simpangan baku yang besar ini disebabkan oleh karena droplet yang dihasilkan tidak seragam. Menurut Affandi, *et al.* (2011) pengecilan ukuran droplet dengan metode emulsifikasi energi tinggi menyebabkan droplet yang dihasilkan tidak seragam dan memiliki puncak yang banyak. Sediaan NMBD yang dihasilkan mempunyai ukuran droplet yang bersifat polidispers dengan indeks polidispers berturut-turut 0,451, 0,566, 0,508 dan 0,392.

Tabel 2. Data sifat dan stabilitas fisis sediaan nanoemulsi minyak biji delima

	NMBD-A	NMBD-B	NMBD-C	NMBD-D
Uji Sifat Fisis				
Kejernihan	jernih	Jernih	jernih	Jernih
Pemisahan fase	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
pH	5,47±0,03	5,51±0,02	5,94±0,01	5,99±0,008
Transmitans (%)	99,50±0,10	99,60±0,06	99,83±0,15	99,67±0,05
Turbiditas (%)	0,25±0,01	0,28±0,06 ^{a)}	0,11±0,02	0,16±0,02 ^{b)}
Viskositas (cPa.S)	13,60±0,40	12,50±0,70	58,00±1,00	46,00±20,00
Ukuran droplet (nm)	47,63±29,09	58,28±33,13	109,56±73,52	222,32±127,74
Persen kumulatif droplet ukuran 100 nm	100	100	38,45	31,93
Indeks polidispersitas	0,45	0,57	0,51	0,39
Uji sifat fisis setelah <i>freeze thaw</i> (Uji stabilitas)				
Kejernihan	berkabut	keruh	jernih	Jernih
Pemisahan fase	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
pH	5,44±0,04	5,46±0,05	5,79±0,14	5,95±0,10
Transmitan(%)	99,10±0,27	18,43±1,40 ^{c)}	99,80±0,10	99,70±0,05
Turbiditas (%)	0,95±0,15 ^{c)}	8,18±0,23 ^{c)}	0,11±0,03	0,22±0,02 ^{c)}
Viskositas (cPa.S)	14,20±0,50	13,70±0,80	25,70±6,00 ^{c)}	25,50±8,00 ^{c)}
Ukuran droplet (nm)	120,67±59,51	509,89±246,65	153,34±145,37	183,89±81,68
Persen kumulatif droplet ukuran 100 nm	24,80	4,80	63,45	39,36
Indeks polidispersitas	0,54	0,39	0,62	0,57

Keterangan:

^{a)}NMBD A dan NMBD B berbeda pada taraf kepercayaan 95%; ^{b)}NMBD C dan NMBD D berbeda pada taraf kepercayaan 95%; ^{c)}berbeda dibandingkan pengujian sifat fisis sediaan NMBD sebelum *freeze thaw* pada taraf kepercayaan 95%; NMBD-A=sediaan nanoemulsi minyak biji delima dengan fase minyak VCO dan surfaktan Tween 80-Span 80; NMBD-B= sediaan nanoemulsi minyak biji delima dengan fase minyak MCT dan surfaktan Tween 80-Span 80; NMBD-C= sediaan nanoemulsi minyak biji delima dengan fase minyak VCO dan surfactan Tween 80-PEG 400; NMBD-D= sediaan nanoemulsi minyak biji delima dengan fase minyak MCT dan surfaktan Tween 80-PEG 400

Hal tersebut mempunyai makna bahwa sediaan NMBD mempunyai ukuran droplet yang bervariasi. Persentase ukuran droplet yang kurang dari 100 nm dari NMBD-A dan NMBD-B adalah 100% sedangkan NMBD-C adalah 38,45% dan NMBD-D sebesar 31,93%.

Sediaan NMBD fase minyak LCT (NMBD-A dan NMBD-C) mempunyai ukuran partikel lebih kecil dibandingkan sediaan NMBD dengan fase minyak MCT (NMBD-B dan NMBD-D). Hal ini juga didukung oleh data viskositas sediaan NMBD dengan fase minyak LCT yang lebih besar dibandingkan dengan sediaan NMBD dengan fase minyak MCT. Hal ini terjadi karena MCT mempunyai sifat lebih polar dibandingkan LCT sehingga mempunyai afinitas lebih besar terhadap medium dispers dan menyebabkannya cenderung mempunyai ukuran lebih besar. Sediaan NMBD dengan kombinasi surfaktan Tween 80-Span 80 menghasilkan nanoemulsi berukuran kecil yang ditunjukkan dengan 100% ukuran droplet berada pada ukuran kurang dari sama dengan 100 nm.

Sementara itu NMBD dengan kombinasi surfaktan Tween 80-PEG 400 menunjukkan kurang dari 40% droplet berukuran 100 nm atau kurang. Secara umum sifat fisis NMBD dengan fase minyak LCT dan MCT tidak berbeda.

Stabilitas sediaan nanoemulsi minyak biji delima (NMBD)

Sediaan nanoemulsi dikatakan stabil apabila dapat mempertahankan sifat fisiknya selama penyimpanan. Uji stabilitas fisis dilakukan dengan menggunakan metode *freeze thaw* sebanyak 3 siklus (Huynh-Ba, 2009). Secara organoleptis NMBD-A dan NMBD-B menunjukkan ketidakstabilan yang ditandai dengan munculnya kekeruhan pada penampilan sediaan walaupun tidak muncul pemisahan fase. Data pengujian sifat fisis pada tabel 2 menunjukkan bahwa terjadi perubahan sifat fisis sebelum dan sesudah dilakukan uji *freeze thaw*. Perubahan sifat fisis yang terjadi pada NMBD-B lebih besar dibandingkan NMBD-A. Data turbiditas

memperlihatkan terjadinya perubahan sifat fisis, turbiditas naik tajam pada NMBD-B karena ukuran droplet juga meningkat tajam dari 58,28 nm menjadi 509,89 nm. NMBD-A memperlihatkan ketidakstabilan sifat fisis pada turbiditas dan ukuran partikel. NMBD-B memperlihatkan ketidakstabilan fisis pada transmittan, turbiditas dan ukuran partikel. NMBD-C memperlihatkan ketidakstabilan fisis pada viskositas dan ukuran droplet sedangkan NMBD-D memperlihatkan ketidakstabilan pada turbiditas, viskositas, dan ukuran droplet. NMBD dengan fase minyak LCT lebih stabil dibandingkan NMBD dengan fase minyak MCT. Perubahan ukuran droplet akan terdeteksi pada sifat fisis lain, semakin besar ukuran droplet maka turbiditas akan meningkat, transmittan menurun dan viskositas menurun.

Perubahan ukuran droplet NMBD dengan fase minyak MCT lebih besar dibanding fase minyak LCT, hal ini disebabkan MCT mempunyai sifat lebih polar dibandingkan VCO. Perubahan ukuran droplet menjadi lebih besar ini disebut *coalesen*. Medium-chain triglyceride yang lebih polar dibanding LCT mempunyai kecenderungan *coalesen* yang lebih besar sehingga perubahan ukuran droplet pun lebih besar pada NMBD dengan fase minyak MCT sebagai turbiditas meningkat. Kandungan asam kaprilat dan asam kaprat pada fase minyak MCT mengakibatkan *coalesen* lebih cepat terjadi dibandingkan fase minyak LCT. Kedua asam lemak rantai pendek tersebut mengakibatkan MCT mempunyai polaritas tinggi sehingga lebih mudah larut dalam air. Perubahan suhu yang ekstrim terjadi selama siklus *freeze-thaw*. Pada suhu *freeze* gugus hidrofil pada bagian kepala surfaktan akan membeku dan pada saat *thaw* gugus tersebut akan kembali seperti semula untuk menangkap dan melingkupi fase minyak kembali. Pada saat *freeze* NMBD dengan fase MCT akan lebih cepat membentuk interaksi dengan droplet lain membentuk droplet yang lebih besar (*coalesen*) dibandingkan LCT yang bersifat nonpolar. Secara umum stabilitas NMBD dengan fase minyak LCT lebih baik.

KESIMPULAN

Sifat fisis NMBD dengan fase minyak LCT dan MCT menggunakan gabungan surfaktan Tween 80-Span 80 maupun Tween 80-PEG 400 tidak menunjukkan perbedaan sifat fisis yaitu pH, persen transmittan, viskositas dan ukuran droplet. Tetapi menunjukkan perbedaan fisis pada turbiditas sediaan. Secara umum dapat dikatakan bahwa tidak ada perbedaan sifat fisis NMBD dengan fase minyak LCT dan MCT.

Setelah dilakukan uji stabilitas dengan metode *Freeze-thaw*, NMBD dengan fase minyak

LCT mengalami perubahan turbiditas, sedangkan NMBD dengan fase minyak MCT mengalami perubahan pada persen transmittan dan turbiditas. Dengan demikian stabilitas fisis NMBD dengan fase minyak LCT lebih baik dibandingkan dengan NMBD dengan fase minyak MCT.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandi, M.M.M., Julianto, T., and Majeed, A., 2011. Development and Stability Evaluation of Astaxanthin Nanoemulsion, *Asian J Pharm Clin Res*, 4 (1):142-148.
- Aslam, M.N., Lansky, E.P., Varani, J., 2006. Pomegranate as a cosmeceutical source: Pomegranate fractions promote proliferation and procollagen synthesis and inhibit matrix metalloproteinase-1 production in human skin cells. *J. Ethnopharmacol.* 103: 311-318.
- Bouchemal, K., Briançon, S., Perrier, E., Fessi, H., 2004. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: Solvent, oil and surfactant optimisation. *Int. J. Pharm.* 280: 241-251.
- Chen, H., Khemtong, C., Yang, X., Chang, X., Gao, J., 2011. Nanonization strategies for poorly water-soluble drugs. *Drug Discov. Today* 16: 354-360.
- Davidov-Pardo, G., McClements, D.J., 2015. Nutraceutical delivery systems: Resveratrol encapsulation in grape seed oil nanoemulsions formed by spontaneous emulsification. *Food Chem.* 167: 205-212.
- Fletcher, P.D.I. and Suhling, K., 1998, Interaction Between Weakly Charged Oil in- Water Microemulsion Droplets, *Langmuir*, 14 (15): 4065-4069.
- Gupta, P.K., Pandit, J.K., Kumar, A., Swaroop, P., and Gupta, S., 2010, Pharmaceutical Nanotechnology Novel Nanoemulsion-High Energy Emulsification Preparation, Evaluation and Application, *T. Ph. Res.*, 3:117-138.
- Huynh-Ba, K., 2009. Handbook of Stability Testing in Pharmaceutical Development. Springer New York. pp. 34
- Ismail, T., Sestili, P., Akhtar, S., 2012. Pomegranate peel and fruit extracts: A review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. *J. Ethnopharmacol.* 143: 397-405.
- Lansky, E.P., Newman, R.A., 2007. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *J. Ethnopharmacol.* 109: 177-206.
- Mahdi, E.S., Noor, A.M., Sakeena, M.H., Abdullah, G.Z., Abdulkarim, M.F., Sattar, M.A., 2011.

- Formulation and in vitro release evaluation of newly synthesized palm kernel oil esters-based nanoemulsion delivery system for 30 % ethanolic dried extract derived from local *Phyllanthus urinaria* for skin antiaging. *Int. J. Nanomedicine*. 6: 2499–2512.
- Melo, I.L.P., Carvalho, E.B.T. de, Mancini-filho, J., 2014. Pomegranate Seed Oil (*Punica granatum* L.): A Source of Punicic Acid (Conjugated α -Linolenic Acid). *J. Hum. Nutr. Food Sci*. 2: 1–11.
- Miguel, M.G., Neves, M. a, Antunes, M.D., 2010. Pomegranate (*Punica granatum* L.): A medicinal plant with myriad biological properties - A short review. *J. Med. Plants Res*. 4: 2836–2847.
- Silva, A.P.C., Nunes, B.R., Oliveira, M.C., Koester, L.S., Mayogra, P., Bassani, V.L., *et al.*, 2009, Development of Topical Nanoemulsions Containing the Isoflavone Genistein, *Pharmazie*, 64: 32-35.
- Schubert, S.Y., Lansky, E.P., Neeman, I., 1999. Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *J. Ethnopharmacol*. 66: 11–17.
- Suciati, T., Aliyandi, A., Satrialdi, 2014. Development of transdermal nanoemulsion formulation for simultaneous delivery of protein vaccine and artin-m adjuvant. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*. 6: 536–546.
- Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J., Solans, C., 2004. Formation and stability of nano-emulsions. *Adv. Colloid Interface Sci*. 108-109: 303–318.
- Verardo, V., Garcia-Salas, P., Baldi, E., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A., Caboni, M.F., 2014. Pomegranate seeds as a source of nutraceutical oil naturally rich in bioactive lipids. *Food Res. Int*. 65: 445–452.
- Wooster, T.J., Golding, M., Sanguansri, P., 2008. Impact of oil type on nanoemulsion formation and Ostwald ripening stability. *Langmuir* 24: 12758–12765.