

## **Pengaruh Bentuk Sediaan Farmasi Terhadap Aktivitas Antibakteri Minyak Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav.*)**

*Effect of Forms of Pharmaceutical Preparations on Antibacterial Activity of Red Betel Oil (Piper crocatum Ruiz & Pav.)*

**Marchaban\*, Anisa Ragil Handayani, Elsa Putri Kartika, Sudarsono**

Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

Corresponding author: Marchaban : Email: march@ugm.ac.id

### **ABSTRAK**

Minyak Sirih Merah (MSM) yang diperoleh dari distilasi uap dan air dari daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav.*) mempunyai potensi sebagai antibakteri. Formulasi suatu bahan aktif menjadi suatu sediaan farmasi bisa berpengaruh terhadap aktivitas bahan aktifnya. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh bentuk sediaan terhadap aktivitas antibakteri MSM. Penelitian dilakukan dengan memformulasi MSM menjadi bentuk sediaan emulsi, mikroemulsi dan solubilisasi, kemudian diuji aktivitas antibakterinya terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dengan metode mikrodilusi dengan kadar 1,25% menggunakan pembaca ELISA pada 570 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa formulasi sediaan mengurangi aktivitas antibakteri. MSM murni mempunyai hambatan pertumbuhan bakteri (HPB) 66,59%, sedangkan diantara bentuk sediaan yang dibuat aktivitas paling tinggi adalah bentuk mikroemulsi (HPB 49,58%), diikuti bentuk emulsi (HPB 17,45%), dan kemudian bentuk solubilisasi (HPB 0%) atau kehilangan aktivitas antibakterinya.

**Kata kunci:** minyak sirih merah, emulsi, mikroemulsi, solubilisasi, antibakteri

### **ABSTRACT**

The Red Sirih Essential Oil (RSEO) which be obtained from red betel leaf (*Piper crocatum Ruiz & Pav.*) by water and vapour distillation has potential as antibacterial activity. Formulation of an active pharmaceutical ingredient to become a pharmaceutical dosage form can generally modify their activity. The aim of the study is to proof the influence of dosage forms to the activity of RSEO. The study was done by formulating the RSEO to become emulsion, microemulsion and solubilisation dosage forms, and then, their antibacterial activity againt *Escherichia coli* ATCC 25922 by microdilution method of 1.25% using ELISA reader at 570 nm. The results showed that formulation reduced antibacterial activity. The raw RSEO had a Bacterial Growth Inhibition (BGI) of 66.59%, whereas microemulsion had 49.58%, emulsion had 17.45%, and solubilisation had 0% of BGI, that mean lost its antibacterial activity.

**Keyword:** red betel oil, emulsion, microemulsion, solubilization, antibacterial

### **PENDAHULUAN**

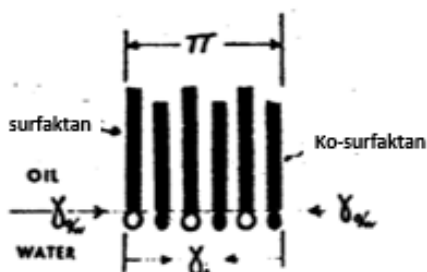
Bahan baku obat baik itu berasal dari produk sintesis maupun dari bahan alam,

aktivitas farmakologinya akan berubah atau dipengaruhi oleh formulasi, apakah itu karena bahan tambahan untuk membentuk

vehikulum maupun bentuk sediaan. Atas dasar itu para formulator harus memperhitungkan apakah bahan obat tersebut akan dinaikkan ketersediaannya atau bahkan sebaliknya diturunkan ketersediaannya, semua tergantung dari maksud pembuatan sediaan tersebut.

Emulsi o/w yang berupa dispersi fase minyak dalam fase air bisa digunakan untuk menaikkan ketersediaan bahan obat yang sedikit atau tidak larut dalam air tetapi bersifat lipofil dengan cara memperbesar luas antarmuka antara fase air dan fase minyak (Marchaban dkk, 2015). Untuk mendispersikan minyak dalam fase air (o/w) diperlukan emulgator baik dari golongan surfaktan, hidrokoloid maupun padat halus yang terdispersi. Emulsi atau juga disebut makroemulsi partikel fase dispers mempunyai ukuran >500 nm.

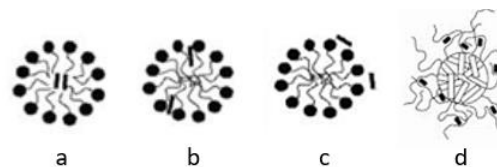
Emulsi spontan yang didiskripsikan sebagai emulsi yang terjadi secara spontan dan bentuknya transparan/ translusen, sering juga disebut mikroemulsi atau bahkan nanoemulsi tergantung berapa ukuran partikel dari fase dispers yang terjadi. Untuk mendapatkan emulsi spontan (mikro atau nanoemulsi) selain diperlukan surfaktan sebagai emulgator juga diperlukan kosurfaktan (golongan surfaktan yang lebih hidrofil dan mempunyai rantai C yang pendek kurang dari 8) untuk menaikkan tegangan lateral ( $\pi$ ) sehingga tegangan antarmuka ( $\gamma_i$ ) akan menjadi negatif. Dari rumus  $\gamma_i = \gamma_{(o/w)} - \pi$  maka kalau  $\pi$  lebih besar dari  $\gamma_{(o/w)}$  maka



Gambar 1. Skematisasi Surfaktan dan Kosurfaktan pada Antarmuka Partikel (Denoel dkk., 1981)

$\gamma_i$  akan menjadi negatif. Ini yang menyebabkan dinding antarmuka minyak dan air patah dan menjadi partikel-partikel yang lebih kecil (Denoel dkk., 1981).

Solubilisasi terjadi karena penyisipan molekul bahan obat yang lipofil ke dalam misel yang terbentuk karena adanya surfaktan dengan kadar di atas konsentrasi kritik misel (CMC). Solubilisasi berupa cairan jernih, transparan/translusen, stabil secara termodinamika.



Gambar 2. Skematisasi solubilisasi o/w; a. Penyisipan zat non-polar; b. Penyisipan zat lipofil pada umumnya; c. Adsorpsi zat yang tidak larut dalam air dan tidak larut dalam minyak; d. Penyisipan di dalam rantai polietilenoksida (Denoel dkk, 1981)

Bahan obat yang dipresentasikan dalam bentuk solubilisasi, kemungkinan menjadi kurang berefek karena hampir semua zat aktif terjat di dalam misel maka zat menjadi tidak available karena sangat sedikit yang berada dalam keadaan bebas dan ini tergantung harga koefisien partisi antara di dalam dan di luar misel.

MSM adalah minyak atsiri yang didapat dari distilasi air dan uap dari daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) dan diketahui mempunyai efek antibakteri (Dubick, 1986).

## METODOLOGI

### Bahan

Daun Sirih Merah, tween-80, span-80, PEG-400, *Escherichia coli* ATCC 25922, media Mueller Hinton Broth (MHB).

### Alat

Alat gelas, neraca analitik (Santorius BP 310), *magnetic stirrer* (Labtech ST 12), *Particle Size Analyzer* (Horiba Scientific SZ-100), *hotplate* (Cimarec 2 Thermolyne),

Tabel I. Formula MSM Bentuk Emulsi

No.	MSM (g)	Parafin cair (g)	Tween 80 (g)	Span 80 (g)	Air (g)	HLB
1	0,125	0,875	0,500	-	3,500	15
2	0,125	0,875	0,125	0,375	3,500	7
3	0,125	0,875	-	0,500	3,500	4,3
4	0,125	0,875	0,375	0,125	3,500	12,3
5	0,125	0,875	0,250	0,250	3,500	9,65
6	0,125	0,875	-	0,500	3,500	4,3

autoklaf (Sakura, OSK 6508 Steam Pressure Apparatus), *shaker incubator* (OSK Controller Incubator), inkubator (Imperial III Incubator), *vortex mixer* (Thermo Scientific), pemanas listrik, almari pendingin, spektrofotometer (UV-1700 PharmaSpec Shimadzu), *LAF cabinet* (ESCO Class II Biosafety Cabinet), bunsen, ose, Eppendorf steril, mikropipet, *yellow tip*, *blue tip*, vial, tabung reaksi, wadah plastik, rak rabung reaksi, seperangkat alat destilasi.

### Jalannya penelitian

#### Determinasi Tanaman

Dilakukan oleh Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, menyatakan kebenaran tanaman sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz. & Pav) yang masuk dalam suku Piperaceae.

#### Destilasi Minyak Sirih Merah (MSM)

Daun sirih didestilasi selama 4 jam dengan uap dan air, minyak hasil destilasi ditampung dalam corong pisah, dipisahkan. MSM dibebaskan dari air dengan natrium sulfat anhidrat, didapat rendemen 0,11% v/b.

#### Pembuatan Emulsi

Optimasi formula MSM dalam bentuk emulsi pada berbagai variasi HLB (Tabel I) (Elsa Putri dkk, 2018).

Dimasukkan ke dalam vial parafin cair, MSM, tween-80 dan span-80 kemudian diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 1 jam. Emulsi yang didapatkan disimpan dalam suhu kamar dan dijaga konstan

(Mollet, 2001). Emulsi yang paling stabil dipilih sebagai formula bentuk emulsi untuk percobaan aktivitas mikrobiologiknya.

#### Pembuatan Mikroemulsi

Optimasi formula MSM dalam bentuk mikroemulsi pada berbagai variasi rasio surfaktan-kosurfaktan (Tabel II) (Kartika, dkk, 2018).

Dimasukkan ke dalam vial MSM, paraffin cair, tween-80, PEG-400, dan air kemudian diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 1 jam. Emulsi yang berupa jernih (paling jernih) yang didapatkan disimpan dalam suhu kamar dan dijaga konstan (Mollet, 2001). Emulsi yang paling jernih dipilih sebagai formula bentuk mikroemulsi untuk percobaan aktivitas mikrobiologiknya.

#### Pembuatan Solubilisasi

Optimasi formula MSM dalam bentuk solubilisasi pada berbagai variasi rasio surfaktan-MSM (Tabel III). Ke dalam vial dimasukkan masing masing komponen formula kemudian diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* selama 1 jam. Solubilisasi dengan pengamatan visual paling jernih dipilih sebagai formula yang digunakan dalam penelitian uji antibakteri selanjutnya.

#### Volume Sedimentasi (F)

Tiap formula emulsi yang sudah dibuat dimasukkan ke dalam tabung reaksi berskala dan diamati pemisahan fase yang terjadi sampai dengan 2 jam setelah pembuatan. Hasil pemisahan fase

Tabel II. Formula MSM dalam bentuk mikroemulsi

No.	MSM (g)	Parafin cair (g)	Tween 80 (g)	PEG 400 (g)	Air (g)
1	0,125	0,125	1,250	-	3,500
2	0,125	0,125	0,625	0,625	3,500
3	0,125	0,125	0,417	0,833	3,500
4	0,125	0,125	0,313	0,937	3,500
5	0,125	0,125	0,25	1	3,500
6	0,125	0,125	0,208	1,042	3,500
7	0,125	0,125	0,179	1,071	3,500
8	0,125	0,125	0,156	1,094	3,500
9	0,125	0,125	0,139	1,111	3,500
10	0,125	0,125	0,125	1,125	3,500
11	0,125	0,125	-	1,250	3,500
12	0,125	0,125	0,625	0,625	3,500
13	0,125	0,125	0,833	0,417	3,500
14	0,125	0,125	0,937	0,313	3,500
15	0,125	0,125	1,000	0,250	3,500
16	0,125	0,125	1,014	0,236	3,500
17	0,125	0,125	1,071	0,179	3,500
18	0,125	0,125	1,094	0,156	3,500
19	0,125	0,125	1,111	0,139	3,500
20	0,125	0,125	1,125	0,125	3,500

Tabel III. Komposisi Tween-80, MSM, dan Air untuk Pembuatan Solubilisasi

No	Tween-80 (g)	MSM (g)	Air (g)
1	0,500	0,025	4,475
2	1,000	0,025	3,975
3	1,500	0,025	3,475
4	0,500	0,050	4,450
5	1,000	0,050	3,950
6	1,500	0,050	3,450
7	0,500	0,075	4,425
8	1,000	0,075	3,925
9	1,500	0,075	3,425
10	0,500	0,100	4,400
11	1,000	0,100	3,900
12	1,500	0,100	3,400
13	0,500	0,125	4,375
14	1,000	0,125	3,875
15	1,500	0,125	3,375

dinyatakan dengan harga F dengan rumus  $F = H_u/H_o \dots (1)$ . Keterangan: F = rasio pemisahan fase,  $H_o$  = tinggi emulsi mula-mula,  $H_u$  = tinggi emulsi pada waktu pengamatan.

#### Uji Mikrobiologi

Alat-alat dan media sebelum digunakan disterilisasi terlebih dahulu dengan cara yang sesuai. Stok mikroba hasil kultur dalam media MHB diukur

nilai OD<sub>600nm</sub> (Optical Density) terlebih dahulu dengan spektrofotometer UV-Vis. Selanjutnya dilakukan pengenceran dengan media agar nilai OD<sub>600nm</sub> mikroba yang akan diuji sebesar 0,3 (untuk *E.coli* setara dengan  $1-2 \times 10^8$  CFU/mL) (Brooks, 2007). Suspensi kemudian diencerkan lagi 120 kali untuk mendapatkan nilai akhir  $10^6$  CFU/mL dikarenakan untuk uji mikrodilusi ini terdapat 50 $\mu$ L suspensi bakteri dan 50 $\mu$ L sampel, sehingga setara dengan  $5 \times 10^5$  CFU/mL atau  $5 \times 10^4$  CFU/100  $\mu$ L.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 secara in vitro dengan metode mikrodilusi cair (*broth microdilution method*). Uji ini dilakukan untuk mengetahui persentase pengambatan sampel terhadap bakteri uji. MSM dibuat kadar 2,5% b/b dengan dilarutkan menggunakan DMSO 5%. Karena sampel uji dalam tiap *well* sebesar 50 $\mu$ L sedangkan volume total tiap *well* sebesar 100 $\mu$ L maka kadar minyak atsiri sirih merah dalam tiap *well* menjadi 1,25 % b/b. Sampel yang diujikan antara lain sediaan MSM dalam bentuk emulsi, minyak atsiri daun sirih merah kadar 2,5% b/b, blanko emulsi, MSM bentuk mikroemulsi kadar 2,5%, blanko mikroemulsi, akuades dan DMSO sebagai kontrol pelarut, amoksisilin kadar 2,5%b/b sebagai kontrol positif, dan kontrol media.

Pengujian dilakukan terhadap 1 *plate* uji dan 1 *plate* blanko. *Plate* uji berisi 50  $\mu$ L sampel dan 50  $\mu$ L suspensi bakteri. Sedangkan *plate* blanko berisi 50 $\mu$ L sampel dan 50  $\mu$ L larutan salin tanpa ditambahkan suspensi bakteri. *Microplate* diletakkan dalam kotak yang dilapisi tisu yang dibasahi selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam menggunakan *shaker incubator*. *Microplate* dikeluarkan dari *shaker incubator* kemudian ditambahkan

%Penghambatan=

$$\left(1 - \frac{OD \text{ sampel uji} - OD \text{ blanko sampel}}{OD \text{ Pelarut uji} - OD \text{ blanko pelarut}}\right) \times 100\%$$

..... (2) (Quave dkk, 2008)

pada masing-masing *well* 10  $\mu$ L, konsentrasi 5mg/mL dan diinkubasi selama 4 jam pada temperatur 37°C. Setelah inkubasi, *microplate* ditambahkan DMSO 1% dan diinkubasi kembali selama 30 menit pada temperatur 37°C kemudian diukur nilai OD dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 570nm.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Formulasi Sediaan Emulsi

Hasil dari pembuatan emulsi yang paling stabil (harga F paling tinggi) adalah yang mempunyai nilai HLB 7, yang terdiri atas MSM 0,125g, paraffin cair 0,875g, tween-80 0,125g, span-80 0,375g dan air 3,500g. Hasil ini ditunjukkan dengan harga F = 1 selama pengamatan 2 jam. Kepada formula ini kemudian ditetapkan ukuran partikelnya dengan PSA dan diperoleh rata-rata ukuran partikel yaitu 684,6 nm (Gambar 1). (Kartika dkk., 2017).

### Formulasi Sediaan Mikroemulsi

Hasil dari formulasi sediaan mikroemulsi diperoleh bentuk mikroemulsi/emulsi spontan dengan kriteria sediaan yang secara fisik transparan/jernih. Hasil itu didapat pada formula yang terdiri atas 0,125g MSM, 0,125g paraffin cair, 0,417g tween-80, 0,833g PEG-400, dan 3,500g air. Sediaan mikroemulsi mempunyai ukuran partikel rata-rata 410,0 nm yang ditetapkan dengan PSA (Gambar 2) (Kartika dkk., 2017). Ukuran partikel dari mikroemulsi bisa lebih kecil dikarenakan adanya kosurfaktan PEG-400. Kosurfaktan akan menyebabkan tegangan lateral ( $\pi$ ) menjadi tinggi. Dari rumus  $\gamma_i = \gamma_{o/w} - \pi$  kalau tegangan lateral tinggi bisa berakibat  $\gamma_i$  menjadi negative sehingga terjadilah pemecahan partikel menjadi jauh lebih kecil dan secara spontan, dan terlihat transparan (Denoel, dkk, 1981).

### Formulasi Sediaan Solubilisasi

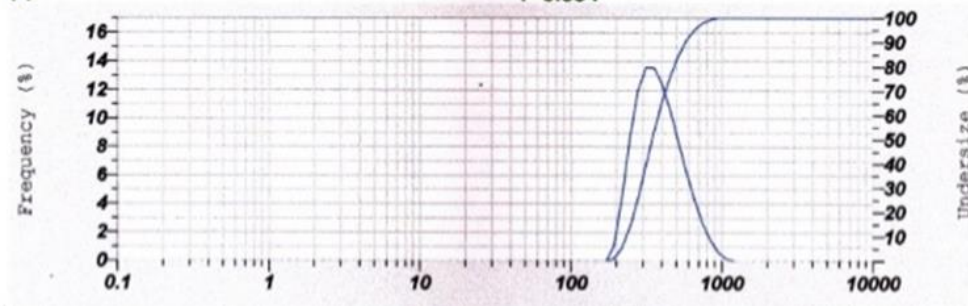
Hasil dari formulasi sediaan MSM bentuk solubilisasi diperoleh dengan kriteria sediaan yang secara fisik

**Calculation Results**

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	377.7 nm	137.9 nm	298.6 nm
2	---	--- nm	--- nm	--- nm
3	---	--- nm	--- nm	--- nm
Total	1.00	377.7 nm	137.9 nm	298.6 nm

**Cumulant Operations**

Z-Average : 684.6 nm  
 PI : 0.534



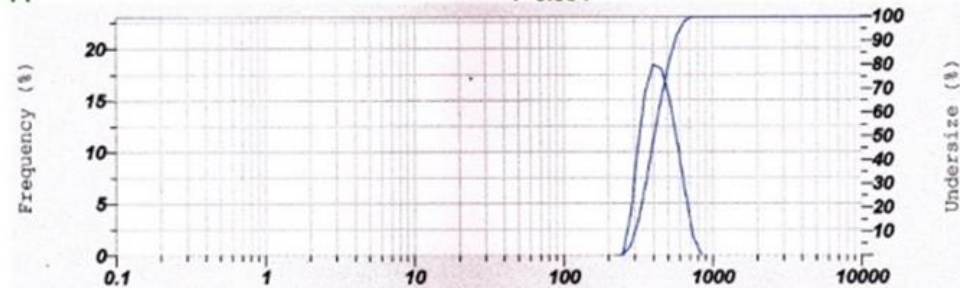
Gambar 3. Ukuran partikel fase dispers emulsi ditetapkan dengan PSA (Kartika dkk, 2017)

**Calculation Results**

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	421.0 nm	99.6 nm	381.3 nm
2	---	--- nm	--- nm	--- nm
3	---	--- nm	--- nm	--- nm
Total	1.00	421.0 nm	99.6 nm	381.3 nm

**Cumulant Operations**

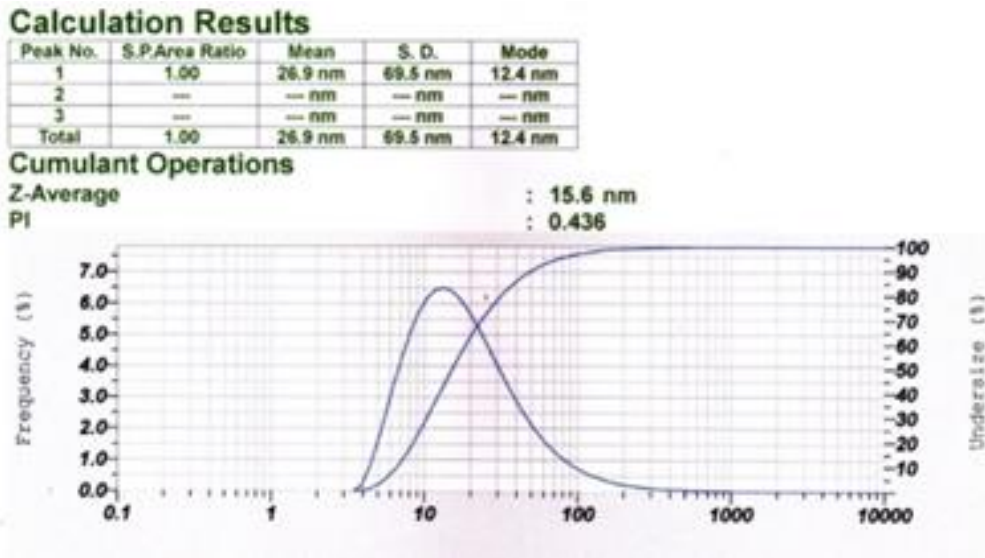
Z-Average : 410.0 nm  
 PI : 0.304



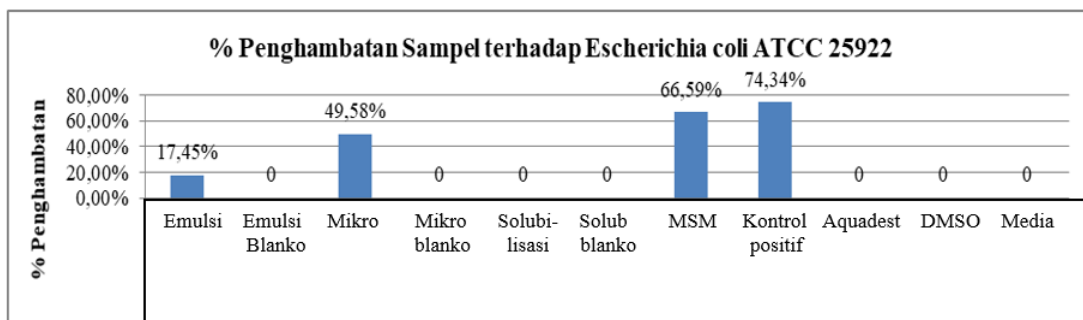
Gambar 4. Ukuran partikel fase dispers mikroemulsi ditetapkan dengan PSA (Kartika dkk, 2017)

transparan/jernih, dan stabil secara termodinamik. Hasil itu didapat pada formula yang terdiri atas 0,125g MSM, 1,500g tween-80, dan 3,375g air. Sediaan solubilisasi mempunyai ukuran partikel rata-rata 15,6 nm yang ditetapkan dengan PSA (Gambar 3). Ukuran partikel MSM dalam bentuk solubilisasi atau solubilisasi dalam misel jauh lebih kecil dikarenakan

MSM yang disisipkan ke dalam misel berupa molekul MSM. Ini terjadi kalau surfaktan berada pada nilai HLB yang relatif tinggi, pada konsentrasi yang cukup tinggi, dan konsentrasi minyak yang relatif sangat sedikit. Dengan ukuran partikel misel rata-rata 15,6 nm sehingga sediaan terlihat sebagai transparan (Passet dkk., 1983; Denoel dkk., 1981).



Gambar 5. Ukuran partikel MSM bentuk solubilisasi ditetapkan dengan PSA



Gambar 6. Perbandingan aktivitas MSM dalam bentuk murni, emulsi, mikroemulsi, dan solubilisasi

**Uji Antibakteri**

Hasil uji yang dinyatakan sebagai Hambatan Pertumbuhan Bakteri (HPB) *Escherichia coli* ATCC 25922 (Gambar 6) diperoleh bahwa HPB E. coli dari MSM (dalam kadar yang sama) MSM sebagai bahan murni adalah 66,59%, dalam bentuk emulsi adalah 17,45%, bentuk mikroemulsi adalah 49,58 %, dan dalam bentuk solubilisasi relatif 0% atau bisa dikatakan kehilangan potensi antibakteri.

Apabila membandingkan MSM murni dengan MSM dalam bentuk sediaan terlihat bahwa formulasi secara jelas mengurangi aktivitas antibakteri dari MSM, hal ini kemungkinan dikarenakan sediaan perlu

membuat MSM “released” dari mediumnya, sedangkan kalau bahan murni langsung sudah berada dalam keadaan “released” apalagi untuk penggunaan topical. Namun demikian kita tidak bisa menggunakan MSM langsung untuk terapi, harus dibentuk menjadi suatu sediaan farmasi karena bentuk murni MSM seperti bahan aktif lainnya tidak nyaman dan tidak praktis kalau digunakan secara langsung, jadi harus dalam bentuk sediaan.

Membandingkan ketiga sediaan emulsi, mikroemulsi, solubilisasi, maka bentuk mikroemulsi mempunyai HPB 49,58% lebih besar dibanding emulsi yang HPB nya 17,45%. Hal ini disebabkan oleh

karena “released” MSM dalam bentuk mikroemulsi lebih baik dibanding HPB dari emulsi. “Released” MSM dari mikroemulsi lebih baik karena partikel fase dispers MSM dalam bentuk mikroemulsi lebih kecil dibandingkan partikel fase dispers dalam bentuk emulsi, atau dengan perkataan lain luas antarmuka antara fase internal dan fase eksternal lebih luas pada mikroemulsi.

MSM dalam bentuk solubilisasi relatif kehilangan HPB nya, dimana harga HPBnya adalah 0%, padahal kalau dilihat dari ukuran partikel fase dispers bentuk solubilisasi jauh lebih kecil dibanding mikroemulsi. Dalam bentuk solubilisasi, MSM disisipkan ke dalam misel dalam bentuk molekul, dan MSM terjatoh di dalam misel sehingga sulit untuk di-“released” menjadi bentuk bebas dalam medium, padahal yang berefek antibakteri adalah yang berada dalam kondisi bebas atau “released”. (Marchaban dkk., 1983).

Untuk mengetahui perbedaan dari tiap kelompok data dari berbagai sediaan tersebut dilakukan uji normalitas menggunakan Saphiro-Wilk. Dari uji ini didapatkan hasil bahwa data terdistribusi secara normal. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas varian dengan metode uji Levene. Berdasarkan hasil analisis, harga p-value >0,05. Hal ini berarti ragam antar kelompok perlakuan homogen. Kemudian dilakukan uji perbandingan berganda, menggunakan Tukey HSD. Data yang terdistribusi normal selanjutnya dianalisis menggunakan ANOVA, dari hasil uji dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan persentase penghambatan antar sediaan.

## KESIMPULAN

MSM apabila dibuat dalam bentuk sediaan farmasi, dapat menurunkan aktivitas antibakterinya. Dari MSM yang dibuat menjadi 3 (tiga) sediaan yang berbeda yaitu emulsi, mikroemulsi, dan solubilisasi, MSM dalam bentuk mikroemulsi mempunyai HPB paling tinggi

(49,58%), lalu diikuti oleh bentuk emulsi (HPB 17,45%), dan bentuk solubilisasi (HPB 0%)

## DAFTAR PUSTAKA

- Handayani, A. R. , 2018, Pengaruh Bentuk Sediaan Emulsi dan Solubilisasi Terhadap Potensi Aktivitas Antibakteri Dari Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* RUIZ & PAV.) Pada Bakteri
- Escherichia coli* ATCC 25922, Skripsi, Fak Farmasi UGM.
- Anonim, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Bilia, A.R., Guccione, C., Isacchi, B., Righeschi, C., Firenzuoli, F., dan Bergonzi, M.C., 2014, Essential Oils Loaded in Nanosystem: A Developing Strategy for a Successful Therapeutic Approach, *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-14.
- Brooks, G.F., Carroll, K.C., Butel, J.S., & Morse, S.A., 2007, *Jawetz, Melnick & Adelsberg's Medical Microbiology*, 24<sup>th</sup> Edition, The McGraw-Hill's Company, New York.
- Denoel, A, Jaminet, Fr., and Moes, A., Pharmacy Galenique tome II, Les Press Univ Liege, Liege, 1981
- Dubick MA, 1986, Historical perspectives on the use of herbal preparations to promote health. *JN The Journal of Nutrition*, University of California, Davis, School of Medicine, 1348-1349.
- Kammona O, Kiparissides, C., 2012, Recent Advances in Nanocarrier-based Mucosal Delivery of Biomolecules, *Journal of Controlled Release*, 161, 781-794.
- Kartika, E.P. , 2018, Pengaruh Formulasi Bentuk Sediaan Emulsi dan Nanoemulsi Minyak Atsiri Saun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Terhadap Aktivitas Antibakteri *Escherichia coli* ATCC 25922, Skripsi, Fak Farmasi UGM



- Kartika, E.P., Marchaban, dan Sudarsono, 2018, Aktivitas Antibakteri Minyak Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Dalam Bentuk Sediaan Emulsi dan Mikroemulsi, *Majalah Farmaseutik*, Vol 14, Nomor 2, Th 2018, hal 79-86.
- Marchaban, Passet, J., Maillols, H., Saunal, H., dan Delonca, H., 1983, Physicochemical Study of Tensioactive-oil-water Mixtures, *Pharm. Acta Helv.*, 58 (11), 298-302
- Marchaban, Fudholi, A., Saifullah, TN., Bestari, AN., Saadah, M., 2015, *Formulasi dan Teknologi Sediaan Semipadat*, Fak Farmasi UGM, Yogyakarta
- Mollet, H., dan Grubermann, A., 2001, *Formulation Technology: Emulsions, Suspensions, Solid Form*, 261-262, Wiley-Vch, Toronto, 73.
- Passet, J., Marchaban, M., Laget, G.P., Saunal, H., dan Delonca, 1983, Micellary Solubilization of the Essential Oil of the Bergamot and Paraffin Oil, *Pharm. Acta Helv.*, 58 (8), 210-216
- Yuksel, K., Ucan, U.C., Kartal, M., Altun, M.L., Aslan, S., Sayar, E., and Ceyhan, T., 2006, GC-MS Analysis and Antibacterial Activity of Cultivated *Satureja cuneifolia* Ten Essential Oil, *Turkey Journal Chemistry*, 30, 253-259.