

Self Nanoemulsifying Drug Delivery System (Snedds) Grapeseed Oil Formulation Using Tween 20 And Cremophor Rh40 As Surfactant

Nathania H. Andjani, Made D.P. Wahyudi S., I Gede Somatirta, Jessica S. Anggraini

Sekolah Tinggi Farmasi Mahaganesha, Jalan Tukad Barito No. 57, Denpasar, Bali, 80225.

Abstract

Grape seeds (*Vitis vinifera*) oil is not only known to have antioxidant activity, but also known to have solubility and bioavailability problems. One way that can be used to overcome this problem is to formulate it into a Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS). SNEDDS is a system that consists of oil phase and surfactants mixture that will form nanoemulsions when stirred in water. The aim of the study was to optimize the oil phase and surfactant mixture composition, since it has been known to affect the SNEDDS characteristics. SNEDDS grapeseed oil was made with a mixture of surfactant tween 20 and cremophor RH40 which was optimized using the simplex lattice design approach with Design Expert 13.0.10. This study provided that the SNEDDS optimum formula consists of 5.73% grapeseed oil, 10% cremophor RH40, and 84.26% tween 20. The system could be emulsified in 5.32 seconds, with a transmittance of 99.435%, a droplet size of 13.5 nm, a PDI of 0.476, and a zeta potential of -21.0mV. Based on the stability test results, the resulting system was observed to be stable against dilution, freeze thaw, and centrifugation, which make the system acceptable as SNEDDS.

Keywords: cremophor RH 40, grapeseed oil, SNEDDS, tween 20

Formulasi Self Nanoemulsifying Drug Delivery System (Snedds) Grapeseed Oil Dengan Campuran Surfaktan Tween 20 Dan Cremophor Rh40

Abstrak

Minyak biji anggur (*Vitis Vinifera*) selain diketahui akan aktivitas antioksidannya, tetapi juga diketahui memiliki masalah pada kelarutan dan bioavailabilitasnya. Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah dengan memformulasikannya menjadi *Self Nanoemulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS). SNEDDS merupakan sistem campuran minyak, surfaktan, dan/atau ko-surfaktan yang membentuk nanoemulsi ketika diaduk dalam air. Tujuan penelitian ini adalah mengoptimasi komposisi fase minyak dan campuran surfaktan, mengingat komposisi komponen penyusun SNEDDS tersebut berpengaruh terhadap karakteristik sistem yang dihasilkan. SNEDDS *grapeseed oil* dibuat dengan campuran surfaktan tween 20 dan cremophor RH40 yang dioptimasi menggunakan pendekatan *simplex lattice design* dengan *Design Expert* 13.0.10. Formula optimum yang dihasilkan pada penelitian ini terdiri dari 5,73% *grapeseed oil*, 10% cremophor RH40, dan 84,26% tween 20. Sistem yang dihasilkan dapat teremulsifikasi dalam 5,32 detik, dengan kejernihan sebesar 99,435%, ukuran *droplet* 13,5 nm, PDI sebesar 0,476, dan *zeta* potensial sebesar -21,0mV. Hasil pengujian stabilitas menunjukkan bahwa sistem yang dihasilkan stabil terhadap dilusi, siklus *freeze thaw*, dan sentrifugasi, yang membuat sistem ini memenuhi persyaratan SNEDDS yang baik.

Kata Kunci: cremophor RH 40, grapeseed oil, SNEDDS, tween 20

Article History:

Submitted 22 August 2023

Revised 08 March 2024

Accepted 24 July 2024

Published 30 June 2025

*Corresponding author:

pradipta.wahyudi@gmail.com

Citation:

Andjani, N.H.; Wahyudi S, M.D.P.; Somatirta, I.G.; Anggraini, J.S. Self Nanoemulsifying Drug Delivery System (Snedds) Grapeseed Oil Formulation Using Tween 20 And Cremophor Rh40 As Surfactant. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 2025:

12 (2), 168-177.

1. Pendahuluan

Anggur (*Vitis Vinivera*) adalah salah satu tanaman buah yang ditanam secara luas dan tumbuh subur di Indonesia, terutama di Buleleng, Bali. Salah satu bagian dari buah anggur yang umumnya tidak dikonsumsi adalah bagian bijinya. Biji anggur diketahui mengandung banyak senyawa yang bermanfaat seperti senyawa polifenol (60-70%), meliputi flavonoid, karotenoid, asam fenolat, tanin, dan stilbene, yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan, mengandung *tocopherol* dan *tocotrienol*, serta minyak (10-20%), yang terdiri dari trigliserida yang kaya asam lemak tak jenuh, seperti asam oleat dan linoleat yang menyebabkan biji anggur banyak dimanfaatkan dalam bentuk minyak.¹

Minyak biji anggur banyak dimanfaatkan untuk tujuan medis utamanya terkait dengan aktivitas antioksidannya.² Hasil penelitian Lacatusu (2015) menunjukkan jika penggunaan minyak biji anggur dengan konsentrasi 5% bersama dengan *laurel leaf oil* dapat membunuh sel kanker secara *in vitro*. Adanya aktivitas antikanker tersebut diduga disebabkan oleh banyaknya kandungan senyawa yang bersifat sebagai antioksidan yang terkandung di dalam minyak biji anggur.³ Namun demikian, terlepas dari manfaatnya, minyak biji anggur diketahui memiliki kelemahan, yaitu berkaitan dengan kelarutan serta bioavailabilitasnya yang rendah.⁴ Kandungan utama minyak biji anggur yang berupa trigliserida yang terdiri dari asam lemak rantai panjang seperti asam oleat dan linoleat menyebabkannya memiliki kelarutan yang rendah di dalam air.¹ Sifat minyak biji anggur yang lipofilik menyebabkan kandungan aktif yang terkandung dalam minyak biji anggur lebih banyak yang bersifat non polar, seperti *tocopherol* dan *tocotrienol*, ataupun fitosterol, yang diketahui memiliki bioavailabilitas yang rendah. Rendahnya bioavailabilitas ketiga senyawa tersebut kemungkinan disebabkan oleh rendahnya kelarutan senyawa tersebut dalam saluran cerna yang pada akhirnya dapat menyebabkan rendahnya absorpsi ketiga senyawa tersebut.^{3,5}

Salah satu cara yang dapat digunakan untuk mengatasi permasalahan kelarutan dan bioavailabilitas obat lipofilik adalah dengan membuatnya menjadi nanoemulsi. Sistem nanoemulsi dapat terbentuk dengan beberapa pendekatan seperti dengan mencampurkan secara langsung fase minyak, surfaktan, ko-surfaktan, dan air dalam konsentrasi yang sesuai ataupun dengan pendekatan *self-emulsifying* yang merupakan campuran yang akan membentuk nanoemulsi pada saat bertemu dengan air. Metode *self-nanoemulsifying* lebih dipilih dalam penelitian ini dikarenakan sistem ini relatif lebih stabil dan lebih kecil volumenya dibandingkan dengan metode nanoemulsi

yang mengandung air, sehingga lebih mudah untuk digunakan secara oral.⁶

Self-Nanoemulsifying Drug Delivery Systems (SNEDDS) merupakan sistem formulasi yang menggabungkan minyak, surfaktan, dan kosurfaktan yang mengandung obat. Sistem ini selanjutnya akan masuk ke saluran cerna dan bercampur dengan cairan saluran cerna yang mengandung air. Ketika formula bercampur dengan cairan saluran cerna, maka akan terjadi emulsifikasi spontan yang menghasilkan globul berukuran nanometer. SNEDDS yang baik diketahui memiliki karakteristik seperti kejernihan (% transmittan) yang mendekati air suling (%T = 100%), nilai *emulsification time* kurang dari satu menit, rata-rata ukuran tetesan kurang dari 100 nm, nilai *Polydispersity Index* (PDI), mendekati 0,5 serta nilai *zeta potensial* yang lebih besar dari ± 30 mV.^{7,8}

Sediaan SNEDDS pada penelitian ini dibuat menggunakan bahan aktif minyak biji anggur yang sekaligus menjadi fase minyak, dengan kombinasi surfaktan yaitu tween 20 dan cremophor RH40. SNEDDS yang baik umumnya memiliki karakteristik antara lain kejernihan (% transmittan) yang mendekati nilai persen transmittan akuades yaitu 100%,⁹ *emulsification time* dengan hasil yang kurang dari 1 menit dilakukan untuk menentukan seberapa cepat formula SNEDDS membentuk emulsi setelah kontak langsung dengan cairan lambung,¹⁰ ukuran *droplet* dengan rata-rata kurang dari 100 nm,¹¹ nilai PDI mendekati angka 0 (nol)¹² dan *zeta potensial* yang dipersyaratkan yaitu ± 30 mV.⁷

2. Bahan dan Metode

2.1. Alat

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah vial, conical tube, alat-alat gelas (Pyrex), vortex mixer (Ohaus), hot plate stirrer (IKA® C-MAG HS 7), spektrofotometer UV-Vis (Thermofisher, Genesys 10), timbangan digital (ACIS AF-300i; Ohaus), pH meter (HANNA), sentrifugator (Ohaus Frontier 5306), waterbath (Mettler), particle size analyzer (Horiba, japan), dan *zetasizer* (Horiba, japan).

2.2. Bahan

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah *grapeseed oil* (densitas pada suhu 20 °C sebesar 0,9196 g/mL; *specific gravity* sebesar 0,9212 (T = 20°C); indeks bias sebesar 1,4747 (T = 20°C); dan tidak larut dalam air), cremophor RH40 (BASF), tween 20 (Brataco), akuades (Brataco), HCl (Brataco), NaCl (Brataco), KOH (Brataco), dan etanol 96% (Merck).

2.3. Prosedur

2.3.1. Pemilihan surfaktan

Pemilihan surfaktan didasarkan dengan kemampuan surfaktan mengemulsikan fase minyak terpilih menjadi emulsi yang jernih. Surfaktan yang akan diujikan adalah tween 20 dan cremophor RH40. Pengujian diawali dengan mencampurkan surfaktan ke dalam fase minyak terpilih dengan perbandingan (1:3). Campuran dihomogenkan menggunakan *vortex mixer* dengan kecepatan 1400 rpm selama 5 menit dan disimpan pada suhu ruangan selama 24 jam untuk melihat adanya pemisahan fase. Emulsi yang dihasilkan diamati stabilitasnya dengan mengamati adanya pemisahan dan melihat tingkat kejernihannya dengan mengukur nilai % transmittan.

2.3.2. Penentuan batas atas dan batas bawah optimasi SNEDDS *grapeseed oil*

Tahapan perancangan formula diawali dengan memasukkan data nilai batas atas dan batas bawah optimasi tiap variabel seperti yang meliputi *grapeseed oil* (5-10%), cremophor RH40 (10-15%), dan tween 20 (80-85%).

2.3.3. Desain formula SNEDDS *grapeseed oil*

Nilai batas atas dan batas bawah optimasi selanjutnya dimasukkan ke dalam software *Design Expert* versi 13.0.10 pada metode *Simplex Lattice Design* (SLD) untuk memperoleh design percobaan (run) formula. Jumlah formula (run) yang diperoleh berdasarkan optimasi terhadap tiga variabel bebas adalah sebanyak 14 formula seperti yang tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Rancangan formula optimasi SNEDDS *grapeseed oil*

Run	Komponen (%v/v)		
	Grapeseed oil	Cremophor RH40	Tween 20
1	5,00	10,00	85,00
2	6,67	11,67	81,67
3	5,00	15,00	80,00
4	5,00	12,50	82,50
5	7,50	10,00	82,50
6	7,50	12,50	80,00
7	5,83	10,83	83,33
8	5,00	10,00	85,00
9	5,00	15,00	80,00
10	10,00	10,00	80,00
11	8,33	10,83	80,83
12	5,83	13,33	80,83
13	7,50	12,50	80,00
14	10,00	10,00	80,00

2.3.4. Pembuatan SNEDDS *grapeseed oil*

SNEDDS pada 14 formula run dan formula optimum dibuat dengan volume total 10 mL. Pembuatan SNEDDS *grapeseed oil* diawali dengan mengambil *grapeseed oil* dan komponen lainnya yaitu campuran surfaktan dengan jumlah yang sesuai dengan yang tertera pada tabel 1. *Grapeseed oil* dicampurkan ke dalam campuran surfaktan terpilih yaitu tween 20 dan cremophor RH40 hingga homogen menggunakan magnetic stirrer dengan kecepatan 1400 rpm selama 5 menit pada suhu 40 °C.

2.3.5. Pemeriksaan *emulsification time*

Pengujian ini dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 mL SNEDDS, kemudian segera dimasukkan ke dalam 100 mL akuades yang telah mencapai suhu 37 °C, sambil dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 100 rpm. Waktu yang dibutuhkan bagi SNEDDS untuk bercampur sempurna membentuk emulsi, dicatat sebagai *emulsification time*. Uji dilakukan terhadap semua formula run dan formula optimum serta di replikasi sebanyak tiga kali.

2.3.6. Pemeriksaan *emulsification time*

Pengujian ini dilakukan dengan mengambil sebanyak 1 mL SNEDDS kemudian dimasukkan ke dalam 100 mL akuades yang bersuhu 37 °C. Nilai % transmittan dibaca dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 650 nm dan menggunakan akuades sebagai blanko. Uji dilakukan terhadap semua formula run dan formula optimum serta direplikasi sebanyak tiga kali.

2.3.7. Penentuan formula optimum SNEDDS grapeseed oil

Formula optimum SNEDDS ditentukan berdasarkan hasil pengujian ke-14 formula run menggunakan program *Design Expert* versi 13.0.10 dengan variabel bebas konsentrasi cremophor RH40 dan tween 20 dalam formulasi SNEDDS *grapeseed oil*. Parameter yang digunakan dalam optimasi meliputi nilai *emulsification time* dan kejernihan. Formula optimum diharapkan memiliki karakteristik berupa nilai transmitan mendekati 100% dan mampu membentuk emulsi dalam waktu kurang dari 1 menit atau paling cepat.

2.3.8. Verifikasi formula optimum

Data formula optimum yang terverifikasi selanjutnya dibandingkan dengan nilai prediksi tiap-tiap parameter yang dihasilkan oleh *software Design Expert* versi 13.0.10 melalui menu post analysis dan dilihat pemenuhan nilai observasi ke dalam rentang $\pm 5\%$ dari nilai prediksi (*prediction interval* = 95%).

2.3.9. Verifikasi formula optimum

Pengujian dilakukan dengan mengambil sejumlah 1 mL SNEDDS lalu ditetaskan ke dalam 100 mL akuades

dan diaduk dengan bantuan *magnetic stirrer*. Larutan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam kuvet dan dianalisis menggunakan *particle size analyzer* (Horiba, Japan). Data yang didapatkan dari pengukuran ini adalah berupa ukuran *droplet*, *polydispersity index*, dan *zeta potential*.

2.3.10. Uji stabilitas fisik formula SNEDDS dengan metode dilusi cair

Pengujian ini dilakukan dengan memasukkan sejumlah 1 mL SNEDDS ke dalam 100; 250; dan 1000 mL akuades dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada kecepatan 240 rpm. Setelahnya, emulsi yang dihasilkan diuji kejernihannya melalui pengukuran nilai % transmitan dan diamati ada atau tidaknya endapan yang terbentuk.

2.3.11. Uji stabilitas fisik formula SNEDDS dengan metode sentrifugasi

Uji dilakukan dengan memasukkan sejumlah 1 mL SNEDDS ke dalam 100 mL media yang meliputi akuades, dapar HCl pH 1,2, dan dapar fosfat pH 6,8. Emulsi yang dihasilkan kemudian dipindahkan ke dalam *tube* berukuran 15 mL, lalu disentrifugasi selama 30 menit pada kecepatan 3000 rpm. Jika tidak terdapat endapan, selanjutnya sistem diuji kembali

Tabel 2. Hasil karakterisasi sistem SNEDDS pada tahap (a) *screening* batas atas dan bawah serta (b) 14 run formula optimasi SNEDDS *grapeseed oil*

a. Hasil screening batas atas dan bawah					
Grape Seed Oil	Komposisi (%)		Waktu Emulsifikasi (detik)	Kejernihan (%T)	Keterangan
	Cremophor RH40	Tween 20			
10	15	75	21	91,812	Stabil
5	15	80	12	99,621	Stabil
5	10	85	24	99,250	Stabil
b. Hasil karakterisasi 14 run formula SNEDDS					
Run	Komponen (% v/v)			Karakteristik	
	Grapeseed oil	Cremophor RH40	Tween 20	ET (detik)	%T
1	5,00	10,00	85,00	4,96	96,33
2	6,67	11,67	81,67	4,00	97,12
3	5,00	15,00	80,00	5,95	94,30
4	5,00	12,50	82,50	7,32	95,37
5	7,50	10,00	82,50	3,92	64,10
6	7,50	12,50	80,00	3,85	73,74
7	5,83	10,83	83,33	4,45	89,56
8	5,00	10,00	85,00	4,17	90,49
9	5,00	15,00	80,00	5,88	93,13
10	10,00	10,00	80,00	3,52	13,67
11	8,33	10,83	80,83	2,69	38,45
12	5,83	13,33	80,83	8,60	95,40
13	7,50	12,50	80,00	4,49	56,13
14	10,00	10,00	80,00	5,27	8,06

kejernihannya. Hasil nilai % transmitan dengan selisih yang kecil antara sebelum dan sesudah pengujian, serta tidak adanya endapan menunjukkan bahwa formula SNEDDS menghasilkan emulsi yang stabil.

2.3.12. Uji stabilitas (metode *freeze thaw cycle*)

Uji dilakukan dengan metode *freeze-thaw cycles* dengan cara menyimpan sampel SNEDDS *grapeseed oil* pada suhu -20°C selama 24 jam, kemudian dilanjutkan pada suhu 25°C selama 24 jam (satu siklus). Pengujian ini dilakukan hingga 6 siklus dengan pengamatan yang dilakukan pada akhir tiap siklus.

2.3.13. Uji *cloud point*

Pengujian dilakukan dengan memasukkan sejumlah 1 mL SNEDDS ke dalam 100 mL akuades dengan menggunakan erlenmeyer kemudian diletakkan pada waterbath yang telah diatur suhu mula-mulanya sebesar 25°C . Suhu secara berkala dinaikkan 10°C setiap 5 menit hingga suhu tertinggi yang dapat membuat emulsi menjadi keruh tercapai. Suhu yang dapat mengeruhkan emulsi dicatat sebagai *cloud point*. Pengujian direplikasi sebanyak tiga kali.

3. Hasil

Penentuan batas atas dan batas bawah didasarkan pada studi pustaka yang kemudian di karakterisasi berdasarkan kejernihan (%T) dan *emulsification time* (ET) yang tersaji pada tabel 2. Berdasarkan data hasil penelitian nampak bahwa batas atas dan bawah untuk masing-masing komponen secara berurutan adalah 5-10% untuk *grape seed oil*, 10-15% untuk cremophor RH40, dan 80-85% untuk tween 20. Nilai tersebut kemudian dimasukkan ke dalam *Design Expert* versi 13.0.10 sehingga diperoleh 14 *run* (formula) dengan pendekatan *simplex lattice design*. Data hasil karakterisasi sediaan yang dihasilkan dari ke-14 *run* tersebut tercantum pada tabel 2(b).

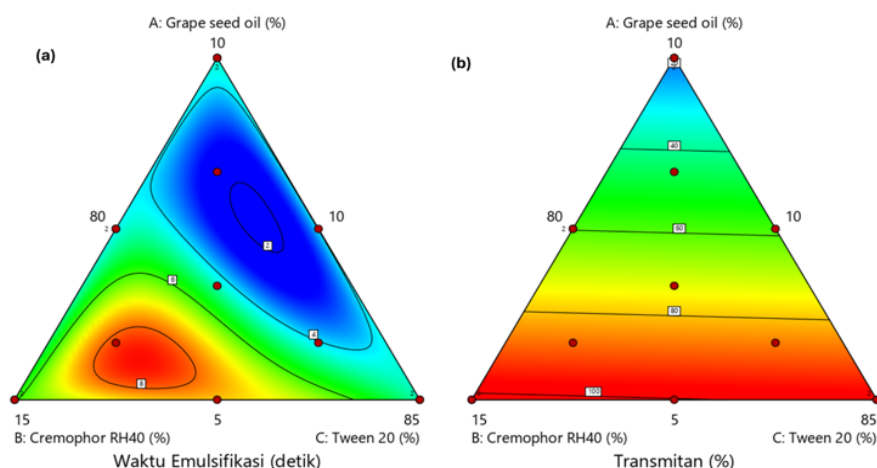
Berdasarkan data pada tabel 2, diketahui bahwa ke 14 *run* menghasilkan emulsi dengan kejernihan (%T) yang berkisar antara 8,06-97,12% dengan nilai tertinggi dihasilkan oleh *run* 2 dan yang terendah dihasilkan oleh *run* 14. Sementara itu, hasil pengujian waktu emulsifikasi menunjukkan jika *run* 11 merupakan sistem yang dapat teremulsifikasi paling cepat dengan waktu 2,69 detik, sedangkan *run* 12 merupakan sistem yang teremulsifikasi paling lambat dengan waktu 8,60 detik.

Data hasil pengujian yang diperoleh kemudian dianalisis lebih lanjut untuk melihat pengaruh dan interaksi yang dihasilkan akibat perubahan konsentrasi *grapeseed oil*, tween 20, dan cremophor RH40 terhadap emulsification time dan kejernihan (%T) sediaan SNEDDS *grapeseed oil*. Analisis pengaruh didasarkan pada model matematis yang dipilih melalui parameter statistik pada menu ANOVA pada *software Design Expert* versi 13.0.10, dengan output analisis ANOVA seperti tampak pada tabel 3. Selain itu, interaksi yang terjadi juga tergambarkan pada contour plot yang tertera pada gambar 1.

Model untuk menjelaskan hubungan antara parameter (y) yang dipengaruhi oleh perubahan konsentrasi *grapeseed oil* (A), cremophor RH40 (B), dan tween 20 (C) dipilih dari enam persamaan matematis yang disediakan oleh *software Design Expert* versi 13.0.10 yaitu *linear*, *quadratic*, *cubic*, *special cubic*, *quartic*, dan *special quartic*. Data pada tabel 3 menunjukkan jika hubungan antara variabel bebas dan waktu emulsifikasi mengikuti persamaan *special quartic*, sementara hubungan antara variabel bebas dan transmitan mengikuti persamaan linear. Selanjutnya, penentuan formula optimum SNEDDS *grapeseed oil* dilakukan menggunakan *software Design Expert* versi 13.0.10 dengan pendekatan numerik dengan hasil yang tertera pada tabel 3. SNEDDS optimum yang dihasilkan kemudian diuji kembali terhadap karakteristik waktu emulsifikasi dan kejernihan (%T)

Tabel 3. Penentuan model matematis hubungan komposisi minyak, campuran surfaktan dengan parameter kejernihan dan waktu emulsifikasi dan formula optimum SNEDDS grape seed oil

Parameter (y)	Model	Persamaan Aktual	Lack of fit	R ²
Emulsification time (detik)	<i>Special Quartic (significant)</i> Nilai p = 0,0277	$y = -1,65424\text{E}+05 \text{ A} - 20205,12863 \text{ B} + 35,04444 \text{ C} + 1,87366\text{E}+05 \text{ AB} + 3,2217\text{E}+05 \text{ AC} + 23396,24938 \text{ BC} - 1,63011\text{E}+05 \text{ ABC} - 3,79577\text{E}+05 \text{ AB (A-B)} + 1,44274\text{E}+005 \text{ AC (A-C)}$	0,2771 (p-value >0,05)	0,9114
Kejernihan (%T)	<i>Linear (significant)</i> Nilai p = 0,0001	$y = -14,50880 \text{ A} + 2,27568 \text{ B} + 1,75052 \text{ C}$	0,1284 (p-value >0,05)	0,8986
Formula optimum (<i>desirability</i> = 0,8938)		Prediksi		
		Komponen	Parameter	
	<i>Grapeseed oil</i>	5,73%	%T	87,12
	Tween 20	84,26%	ET	2,75
	Cremophor RH40	10%		



Gambar 1. Contour plot hubungan antara komposisi grapeseed oil, cremophor RH40, dan tween 20 terhadap parameter (a) waktu emulsifikasi (detik) dan (b) transmittan (%)

dengan hasil yang diperoleh secara berurutan adalah sebesar 5,273 detik dan 99,08%, seperti tersaji pada tabel 4. Hasil pengujian tersebut kemudian dibandingkan dengan hasil prediksi Design Expert untuk memastikan validitas model yang dipilih dalam proses optimasi.

Analisis lebih lanjut dilakukan terhadap ukuran *droplet*, PDI, dan *zeta* potensial yang dilakukan di Laboratorium Pengujian Obat Makanan dan kosmetik, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta untuk memastikan ukuran partikel SNEDDS yang dibuat telah berada dalam rentang nanopartikel atau belum. Hasil rerata data pengujian tersaji pada tabel 4 dan hasil pengujian stabilitas SNEDDS optimum tersaji pada tabel 5.

4. Pembahasan

Berdasarkan hasil pengujian yang terdapat pada tabel 2 diketahui bahwa *grapeseed oil* dengan konsentrasi sebesar 5-10%, tween 20 dengan konsentrasi 80-85%, dan cremophor RH40 dengan konsentrasi 10-15% mampu menghasilkan emulsi jernih dengan nilai %T mendekati 100%. Kejernihan merupakan parameter yang dapat memberikan gambaran terkait keberhasilan pembentukan nanoemulsi. Larutan emulsi yang jernih dengan nilai transmittansi mendekati 100% dapat memberikan gambaran ukuran *droplet* nanometer.¹³

Data pada tabel 2 menunjukkan jika emulsi yang dihasilkan oleh *run* 5, 10, 11, 13, dan 14 kemungkinan menghasilkan emulsi dengan ukuran *droplet* yang besar, dikarenakan oleh nilai transmittannya yang kecil. Selain kejernihan, sediaan SNEDDS dikatakan baik ketika mampu teremulsifikasi kurang dari 1 menit. Hasil pengujian *emulsification time* yang terlihat pada tabel 2 menunjukkan kecepatan membentuk emulsi kurang dari satu menit. Hasil ini menunjukkan bahwa semua formula *run* mampu membentuk emulsi secara spontan setelah kontak langsung dengan cairan, yang sesuai dengan karakteristik SNEDDS yang baik.¹⁴

Data tersebut kemudian dianalisis lebih lanjut dengan menggunakan *Design Expert* untuk mengetahui pengaruh komposisi komponen penyusun SNEDDS terhadap karakteristik kejernihan dan waktu emulsifikasi. Berdasarkan hasil analisis dengan ANOVA yang tersaji pada tabel 3, persamaan linear merupakan persamaan terpilih (*p-value* <0,05) untuk menjelaskan pengaruh ketiga variabel terhadap parameter kejernihan (%T), sedangkan persamaan *special quartic* merupakan persamaan yang terpilih untuk parameter *emulsification time*. Hasil analisis ANOVA yang tersaji pada tabel 3, menunjukkan jika nilai *p-value lack of fit* pada parameter kejernihan tidak signifikan yaitu sebesar 0,1284, sedangkan nilai *R2* menunjukkan jika parameter kejernihan (%T) dan *emulsification time* memiliki hubungan yang baik dengan nilai *R2* sebesar 0,9114 dan 0,8986.

Tabel 4. Karakteristik formula optimum SNEDDS grapeseed oil

Parameter	Nilai Prediksi Software	Nilai observasi (n=3)	PI	
			Low	High
Emulsification time (detik)	4,19	5,273±0,024	2,42	5,90
Kejernihan (%)	97,12	99,08±1,466	77,72	116,52
Ukuran droplet (nm)		13,5±0,3786		
PDI		0,476±0,0287		
Zeta Potensial (mV)		-21,0±0,8083		

Tabel 5. Hasil uji stabilitas fisik formula optimum SNEDDS *grapeseed oil* dengan (a) metode dilusi; (b) metode sentrifugasi; dan (c) metode *freeze-thaw*

a. Metode dilusi				
Medium	Kejernihan (%)			
	Pengenceran 100 kali	Pengenceran 250 kali	Pengenceran 1000 kali	
HCl pH 1,2	99,614 ± 0,2922	100,659 ± 0,3579	99,799 ± 0,4836	
Dapar Fosfat pH 6,8	98,336±0,1696	99,944 ± 1,3116	99,688 ± 0,4787	
Air	99,751± 0,805	99,619 ± 0,767	99,589 ± 0,4007	
b. Metode sentrifugasi				
Medium	Kejernihan (%)			
	Sebelum uji	Sesudah uji		
HCl pH 1,2	99,614 ± 0,2922	99,859 ± 0,5546		
Dapar Fosfat pH 6,8	98,336 ± 0,1696	98,718 ± 0,2902		
Air	99,751 ± 0,805	99,559 ±0,065		
c. Metode freeze-thaw				
Parameter	Hasil observasi		p-value (paired t-test)	
	Sebelum uji	Sesudah uji		
Kejernihan (%T)	99,41±0,2664	99,08±1,4832	0,71	
Waktu emulsifikasi (detik)	5,273±0,1779	5,333±0,1986	0,635	

Berdasarkan hasil analisis ANOVA dapat disimpulkan jika parameter kejernihan (%T) dan emulsification time dapat digunakan dalam proses optimasi.

Hubungan variabel bebas dengan parameter dijelaskan oleh persamaan aktual model. Besarnya koefisien tiap variabel menunjukkan besarnya pengaruh tiap variabel terhadap nilai parameter, sedangkan nilai positif ataupun negatif menggambarkan arah pengaruh yaitu menurunkan atau menaikkan nilai parameter.¹⁵ Berdasarkan data pada tabel 3 tampak bahwa koefisien minyak pada parameter kejernihan merupakan variabel dengan nilai koefisien yang paling tinggi yaitu sebesar -14,50880. Tanda negatif pada nilai koefisien menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi minyak akan dapat menurunkan kejernihan emulsi yang dihasilkan, sedangkan variabel lainnya memiliki pengaruh sebaliknya. Pengaruh ketiga variabel ini dikonfirmasi oleh gambar 1 yang menunjukkan bahwa formula yang memiliki %transmitan paling tinggi atau paling jernih adalah formula yang berada pada area berwarna merah (formula dengan konsentrasi minyak yang paling sedikit). Adanya peningkatan jumlah minyak dalam formulasi SNEDDS akan dapat meningkatkan ukuran droplet emulsi yang dihasilkan dikarenakan jumlah minyak yang harus diemulsifikasikan oleh surfaktan juga semakin tinggi.¹⁶

Hasil analisis untuk parameter waktu emulsifikasi (tabel 3) menunjukkan jika faktor interaksi antara komponen *grapeseed oil* dan cremophor RH40 (**AB(A-B)**) yang berpengaruh paling besar terhadap besarnya waktu emulsifikasi. Namun demikian, jika ditinjau berdasarkan pengaruh dari ketiga komponen

penyusun SNEDDS tanpa menghiraukan faktor interaksi, maka *grapeseed oil* merupakan komponen dengan nilai koefisien yang paling tinggi (koefisien = -1,65424x105). Hal ini berarti fase minyak merupakan komponen yang memiliki pengaruh paling dominan terhadap *emulsification time* yang dihasilkan dibandingkan komponen lainnya. Selain itu, tanda negatif yang terdapat pada nilai koefisien fase minyak menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi fase minyak yang digunakan akan dapat menurunkan nilai parameter waktu emulsifikasi SNEDDS *grapeseed oil*. Pengaruh ketiga variabel ini dikonfirmasi oleh gambar 1 yang menunjukkan bahwa formula yang memiliki nilai *emulsification time* paling tinggi atau secara spontan dapat membentuk emulsi berada pada area berwarna biru (formula dengan konsentrasi minyak yang lebih banyak). Hal ini dapat disebabkan oleh kandungan dari *grapeseed oil* yaitu asam oleat dan asam linoleate yang tergolong ke dalam LCT. *Long Chain Triglycerides* (LCT) yang merupakan suatu asam lemak yang memiliki rantai karbon berjumlah 18. Jenis minyak ini banyak digunakan dalam formulasi nanoemulsi dan dapat menghasilkan droplet dengan ukuran kurang dari 100 nm.¹⁷

Selanjutnya adalah tahap penentuan formula optimum SNEDDS yang dilakukan dengan menggunakan *Design Expert*, dengan cara memasukkan goal dan importance untuk masing-masing parameter yang dioptimasi sesuai dengan target penelitian. Goal untuk variabel komposisi fase minyak (*Grapeseed oil*) dan campuran surfaktan (tween 20 dan cremophor RH40) adalah *in range* karena diharapkan sediaan SNEDDS optimum yang terpilih berada pada range

yang sesuai dengan batas atas dan batas bawah yang telah ditentukan. Nilai *importance* untuk fase minyak (*grapeseed oil*) dan campuran surfaktan (tween 20 dan cremophor RH40) ditentukan pada *level default pada software* yaitu level tiga (+++). Goal dan importance dibuat sama agar dalam menentukan formula optimum SNEDDS, ketiga variabel memiliki kriteria dan kepentingan yang sama besar. Faktor yang mempengaruhi sifat fisik sediaan SNEDDS adalah komponen penyusunnya, sehingga perubahan komposisi *grapeseed oil*, tween 20, dan cremophor RH40 akan mempengaruhi mutu formula optimum SNEDDS. Sedangkan *goal* pada parameter kejernihan (%T) dibuat *maximize* karena diharapkan sediaan nanoemulsi optimum yang terpilih memiliki penampilan yang jernih dengan nilai transmittan yang tinggi. Menurut Wulandari *et al.* (2016) emulsi dengan nilai transmittan yang lebih tinggi dari 90% mengindikasikan keberhasilan terbentuknya emulsi dengan tipe minyak dalam air dengan droplet berukuran nanometer.¹⁸

Nilai *importance* untuk kejernihan ditentukan pada level maksimal pada *software* yaitu level lima (+++++). Kriteria *goal parameter emulsification time* (detik) adalah minimize karena diharapkan sediaan SNEDDS optimum yang terpilih nantinya memiliki kemampuan emulsifikasi yang paling baik. Nilai importance untuk waktu emulsifikasi ditentukan pada level maksimal pada *software* yaitu level lima (+++++). Emulsifikasi secara spontan dapat terjadi ketika sediaan SNEDDS mampu membentuk emulsi tanpa adanya proses pengocokan yang berarti, yang ditandai dengan waktu emulsifikasi yang cepat (kurang dari 1 menit).^{10,14} Kriteria yang telah ditentukan pada masing-masing parameter digunakan untuk menentukan nilai optimum yang dinyatakan oleh nilai desirability. Nilai desirability menunjukkan seberapa terpenuhi atau mendekatinya kriteria karakteristik formula optimum hasil prediksi terhadap titik optimum yang diinginkan. Semakin tinggi nilai *desirability* (mendekati 1), maka semakin baik formula optimum (solution) yang direkomendasikan program dan semakin mampu memenuhi kriteria optimasi 19,20. Hasil optimasi komposisi fase minyak (*grapeseed oil*), campuran surfaktan (tween 20 dan cremophor RH40) pada SNEDDS *grapeseed oil* menghasilkan 5 *solution* formula optimum. *Solution* 1 dipilih sebagai formula optimum karena memiliki nilai *desirability* paling tinggi yaitu 0,864 yang dapat dilihat pada tabel 3. Formula optimum SNEDDS *grapeseed oil* yang terbuat dari 5% *grapeseed oil*, 80% tween 20, dan 10% cremophor RH40 diprediksi akan memiliki kejernihan sebesar 87,18% dan *emulsification time* sebesar 2,75 detik oleh *software Design Expert* 13.0.10.

Berdasarkan data pada tabel 4 terlihat bahwa SNEDDS *grapeseed oil* optimum menghasilkan nanoemulsi yang

jernih dengan %T sebesar $99,08 \pm 1,47\%$ seperti tertera pada tabel 4, yang mengindikasikan ukuran droplet-nya berukuran nanometer. Hasil pengujian waktu emulsifikasi pada SNEDDS *grapeseed oil* optimum, menunjukkan bahwa sistem dapat membentuk nanoemulsi yang jernih dalam waktu $5,27 \pm 0,02$ detik. Hal ini menunjukkan bahwa SNEDDS *grapeseed oil* dapat secara spontan membentuk nanoemulsi ketika tercampur dengan air. Kedua hasil ini menandakan bahwa nilai observasi parameter kejernihan (%T) dan *emulsification time* (detik) sudah berada di dalam rentang *prediction interval* (PI), sehingga *software Design Expert* versi 13.0.10. dikatakan mampu memprediksi formula optimum dan parameter fisiknya dengan baik. Penelitian kemudian dilanjutkan dengan pengukuran ukuran droplet emulsi yang dihasilkan dengan menggunakan PSA.

Pengujian ukuran droplet bertujuan untuk memastikan tidak hanya secara kualitatif namun secara kuantitatif droplet yang terbentuk dari sistem nanopartikel. Adapun rerata ukuran droplet SNEDDS optimum *grapeseed oil* yang diperoleh adalah 13,53 nm, seperti tampak pada tabel 4. Hal ini menunjukkan bahwa *droplet* yang dihasilkan dari SNEDDS optimum masuk ke dalam kategori nanometer. Selain ukuran partikel, besarnya nilai PDI menjadi salah satu tolak ukur baik atau tidaknya nanoemulsi yang dihasilkan.

Berdasarkan nilai PDI formula optimum, terlihat bahwa sistem nanoemulsi memiliki ukuran *droplet* yang cukup seragam yaitu dengan nilai PDI sebesar 0,476 seperti tampak pada tabel 4. Nilai indeks polidispersitas sebesar 0,3–0,7 menunjukkan bahwa ukuran partikel bersifat polidispersi atau dengan kata lain partikel memiliki ukuran yang seragam, namun memiliki bentuk yang berbeda dan distribusi partikel yang lebar. Berdasarkan nilai yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa hasil nilai PDI yang didapat masuk ke dalam kategori nilai PDI yang bersifat polidispersitas, dengan ukuran partikel yang dihasilkan seragam dan distribusi partikel sempit.²¹

Berdasarkan data pada tabel 4 tampak bahwa sistem yang dihasilkan memiliki nilai rerata *zeta* potensial sebesar -21,0 mV. Tingginya nilai *zeta* potensial (negatif atau positif) dapat menjadi tolak ukur stabil atau tidaknya suatu sistem dispersi.¹⁴ Nilai potensial yang lebih dari 30 mV menunjukkan bahwa sediaan memiliki stabilitas elektrostatis yang baik. Pada sistem tersebut gaya tolak-menolak antar partikel tinggi, sehingga mencegah terjadinya agregasi antar partikel. Oleh karena itu, formula optimum diduga akan memiliki stabilitas elektrostatis yang baik atau tidak mudah mengalami flokulasi dalam masa penyimpanan.⁷ Untuk memastikan stabilitas SNEDDS optimum yang dihasilkan, maka penelitian dilanjutkan

dengan pengujian stabilitas fisik sistem dengan pendekatan dilusi, sentrifugasi, dan juga *freeze-thaw cycle*.

Uji dilusi dilakukan untuk mengetahui ketahanan emulsi yang dihasilkan SNEDDS berdasarkan tingkat kejernihan dan tidak adanya endapan setelah SNEDDS diencerkan dalam akuades, dapar HCl pH 1,2 (mencerminkan pH lambung), dan dapar fosfat pH 6,8 (mencerminkan pH usus) pada volume yang ditentukan.²² Hasil pengujian menunjukkan jika tidak terdapat perbedaan nilai parameter yang bermakna dengan adanya penambahan volume media dilusi. Secara umum adanya peningkatan volume pelarut pada setiap media dapat menurunkan kekeruhan pada hasil emulsifikasi SNEDDS dan meningkatkan kejernihan, serupa dengan hasil penelitian Yong *et al.* (2017). Selain itu, data pada tabel 5 menunjukkan jika terdapat perbedaan nilai kejernihan (%T) pada hasil emulsifikasi SNEDDS dalam media akuades, dapar HCl pH 1,2, dan dapar fosfat pH 6,8. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya perbedaan pH dari ketiga media tersebut. Yong *et al.* (2017) menyebutkan bahwa pH dengan nilai yang lebih rendah lebih cenderung menghasilkan ukuran *droplet* emulsi yang lebih kecil, sehingga dapat menghasilkan emulsi dengan kejernihan (%T) yang baik yaitu mendekati 100%.

Uji sentrifugasi dilakukan untuk mengevaluasi pengendapan yang terjadi pada nanoemulsi yang terbentuk setelah emulsifikasi. Tujuan dari uji ini adalah untuk menilai kestabilan nanoemulsi yang terbentuk akibat pengadukan yang diberikan. Berdasarkan hasil yang tertera pada tabel 5 uji sentrifugasi menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan terhadap nilai kejernihan (%T) pada media akuades, dapar air, HCl 1,2 dan dapar fosfat 6,8. Hasil ini menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan pada data dengan volume pengenceran dari masing-masing media. Hal ini sesuai dengan penelitian Martien *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa perbedaan kejernihan pada uji dilusi dan uji sentrifugasi pada SNEDDS terjadi karena proses sentrifugasi menyebabkan partikel yang lebih besar atau yang tergumpal akan terpisah dan terkumpul di bagian bawah tabung sentrifuge sehingga akan menyebabkan larutan menjadi lebih jernih.

Uji *freeze thaw* dilakukan bertujuan untuk melihat ketahanan formula optimum SNEDDS grape seed oil akibat dari perubahan suhu penyimpanan yang berbeda. Uji *freeze thaw* mensimulasikan kondisi yang mungkin terjadi selama penyimpanan dan transportasi, yang menyebabkan SNEDDS dapat mengalami perubahan fisik dan kimia akibat perubahan suhu.²³ Hasil pengujian *freeze thaw* dapat dilihat pada tabel 5. Penurunan suhu pada proses *freeze thaw*

cycle akan menyebabkan pengkristalan pada fase minyak. Pengkristalan ini akan menyebabkan ikatan surfaktan dengan minyak terlepas. Hal ini akan menyebabkan rusaknya stabilitas SNEDDS dengan adanya pemisahan antar campuran.²⁴ Selain itu, hasil pengujian paired-samples t-test menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan antara nilai parameter uji sebelum dan sesudah pengujian stabilitas, yang ditandai dengan semua hasil perbandingan memiliki nilai *p-value* yang lebih besar dari 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa SNEDDS *grape seed oil* optimum memiliki stabilitas yang baik terhadap perubahan suhu. Uji cloud point dilakukan untuk melihat SNEDDS dalam fase air mengalami kekeruhan pada suhu tertentu. *Cloud point* diukur sebagai suhu di mana tiba-tiba muncul kekeruhan seperti yang terlihat secara visual.²⁵ Berdasarkan pengujian *cloud point* menunjukkan bahwa secara visual emulsi tidak mengalami kekeruhan pada suhu di bawah 80°C. Pada suhu 80°C SNEDDS *grapeseed oil* mulai mengalami pemisahan fase yang ditandai dengan mulai keruhnya emulsi yang dihasilkan.²⁶

5. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa *Grapeseed oil* dapat dibuat menjadi sediaan SNEDDS yang memiliki karakteristik optimum dengan komposisi 5,73% *grapeseed oil*, 10% cremophor RH 40, dan 84,26% tween 20. SNEDDS *grapeseed oil* optimum yang dihasilkan dapat teremulsifikasi dalam 5,32 detik, dengan kejernihan sebesar 99,44%, ukuran *droplet* 13,5 nm, PDI sebesar 0,476, *zeta potensial* sebesar -21,0 mV, dan stabil terhadap dilusi, suhu (*freeze thaw*), serta sentrifugasi, dengan *cloud point* pada suhu 80 °C.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa data yang dipublikasikan pada naskah ini tidak ada konflik kepentingan terhadap pihak manapun.

Daftar Pustaka

1. Baydar NG, Akkurt M. Oil content and oil quality properties of some grape seeds. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 2001;25(3).
2. Seçilmi H, Bardakç B. Determination of Fatty Acid, C, H, N and Trace Element Composition in Grape Seed by GC/MS, FTIR, Elemental Analyzer and ICP/OES. *SDU Journal of Science*. 2011;6(2).
3. Lacatusu I, Badea N, Badea G, Oprea O, Mihaila MA, Kaya DA, et al. Lipid nanocarriers based on natural oils with high activity against oxygen free radicals and tumor cell proliferation. *Materials Science and Engineering C*. 2015;56.
4. Garavaglia J, Markoski MM, Oliveira A, Marcadenti A.

- Grape seed oil compounds: Biological and chemical actions for health. Vol. 9, Nutrition and Metabolic Insights. 2016.
5. Fu JY, Che HL, Tan DMY, Teng KT. Bioavailability of tocotrienols: Evidence in human studies. Vol. 11, Nutrition and Metabolism. 2014.
 6. Gupta PK, Pandit JK, Kumar A, Swaroop P, Gupta S. Pharmaceutical Nanotechnology Novel Nanoemulsion – High Energy Emulsification Preparation, Evaluation and Application the Pharma Research, a Journal. Ph Res The Pharma Research (T Ph Res). 2010;
 7. Chabib L. Formulasi Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Turunan Kurkumin Gamavuton Sebagai Kandidat Obat Rheumatoid Arthritis : Karakterisasi Surfaktan. Semnas-Ohi. 2016;(April 2016).
 8. Chabib L, Ikawati Z, Martien R, Ismail H, Wahyudi MDP, Arimurni DA, et al. Rheumatoid arthritis and the challenge of using nanoparticles for its treatment. MATEC Web of Conferences. 2018;154:1–7.
 9. Abdassah M. Nanopartikel dengan gelasi ionik. Jurnal Farmaka. 2017;15(1).
 10. Huda N, Wahyuningsih I. Karakterisasi Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Minyak Buah Merah (Pandanus conoideus Lam.). JURNAL FARMASI DAN ILMU KEFARMASIAN INDONESIA. 2018;3(2).
 11. Vatsraj S, Chauhan K, Pathak H. Formulation of a Novel Nanoemulsion System for Enhanced Solubility of a Sparingly Water Soluble Antibiotic , Clarithromycin. 2014;2014.
 12. Indratmoko S, . S, Issusilaningtyas E. Formulasi, Karakterisasi Dan Evaluasi Self-Nano Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Ekstrak Etanol Kulit Buah Nanas Sebagai Antibakteri Streptococcus Mutans. Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi. 2021 Jun 30 [cited 2024 Mar 8];11(1):12–22.
 13. Rathore C, Hemrajani C, Sharma AK, Gupta PK, Jha NK, Aljabali AAA, et al. Self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) mediated improved oral bioavailability of thymoquinone: optimization, characterization, pharmacokinetic, and hepatotoxicity studies. Drug Deliv Transl Res. 2023;13(1).
 14. Tungadi R, Thomas NA, Gobel WG Van. Formulasi, Karakterisasi, Dan Evaluasi Drops Liquid Self Nano-Emulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) Astaxanthin. Indonesian Journal of Pharmaceutical Education. 2021;1(3).
 15. Sopyan I, Zuhrotun A, Hidayat Rifky I. Design-Expert Sebagai Alat Optimasi Formulasi Sediaan Farmasi. Majalah Farmaksetika. 2021;6(1):99–120.
 16. Arora R, Aggarwal G, Harikumar SL, Kaur K. Nanoemulsion Based Hydrogel for Enhanced Transdermal Delivery of Ketoprofen. Advances in Pharmaceutics. 2014;2014:1–12.
 17. Yuliani SH, Hartini M, Pudyastuti B, Istyastono EP. Comparison of Physical Stability Properties of Pomegranate Seed Oil Nanoemulsion Dosage Forms With Long-Chain Triglyceride and Medium-Chain Triglyceride As The Oil Phase. Traditional Medicine Journal. 2016;21(2):94–8.
 18. Wulandari E, Alverina A, Martien. R. SNEDDS (Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System) Formulation Of β -Carotene In Olive Oil (Olea europaea). Int J Adv Res (Indore). 2016 Nov 30;4(11):1031–43.
 19. Montgomery DC. Montgomery: Design and Analysis of Experiments. John Willy & Sons. 2017.
 20. Rahmawanty D, Sariah, Sari DI. Pengaruh Penggunaan Kombinasi Surfaktan Nonionik terhadap Stabilitas Fisik Sediaan Nanoemulsi Minyak Ikan Haruan (Channa striata). Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah. 2021;6(April).
 21. Syukri Y, Kholidah Z, Lutfi C. Formulasi dan Studi Stabilitas Self-Nano Emulsifying Propolis menggunakan Minyak Kesturi , Cremophor RH 40 dan PEG 400 Sebagai Pembawa. Jurnal Sains Farmasi dan Klimis. 2019;6(3).
 22. Priani SE, Somantri SY, Aryani R. Formulasi dan Karakterisasi SNEDDS (Self Nanoemulsifying Drug Delivery System) Mengandung Minyak Jintan Hitam dan Minyak Zaitun. Jurnal Sains Farmasi & Klinis. 2020;7(1).
 23. Anton N, Vandamme TF. Nano-emulsions and micro-emulsions: Clarifications of the critical differences. Pharm Res [Internet]. 2011 May 6 [cited 2024 Mar 8];28(5):978–85. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11095-010-0309-1>
 24. Dickinson KL, Wiegand UK, Thijssen JHJ. Soft meets hard -- how does freeze-thaw cycling affect the microstructure of particle-stabilised emulsions? 2019 Feb 22 [cited 2024 Mar 8]; Available from: <https://arxiv.org/abs/1902.08531v1>
 25. Avachat AM, Patel VG. Self nanoemulsifying drug delivery system of stabilized ellagic acid-phospholipid complex with improved dissolution and permeability. Saudi Pharmaceutical Journal. 2015;23(3):276–89.
 26. Avachat AM, Patel VG. Self nanoemulsifying drug delivery system of stabilized ellagic acid-phospholipid complex with improved dissolution and permeability. Saudi Pharmaceutical Journal. 2015;23(3).