

The Development of Nano-mist Spray Propolis as Antioxidant

Ine Suharyani^{1,2*}, Lela Sulastr¹, Yayan Rizikiyan¹, Nasrul Wathoni², Cecep Suhandi², Lusy Noviani³, Yuni Rahmasari¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Ahmad Dahlan Cirebon, Cirebon, Jawa Barat, Indonesia

²Departemen Farmasetika dan Teknologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Jawa Barat, Indonesia

³Departemen Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jakarta, Indonesia

Abstract

Propolis is a lipid-based compound from honeybees composed of plant wax, resin, and pollen. Due to its poor water solubility, its application is limited to lipid-based formulations with low bioavailability. This study aimed to develop a water-based propolis nano-mist spray with improved dispersion and evaluate its antioxidant activity. The nano-mist formulation was prepared using soy lecithin and Tween 80 in a phosphate buffer base. Evaluations included organoleptic characteristics, pH, particle size, zeta potential, and antioxidant activity by DPPH method. The propolis extract contained flavonoids, alkaloids, and tannins. The resulting spray showed a light brown color, a pH of 6.87 ± 0.03 , particle size of 272.13 ± 4.25 nm, and zeta potential of -0.433 ± 0.35 mV. Antioxidant testing revealed moderate activity with an IC_{50} value of 83.63 ± 11.88 ppm. This study supports the potential of nano-mist spray as a promising delivery system for propolis with antioxidant properties suitable for cosmetic and pharmaceutical applications.

Keywords: antioxidant, DPPH method, nano-mist spray, particle size, propolis

Pengembangan Propolis dalam Sediaan *Nano-mist Spray* sebagai Antioksidan

Abstrak

Propolis merupakan senyawa lipid dari lebah yang mengandung lilin tumbuhan, campuran resin, dan serbuk sari. Propolis sulit bercampur dengan air, sehingga penggunaannya terbatas pada formulasi berbasis lipid dengan bioavailabilitas rendah. Pembuatan propolis *nano-mist spray* diharapkan akan menghasilkan sediaan propolis yang terdispersi secara homogen dalam basis air. Tujuan penelitian ini adalah memformulasikan propolis dalam sediaan *nano-mist spray* dan menganalisis aktivitas antioksidannya. Tahap penelitian terdiri dari formulasi *nano-mist spray* menggunakan lesitin kedelai dan Tween 80 dalam air. Penelitian dilanjutkan dengan evaluasi sediaan yang meliputi pengamatan organoleptik, pengukuran pH, ukuran partikel, dan potensial zeta. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan *nano-mist spray* propolis (NMSP) dengan menggunakan metode DPPH. Ekstrak propolis yang diperoleh mengandung flavonoid, alkaloid, dan tanin. Semprotan *nano-mist* yang dihasilkan memiliki warna coklat muda, ukuran partikel $272,13 \pm 4,25$ nm, potensial zeta $-0,433 \pm 0,35$ mV, dan pH $6,87 \pm 0,03$. Sediaan ini mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar $83,63 \pm 11,88$ ppm (kategori kuat). Penelitian ini memberikan dasar untuk mengembangkan formulasi propolis dalam bentuk *nano-mist spray* yang dapat digunakan sebagai sumber antioksidan yang dapat diaplikasikan pada kosmetik dan sediaan lainnya.

Kata Kunci: antioksidan, metode DPPH, *nano-mist spray*, ukuran partikel, propolis

Article History:

Submitted 9 January 2024

Revised 15 May 2024

Accepted 15 July 2024

Published 30 June 2025

*Corresponding author:

inesuharyani25@gmail.com

Citation:

Suharni, I.; Sulastr¹, L.; Rizikiyan, Y.; Wathoni, N.; Suhandi, C.; et al. The Development of Nano-mist Spray Propolis as Antioxidant. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 2025: 12 (2), 252-258.

1. Pendahuluan

Propolis merupakan suatu zat lengket yang diproduksi oleh lebah madu. Propolis berasal dari sekresi *balsamic* dari bunga, cabang, cangkang, daun, kulit kayu, dan kuncup berbagai tanaman yang kemudian diekstrak dan diubah oleh lebah madu (*Apis mellifera*) dengan bantuan sekresi saliva dan lilin lebah menjadi yang lengket yang disebut propolis.¹

Propolis merupakan suatu zat lengket yang diproduksi oleh lebah madu. Propolis berasal dari sekresi *balsamic* dari bunga, cabang, cangkang, daun, kulit kayu, dan kuncup berbagai tanaman yang kemudian diekstrak dan diubah oleh lebah madu (*Apis mellifera*) dengan bantuan sekresi saliva dan lilin lebah menjadi yang lengket yang disebut propolis.¹ Fungsi propolis pada dasarnya adalah untuk melindungi sarang lebah dari kelembaban dan predator, menutup retakan, dan menjaga suhu bagian dalam sarang tetap hangat. Namun, bagi manusia propolis berfungsi sebagai obat tradisional yang telah digunakan sejak zaman kuno. Literatur membuktikan bahwa propolis memiliki beberapa aktivitas farmakologi, termasuk antibakteri, antiinflamasi, antivirus, antiprotozoa, antijamur, antikanker, antioksidan, antitumor, dan aktivitas antimutagenik.¹⁻³ Aktivitas antioksidan dari propolis diberikan oleh senyawa polifenol yang terkandung di dalamnya.⁴ Penelitian sebelumnya telah melakukan pengujian aktivitas antioksidan ekstrak propolis dan didapatkan nilai IC₅₀ 139,47 ppm, sehingga propolis memiliki potensi antioksidan.⁵ Propolis memiliki titik leleh pada 60°C hingga 70°C, tetapi ada beberapa yang meleleh pada 100°C.^{6,7}

Sifat fisika ini menyebabkan propolis sulit diformulasikan dalam sediaan yang berbasis air sehingga menghambat penggunaannya dalam berbagai sediaan farmasi. Sistem dispersi padat menjadi salah satu solusi untuk menjawab masalah ini, namun perlu beberapa studi untuk mendapatkan propolis bentuk nano melalui penggunaan beberapa surfaktan maupun agen pembentuk nano lainnya. Beberapa diantaranya adalah Tween 80 yang mampu meningkatkan daya pembasahan zat yang sukar larut dalam air sehingga mampu menurunkan ukuran partikel menjadi berukuran nano.^{8,9}

Propolis mengandung 50% resin tumbuhan, 30% lilin, 10% minyak atsiri, 5% serbuk sari, dan 5% senyawa organik lainnya,² sehingga bersifat keras, lengket dan berada dalam bentuk lemak padat pada suhu kamar sementara lunak pada suhu tinggi.^{6,7} Hal ini menyebabkan propolis sulit bercampur dengan air sehingga sulit untuk diformulasikan dalam sediaan yang cair. Namun adanya pilihan surfaktan memberikan jawaban sehingga propolis dapat dibuat dalam bentuk

sistem dispersi padat yang mampu mendistribusikan molekul propolis secara merata dalam air. Stabilitas sistem dispersi merupakan tantangan terbesar, karena beberapa sediaan dalam bentuk dispersi mudah mengendap dan sulit terdispersi kembali. Beberapa studi menunjukkan penggunaan berbagai jenis surfaktan yang dikombinasikan dengan ko-surfaktan maupun stabilizer berhasil dibuat dan menghasilkan sediaan dispersi padat dalam ukuran nano, lebih lambat mengendap, namun mudah terdispersi kembali.^{8,9} Peningkatan kelarutan suatu zat dalam air, selain memudahkan formulasi, juga meningkatkan ketersediaan zat aktif pada tempat target kerja obat. Laju pelepasan obat dalam bentuk nano meningkat dibandingkan dengan bentuk asalnya.^{8,10}

Sistem *nano* memiliki beberapa keuntungan seperti dapat menghidrasi kulit secara *in vivo*, meningkatkan bioavailabilitas bahan aktif pada kulit dan skin targeting dan memberikan efek *emollient* pada kulit.¹¹ Penelitian ini dilakukan untuk perbaikan formulasi propolis, sehingga propolis dapat didispersikan dengan bentuk nanopartikel dalam sediaan yang berbasis air serta menganalisis aktivitas antioksidan dari sediaan tersebut.

2. Bahan dan Metode

2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain seperangkat alat gelas, Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu UV Mini-60), *magnetic stirrer-hot plate*, timbangan analitik (OHAUS-Jerman), penangas air (HH-S6), *rotary evaporator* (IKA RV 10 Basic), pH meter (Metler Toledo-F20), jangka sorong (Krisbow), *Particle Size Analyzer* (Horiba).

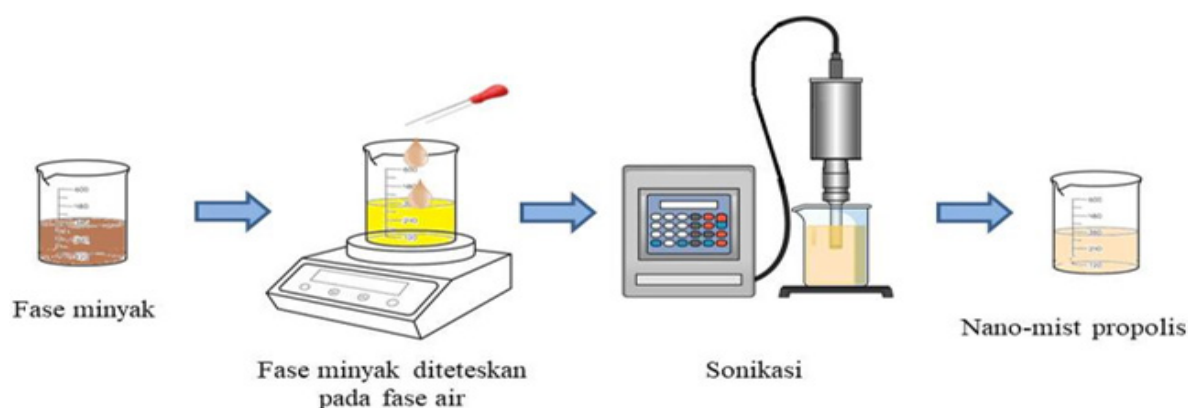
2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah propolis (*Apis mellifera*), akuades (PT. Pratama Sains Global), etanol absolut p.a (PT. Merck), *soya lecithin*, *castor oil* (PT. Pratama Sains Global), Tween 80 (PT. Bratachem), Vitamin C p.a (PT. Merck), larutan buffer fosfat (PT. Merck), dan DPPH p.a (Himedia).

2.3. Prosedur

2.3.1. Ekstraksi

Propolis diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol absolut. Sebanyak 100 g propolis ditimbang, lalu ditambah 1 liter etanol absolut hingga terendam sempurna lalu diaduk dengan menggunakan *cycling vibrator*. Setelah 24 jam, diambil filtratnya, dan lakukan maserasi ulang. Prosedur



Gambar 1. Tahapan formulasi nano-mist spray propolis

ini dilakukan sebanyak 3 kali agar dapat dipastikan propolis terekstraksi dengan sempurna. Seluruh filtrat dikumpulkan dan disaring. Filtrat kemudian dipisahkan dari pelarutnya dengan cara penguapan dalam *rotary evaporator* pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kental. Rendemen (R) yang didapatkan dengan persamaan berikut:¹²

$$\% R = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia yang digunakan}} \times 100\% \dots (1)$$

2.3.2. Formulasi *Nano-Mist Spray Propolis* (NMSP)

Fase minyak berupa propolis 0,9 gram dicampurkan dengan 0,24 gram lesitin dengan menggunakan pengaduk magnetik. Untuk fase air menggunakan 0,96 gram Tween 80 dan 16,8 mL larutan buffer fosfat (10 mM; pH=7) yang diaduk menggunakan pengaduk magnetik sambil dipanaskan pada suhu 70°C. Fase minyak ditambahkan tetes demi tetes sambil diaduk menggunakan pengaduk magnetik hingga diperoleh nano-propolis. Pengecilan ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan sonikator *probe* selama sekitar 20 menit (Gambar 1).^{13,14} Konsentrasi untuk masing-masing bahan dapat dilihat pada Tabel 1.

2.3.3. Evaluasi Sediaan *Nano mist-spray* Propolis

Uji Organoleptik

Uji organoleptik ini dilakukan dengan mengamati parameter bentuk, bau dan warna sediaan.¹⁵

Pengukuran pH

Tingkat keasaman sediaan diukur menggunakan pH-

meter (Mettler Toledo). Elektroda dicelupkan ke dalam sediaan hingga terendam dan pH yang terlihat pada layar dicatat. pH diukur sebanyak 3 kali.^{12,16,17}

Uji Homogenitas

Uji homogenitas dilakukan dengan menyemprotkan spray propolis keatas kaca objek lalu ditutup dengan kaca objek lainnya dan diamati. Jika pada kaca objek terlihat tidak ada butiran-butiran kasar, maka dikatakan homogen.^{17,18}

Penentuan Ukuran Partikel dan Potensial Zeta

Ukuran partikel sediaan ini diukur menggunakan *particle size analyzer* (PSA) Horiba Scientific. Sampel diencerkan dengan aqua pro injeksi dan dimasukkan ke dalam sample holder, kemudian dilakukan pengukuran ukuran partikel dan potensial zeta.¹⁹

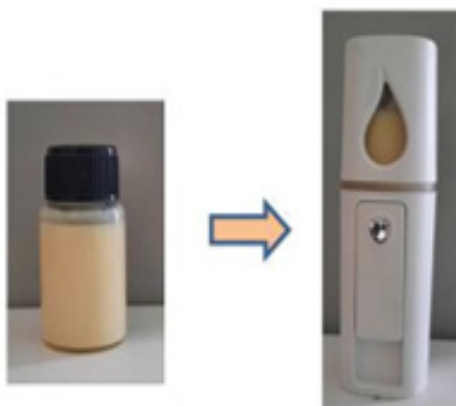
Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan diuji dengan menggunakan pereaksi 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) 40 ppm dan baku pembanding Vitamin C yang diencerkan hingga diperoleh gradien konsentrasi 2,4,6,8 dan 10 ppm. Sediaan diencerkan sehingga diperoleh konsentrasi 5, 10, 15, 20 dan 25 ppm. Sebanyak 2 ml larutan DPPH dicampurkan dengan masing-masing larutan sampel maupun baku sebanyak 2 mL, lalu simpan di tempat yang gelap dan diinkubasi. Selanjutnya, ukur masing-masing serapannya dengan menggunakan spektrofotometri uv-vis pada $\lambda_{\text{maks}} = 513 \text{ nm}$.²⁰⁻²²

Nilai absorbansi yang diperoleh dimasukkan ke dalam

Tabel 1. Formulasi nano mist-spray propolis

Bahan	Jumlah
Ekstrak propolis	0,96 gram
Lesitin	0,24 gram
Tween 80	0,96 gram
Dapar fosfat pH 7	16,8 mL



Gambar 2. Nano-mist spray propolis

persamaan (2), dan dibuat kurva baku konsentrasi (ppm) terhadap % inhibisi.²²

$$\%Inhibisi = \frac{\text{serapan blanko} - \text{serapan sampel}}{\text{serapan blanko}} \dots (2)$$

Penentuan nilai IC_{50} dengan memasukkan hasil % inhibisi ke persamaan regresi linear untuk mendapatkan nilai IC_{50} dengan persamaan berikut:^{20,22}

$$y = mx + C \dots (3)$$

Keterangan:

Y = Persen penangkapan radikal sampel

x = konsentrasi sampel

C = Intersep, yaitu titik potong kurva pada sumbu y

m = Slope/kemiringan kurva

Hasil dari persamaan ini digunakan untuk menghitung konsentrasi ekstrak dengan nilai 50 % DPPH (nilai IC_{50}).

Jika $IC_{50} < 50$ ppm, maka sampel tersebut memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. Bila nilai IC_{50} antara 50 – 100 ppm, aktivitasnya kuat; bila IC_{50} antara 100 – 150 ppm, aktivitasnya lemah. Aktivitasnya lemah jika $IC_{50} = 150-200$, dan sangat lemah jika lebih dari 200 ppm.²³

3. Hasil

Pada formulasi *nano-mist spray* propolis. Lipid memiliki pengaruh yang sangat penting untuk penjeratan propolis. Pada formulasi NMSP, dihasilkan sediaan cairan keruh berwarna coklat muda (Gambar 2). Propolis yang awalnya berwarna coklat tua, ketika

diformulasikan dalam bentuk sediaan nano terjerat di rongga bagian dalam sistem *nano-structured lipid carrier* dan terdispersi dalam pembawa air.^{12,24}

Tween 80 adalah salah satu surfaktan nonionik yang bersifat hidrofilik. Surfaktan ini digunakan untuk menurunkan ukuran globul suatu nano-emulsi.²⁵ Lesitin soya, suatu lipid cair sebagai ko-surfaktan yang membentuk struktur nano yang stabil, sehingga kombinasi Tween 80 dan lesitin dapat digunakan sebagai pembawa untuk propolis yang berbentuk lemak semi-padat. Nano-partikel yang dihasilkan berukuran 272,13 + 4,25 nm (Tabel 2).

Selain pengujian ukuran partikel, dilakukan pengukuran zeta potensial. Zeta potensial merupakan parameter terhadap muatan listrik yang anda antara partikel koloid. Nilai zeta potensial yang semakin besar dapat mencegah terjadinya flokulasi.²⁶ Nilai zeta potensial ± 60 mV memiliki stabilitas yang sangat baik.²⁷

Berdasarkan hasil pengujian, diperoleh nilai potensial zeta nanopartikel tersebut adalah $-0,433 \pm 0,35$ mV (Tabel 2). Jika nanopartikel yang mempunyai nilai potensial zeta kurang dari – 30 mV dan lebih dari +30 mV, maka nanopartikel tersebut memiliki stabilitas yang lebih tinggi (Juliantoni et al. 2020). Nilai zeta potensial yang didapatkan sudah memenuhi kriteria kestabilan sediaan nanopartikel. Evaluasi lain yang dilakukan yaitu pengujian pH yang menunjukkan bahwa *nano mist spray propolis* (NSP) memiliki pH berkisar $6,87 \pm 0,03$ (Tabel 3).

Aktivitas antioksidan diuji dengan menggunakan

Tabel 2. Hasil pengukuran ukuran partikel NMSP

Pengukuran ke-	Ukuran partikel (nm)	Potensial Zeta (mV)
1	270,3	-0,4
2	269,1	-0,1
3	277,0	-0,8
Rata-rata	272,13 ± 4,25	-0,433 ± 0,35

Tabel 3. Hasil pengukuran pH NMSP

Pengukuran ke-	pH	Rata-rata
1	6,85	6,87 ± 0,03
2	6,86	
3	6,91	

metode DPPH (2,2 *diphenyl-1-picrylhydrazyl*). Pada metode ini, DPPH berperan sebagai radikal bebas, dan sampel dianalisis berdasarkan kemampuan peredamannya terhadap radikal bebas ini.⁴ Hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode ini adalah nilai *inhibition concentration* (IC₅₀), yang menunjukkan adanya tingkat aktivitas antioksidan dari sampel.²⁸ Sediaan NMSP yang dibuat memiliki IC₅₀ sebesar 83,63 ± 11,88 ppm dan termasuk dalam kategori kuat (Tabel 4). Hasil ini menjadi dasar bahwa sediaan ini dapat digunakan sebagai antioksidan.

4. Pembahasan

Ekstrak propolis dapat yang diformulasikan dalam sediaan nano-mist spray dengan basis air. *Nano-mist spray* propolis berbentuk cairan keruh berwarna coklat muda. Propolis yang berwarna coklat tua, ketika diformulasikan dalam bentuk sediaan nano menjadi coklat muda. Hal ini disebabkan karena propolis terjerat dalam bagian dalam sistem *nanostructured lipid carrier* (NLC) dan terdispersi dalam pembawa air.

Faktor utama yang berkontribusi pada stabilitas koloid adalah kehadiran beban permukaan pada partikel. Semakin tinggi beban permukaan partikel koloid, semakin stabil koloid menjadi dan semakin lama partikelnya bertahan. Ukuran potensi zeta terkait dengan kepadatan muatan permukaan partikel. Jika nilai potensial zeta ± 20 mV, maka nanopartikel tersebut hanya stabil pada jangka waktu pendek, sementara potensial jika zeta sekitar ± 5 mV, maka nanopartikel tersebut akan memiliki kecenderungan untuk beragregasi dengan cepat.^{27,29}

Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Metode ini dapat menentukan aktivitas antioksidan suatu sampel berdasarkan kemampuannya dalam menangkalkan radikal DPPH.⁴ Nilai *half-inhibition concentration* (IC₅₀) yaitu parameter yang digunakan untuk menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dari sampel uji.²⁸ Sebagai pembanding, digunakan vitamin C karena berfungsi

sebagai antioksidan sekunder yaitu menangkap radikal bebas dan memiliki aktivitas antioksidan sangat tinggi. Vitamin C mempunyai gugus hidroksi bebas yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas.³⁰

Perhitungan persen inhibisi dapat dilakukan setelah mendapatkan hasil absorbansi. Persamaan regresi yang dibuat dalam bentuk kurva hubungan antara konsentrasi sampel dan aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi.³¹ Semakin kecil nilai IC₅₀ maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi.²⁴ Nilai IC₅₀ untuk vitamin C yaitu 35,81±0,32 yang menunjukkan bahwa vitamin C memiliki kekuatan antioksidan kuat. Selanjutnya, sediaan nano-mist spray propolis memiliki IC₅₀ 83,63 ± 11,88 ppm, termasuk dalam kategori sedang. Berdasarkan nilai IC₅₀, sediaan ini dapat digunakan sebagai antioksidan pada sediaan kosmetik, misalnya pada penelitian ini dibuat dalam bentuk nano-mist spray yang dapat diaplikasikan ketika malam hari untuk menjaga kesehatan kulit wajah. Dengan demikian, propolis dapat diformulasikan dalam bentuk sediaan nano-mist spray dengan aktivitas antioksidan yang kuat. Nano-mist spray dengan kandungan nano-propolis berpotensi untuk dikembangkan dalam sediaan kosmetik yang berbasis air karena memiliki ukuran partikel nano dengan pH yang memenuhi syarat sediaan kulit serta adanya aktivitas antioksidan.

5. Simpulan

Ekstrak propolis dapat yang diformulasikan dalam sediaan nano-mist spray dengan basis air. *Nano-mist spray* propolis berbentuk cairan keruh berwarna coklat pucat. Sediaan ini memiliki pH rata-rata 6,87 ± 0,03 serta aktivitas antioksidan yang dinyatakan dengan IC₅₀ rata-rata 83,63 ± 11,88 ppm (kategori kuat). Hasil dari penelitian ini memberikan dasar bagi penggunaan propolis dalam sediaan yang berbasis air, misalnya untuk digunakan sebagai kosmetik maupun sediaan topikal yang diharapkan memberikan aktivitas antioksidannya terhadap kulit.

Tabel 4. Hasil pengujian aktivitas antioksidan NMSP

Pengukuran ke-	IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata (ppm)
1	94,53	83,63 ± 11,88
2	85,42	
3	70,96	

Ucapan terima kasih

Penelitian ini didukung dengan pendanaan oleh Kementerian Pendidikan Tinggi, Sains, dan Teknologi Republik Indonesia, dalam Skema Penelitian Dosen Pemula (PDP) dengan Nomor Kontrak 686/II.3.UMMADA/F/2025.

Konflik Kepentingan

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

Daftar Pustaka

1. Elnakady YA, Rushdi AI, Franke R, Abutaha N, Ebaid H, Baabbad M, et al. Characteristics, chemical compositions and biological activities of propolis from Al-Bahah, Saudi Arabia. *Sci Reports* 2017 71. 2017 Feb;7(1):1–13.
2. Bouchelaghem S. Propolis characterization and antimicrobial activities against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*: A review. *Saudi J Biol Sci*. 2022;29(4):1936–46.
3. Silva FRG, Matias TMS, Souza LIO, Matos-Rocha TJ, Fonseca SA, Mousinho KC, et al. Phytochemical screening and in vitro antibacterial, antifungal, antioxidant and antitumor activities of the red propolis Alagoas. *Brazilian J Biol*. 2019;79(3):452–9.
4. Rosana M, Ahwan A, Qonitah F. Uji Kualitatif Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Propolis. *Lumbung Farm J Ilmu Kefarmasian*. 2021;2(2):154.
5. Erwin, Thamrin A, Syafrizal. Uji Fitokimia, Toksisitas Serta Antioksidan Ekstrak Propolis Pembungkus Madu Lebah Trigona Incisa Dengan Metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). *J Kim Mulawarman*. 2016;14(1):54–60.
6. Martinotti S, Ranzato E. Propolis: A new frontier for wound healing?. *Burns Trauma*. 2015;3(1):1–7.
7. Wagh VD. Propolis: A wonder bees product and its pharmacological potentials. *Adv Pharmacol Sci*. 2013;2013.
8. Suharyani I, Pamudji JS, Wikarsa S, Kurniati NF. Natamycin Nanosuspension For Ophthalmic Drug Delivery System. *Res J Pharm , Biol Chem Sci*. 2017;8:113–20.
9. Puglia C, Lauro MR, Offerta A, Crasci L, Micicché L, Panico AM, et al. Nanostructured Lipid Carriers (NLC) as Vehicles for Topical Administration of Sesamol: In Vitro Percutaneous Absorption Study and Evaluation of Antioxidant Activity. *Planta Med*. 2017;83(5):398–404.
10. Weng J, Tong HH., Chow F. In vitro release study of the polymeric drug nanoparticles: Development and validation of a novel method. *Pharmaceutics*. 2020;12(8):1–18.
11. Rahayu A, Ayu Cahya Rosyida D, Nuraini I, Buana Surabaya Jalan Dukuh Menanggal XII A, Kebidanan P, Sains dan Kesehatan Universitas PGRI Adi Buana Surabaya Jalan Dukuh Menanggal XII F. Formulasi dan Optimasi Nanostructured Lipid Carriers (NLC) Ketokonazol Menggunakan Full Factorial Design Formulation and Optimization of Nanostructured Lipid Carriers (Nlc) Ketoconazole Using Full Factorial Design. *Med Sains J Ilm Kefarmasian*. 2022;7(3):561–70.
12. Suhandi C, Wilar G, Lesmana R, Zulhendri F, Suharyani I, Hasan N, et al. Propolis-Based Nanostructured Lipid Carriers for α -Mangostin Delivery: Formulation, Characterization, and In Vitro Antioxidant Activity Evaluation. *Molecules*. 2023;28(16).
13. 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 [Internet]. Vol. 244, *Food Chemistry*. 2018. 83–92 p. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.010>
14. Elkhateeb OM, Badawy MEI, Noreldin AE, Abou-Ahmed HM, El-Kammar MH, Elkhenany HA. Comparative evaluation of propolis nanostructured lipid carriers and its crude extract for antioxidants, antimicrobial activity, and skin regeneration potential. *BMC Complement Med Ther*. 2022;22(1):1–13. <https://doi.org/10.1186/s12906-022-03737-4>
15. Depkes RI. Farmakope Indonesia edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995.
16. Iswandana R, Sihombing LKM. Formulasi , Uji Stabilitas Fisik , dan Uji Aktivitas Secara In Vitro Sediaan Spray Antibau Kaki yang Mengandung Ekstrak Etanol Daun Sirih (Piper betle L.). *Pharmaceutical Sciences and Research*. 2017;4(3):121–31.
17. Wathoni N, Sari D., Suharyani I, Motoyama K, Mohammed AF., Cahyanto A, et al. Enhancement of α -Mangostin Wound Healing Ability by Complexation with 2-Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin in Hydrogel Formulation. *Pharmaceutics*. 2020;13(10):290.
18. Maulina L, Sugihartini N. Formulasi Gel ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L.) dengan Variasi Gelling Agent sebagai Sediaan Luka Bakar. *Pharmaciana*. 2015;5(1):43–52.
19. Ong TH, Chitra E, Ramamurthy S, Ling CCS, Ambu SP, Davamani F. Cationic chitosan-propolis nanoparticles alter the zeta potential of *S. epidermidis*, inhibit biofilm formation by modulating gene expression and exhibit synergism with antibiotics. *PLoS One*. 2019;14(2).
20. Alfira A. Uji aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi kulit batang sintok (*Cinnamomum sintoc* Blume). UIN Syarif Hidayatullah Jakarta; 2014.
21. Falya Y, Rizikiyan Y, Suharyani I, Amelia R, Yulia Senja R. Formulation and Evaluation of Lipstick with Braziline Pigment of *Caesalpinia sappan* L. *J Farm Etam*. 2022;1(2019):92–107.
22. Suharyani I, Falya Y, Rindiyani, Nurmaya N, Afidah Y. Pengaruh Pelarut Polar terhadap Aktivitas Antioksidan Daging Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang diekstraksi dengan Metode Microwave Assisted Extraction (MAE). *Pharmacoscript*. 2022;5(2):237–48.
23. Handayani V, Roskiana Ahmad A, Sudir M. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm) Menggunakan Metode DPPH. *Pharm Sci Res*. 2014;1(2):86–93.
24. Satrialdi, Anjani Putri P, Yunus Aji Lumintang. Pengembangan Formula Nanostructured Lipid Carrier (NLC) Sebagai Pembawa Minyak Atsiri Melati (*Jasminum officinale* L.) serta Potensi Aktivitas Antioksidan. *Maj Farm dan Farmakol*. 2023;27(2):32–8.

25. Prabhakar K, Afzal SM, Surender G. Tween 80 containing lipid nanoemulsions for delivery of indinavir to brain. *Acta Pharm Sin B* [Internet]. 2013;3(5):345–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsb.2013.08.001>
26. Julianтони Y, Hajrin W, Subaidah WA. Nanoparticle Formula Optimization of Juwet Seeds Extract (*Syzygium cumini*) using Simplex Lattice Design Method. *J Biol Trop*. 2020;20(3):416–22.
27. Ramadhani N. Formulasi dan Evaluasi Gel Structured Lipid Carriers (NLC) Adapalen. Universitas Bhakti Kencana; 2019.
28. Maharani I, Wigati S, Utami DT. Formulasi Nanopartikel Ekstrak Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*) sebagai Zat Warna Sediaan Lipstik. *Chempublish Journal*. 2017; 2(1):38-43.
29. Shahab-Navaei F, Asoodeh A. Synthesis of optimized propolis solid lipid nanoparticles with desirable antimicrobial, antioxidant, and anti-cancer properties. *Sci Rep*. 2023;13(1):1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-45768-y>
30. Damanis FVM, Wewengkang DS, Antasionasti I. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Ascidian *Herdmania Momus* dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Pharmacon*. 2020;9(3):464.
31. Wardaniati I, Yanti R. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Propolis Lebah Trigona (*Trigona itama*) Menggunakan Metode DPPH. Vol. 2, *JOPS*. 2018.