



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENETAPAN DAYA PENETRASI SECARA *IN VITRO*
SEDIAAN GEL DAN EMULGEL YANG MENGANDUNG
KAPSAISINOID DARI EKSTRAK BUAH CABAI RAWIT
(*Capsicum frutescens* L.)**

SKRIPSI

**DELLY RAMADON
0806315591**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JUNI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENETAPAN DAYA PENETRASI SECARA *IN VITRO*
SEDIAAN GEL DAN EMULGEL YANG MENGANDUNG
KAPSAISINOID DARI EKSTRAK BUAH CABAI RAWIT
(*Capsicum frutescens* L.)**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

**DELLY RAMADON
0806315591**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JUNI 2012**

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa skripsi ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan tindakan Plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, 22 Juni 2012



Delly Ramadan

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar

Nama : Delly Ramadan

NPM : 0806315591

Tanda Tangan : 

Tanggal : 22 Juni 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Delly Ramadan
NPM : 0806315591
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Penetapan Daya Penetrasi secara *In Vitro* Sediaan Gel dan Emulgel yang Mengandung Kapsaisinoid dari Ekstrak Buah Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.)

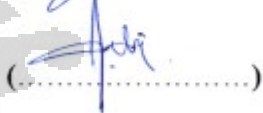
Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Prof. Dr. Effionora Anwar, MS., Apt. 

Pembimbing II : Dr. Harmita, Apt. 

Penguji I : Pharm. Dr. Joshita D., MS., Ph.D., Apt. 

Penguji II : Dr. Katrin, MS., Apt. 

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 25 Juni 2012

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena atas berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi, sangatlah sulit untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu dengan segala kerendahan hati, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Effionora Anwar, MS., Apt., selaku dosen pembimbing I yang telah dengan sabar membimbing dan mengarahkan, memberikan bantuan, nasehat, dan perhatian, serta dukungan moril selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Dr. Harmita, Apt., selaku dosen pembimbing II yang telah atas segala bimbingan, saran, bantuan, serta dukungan moril selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS., Apt., selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
4. Dr. Arry Yanuar, M.Si., Apt., selaku pembimbing akademik yang telah memberikan banyak perhatian, saran dan bantuan selama masa perkuliahan.
5. Dr. Abdul Mun'im, M.Si., Apt., dan Dr. Silvia Surini, M.Pharm.Sc., Apt., yang atas segala saran, bimbingan, dan ilmu yang bermanfaat yang diberikan kepada penulis selama masa penelitian hingga penulisan skripsi ini.
6. Sutriyo, M.Si., Apt., selaku ketua Laboratorium Farmasetika serta seluruh Bapak dan Ibu Dosen Farmasi UI yang telah banyak membantu dan membimbing penulis selama masa pendidikan hingga penelitian.
7. Bapak/Ibu laboran dan karyawan Farmasi UI terutama Mbak Devfanny dan Bapak Imih atas semua bantuan yang diberikan selama penelitian berlangsung.

8. Mama, papa, adik-adikku, dan keluarga Ibu Indah tercinta yang telah memberi bantuan dukungan baik moril maupun materil selama ini.
9. Teman-teman seperjuangan dari awal sampai akhir Reza, Ryan, Elphina, Ali, Indah, Setiawan, Yogo, Irfan, Samira, Devin, Nurul, teman-teman Farmasi angkatan 2008 dan mahasiswa penelitian dari semua KBI yang selalu menjadi tempat berkeluh kesah, terus memberikan dukungan dan semangat satu sama lain.
10. Keluargaku di Farmasi UI Kak Raditya, Kak Kurnia Sari, Kak Baitha, Kak Marista, Shinta Ayu, dan Dara.
11. Semua pihak yang telah memberikan bantuan, bimbingan, dan pengarahan kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan dorongan semangat, bantuan, bimbingan dan arahan selama penelitian dan penyusunan skripsi.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa penelitian dan penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis dengan senang hati menerima segala kritik dan saran demi perbaikan di masa yang akan datang. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan pada umumnya dan ilmu farmasi pada khususnya.

Penulis

2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Delly Ramadan
NPM : 0806315591
Program Studi : Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Penetapan Daya Penetrasi secara *In Vitro* Sediaan Gel dan Emulgel yang Mengandung Kapsaisinoid dari Ekstrak Buah Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.)

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 22 Juni 2012

Yang menyatakan



(Delly Ramadan)

ABSTRAK

Nama : Delly Ramadan
Program Studi : Farmasi
Judul : Penetapan Daya Penetrasi secara *In Vitro* Sediaan Gel dan Emulgel yang Mengandung Kapsaisinoid dari Ekstrak Buah Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.)

Salah satu tanaman yang sudah sering digunakan untuk mengobati rasa nyeri (analgesik) adalah cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.). Aktivitas analgesik cabai rawit dihasilkan oleh kandungan kimianya, yaitu kapsaisin dan dihidrokapsaisin yang merupakan senyawa kapsaisinoid. Kapsaisinoid dapat diabsorpsi dengan baik melalui kulit sehingga dapat dibuat sediaan topikal. Untuk mendapatkan efek optimal dari sediaan topikal, kapsaisinoid harus terpenetrasi melalui lapisan kulit. Pada penelitian ini dibuat dua sediaan, yaitu gel dan emulgel untuk mengetahui profil jumlah kapsaisinoid yang terpenetrasi dari kedua sediaan tersebut. Kedua sediaan diuji stabilitas fisik dan daya penetrasinya secara *in vitro* dengan alat sel difusi Franz menggunakan membran abdomen tikus galur *Sprague-Dawley*. Jumlah kumulatif kapsaisinoid yang terpenetrasi dari sediaan gel dan emulgel secara berturut-turut adalah $153,11 \pm 2,42 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ dan $321,22 \pm 4,67 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Persentase jumlah kapsaisinoid terpenetrasi dari sediaan gel dan emulgel secara berturut-turut adalah $19,39 \pm 0,31 \%$ dan $40,69 \pm 0,59 \%$. Fluks dari sediaan gel dan emulgel berturut-turut adalah $11,26 \pm 0,20 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$ dan $24,28 \pm 0,52 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa daya penetrasi sediaan emulgel lebih tinggi daripada gel, dan kedua sediaan yang dibuat menunjukkan kestabilan fisik.

Kata Kunci : cabai rawit, emulgel, ekstrak, gel, kapsaisinoid, penetrasi, sel difusi Franz
xvii+123 halaman ; 27 gambar; 2 tabel; 70 lampiran
Daftar Pustaka : 75 (1979-2012)

ABSTRACT

Name : Delly Ramadan
Program Study : Pharmacy
Title : In Vitro Determination of Penetration Ability of Gel and Emulgel Dosage Forms Contain Capsaicinoids from Chilli Fruit (*Capsicum frutescens* L.) Extract

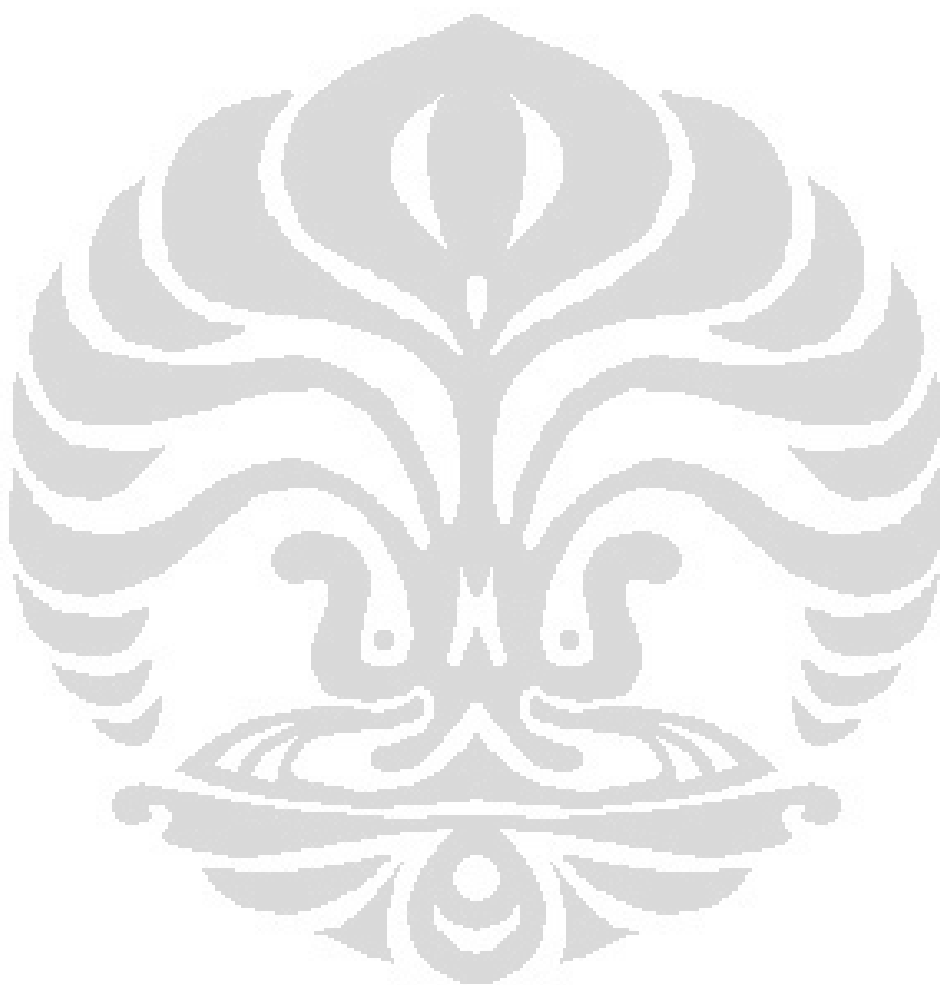
One of plant which has been used for healing the pain (analgesic) was chilli (*Capsicum frutescens* L.). The chilli's analgesic acitivity was produced by its chemical compounds, i.e capsaicin and dyhydrocapsaicin which called capsaicinoids. Capsaicinoids was well absorbed from skin, therefore it could be made into topical dosage form. To get the optimum effect from topical dosage form, capsaicinoids should be penetrated through skin layer. Therefore, two kinds of dosage forms were made to measure the total cumulative penetration of capsaicinoids, i.e. gel and emulgel. The two dosage forms was examined their physical stability and penetration ability by *in vitro* Franz diffusion cell test using *Sprague-Dawley* rat abdomen skin as diffusion membrane. Total cumulative penetration of capsaicinoid from gel and emulgel dosage forms were $153.11 \pm 2.42 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ and $321.22 \pm 4.67 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, respectively. The percentage of penetrated capsaicinoid from gel and emulgel dosage forms were $19.39 \pm 0.31 \%$ and $40.69 \pm 0.59 \%$, respectively. Flux of capsaicinoid from gel and emulgel dosage forms were $11.26 \pm 0.20 \mu\text{g cm}^{-2} \text{ hour}^{-1}$ and $24.28 \pm 0.52 \mu\text{g cm}^{-2} \text{ hour}^{-1}$, respectively. Based on those result, it can be concluded that penetration ability of emulgel dosage form is higher than gel. Besides that, the two dosage forms showed physical stability.

Keywords : capsaicinoids, chili, emulgel, extract, gel, Franz diffusion cell, penetration
xvii+123 pages ; 27 figures; 2 tables; 70 appendixes
References : 75 (1979-2012)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Cabai Rawit (<i>Capsicum frutescens</i> L.)	3
2.2 Ekstraksi	7
2.3 Kromatografi Gas	9
2.4 Kromatografi Lapis Tipis Densitometri	11
2.5 Kulit	14
2.6 Absorpsi Obat Melalui Kulit	17
2.7 Gel dan Emulgel	19
2.8 Formulasi Emulgel dan Gel	22
2.9 Bahan Tambahan dalam Formulasi	23
2.10 Penetapan Daya Penetrasi Sediaan secara <i>In Vitro</i> Menggunakan Sel Difusi Franz	27
BAB 3. METODE PENELITIAN	29
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	29
3.2 Bahan	29
3.3 Peralatan	30
3.4 Cara Kerja	30
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	43
4.1 Penyiapan Ekstrak	44
4.2 Pembuatan Sediaan	51
4.3 Evaluasi Sediaan	51
4.4 Uji Stabilitas Fisik Sediaan	56
4.5 Uji Penetrasi secara <i>In Vitro</i>	64

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	73
5.1 Kesimpulan	73
5.2 Saran	73
DAFTAR ACUAN	74

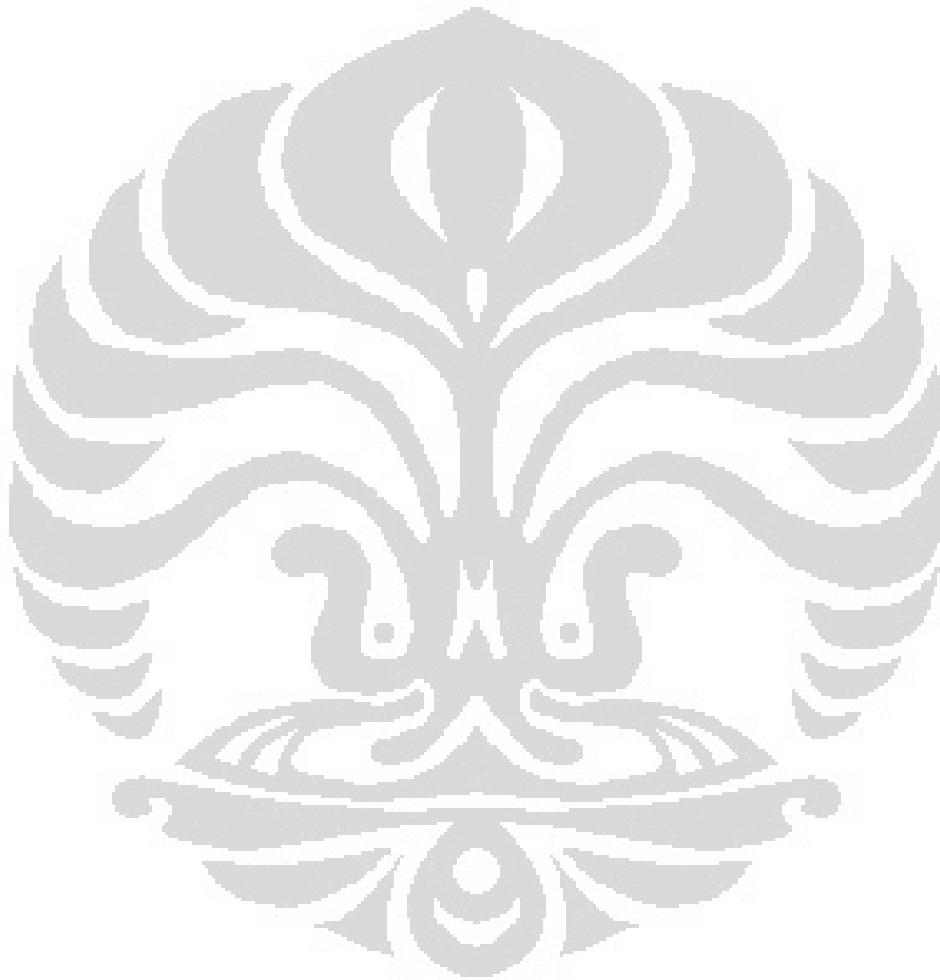


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tanaman cabai rawit	3
Gambar 2.2	Struktur kapsaisin dan dihidrokapsaisin	6
Gambar 2.3	Skema sistem kromatografi gas	10
Gambar 2.4	Sistem sederhana 2 tipe alat spektrodensitometer.....	14
Gambar 2.5	Struktur tiga dimensi kulit.....	15
Gambar 2.6	Struktur kimia propilen glikol	24
Gambar 2.7	Struktur kimia butilhidroksitoluen (BHT).....	24
Gambar 2.8	Struktur kimia etanol	25
Gambar 2.9	Struktur kimia mentol	25
Gambar 4.1	Penampilan fisik ekstrak buah cabai rawit	44
Gambar 4.2	Kromatogram campuran standar diklormetana dalam pelarut n-butanol konsentrasi 5280 µg/mL dalam pembuatan kurva kalibrasi.....	45
Gambar 4.3	Foto hasil pemisahan kapsaisinoid dalam ekstrak menggunakan kromatografi lapis tipis dengan eluen berbeda yang dilihat di bawah lampu UV pada 254 nm.....	49
Gambar 4.4	Penampilan sediaan gel dan emulgel pada minggu ke-0	52
Gambar 4.5	Rheogram sediaan gel.....	53
Gambar 4.6	Rheogram sediaan emulgel.....	54
Gambar 4.7	Foto mikroskopik diameter globul rata-rata sediaan emulsi sebelum dicampurkan ke dalam basis gel dengan perbesaran 100 kali.....	55
Gambar 4.8	Foto mikroskopik diameter globul rata-rata sediaan emulgel pada minggu ke-0 dengan perbesaran 100 kali.	56
Gambar 4.9	Hasil pengukuran pH gel dan emulgel pada penyimpanan suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi	58
Gambar 4.10	Grafik perubahan viskositas gel dan emulgel pada minggu ke-8.....	59
Gambar 4.11	Rheogram sediaan gel pada minggu ke-8.....	60
Gambar 4.12	Rheogram sediaan emulgel pada minggu ke-8	60
Gambar 4.13	Grafik perubahan konsistensi kedua sediaan dari minggu ke-0 hingga minggu ke-8	61
Gambar 4.14	Perubahan diameter globul rata-rata sediaan emulgel pada minggu ke-8.....	62
Gambar 4.15	Jumlah kumulatif kapsaisinoid yang terpenetrasi per satuan luas membran dari kedua sediaan.....	68
Gambar 4.16	Foto mikroskopik histologi kulit tikus	69
Gambar 4.17	Fluks kapsaisinoid dari sediaan gel dan emulgel (rata-rata ± SD, n=3)	70
Gambar 4.18	Fluks kapsaisinoid tiap waktu pengambilan dari sediaan gel dan emulgel	71

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Komposisi bahan dalam sediaan gel dan emulgel	35
Tabel 3.2 Evaluasi terhadap sediaan gel dan emulgel	38



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Kromatogram standar diklormetana	81
Lampiran 2.	Kromatogram standar n-butanol.....	82
Lampiran 3.	Contoh kromatogram sampel dalam pelarut n-butanol konsentrasi 125220 µg/mL	83
Lampiran 4.	Kurva kalibrasi standar diklormetana dalam pelarut n-butanol..	83
Lampiran 5.	Kromatogram hasil kromatografi lapis tipis ekstrak buah cabai rawit dengan eluen diklormetan-metanol (95: 5) menggunakan <i>TLC Scanner CAMAG III</i>	84
Lampiran 6.	Kromatogram hasil kromatografi lapis tipis ekstrak buah cabai rawit dengan eluen n heksan-diklormetan-asam asetat glasial (7:2,5:0,5) menggunakan <i>TLC Scanner CAMAG III</i>	84
Lampiran 7.	Kurva serapan maksimum standar kapsaisinoid 3,0 µg hasil deteksi <i>TLC Scanner CAMAG</i>	85
Lampiran 8.	Foto lempeng KLT penetapan kadar kapsaisinoid yang telah dielusi dan dilihat di bawah lampu sinar UV pada $\lambda=254$ nm...	85
Lampiran 9.	Kurva kalibrasi standar kapsaisinoid untuk penetapan kadar kapsaisinoid dalam ekstrak buah cabai rawit	86
Lampiran 10.	Penampilan sediaan gel dan emulgel yang disimpan pada suhu rendah dari minggu ke-2 hingga minggu ke-8	86
Lampiran 11.	Penampilan sediaan gel dan emulgel yang disimpan pada suhu kamar dari minggu ke-2 hingga minggu ke 8.....	87
Lampiran 12.	Penampilan sediaan gel dan emulgel yang disimpan pada suhu tinggi dari minggu ke-2 hingga minggu ke-8	87
Lampiran 13.	Foto mikroskopik diameter globul rata-rata sediaan emulgel di minggu ke-8 pada penyimpanan suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi dengan perbesaran 100 kali	88
Lampiran 14.	Penampilan sediaan gel dan emulgel sebelum dan setelah <i>cycling test</i>	88
Lampiran 15.	Penampilan sediaan emulgel setelah uji mekanik/sentrifugasi...	89
Lampiran 16.	Kurva kalibrasi standar kapsaisinoid untuk uji penetapan kandungan (UPK)	89
Lampiran 17.	Kurva kalibrasi standar kapsaisinoid untuk analisis sampel uji penetrasi dari sediaan gel	89
Lampiran 18.	Kurva kalibrasi standar kapsaisinoid untuk analisis sampel uji penetrasi dari sediaan emulgel	90
Lampiran 19.	Jumlah kumulatif kapsaisinoid yang terpenetrasi per satuan luas membran percobaan 1 dari kedua sediaan	90
Lampiran 20.	Jumlah kumulatif kapsaisinoid yang terpenetrasi per satuan luas membran percobaan 2 dari kedua sediaan	91
Lampiran 21.	Jumlah kumulatif kapsaisinoid yang terpenetrasi per satuan luas membran percobaan 3 dari kedua sediaan	91
Lampiran 22.	Contoh kromatogram sampel uji penetrasi dari sediaan emulgel pada menit ke-180 secara KLT densitometri (Rf kapsaisinoid = 0,16).....	92
Lampiran 23.	Skema sel difusi Franz (Telah diolah kembali)	92

Lampiran 24. Data kurva kalibrasi, batas deteksi dan batas kuantitas standar diklormetana dalam pelarut n-butanol pada penetapan kadar sisa pelarut ekstraksi secara kromatografi gas	93
Lampiran 25. Data penetapan kadar diklormetana dalam ekstrak buah cabai rawit secara kromatografi gas	93
Lampiran 26. Data kurva kalibrasi, batas deteksi, dan batas kuantitasi standar kapaisinoid pada $\lambda=281,0$ nm untuk penetapan kadar ekstrak secara kromatografi lapis tipis densitometri.	94
Lampiran 27. Data penetapan kadar kapsaisinoid dalam ekstrak buah cabai rawit secara KLT densitometri	94
Lampiran 28. Hasil evaluasi kedua sediaan pada minggu ke-0.....	94
Lampiran 29. Hasil perhitungan viskositas sediaan gel dan emulgel pada minggu ke-0	95
Lampiran 30. Data diameter globul rata-rata sediaan emulsi sebelum dimasukkan ke dalam gel	96
Lampiran 31. Data diameter globul rata-rata sediaan emulgel minggu ke-0 ...	96
Lampiran 32. Hasil pengamatan organoleptis kelima formula pada penyimpanan suhu rendah ($4 \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu	97
Lampiran 33. Hasil pengamatan organoleptis kelima formula pada penyimpanan suhu kamar ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu	97
Lampiran 34. Hasil pengamatan organoleptis kelima formula pada penyimpanan suhu tinggi ($40 \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu	97
Lampiran 35. Hasil pengukuran pH kedua sediaan pada penyimpanan suhu rendah ($4 \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu	98
Lampiran 36. Hasil pengukuran pH kedua sediaan pada penyimpanan suhu kamar ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu.....	98
Lampiran 37. Hasil pengukuran pH kedua sediaan pada penyimpanan suhu tinggi ($40 \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu	98
Lampiran 38. Hasil perhitungan viskositas sediaan gel dan emulgel pada minggu ke-8	99
Lampiran 39. Viskositas kedua sediaan pada minggu ke-0 dan minggu ke-8..	100
Lampiran 40. Data kedalaman kerucut pada pengukuran konsistensi kedua sediaan pada minggu ke-0 dan minggu ke-8	100
Lampiran 41. Data diameter globul rata-rata sediaan emulgel pada minggu ke-8 penyimpanan suhu rendah ($4 \pm 2^{\circ}\text{C}$)	100
Lampiran 42. Data diameter globul rata-rata sediaan emulgel pada minggu ke-8 penyimpanan suhu kamar ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$)	101
Lampiran 43. Data diameter globul rata-rata sediaan emulgel pada minggu ke-8 penyimpanan suhu tinggi ($40 \pm 2^{\circ}\text{C}$)	101
Lampiran 44. Data kurva kalibrasi, batas deteksi, dan batas kuantitasi standar kapaisinoid pada $\lambda=281,0$ nm untuk uji penetapan kandungan (UPK) secara kromatografi lapis tipis densitometri..	102
Lampiran 45. Data penetapan kandungan kapsaisinoid dari sediaan secara KLT densitometri	102
Lampiran 46. Data kurva kalibrasi, batas deteksi, dan batas kuantitasi standar kapaisinoid pada $\lambda=281,0$ nm untuk analisis kuantitatif hasil uji penetrasi dari sediaan gel secara kromatografi lapis tipis densito.....	103

Lampiran 47. Data kurva kalibrasi, batas deteksi, dan batas kuantitasi standar kapaisinoid pada $\lambda=281,0$ nm untuk analisis kuantitatif hasil uji penetrasi dari sediaan emulgel secara kromatografi lapis tipis densitometri	103
Lampiran 48. Hasil uji penetrasi kapsaisinoid dalam larutan campuran etanol 96%-dapar fosfat pH 7,4 dari sediaan gel dan emulgel selama 8 jam.....	104
Lampiran 49. Hasil perhitungan fluks kapsaisinoid tiap waktu pengambilan dari sediaan gel dan emulgel berdasarkan uji penetrasi selama 8 jam.....	104
Lampiran 50. Hasil perhitungan fluks kapsaisinoid dari sediaan gel dan emulgel.....	105
Lampiran 51. Hasil jumlah jumlatif kapsaisinoid yang terpenetrasi, persentase jumlah kapsaisinoid yang terpenetrasi dan fluks kapsaisinoid dari sediaan gel dan emulgel berdasarkan uji penetrasi selama 8 jam.....	105
Lampiran 52. Cara perhitungan rendemen dan dosis ekstrak	106
Lampiran 53. Cara perhitungan batas deteksi, dan batas kuantitasi	106
Lampiran 54. Contoh perhitungan yield value dari pengukuran konsistensi sediaan emulgel pada minggu ke-0	107
Lampiran 55. Contoh perhitungan diameter globul rata-rata sediaan emulgel minggu ke-0	108
Lampiran 56. Contoh perhitungan penetapan kandungan kapsaisinoid.....	109
Lampiran 57. Contoh perhitungan jumlah kapsaisinoid yang terpenetrasi dari sediaan gel pada menit ke-10 untuk percobaan pertama	111
Lampiran 58. Contoh perhitungan jumlah kapsaisinoid yang terpenetrasi dari sediaan gel pada menit ke-30 untuk percobaan pertama	111
Lampiran 59. Contoh perhitungan fluks kapsaisinoid dari sediaan emulgel ...	112
Lampiran 60. Contoh perhitungan persentase jumlah kumulatif kapsaisinoid terpenetrasi dari sediaan gel	113
Lampiran 61. Surat determinasi tanaman cabai rawit (<i>Capsicum frutescens</i> L.)	114
Lampiran 62. Sertifikat analisis kapsaisinoid	115
Lampiran 63. Sertifikat analisis tikus putih	116
Lampiran 64. Sertifikat analisis Span 20	117
Lampiran 65. Sertifikat analisis mentol	118
Lampiran 66. Sertifikat analisis propilen glikol.....	119
Lampiran 67. Sertifikat analisis etanol 96%	120
Lampiran 68. Sertifikat analisis BHT	121
Lampiran 69. Sertifikat analisis Karbopol-940	122
Lampiran 70. Sertifikat analisis minyak zaitun	123

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Negara Indonesia memiliki banyak jenis tumbuhan herbal yang dapat dimanfaatkan sebagai obat nyeri (analgesik). Salah satu tanaman yang sudah sering digunakan untuk mengobati rasa nyeri adalah cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) (Ulbricht dan Seamon, 2010). Aktivitas analgesik cabai rawit dihasilkan oleh kandungan kimianya, yaitu kapsaisin dan dihidrokapsaisin yang merupakan senyawa kapsaisinoid (Dewick, 2009). Untuk menghasilkan aktivitas analgesik tersebut kapsaisinoid harus mengaktifasi reseptor vanilloid (TRPV1) yang berada di membran sel dari neuron nosiseptor perifer di bawah permukaan kulit (Kam dan Hayman, 2008). Oleh karena itu pemberian kapsaisin secara topikal merupakan salah satu terapi yang dianjurkan untuk menyembuhkan rasa nyeri (Wells, *et al.*, 2008).

Untuk memperoleh efek analgesik yang optimal kapsaisinoid harus dapat berpenetrasi melintasi lapisan kulit. Para peneliti memformulasikan ekstrak cabai atau kapsaisinoid dalam sediaan topikal karena kapsaisinoid dapat diabsorpsi dengan baik melalui kulit (Kam dan Hayman, 2008). Selain itu kapsaisinoid memiliki waktu paruh yang pendek dan tingkat metabolisme lintas pertama yang cukup tinggi sehingga formulasi kapsaisin dalam sediaan topikal dapat menjadi alternatif untuk mengatasi permasalahan tersebut (Jia-You Fang, Ying-Yue Wang, Chi-Tzong Hong, dan Wen-Ta Chiu, 2001).

Salah satu faktor yang dapat mempengaruhi absorpsi suatu senyawa melalui kulit adalah kesesuaian pembawa terhadap sifat fisikokimia senyawa tersebut (Panwar, Upadhyay, Bairagi, Gujar, Darwhekar dan Jain, 2011). Sejak tahun 1993, telah dilakukan uji penetrasi baik secara *in vitro* maupun *in vivo* dari berbagai bentuk sediaan kapsaisin topikal seperti yang telah dilakukan oleh Yi-Hung Tsai, Jia-You Fang, Pao-Chu Wu, dan Yaw-Bin Huang (1995; 1996), Jia-You Fang, Ying-Yue Wang, Chi-Tzong Hong, dan Wen-Ta Chiu (2001), serta Jia-You Fang, Yann-Lii Leu, Ying-Yue Wang, dan Yi-Hung Tsai (2002). Sediaan kapsaisin topikal yang telah diteliti misalnya dalam bentuk gel (Adekunle,

Milwaukee, Flowers, Marino, dan Mequon, 1993), hidrogel (Jia-You Fang, Ying-Yue Wang, Chi-Tzong Hong, dan Wen-Ta Chiu, 2001), krim, patch, ataupun losio (Holte dan Barr, 2002). Hingga saat ini penelitian terhadap kapsaisin masih terus dilakukan untuk mencari jenis pembawa yang sesuai.

Pada tahun 2004, Mohamed memperkenalkan modifikasi bentuk sediaan gel yang disebut dengan emulgel. Emulgel adalah emulsi, baik itu tipe minyak dalam air (M/A) maupun air dalam minyak (A/M), yang dibuat menjadi sediaan gel dengan mencampurkan emulsi ke dalam basis gel (Mohamed, 2004; Jain, Gautam, Gupta, Khambete, dan Jain, 2010; Bhanu, Shanmugam, dan Lakshmi, 2011; Khullar, Deepinder, Nimrata, dan Seema, 2012; Singla, Seema, Joshi, dan Rana, 2012). Tidak seperti gel pada umumnya, emulgel dapat digunakan sebagai pembawa untuk obat-obat yang bersifat hidrofobik (Panwar, Upadhyay, Bairagi, Gujar, Darwhekar dan Jain, 2011), namun tidak mengurangi kelebihan yang dimiliki sediaan gel, yaitu nyaman digunakan dan mudah dicuci (Voigt, 1995).

Karakteristik emulgel tersebut sesuai dengan sifat fisikokimia kapsaisinoid yang merupakan senyawa larut lemak dan pelarut organik namun tidak larut dalam air (Kam dan Hayman, 2008). Oleh sebab itu, emulgel yang dibuat pada penelitian ini berasal dari emulsi minyak dalam air yang dicampurkan ke dalam basis gel. Diharapkan sediaan emulgel tersebut dapat meningkatkan absorpsi kapsaisinoid melalui kulit dibandingkan sediaan gel, sehingga perlu dilakukan penelitian terhadap sediaan gel dan emulgel yang mengandung kapsaisinoid untuk mengetahui pengaruh kedua bentuk sediaan tersebut terhadap kapsaisinoid yang terpenetrasi melewati kulit.

Pada penelitian ini akan dibuat formula gel dan emulgel yang mengandung kapsaisinoid dari ekstrak buah cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) kemudian ditetapkan daya penetrasinya secara *in vitro* menggunakan sel difusi Franz. Selain itu dilakukan pula uji stabilitas fisik dari kedua bentuk sediaan tersebut.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan daya penetrasi secara *in vitro* serta menguji stabilitas fisik sediaan gel dan emulgel yang mengandung kapsaisinoid dari ekstrak buah cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.).

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.)

2.1.1 Klasifikasi (Jones dan Luchsinger, 1987)

Berikut merupakan klasifikasi dari tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.):

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida (Dicotyledonae)
Subkelas	: Asteridae
Bangsa	: Solanales
Suku	: Solanaceae
Marga	: Capsicum
Jenis	: <i>Capsicum frutescens</i> L.



[Sumber: Dokumentasi pribadi]

Gambar 2.1. Tanaman cabai rawit dengan buah yang (a) belum masak dan (b) sudah masak

2.1.2 Simplisia Cabai Rawit (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979).

Bagian tanaman yang digunakan adalah buahnya. Buah cabai rawit (*Capsici Frutescentis Fructus*) adalah buah masak yang dikeringkan dari berbagai varietas *Capsicum frutescens* L.

2.1.3 Sinonim dan Nama Daerah (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979)

Cabai rawit (*Capsicum frutescens* L) memiliki nama lain yaitu *Capsicum fastigatum* Blume dan *Capsicum minimum* Roxb. Cabai rawit memiliki nama yang berbeda di beberapa negara, misalnya di Indonesia disebut dengan cabai rawit, Filipina adalah silleng labuyo, dan Thailand adalah phrikkinu (ASEAN, 1993).

Nama daerah untuk cabai rawit yaitu *Sumatra*: Leudeu jarum, ledeu pentek (Gayo), setudu langit, lacina sipane (Batak Simalungun), lada limu (Nias), lada mutia (Melayu). *Jawa*: Cabai rawit, cabai cengek (Sunda), lombok jempling, lombok jemprit, lombok rawit, lombok gambir, lombok setan, lombok cempling (Jawa), cabhi letek (Madura). *Sulawesi*: Kaluya kapal (Alfum), marela dodi (Mongod), malita diti (Gorontalo), malita didi (Buol), lada masiwo (Baree), lada merica, lada capa, lasomeyang (Makassar), lading burica, lading marica, laso meyong (Bugis), rica halus, rica padi (Manado). *Bali*: Tabia krinyi. *Nusa Tenggara*: Kurus (Alor). *Maluku*: Abrisan kubur (Kai), kaupa batawe (Elpaputi), katupu walata (Waraka), aratupu patawe (Atamano), kapita batawi (Sepa), maricang katupe (Weda Halmahera), rica gufu (Ternate dan Tidore). *Irian*: Metrek waktoh (Sarmi), basen tanah (Berik). Indonesia: Cabai rawit.

2.1.4 Deskripsi Tanaman (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989)

Terna atau perdu, tinggi 50 cm hingga 150 cm. Batang berbuku-buku atau bagian atasnya bersudut, tidak berbulu. Daun berbentuk bundar telur sampai lonjong atau berbentuk bundar telur meruncing, ukuran panjang 1-12 cm. Lebar 1,5 cm hingga 5,5 cm, tidak berbulu. Bunga keluar di ketiak daun, tunggal atau 3-3 bunga letaknya berdekatan. Mahkota bunga berbentuk bintang, berwarna putih, putih kehijauan atau kadang-kadang ungu. Garis tengah mahkota bunga 1,75 mm hingga 2 mm. Kelopak bunga berbulu atau tidak berbulu, panjang 2-3 mm. Buah tegak kadang-kadang pada tanaman hibrid buah merunduk, berbentuk bulat telur, jorong, panjang 1 cm hingga 3 cm, lebar 2,5 mm hingga 12 mm. Buah berwarna hijau tua, putih kehijauan dan putih. Apabila telah masak buah berwarna merah terang. Biji putih kotor dengan diameter antara 2 mm hingga 2,5 mm.

2.1.5 Kandungan Kimia

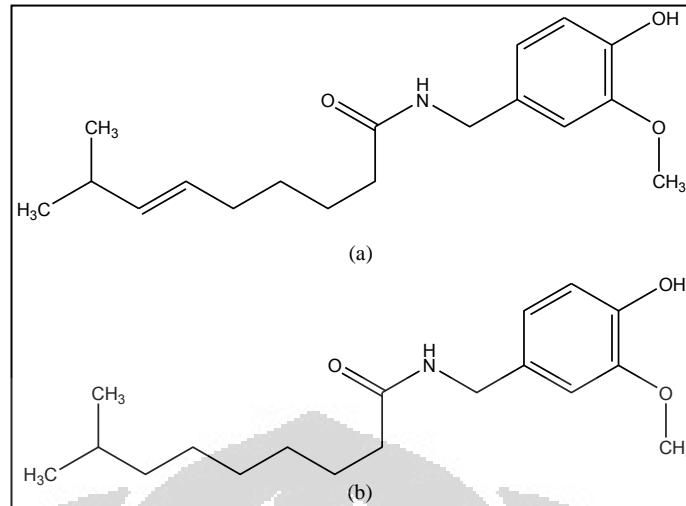
Kandungan utama dari cabai rawit adalah kapsaisinoid, yaitu kapsaisin dan dihidrokapsaisin (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989; Kam dan Hayman, 2008). Kapsaisinoid merupakan alkaloid yang berperan dalam memberikan rasa pedas dari buah cabai (Perucka dan Oleszek, 2000). Warna merah pada cabai rawit yang sudah masak dihasilkan oleh pigmen karotenoid seperti kapsantin (Dewick, 2009), kapsorubin, zeaxantin, violaxantin, kriptoxantin, dan beta karoten (Sampathu, Naidu, Sowbhagya, Naik, dan Krishnamurthy, 2004). Selain itu, cabai rawit juga mengandung minyak atsiri, oleoresin (Sampathu, Naidu, Sowbhagya, Naik, dan Krishnamurthy, 2004), vitamin C, dan minyak lemak. Kandungan kimia lainnya yaitu homokapsaisin, homodihidrokapsaisin, nonilvanililamida, dekoilvanililamida, lutein, tiamin, asam tartrat, dan protein (ASEAN, 1993).

2.1.6 Manfaat dan Penggunaan Tanaman

Secara empiris cabai digunakan sebagai bumbu masak khususnya pemberi rasa pedas dari saus sambal tradisional (Dewick, 2009; Perucka dan Oleszek, 2000). Selain itu cabai rawit juga dimanfaatkan sebagai bahan karminatif, stimulan, stomakikum (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000), dan obat kumur untuk laringitis kronik (ASEAN, 1993). *Capsicum spp.* sering digunakan sebagai obat nyeri pada osteoarthritis, reumatoid arthritis, neuralgia, neuropati (Duke, J. Bogenschutz-Godwin, duCellier, dan Duke, P., 2002; Murray, 2000), dan fibromialgia (Murray, 2000).

2.1.7 Kapsaisin dan Kapsaisinoid

Kapsaisin (*trans*-8-metil-*N*-vanilil-6-noneamida) merupakan alkaloid alami yang diekstraksi dari tanaman keluarga cabai. Selain kapsaisin di dalam cabai terdapat dihidrokapsaisin dan keduanya dianggap sebagai kapsaisinoid. Senyawa kapsaisinoid lainnya adalah homokapsaisin, dihidrokapsaisin, homodihidrokapsaisin, dan nordihidrokapsaisin, namun kadar senyawa-senyawa tersebut sangat kecil bila dibandingkan dengan kapsaisin atau dihidrokapsaisin hal itu disebabkan kadar kapsaisin dan dihidrokapsaisin mencapai 80-90% dari kapsaisinoid total dalam buah cabai (Kam dan Hayman, 2008).



[Sumber: Kam dan Hayman, 2008]

Gambar 2.2. Struktur dari (a) kapsaisin dan (b) dihidrokapsaisin (telah diolah kembali)

Konsentrasi kapsaisinoid dalam cabai bervariasi, yaitu antara 0,003% hingga 0,01%; jenis cabai dengan kepedasan ringan mengandung kapsaisinoid dari 0,05% hingga 0,3%, sedangkan cabai dengan tingkat kepedasan tinggi mengandung kapsaisinoid lebih dari 0,3% dan mencapai 1% (Perucka dan Oleszek, 2000). Kandungan kapsaisin tertinggi adalah pada bagian perikarp buah dan plasenta (Departemen Kesehatan Republik Indonesia 1989). Menurut Wiryowidagdo (2007), kadar kapsaisin di dalam buah bervariasi dan dapat mencapai 1,5% tergantung kepada kondisi lingkungan penanaman dan umur buah. Kadar dalam seluruh buah adalah 0,49%, di dalam epikarpium 0,10%, jaringan sekat buah 0,79% dan pada biji 0,07%.

Kapsaisin termasuk ke dalam jenis senyawa vanilloid karena memiliki gugus vanillil yaitu 4-hidroksi-3-metoksibenzil (Dewick, 2009). Secara struktural, seperti vanilloid lainnya kapsaisin memiliki sebuah inti benzen dan rantai karbon panjang hidrofobik dengan gugus polar amida. Vanillil adalah gugus yang berperan dalam aktivitas biologis kapsaisin sebagai analgesik.

Kapsaisin dan vanilloid lainnya berikatan dengan reseptor membran saraf spesifik yang disebut dengan reseptor vanilloid tipe 1 (VR1) dan merupakan agonis reseptor VR1. Aktivasi TRPV1 oleh kapsaisin diikuti dengan

penghambatan pelepasan substansi P (Kam dan Hayman, 2008) sehingga sensitivitas saraf terhadap nyeri akan hilang (Dewick, 2009). Substansi P adalah senyawa yang dapat menyensitisasi dan/atau mengaktifasi nosiseptor sehingga menyebabkan rasa nyeri (DiPiro, Talbert, Yee, Matzke, Wells, dan Posey, 2005).

Pada sediaan topikal dosis yang dianjurkan adalah 0,025-0,075% dihitung sebagai kapsaisinoid (Ulbricht dan Seamon, 2010). Selain sebagai analgesik kapsaisin juga digunakan sebagai obat pruritus, flatulens, dispepsia, kolik, dan obat kumur untuk laringitis kronik (Bradley, 2006).

Untuk memperoleh kapsaisinoid harus dilakukan proses ekstraksi dan pemisahan zat dari bahan-bahan lain yang tidak diinginkan. Kapsaisin merupakan senyawa larut lemak dan tidak larut air sehingga dibutuhkan pelarut organik untuk mengekstraksi dari buah cabai rawit (ASEAN, 1993).

Setelah diekstraksi, kapsaisin dapat ditetapkan kadarnya dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) (Lu dan Cwik, 1997; Perucka dan Oleszek, 2000), kromatografi gas (KG) (Peña-Alvarez, Ramírez-Maya, dan Alvarado-Suárez, 2009), spektrofotometri atau dengan kromatografi lapis tipis (KLT) (Perucka dan Oleszek, 2000). Namun, metode yang tidak terlalu mahal, menghasilkan pemisahan yang cukup baik, mudah dilakukan dan digunakan adalah metode kromatografi lapis tipis (KLT) (Touchstone dan Dobbins, 1983; Perucka dan Oleszek, 2000).

2.2. Ekstraksi (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000)

Ekstraksi adalah penyarian suatu bahan aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Sedangkan yang dimaksud dengan simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa

diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan disebut dengan ekstrak.

Secara umum proses pembuatan ekstrak terdiri dari beberapa tahap, yaitu:

- a. Pembuatan serbuk simplisia dan klasifikasinya.
- b. Pemilihan cairan pelarut
- c. Separasi dan pemurnian
- d. Pemekatan/penguapan (vaporasi/evaporasi)
- e. Pengeringan ekstrak
- f. Penetapan rendemen

2.2.1 Metode Ekstraksi

2.2.1.1 Ekstraksi Menggunakan Pelarut

Ekstraksi menggunakan pelarut dapat dibedakan menjadi ekstraksi cara dingin dan cara panas, yaitu:

- a. Cara dingin
 1. Maserasi, yaitu proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur kamar.
 2. Perkolasi, yaitu ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru hingga prosesnya sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruang.
- b. Cara panas
 1. Refluks, yaitu ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama hingga 3-5 kali sehingga proses ekstraksi sempurna.
 2. Soxhlet, yaitu ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi berkelanjutan dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.
 3. Digesti, yaitu maserasi kinetik pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

4. Infus, yaitu ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98 °C) selama waktu tertentu.

2.2.1.2 Destilasi Uap

Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa kandungan menguap (minyak atsiri) dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial senyawa kandungan menguap dengan fase uap air secara berkelanjutan sampai sempurna dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran menjadi destilat air bersama senyawa kandungan yang memisah sempurna atau memisah sebagian.

2.2.1.3 Cara Lain

Terdapat cara lain untuk mengekstraksi senyawa dari suatu simplisia, yaitu:

- a. Ekstraksi berkesinambungan.
- b. Superkritikal karbondioksida.
- c. Ekstraksi ultrasonik energi listrik.

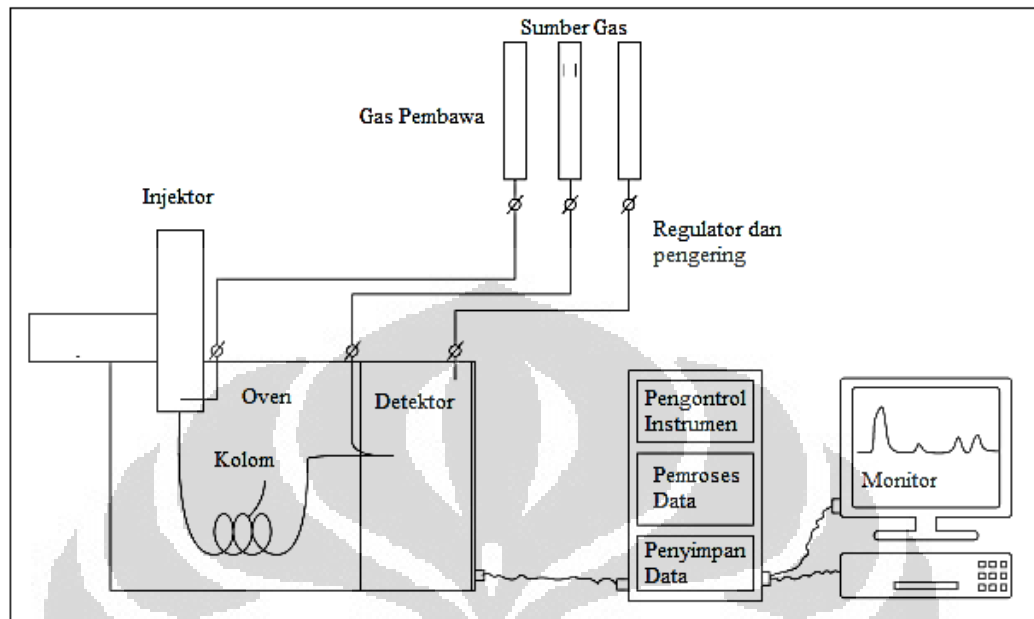
2.3 Kromatografi Gas

Kromatografi gas (KG) merupakan metode yang aplikatif untuk menganalisis banyak senyawa dalam bidang toksikologi, farmasi, industri kimia, dan lingkungan. Bila suatu senyawa memiliki volatilitas yang cukup untuk menjadi bentuk gas atau menguap pada suhu di bawah 400°C, dan tidak terurai pada temperatur ini, maka senyawa tersebut dapat dianalisis dengan kromatografi gas (Moffat, Osselton, dan Widdop, 2005).

Secara umum, bagian-bagian utama dari sebuah kromatografi gas yaitu:

- a. silinder dengan gas pembawa
- b. pengukur tekanan dan pengontrol laju lairan
- c. tempat injeksi sampel
- d. kolom
- e. detektor
- f. *amplifier*

- g. rekorder
- h. oven dengan termostat untuk tempat injeksi, kolom, dan detektor.



[Sumber: Moffat, Osselton, dan Widdop, 2005]

Gambar 2.3 Skema sistem kromatografi gas.

Pemisahan terjadi di dalam suatu kolom yang memiliki aliran fase gerak berkesinambungan melewati kolom dengan pengaturan suhu menggunakan oven. Fase diam dapat berupa padatan atau cairan sedangkan fase gerak yang digunakan berupa gas inert seperti N_2 , H_2 , atau Helium. Ketika suatu campuran senyawa disuntikkan pada katup injeksi, dengan segera campuran tersebut menguap karena suhu tempat injeksi yang sangat tinggi. Kemudian masing-masing komponen akan mengalami pemisahan secara partisi di antara fase diam dan fase gerak yang melewati detektor dengan cepat. Molekul yang memiliki afinitas lebih besar terhadap fase diam akan memerlukan waktu lebih lama di dalam fase tersebut dan akan lebih lama untuk mencapai detektor. Detektor menghasilkan suatu sinyal proporsional pada sejumlah senyawa yang melewatinya dan sinyal tersebut diproses serta dilanjutkan ke sebuah integrator atau alat perekam lainnya. Senyawa yang keluar dari kolom memiliki karakteristik waktu retensi masing-masing, yang didefinisikan sebagai waktu interval dari penyuntikan ke respon detektor puncak.

Kromatografi gas dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan analisis kuantitatif. Analisis kualitatif dilakukan dengan membandingkan waktu retensi zat yang diuji dengan baku pembanding (standar) pada kondisi analisis yang sama. Sedangkan analisis kuantitatif dilakukan dengan suatu perhitungan terhadap tinggi dan luas puncak yang diperoleh dari kromatogram sampel terhadap baku pembanding (standar) (Adamovics, 1997). Kromatografi gas memiliki beberapa keuntungan, yaitu:

- a. Analisis kuantitatif memberikan tingkat akurasi yang tinggi.
- b. Sensitivitas tinggi, yaitu mampu mendeteksi sampel dalam satuan ppm (*part per million*) atau bahkan hingga ppb (*part per billion*).
- c. Sampel yang diperlukan jumlahnya kecil, biasanya dalam μL .
- d. Lebih efisien dan menghasilkan resolusi yang tinggi.
- e. Relatif sederhana

Namun, kromatografi gas juga memiliki beberapa kekurangan, misalnya preparasi sampel yang sulit bila dalam jumlah besar, terbatas hanya untuk bahan-bahan yang mudah menguap, serta tidak dapat digunakan untuk analisis bahan yang tidak tahan terhadap panas (*termolabil*).

2.4 Kromatografi Lapis Tipis Densitometri (Touchstone dan Dobbins, 1983; Harmita, 2006)

2.4.1 Penggunaan Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah metode pemisahan suatu campuran menjadi komponen masing-masing. Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode pemisahan fisikokimia yang didasarkan atas penjerapan, partisi (pembagian) atau gabungan keduanya. Kromatografi lapis tipis dapat digunakan untuk analisis yang cepat terhadap komposisi campuran baik kualitatif maupun kuantitatif. KLT biasa digunakan untuk menentukan kondisi percobaan dari kromatografi kolom. Selain itu KLT dapat digunakan untuk memisahkan dan mengidentifikasi suatu komponen dalam campuran obat, ekstrak tanaman, dan preparat biokimia serta mendeteksi kontaminan dan pemalsuan.

Beberapa keuntungan dari metode KLT yaitu mudah digunakan, aplikasinya luas untuk sampel yang bermacam-macam, sensitivitas tinggi, proses

pemisahan cepat, relatif murah, menggunakan lebih sedikit pelarut, dapat memisahkan sampel dalam jumlah totalan yang banyak, peralatan yang digunakan sederhana, dan jumlah zat yang diperiksa cukup kecil (kira-kira 0,01 g senyawa murni dan 0,1 g untuk simplisia. Kekurangan dari metode ini yaitu memerlukan waktu tambahan untuk persiapan lempeng, kecuali lempeng telah tersedia.

2.4.2 Fase Diam

Pada kromatografi lapis tipis digunakan lempeng tipis yang terdiri dari butir penyerap atau pendukung dilapiskan pada lempeng kaca, logam, dan lain-lain. Ukuran standar lempeng KLT yaitu 20 x 20 cm. Fase diam yang digunakan biasanya terbuat dari butiran matriks halus silika gel, magnesium silikat, aluminium oksida, dan selulosa. Sebelum digunakan, lempeng KLT harus diaktivasi terlebih dahulu. Umumnya suhu yang digunakan adalah 120°C selama 30 menit.

2.4.3 Fase Gerak

Pemisahan terjadi dengan melewati pelarut (fase gerak) melintasi lapisan. Fase gerak yang digunakan dapat terdiri dari beberapa campuran pelarut yang disesuaikan dengan polaritas zat yang akan dipisahkan. Selain itu, perlu diperhatikan bahwa pelarut harus mudah menguap dan tidak meninggalkan sisa agar tidak mengganggu pengamatan bercak. Sebagai fase gerak dapat digunakan alkohol, fenol-fenol, asam-asam, hidrokarbon, atau campuran yang dapat memisahkan bercak dengan sempurna.

Fase gerak dapat berpindah melewati medium karena adanya aksi kapiler, dan proses ini disebut dengan pengembangan. Pada metode ini, semakin banyak informasi mengenai sampel yang diketahui, maka akan semakin mudah dalam menentukan fase gerak dan adsorben yang akan digunakan untuk pemisahan. Pemisahan berdasarkan koefisien distribusi senyawa terhadap fase diam dan fase gerak. Setelah terpisah masing-masing bercak dihitung nilai retardasi faktornya (R_f). R_f adalah jarak bercak sampel dibagi dengan jarak rambat eluen.

2.4.4 Pengamatan Bercak

Lempeng dapat diamati bercaknya dengan sinar ultra violet langsung atau dengan pereaksi kimia tertentu. Pereaksi yang digunakan tidak boleh merusak

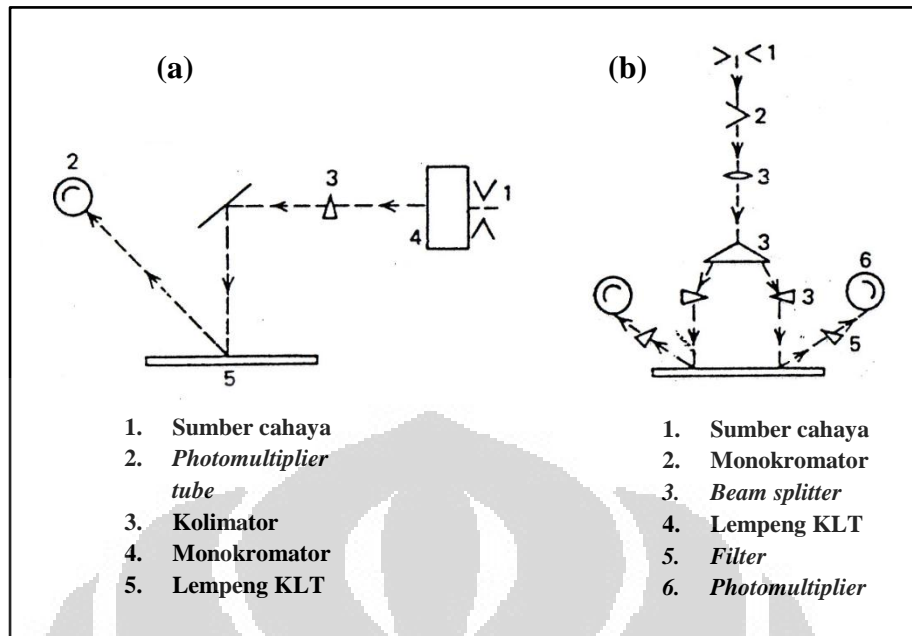
senyawa yang akan ditampakkan. Pereaksi penampak digunakan dengan cara menyemprotkannya pada lempeng atau mencelupkan lempeng ke dalam pereaksi. Pencelupan umumnya dilakukan untuk mendapatkan hasil sensitif pada proses analisis kuantitatif menggunakan *TLC Scanner*. Penting untuk diperhatikan pada teknik penyemprotan bahwa larutan penampak bercak harus tersebar dalam bentuk kabutan halus dan merata.

Pereaksi yang umum digunakan adalah uap iodium, asam sulfat pekat, dan campuran asam sulfat pekat dengan kalium bikromat atau dengan asam nitrat. Pereaksi spesifik digunakan untuk golongan senyawa tertentu, misalnya kapsaisin yang memiliki rantai karbon panjang dapat dideteksi dengan pereaksi anisaldehyd dalam asam sulfat pekat (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

2.4.5 Kuantitasi Bercak secara KLT Densitometri

Hasil pengembangan dan bercak yang telah ditampakkan dapat dianalisis secara kuantitatif menggunakan beberapa metode, yaitu gravimetri, spektrofotometri, atau dengan alat *TLC Scanner* (KLT Densitometer). Densitometri merupakan pengukuran sifat-sifat absorbs atau fluoresensi suatu zat langsung pada kromatogram lapisan tipis menggunakan alat dengan sumber cahaya tunggal atau ganda, baik berdasarkan cahaya yang ditransmisikan maupun yang direfleksikan oleh bercak pada lempeng.

Cara ini banyak digunakan dalam analisis farmasi karena sensitif dan reproduksibel. Secara mendasar, sistem optik dari keseluruhan instrumen KLT Densitometer terdiri dari sumber cahaya, sistem pemfokusan dan kondensasi, serta sebuah detektor cahaya. Prinsip pengukuran dengan densitometer yaitu dengan penembakan sinar monokromatis dan biasanya dikonstruksikan untuk membaca hasil KLT dengan mode transmisi. Sumber cahaya dapat berada di atas ataupun di bawah lapisan tipis, dengan fotosensor pada sisi lawannya untuk transmisi atau pada sisi yang sama dari pantulannya. Sumber cahaya dapat berupa hidrogen, merkuri, merkuri-xenon bertekanan tinggi, lampu xenon untuk sinar ultraviolet atau sebuah lampu pijar untuk cahaya visibel.



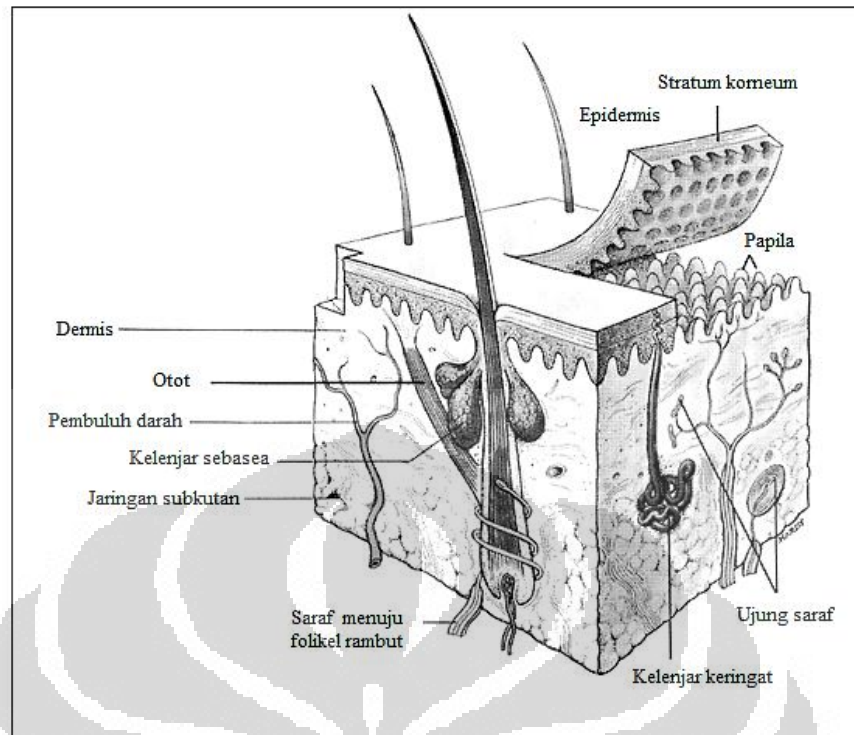
[Sumber: Touchstone dan Dobbins, 1983]

Gambar 2.4. Sistem sederhana 2 tipe alat spektrodensitometer. (a) *Single beam* dan (b) *double beam*. (telah diolah kembali)

Hasil pembacaan dapat dihitung dengan metode pengukuran tinggi puncak, luas puncak, atau potong timbang. Namun, pengukuran dengan metode tinggi puncak lebih akurat dibandingkan metode luas puncak karena tinggi puncak lebih sedikit dipengaruhi oleh penumpukan bercak.

2.5 Kulit

Kulit merupakan bagian terluar tubuh yang terlibat dalam mekanisme pertahanan tubuh dan berbagai fungsi penting lain. Kulit manusia mempunyai ketebalan yang bervariasi, mulai dari 0,5 mm hingga 5 mm, dengan luas permukaan sekitar 2 m² dan berat sekitar 4 kg jika tanpa lemak dan 10 kg jika dengan lemaknya (Tranggono dan Latifah, 2007). Kulit terdiri dari dua lapisan utama yaitu epidermis dan dermis. Di bawah lapisan dermis terdapat jaringan subkutis atau jaringan lemak bawah kulit yang disebut dengan hipodermis.



[Sumber: Corwin, 2008]

Gambar 2.5. Struktur tiga dimensi kulit (telah diolah kembali).

2.5.1 Anatomi Kulit (Xiaoling dan Jasti, 2006)

2.5.1.1 Epidermis

Epidermis memiliki ketebalan 50-100 μm . Epidermis terbagi menjadi lima lapisan kulit, secara berurutan dari luar ke dalam adalah lapisan tanduk (*stratum korneum*), lapisan bening (*stratum lucidum*), lapisan butir (*stratum granulosum*), lapisan tajuk (*stratum spinosum*), dan lapisan tunas (*stratum basale*).

a. Lapisan tanduk (*stratum korneum*)

Lapisan tanduk memiliki ketebalan 10-20 μm . Lapisan ini tersusun dari korneosit, Lapisan tanduk terdapat di permukaan kulit. Secara alami, sel-sel yang sudah mati di permukaan kulit akan melepaskan diri untuk berregenerasi. Permukaan stratum korneum dilapisi oleh suatu lapisan pelindung lembab tipis yang bersifat asam, disebut mantel asam kulit.

b. Lapisan jernih (*stratum lucidum*)

Lapisan jernih yang terletak tepat di bawah stratum korneum, merupakan lapisan yang tipis dan jernih.

c. Lapisan butir (*stratum granulosum*)

Lapisan ini terdiri dari satu atau dua lapisan sel-sel mati (sel gepeng), memanjang secara horizontal dan mengandung substansi kecil yang disebut keratohialin.

d. Lapisan tajuk (*stratum spinosum*)

Lapisan ini memiliki sel yang berbentuk kubus dan seperti berduri. Inti pada lapisan ini besar dan berbentuk oval dan setiap sel berisi filamen-filamen kecil yang terdiri atas serabut protein.

e. Lapisan basal (*stratum granulosum*)

Lapisan basal merupakan lapisan terdalam dari epidermis. Pada lapisan ini terdapat sel-sel yang membelah terus-menerus. Lapisan ini membatasi epidermis dengan dermis. Selain itu pada lapisan basal terdapat melanosit yang menghasilkan pigmen pada kulit serta melindungi kulit dari paparan sinar ultraviolet.

2.5.1.2 Dermis

Dermis memiliki ketebalan 2-3 mm. Pada lapisan ini terdapat kolagen, serat elastis, dan berbagai jenis sel seperti fibroblas, sel mast, makrofag, dan limfosit. Selain itu pada lapisan ini pun terdapat pembuluh darah, syaraf, folikel rambut, kelenjar keringat, dan kelenjar sebacea. Kesemuanya ini berfungsi dalam kelenturan kulit dan menentukan penampakan kulit, apakah licin, halus, mulus atau berkerut.

2.5.1.3 Hipodermis

Hipodermis atau lapisan lemak subkutan merupakan lapisan kulit yang terletak paling dalam. Lapisan ini merupakan kumpulan dari sel lemak yang berfungsi dalam penyimpanan energi, pengaturan temperatur, dan pelindung mekanik tubuh (Lund, 1994).

2.5.2 Fungsi Kulit (Langley dan Lester, 1958)

2.5.2.1 Fungsi Proteksi

Kulit menjaga tubuh dari berbagai gangguan eksternal. Gangguan tersebut dapat berupa gangguan fisik, mekanik, sinar ultraviolet, ataupun kimia.

2.5.2.2 Fungsi Absorpsi

Kulit dapat menyerap bahan-bahan yang memiliki permeabilitas terhadap lapisan tanduk. Bahan-bahan tersebut misalnya senyawa yang mudah menguap dan memiliki kelarutan dalam lemak. Absorpsi melalui kulit dapat terjadi secara transepidermal dan transappendageal.

2.5.2.3 Fungsi Pembentuk Vitamin D

Pada kulit terdapat provitamin D yang dapat diubah menjadi vitamin D dengan bantuan sinar matahari.

2.5.2.4 Fungsi Ekskresi

Beberapa senyawa sisa metabolisme dapat diekskresikan melalui kulit, misalnya NaCl, urea, asam urat, ammonia, dan sedikit lemak.

2.5.2.5 Fungsi Pengindra

Pada lapisan dermis dan subkutis terdapat syaraf-syaraf pengindra yang peka terhadap rangsangan suhu, mekanik dan fisik.

2.5.2.6 Fungsi Pigmentasi

Seperti telah disebutkan sebelumnya, pada lapisan basal epidermis terdapat melanosit yang menghasilkan pigmen warna pada kulit.

2.5.2.7 Fungsi Homeostasis

Fungsi homeostasis kulit yaitu mengatur suhu tubuh (termoregulasi). Kulit dapat mengeluarkan keringat dan mengerutkan otot dinding pembuluh darah kulit. Pada suhu tubuh meningkat, kelenjar kulit mengeluarkan banyak keringat ke permukaan kulit dan dengan penguapan keringat tersebut terbuang pula panas tubuh.

2.6 Absorpsi Obat Melalui Kulit

Sediaan topikal digunakan untuk memberikan efek obat yang terlokalisasi pada tempat penggunaan berdasarkan atas penetrasi obat ke dalam lapisan bawah kulit atau membran mukosa (Lionberger dan Brennan, 2010) dan dapat pula digunakan untuk memperoleh efek sistemik. Efek sistemik suatu obat dapat tercapai melalui sistem penghantaran transdermal.

Keuntungan utama dari pemberian obat secara transdermal adalah dapat menghindari metabolisme lintas pertama dan ditujukan untuk menghindari resiko serta hal-hal yang tidak diinginkan pada terapi secara intravena dan variasi kondisi yang dapat mempengaruhi absorpsi obat per oral seperti perubahan pH, keberadaan enzim pencernaan, dan waktu pengosongan lambung (Panwar, Upadhyay, Bairagi, Gujar, Darwhekar dan Jain, 2011).

Untuk memperoleh efek sistemik suatu obat harus dapat terabsorpsi melalui kulit. Absorpsi obat melintasi kulit dapat terjadi karena adanya proses difusi melalui dua mekanisme (Walters, 1993; Lund, 1994).

2.6.1 Absorpsi Transepidermal

Lapisan penentu pada kulit yang menunjang absorpsi transepidermal adalah stratum korneum. Jalur absorpsi transepidermal merupakan jalur difusi melalui stratum korneum yang terjadi melalui dua jalur, yaitu jalur transelular yang berarti jalur melalui protein di dalam sel dan melewati daerah yang kaya akan lipid, dan jalur paraselular yang berarti jalur melalui ruang antar sel. Penetrasi transepidermal berlangsung melalui dua tahap. Pertama, pelepasan obat dari pembawa ke stratum korneum, tergantung koefisien partisi obat dalam pembawa dan stratum korneum. Kedua, difusi melalui epidermis dan dermis dibantu oleh aliran pembuluh darah dalam lapisan dermis.

2.6.2 Absorpsi Transappendageal

Jalur absorpsi transappendageal merupakan jalur masuknya obat melalui folikel rambut dan kelenjar keringat disebabkan karena adanya pori-pori di antaranya, sehingga memungkinkan obat berpenetrasi.

Penetrasi obat melalui jalur transepidermal lebih baik daripada jalur transappendageal, karena luas permukaan pada jalur transappendageal lebih kecil. Meskipun beberapa bahan lain pun dapat terabsorpsi melalui rute topikal, namun konsentrasinya kecil dan tidak menimbulkan efek terapi yang bermakna (Khullar, Deepinder, Nimrata, dan Seema, 2012).

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi absorpsi obat melalui kulit yaitu (Panwar, Upadhyay, Bairagi, Gujar, Darwhekar dan Jain, 2011):

- a. Faktor fisiologi, seperti ketebalan kulit, jumlah lemak, kerapatan folikel rambut dan kelenjar keringat, suhu tubuh, pH kulit, aliran darah, hidrasi kulit, dan inflamasi pada kulit.
- b. Faktor fisikokimia obat, seperti koefisien partisi, berat molekul (< 400 dalton), dan derajat ionisasi obat (hanya obat yang tidak terionisasi yang dapat diabsorpsi dengan baik).
- c. Faktor formulasi, seperti pH sediaan, profil pelepasan obat dari pembawa, pembawa yang dapat meningkatkan kelembaban kulit, dan penggunaan bahan-bahan peningkat penetrasi percutan seperti urea, dimetilsulfoksida, etanol dll.

2.7 Gel dan Emulgel

2.7.1 Gel

Berbeda dengan emulsi, gel adalah sistem padat atau setengah padat dari paling sedikit dua konstituen yang terdiri dari massa yang rapat dan diselusupi oleh cairan (Martin, Swarbrick dan Cammarata, 1983). Fase dalam gel terdiri dari fase padat dan sebuah fase cair (Voigt, 1995). Menurut Kumar dan Vemar (2010) gel merupakan kelas bentuk sediaan baru yang dibuat dengan menjerap sejumlah besar air atau larutan hidroalkoholik ke dalam jaringan partikel padat koloidal, yang dapat mengandung bahan anorganik seperti garam aluminium sehingga disebut gel anorganik (Martin, Swarbrick dan Cammarata, 1983) atau polimer organik alami ataupun sintetik.

Bila dibandingkan dengan krim atau salep, gel memiliki komponen air yang lebih tinggi sehingga memudahkan disolusi obat dalam jumlah besar dan juga obat dengan mudah dapat bermigrasi melintasi pembawa yang utamanya adalah cairan (Gennaro, 1995; Ansel, 1989). Namun gel memiliki keterbatasan yaitu tidak dapat membawa obat yang bersifat hidrofobik atau tidak larut dalam air (Panwar, Upadhyay, Bairagi, Gujar, Darwhekar dan Jain, 2011).

2.7.2 Emulgel (Panwar, Upadhyay, Bairagi, Gujar, Darwhekar dan Jain, 2011)

Emulgel adalah emulsi, baik itu tipe minyak dalam air (M/A) maupun air dalam minyak (A/M), yang dibuat menjadi sediaan gel dengan mencampurkan bahan pembentuk gel (Mohamed, 2004; Jain, Gautam, Gupta, Khambete, dan Jain, 2010; Bhanu, Shanmugam, dan Lakshmi, 2011). Sedangkan emulsi adalah

suatu sistem yang tidak stabil secara termodinamika yang mengandung paling sedikit dua fase cair yang tidak bercampur, di mana satu di antaranya didispersikan sebagai globul-globul dalam fase cair lain (Martin, Swarbrick, dan Cammarata, 1983). Fase tersebut terdiri dari fase hidrofil, umumnya adalah air, dan fase lipofil (hidrofob) yaitu minyak mineral, minyak tumbuhan, atau pelarut lipofil seperti kloroform, benzen, dan sebagainya. Untuk menstabilkan emulsi dibutuhkan emulgator atau bahan pengemulsi (Voigt, 1995).

Emulsi sering digunakan sebagai bentuk sediaan topikal karena memiliki tingkat elegansi tertentu dan dapat dengan mudah dicuci dengan air kapan pun bila diinginkan. Emulsi juga memiliki kemampuan penetrasi yang tinggi dalam menembus lapisan kulit. Selain itu, peneliti dapat dengan mudah mengatur penampilan, kelicinan, dan kekentalannya untuk dibuat suatu sediaan emulsi kosmetik atau dermatologis (Mohamed, 2004).

Terdapat dua tipe emulsi sederhana, yaitu emulsi air dalam minyak (A/M) dan emulsi minyak dalam air (M/A). Emulsi air dalam minyak terbentuk bila medium pendispersi/fase kontinu/fase luar adalah minyak dan fase terdispersi/fase dalam adalah air. Sedangkan emulsi minyak dalam air merupakan minyak sebagai fase dalam didispersikan di dalam fase kontinu air (Martin, Swarbrick, dan Cammarata, 1983). Baik emulsi minyak dalam air atau air dalam minyak telah banyak digunakan sebagai bahan pembawa untuk menghantarkan obat melalui rute pemberian topikal (Mohamed, 2004). Namun emulsi minyak dalam air merupakan tipe emulsi yang paling banyak digunakan karena lebih mudah dihilangkan dari kulit serta tidak mengotori pakaian. Basis ini disebut dengan basis tercuci. Kerugian dari basis ini adalah air dapat menguap serta bakteri dan jamur lebih mudah tumbuh sehingga memerlukan pengawet.

Pada emulgel, emulsi dicampurkan ke dalam basis gel yang telah dibuat secara terpisah. Kapasitas gel dari sediaan emulgel membuat formulasi emulsi menjadi lebih stabil karena adanya penurunan tegangan permukaan dan tegangan antar muka secara bersamaan dengan meningkatnya viskositas dari fase air (Khullar, Deepinder, Nimrata, dan Seema, 2012). Emulgel memiliki karakteristik yang dimiliki oleh suatu sediaan emulsi dan gel sehingga memiliki tingkat

penerimaan oleh pasien yang tinggi. Oleh karena itu, emulgel saat ini telah banyak digunakan sebagai pembawa dalam sediaan topikal.

Dibandingkan dengan sediaan lain, emulgel memiliki beberapa kelebihan, yaitu:

- a. Dapat membawa obat yang bersifat hidrofobik dan tidak larut air. Obat-obat hidrofobik tidak dapat dicampurkan secara langsung ke dalam basis gel biasa karena kelarutan menjadi penghalang utama dan menjadi masalah ketika obat akan dilepaskan. Emulgel membantu mencampurkan obat hidrofobik ke dalam fase minyak lalu globul minyak tersebut didispersikan dalam fase air dengan mencampurkannya pada basis gel.
- b. Stabilitas yang lebih baik. Sediaan transdermal/topikal lain memiliki stabilitas yang lebih rendah bila dibandingkan dengan emulgel. Misalnya sediaan serbuk bersifat higroskopis, krim yang menunjukkan inversi fase atau *breaking* dan salep dapat menjadi tengik karena menggunakan basis berminyak.
- c. Kapasitas penyerapan obat yang lebih baik bila dibandingkan dengan sistem partikulat seperti niosom dan liposom. Niosom dan liposom yang berukuran nano dan merupakan struktur vesikular dapat terjadi kebocoran sehingga dapat menyebabkan efisiensi penyerapan yang lebih rendah. Sedangkan gel yang merupakan konstituen dengan jaringan yang lebih luas dapat menyerap obat lebih baik.
- d. Memungkinkan biaya produksi yang lebih rendah. Pembuatan emulgel terdiri dari tahapan yang pendek dan sederhana sehingga memungkinkan untuk diproduksi. Tidak ada alat khusus yang dibutuhkan untuk memproduksi emulgel. Selain itu, bahan yang digunakan merupakan bahan yang mudah dijangkau secara ketersediaan dan ekonomis.
- e. Tidak memerlukan proses sonikasi yang intensif. Dalam membuat molekul vesikular memerlukan sonikasi yang dapat menyebabkan kebocoran atau degradasi obat. Namun, permasalahan ini tidak ditemui ketika membuat emulgel karena tidak memerlukan sonikasi.
- f. Emulgel dapat dibuat menjadi sediaan lepas terkendali untuk obat-obat dengan waktu paruh pendek.

Untuk membuat emulgel, diperlukan komponen penting seperti berikut.

a. Bahan berair

Bahan ini digunakan untuk membentuk fase air dari emulsi. Bahan yang sering digunakan adalah air dan alkohol.

b. Minyak

Bahan ini digunakan untuk membentuk fase minyak dari emulsi. Untuk emulsi topikal biasanya minyak mineral digunakan baik merupakan komponen tunggal atau kombinasi dengan paraffin cair atau padat. Minyak tersebut secara luas digunakan sebagai pembawa bahan obat. Minyak yang digunakan untuk pemberian oral pun dapat digunakan sebagai fase minyak, misalnya minyak biji jarak, minyak ikan, ataupun minyak nabati.

c. Bahan pengemulsi

Bahan pengemulsi digunakan baik untuk membentuk emulsi selama pembuatan ataupun untuk mengontrol stabilitas selama penyimpanan. Bahan pengemulsi yang biasa digunakan dalam formulasi emulgel adalah polietilen glikol 40 stearat, sorbitan monooleat dan monolaurat (Span 80 dan Span 20), polioksietilen sorbitan monooleat dan monolaurat (Tween 80 dan Tween 20), asam stearat, dan natrium stearat.

d. Bahan pembentuk gel

Bahan ini digunakan untuk meningkatkan konsistensi dan viskositas sediaan farmasi.

2.8 Formulasi Emulgel dan Gel

2.8.1 Formula Emulgel

Beberapa peneliti telah memformulasikan emulgel untuk berbagai tujuan, misalnya sebagai obat anti-inflamasi (Bhanu, Shanmugam, dan Lakshmi, 2011; Khullar, Deepinder, Nimrata, dan Seema, 2012) dan anti jamur (Jain, Gautam, Gupta, Khambete, dan Jain, 2010; Khambete, Jain, Deveda, Vyas, dan Jain, 2010; Bhanu, Shanmugam, dan Lakshmi, 2011; Jain, Deveda, Vyas, Chauhan, Khambete, dan Jain, S., 2011). Basis emulgel yang digunakan dalam penelitian ini sesuai dengan formula berikut.

R/	Karbomer 2%	2,00%
	NaOH	0,60%
	Minyak zaitun	5,00%
	Tween 60	3,60%
	Span 20	1,40%
	Propilen glikol	5,00%
	Etanol 96%	3,00%
	Mentol	1,00%
	Butilhidroksitoluen (BHT)	0,03%
	Air suling hingga	100%

2.8.2 Formula Gel

Pada penelitian ini basis sediaan gel dibuat dengan formula berikut:

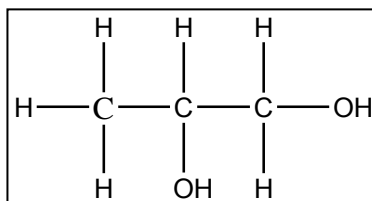
R/	Karbomer	2,00%
	NaOH	0,60%
	Propilen glikol	5,00%
	Etanol 96%	3,00%
	Mentol	1,00%
	Butilhidroksitoluen (BHT)	0,03%
	Air suling hingga	100%

2.9 Bahan Tambahan dalam Formulasi

2.9.1 Karbomer

Karbomer atau karbopol merupakan homopolimer dari polimer akrilik. Pemerannya berupa serbuk berwarna putih, halus, higroskopis, dan bersifat asam. Karbomer digunakan sebagai bahan pengemulsi, pembentuk gel, penyuspensi, dan pengikat tablet pada berbagai produk farmasi. Karbomer dengan konsentrasi 0,5-2,0% digunakan sebagai bahan pembentuk gel. Karbomer larut dalam air dan setelah dinetralkan larut dalam etanol 95%. Karbomer dalam larutan 0,5% memiliki pH sebesar 2,7-3,5 serta memiliki viskositas yang rendah dan bila telah dinetralkan dengan basa, seperti NaOH, akan memiliki viskositas yang tinggi. Viskositas akan berkurang apabila pH kurang dari 3 atau lebih besar dari 12 (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009).

2.9.2 Propilen Glikol

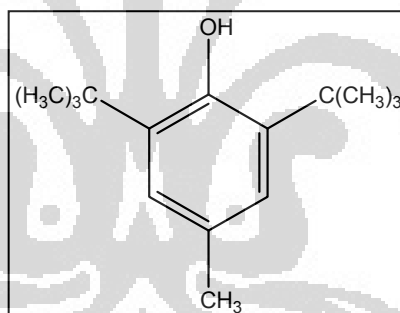


[Sumber: Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009]

Gambar 2.6 Struktur kimia propilen glikol (telah diolah kembali)

Merupakan cairan jernih, tidak berwarna, manis, kental dan praktis tidak berbau. Senyawa ini larut dalam aseton, kloroform, air, gliserin, eter dan etanol, namun tidak larut dalam minyak mineral. Propilen glikol dapat digunakan sebagai humektan, *plastisizer*, pelarut, *stabilizer* dan disinfektan. Dalam formula ini digunakan sebagai humektan. Konsentrasi propilen glikol sebagai humektan yaitu 5-15% (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009).

2.9.3 Butilhidroksitoluen (BHT)



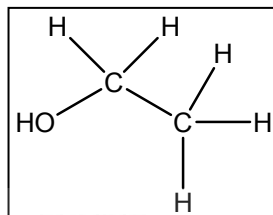
[Sumber: Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009]

Gambar 2.7 Struktur kimia butilhidroksitoluen (BHT) (telah diolah kembali)

Butilhidroksitoluen berbentuk padatan kristalin atau serbuk dengan warna putih atau kuning pucat. Senyawa ini banyak digunakan pada formulasi sebagai antioksidan. Senyawa ini terutama digunakan untuk memperlambat atau mencegah oksidasi dari fase lemak dan minyak. Pada sediaan topikal biasa digunakan sebesar 0,0075-0,1%. BHT mudah larut dalam aseton, benzen, metanol, dan parafin cair. Walaupun telah dilaporkan adanya beberapa reaksi efek samping pada kulit, BHT tetap dinyatakan sebagai zat noniritan dan tidak

mensensitasi jika digunakan dengan konsentrasi yang biasa digunakan sebagai antioksidan (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009).

2.9.4 Etanol 96%

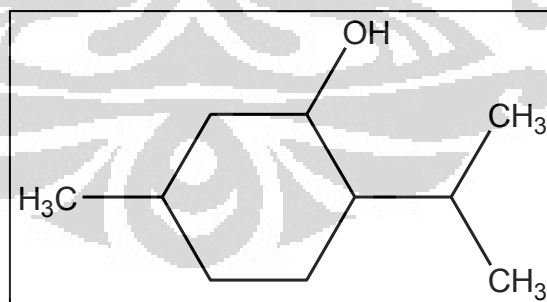


[Sumber: Sumber: Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009]

Gambar 2.8 Struktur kimia etanol (telah diolah kembali)

Spiritus fortior atau etanol 96% merupakan cairan bening yang mudah menguap pada suhu rendah, jernih, memiliki bau yang khas dan mudah terbakar. Etanol dapat bercampur dengan air, kloroform, eter dan gliserin. Etanol dapat digunakan sebagai antimikroba (konsentrasi lebih dari 10% v/v), disinfektan dan pelarut dalam sediaan topikal (konsentrasi 60-90% v/v). Etanol dalam formula ini digunakan sebagai peningkat penetrasi percutan dan pelarut (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009).

2.9.5 Mentol



[Sumber : Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009]

Gambar 2.9 Struktur kimia mentol (telah diolah kembali)

Mentol dengan rumus struktur $C_{10}H_{20}O$ berupa serbuk kristal mudah mengalir atau teraglomerasi; kristal berbentuk prisma, sirkuler, atau heksagonal;

tidak berwarna; dengan bau dan rasa yang kuat. Mentol larut dalam aseton dan benzen, sukar larut dalam gliserin, dan praktis tidak larut dalam air. Mentol secara luas digunakan dalam industri farmasetika, permen, dan produk kebersihan sebagai agen peningkat rasa dan aroma, selain itu dimanfaatkan dalam banyak pembuatan sediaan topikal dengan sensasi sejuk dan segar. Selain itu, mentol juga digunakan dalam industri parfum, produk tembakau, permen kunyah, dan agen terapeutik. Ketika diaplikasikan ke kulit, mentol dapat memberikan sensasi sejuk dan menyegarkan. Mentol digunakan dalam sediaan krim, lotion, dan salep. Dalam formulasi topikal, mentol digunakan dalam konsentrasi 0,05 – 10% (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009).

2.9.6 Tween 60 (Polioksietilen-20-sorbitanmonostearat)

Tween 60 digunakan sebagai bahan pengemulsi, surfaktan nonionik, zat pensolubilisasi, zat pembasah, dan bahan penyuspensi. Tween 60 merupakan surfaktan nonionik hidrofilik yang sudah sering digunakan sebagai bahan pengemulsi dalam pembuatan emulsi minyak dalam air. Konsentrasi yang digunakan sebagai bahan pengemulsi bila dikombinasi dengan sorbitan ester adalah 1-10% (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009).

2.9.7 Span 20 (Sorbitan monolaurat)

Span 20 digunakan sebagai bahan pengemulsi, surfaktan nonionik, zat pensolubilisasi, zat pembasah, dan bahan penyuspensi. Sorbitan ester sudah umum digunakan dalam sediaan farmasi sebagai surfaktan nonionik lipofilik. Bahan ini terutama digunakan sebagai bahan pengemulsi dalam pembuatan krim, emulsi, dan salep untuk penggunaan topikal. Ketika digunakan sebagai bahan pengemulsi tunggal, sorbitan ester menghasilkan emulsi atau mikroemulsi air dalam minyak yang stabil, namun lebih sering digunakan dalam kombinasi dengan polisorbitat untuk menghasilkan konsistensi yang berbeda pada emulsi atau krim air dalam minyak atau minyak dalam air. Konsentrasi yang digunakan sebagai bahan pengemulsi bila dikombinasi dengan polisorbitat adalah 1-10% (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009).

2.9.8 Minyak Zaitun/*Oleum Olivarum* (Reynolds, 1982)

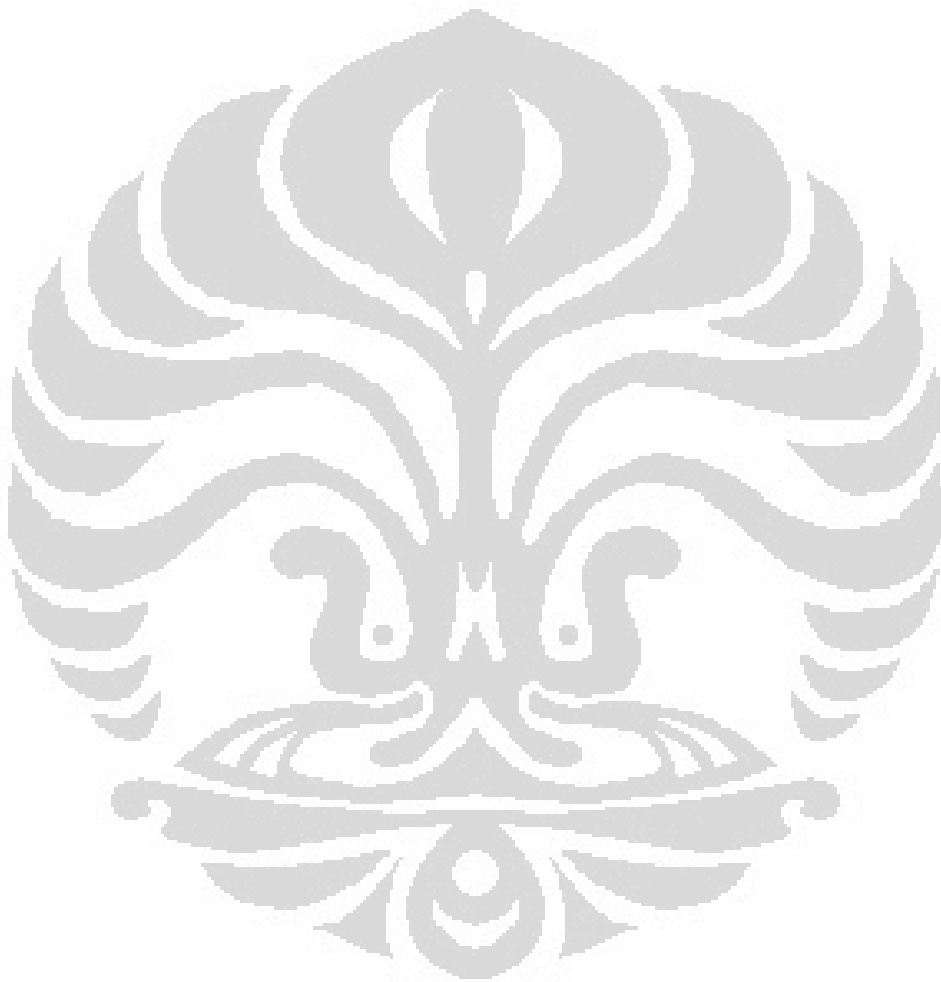
Menurut Farmakope Indonesia edisi III, minyak zaitun adalah minyak lemak yang diperoleh dengan pemerasan dingin biji masak *Olea europea* L. Pemerannya berupa cairan kuning pucat atau kuning kehijauan, berbau lemah, tidak tengik, rasa khas dan pada suhu rendah sebagian atau seluruhnya membeku. Terdiri dari gliserida, utamanya adalah asam oleat, dengan sedikit asam palmitat, linoleat, stearat, dan miristat. Mudah larut dalam etanol serta bercampur dengan aseton, karbon disulfida, kloroform, eter, dan petroleum eter. Minyak zaitun digunakan sebagai fase minyak dalam emulsi. Untuk pemakaian luar minyak zaitun digunakan sebagai emolien dan penyejuk pada permukaan yang mengalami inflamasi. Selain itu minyak zaitun juga digunakan untuk melembutkan kulit dan pelumas untuk memijat.

2.10 Penetapan Daya Penetrasi Sediaan secara *In Vitro* Menggunakan Sel Difusi Franz

Formulasi suatu sediaan transdermal yang baik harus dapat memberikan pelepasan obat yang optimal dan deposisi obat ke dalam lapisan kulit yang ingin dicapai yaitu stratum korneum, epidermis, atau dermis. Studi penetrasi kulit secara *in vitro* dilakukan untuk mengukur kecepatan dan jumlah senyawa yang melewati kulit, di mana hal tersebut bergantung pada obat, bentuk sediaan, bahan eksipien, bahan peningkat penetrasi, dan variabel formulasi lainnya (Witt dan Bucks, 2003)

Salah satu metode untuk menguji daya penetrasi suatu sediaan secara *in vitro* yaitu dengan menggunakan sel difusi Franz. Sel difusi Franz terbagi atas dua kompartemen yaitu kompartemen donor dan kompartemen reseptor dan dipisahkan oleh suatu membran atau potongan kulit. Membran yang digunakan dapat berupa kulit manusia atau kulit hewan atau membran artifisial. Membran diletakkan di antara kedua kompartemen yang dilengkapi dengan O-ring untuk menjaga letak membran. Selanjutnya kompartemen reseptor diisi dengan larutan penerima. Suhu pada sel dijaga dengan sirkulasi air menggunakan *water jacket* di sekeliling kompartemen reseptor. Sediaan yang akan diuji diaplikasikan pada membran kulit. Kemudian pada interval waktu tertentu cairan dari kompartemen reseptor diambil beberapa mL dan segera digantikan dengan cairan yang sama

sejumlah cairan yang diambil. Selanjutnya jumlah obat yang terpenetrasi melalui kulit dapat dianalisis dengan metode yang sesuai (Jia-You Fang, Ying-Yue Wang, Chi-Tzong Hong, dan Wen-Ta Chiu, 2001).



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penelitian Fitokimia, Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Kuantitatif dan Laboratorium Farmasetika Departemen Farmasi Fakultas MIPA Universitas Indonesia dari bulan Januari sampai Mei 2012.

3.2 Bahan

3.2.1 Simplisia

Buah cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) diperoleh dari Badan Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO), Jl. Tentara Pelajar no.3, Bogor, Jawa Barat. Kemudian dideterminasi oleh Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Jl. Raya Jakarta – Bogor Km.46, Cibinong. Buah cabai rawit dipetik saat masak, yaitu umur 6 bulan setelah penanaman lalu dikeringkan dan diserbukkan.

3.2.2 Hewan Uji

Pada penelitian ini digunakan tikus putih betina galur *Sprague Dawley* berumur 2-3 bulan dengan bobot berkisar 150-200 gram (Institut Pertanian Bogor, Indonesia).

3.2.3 Bahan Kimia dan Lain-Lain

Standar kapsaisinoid (56,7% kapsaisin dan 43,3% dihidrokapsaisin) (Sigma Aldrich, Singapura), diklormetana (teknis yang didestilasi dan pro analisis), metanol (Merck, Jerman), etanol 96% (Brataco, Indonesia), n-butanol (Merck, Jerman), Karbopol-940 (Lubrizol, Hongkong), minyak zaitun (Valdoro, Italia), Tween 60 (Merck, Jerman), Span 20 (Tokyo Chemical Industry, Jepang), propilen glikol (Dow Chemical Co.), mentol (Shanghai, xinhua), BHT (SPPChemical), kalium dihidrogen posfat (Merck, Jerman), natrium hidroksida (Merck, Jerman) dan air suling (Brataco, Indonesia).

3.3 Peralatan

Alat refluks, *rotary vacuum evaporator* (Janke dan Kunkel IKA, Jerman), kuvet kuarsa (Merck, Jerman), oven vakum, timbangan analitik (Accu-Lab), lempeng KLT Silika gel F₂₅₄ (Merck, Jerman), bejana KLT (CAMAG), pipet kapiler kuantitatif (CAMAG), *TLC Scanner III* (CAMAG), nanomat 4 (CAMAG), komputer yang dilengkapi dengan program winCATS, Kromatografi gas Shimadzu model GC-17A yang dilengkapi detektor ionisasi nyala, kolom kapiler dengan panjang 60 meter, diameter dalam 0,32 mm, dengan fase diam VB-wax, gas pembawa helium, pemroses data *Class GC Solution*, integrator CBM-102, *microsyringe* 5,0 µl (Hamilton Co.Nevada), lemari pendingin (Panasonic), penangas air (Memmert, Hongkong), *homogenizer* (Omni-Multimix Inc., Malaysia), penetrometer (Herzoo, Jerman), pH meter tipe-510 (Eutech Instrument, Singapura), oven (Memmert, Jerman), viskometer brookfield (Brookfield, USA), sel difusi Franz standar USP, mikroskop optik (Nikon model Eclipse E 200, Jepang), kamera digital (Canon Power Shot A470, Jepang), pengaduk magnetik (Boeco MSH-300, Jerman) sentrifugator (Kubota 5100, Jepang), termostat (Polyscience model 9000, Amerika Serikat), jangka sorong (Vernier Caliper, Cina), silet Goal (The Gillete Company, Jerman), dan alat-alat gelas.

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Ekstraksi Serbuk Buah Cabai Rawit

Ditimbang \pm 40 g serbuk cabai rawit kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 mL. Ke dalam erlenmeyer ditambahkan diklormetana yang telah didestilasi sebanyak 400 mL. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode refluks selama 20 menit di atas penangas air pada suhu 60-70 °C. Hasil refluks kemudian disaring dengan penyaring *buchner* dan residu pada kertas saring dicuci kembali dengan diklormetana hingga diperoleh filtrat yang bersih, proses pencucian dilakukan sebanyak 2-3 kali. Filtrat yang diperoleh kemudian dikumpulkan lalu diuapkan untuk menghilangkan pelarut menggunakan *rotary vacuum evaporator*, penangas air, dan oven vakum hingga diperoleh ekstrak kental berupa oleoresin. Proses ekstraksi dilakukan sebanyak 12 x 40 g serbuk simplisia yang baru.

3.4.2 Penetapan Kadar Diklormetana dalam Ekstrak secara Kromatografi Gas (Puranik, Sanjay, dan Rao, 2009)

3.4.2.1 Kondisi Kromatografi Gas

Analisis dilakukan dengan kolom kapiler VB-Wax (60 m x 0,32 mm); suhu injektor 230 °C; suhu detektor 250 °C; split ratio 1:50; suhu kolom 60 °C, dengan laju alir gas pembawa (He) 2,0 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 µL.

3.4.2.2 Pembuatan Larutan Standar Diklormetana dalam Pelarut n-Butanol untuk Analisis Kuantitatif

Dipipet 1,0 mL (setara dengan 1,32 g) diklormetana standar (BJ= 1,32 g/mL) lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL kemudian ditambahkan n-butanol hingga batas, kocok homogen hingga diperoleh larutan 132000 µg/mL. Dari larutan 132000 µg/mL dipipet 5,0 mL dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL lalu ditambahkan n-butanol hingga batas sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 66000 µg/mL. Kemudian larutan 66000 µg/mL dipipet 5,0 mL dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL, ditambahkan n-butanol hingga batas dan didapatkan larutan 33000 µg/mL. Larutan 33000 µg/mL dipipet 1,0 mL lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 25,0 mL, ditambahkan n-butanol hingga batas sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1320 µg/mL. Dari larutan 1320 µg/mL dipipet 2,0 mL diencerkan ke dalam labu 25,0 mL hingga didapat larutan 105,6 µg/mL. Dari larutan 1320 µg/mL dibuat pengenceran hingga diperoleh larutan 660 µg/mL. Sedangkan larutan dengan konsentrasi 660 µg/mL dibuat pengenceran hingga didapat larutan 330 µg/mL, masing-masing pengenceran menggunakan pipet 5,0 mL dan labu 10,0 mL. Untuk mendapatkan larutan 5280 µg/mL, dipipet 1,0 mL larutan 132000 µg/mL dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL lalu ditambahkan n-butanol hingga batas. Dari larutan 5280 µg/mL dipipet 2,0 mL lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 5 mL diencerkan dengan n-butanol hingga didapat larutan 2112 µg/mL. Larutan standar yang digunakan untuk pembuatan kurva kalibrasi adalah 5280 µg/mL, 2112 µg/mL, 1320 µg/mL, 660 µg/mL, 330 µg/mL, dan 105,6 µg/mL.

3.4.2.3 Penyiapan Larutan Sampel

Ditimbang seksama 1,250 g ekstrak buah cabai rawit kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL lalu ditambahkan n-butanol hingga batas hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 125000 $\mu\text{g/mL}$. Larutan dikocok hingga homogen kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Supernatan diambil dan siap disuntikkan. Langkah ini dilakukan sebanyak tiga kali.

3.4.2.4 Perhitungan Kadar Diklormetana

Dari kromatogram sampel diperoleh data luas puncak diklormetana pada waktu retensi tertentu. Nilai luas puncak tersebut digunakan untuk menghitung konsentrasi diklormetana dalam sampel berdasarkan kurva kalibrasi standar yang telah diperoleh.

$$y = a + bx \quad (3.1)$$

Keterangan:

x = Konsentrasi diklormetana ($\mu\text{g/mL}$)

y = Luas puncak

Setelah diperoleh konsentrasi menggunakan persamaan kurva kalibrasi di atas, dihitung kadar diklormetana dalam sampel menggunakan rumus di bawah ini.

$$\text{Kadar (\%)} = \frac{\text{Konsentrasi terukur}}{\text{Konsentrasi larutan sampel}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.4.3 Pemilihan Eluen untuk Penetapan Kadar Kapsaisinoid di dalam Ekstrak

Untuk mendapatkan eluen yang sesuai agar kapsaisinoid dalam ekstrak dapat terpisah dari senyawa lain maka dilakukan orientasi eluen. Eluen terpilih adalah eluen yang dapat memberikan profil pemisahan terbaik. Pemisahan dapat dilihat di bawah lampu ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm. Eluen yang diuji yaitu:

- a. Diklormetana-metanol (95:5)
- b. n Heksan-diklormetana-asam asetat glasial (7:2,5:0,5)

3.4.4 Penetapan Kadar Kapsaisinoid di Dalam Ekstrak Cabai Rawit secara KLT Densitometri (ASEAN, 1993; Soetarno, Sukrasno, Yulinah, dan Sylvia. 1997; Monforte-González, Medina-Lara, Gutiérrez-Carbajal, dan Vázquez-Flota, 2007)

3.4.4.1 Penyiapan Larutan Standar Kapsaisinoid untuk Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan standar yang digunakan yaitu 2440 µg/mL, 1220 µg/mL, 610 µg/mL, 305 µg/mL, dan 152,5 µg/mL. Untuk membuat larutan 2440 µg/mL, standar kapsaisinoid ditimbang seksama sebanyak 48,8 mg lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL secara kuantitatif, ditambahkan diklormetana hingga garis batas kemudian dikocok hingga larut. Dari larutan 4880 µg/mL dipipet 5,0 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL, ditambahkan diklormetana dan dikocok hingga larut sehingga didapat larutan dengan konsentrasi 2440 µg/mL. Dipipet sebanyak 5,0 mL larutan 2440 µg/mL lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL dan ditambahkan diklormetana hingga garis batas lalu dikocok hingga larut sehingga diperoleh larutan 1220 µg/mL. Dari larutan 1220 µg/mL dipipet sebanyak 5,0 mL lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL, ditambahkan diklormetana hingga garis batas kemudian dikocok hingga homogen sehingga diperoleh larutan 610 µg/mL. Dari larutan 610 µg/mL dipipet sebanyak 5,0 mL lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL, ditambahkan diklormetana hingga garis batas kemudian dikocok hingga homogen sehingga diperoleh larutan 305 µg/mL. Dari larutan 305 µg/mL dipipet sebanyak 5,0 mL lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL, ditambahkan diklormetana hingga garis batas kemudian dikocok hingga homogen sehingga diperoleh larutan 152,5 µg/mL.

3.4.4.2 Penyiapan Larutan Sampel

Ekstrak cabai rawit ditimbang seksama sebanyak $\pm 600,0$ mg, kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL. Ditambahkan diklormetana hingga garis batas labu, dikocok hingga larut dan diperoleh larutan sampel dengan konsentrasi 60000 µg/mL. Penyiapan sampel dilakukan sebanyak tiga kali.

3.4.4.3 Proses Pengembangan pada Lempeng KLT

Sebelum proses pengembangan dilakukan, bejana harus dijenuhkan terlebih dahulu dengan eluen yang digunakan selama 5 jam. Lempeng KLT diaktifkan terlebih dahulu dengan pemanasan dalam oven 120 °C selama 20 menit kemudian dielusi dengan metanol. Setelah dielusi, lempeng dikeringkan kembali di dalam oven.

Larutan standar kapsaisinoid dengan konsentrasi berbeda dan larutan sampel (triplo) ditotolkan pada lempeng KLT silika gel 60 F₂₅₄, masing-masing volume penotolan 5,0 µL. Penotolan dilakukan pada lempeng KLT ukuran 10 cm x 9 cm menggunakan alat penotol (Nanomat-4) dengan jarak antar titik penotolan 1,0 cm dan titik penotolan 1 cm dari tepi bawah. Lempeng yang sudah ditotolkan dan diberi tanda kemudian dikembangkan di dalam bejana yang telah jenuh dengan eluen dengan jarak pengembangan yaitu hingga 7,5 cm.

3.4.4.4 Pemilihan Panjang Gelombang Optimum untuk Deteksi

Untuk memperoleh panjang gelombang optimum dilakukan pengukuran serapan maksimum menggunakan *TLC Scanner* pada panjang gelombang 200-400 nm. Kemudian dicatat panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum.

3.4.4.5 Perhitungan Kadar Kapsaisinoid

Setelah elusi selesai, lempeng dikeringkan kemudian segera dianalisis menggunakan *TLC Scanner* pada panjang gelombang optimum yang telah diperoleh. Konsentrasi kapsaisinoid terukur dapat dihitung berdasarkan persamaan kurva kalibrasi yang telah diperoleh sesuai dengan persamaan berikut.

$$y = a + bx \quad (3.3)$$

Keterangan:

x = Konsentrasi terukur (µg)

y = Luas puncak atau tinggi puncak

Setelah diperoleh konsentrasi terukur menggunakan persamaan kurva kalibrasi di atas, dihitung kadar kapsaisin dalam sampel menggunakan rumus di bawah ini.

$$Kadar (\%) = \frac{Konsentrasi\ terukur \times 100}{Konsentrasi\ toltan} \quad (3.4)$$

Kadar yang diperoleh kemudian digunakan untuk perhitungan dosis ekstrak buah cabai rawit dalam formulasi gel dan emulgel.

3.4.5 Pembuatan Sediaan

Konsentrasi ekstrak buah cabai rawit yang digunakan dalam penelitian ini setara dengan kapsaisinoid 0,06 %. Perhitungan persentase komposisi bahan gel dan emulgel dapat dilihat seperti pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Komposisi bahan dalam sediaan gel dan emulgel

Bahan	Konsentrasi (%) (b/b)	
	Emulgel	Gel
Ekstrak cabai rawit	setara dengan kapsaisinoid 0,06	
Karbomer	2,00	2,00
NaOH	0,60	0,60
Minyak zaitun	5,00	-
Tween 60	3,60	-
Span 20	1,40	-
Propilen glikol	5,00	5,00
Etanol 96%	3,00	3,00
Mentol	1,00	1,00
BHT	0,03	0,03
Air suling hingga	100,0	100,0

3.4.6 Pembuatan Sediaan Emulgel (Mohamed, 2004)

Fase minyak dari emulsi dibuat dengan melarutkan Span 20, ekstrak cabai rawit dan BHT dalam minyak zaitun, sedangkan fase air dibuat dengan melarutkan Tween 60 dalam air suling. Masing-masing fase dipanaskan pada suhu 70-75 °C. Mentol dilarutkan di dalam etanol 96% kemudian dicampurkan ke dalam propilen glikol. Setelah masing-masing fase mencapai suhu ±70-75 °C . Fase minyak ditambahkan ke dalam fase air yang dilanjutkan dengan penambahan campuran mentol-etanol-propilen glikol. Campuran tersebut diaduk menggunakan

homogenizer dengan kecepatan 2500 rpm hingga suhu turun mencapai temperatur kamar dan terbentuk emulsi.

Basis gel dibuat dengan mendispersikan karbomer di dalam air suling sebanyak 30% dari total massa emulgel sambil diaduk hingga benar-benar terdispersi. NaOH dilarutkan dalam air suling sebanyak 7,4% dari massa total emulgel kemudian ditambahkan ke dalam basis gel karbomer menggunakan *homogenizer* dengan pengadukan 1500 rpm hingga terbentuk basis gel yang kental.

Untuk membuat emulgel, emulsi yang telah dibuat dicampurkan ke dalam basis gel sedikit demi sedikit dengan menggunakan *homogenizer* pengadukan 3000 rpm selama 30 menit atau hingga terbentuk massa emulgel yang homogen. Perbandingan antara emulsi dan basis gel adalah 6:4.

3.4.7 Pembuatan Sediaan Gel

Gel dibuat dengan mendispersikan karbomer di dalam air suling sebanyak 75,25% dari total massa emulgel sambil diaduk hingga benar-benar terdispersi. NaOH dilarutkan dalam air suling sebanyak 10% dari massa total emulgel kemudian ditambahkan ke dalam basis gel karbomer dengan pengadukan 1500 rpm hingga terbentuk basis gel yang kental. Mentol dilarutkan di dalam etanol 96% lalu dicampurkan ke dalam propilen glikol. Campuran tersebut ditambahkan ke dalam basis gel kemudian diaduk dengan kecepatan 500 rpm hingga homogen. Setelah terbentuk massa gel, ekstrak cabai rawit ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam gel hingga homogen menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit.

3.4.8 Evaluasi Sediaan (Singla, Seema, Joshi, dan Rana, 2012)

3.4.8.1 Organoleptis

Pengamatan organoleptis meliputi warna, bau, dan homogenitas.

3.4.8.2 Homogenitas Sediaan

Uji homogenitas sediaan dilakukan dengan cara mengoleskan sediaan di atas kaca objek, lalu diratakan dan diamati di bawah mikroskop, sediaan harus menunjukkan susunan yang homogen.

3.4.8.3 Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter yang telah dikalibrasi dengan dapar standar pH 4 dan pH 7. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam sediaan dan dicatat nilai pH yang tertera pada layar. Pengukuran dilakukan pada suhu ruang.

3.4.8.4 Pengukuran Viskositas dan Sifat Alir

Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan alat viskometer Brookfield. Cara pengujian yaitu sediaan dimasukkan ke dalam wadah berupa beaker glass 250 mL, spindel yang sesuai diturunkan hingga batas spindel tercelup ke dalam sediaan, kemudian motor dan spindel dinyalakan. Angka viskositas yang ditunjukkan oleh jarum merah dicatat, kemudian dikalikan dengan faktor koreksi pada tabel yang terdapat pada brosur alat. Nilai viskositas diperoleh dengan mengubah rpm dari 0,5; 1; 2; 2,5; 4; 10 dan 20 rpm. Selanjutnya dilakukan kebalikannya dari 20; 10; 4; 2,5; 2; 1; dan 0,5 rpm. Nilai viskositas dihitung pada pengukuran menggunakan 1 jenis spindel dan pada kecepatan tertentu.

3.4.8.5 Pemeriksaan Konsistensi (Haryuni, 2011)

Sediaan yang akan diperiksa dimasukkan ke dalam wadah khusus dan diletakkan pada meja penetrometer. Peralatan diatur hingga ujung kerucut menyentuh bayang permukaan sediaan. Batang pendorong dilepas dengan mendorong tombol *start*. Angka penetrasi dibaca lima detik setelah kerucut menembus sediaan. Dari pengukuran konsistensi dengan penetrometer akan diperoleh *yield value*. Pemeriksaan konsistensi dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-8 dengan penyimpanan pada suhu kamar.

3.4.8.6 Pengukuran Diameter Globul Rata-rata (Iswandana, 2009)

Sediaan emulsi dan emulgel diletakkan di atas masing-masing kaca objek dan ditutup dengan gelas penutup, kemudian diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000 kali yang dilengkapi lensa okuler mikrometer yang telah dikalibrasi. Diameter globul diukur dan dikali dengan faktor koreksi. Diameter globul rata-rata emulgel diukur pada minggu ke-0 dan minggu ke-8 menggunakan rumus Edmundson.

3.4.9 Uji Stabilitas Fisik Sediaan (Djajadisastra, 2004)

3.4.9.1 Uji stabilitas pada suhu tinggi

Stabilitas sediaan meliputi bau, warna, dan pH dievaluasi pada suhu $40^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ selama 8 minggu dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali.

3.4.9.2 Uji stabilitas pada suhu kamar

Stabilitas sediaan meliputi bau, warna, dan pH dievaluasi pada suhu ($28^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$) selama 8 minggu dan dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali.

3.4.9.3 Uji stabilitas pada suhu rendah

Stabilitas sediaan meliputi bau, warna, dan pH dievaluasi pada suhu $4^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$ selama 8 minggu dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali.

3.4.9.4 *Cycling test*

Sediaan disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam lalu dikeluarkan dan ditempatkan pada suhu 40°C selama 24 jam. Perlakuan ini adalah satu siklus. Percobaan diulang sebanyak 6 siklus. Kondisi fisik sediaan dibandingkan selama percobaan dengan sediaan sebelumnya, apakah terjadi sineresis atau kristalisasi.

3.4.9.5 Uji mekanik (Sentrifugasi)

Sampel disentrifugasi dengan kecepatan putaran 3800 rpm pada radius sentrifugasi selama 5 jam karena hasilnya ekuivalen dengan efek gravitasi selama 1 tahun. Setelah disentrifugasi, diamati apakah terjadi pemisahan antara fase minyak dengan fase air.

Tabel 3.2. Evaluasi terhadap sediaan emulgel dan gel

No.	Evaluasi	Bentuk Sediaan	
		Emulgel	Gel
1.	Organoleptis	√	√
2.	Homogenitas	√	√
3.	Pengukuran pH	√	√
4.	Viskositas	√	√
5.	Diameter globul rata-rata	√	-
6.	Stabilitas Fisik	√	√
	a. Penyimpanan berbagai suhu	√	√
	b. <i>Cycling test</i>	√	√
	c. Uji mekanik	√	-

3.4.10 Uji Penetrasi Kapsaisinoid secara *In Vitro* (Jia-You Fang, Ying-Yue Wang, Chi-Tzong Hong, dan Wen-Ta Chiu, 2001)

3.4.10.1 Penyiapan Larutan Standar Kapsaisinoid untuk Kurva Kalibrasi pada Uji Penetapan kandungan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis

Larutan standar yang digunakan yaitu 300 µg/mL, 144 µg/mL, 72 µg/mL, 36 µg/mL, dan 24 µg/mL. Standar kapsaisinoid ditimbang seksama sebanyak 30,0 mg lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 25,0 mL secara kuantitatif, ditambahkan metanol hingga garis batas kemudian dikocok hingga larut sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 1200 µg/mL. Dari larutan 1200 µg/mL dipipet 5,0 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL, ditambahkan metanol dan dikocok hingga larut sehingga didapat larutan dengan konsentrasi 600 µg/mL. Dari larutan 600 µg/mL dipipet 5,0 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL, ditambahkan diklormetana dan dikocok hingga larut sehingga didapat larutan dengan konsentrasi 300 µg/mL. Dipipet sebanyak 3,0 mL larutan 1200 µg/mL lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 25,0 mL dan ditambahkan metanol hingga garis batas lalu dikocok hingga larut sehingga diperoleh larutan 144 µg/mL. Dari larutan 144 µg/mL dipipet sebanyak 5,0 mL lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL, ditambahkan diklormetana hingga garis batas kemudian dikocok hingga homogen sehingga diperoleh larutan 72 µg/mL. Dari larutan 72 µg/mL dipipet sebanyak 5,0 mL lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL, ditambahkan metanol hingga garis batas kemudian dikocok hingga homogen sehingga diperoleh larutan 36 µg/mL. Dari larutan 600 µg/mL dipipet sebanyak 1,0 mL lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 25,0 mL, ditambahkan metanol hingga garis batas kemudian dikocok hingga homogen sehingga diperoleh larutan 24 µg/mL.

3.4.10.2 Uji Penetapan Kandungan (UPK) Kapsaisinoid dalam Sediaan

Sediaan ditimbang secara seksama sebanyak $\pm 1,0$ g. Sampel ditambahkan metanol 10 mL yang kemudian memisah, lalu disaring dengan menggunakan kertas saring dalam labu tentukur 25,0 mL. Kertas saring pertama kali dijenuhkan terlebih dahulu dengan metanol. Basis yang terpisah dicuci sebanyak tiga kali dengan metanol dengan setiap kali pencucian sebanyak 5 mL metanol. Larutan yang tersaring dicukupkan hingga batas labu tentukur dengan metanol. Hasil

penyaringan tersebut dihitung kadar kapsaisinoidnya menggunakan KLT densitometer sesuai prosedur 3.4.4.3-3.4.4.5 pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh dari penetapan kadar kapsaisinoid dalam ekstrak buah cabai rawit. Kadar kapsaisinoid dalam sediaan dihitung dengan rumus **3.3** (kurva kalibrasi yang telah diperoleh) dan **3.3**.

3.4.10.3 Pembuatan Larutan Dapar Posfat pH 7,4 (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995)

Kalium dihidrogen fosfat 0,2 M sebanyak 50,0 mL dimasukkan ke dalam labu tentukur 200,0 mL lalu ditambahkan 39,1 mL natrium hidroksida 0,2 N dan dicukupkan volumenya dengan air destilasi bebas karbondioksida, kemudian pH dapar dicek pada nilai 7,4.

3.4.10.4 Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar Kapsaisinoid dalam Pelarut Campuran Etanol dan Dapar Posfat pH 7,4 secara KLT Densitometri

Larutan standar kapsaisinoid yang digunakan untuk pembuatan kurva kalibrasi KLT densitometer yaitu 300 µg/mL, 150 µg/mL, 75 µg/mL, 48 µg/mL, 30 µg/mL, dan 15 µg/mL. Sebanyak 30,0 mg standar kapsaisinoid ditimbang seksama lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 25,0 mL secara kuantitatif, ditambahkan larutan campuran etanol 96%-dapar posfat pH 7,4 (selanjutnya larutan ini disebut dengan larutan EDP) hingga garis batas kemudian dikocok hingga larut dan didapatkan larutan dengan konsentrasi 1200 µg/mL. Dari larutan 1200 µg/mL dipipet 5,0 mL lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL, ditambahkan larutan EDP dan dikocok hingga larut sehingga didapat larutan dengan konsentrasi 600 µg/mL. Dipipet sebanyak 5,0 mL larutan 600 µg/mL lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL dan ditambahkan larutan EDP hingga garis batas lalu dikocok hingga larut sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 300 µg/mL. Dari larutan 300 µg/mL dipipet sebanyak 5,0 mL lalu dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL, ditambahkan larutan EDP hingga garis batas kemudian dikocok hingga homogen dan diperoleh larutan 150 µg/mL. Untuk memperoleh larutan 75 µg/mL dilakukan pengenceran terhadap larutan dengan konsentrasi 150 µg/mL seperti cara di atas. Dari larutan 1200 µg/mL dipipet 1,0 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 25,0 mL lalu

dilakukan pengenceran seperti cara di atas. Larutan 30 µg/mL dibuat dari pengenceran larutan 1200 µg/mL yang dipipet sebanyak 1,0 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL. Dari larutan 30 µg/mL dipipet 5,0 mL kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL lalu diencerkan dengan larutan EDP hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 15 µg/mL.

3.4.10.5 Uji Penetrasi Kapsaisinoid (Jia-You Fang, Ying-Yue Wang, Chi-Tzong Hong, dan Wen-Ta Chiu., 2001)

Membran yang digunakan adalah membran abdomen kulit tikus betina usia 2-3 bulan dengan berat ±150-200 g. Tikus dibius dengan eter hingga mati dan bulu tikus pada bagian abdominal dicukur hati-hati menggunakan pisau cukur. Kemudian kulit tikus pada bagian perut disayat dan lemak-lemak pada bagian subkutan yang menempel dihilangkan secara hati-hati, dan hasil sayatan tersebut direndam dalam medium yang akan digunakan selama 30 menit kemudian disimpan dalam suhu 4 °C. Kulit dapat digunakan pada rentang waktu 24 jam. Pada uji penetrasi kali ini digunakan membran dengan luas area difusi 1,52 cm². Kemudian kompartemen reseptor diisi dengan larutan etanol 96%-dapar posfat pH 7,4 (EDP) sekitar 13 mL yang dijaga suhunya sekitar 37±0,5°C serta diaduk dengan pengaduk magnetik dengan kecepatan 300 rpm. Setelah itu, kulit abdomen tikus diletakkan di antara kompartemen donor dan kompartemen reseptor dengan sisi dermal berhubungan langsung dengan medium reseptor. Sampel sejumlah 1-2 gram diaplikasikan pada permukaan kulit. Kemudian sampel diambil pada menit ke-10, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, dan 480 sebanyak 0,5 mL atau 500 µL dari kompartemen reseptor dengan menggunakan *syringe* dan larutan EDP segera ditambahkan sejumlah volume yang sama dengan volume yang diambil. Kemudian, sampel dimasukkan ke dalam vial. Masing-masing sampel diukur konsentrasinya menggunakan KLT densitometer sesuai prosedur 3.4.4.3-3.4.4.5 dan konsentrasi terukur dihitung dengan rumus **3.3**.

$$\text{Konsentrasi Kapsaisinoid} = \frac{\text{Konsentrasi terukur}}{\text{Volume totalan}} \quad (3.5)$$

Keterangan:

Konsentrasi terukur = Konsentrasi hasil perhitungan kurva kalibrasi (µg)

Volume totalan = Volume aplikasi sampel (μL)
 Konsentrasi kapsaisinoid = Konsentrasi dalam volume aplikasi ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$)

Jumlah kumulatif kapsaisinoid yang terpenetrasi per luas area difusi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) dapat dihitung dengan rumus (Thakker dan Chern, 2003):

$$Q = \frac{C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i S}{A} \quad (3.6)$$

Keterangan:

Q = Jumlah kumulatif kapsaisinoid per luas area difusi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
 Cn = Konsentrasi kapsaisinoid ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) pada sampling menit ke- n
 $\sum_{i=1}^{n-1} C_i S$ = Jumlah konsentrasi kapsaisinoid ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) pada sampling pertama (menit ke-10 hingga sebelum menit ke-n)
 V = Volume sel difusi Franz (μL)
 S = Volume sampling (500 μL)
 A = Luas area membran (cm^2)

Kemudian dilakukan perhitungan fluks (kecepatan penetrasi tiap satuan waktu) obat berdasarkan hukum Fick I:

$$J = \frac{M}{S \times t} \quad (3.7)$$

Keterangan :

J = Fluks ($\mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$)
 S = Luas area difusi (cm^2)
 M = Jumlah kumulatif kapsaisinoid yang melalui membran (μg)
 t = Waktu (jam)

Setelah itu dibuat grafik jumlah kumulatif yang terpenetrasi (μg) per luas area difusi (cm^2) terhadap waktu (jam).

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Penyiapan Ekstrak

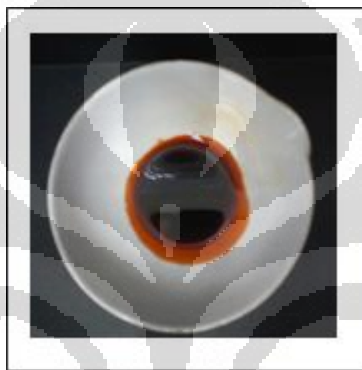
4.1.1 Ekstraksi Serbuk Buah Cabai Rawit

Ekstraksi simplisia pada penelitian ini dilakukan dengan cara panas, yaitu dengan cara refluks menggunakan pelarut diklormetana teknis yang telah didestilasi. Cara panas tersebut pernah dilakukan oleh Pudjiati (1993) menggunakan kloroform sebagai pelarut. Pada proses ekstraksi digunakan serbuk simplisia agar luas permukaan simplisia lebih besar dan lebih banyak simplisia yang kontak dengan pelarut sehingga lebih banyak senyawa kimia yang tersari ke dalam pelarut. Pada metode refluks digunakan suhu yang tinggi, sebab suhu dapat berpengaruh langsung terhadap kecepatan kesetimbangan antara zat kimia terlarut di dalam sel tanaman dan pelarut yang berada di sekeliling jaringan tanaman. Dengan suhu yang tinggi pelarut dapat lebih cepat melarutkan senyawa kimia pada simplisia.

Berdasarkan rumus bangunnya senyawa kapsaisinoid seperti kapsaisin dan dihidrokapsaisin bersifat agak polar karena memiliki gugus vanilil dan amida (Kam dan Hayman, 2008). Namun, kedua senyawa tersebut memiliki kesetimbangan kimia ke arah nonpolar karena memiliki rantai karbon hidrofobik panjang dan hal ini dapat dimanfaatkan pada saat proses ekstraksi, yaitu memilih pelarut non polar agar senyawa polar seperti asam askorbat dan asam sinamat dalam simplisia tidak ikut tersari.

Kelarutan kapsaisin terbaik adalah dalam pelarut n-heksan dan kloroform bila dibandingkan dalam etanol atau aseton. Namun, kloroform memiliki toksisitas yang tinggi di antara pelarut organik tersebut sehingga penggunaannya sebagai pelarut ekstraksi dibatasi (Reynolds, 1982). Oleh karena itu, pada penelitian ini dipilih diklormetana sebagai pelarut ekstraksi karena memiliki polaritas yang hampir sama dengan kloroform namun toksisitasnya lebih rendah. Selain itu diklormetana merupakan pelarut organik yang memiliki titik didih rendah, yaitu 39,5-40,5 °C sehingga mudah menguap dan waktu pengeringan lebih cepat.

Ekstrak cair yang didapat diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* hingga didapat ekstrak diklormetana kental. Penguapan dilakukan dengan suhu tidak lebih dari 55 °C (Gaedck, Steinhoff, dan Blasius, 2000). Penguapan yang terus menerus dan berulang bertujuan untuk menghilangkan sisa pelarut ekstraksi dari oleoresin cabai rawit. Ekstrak berwarna jingga gelap (Pantone 181 C) seperti terlihat pada Gambar 4.1. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang untuk dihitung rendemennya. Ekstrak yang diperoleh adalah 498,825 g dan dari perhitungan (Lampiran 52) rendemen ekstrak adalah 12,19%.



Gambar 4.1 Penampilan fisik ekstrak buah cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.)

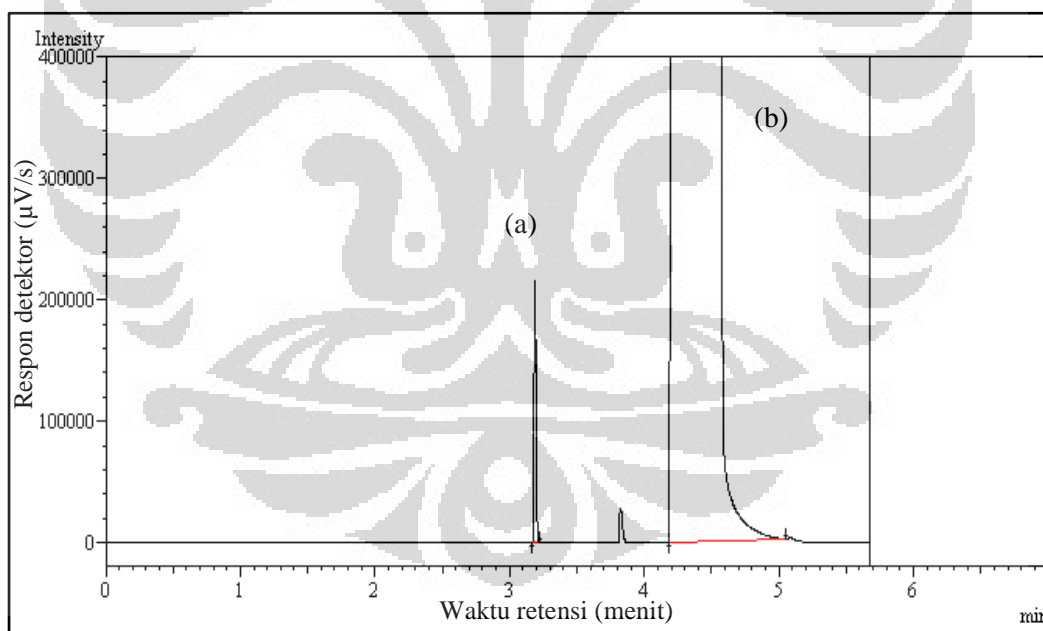
4.1.2 Penetapan Kadar Diklormetana dalam Ekstrak secara Kromatografi Gas

Pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar sisa pelarut ekstraksi, yaitu diklormetana. Hal ini bertujuan untuk mengetahui persentase residu pelarut dalam ekstrak. Metode yang dipilih untuk menetapkan kadar diklormetana adalah dengan kromatografi gas karena metode ini dapat digunakan untuk memisahkan campuran yang komponen-komponennya dapat menguap pada suhu hingga 400°C dengan menggunakan gas sebagai fase gerak (Moffat, Osselton, dan Widdop, 2005).

Untuk menganalisis diklormetana dalam ekstrak, perlu dilakukan proses ekstraksi diklormetana dari ekstrak buah cabai rawit. Ekstraksi diklormetana menggunakan pelarut dari jenis alkohol karena diklormetana dapat bercampur dengan hampir seluruh jenis alkohol (O'neil, 2001). Pelarut yang dipilih yaitu n-butanol, sebab selain alasan di atas n-butanol juga memiliki titik didih yang lebih tinggi bila dibandingkan diklormetana. Titik didih n-butanol adalah 82,5-83,5°C

sedangkan titik didih diklormetana adalah 39,5-40,5 °C (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995). Perbedaan titik didih tersebut dapat menghasilkan pemisahan yang baik karena pemisahan pada kromatografi gas didasarkan atas perbedaan titik didih dari masing-masing zat.

Kondisi analisis yang digunakan pada penelitian ini yaitu suhu injektor 230°C, suhu kolom 60°C, suhu detektor 250°C, detektor ionisasi nyala dan laju alir gas pembawa (He) diatur 2,0 mL/menit. Dari penyuntikan 1,0 µL larutan standar 5280 µg/mL diperoleh hasil bahwa diklormetana muncul pada waktu retensi 3,188 menit dan n-butanol pada 4,566 menit dengan resolusi 6,672. Kromatogram campuran 5280 µg/mL dapat dilihat pada Gambar 4.2. Nilai resolusi menunjukkan nilai ukur pemisahan dari dua komponen yang diukur. Resolusi yang baik adalah lebih besar dari 1,5 (Adamovics, 1997). Kromatogram masing-masing standar diklormetana dan n-butanol dapat dilihat pada Lampiran 1 dan Lampiran 2.



Keterangan:

Analisis dilakukan dengan kolom kapiler VB-Wax (60 m x 0,32 mm); suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C; split ratio 1:50; suhu kolom 60°C, laju alir gas pembawa (He) 2,0 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 µL. Waktu retensi diklormetana (tanda panah) 3,188 menit dan n-butanol 4,566 menit dengan resolusi 6,672.

Gambar 4.2 Kromatogram campuran standar (a) diklormetana dalam pelarut (b) n-butanol konsentrasi 5280 µg/mL dalam pembuatan kurva kalibrasi

Suhu injektor dan suhu detektor pada metode analisis diklormetana ditetapkan 230 °C dan 250 °C. Suhu injektor harus diatur lebih tinggi daripada suhu kolom maksimum agar seluruh sampel dapat menguap segera setelah sampel disuntikkan. Untuk detektor ionisasi nyala, suhu detektor harus diatas 100 °C untuk mencegah terjadinya kondensasi uap air sehingga mengakibatkan pengkaratan pada detektor ionisasi nyala atau penghilangan (penurunan) sensitivitasnya (Gandjar dan Rohman, 2007).

Untuk menetapkan kadar diklormetana dalam ekstrak maka terlebih dahulu dibuat kurva kalibrasi standar diklormetana dalam pelarut n-butanol. Kurva kalibrasi dibuat dengan menghubungkan paling sedikit lima titik konsentrasi yang diplotkan sebagai sumbu x dengan luas puncak hasil respon detektor sebagai sumbu y. Kurva kalibrasi dibuat dan dipertimbangkan dengan matang agar pengukuran sampel berada pada rentang konsentrasi standar. Nilai koefisien korelasi (r) yang mendekati nilai 1 menunjukkan linieritas hubungan antara konsentrasi dan luas puncak dari kromatogram yang dihasilkan sehingga konsentrasi sampel dapat ditetapkan menggunakan persamaan regresi linier $y=a+bx$.

Pembuatan kurva kalibrasi standar diklormetana dilakukan pada konsentrasi 5280; 2112; 1320; 660; 330; dan 105,6 $\mu\text{g/mL}$. Persamaan regresi linier dari diklormetana yaitu $y = 36,784x + 9939,4$ dengan nilai koefisien korelasi $r = 0,99945$. Harga koefisien korelasi tersebut sudah dapat dianggap linier karena nilainya mendekati 1. Contoh kromatogram sampel dan kurva kalibrasi dapat dilihat pada Lampiran 3 dan Lampiran 4.

Dari persamaan regresi linier dan kurva kalibrasi tersebut kita dapat menghitung batas deteksi dan batas kuantitasi analisis diklormetana dalam ekstrak. Batas deteksi dan batas kuantitasi penting untuk ditetapkan karena menunjukkan sensitivitas metode analisis yang digunakan. Semakin kecil nilai batas deteksi dan kuantitasi, maka metode yang digunakan semakin sensitif. Secara perhitungan statistika, diperoleh batas deteksi dan batas kuantitasi kurva kalibrasi tersebut berturut-turut adalah 215,51 $\mu\text{g/mL}$ dan 718,36 $\mu\text{g/mL}$. Data kurva kalibrasi, batas deteksi, dan batas kuantititasi dapat dilihat pada Lampiran 24.

Setelah diperoleh kurva kalibrasi, persamaan regresi linier, batas deteksi dan kuantitasi maka kadar diklormetana dalam ekstrak dapat ditentukan. Proses pertama yang harus dilakukan adalah ekstraksi diklormetana dalam ekstrak menggunakan pelarut n-butanol. Ekstraksi dilakukan dengan sentrifugasi 3000 rpm selama 20 menit dari larutan sampel 125000 $\mu\text{g/mL}$. Hal ini bertujuan agar sampel yang disuntikkan sudah bersih dari pengotor yang berasal dari ekstrak.

Dari hasil penetapan kadar diperoleh hasil bahwa kadar diklormetana di dalam ekstrak adalah 0,50%; 0,41%; dan 0,48% dengan kadar rata-rata adalah $0,46 \pm 0,04\%$. Data penetapan kadar diklormetana dalam ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 25. Bila dihitung kadar diklormetana dalam sediaan yang diperkirakan mengandung 3,12% ekstrak buah cabai rawit, maka didapatkan kadar diklormetana adalah 0,0143% atau 143 $\mu\text{g/mL}$. Kadar diklormetana tersebut sudah memenuhi persyaratan kadar maksimum diklormetana dalam sediaan farmasi sebab menurut European Medicines Agency ICH (2010) topik Q3C (R4) mengenai residu pelarut organik dinyatakan bahwa kadar maksimum diklormetana yang masih diperbolehkan di dalam sediaan farmasi adalah hingga 600 $\mu\text{g/mL}$.

4.1.3 Pemilihan Eluen Untuk Penetapan Kadar Kapsaisinoid di Dalam Ekstrak

Untuk menetapkan kadar kapsaisinoid di dalam ekstrak perlu dilakukan pemisahan kapsaisinoid dari senyawa lain yang tidak diinginkan. Dari proses ekstraksi dapat diperkirakan bahwa senyawa yang terkandung di dalam ekstrak diklormetana adalah lipid, karotenoid, dan kapsaisinoid. Hal ini terbukti dari ekstrak yang diperoleh berwarna merah jingga tua (Pantone 181 C). Warna jingga tersebut disebabkan adanya kandungan kapsantin (Wiryowidagdo, 2007), yaitu karotenoid yang dihasilkan ketika buah cabai rawit sudah masak. Oleh karena itu diperlukan metode pemisahan yang cocok sehingga kapsaisinoid dapat terpisah dari pigmen warna tersebut.

Metode pemisahan yang dapat digunakan untuk memisahkan kandungan yang larut di dalam lemak adalah dengan kromatografi lapis tipis (KLT) (Harborne, 1996). Metode tersebut dipilih karena ekstrak yang diperoleh berupa oleoresin yang merupakan minyak lemak dari buah cabai rawit. Selain itu KLT merupakan metode pemisahan yang sederhana, waktu analisis cukup singkat,

sensitivitas tinggi, dan lebih murah bila dibandingkan dengan teknik kromatografi lain seperti kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) atau kromatografi gas (KG) (Touchstone dan Dobbins, 1983).

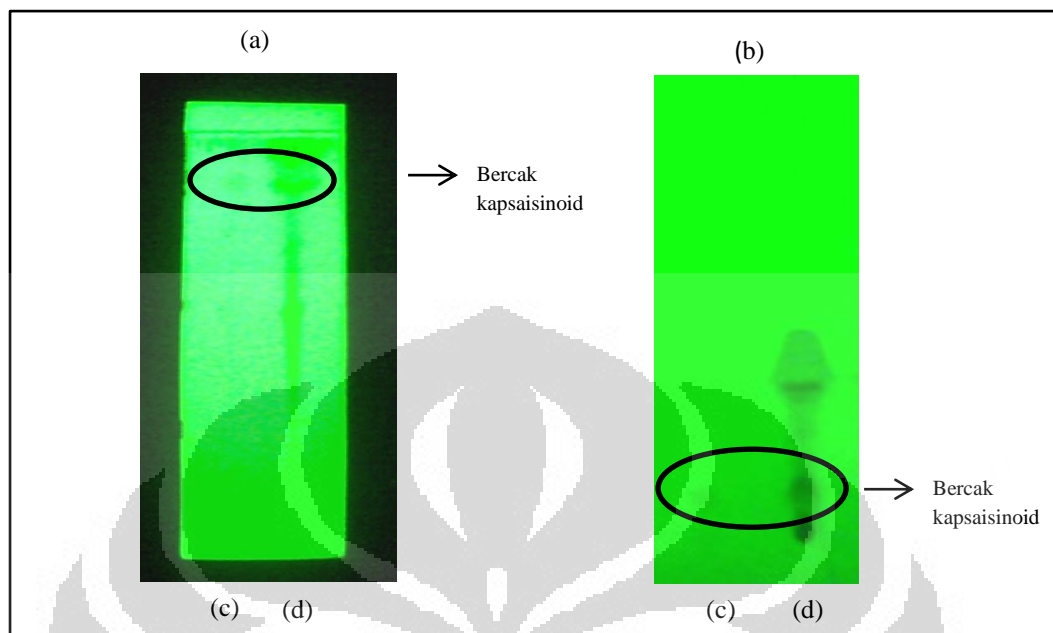
Pada penelitian ini, senyawa yang akan dipisahkan adalah kapsaisinoid yang terdiri dari kapsaisin dan dihidrokapsaisin (Dewick, 2009). Berdasarkan rumus bangunnya, kapsaisin dan dihidrokapsaisin memiliki struktur kimia yang hampir sama. Perbedaannya hanya ikatan rangkap pada rantai karbon panjang yang dimiliki kapsaisin sehingga terdapat kesulitan untuk memisahkan kedua senyawa tersebut secara KLT. Pemisahan yang baik sebenarnya dapat dilakukan dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) (Robinson, 1995), namun memerlukan waktu optimasi yang lebih lama.

Baik kapsaisin maupun dihidrokapsaisin keduanya memiliki gugus vanilil yang berperan terhadap aktivitas analgesik (Kam dan Hayman, 2008). Perubahan pada rantai karbon hidrofobik panjang tidak mempengaruhi aktivitasnya. Oleh karena itu, meskipun kapsaisin dan dihidrokapsaisin tidak dapat dipisahkan dengan KLT pada akhirnya tidak akan mengurangi efek penghilang rasa nyeri.

Pemisahan menggunakan metode KLT memerlukan eluen yang sesuai agar kapsaisinoid dapat terpisah dengan baik. Untuk memilih eluen yang tepat, penulis melakukan optimasi terhadap dua campuran eluen, yaitu Diklormetana-metanol (95:5) dan n heksan-diklormetana-asam asetat glasial (7:2,5:0,5).

Pada eluen pertama (diklormetana-metanol = 95:5), terdapat penambahan metanol sebanyak lima bagian sebab kapsaisin juga termasuk senyawa yang dapat larut dalam metanol sehingga diharapkan dapat terpisah dari pigmen warna. Namun hasil yang didapat sesuai Gambar 4.3, di bawah sinar UV kapsaisinoid masih belum dapat terpisah dari pigmen warna. Diduga hal itu terjadi akibat adanya kemungkinan eluen pertama memiliki tingkat kepolaran yang hampir sama dengan kapsaisin sehingga daya adsorpsi kapsaisinoid dengan silika gel lebih lemah bila dibandingkan dengan kelarutan kapsaisinoid dalam eluen tersebut. Secara kualitatif, R_f kapsaisinoid pada eluen pertama adalah 0,94 sehingga ada kemungkinan bercak kapsaisinoid masih belum terpisah secara sempurna dari senyawa lain yang terdapat di dalam ekstrak. Kromatogram hasil deteksi *TLC*

Scanner CAMAG III dapat dilihat pada Lampiran 5. Oleh karena itu, penulis melanjutkan optimasi pada eluen kedua.



Keterangan: Fase diam: Silika gel F₂₅₄

Fase gerak: (a) diklormetana-metanol (95:5); Rf = 0,94

(b) n heksan-diklormetana-asam asetat glasial (7:2,5:0,5); Rf = 0,14

(c) standar kapsaisinoid dan (d) ekstrak buah cabai rawit

Gambar 4.3 Foto hasil pemisahan kapsaisinoid dalam ekstrak menggunakan kromatografi lapis tipis di bawah lampu UV pada $\lambda = 254$ nm.

Pada eluen kedua terdapat penambahan n-heksan dan asam asetat glasial. n-Heksan merupakan pelarut yang baik untuk senyawa seperti pigmen warna sehingga diharapkan kapsaisinoid dapat terpisah dari karotenoid yang terdapat di dalam ekstrak. Penambahan asam asetat glasial ditujukan untuk meningkatkan polaritas eluen sehingga senyawa yang lebih polar dapat dipisahkan dari bercak kapsaisinoid secara sempurna dan mengurangi bercak yang berekor. Dari Gambar 4.3 dapat terlihat bahwa terjadi pemisahan yang lebih baik bila dibandingkan dengan eluen pertama. Bercak kapsaisinoid dengan nilai Rf 0,14 dapat terpisah dengan baik dari pigmen warna sebab karotenoid tersebut naik sehingga nilai Rf-nya jauh lebih tinggi daripada kapsaisinoid (kromatogram dapat dilihat pada Lampiran 6). Hal itu disebabkan daya adsorpsi silika gel terhadap kapsaisinoid lebih besar daripada ikatan kapsaisinoid dengan campuran eluen. Adanya gugus amida dan gugus hidroksi pada struktur kapsaisin dan dihidrokapsaisin membuat keduanya makin teradsorpsi kuat pada fase diam

(Harmita, 2006). Oleh karena itu, untuk penetapan kadar kapsaisinoid dalam ekstrak cabai rawit dipilih eluen dengan kombinasi campuran n heksan-diklormetana-asam asetat glasial dengan perbandingan 7:2,5:0,5.

4.1.4 Penetapan Kadar Kapsaisinoid di Dalam Ekstrak Cabai Rawit secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri

Untuk menetapkan kadar kapsaisinoid dalam ekstrak cabai rawit harus dibuat kuva kalibrasi pada lempeng KLT yang sama dengan sampel. Lempeng harus dielusi terlebih dahulu dengan metanol. Hal ini bertujuan agar lempeng memang sudah bersih dari zat organik sebelum penotolan sampel. Dilakukan pemanasan terhadap lempeng untuk mengaktifkan lempeng agar tidak ada sisa metanol dan uap air sehingga proses elusi berlangsung dengan baik. Bejana yang digunakan harus dijenuhkan terlebih dahulu dengan eluen yang akan digunakan untuk membuat kondisi jenuh eluen.

Lempeng yang selesai dielusi kemudian diamati bercaknya dengan *TLC Scanner* CAMAG III dengan lampu D2 karena bercak kapsaisinoid dapat dideteksi pada daerah sinar ultraviolet. Dari spektrum serapan diperoleh panjang gelombang maksimum 281,0 nm. Kemudian lempeng dideteksi ulang dengan *TLC Scanner* CAMAG III pada panjang gelombang 281,0 nm. Kurva serapan maksimum standar kapsaisinoid hasil deteksi *TLC Scanner* CAMAG III dapat dilihat pada Lampiran 7.

Untuk membuat kurva kalibrasi, dibuat kurva dengan sumbu x adalah konsentrasi standar dan sumbu y adalah luas puncak yang didapat. Persamaan regresi linier dari kurva kalibrasi yang diperoleh adalah $y = 1524,1 + 660,25 x$. Nilai koefisien korelasi $r = 0,99856$, batas deteksi $0,865 \mu\text{g}$, dan batas kuantitasi $2,883 \mu\text{g}$. Nilai koefisien korelasi tersebut sudah dapat dianggap linier karena nilainya mendekati 1. Konsentrasi sampel yang didapat berturut-turut adalah 1,697; 1,956; dan 2,098 % dengan kadar kapsaisinoid rata-rata adalah $1,917 \pm 0,2\%$. Foto lempeng KLT untuk penetapan kadar ekstrak dan kurva kalibrasi dapat dilihat pada Lampiran 8 dan Lampiran 9. Dari hasil tersebut dapat dihitung dosis ekstrak di dalam sediaan adalah 3,12% yang setara dengan kapsaisinoid 0,06% (cara perhitungan dosis dapat dilihat pada Lampiran 52).

4.2 Pembuatan Sediaan

Sediaan emulgel dibuat dengan mencampurkan emulsi ke dalam basis gel. Pada penelitian ini emulsi dibuat dengan pencampuran fase minyak dan fase air. Fase minyak yang digunakan terdiri dari minyak zaitun, Span 20 dan ekstrak buah cabai rawit. Selain sebagai fase minyak, minyak zaitun juga berfungsi sebagai emolien (Reynolds, 1982). Ekstrak buah cabai rawit dimasukkan ke dalam fase minyak sebab ekstrak tersebut berupa oleoresin. Pada fase minyak ditambahkan BHT sebagai antioksidan. Penambahan BHT di dalam sediaan bertujuan untuk mencegah proses oksidasi fase minyak. Fase air merupakan campuran antara air suling dan tween 60. Masing-masing fase dipanaskan pada suhu 70 °C. Pencampuran dilakukan pada suhu 70 °C sebab hampir semua bahan memiliki titik lebur pada suhu tersebut. Dalam formula terdapat tween 60 dan span 20 yang merupakan bahan pengemulsi. Bahan tambahan lainnya adalah mentol yang digunakan sebagai pengharum untuk menutupi bau cabai dan pemberi sensasi sejuk ketika sediaan dioleskan ke kulit, propilen glikol sebagai humektan, dan etanol 96% digunakan sebagai pelarut mentol serta untuk meningkatkan absorpsi percutan dari sediaan topikal.

Basis gel karbomer memiliki pH asam. Oleh karena itu diperlukan adanya penambahan basa, seperti NaOH untuk meningkatkan pH basis sehingga pH menjadi lebih netral. Untuk membuat emulgel, emulsi yang telah dibuat dicampurkan ke dalam basis gel sedikit demi sedikit kemudian diaduk menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan pengadukan 3000 rpm selama 30 menit atau hingga terbentuk massa emulgel yang homogen. Perbandingan antara emulsi dan basis gel yang dicampurkan adalah 6:4. Perbandingan tersebut diperoleh dari hasil orientasi sebelumnya.

Pada sediaan gel, ekstrak cabai rawit langsung dicampurkan di dalam basis gel yang telah dibuat. Penggunaan mentol, propilenglikol, dan etanol 96% memiliki fungsi yang sama seperti pada sediaan emulgel.

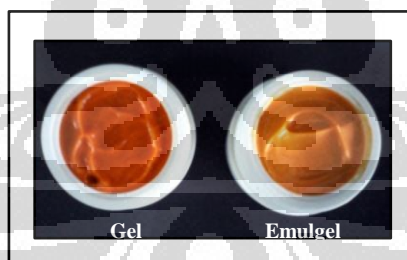
4.3 Evaluasi Sediaan

Masing-masing sediaan kemudian dievaluasi segera setelah selesai dibuat. Evaluasi sediaan pada minggu ke-0 bertujuan untuk membandingkan keadaan

masing-masing sediaan sebelum dan sesudah dilakukan uji kestabilan dengan parameter-parameter fisik sehingga dapat diketahui stabilitas sediaan selama penyimpanan. Hasil evaluasi sediaan pada minggu ke-0 dapat dilihat pada Lampiran 28.

4.3.1 Pengamatan Organoleptis

Sediaan gel dan emulgel yang dihasilkan memiliki aroma mentol sehingga bau ekstrak cabai rawit dapat tertutupi. Warna sediaan gel dan emulgel berturut-turut adalah jingga yang intensif (Pantone 151 C) dan jingga muda (Pantone 1225 C). Penampilan fisik sediaan gel dan emulgel pada minggu ke-0 dapat dilihat pada Gambar 4.4. Warna sediaan yang dihasilkan dipengaruhi oleh cara pencampuran ekstrak cabai rawit ke dalam sediaan. Ekstrak cabai rawit sendiri memiliki warna merah jingga gelap (Pantone 181 C). Warna sediaan emulgel lebih muda bila dibandingkan dengan gel sebab pada sediaan emulgel ekstrak cabai rawit dimasukkan ke dalam proses emulsifikasi dan terdispersi di dalam globul-globul minyak bersama fase minyak lainnya sehingga penambahan emulsi ke dalam basis gel membuat warna sediaan semakin muda. Sedangkan untuk gel, ekstrak cabai rawit langsung ditambahkan ke dalam basis gel setelah basis gel terbentuk dan ekstrak cabai rawit terdispersi merata di antara matriks gel.



Gambar 4.4 Penampilan sediaan gel dan emulgel pada minggu ke-0

4.3.2 Homogenitas Sediaan

Baik sediaan gel maupun emulgel, keduanya tampak homogen setelah dilihat menggunakan kaca objek.

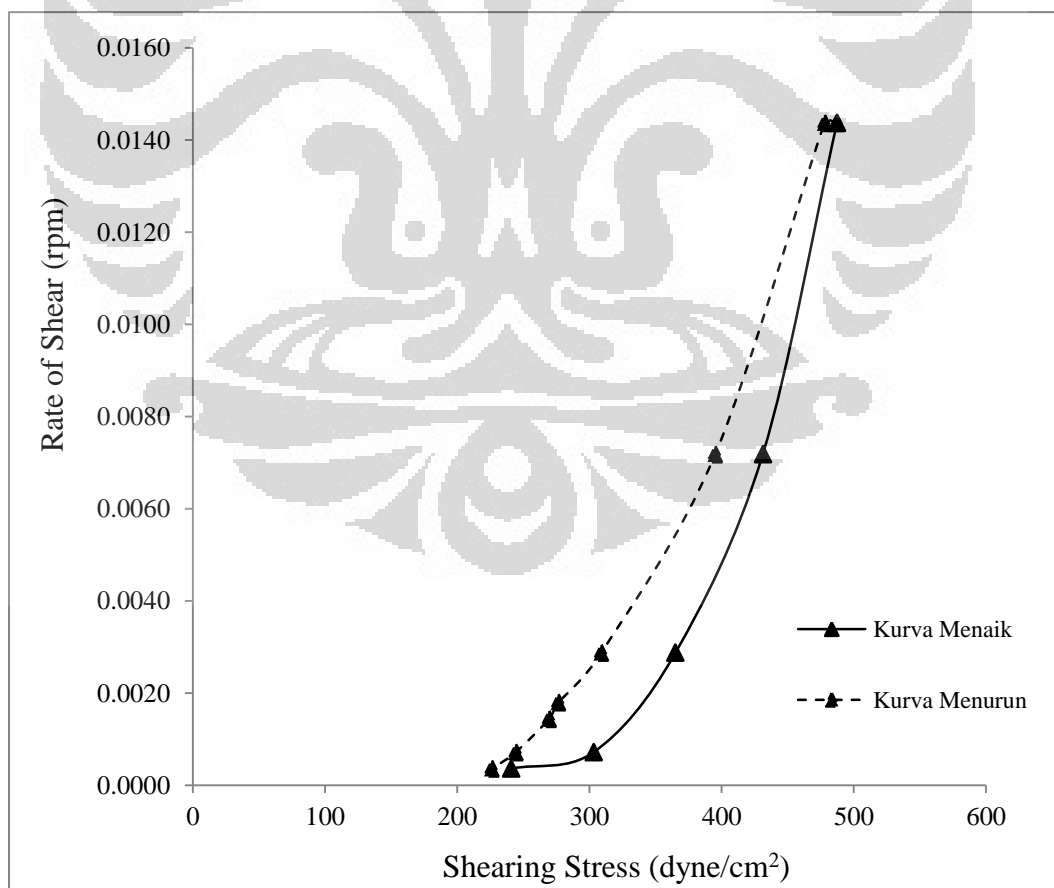
4.3.3 Pengukuran pH

Sediaan yang dihasilkan harus memiliki pH yang sesuai dengan pH kulit. Nilai pH sediaan gel dan emulgel pada minggu ke-0 berturut-turut adalah 5,85 dan

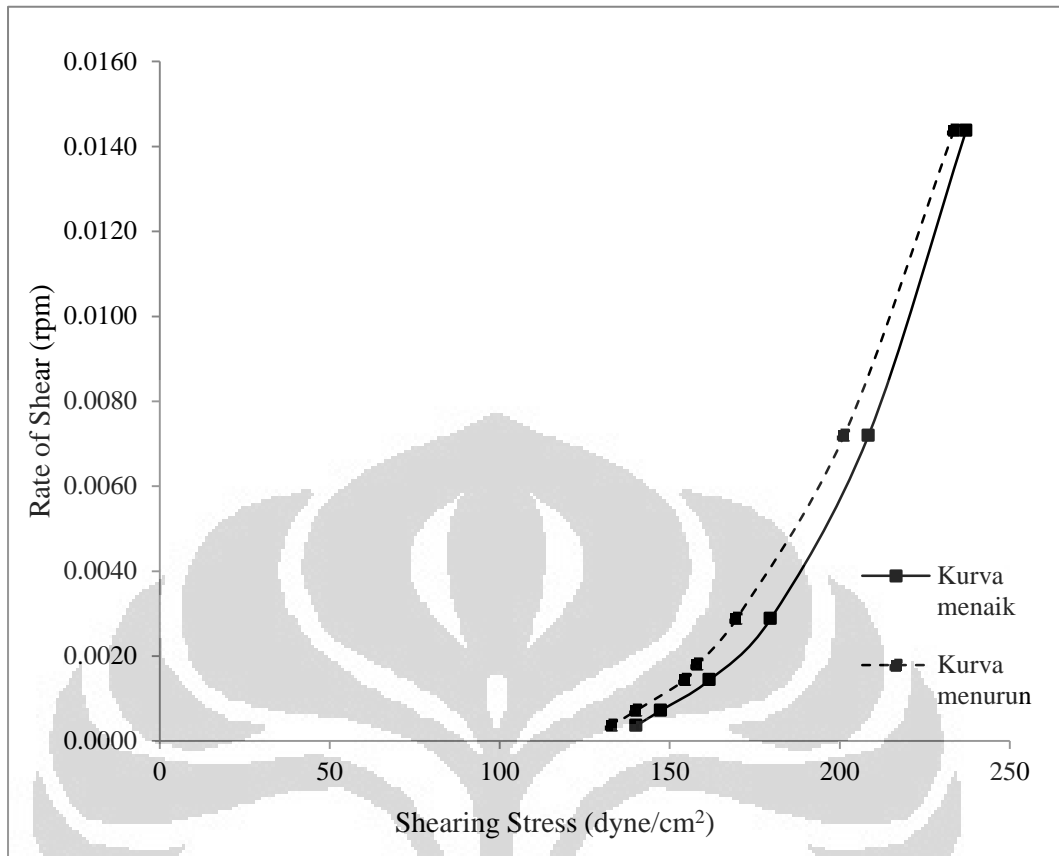
5,74. pH dari kedua sediaan tersebut masih berada dalam rentang pH kulit, yaitu 4,5 dan 6,5.

4.3.4 Pengukuran Viskositas dan Sifat Alir

Untuk mengukur viskositas sediaan gel dan emulgel digunakan viskometer Brookfield. Pengukuran viskositas dilakukan pada spindel 6 dengan kecepatan putaran 20 rpm. Dari pengukuran dihasilkan nilai viskositas sediaan gel dan emulgel berurut-turut adalah 33900 dan 16500 cps. Sediaan emulgel memiliki viskositas yang lebih rendah daripada gel sebab di dalam emulgel terdapat komponen tambahan yang tidak ditambahkan pada sediaan gel. Komponen-komponen tersebut misalnya minyak zaitun dan bahan-bahan pengemulsi seperti tween 60 dan span 20 yang menyebabkan struktur 3 dimensi emulgel lebih renggang daripada gel. Dari rheogram Gambar 4.5 dan 4.6 dapat terlihat bahwa kedua sediaan memiliki aliran pseudoplastis tiksotropik. Data pengukuran viskositas sediaan pada minggu ke-0 dapat dilihat pada Lampiran 29.



Gambar 4.5 Rheogram sediaan gel.



Gambar 4.6 Rheogram sediaan emulgel.

4.3.5 Pengukuran Konsistensi

Dari pengukuran konsistensi akan diperoleh *yield value* yang menunjukkan daya sebar sediaan tersebut. Sediaan yang baik memiliki *yield value* 100-1000 dyne/cm² (Zats dan Kushla, 1996). Semakin tinggi *yield value*, maka semakin sulit suatu sediaan menyebar. Sebaliknya, semakin rendah *yield value*, maka semakin mudah menyebar. Dari hasil pengukuran didapatkan bahwa kedalaman penetrasi kerucut dari sediaan gel dan emulgel berturut-turut adalah 347 1/10 mm dan 358 1/10 mm. Sediaan gel yang memiliki viskositas lebih tinggi dari emulgel menyebabkan kerucut sulit menembus sediaan, sehingga jarak tempuh kedalaman kerucut semakin rendah. Dari kedalaman penetrasi kerucut tersebut dapat diperoleh *yield value* untuk sediaan gel dan emulgel berturut-turut adalah 3065,84 dyne/cm² dan 2880,33 dyne/cm². *Yield value* tersebut menunjukkan bahwa baik sediaan gel maupun emulgel yang dibuat merupakan sediaan yang tidak mudah tersebar.

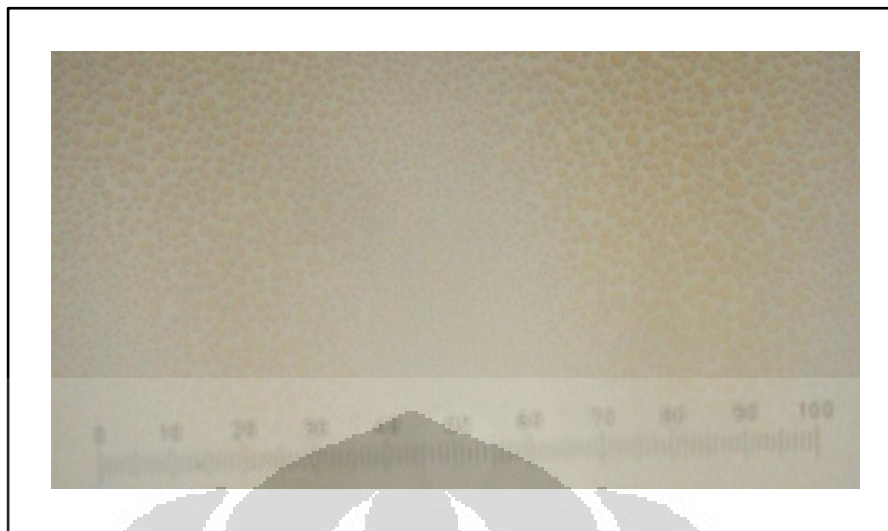
4.3.6 Pengukuran Diameter Globul Rata-rata

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan perubahan diameter globul rata-rata dari emulsi dan setelah menjadi sediaan emulgel serta perubahan diameter globul rata-rata sediaan emulgel selama penyimpanan hingga minggu ke-8. Pengukuran diameter globul rata-rata hanya dilakukan terhadap sediaan emulgel sebab pada emulgel terdapat emulsi yang diperkirakan dapat terjadi pemisahan fase. Hal tersebut dapat diketahui dari perubahan diameter globul rata-rata selama uji kestabilan.

Setelah dilakukan pengukuran menggunakan mikroskop optik, diameter globul rata-rata dari emulsi yang belum dimasukkan ke dalam basis gel adalah $0,65 \mu\text{m}$. Sedangkan diameter globul rata-rata untuk sediaan emulgel pada minggu ke-0 adalah $0,27 \mu\text{m}$. Hasil pengukuran diameter globul emulsi dan emulgel dapat dilihat pada Lampiran 30 dan Lampiran 31. Globul minyak dalam sediaan emulsi dan emulgel dapat dilihat Gambar 4.7 dan Gambar 4.8.



Gambar 4.7 Foto mikroskopik diameter globul rata-rata sediaan emulsi sebelum dicampurkan ke dalam basis gel dengan perbesaran 100 kali.



Gambar 4.8 Foto mikroskopik diameter globul rata-rata sediaan emulgel pada minggu ke-0 dengan perbesaran 100 kali.

Diameter globul pada sediaan emulsi jauh lebih besar bila dibandingkan dengan sediaan emulsi yang dimasukkan ke dalam basis gel (emulgel). Perubahan tersebut terjadi akibat adanya putaran dengan kecepatan yang sangat tinggi saat mencampurkan emulsi ke dalam basis gel. Globul-globul emulsi yang besar terpecah menjadi globul-globul yang lebih kecil dan dengan segera terperangkap di dalam matriks gel. Ketika globul-globul tersebut terperangkap di dalam matriks gel, maka akan sulit bagi globul tersebut untuk bergabung dengan globul lainnya sebab fase luar dari emulsi merupakan medium yang lebih kental. Ukuran tersebut merupakan dasar kestabilan suatu emulsi terhadap laju *creaming* (Martin, Swarbrick, dan Cammarata, 1983).

4.4 Uji Stabilitas Fisik Sediaan

Uji kestabilan fisik sediaan dilakukan dengan menyimpan sampel sediaan gel dan emulgel pada suhu yang berbeda, yaitu suhu rendah ($4 \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40 \pm 2^{\circ}\text{C}$). Penyimpanan dilakukan selama 8 minggu kemudian dilakukan pemeriksaan organoleptis, homogenitas, dan pH setiap 2 minggu. Uji ini dilakukan untuk mengetahui kestabilan fisik dari sediaan selama penyimpanan pada suhu yang berbeda-beda. Untuk pengukuran viskositas, sifat alir, dan konsistensi dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-8 terhadap sediaan yang disimpan pada suhu kamar. Sedangkan pengukuran diameter globul

rata-rata sediaan emulgel diukur pada minggu ke-0 dan minggu ke-8 terhadap sampel yang disimpan pada ketiga suhu berbeda.

Selain uji di atas, dilakukan juga evaluasi fisik terhadap sediaan gel dan emulgel menggunakan *cycling test*, yaitu masing-masing sampel sediaan disimpan pada suhu rendah ($4 \pm 2^\circ\text{C}$) dan suhu tinggi ($40 \pm 2^\circ\text{C}$) secara bergantian masing-masing selama 24 jam dan uji ini dilakukan selama 6 siklus. Kemudian dilihat kestabilan fisik masing-masing sediaan sebelum dan sesudah *cycling test*. Khusus untuk sediaan emulgel dilakukan pula uji mekanik/sentrifugasi untuk mengetahui adanya pemisahan fase dari fase minyak dan air. Uji mekanik dilakukan dengan memusingkan sediaan di dalam sentrifugator dengan kecepatan 3800 rpm selama 5 jam.

4.4.1 Penyimpanan pada Suhu Rendah, Kamar, dan Tinggi

4.4.1.1 Pengamatan Organoleptis dan Homogenitas

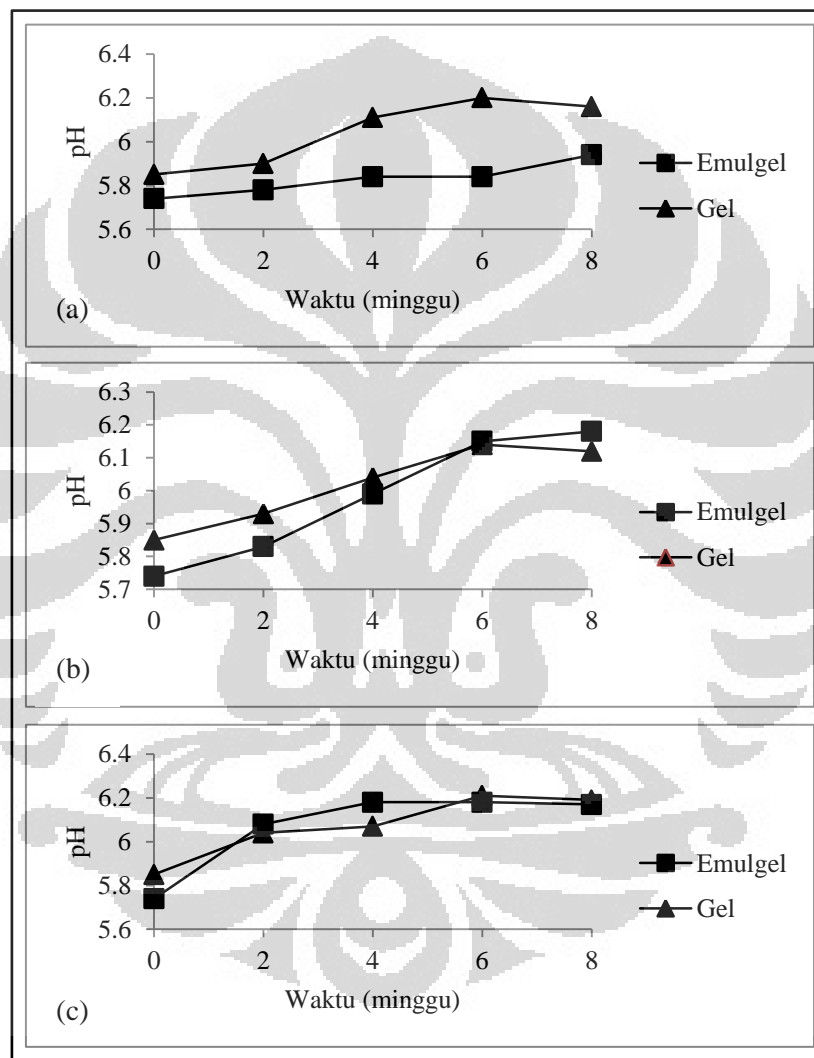
Hasil pengamatan organoleptis dan homogenitas sediaan gel dan emulgel pada suhu rendah ($4^\circ \pm 2^\circ\text{C}$), suhu tinggi ($40^\circ \pm 2^\circ\text{C}$) dan suhu kamar ($28^\circ \pm 2^\circ\text{C}$) dapat dilihat pada Lampiran 32-34. Foto masing-masing sediaan saat minggu ke-2 sampai minggu ke-8 pada suhu rendah ($4^\circ \pm 2^\circ\text{C}$), suhu kamar ($28^\circ \pm 2^\circ\text{C}$), dan suhu tinggi ($40^\circ \pm 2^\circ\text{C}$) dapat dilihat pada Lampiran 10-12. Bau dari kedua sediaan selama 8 minggu penyimpanan adalah wangi mentol. Baik sediaan gel maupun emulgel menunjukkan karakteristik organoleptis yang stabil dan homogen.

Perubahan warna hanya terjadi pada sediaan emulgel yang disimpan pada suhu tinggi dan rendah di minggu ke-2 yaitu dari jingga muda (Pantone 1225 C) menjadi jingga (Pantone 136 C), namun perubahan warna yang terjadi tidak terlalu signifikan. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya proses oksidasi terhadap pigmen warna yang terdapat dalam sediaan yang berasal dari ekstrak buah cabai rawit, yaitu kapsantin, beta karoten dan kapsorubin (Sampathu, Naidu, Sowbhagya, Naik, dan Krishnamurthy, 2004). Diduga dengan meningkatnya suhu akan meningkatkan laju oksidasi.

Selama penyimpanan, kedua sediaan masih memberikan aroma mentol dan tidak berbau tengik. Hal ini menunjukkan bahwa antioksidan yang ditambahkan, yaitu BHT dapat menjaga fase minyak dari proses oksidasi. Selain itu pigmen

warna yang berasal dari ekstrak buah cabai rawit dapat menjadi antioksidan tambahan, sehingga baik BHT ataupun pigmen warna tersebut akan teroksidasi terlebih dahulu dibandingkan dengan minyak yang ada di dalam sediaan. Dapat disimpulkan bahwa kedua sediaan tersebut stabil pada suhu rendah, kamar, dan tinggi.

4.4.1.2 Pengukuran pH



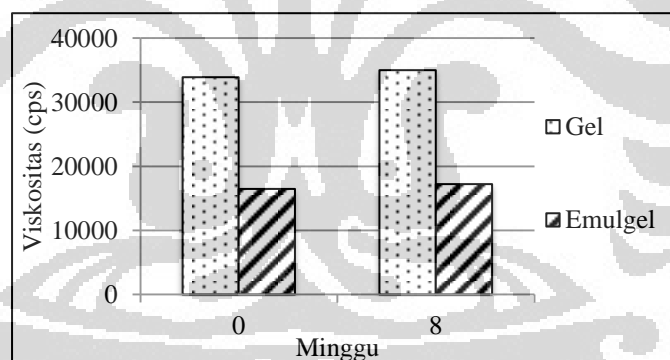
Gambar 4.9 Hasil pengukuran pH gel dan emulgel pada penyimpanan (a) suhu rendah, (b) suhu kamar, dan (c) suhu tinggi

Data perubahan pH sediaan gel dan emulgel selama penyimpanan pada suhu rendah ($4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu tinggi ($40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) dan suhu kamar ($28^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) dapat dilihat

pada Lampiran 35-37. Nilai pH dari suatu sediaan topikal harus berada dalam kisaran pH *balance* yang sesuai dengan pH kulit, yaitu 4,5-6,5. Nilai pH tidak boleh terlalu asam karena dapat menyebabkan iritasi kulit, dan juga tidak boleh terlalu basa karena dapat menyebabkan kulit bersisik. Dari pengukuran selama 8 minggu pada tiga suhu yang berbeda diperoleh hasil bahwa terjadi perubahan pH pada kedua sediaan. Berdasarkan Gambar 4.9 pH kedua sediaan berkisar antara 5,7-6,21. Kenaikan pH diduga akibat NaOH yang terlepas dari matriks gel karbomer. Namun, perubahan tersebut masih dapat diterima sebab pH kedua sediaan masih berada dalam rentang pH *balance* kulit.

4.4.1.3 Pengukuran Viskositas dan Sifat Alir

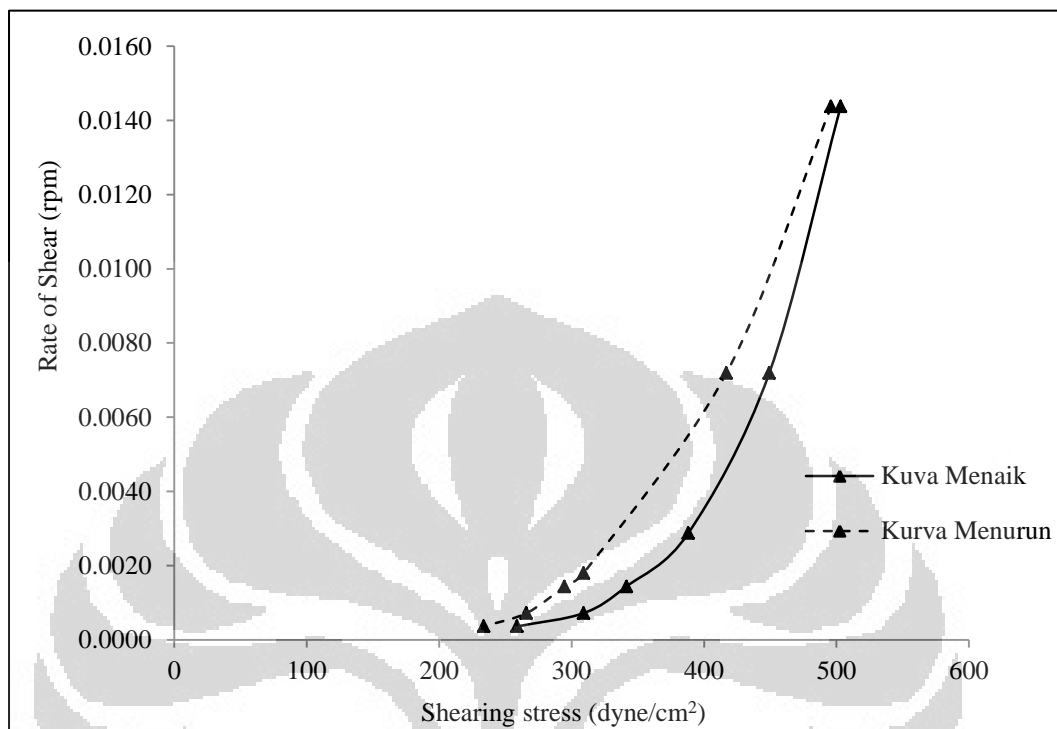
Hasil pengukuran viskositas kedua sediaan pada suhu kamar ($28^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) pada minggu ke-8 dapat dilihat pada Lampiran 38. Masing-masing sediaan yang telah disimpan selama 8 minggu pada suhu kamar kemudian diukur viskositasnya. Hasil evaluasi viskositas menunjukkan bahwa terjadi perubahan viskositas dari masing-masing sediaan.



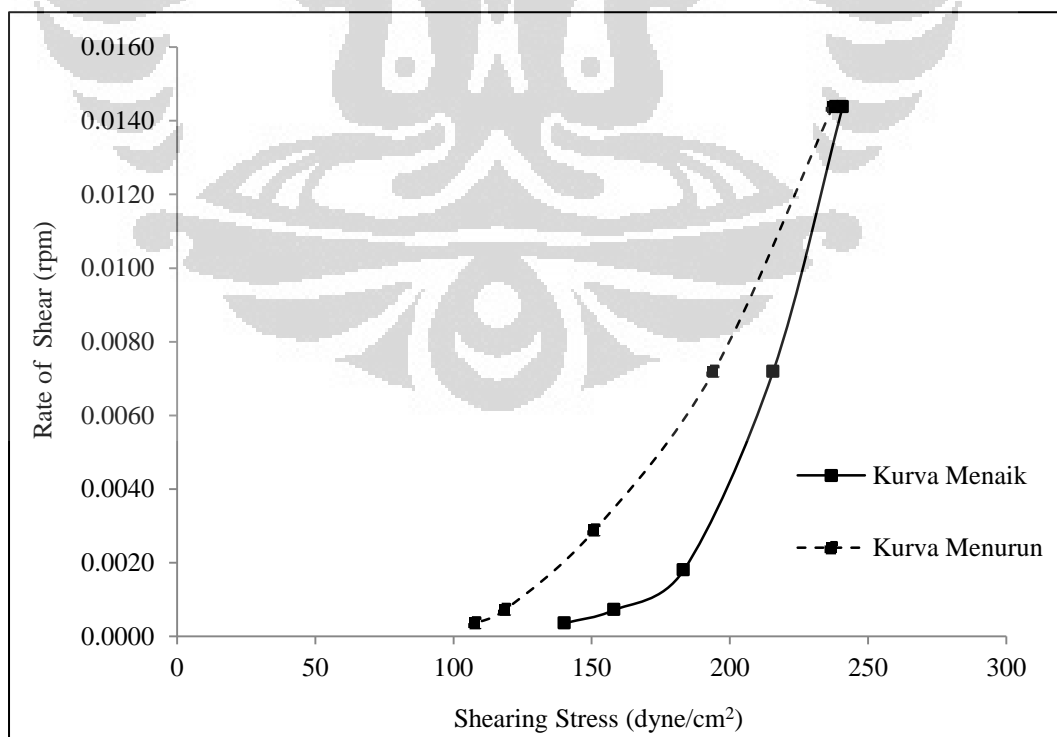
Gambar 4.10 Grafik perubahan viskositas gel dan emulgel pada minggu ke-8

Dari Gambar 4.10, baik sediaan sediaan gel maupun emulgel mengalami kenaikan viskositas pada minggu ke-8, berturut adalah 35000 cps dan 17250 cps (Lampiran 39). Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada minggu ke-0 setelah sediaan baru saja dibuat struktur molekul gel masih acak akibat putaran dengan kecepatan tinggi saat pembuatan, namun ketika disimpan selama 8 minggu struktur molekul gel kembali pada susunan semula. Pemberian tekanan geser ketika pengukuran viskositas pada minggu ke-8 tidak membuat perubahan yang besar pada susunan molekul karbomer sehingga dengan susunan molekul yang

lebih rapat dibandingkan minggu ke-0 menghasilkan nilai viskositas yang lebih tinggi.



Gambar 4.11 Rheogram sediaan gel pada minggu ke-8

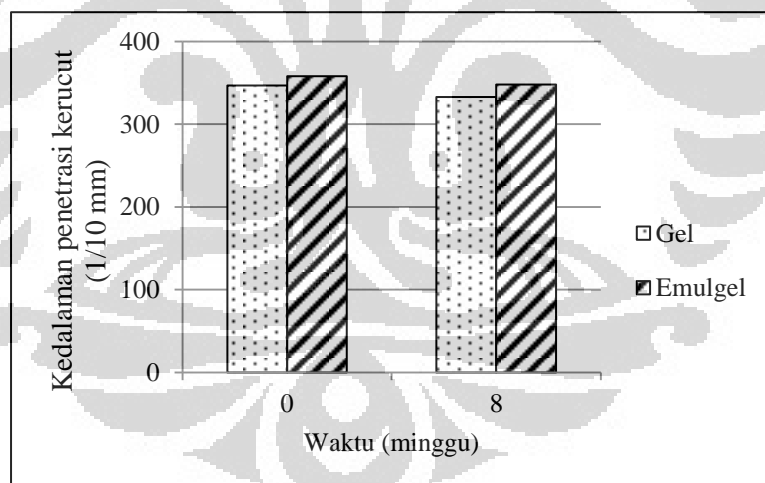


Gambar 4.12 Rheogram sediaan emulgel pada minggu ke-8

Berdasarkan hasil rheogram (Gambar 4.11 dan 4.12) menunjukkan sifat alir kedua sediaan yang telah disimpan selama 8 minggu pada suhu kamar menunjukkan tidak terjadinya perubahan sifat alir, artinya tetap memiliki sifat alir pseudoplastis tiksotropik. Dapat disimpulkan bahwa kedua sediaan stabil setelah penyimpanan pada suhu kamar selama 8 minggu.

4.4.1.4 Pengukuran Konsistensi

Hasil pengukuran konsistensi dari sediaan gel dan emulgel pada suhu kamar pada minggu ke-8 dapat dilihat pada Lampiran 40. Kedalaman penetrasi kerucut sediaan gel dan emulgel pada minggu ke-8 berturut-turut adalah 333 1/0 mm ($3329,05 \text{ dyne/cm}^2$) dan 357 1/10 mm ($2896,49 \text{ dyne/cm}^2$). Dari Gambar 4.13 dapat diketahui bahwa terdapat penurunan nilai kedalaman penetrasi kerucut, atau terjadi peningkatan konsistensi dari masing-masing sediaan. Hal ini berbanding lurus dengan hasil pengukuran viskositas sediaan yang makin kental. Semakin kental sediaan maka semakin sukar kerucut untuk menembus sediaan sehingga jarak tempuh semakin kecil.

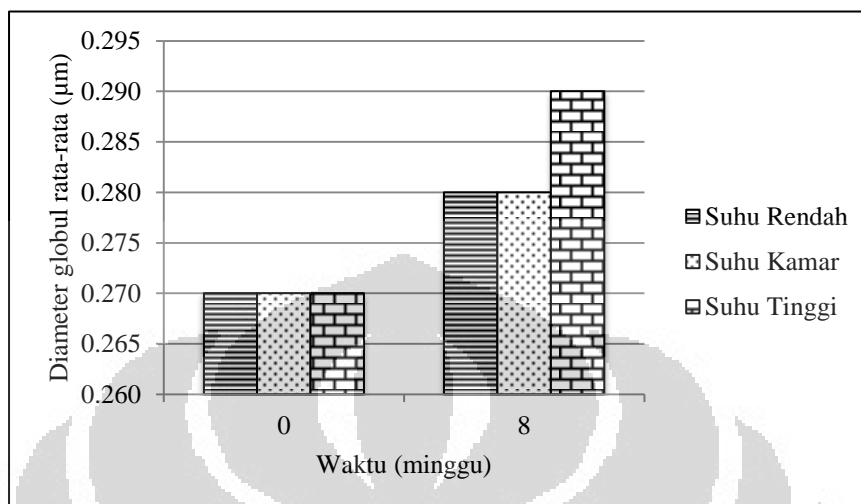


Gambar 4.13 Grafik perubahan konsistensi kedua sediaan dari minggu ke-0 hingga minggu ke-8

4.4.1.5 Diameter Globul Rata-Rata

Dari hasil pengukuran diameter globul rata-rata pada minggu ke-8 diperoleh hasil yaitu diameter globul rata-rata pada ketiga suhu berkisar antara

0,27-0,29 μm . Perubahan diameter globul rata-rata dari sediaan emulgel pada minggu ke-0 dan minggu ke-8 dapat dilihat pada Gambar 4.14.



Gambar 4.14 Perubahan diameter globul rata-rata sediaan emulgel pada minggu ke-8

Hasil pengukuran diameter globul rata-rata sediaan emulgel pada suhu rendah ($4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($28^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu tinggi ($40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$), dan pada minggu ke-8 dapat dilihat pada Lampiran 41-43. Foto mikroskopik diameter globul rata-rata sediaan emulgel pada minggu ke-8 pada ketiga suhu dapat dilihat pada Lampiran 13.

Dari hasil di atas, dapat disimpulkan bahwa sediaan emulgel yang dibuat masih tergolong stabil sebab perubahan diameter globul rata-rata yang terjadi masih berada dalam rentang diameter globul untuk emulsi keruh, yaitu 0,1-10,0 μm . Namun, bila dibandingkan dengan minggu ke-0, sediaan emulgel mengalami peningkatan diameter globul baik pada suhu rendah ($4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$), maupun suhu tinggi ($40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

Peningkatan diameter globul dapat disebabkan oleh adanya kenaikan suhu selama penyimpanan. Kenaikan suhu dapat menurunkan efektifitas bahan penstabil dan meningkatkan laju pemisahan fase. Dengan meningkatnya suhu maka stabilitas bahan pengemulsi menurun sehingga lapisan yang menyelimuti globul dapat terpecah dan mengakibatkan globul-globul minyak cenderung berdekatan dan akhirnya globul-globul tersebut bersatu dan membentuk globul

yang lebih besar. Semakin lama maka terjadi pemisahan antara fase minyak dan fase air, yang disebut dengan *creaming*. *Creaming* juga dapat disebabkan oleh suhu rendah, yaitu penyimpanan pada suhu $4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Hal itu dapat terjadi akibat adanya peningkatan volume air pada suhu rendah sehingga kelarutan bahan pengemulsi dan masing-masing fase berubah yang mengakibatkan globul-globul bersatu.

Pada sediaan emulgel, meskipun terjadi peningkatan diameter globul namun secara fisik tidak terjadi pemisahan antara fase minyak dan fase air. Penambahan bahan pengental ke dalam emulsi dapat meningkatkan stabilitas suatu emulsi. Menurut hukum Stokes, laju *creaming* suatu emulsi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Salah satunya adalah viskositas. Semakin rendah viskositas suatu emulsi, maka semakin mudah terjadi pemisahan akibat mudahnya globul-globul bergabung menjadi globul yang lebih besar. Sedangkan, semakin tinggi viskositas emulsi, maka emulsi tersebut akan semakin stabil (Martin, Swarbrick, dan Cammarata, 1983).

4.4.2 *Cycling Test*

Uji ini dilakukan dengan menyimpan sediaan pada suhu rendah ($4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama interval waktu tertentu dan dilanjutkan dengan penyimpanan pada suhu tinggi ($40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$). Dilakukan selama 6 siklus, dimana 1 siklus adalah 24 jam suhu rendah dan 24 jam suhu tinggi. Tujuan dari *cycling test* adalah untuk mengetahui adanya kristalisasi dan sineresis yang terjadi pada sediaan (Zath dan Kushla, 1996). Dari pemeriksaan, diperoleh hasil bahwa kedua sediaan stabil dan tidak mengalami perubahan warna, kristalisasi, ataupun sineresis. Hal ini menunjukkan bahwa karbomer sebagai bahan pembentuk gel mampu mempertahankan air di dalam matriksnya. Dapat disimpulkan bahwa sediaan stabil secara fisik. Untuk mengetahui perubahan sebelum dan sesudah *cycling test*, dapat dilihat pada Lampiran 14.

4.4.3 Uji Mekanik/Sentrifugasi

Uji mekanik hanya dilakukan terhadap sediaan emulgel. Uji ini dilakukan untuk mengetahui adanya pemisahan fase setelah dilakukan pengocokan. Selama penyimpanan, sediaan emulgel akan menerima gaya gravitasi. Berdasarkan

hukum Stokes, gaya gravitasi dapat mempengaruhi stabilitas sediaan emulsi. Gaya sentrifugasi dengan kecepatan 3800 rpm selama 5 jam sebanding dengan gaya gravitasi yang diterima sediaan selama satu tahun. Dari hasil sentrifugasi, sediaan emulgel tetap homogen dan tidak memperlihatkan adanya pemisahan fase. Dengan meningkatnya viskositas suatu sediaan emulsi, maka akan semakin stabil sebab globul-globul minyak tetap dalam lapisan bahan pengemulsi. Selain itu dapat disimpulkan bahwa bahan pengemulsi dari sediaan emulgel masih dapat mempertahankan emulsi yang terbentuk. Penampilan fisik sediaan emulgel setelah uji mekanik dapat dilihat pada Lampiran 15.

4.5 Uji Penetrasi secara *In Vitro*

4.5.1 Uji Penetapan Kandungan (UPK) Kapsaisinoid dalam Sediaan

Kapsaisinoid dapat ditetapkan kadarnya dengan beberapa metode, yaitu dengan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) (Lu dan Cwik, 1997), kromatografi gas dengan detektor spektroskopi massa (KG-MS) (Peña-Alvarez, Ramírez-Maya, dan Alvarado-Suárez, 2009), spektrofotometri (Perucka dan Oleszek, 2000) dan kromatografi lapis tipis (KLT) (Monforte-González, Medina-Lara, Gutiérrez-Carbajal, dan Vázquez-Flota, 2007). Pada penelitian ini dipilih metode KLT dengan kuantitasi menggunakan *TLC Scanner CAMAG III*. Metode ini dipilih karena merupakan metode yang mudah dilakukan, tidak terlalu mahal, memberikan hasil yang dapat dipercaya, dan kuantitasi kapsaisinoid menjadi akurat (Touchstone dan Dobbins, 1983). Bila dibandingkan dengan spektrofotometri, hasil KLT bisa lebih dipercaya sebab pada KLT analisis kuantitatif hanya dilakukan pada bercak kapsaisinoid yang telah dipisahkan melalui proses elusi sehingga kapsaisinoid dapat terpisah dari senyawa lain yang terdapat di dalam sediaan. Namun, untuk pemisahan yang lebih baik dapat digunakan metode KCKT, namun metode ini memerlukan waktu yang lebih lama sebab perlu dilakukan proses optimasi pembawa dan laju alir dari kondisi yang akan digunakan.

Pada UPK kapsaisinoid perlu dilakukan ekstraksi kapsaisinoid dari sediaan yaitu dengan melarutkan sediaan di dalam metanol. Metanol dipilih sebagai pelarut sebab kapsaisinoid mudah larut di dalam metanol. Setelah dilarutkan

larutan disaring untuk mendapatkan filtrat yang jernih. Filtrat tersebut ditotolkan pada lempeng KLT yang terbuat dari silika gel F₂₅₄. Proses persiapan dan penotolan pada lempeng KLT sama seperti ketika melakukan penetapan kadar kapsaisinoid dalam ekstrak cabai rawit, namun terdapat perbedaan dimana untuk membuat kurva kalibrasi standar kapsaisinoid dilarutkan di dalam metanol.

Diperoleh kurva kalibrasi dengan persamaan regresi linier $y = 2614.7x + 144.2$ dengan batas deteksi 0,0923 μg , batas kuantitaasi 0,307 μg dan koefisien korelasi (r) adalah 0,9989. Koefisien korelasi tersebut sudah dapat dianggap linier sebab nilai r mendekati 1. Data kurva kalibrasi dapat dilihat pada Lampiran 44. Kurva kalibrasi yang digunakan untuk UPK kapsaisinoid dapat dilihat pada Lampiran 16. Dari hasil deteksi menggunakan *TLC Scanner* CAMAG III, diperoleh data penetapan kadar kapsaisinoid dari masing-masing sediaan yang dapat dilihat pada Lampiran 45. Hasil menunjukkan bahwa kandungan kapsaisinoid untuk sediaan emulgel dan gel berturut-turut adalah $104,24 \pm 6,44\%$ dan $101,22 \pm 8,26\%$. Hasil tersebut masih dalam rentang akurasi yang diperbolehkan untuk sediaan farmasi dari bahan hayati, yaitu 88-112% (Harmita, 2006).

4.5.2 Pembuatan Kurva Kalibrasi Kapsaisinoid untuk Analisis Kuantitatif Hasil Uji Penetrasi

Untuk menganalisis kadar kapsaisinoid di dalam larutan sampel perlu dibuat kurva kalibrasi standar tiap kali akan menganalisis. Larutan standar yang digunakan pada pembuatan kurva kalibrasi pada tahap ini yaitu larutan dengan konsentrasi 300, 150, 75, 48, 30 dan 15 $\mu\text{g/mL}$. Proses pembuatan kurva kalibrasi pada lempeng KLT dilakukan sesuai prosedur pembuatan kurva kalibrasi untuk penetapan kadar kapsaisinoid di dalam ekstrak. Pada penelitian ini, proses analisis sampel dari sediaan gel dan emulgel dilakukan pada hari yang berbeda. Oleh karena itu dibuat dua kurva kalibrasi untuk masing-masing sediaan .

Persamaan kurva kalibrasi yang diperoleh untuk masing-masing sediaan adalah sebagai berikut:

- a. Sediaan gel: $y = 2448,8x + 20,36$; dengan nilai koefisien korelasi (r) adalah 0,9992 (Lampiran 17).

- b. Sediaan emulgel: $y = 2304,4x + 29,428$; dengan nilai koefisien korelasi (r) adalah 0,9988 (Lampiran 18).

Data luas puncak dan kurva kalibrasi dapat dilihat pada Lampiran 46 dan Lampiran 47.

4.5.3 Uji Penetrasi Kapsaisinoid

Pada penelitian ini dilakukan uji penetrasi kapsaisinoid secara *in vitro* menggunakan sel difusi Franz. Uji ini dilakukan untuk mengetahui jumlah kapsaisinoid yang terpenetrasi melalui kulit selama interval waktu tertentu dari sediaan gel dan emulgel yang telah dibuat. Uji penetrasi secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan membran sebagai model kulit. Membran ini dapat berupa membran biologis dari hewan atau membran artifisial seperti selofan (Yi-Hung Tsai, Jia-You Fang, Pao-Chu Wu, dan Yaw-Bin Huang, 1995).

Membran yang digunakan pada penelitian ini adalah membran dari kulit abdomen tikus putih betina galur *Sprague Dawley* yang berumur 2-3 bulan dengan berat 150-200 gram dengan ketebalan membran $0,6 \pm 0,1$ mm dan luas membran $1,52 \text{ cm}^2$. Kulit tikus yang telah dicukur bulunya dipilih sebagai membran pada uji ini sebab telah dilaporkan bahwa permeabilitasnya mirip dengan permeabilitas kulit manusia.

Sebelum digunakan, kulit tikus terlebih dahulu dicukur bulunya secara hati-hati agar kulit tidak terluka. Pencukuran bulu harus dilakukan secermat mungkin agar tidak terjadi luka pada kulit sebab kulit yang terluka dapat berpengaruh terhadap laju absorpsi suatu obat. Lemak subkutan juga harus dibersihkan agar tidak mengganggu penetrasi kapsaisinoid ke dalam kulit. Setelah dibersihkan kulit dimasukkan ke dalam medium yang akan digunakan. Hal ini bertujuan untuk menghidrasi kulit sebelum dimasukkan ke dalam lemari pendingin. Kulit yang disimpan dapat digunakan selama rentang waktu 24 jam.

Hal lain yang harus diperhatikan pada uji penetrasi secara *in vitro* adalah zat aktif, dalam hal ini kapsaisinoid harus larut dalam cairan kompartemen reseptor yang digunakan. Pada uji penetrasi *in vitro*, untuk obat-obat yang bersifat hidrofobik akan sulit larut di dalam kompartemen reseptor bila medium yang digunakan adalah air. Faktor kelarutan tersebut dapat mempengaruhi korelasi *in vitro-in vivo* dari hasil uji yang diperoleh (Bronaugh dan Stewart, 1986; Catz dan

Friend, 1990). Untuk mengatasi rendahnya korelasi *in vitro* dan *in vivo* pada uji penetrasi obat hidrofobik, maka diperbolehkan untuk menambahkan bahan pensolubilisasi ke dalam kompartemen reseptor (Yi-Hung Tsai, Jia-You Fang, Pao-Chu Wu, dan Yaw-Bin Huang, 1995).

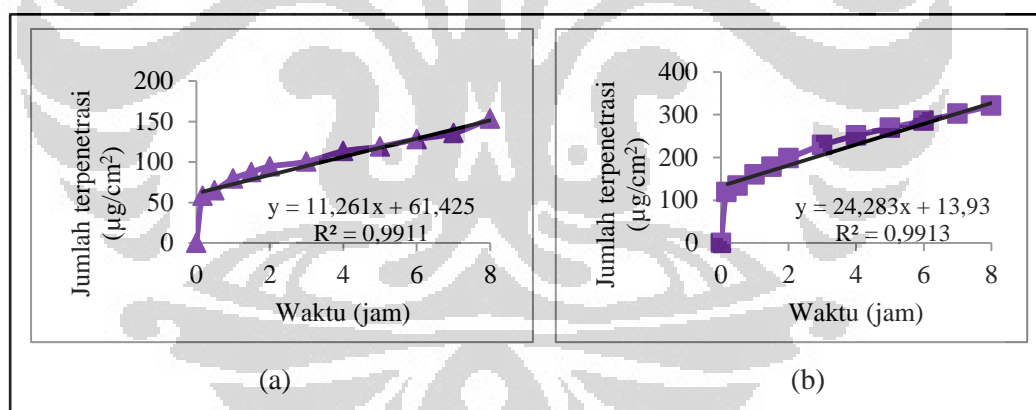
Medium reseptor yang digunakan untuk uji penetrasi kapsaisinoid pada penelitian ini adalah campuran antara etanol 96% dan dapar posfat pH 7,4 dengan perbandingan 1:1 (selanjutnya disebut dengan larutan EDP). Dapar posfat pH 7,4 dipilih sebagai medium reseptor digunakan sebagai simulasi cairan biologis tubuh. Namun, karena kapsaisinoid merupakan obat yang tidak larut air, oleh karena itu pada medium reseptor ditambahkan etanol 96% sebagai bahan pensolubilisasi. Medium campuran etanol 96%-dapar posfat pH 7,4 (1:1) (EDP) merupakan medium yang paling cocok untuk uji penetrasi *in vitro* kapsaisinoid (Jia-You Fang, Yann-Lii Leu, Ying-Yue Wang, dan Yi-Hung Tsai, 2002).

Larutan EDP merupakan hasil optimasi yang dilakukan oleh Yi-Hung Tsai, Jia-You Fang, Pao-Chu Wu, dan Yaw-Bin Huang (1995). Pada penelitiannya, Yi-Hung Tsai melakukan optimasi cairan kompartemen reseptor yang sesuai untuk uji penetrasi *in vitro* kapsaisin dengan menggunakan larutan kompartemen reseptor yang terdiri dari larutan dapar posfat pH 7,4 saja dan campuran etanol absolut-dapar posfat pH 7,4 dengan perbandingan 1:7, 1:3, dan 1:1. Dari hasil optimasi didapatkan hasil bahwa kelarutan kapsaisin terbaik adalah pada medium campuran etanol absolut-dapar posfat pH 7,4 dengan perbandingan 1:1. Selain itu, ketika dilakukan uji secara *in vivo*, hasil uji *in vitro* yang memberikan korelasi *in vitro-in vivo* paling baik adalah pada medium campuran etanol absolut-dapar posfat pH 7,4 dengan perbandingan 1:1. Oleh karena itu, hampir seluruh penelitian mengenai uji penetrasi *in vitro* kapsaisin dan senyawa turunannya menggunakan medium kompartemen reseptor campuran etanol absolut-dapar posfat pH 7,4 (1:1). Seperti yang telah dilakukan oleh Yi-Hung Tsai, Jia-You Fang, Pao-Chu Wu, dan Yaw-Bin Huang (1996), Jia-You Fang, Ying-Yue Wang, Chi-Tzong Hong, dan Wen-Ta Chiu (2001), dan Jia-You Fang, Yann-Lii Leu, Ying-Yue Wang, dan Yi-Hung Tsai (2002).

Setelah dilakukan uji penetrasi selama delapan jam dengan pengambilan sampel pada 11 titik interval waktu, diperoleh hasil bahwa penetrasi kapsaisinoid

melalui membran kulit tikus dari sediaan gel dan emulgel berturut-turut adalah $153,11 \pm 2,42$ dan $321,22 \pm 4,67 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Berdasarkan hasil tersebut, jumlah kapsaisinoid terpenetrasi paling banyak adalah dari sediaan emulgel. Dari jumlah kumulatif kapsaisinoid yang terpenetrasi dapat dihitung persentase kapsaisinoid terpenetrasi dari masing-masing sediaan. Persentase kapsaisinoid terpenetrasi dari sediaan gel dan emulgel berturut-turut adalah $19,39 \pm 0,31 \%$ dan $40,69 \pm 0,59 \%$.

Dari Gambar 4.15 dapat terlihat bahwa proses absorpsi kapsaisinoid melalui kulit terjadi dengan sangat cepat. Pada menit 0 menuju menit ke-10 terjadi lonjakan jumlah kapsaisinoid yang terpenetrasi. Tahap ini merupakan kondisi awal akibat kondisi yang belum mencapai *steady state*. Hal itu disebabkan kapsaisinoid merupakan senyawa yang mudah larut dalam lemak sehingga absorpsi perkutan dari kapsaisinoid cukup baik dan konsentrasi kutan maksimal dapat segera tercapai. Telah dilaporkan pula bahwa kapsaisinoid dapat terpenetrasi 1 menit setelah sediaan diaplikasikan di kulit (Kam dan Hayman, 2008).

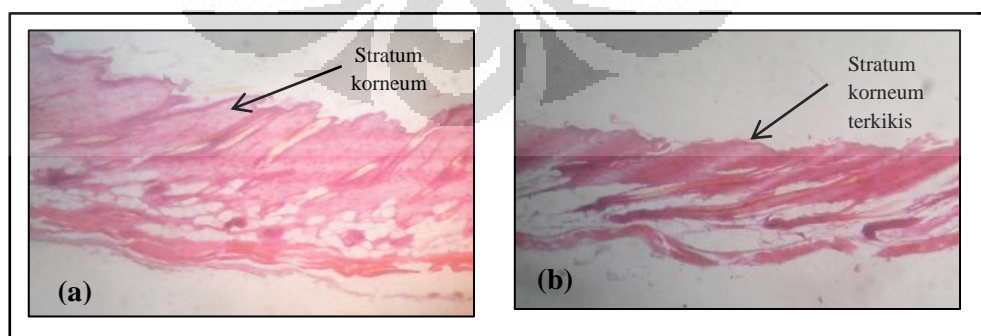


Gambar 4.15 Jumlah kumulatif kapsaisinoid yang terpenetrasi per satuan luas membran dari sediaan (a) gel dan (b) emulgel.

Absorpsi yang begitu cepat diduga pula akibat adanya bahan-bahan tambahan di dalam sediaan, seperti etanol, propilen glikol, dan mentol. Meskipun di dalam formula mentol digunakan sebagai penutup bau cabai, propilen glikol sebagai humektan, dan etanol sebagai pelarut mentol, namun ketiga bahan tersebut juga merupakan bahan peningkat penetrasi perkutan (Barry, 2001). Etanol

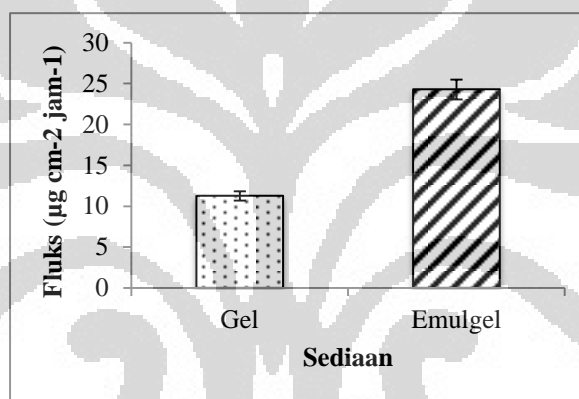
dan propilen glikol berperan dalam menghidrasi kulit. Etanol bekerja sebagai peningkat penetrasi percutan dengan cara mengubah sifat melarutkan stratum korneum sehingga kapsaisinoid lebih banyak terlarut ke dalam stratum korneum dan membuat penetrasinya meningkat (Williams dan Barry, 2007). Etanol juga dapat meningkatkan daya dorong kapsaisinoid dari kompartemen donor sebab etanol merupakan senyawa yang mudah menguap sehingga mampu meningkatkan gradien konsentrasi kapsaisinoid antara kompartemen donor dan reseptor dengan cepat. Sedangkan mentol berperan sebagai peningkat penetrasi percutan dengan cara mengganggu *barrier* lipid interseluler dengan merusak stratum korneum dan meningkatkan difusi obat dalam stratum korneum (Barry, 2001). Ketiga bahan tersebut berperan secara sinergis sehingga absorpsi kapsaisinoid melalui kulit terjadi dengan sangat cepat pada menit-menit awal.

Perbandingan antara kulit yang tidak diaplikasikan sediaan dan setelah dilakukan uji penetrasi dengan sediaan emulgel dapat dilihat pada Gambar 4.16. Dari gambar dapat terlihat bahwa kulit yang tidak diaplikasikan sediaan masih memiliki lapisan stratum korneum yang utuh, sedangkan kulit yang diberikan perlakuan menunjukkan adanya penipisan lapisan stratum korneum. Hal tersebut disebabkan oleh mekanisme kerja dari bahan peningkat penetrasi percutan, terutama mentol yang dapat merusak stratum korneum. Oleh sebab itu, penggunaan bahan peningkat penetrasi percutan dalam formula sediaan topikal perlu diperhatikan. Dari Gambar 4.16 (b) diduga jalur penetrasi kapsaisinoid adalah secara transepidermal maupun transappendageal.



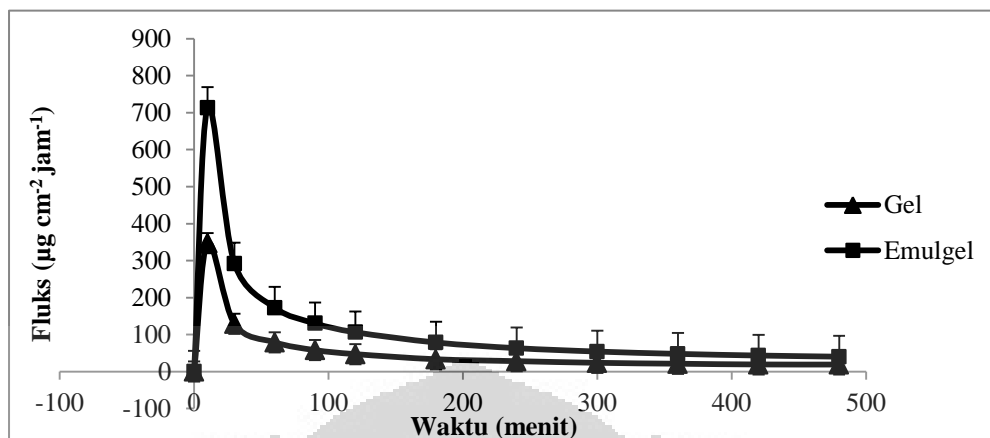
Gambar 4.16 Foto mikroskopik histologi kulit tikus. (a) Kulit yang tidak diaplikasikan sediaan dan (b) kulit setelah dilakukan uji penetrasi sediaan emulgel selama 8 jam.

Jumlah kumulatif kapsaisinoid teopenetrasi diplotkan terhadap waktu kemudian dibuat persamaan regresi linier sehingga dapat ditentukan fluks kapsaisinoid dari masing-masing sediaan (Gambar 4.17). Fluks diperoleh dari kemiringan garis pada Gambar 4.15 yang menunjukkan bahwa nilai fluks diambil pada keadaan *steady state* mengikuti kaidah hukum Fick (Martin dan Cammarata, 1983). Berdasarkan Gambar 4.17 dapat dibandingkan fluks dari masing-masing sediaan. Fluks dari sediaan gel dan emulgel secara berturut-turut adalah $11,26 \pm 0,20 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$ dan $24,28 \pm 0,52 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa sediaan emulgel memberikan fluks yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan sediaan gel. Hal ini membuktikan bahwa laju penetrasi kapsaisinoid dari sediaan emulgel lebih cepat daripada gel.



Gambar 4.17 Fluks kapsaisinoid dari sediaan gel dan emulgel (rata-rata \pm SD, n=3)

Fluks harus diperoleh dari keadaan *steady state*. Keadaan *steady state* dapat digambarkan sebagai suatu garis lurus pada kurva fluks yang diplotkan terhadap satuan waktu. Dari Gambar 4.18 dapat terlihat bahwa fluks kapsaisinoid dari sediaan gel dan emulgel yang awalnya menaik lalu menurun dan kemudian mendatar. Hal ini disebabkan pada menit-menit awal terdapat perbedaan konsentrasi kapsaisinoid yang cukup besar antara kompartemen reseptor dan donor. Keadaan tersebut merupakan keadaan *nonsteady-state*. Setelah mencapai menit ke-300 fluks menjadi lurus yang menggambarkan bahwa keadaan sudah mencapai *steady state* (Martin, Swarbricks, dan Cammarata, 1983).



Gambar 4.18 Fluks kapsaisinoid tiap waktu pengambilan dari sediaan gel dan emulgel

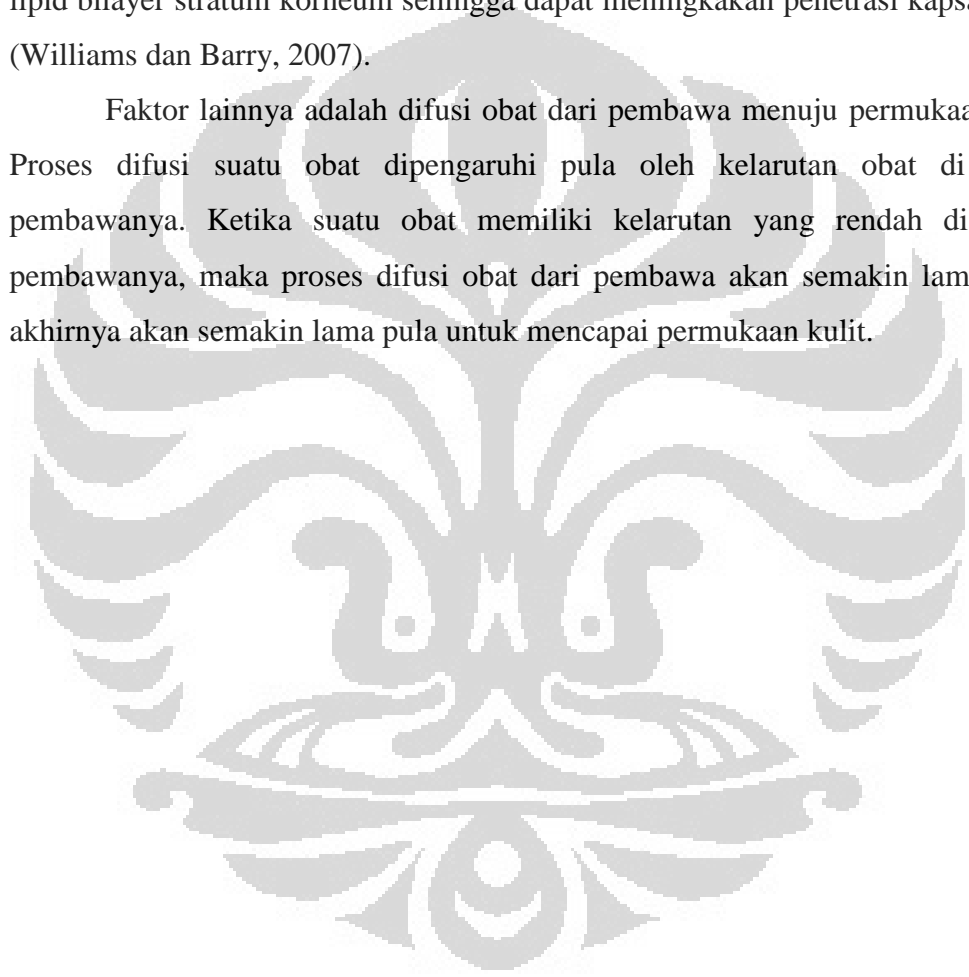
Faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi absorpsi obat melalui kulit adalah viskositas sediaan, disolusi suatu obat dalam pembawa, difusi obat terlarut dari pembawa ke permukaan kulit, dan penetrasi obat melalui lapisan kulit terutama stratum korneum (Martin, Swarbrick, dan Cammarata, 1983; Barry, 2001). Dapat dikaitkan hubungan antara viskositas dan laju penetrasi, yaitu laju penetrasi berbanding terbalik dengan nilai viskositas. Semakin kental suatu sediaan maka akan semakin sulit pelepasan obat dari pembawanya. Diduga sediaan emulgel memiliki struktur 3 dimensi gel yang lebih longgar. Hal ini ditunjukkan dengan viskositas emulgel yang lebih rendah daripada gel. Semakin banyak jumlah air dalam formula, maka semakin rapat struktur 3 dimensi gel. Karena struktur 3 dimensi gel dari sediaan emulgel lebih longgar, maka kapsaisinoid lebih bebas bergerak sehingga penetrasi kapsaisinoid dalam melewati stratum korneum lebih mudah (Dragicevic-Curic, *et al.*, 2009).

Koefisien partisi obat juga dapat mempengaruhi laju penetrasi suatu obat. Kapsaisinoid merupakan obat yang tidak larut di dalam air, maka disolusi kapsaisinoid dalam sediaan gel, yang merupakan basis hidrofilik akan lebih rendah bila dibandingkan dengan kelarutan dalam sediaan emulgel. Sebaliknya, kelarutan kapsaisinoid di dalam emulgel lebih tinggi sebab di dalam emulgel terdapat emulsi yang terdiri dari fase minyak dan fase air. Fase minyak dari

emulsi merupakan pembawa yang baik untuk bahan obat yang tidak larut dalam air.

Selain itu, dalam sediaan emulgel terdapat minyak zaitun. Kandungan minyak zaitun terdiri dari beberapa jenis asam lemak, seperti asam oleat, palmitat, linoleat, stearat, dan sedikit asam miristat dengan asam lemak tertinggi adalah asam oleat sebanyak 70% (Reynolds, 1982). Dalam sediaan topikal asam oleat dapat meningkatkan permeabilitas kulit dengan cara mengganggu susunan lapisan lipid bilayer stratum korneum sehingga dapat meningkatkan penetrasi kapsaisinoid (Williams dan Barry, 2007).

Faktor lainnya adalah difusi obat dari pembawa menuju permukaan kulit. Proses difusi suatu obat dipengaruhi pula oleh kelarutan obat di dalam pembawanya. Ketika suatu obat memiliki kelarutan yang rendah di dalam pembawanya, maka proses difusi obat dari pembawa akan semakin lambat dan akhirnya akan semakin lama pula untuk mencapai permukaan kulit.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji penetrasi kapsaisinoid secara *in vitro* dapat disimpulkan bahwa sediaan emulgel memberikan hasil penetrasi kapsaisinoid lebih tinggi daripada sediaan gel. Hasil ini diperoleh dengan membandingkan jumlah kumulatif kapsaisinoid terpenetrasi dan fluks selama 8 jam menggunakan alat sel difusi Franz dengan kulit abdomen tikus putih betina galur *Sprague-Dawley* sebagai membran.

Kedua bentuk sediaan yang dibuat, baik gel ataupun emulgel yang disimpan pada suhu rendah ($4 \pm 2^\circ\text{C}$), kamar ($28 \pm 2^\circ\text{C}$), dan tinggi ($40 \pm 2^\circ\text{C}$) selama 8 minggu dapat dinyatakan stabil secara fisik dengan parameter organoleptis, homogenitas, viskositas, konsistensi, dan diameter globul.

5.2 Saran

- 5.2.1 Perlu dilakukan uji penetrasi sediaan gel dan emulgel yang mengandung kapsaisinoid dari ekstrak buah cabai rawit menggunakan membran dari kulit kadaver manusia.
- 5.2.2 Perlu digunakan alat kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT) pada analisis kuantitatif untuk mengetahui jumlah kapsaisin dari kapsaisinoid total sehingga memperoleh pemisahan yang lebih baik dan lebih sensitif.
- 5.2.3 Perlu dilakukan uji stabilitas kimia dan mikrobiologi agar dapat diketahui stabilitas keseluruhan dari kedua sediaan.

DAFTAR ACUAN

- Adamovics, J. A. (1997). *Chromatographic Analysis of Pharmaceutical*, (2nd Ed.) New York: Marcel Dekker, 75-185.
- Adekunle, M., Milwaukee, Flowers, J. J., Marino, S., dan Mequon. (1993). Capsaicin Gel. USA: *US Patent* 5,178,879.
- Ansel, H. C. (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi* (Ed. Ke-4) (Farida Ibrahim, Penerjemah). Jakarta: UI Press, 314, 492.
- ASEAN. (1993). *Standard of ASEAN Herbal Medicine (Vol.1)*. Jakarta: ASEAN Countries, 89-103.
- Barry, B. W. (2001). Novel Mechanisms and Devices to Enable Successful Transdermal Drug Delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14, 101-114.
- Bhanu, P. V., Shanmugam, V., dan Lakshmi, P. K. (2011). Antimicrobial Preservative Activity of The formulated Diclofenac Emulgel, A Novel Drug Delivery for Topical Use. *The Pharma Professionals*, 1 (1), 5-10.
- Bhanu, P. V., Shanmugam, V., dan Lakshmi, P. K. (2011). Development and Optimization of Novel Diclofenac Emulgel for Topical Drug Delivery. *Pharmace Globale (IJCP)*, 9 (10), 1-4.
- Bradley, P. (2006). *British Herbal Compendium (Vol.2)*. Bournemouth: British Herbal Medicine Association, 83-88.
- Bronaugh, R. L. dan Stewart, R. F. (1986). Methods for In Vitro Percutaneous Absorption Studies VI: Preparation of the barrier layer. *Journal of Pharmaceutical Science*, 75, 487-491.
- Catz, P. dan Friend, D. (1990). Transdermal Delivery of Levonorgestrel VIII. Effect of Enhancers on Rat Skin, Hairless Mouse Skin, Hairless Guinea Pig Skin, and Human Skin. *International Journal Pharmaceutics*, 5893, 102.
- Corwin, E. J. (2008). *Handbook of Pathophysiology*. Ohio: Lippincott Williams dan Wilkins, 88.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1979). *Materia Medika Edisi III*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.,46-49.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1989). *Vademekum Bahan Obat Alam*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 38-42.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 458.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter Standar Umum ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 3-12.
- Dewick, P. M. (2009). *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach (3rd Ed.)*. Wiltshire: John dan Wiley, 405.
- DiPiro, J.T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G. R., Wells, B. G., dan Posey, L. M. (2005). *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach, (6th Ed.)* USA: The McGraw-Hill Companies, 1337-1340.
- Djajadisastra, J. (November, 2004). *Cosmetic Stability*. Disampaikan pada “Seminar Setengah Hari HIKI”. Slipi, Jakarta.
- Dragicevic-Curic, N., Winter, S., Stupar, M., Milic, J., Krajišnik, D., Gitter, B., dan Fahr, A. (2009). Temoporfin-loaded Liposomal Gels: Viscoelastic Properties and In Vitro Skin Penetration. *International Journal of Pharmaceutics*, 373, 77-84.
- Duke, J. A., Bogenschutz-Godwin, M. J., duCellier, J., dan Duke, P. A. (2002). *Handbook of Medicinal Herbs (2nd Ed)*. New York: CRC Press, 149-150.
- European Medicines Agency. (2009). ICH Topic Q3C (R4), *Impurities: Guideline for residual Solvent*.
- Gandjar, I. G., dan Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gaedcke, F., Steinhoff, B. dan Blasius, H. (2000). *Herbal Medicinal Products*. Jerman: Medpharm Scientific Publishers.
- Gennaro, A. R. (1995). *Remington: The Science and Practice of Pharmacy, (19th Ed.)*. Easton: Mack Publishing Company.

- Harborne, J. B. (1997). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, (Ed. ke-2)* (Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Penerjemah.). Bandung: Penerbit ITB.
- Harmita. (2006). *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI, 205.
- Haryuni, A. L. (2011). Preparasi Kitosan-Tripolifisfat Sebagai Basis Gel Dalam Sediaan Topikal. *Skripsi Sarjana Farmasi*. Depok; FMIPA UI, 22-23.
- Holte, S. D., dan Barr, T. L. (2002). Lotion Compositions Utilizing Capsaicin. USA: *US Patent* 6,348,501 B1.
- Iswandana, Raditya. (2009). Penetapan Daya Penetrasi Secara In Vitro dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Krim, Salep, dan Gel yang Mengandung Kurkumin dari Kunyit (*Curcuma longa L.*). *Skripsi Sarjana Farmasi*. Depok: FMIPA UI, 35-37.
- Jain, A., Gautam, S. P., Gupta, Y., Khambete, H., dan Jain, S. (2010). Development and Characterization of Ketoconazole Emulgel for Topical Drug Delivery. *Dermatological Pharmacia Sinica*, 1 (3), 221-231.
- Jain, A., Deveda, P., Vyas, N., Chauhan, J., Khambete, H., dan Jain, S. (2011). Development of Antifungal Emulsions Based Gel for Topical Fungal Infection(s). *International Journal of Pharmaceutical Research and Development (IJPRD)*, 2 (12), 18-25.
- Jia-You Fang, Ying-Yue Wang, Chi-Tzong Hong, dan Wen-Ta Chiu. (2001). In Vitro and In Vivo Evaluations of Topically Applied Capsaicin and Nonivamide from Hydrogels. *International Journal of Pharmaceutics* (224), 89-104.
- Jia-You Fang, Yann-Lii Leu, Ying-Yue Wang, dan Yi-Hung Tsai. (2002). In Vitro Topical Application and In Vivo Pharmacodynamics Evaluation of Nonivamide Hydrogels Using Wistar Rat as an Animal Model. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 15, 417-423
- Jones, B. dan Luchsinger, A. E. (1987). *Plant Systematics (2nd Ed.)*. Singapore: McGraw-Hill Book.

- Kam, P. C. A dan Hayman, M. (2008). Capsaicin: A Review of Its Pharmacology and Clinical Applications. *Current Anaesthesia dan Clinical Care*, 19, 338-343.
- Khambete, H., Jain, A., Deveda, P., Vyas, N., dan Jain, S. (2010). Gellifield Emulsion for Sustain Delivery of Itraconazole for Topical Fungal Disease. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2 (1), 104-112.
- Khullar, R., Seema, S., Nimrata, S., dan Rana. (2011). Emulgels: A Surrogate Approach for Topically Used Hydrophobic Drugs. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*, 1 (3), 117-128.
- Khullar, R., Deepinder, K., Nimrata S. dan Seema S. (2012). Formulation and Evaluation of Mefenamic Acid Emulgel for Topical Delivery. *Saudi Pharmaceutical Journal* (20), 63-67.
- Kumar, L., dan Verma. (2010). In Vitro Evaluation of topical Gel Prepared Using Natural Polymer. *International Journal of Drug Delivery*, 2, 58-63.
- Langley dan Lenny L. *Dynamic anatomy and physiology*. USA: Mc Graww Hill Inc. 1958: 67.
- Lionberger, D. R dan Brennan, M. J. (2010). Topical Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs for The Treatment of Pain Due to Soft Tissue Injury: Diclofenac Epolamine Topical Patch. *Journal of Pain Research*, (3), 223-233.
- Lu, J., dan Cwik, M.. (1997). Determination of Capsaicin and Zucapsaicin in Human Serum by High-Performance Liquid Chromatography with Fluoresence Setection. *Journal of Chromatography B*, 701, 135-139.
- Lund, W. (1994). *The Pharmaceutical Codex (12th Ed)*. London: The Pharmaceutical Press.
- Martin, A. , Swarbrick, J., dan Cammarata, A. (1983). *Farmasi Fisik* (Joshita Djajadisastra dan Iis Aisyah Baihaki, Penerjemah). Jakarta: UI Press, 1143-1183.
- Moffat, A.C., Osselton, M. D., dan Widdop, B. (2005). *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*. Pharmaceutical Press.

- Mohamed, Magdy. (2004). Optimization of Chlorphenesin Emulgel Formulation. *The AAPS Journal*, 6 (3), 1-7.
- Monforte-González, M., Medina-Lara, F., Gutiérrez-Carbajal, G., dan Vázquez-Flota, F. (2007). Capsaicinoid Quantitation by In Situ Densitometry of Thin Layer Chromatography Plates. *Journal of Liquid Chromatography dan Related Technologies*, 30, 1697-1704.
- Murray, Frank. (2000). *100 Supplements for A Longer Life*. Keats Publishing, 45.
- O'Neil, M. J., Smith, A., Heckelman, P. E., Obenchain, J. R., Jr., Gallipeau, J. A. R., D'Arecca, M. A. , dan Budavari, S. (2001). *The Merck Index 33th Ed.* New Jearsey: Merck dan Co., Inc. Whitehouse Station.
- PANTONE®. (2004-2005). *Formula Guide Coated / Uncoated (2nd Ed.)*. New Jersey: Pantone, Inc.,: 1225 C, 136 C, 150 C, 151 C, dan 181 C.
- Panwar, A. S., Upadhyay, N., Bairagi, M., Gujar, S., Darwhekar, G. N., dan Jain, D. K. (2011). Emulgel: A Review. *Asian Journal of Pharmacy and Life Science*, 3, 333-343.
- Peña-Alvarez, A., Ramírez-Maya , E., dan Alvarado-Suárez, L. Á. (2009). Analysis of Capsaicin and Dihydrocapsaicin in Peppers and Pepper Sauce by Solid Phase Micro Extraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216, 2843-2847.
- Perucka, I. dan Oleszek, W. (2000). Extraction and Determination of Capsaicinoid in Fruit of Hot Pepper *Capsicum annum* L. by Spectrophotometry and High-Performance Liquid Chromatography. *Food Chemistry*, 71, 287-291.
- Pineau, A., Guillard, O., Fauconneau, B., Favreau, F., Marty, M-H, Gaudin, A., Vincent, C. M., Marraud, A., dan Marty, J-P. (2012). In Vitro Study of Percutaneous Absorption of Aluminum from Antiperspirants Through Human Skin in the Franz™ Diffusion Cell. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 110, 21–26.
- Pudjiati, D. Y. (1993). Penetapan Kadar Capsaicin Beberapa Jenis cabai di Indonesia. *Skripsi Sarjana Farmasi FMIPA UI*.

- Puranik, S. B., Sanjay P. P. N., dan Rao, G. K. (2009). Determination of Organic Volatile Impurities in Herbal Formulations and Extracts by Capillary Gas Chromatography. *International Journal of Applied Research in Natural Products*, 2 (1), 32-46
- Reynolds, J. E. F. (1982). *Martindale The Extrapharmacopoeia (28th Ed)*. London: Pharmaceutical Press, 687.
- Rowe, Sheskey, dan Quinni. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients (6th Ed.)*. London: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association
- Sampathu, S. R. D., Naidu, M. M., Sowbhagya, H. B., Naik, J. P., dan Krishnamurthy, N. (2004). Process of Extracting Chilli (Capsicum) Oleoresin. USA: *US Patent* 0191364 A1.
- Singla, V., Seema, S., Joshi, B. dan Rana, A. C.. (2012). Emulgel: A New Platform For Topical Drug Delivery. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*, 3 (1), 485-498.
- Soetarno, S. Sukrasno, Yulinah, E., dan Sylvia. (1997). Antimicrobial Activities of The Ethanol Extracts of Capsicum Fruits with Different Levels of Pungency. *JMS*, 2 (2), 57-63.
- Srivastava, P. (2006). Excipients for semisolid formulations. In Ashok Katdare dan Mahesh V. Chaubal (Ed.). *Excipient development for pharmaceutical, biotechnology, and drug delivery systems* (204-208). New York: Informa Healthcare.
- Touchstone, J. C., dan Dobbins, M. F. (1983). *Practice of Thin Layer Chromatography (2nd Ed.)*. New York: John Wiley and Sons, Inc, 1-15, 171-172, 207, 135-136, 248-271.
- Tranggono, R.I., dan Latifah, F.. (2007). *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama, 11-13.
- Ulbricht, Catherine dan Seamon, E.. (2010). *Natural Standard Herbal Pharmacotherapy*. St. Louis: Mosby Elsevier, 83.
- Voigt, Rudolf. (1995). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, (Ed. ke-5)* (Soendani N. S. dan Mathilda B. W, Penerjemah). Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, 355.

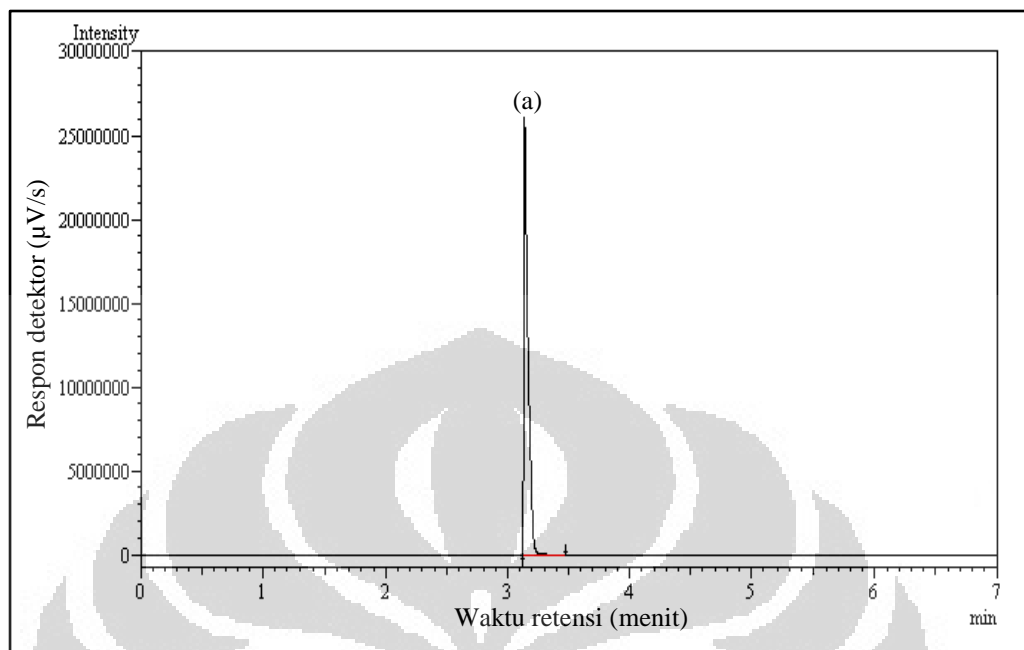
- Walters, K. A., dan Jonathan, H. (1993). *Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement*. New York: Marcell Dekker Inc., 335-361.
- Wells, B. G., Chisholm-Burns, M. A., Schwinghammer, T. L., Malone, P. M., Kolesar, J. M., Rotschafer, J. C., dan DiPiro, J. T. (2008). *Pharmacotherapy Principles dan Practice*. New York: Mc Graw Hill Medical, 487-490.
- Williams, A. C., dan Barry, B. W. (2007). Chemical permeation enhancement. In Elka Touitou dan Brian W. Barry (Ed.). *Enhancement in drug delivery*, 233-248). United States of America: CRC Press.
- Wirjowidagdo, Sumali. (2007). *Kimia dan Farmakologi Bahan Alam, (Ed.2)*. Jakarta: EGC, 157-158.
- Witt, Krista dan D., Bucs. (2003). Studying In Vitro Skin Penetration and Drug Release to Optimize Dermatological Formulations. In *Pharmaceutical Technology*. USA: Advanstar Communication Inc.
- Xiaoling Li dan Jasti, B. R. (2006). *Design of Controlled Release Drug Delivery Systems*. New York: Mc Graw-Hill, 52-55.
- Yi-Hung Tsai, Jia-You Fang, Pao-Chu Wu, dan Yaw-Bin Huang. (1995). In Vitro Permeation Study of Capsaicin and Its Synthetic Derivatives from Ointment Bases Using Various Skin Types. *International Journal of Pharmaceutics*, 126, 119-128
- Yi-Hung Tsai, Jia-You Fang, Pao-Chu Wu, dan Yaw-Bin Huang. (1996). In Vivo Percutaneous Absorption of Capsaicin, Nonivamide and Sodium Nonivamide Acetate from Ointment Bases: Skin Erythema Test and Non-invasive Surface Recovery Technique in Humans. *International Journal of Pharmaceutics*, 131, 143-151.
- Zats, J. L. dan Kushla, G. P. (1996). Gels. In H. A. Lieberman, M. M. Rieger dan G.S. Banker (Ed.). *Pharmaceutical dosage forms: Disperse systems (2nd Ed., Vol.2, pp. 507)*. New York: Marcel Dekker.



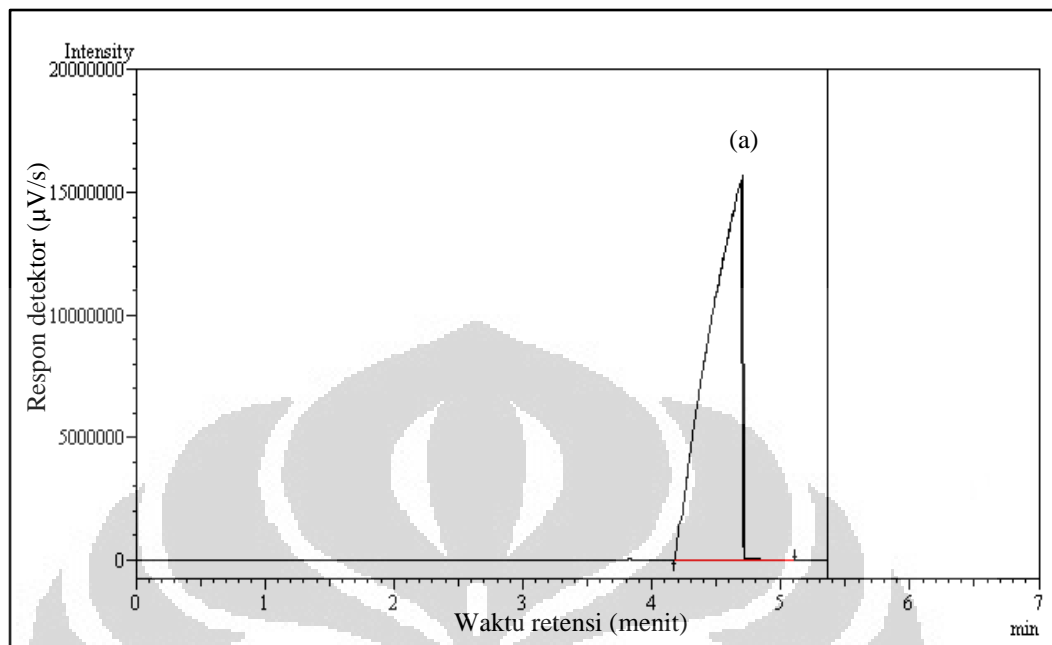
LAMPIRAN

Daftar Lampiran

Jenis Lampiran	No. Lampiran
Lampiran Gambar	1-23
Lampiran Tabel	24-51
Lampiran Contoh Perhitungan	52-60
Lampiran Determinasi Tanaman	61
Lampiran Sertifikat Analisis	62-70

Lampiran 1. Kromatogram standar (a) diklormetana**Keterangan:**

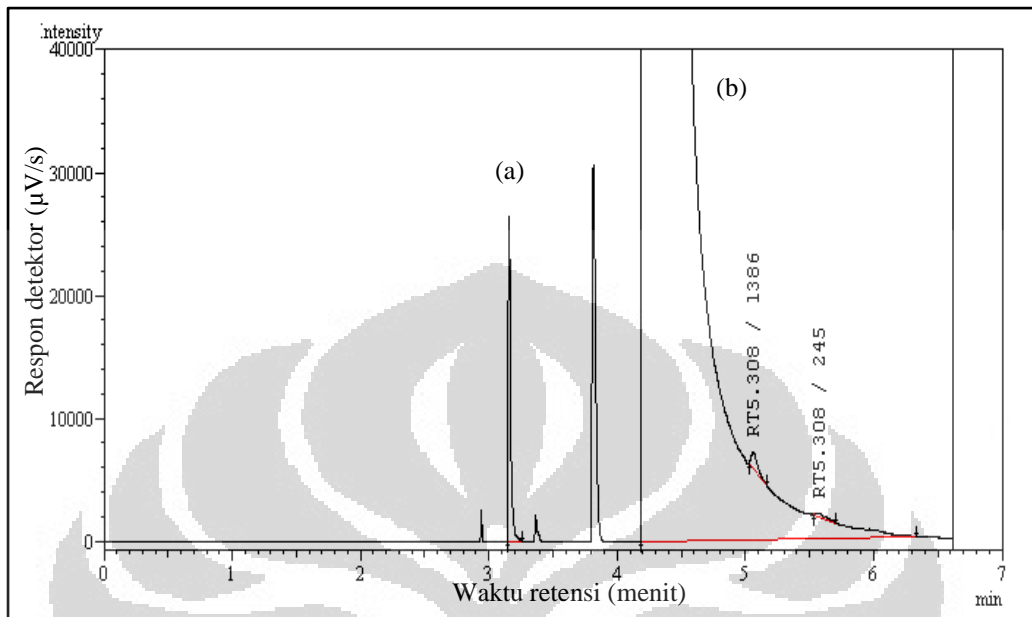
Analisis dilakukan dengan kolom kapiler VB-Wax (60 m x 0,32 mm); suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C; split ratio 1:50; suhu kolom 60°C, laju alir gas pembawa (He) 2,0 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 µl. Waktu retensi diklormetana 3,139 menit.

Lampiran 2. Kromatogram standar (a) n-butanol

Keterangan:

Analisis dilakukan dengan kolom kapiler VB-Wax (60 m x 0,32 mm); suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C; split ratio 1:50; suhu kolom 60°C, laju alir gas pembawa (He) 2,0 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 μl . Waktu retensi diklormetana 4,696 menit

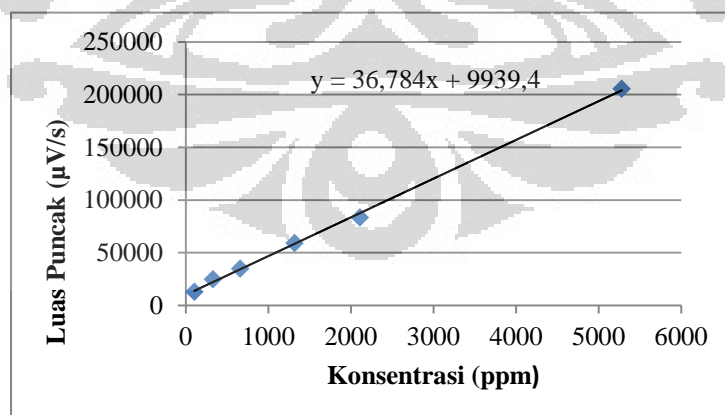
Lampiran 3. Contoh kromatogram sampel dalam pelarut n-butanol konsentrasi 125220 µg/mL. (a) Diklormetana dan (b) n-butanol



Keterangan:

Analisis dilakukan dengan kolom kapiler VB-Wax (60 m x 0,32 mm); suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C; split ratio 1:50; suhu kolom 60°C, laju alir gas pembawa (He) 2,0 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 µL. Waktu retensi diklormetana (tanda panah) 3,162 menit.

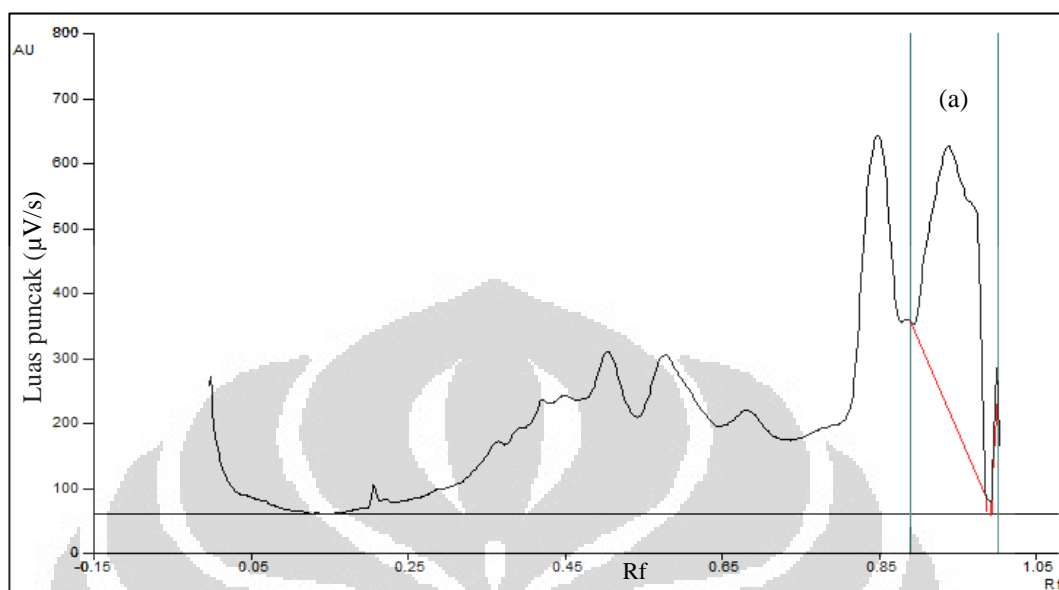
Lampiran 4. Kurva kalibrasi standar diklormetana dalam pelarut n-butanol



Keterangan:

Analisis dilakukan dengan kolom kapiler VB-Wax (60 m x 0,32 mm); suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C; split ratio 1:50; suhu kolom 60°C, laju alir gas pembawa (He) 2,0 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 µL. Nilai $r = 0,99945$.

Lampiran 5. Kromatogram hasil kromatografi lapis tipis ekstrak buah cabai rawit dengan eluen diklormetan-metanol (95:5) menggunakan *TLC Scanner CAMAG III*

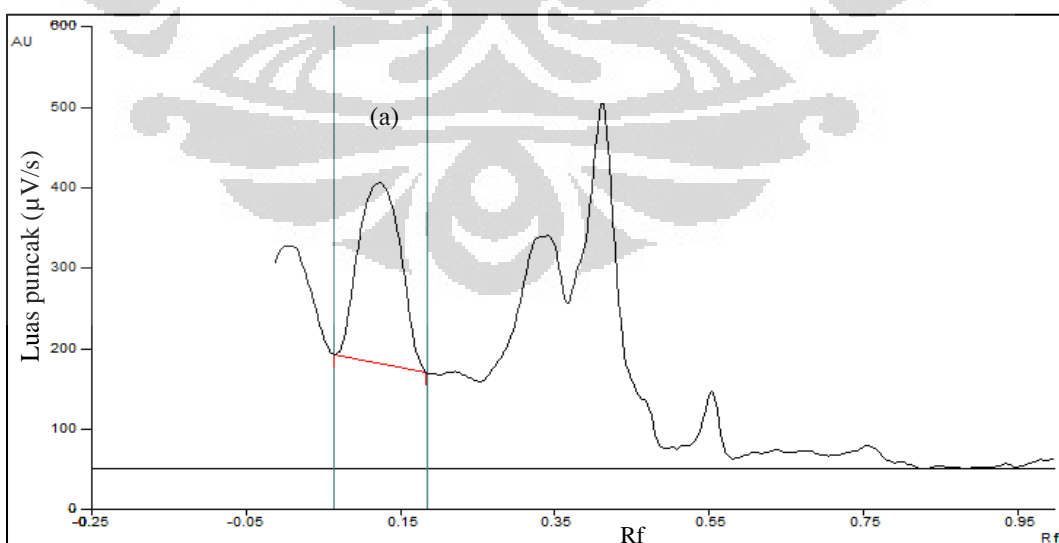


Keterangan: Analisis dilakukan pada panjang gelombang 254 nm.

Fase diam: Silika gel F254

(a) Rf kapsaisinoid adalah 0,94.

Lampiran 6. Kromatogram hasil kromatografi lapis tipis ekstrak buah cabai rawit dengan eluen n heksan-diklormetan-asam asetat glasial (7:2,5:0,5) menggunakan *TLC Scanner CAMAG III*

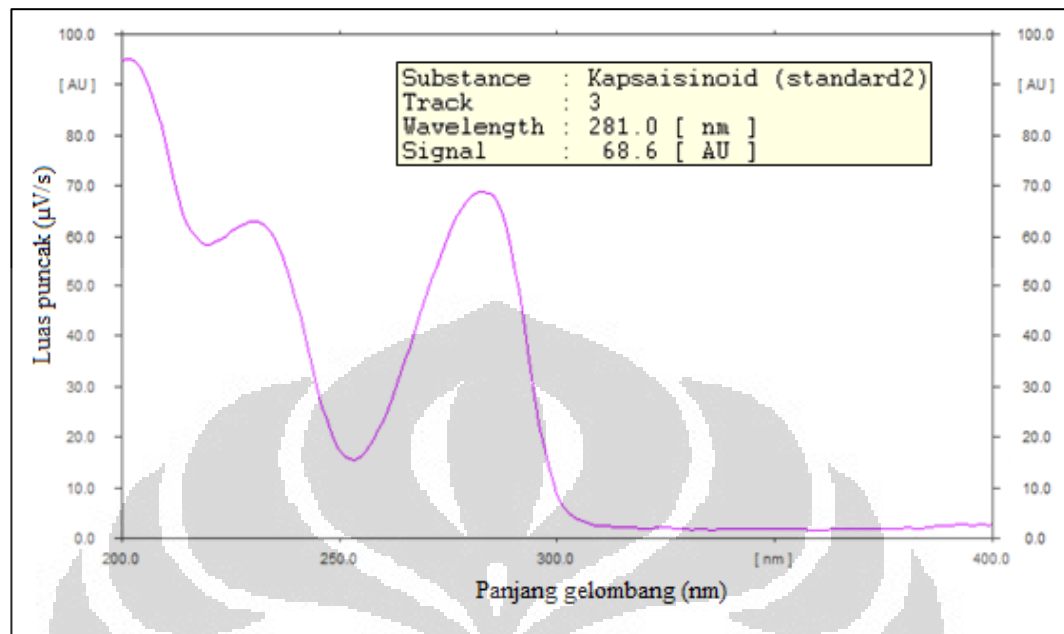


Keterangan: Analisis dilakukan pada panjang gelombang 254 nm.

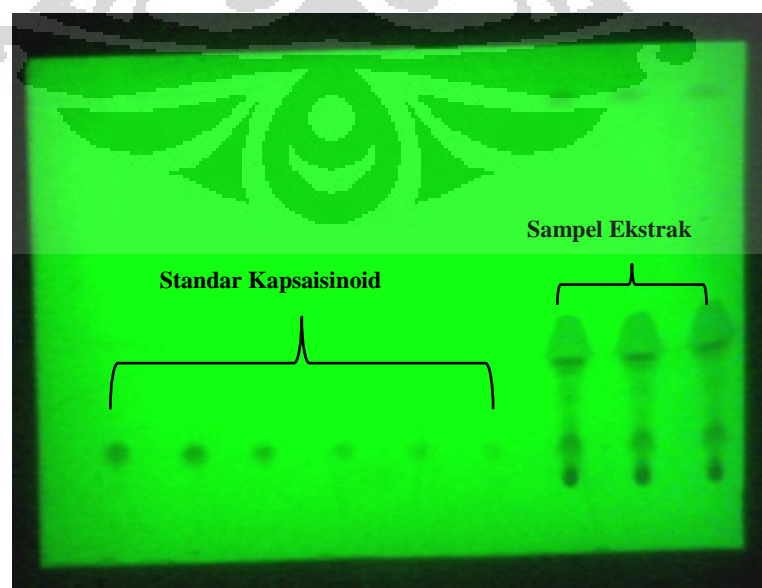
Fase diam: Silika gel F254

(a) Rf kapsaisinoid adalah 0,14.

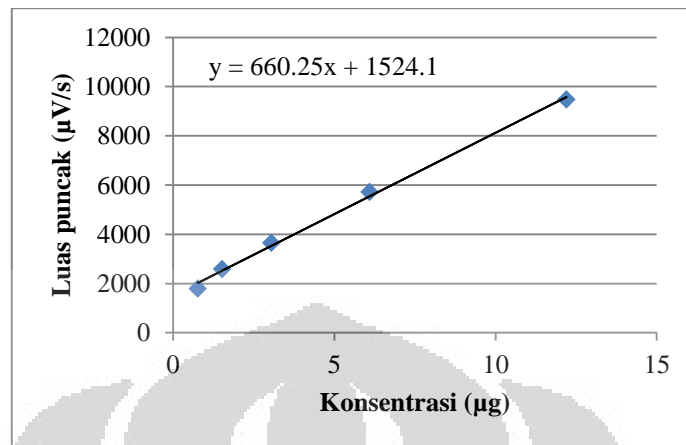
Lampiran 7. Kurva serapan maksimum standar kapsaisinoid 3,0 μg hasil deteksi TLC Scanner CAMAG



Lampiran 8. Foto lempeng KLT Silika gel F₂₅₄ yang telah dielus untuk penetapan kadar kapsaisinoid dilihat di bawah lampu sinar UV pada $\lambda=254$ nm

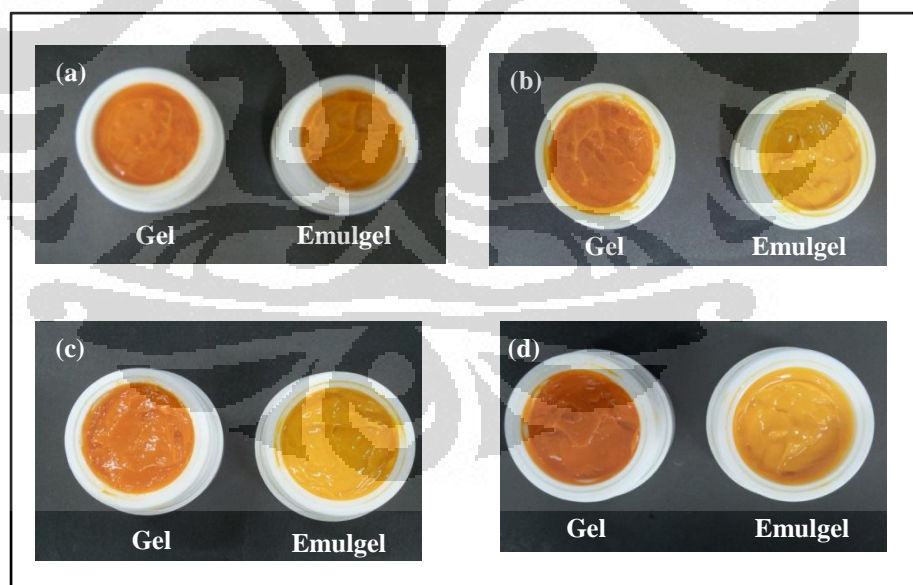


Lampiran 9. Kurva kalibrasi standar kapsaisinoid untuk penetapan kadar dalam ekstrak buah cabai rawit

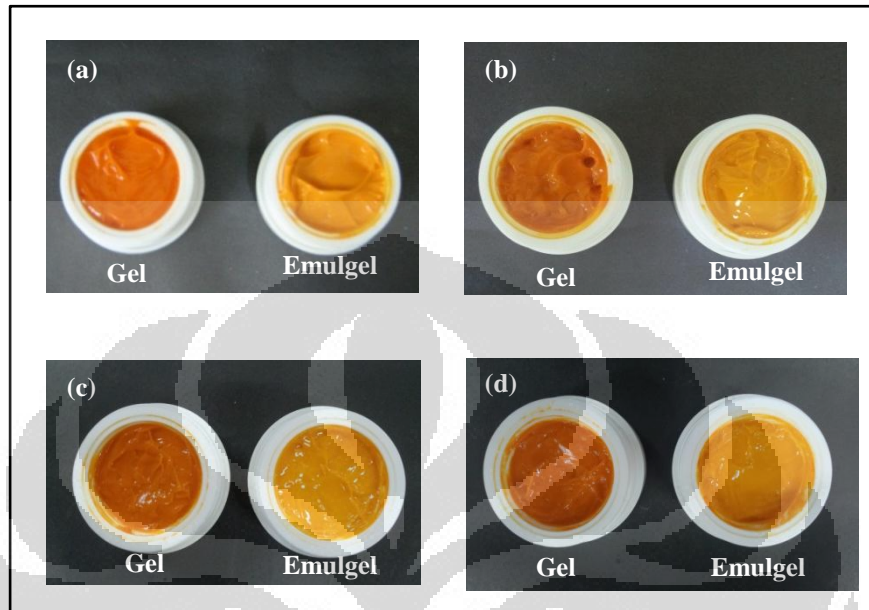


Keterangan: Analisis dilakukan pada panjang gelombang 281,0 nm. Nilai $r = 0,99856$.

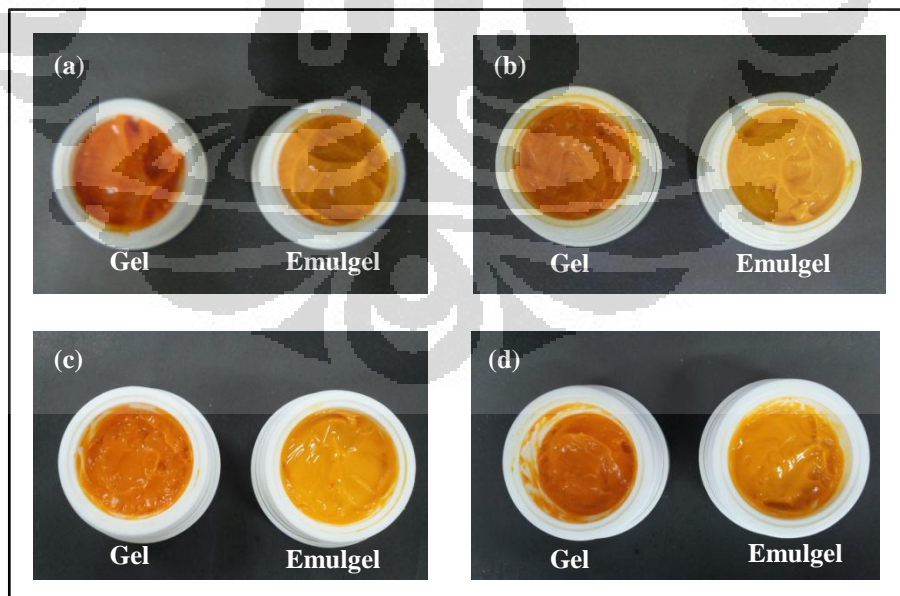
Lampiran 10. Penampilan sediaan gel dan emulgel yang disimpan pada suhu rendah dari (a) minggu ke-2, (b) minggu ke-4, (c) minggu ke-6 hingga (d) minggu ke-8.



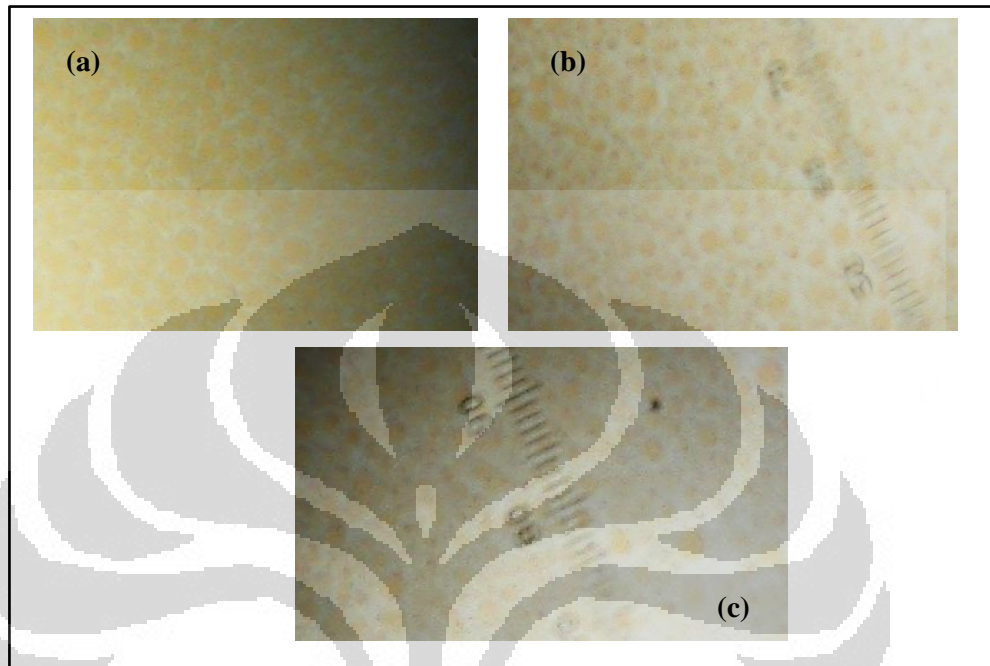
Lampiran 11. Penampilan sediaan gel dan emulgel yang disimpan pada suhu kamar dari (a) minggu ke-2, (b) minggu ke-4, (c) minggu ke-6 hingga (d) minggu ke-8.



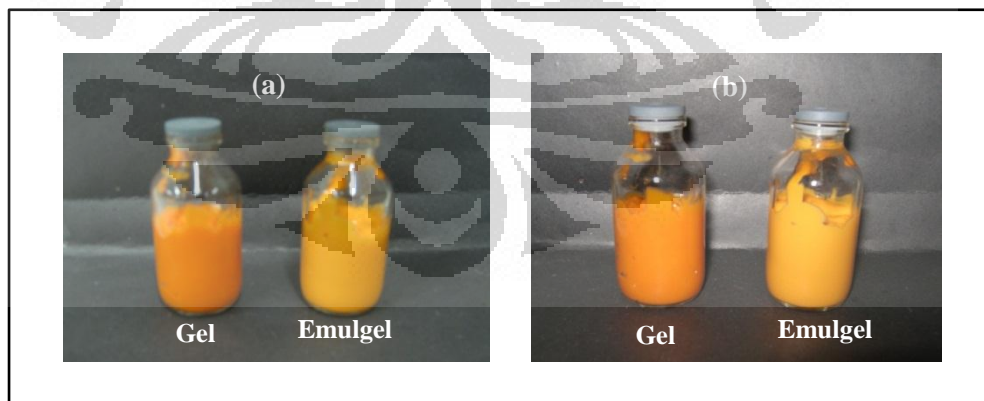
Lampiran 12. Penampilan sediaan gel dan emulgel yang disimpan pada suhu tinggi dari (a) minggu ke-2, (b) minggu ke-4, (c) minggu ke-6 hingga (d) minggu ke-8.



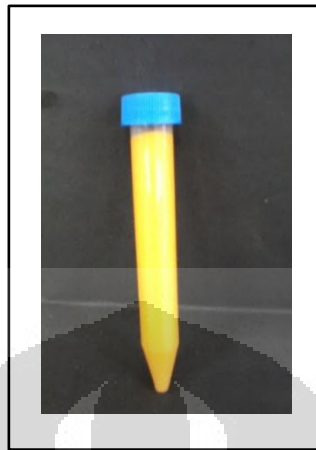
Lampiran 13. Foto mikroskopik diameter globul rata-rata sediaan emulgel di minggu ke-8 pada penyimpanan (a) suhu rendah, (b) suhu kamar, dan (c) suhu tinggi dengan perbesaran 100 kali



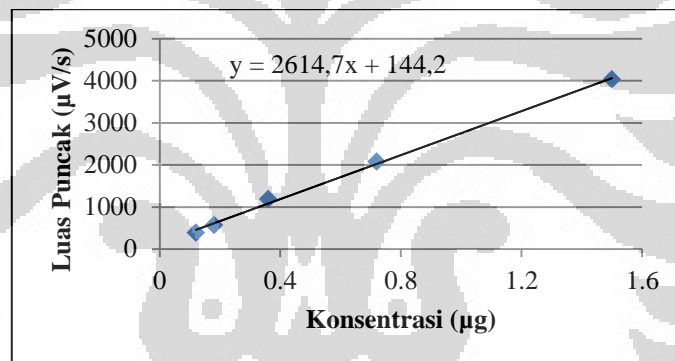
Lampiran 14. Penampilan sediaan gel dan emulgel (a) sebelum dan (b) setelah *cycling test*



Lampiran 15. Penampilan sediaan emulgel setelah uji mekanik/sentrifugasi

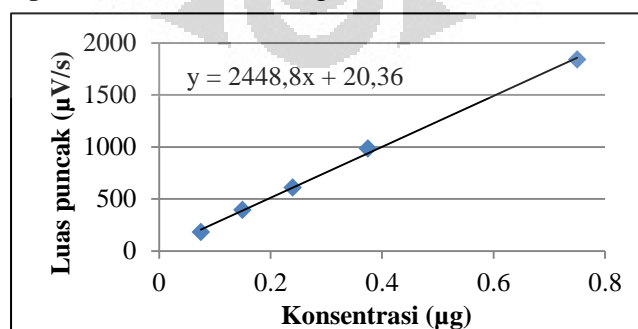


Lampiran 16. Kurva kalibrasi standar kapsaisinoid untuk uji penetapan kandungan (UPK)



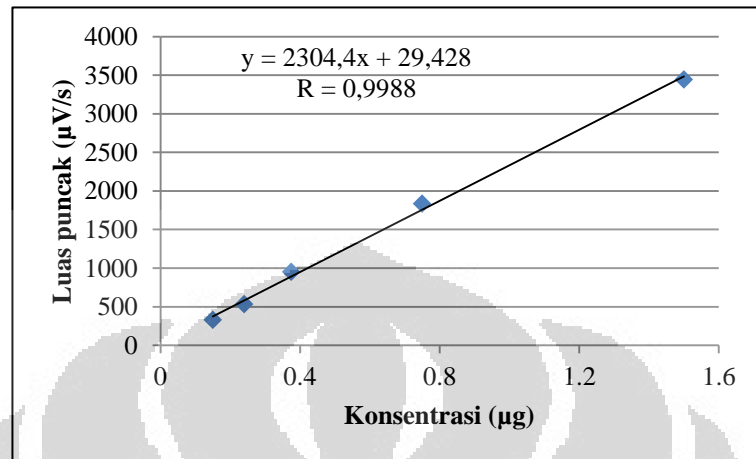
Keterangan: Analisis dilakukan pada panjang gelombang 281,0 nm. Nilai $r = 0,9989$.

Lampiran 17. Kurva kalibrasi standar kapsaisinoid untuk analisis sampel uji penetrasi dari sediaan gel



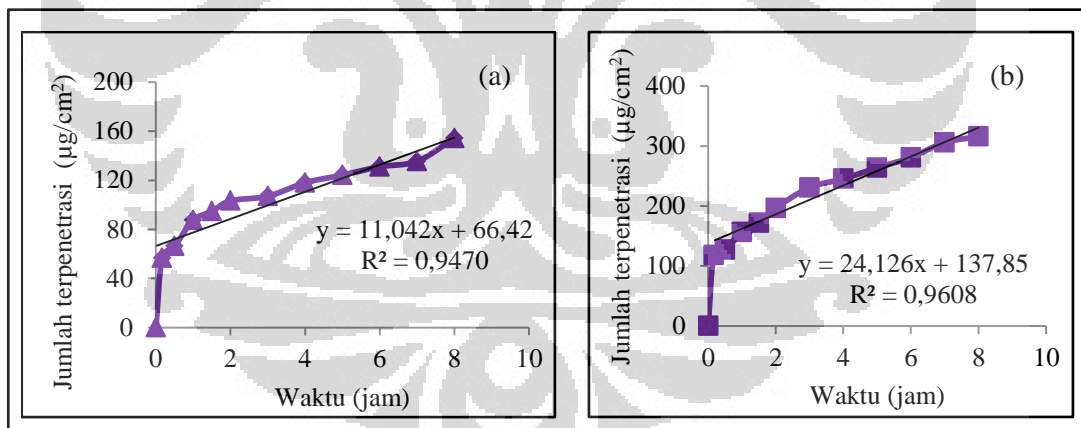
Keterangan: Analisis dilakukan pada panjang gelombang 281,0 nm. Nilai $r = 0,99920$.

Lampiran 18. Kurva kalibrasi standar kapsaisinoid untuk analisis sampel uji penetrasi dari sediaan emulgel

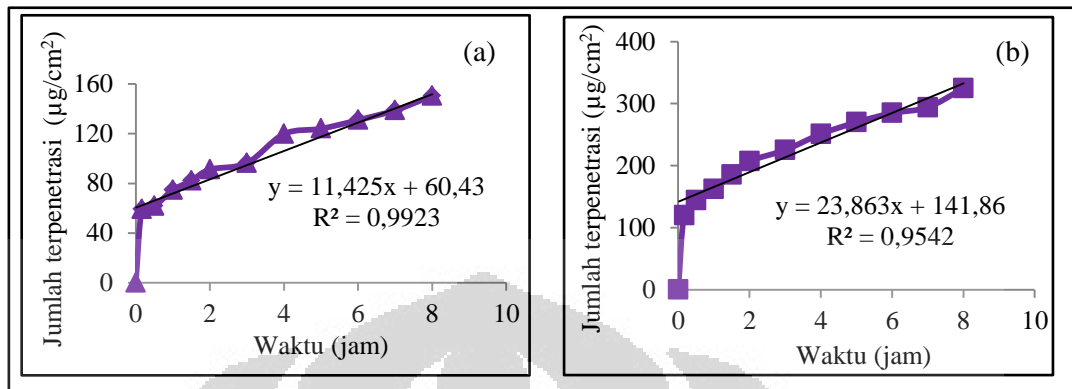


Keterangan: Analisis dilakukan pada panjang gelombang 281,0 nm. Nilai $r = 0,9988$

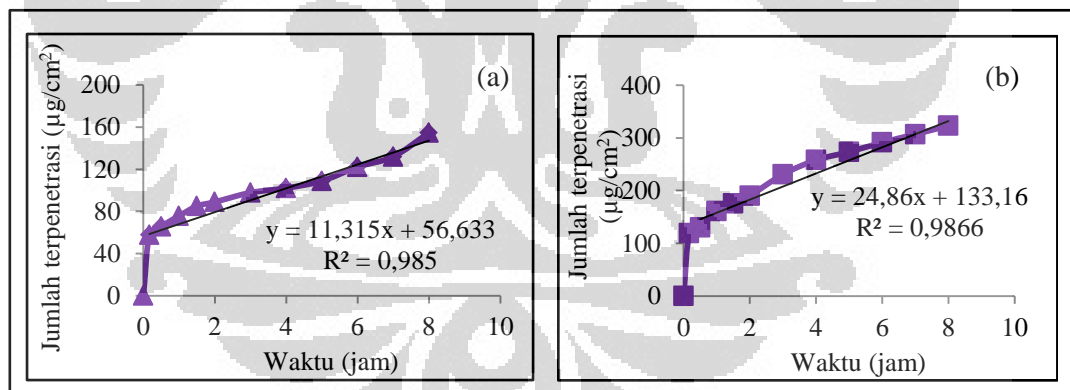
Lampiran 19. Jumlah kumulatif kapsaisinoid yang terpenetrasi per satuan luas membran percobaan 1 dari sediaan (a) gel dan (b) emulgel



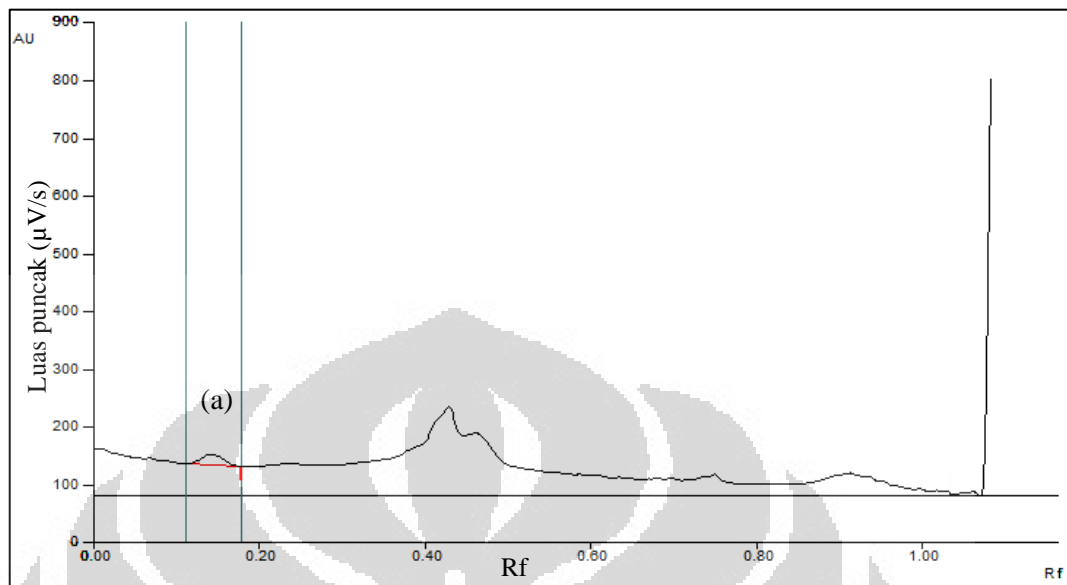
Lampiran 20. Jumlah kumulatif kapsaisinoid yang terpenetrasi per satuan luas membran percobaan 2 dari sediaan (a) gel dan (b) emulgel



Lampiran 21. Jumlah kumulatif kapsaisinoid yang terpenetrasi per satuan luas membran percobaan 3 dari sediaan (a) gel dan (b) emulgel

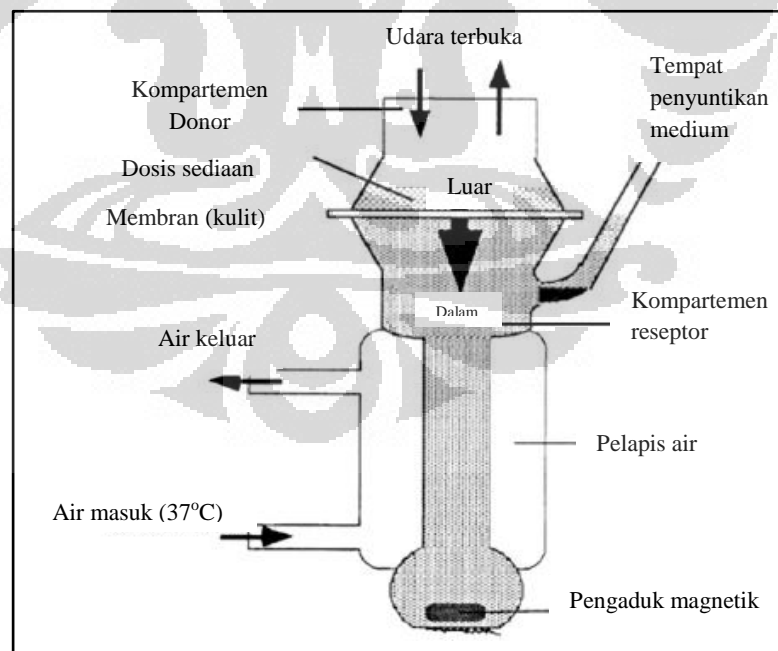


Lampiran 22. Contoh kromatogram sampel uji penetrasi dari sediaan emulgel pada menit ke-180 secara KLT densitometri



Keterangan:
 Analisis dilakukan pada panjang gelombang 281,0 nm.
 (a) Rf kapsaisinoid = 0,16

Lampiran 23. Skema sel difusi Franz (telah diolah kembali)



[Sumber: Pineau, Alain, *et al.*, 2012]

Lampiran 24. Data kurva kalibrasi, batas deteksi dan batas kuantitasi standar diklormetana dalam pelarut n-butanol pada penetapan kadar sisa pelarut ekstraksi secara kromatografi gas

Konsentrasi diklormetana [x] ($\mu\text{g/mL}$)	Luas puncak diklormetana [y] ($\mu\text{V/s}$)	$[\hat{y}]$	$(\hat{y} - y)^2$
5280,0	205505	204158,90	1811931,37
2112,0	83433	87627,21	17591380,75
1320,0	58929	58494,28	188981,48
660,0	34752	34216,84	286396,23
330,0	24789	22078,12	7348870,37
105,6	12986	13823,79	701892,75
$\Sigma x = 9807,6$		$\Sigma (\hat{y} - y)^2$	27929452,95

Keterangan:

Persamaan regresi linier : $y = 36,784x + 9939,4$ $r = 0,99945$

Batas deteksi (LOD) : 215,51 $\mu\text{g/mL}$

Batas kuantitasi (LOQ) : 718,36 $\mu\text{g/mL}$

\hat{y} : diperoleh dari plot konsentrasi terhadap persamaan kurva kalibrasi

Kondisi:

Analisis dilakukan dengan kolom kapiler VB-Wax (60 m x 0,32 mm); suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C; split ratio 1:50; suhu kolom 60°C, dengan laju alir gas pembawa (He) 2,0 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 μl .

Lampiran 25. Data penetapan kadar diklormetana dalam ekstrak buah cabai rawit secara kromatografi gas

Sampel	Konsentrasi sampel ($\mu\text{g/mL}$)	Luas puncak ($\mu\text{V/s}$)	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Kadar (%)	Rata-rata (%)	SD (%)
1	126060	32964	625,94	0,50		
2	125220	28970	517,36	0,41	0,46	0,04
3	125470	32089	602,15	0,48		

Keterangan:

SD : Standar deviasi (dinyatakan dalam persen)

Kondisi:

Analisis dilakukan dengan kolom kapiler VB-Wax (60 m x 0,32 mm); suhu injektor 230°C; suhu detektor 250°C; split ratio 1:50; suhu kolom 60°C, dengan laju alir gas pembawa (He) 2,0 mL/menit; volume penyuntikan 1,0 μl .

Lampiran 26. Data kurva kalibrasi, batas deteksi, dan batas kuantitasi standar kapsaisinoid pada $\lambda=281,0$ nm untuk penetapan kadar ekstrak secara kromatografi lapis tipis densitometri.

Konsentrasi kapsaisinoid [x] (μg)	Luas puncak [y] ($\mu\text{V/s}$)	[\hat{y}]	$(\hat{y}-y)^2$
12,20	9472,92	9579,20	11295,44
6,10	5723,93	5551,68	29670,06
3,05	3650,90	3537,91	12766,74
1,53	2581,15	2531,03	2512,01
0,76	1798,89	2027,92	52454,74
$\Sigma x = 23,64$		$\Sigma (\hat{y}-y)^2$	108699,00

Keterangan:

Persamaan regresi linier : $y = 660,25x + 1524,1$ $r = 0,99856$

Batas deteksi (LOD) : $0,87 \mu\text{g}$

Batas kuantitasi (LOQ) : $2,88 \mu\text{g}$

\hat{y} : diperoleh dari plot konsentrasi terhadap persamaan kurva kalibrasi

Lampiran 27. Data penetapan kadar kapsaisinoid dalam ekstrak buah cabai rawit secara KLT densitometri

Sampel	Konsentrasi sampel (μg)	Luas puncak ($\mu\text{V/s}$)	Konsentrasi Kapsaisinoid (μg)	Kadar (%)	Rata-rata (%)	SD (%)
1	297,10	4853,25	5,042	1,697		
2	296,95	5359,31	5,809	1,956	1,917	0,20
3	302,90	5719,94	6,355	2,098		

Keterangan:

SD : Standar deviasi (dinyatakan dalam persen)

Lampiran 28. Hasil evaluasi kedua sediaan pada minggu ke-0

Sediaan	Warna	Bau	Homogenitas	pH	Diameter globul rata-rata (μm)
Gel	Jingga intensif (Pantone 151 C)	Mentol	Homogen	5,85	-
Emulgel	Jingga muda (Pantone 1225 C)	Mentol	Homogen	5,74	0,27

Lampiran 29. Hasil perhitungan viskositas sediaan gel dan emulgel minggu ke-0

Sediaan	Spindel	Kecepatan (rpm)	Dial Reading (dr)	Faktor Koreksi (f)	Viskositas $\eta = dr \times f$	Shearing stress $F/A = dr \times 7,187$	Rate of Shear $dv/dr = F/A \times 1/\eta$
Gel	6	0,5	33,5	20000	670000	240,765	0,0004
		1	42,2	10000	422000	303,291	0,0007
		2	48,1	5000	240500	345,695	0,0014
		2,5	50	4000	200000	359,350	0,0018
		4	50,8	2500	127000	365,100	0,0029
		10	60	1000	60000	431,220	0,0072
		20	67,8	500	33900	487,279	0,0144
		20	66,5	500	33250	477,936	0,0144
		10	55	1000	55000	395,285	0,0072
		4	43	2500	107500	309,041	0,0029
		2,5	38,5	4000	154000	276,700	0,0018
		2	37,5	5000	187500	269,513	0,0014
		1	34	10000	340000	244,358	0,0007
		0,5	31,5	20000	630000	226,391	0,0004
		Emulgel	6	0,5	19,5	20000	390000
1	20,5			10000	205000	147,334	0,0007
2	22,5			5000	112500	161,708	0,0014
2,5	23			4000	92000	165,301	0,0018
4	25			2500	62500	179,675	0,0029
10	29			1000	29000	208,423	0,0072
20	33			500	16500	237,171	0,0144
20	32,5			500	16250	233,578	0,0144
10	28			1000	28000	201,236	0,0072
4	23,6			2500	59000	169,613	0,0029
2,5	22			4000	88000	158,114	0,0018
2	21,5			5000	107500	154,521	0,0014
1	19,5			10000	195000	140,147	0,0007
0,5	18,5			20000	370000	132,960	0,0004

Lampiran 30. Data diameter globul rata-rata sediaan emulsi sebelum dimasukkan ke dalam gel

Rentang (μm)	Nilai Tengah (d)	Frekuensi (n)	n.d
0,219- 0,289	0,254	116	29,46
0,290 - 0,360	0,325	98	31,85
0,361 - 0,431	0,396	0	0,00
0,432 - 0,502	0,467	21	9,81
0,503 - 0,573	0,538	116	62,41
0,574 - 0,644	0,609	0	0,00
0,645 - 0,715	0,68	82	55,76
0,716 - 0,786	0,751	0	0,00
0,787 - 0,857	0,822	168	138,10
0,858 - 0,928	0,893	144	128,59
0,929 - 0,999	0,964	80	77,12
		$\Sigma n = 825$	$\Sigma n.d = 533,10$

Keterangan: panjang kelas = 11 dan diameter globul rata-rata = 0,65 μm .

Lampiran 31. Data diameter globul rata-rata sediaan emulgel pada minggu ke-0

Rentang (μm)	Nilai Tengah (d)	Frekuensi (n)	n.d
0,148 - 0,218	0,183	412	75,40
0,219- 0,289	0,254	376	95,50
0,290 - 0,360	0,325	58	18,85
0,361 - 0,431	0,396	42	16,63
0,432 - 0,502	0,467	14	6,54
0,503 - 0,573	0,538	0	0,00
0,574 - 0,644	0,609	8	4,87
0,645 - 0,715	0,68	46	31,28
0,716 - 0,786	0,751	10	7,51
0,787 - 0,857	0,822	0	0,00
0,858 - 0,928	0,893	0	0,00
		$\Sigma n = 966$	$\Sigma n.d = 56,58$

Keterangan: panjang kelas = 11 dan diameter globul rata-rata = 0,27 μm .

Lampiran 32. Hasil pengamatan organoleptis kelima formula pada penyimpanan suhu rendah ($4 \pm 2^\circ\text{C}$) selama 8 minggu

Sediaan	Minggu ke-	Warna	Bau	Homogenitas
Gel	2	Jingga (Pantone 151C)	Mentol	Homogen
	4	Jingga (Pantone 151 C)	Mentol	Homogen
	6	Jingga (Pantone 151 C)	Mentol	Homogen
	8	Jingga (Pantone 151 C)	Mentol	Homogen
Emulgel	2	Jingga (Pantone 136 C)	Mentol	Homogen
	4	Jingga (Pantone 1225 C)	Mentol	Homogen
	6	Jingga (Pantone 1225C)	Mentol	Homogen
	8	Jingga (Pantone 1225C)	Mentol	Homogen

Lampiran 33. Hasil pengamatan organoleptis kelima formula pada penyimpanan suhu kamar ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) selama 8 minggu

Sediaan	Minggu ke-	Warna	Bau	Homogenitas
Gel	2	Jingga (Pantone 151 C)	Mentol	Homogen
	4	Jingga (Pantone 151 C)	Mentol	Homogen
	6	Jingga (Pantone 151 C)	Mentol	Homogen
	8	Jingga (Pantone 151 C)	Mentol	Homogen
Emulgel	2	Jingga (Pantone 1225 C)	Mentol	Homogen
	4	Jingga (Pantone 1225 C)	Mentol	Homogen
	6	Jingga (Pantone 1225 C)	Mentol	Homogen
	8	Jingga (Pantone 1225 C)	Mentol	Homogen

Lampiran 34. Hasil pengamatan organoleptis kelima formula pada penyimpanan suhu tinggi ($40 \pm 2^\circ\text{C}$) selama 8 minggu

Sediaan	Minggu ke-	Warna	Bau	Homogenitas
Gel	2	Jingga (Pantone 151 C)	Mentol	Homogen
	4	Jingga (Pantone 151 C)	Mentol	Homogen
	6	Jingga (Pantone 151 C)	Mentol	Homogen
	8	Jingga (Pantone 150 C)	Mentol	Homogen
Emulgel	2	Jingga (Pantone 136 C)	Mentol	Homogen
	4	Jingga (Pantone 1225 C)	Mentol	Homogen
	6	Jingga (Pantone 1225 C)	Mentol	Homogen
	8	Jingga (Pantone 1225 C)	Mentol	Homogen

Lampiran 35. Hasil pengukuran pH kedua sediaan pada penyimpanan suhu rendah ($4 \pm 2^\circ\text{C}$) selama 8 minggu

Minggu ke-	pH sediaan	
	Gel	Emulgel
2	5,90	5,78
4	6,11	5,84
6	6,20	5,84
8	6,16	5,94

Lampiran 36. Hasil pengukuran pH kedua sediaan pada penyimpanan suhu kamar ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) selama 8 minggu

Minggu ke-	pH sediaan	
	Gel	Emulgel
2	5,93	5,83
4	6,04	5,99
6	6,14	6,15
8	6,12	6,18

Lampiran 37. Hasil pengukuran pH kedua sediaan pada penyimpanan suhu tinggi ($40 \pm 2^\circ\text{C}$) selama 8 minggu

Minggu ke-	pH sediaan	
	Gel	Emulgel
2	6,04	6,08
4	6,07	6,18
6	6,21	6,18
8	6,19	6,17

Lampiran 38. Hasil perhitungan viskositas sediaan gel dan emulgel minggu ke-8

Sediaan	Spindel	Kecepatan (rpm)	Dial Reading (dr)	Faktor Koreksi (f)	Viskositas $\eta = dr \times f$	Shearing stress $F/A = dr \times 7,187$	Rate of Shear $dv/dr = F/A \times 1/\eta$
Gel	6	0,5	36,0	20000	720000	258,732	0,0004
		1,0	43,0	10000	430000	309,041	0,0007
		2,0	47,5	5000	237500	341,383	0,0014
		2,5	49,5	4000	198000	355,757	0,0018
		4,0	54,0	2500	135000	388,098	0,0029
		10,0	62,5	1000	62500	449,188	0,0072
		20,0	70,0	500	35000	503,090	0,0144
		20,0	69,0	500	34500	495,903	0,0144
		10,0	58,0	1000	58000	416,846	0,0072
		4,0	45,5	2500	113750	327,009	0,0029
		2,5	43,0	4000	172000	309,041	0,0018
		2,0	41,0	5000	205000	294,667	0,0014
		1,0	37,0	10000	370000	265,919	0,0007
		0,5	32,5	20000	650000	233,578	0,0004
		Emulgel	6	0,5	19,5	20000	390000
1,0	22,0			10000	220000	158,114	0,0007
2,0	25,0			5000	125000	179,675	0,0014
2,5	25,5			4000	102000	183,269	0,0018
4,0	27,0			2500	67500	194,049	0,0029
10,0	30,0			1000	30000	215,610	0,0072
20,0	33,5			500	16750	240,765	0,0144
20,0	33,0			500	16500	237,171	0,0144
10,0	27,0			1000	27000	194,049	0,0072
4,0	21,0			2500	52500	150,927	0,0029
2,5	19,5			4000	78000	140,147	0,0018
2,0	19,0			5000	95000	136,553	0,0014
1,0	16,5			10000	165000	118,586	0,0007
0,5	15,0			20000	300000	107,805	0,0004

Lampiran 39. Viskositas kedua sediaan pada minggu ke-0 dan minggu ke-8

Sediaan	Minggu ke-	Viskositas (cps)
Gel	0	33900
	8	35000
Emulgel	0	16500
	8	17250

Keterangan:

Pengukuran dilakukan menggunakan spindel nomor 6 dengan kecepatan 20 rpm.

Lampiran 40. Data kedalaman kerucut pada pengukuran konsistensi kedua sediaan pada minggu ke-0 dan minggu ke-8

Sediaan	Minggu ke-	Konsistensi (1/10 mm)
Gel	0	347
	8	333
Emulgel	0	358
	8	348

Lampiran 41. Data diameter globul rata-rata sediaan emulgel pada minggu ke-8 penyimpanan suhu rendah ($4 \pm 2^\circ\text{C}$)

Rentang (μm)	Nilai Tengah (d)	Frekuensi (n)	n.d
0,148 - 0,218	0,183	396	72,47
0,219 - 0,289	0,254	490	124,46
0,290 - 0,360	0,325	212	68,90
0,361 - 0,431	0,396	110	43,56
0,432 - 0,502	0,467	96	44,83
0,503 - 0,573	0,538	36	19,37
0,574 - 0,644	0,609	10	6,09
0,645 - 0,715	0,68	0	0,00
0,716 - 0,786	0,751	0	0,00
0,787 - 0,857	0,822	0	0,00
0,858 - 0,928	0,893	6	5,36
		$\Sigma n = 1356$	$\Sigma n.d = 385,04$

Keterangan: panjang kelas = 11 dan diameter globul rata-rata = 0,28 μm .

Lampiran 42. Data diameter globul rata-rata sediaan emulgel pada minggu ke-8 penyimpanan suhu kamar ($28 \pm 2^\circ\text{C}$)

Rentang (μm)	Nilai Tengah (d)	Frekuensi (n)	n.d
0,148 - 0,218	0,183	486	88,94
0,219- 0,289	0,254	452	114,81
0,290 - 0,360	0,325	112	36,40
0,361 - 0,431	0,396	64	25,34
0,432 - 0,502	0,467	136	63,51
0,503 - 0,573	0,538	0	0,00
0,574 - 0,644	0,609	28	17,05
0,645 - 0,715	0,68	0	0,00
0,716 - 0,786	0,751	8	6,01
0,787 - 0,857	0,822	12	9,86
0,858 - 0,928	0,893	6	5,36
		$\Sigma n = 1304$	$\Sigma n.d = 367,28$

Keterangan: panjang kelas = 11 dan diameter globul rata-rata = $0,28 \mu\text{m}$.

Lampiran 43. Data diameter globul rata-rata sediaan emulgel pada minggu ke-8 penyimpanan suhu tinggi ($40 \pm 2^\circ\text{C}$)

Rentang (μm)	Nilai Tengah (d)	Frekuensi (n)	n.d
0,148 - 0,218	0,183	466	85,28
0,219- 0,289	0,254	312	79,25
0,290 - 0,360	0,325	48	15,60
0,361 - 0,431	0,396	120	47,52
0,432 - 0,502	0,467	112	52,30
0,503 - 0,573	0,538	46	24,75
0,574 - 0,644	0,609	16	9,74
0,645 - 0,715	0,68	0	0,00
0,716 - 0,786	0,751	12	9,01
0,787 - 0,857	0,822	8	6,58
0,858 - 0,928	0,893	0	0,00
		$\Sigma n = 1140$	$\Sigma n.d = 330,03$

Keterangan: panjang kelas = 11 dan diameter globul rata-rata = $0,29 \mu\text{m}$.

Lampiran 44. Data kurva kalibrasi, batas deteksi, dan batas kuantitasi standar kapsaisinoid pada $\lambda=281,0$ nm untuk uji penetapan kandungan (UPK) secara kromatografi lapis tipis densitometri

Konsentrasi Standar [x] (μg)	Luas Puncak [y] ($\mu\text{V/s}$)	\hat{y}	$(\hat{y}-y)^2$
1,50	4030,22	4066,25	1298,16
0,72	2074,91	2026,78	2316,11
0,36	1182,83	1085,49	9474,69
0,18	572,21	614,85	1817,83
0,12	391,11	457,96	4469,46
$\Sigma x = 2,88$		$\Sigma (\hat{y}-y)^2$	19376,24

Keterangan:

Persamaan regresi linier : $y = 2614,7x + 144,2$ $r = 0,9989$

Batas deteksi (LOD) : $0,09 \mu\text{g}$

Batas kuantitasi (LOQ) : $0,31 \mu\text{g}$

\hat{y} : diperoleh dari plot konsentrasi terhadap persamaan kurva kalibrasi

Lampiran 45. Data penetapan kandungan kapsaisinoid dari sediaan secara KLT densitometri

Sediaan	Konsentrasi sebenarnya (μg)	Luas puncak ($\mu\text{V/s}$)	Konsentrasi terukur (μg)	Kadar Penetapan kandungan (%)	Kadar Penetapan kandungan Rata-rata (%)	SD
Emulgel	0,123	457,5	0,120	97,68	104,24	6,44
	0,122	477,0	0,127	104,48		
	0,122	497,6	0,135	110,55		
Gel	0,133	468,4	0,124	93,51	101,22	8,26
	0,134	528,9	0,147	109,94		
	0,138	505,0	0,138	100,22		

Keterangan:

SD : Standar deviasi (dinyatakan dalam persen)

Lampiran 46. Data kurva kalibrasi, batas deteksi, dan batas kuantitasi standar kapaisinoid pada $\lambda=281,0$ nm untuk analisis kuantitatif hasil uji penetrasi dari sediaan gel secara kromatografi lapis tipis densitometri

Konsentrasi Standar [x] (μg)	Luas Puncak [y] ($\mu\text{V/s}$)	\hat{y}	$(\hat{y}-y)^2$
1,500	3445,46	3486,03	1645,92
0,750	1833,90	1757,73	5801,87
0,375	953,06	893,58	3537,87
0,240	534,24	582,49	2327,68
0,150	328,22	375,09	2196,80
$\Sigma x = 3,015$		$\Sigma (\hat{y}-y)^2$	15510,14

Keterangan:

Persamaan regresi linier : $y = 2304,4x + 29,43$ $r = 0,9988$

Batas deteksi (LOD) : $0,09 \mu\text{g}$

Batas kuantititasi (LOQ) : $0,31 \mu\text{g}$

\hat{y} : diperoleh dari plot konsentrasi terhadap persamaan kurva kalibrasi

Lampiran 47. Data kurva kalibrasi, batas deteksi, dan batas kuantitasi standar kapaisinoid pada $\lambda=281,0$ nm untuk analisis kuantitatif hasil uji penetrasi dari sediaan emulgel secara kromatografi lapis tipis densitometri

Konsentrasi Standar [x] (μg)	Luas Puncak [y] ($\mu\text{V/s}$)	\hat{y}	$(\hat{y}-y)^2$
0,75	1838,33	1856,96	347,08
0,375	980,68	938,66	1765,68
0,24	606,57	608,07	2,26
0,15	390,34	387,68	7,08
0,075	179,43	204,02	604,67
$\Sigma x = 1,59$		$\Sigma (\hat{y}-y)^2$	2726,76

Keterangan:

Persamaan regresi linier : $y = 2448,8x + 20,36$ $r = 0,99920$

Batas deteksi (LOD) : $0,04 \mu\text{g}$

Batas kuantititasi (LOQ) : $0,12 \mu\text{g}$

\hat{y} : diperoleh dari plot konsentrasi terhadap persamaan kurva kalibrasi

Lampiran 48. Hasil uji penetrasi kapsaisinoid dalam larutan campuran etanol 96%-dapar fosfat pH 7,4 dari sediaan gel dan emulgel selama 8 jam (dengan standar deviasi, n= 3)

Waktu (menit)	Jumlah kapsaisinoid terpenetrasi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	
	Gel	Emulgel
10	57,86 \pm 1,19	118,84 \pm 0,93
30	64,56 \pm 2,51	133,63 \pm 9,07
60	79,25 \pm 7,12	159,90 \pm 3,10
90	87,27 \pm 6,57	177,56 \pm 6,82
120	94,48 \pm 7,75	198,05 \pm 8,52
180	100,36 \pm 5,80	228,94 \pm 3,21
240	113,29 \pm 9,72	251,48 \pm 6,30
300	119,01 \pm 8,83	269,11 \pm 4,87
360	128,07 \pm 5,07	285,78 \pm 5,25
420	135,43 \pm 3,43	302,30 \pm 7,21
480	153,11 \pm 2,42	321,22 \pm 4,67

Lampiran 49. Hasil perhitungan fluks kapsaisinoid tiap waktu pengambilan dari sediaan gel dan emulgel berdasarkan uji penetrasi selama 8 jam (dengan standar deviasi, n= 3)

Waktu (menit)	Fluks kapsaisinoid ($\mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$)	
	Gel	Emulgel
10	347,19 \pm 7,12	713,06 \pm 5,60
30	129,12 \pm 5,03	292,01 \pm 29,55
60	79,25 \pm 7,12	172,75 \pm 9,95
90	58,18 \pm 4,38	130,55 \pm 11,88
120	47,24 \pm 3,87	106,39 \pm 9,82
180	33,45 \pm 1,93	78,67 \pm 2,04
240	28,32 \pm 2,43	63,45 \pm 1,11
300	23,80 \pm 1,77	54,29 \pm 0,66
360	21,34 \pm 0,84	48,01 \pm 0,55
420	19,35 \pm 0,49	43,52 \pm 0,93
480	19,14 \pm 0,30	40,44 \pm 0,52

Lampiran 50. Hasil perhitungan fluks kapsaisinoid dari sediaan gel dan emulgel

Sediaan	Fluks 1 ($\mu\text{g cm}^{-2}\text{jam}^{-1}$)	Fluks 2 ($\mu\text{g cm}^{-2}\text{jam}^{-1}$)	Fluks 3 ($\mu\text{g cm}^{-2}\text{jam}^{-1}$)	Rata-rata ($\mu\text{g cm}^{-2}\text{jam}^{-1}$)	\pm SD (n=3)
Gel	11,04	11,43	11,32	11,26	\pm 0,20
Emulgel	24,13	23,86	24,86	24,28	\pm 0,52

Lampiran 51. Hasil jumlah jumlatif kapsaisinoid yang terpenetrasi, persentase jumlah kapsaisinoid yang terpenetrasi dan fluks kapsaisinoid dari sediaan gel dan emulgel berdasarkan uji penetrasi selama 8 jam

Sediaan	Jumlah kumulatif kapsaisinoid yang terpenetrasi ($\mu\text{g/cm}^2$)	Jumlah kumulatif kapsaisinoid yang terpenetrasi (%)	Fluks ($\mu\text{g cm}^{-2}\text{jam}^{-1}$)
Gel	153,11 \pm 2,42	19,39 \pm 0,31	19,14 \pm 0,30
Emulgel	321,22 \pm 4,67	40,69 \pm 0,59	40,44 \pm 0,52

Lampiran 52. Cara perhitungan rendemen dan dosis ekstrak

Bobot serbuk simplisia yang diekstraksi = 498,825 g

Bobot ekstrak yang diperoleh setelah penguapan = 60,816 g

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\% = \frac{60,816\text{g}}{498,825\text{g}} \times 100\% = 12,19\%$$

$$\text{Dosis ekstrak dalam sediaan} = \frac{\text{Kadar kapsaisinoid dalam sediaan}}{\text{Kadar kapsaisinoid dalam ekstrak}} \times 100\%$$

$$\text{Dosis ekstrak dalam sediaan} = \frac{0,06\%}{1,917\%} \times 100\% = 3,12\%$$

Lampiran 53. Cara perhitungan batas deteksi, dan batas kuantitasi

$$S_{y/x} = \frac{\sum(\hat{y} - y)^2}{n - 2}$$

$$S_{x0} = \frac{S_{y/x}}{b}$$

$$LOD = \frac{3S_{y/x}}{b}$$

$$LOQ = \frac{10S_{y/x}}{b}$$

Keterangan:

V_{x0} = koefisien variasi fungsi

$S_{y/x}$ = simpangan baku residual

S_{x0} = standar deviasi fungsi

B = arah garis linear dari kurva kalibrasi

LOD = *Limit of Detection* / batas deteksi ($\mu\text{g/ml}$)

LOQ = *Limit of Quantification* / batas kuantitasi ($\mu\text{g/ml}$)

Lampiran 54. Contoh perhitungan yield value dari pengukuran konsistensi sediaan emulgel pada minggu ke-0

Untuk mencari nilai yield value digunakan rumus:

$$S_o = \frac{k_1 \cdot m \cdot g}{p^n}$$

S_o = Yield value (dyne/cm²)

m = Massa kerucut

g = Gravitasi

p = Dalamnya penetrasi

n = konstanta, yaitu 2

$$k_1 = \frac{1}{\mu} \cos^2 \alpha \cos \alpha = 0,14281$$

Data:

dalamnya penetrasi = 358 1/10 mm

massa kerucut = 263,5 g

$$Yield\ value = \frac{0,14281 \times 263,5 \times 981}{(3,58)^2} = 2880,33\ dyne/cm^2$$

Lampiran 55. Contoh perhitungan diameter globul rata-rata sediaan emulgel pada minggu ke-0

Rumus:

$$k \text{ (kelas)} = 1 + 3,322 \log n$$

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n}$$

n = jumlah globul

Diketahui:

$$n = 966 \rightarrow k = 1 + (3,322 \times \log 966) = 10,95 \sim 11$$

Rentang (μm)	Nilai Tengah (d)	Frekuensi (n)	n.d
0,148 - 0,218	0,183	412	75,40
0,219 - 0,289	0,254	376	95,50
0,290 - 0,360	0,325	58	18,85
0,361 - 0,431	0,396	42	16,63
0,432 - 0,502	0,467	14	6,54
0,503 - 0,573	0,538	0	0,00
0,574 - 0,644	0,609	8	4,87
0,645 - 0,715	0,68	46	31,28
0,716 - 0,786	0,751	10	7,51
0,787 - 0,857	0,822	0	0,00
0,858 - 0,928	0,893	0	0,00
		$\Sigma n = 966$	$\Sigma n.d = 256,58$

$$d_{rata-rata} = \frac{\sum nd}{\sum n} = \frac{256,58}{966} = 0,27 \mu\text{m}$$

Lampiran 56. Contoh perhitungan penetapan kandungan kapsaisinoid dalam sediaan

Persamaan regresi : $y = 2614,7x + 144,2$ dengan nilai $r = 0,9989$

Sediaan ditambahkan metanol 10 mL sehingga memisah



Larutan disaring dalam labu tentukur 25,0 mL, kemudian basis yang terendap dicuci 3 kali dengan volume pencucian 5 mL



Larutan dicukupkan hingga 25,0 mL.



Ditotolkan sebanyak 5,0 μL pada lempeng KLT lalu dilakukan analisis kuantitatif secara KLT densitometri

Berat emulgel = 1,1470 g (mengandung 688,2 μg kapsaisinoid)

Konsentrasi larutan hasil pengenceran mengandung 0,0275 μg kapsaisinoid

Penotolan 5,0 μL → pada totolan seharusnya mengandung 0,1375 μg kapsasinoid

Luas puncak yang diperoleh = 505,0 $\mu\text{V/s}$

Konsentrasi terukur = 0,1379 μg

Rumus:

$$\text{Kandungan obat} = \frac{\text{Konsentrasi terukur}}{\text{Konsentrasi seharusnya}} \times 100\%$$

Jadi, kandungan kapsaisinoid = 100,22 %

Lampiran 57. Contoh perhitungan jumlah kapsaisinoid yang terpenetrasi dari sediaan gel pada menit ke-10 untuk percobaan pertama

Luas puncak yang diperoleh = 101,5 $\mu\text{V/s}$

Persamaan kurva kalibrasi $\rightarrow y = 2448,8x + 20,36$ dengan nilai $r = 0,99920$

Konsentrasi terukur = 0,033 μg

Konsentrasi kapsaisinoid dalam sampel = $0,033 \mu\text{g}/5,0 \mu\text{L} = 0,0066 \mu\text{g}/\mu\text{L}$

Rumus jumlah kumulatif yang terpenetrasi:

$$Q = \frac{C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C \cdot S}{A}$$

Keterangan:

Q = Jumlah kumulatif kapsaisinoid per luas area difusi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

C_n = Konsentrasi kapsaisinoid ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) pada sampling menit ke- n

$\sum_{i=1}^{n-1} C \cdot S$ = Jumlah konsentrasi kapsaisinoid ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) pada sampling pertama (menit ke-10 hingga sebelum menit ke- n)

V = Volume sel difusi Franz (μL)

S = Volume sampling (500 μL)

A = Luas area membran (cm^2)

$$Q = \frac{(0,0066 \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 13000) + (0 \times 500 \mu\text{L})}{1,52 \text{ cm}^2} = 56,68 \mu\text{g}/\text{cm}^2$$

Jadi, jumlah kapsaisinoid yang terpenetrasi dari sediaan gel pada menit ke-10 untuk percobaan pertama adalah $56,68 \mu\text{g}/\text{cm}^2$

Lampiran 58. Contoh perhitungan jumlah kapsaisinoid yang terpenetrasi dari sediaan gel pada menit ke-30 untuk percobaan pertama

Luas puncak yang diperoleh = 112,1 $\mu\text{V/s}$

Persamaan kurva kalibrasi $\rightarrow y = 2448,8x + 20,36$ dengan nilai $r = 0,99920$

Konsentrasi terukur = 0,0375 μg

Konsentrasi kapsaisinoid dalam sampel = 0,0375 $\mu\text{g}/5,0 \mu\text{L} = 0,0075 \mu\text{g}/\mu\text{L}$

Rumus jumlah kumulatif yang terpenetrasi:

$$Q = \frac{C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C \cdot S}{A}$$

Keterangan:

Q = Jumlah kumulatif kapsaisinoid per luas area difusi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

C_n = Konsentrasi kapsaisinoid ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) pada sampling menit ke- n

$\sum_{i=1}^{n-1} C \cdot S$ = Jumlah konsentrasi kapsaisinoid ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) pada sampling pertama (menit ke-10 hingga sebelum menit ke-n)

V = Volume sel difusi Franz (μL)

S = Volume sampling (500 μL)

A = Luas area membran (cm^2)

$$Q = \frac{(0,0075 \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 13000) + (0,0066 \times 500 \mu\text{L})}{1,52 \text{ cm}^2} = 66,26 \mu\text{g}/\text{cm}^2$$

Jadi, jumlah kapsaisinoid yang terpenetrasi dari sediaan gel pada menit ke-30 untuk percobaan pertama adalah 66,26 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

Lampiran 59. Contoh perhitungan fluks kapsaisinoid dari sediaan emulgel

Kecepatan penetrasi kapsaisinoid (fluks; J , $\mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$) dihitung dengan rumus :

$$J = \frac{M}{s \cdot t}$$

Keterangan :

J = Fluks ($\mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$)

S = Luas area difusi (cm^2)

M = Jumlah kumulatif kapsaisinoid yang melalui membran (μg)

t = Waktu (jam)

$$J = \frac{M}{s \cdot t} \leftrightarrow J \cdot t = \frac{M}{s} = Q$$

$$\frac{M}{s} = J \cdot t$$

Bila dilihat dari grafik jumlah kapsaisinoid terpenetrasi terhadap waktu, sumbu x adalah waktu (t) dan sumbu y adalah jumlah terpenetrasi (Q). Dari grafik tersebut ditarik garis regresi linier dan diperoleh persamaan

$$y = bx + a$$

Dar persamaan di atas, dapat dimisalkan, yaitu:

$$y = \frac{M}{s} = \text{Jumlah obat terpenetrasi } (\mu\text{g/cm}^2)$$

$$x = t = \text{Waktu (menit)}$$

Maka nilai b adalah J atau fluks ($\mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$).

Oleh karena itu, untuk sediaan emulgel nilai fluks untuk masing-masing percobaan adalah:

$$1. \quad y = 24,126 x + 137,85 \rightarrow J_1 = 24,126 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$$

$$2. \quad y = 23,863 x + 141,86 \rightarrow J_2 = 23,863 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$$

$$3. \quad y = 24,860 x + 133,16 \rightarrow J_3 = 24,860 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$$

$$J \text{ rata-rata} = 24,280 \pm 0,52 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$$

Jadi, fluks kapsaisinoid dari sediaan emulgel adalah $24,280 \pm 0,52 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$.

Lampiran 60. Contoh perhitungan persentase jumlah kumulatif kapsaisinoid yang terpenetrasi dari sediaan gel

$$\% \text{ Jumlah kumulatif terpenetrasi} = \frac{\text{jumlah kumulatif terpenetrasi} \times \text{luas membran}}{\text{berat kapsaisinoid}} \times 100\%$$

Sampel yang diaplikasikan pada kulit sebanyak 2 g

Dalam 2 g sampel mengandung kapsaisinoid 1,2 mg = 1200 μg

Data I:

$$\% \text{ Jumlah kumulatif terpenetrasi} = \frac{154,30 \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \times 1,52 \text{cm}^2}{1200 \mu\text{g}} \times 100\% = 19,54\%$$

Data II:


$$\% \text{ Jumlah kumulatif terpenetrasi} = \frac{150,32 \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \times 1,52 \text{cm}^2}{1200 \mu\text{g}} \times 100\% = 19,04\%$$

Data III:

$$\% \text{ Jumlah kumulatif terpenetrasi} = \frac{154,71 \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \times 1,52 \text{cm}^2}{1200 \mu\text{g}} \times 100\% = 19,60\%$$

Jadi % jumlah kumulatif kapsaisinoid yang terpenetrasi dari sediaan gel adalah $19,39 \pm 0,31\%$.

Lampiran 61. Surat determinasi tanaman cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.)



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
 (Indonesian Institute of Sciences)
PUSAT PENELITIAN BIOLOGI
 (Research Center for Biology)
 Jl. Raya Jakarta - Bogor Km. 46 Cibinong 16911, Indonesia P.O Box 25 Cibinong
 Telp. (021) 87907636 - 87907604 Fax. 87907612

Cibinong, 10 Januari 2012

Nomor : 025a/IPH.1.02/If.8/1/2012
 Lampiran : -
 Perihal : Hasil identifikasi/determinasi Tumbuhan


Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Delly Ramadan

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Saudara kirimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :

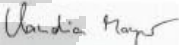
No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Cabe Rawit	<i>Capsicum frutescens</i> L.	Solanaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.



 Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,
 Dr. Joeni Setiioe Rahajoe
 NIP. 196706241993032004

D:\Ident 2012\Delly Ramadan.doc\IS-ABR

Lampiran 62. Sertifikat analisis kapsaisinoid (56,7 % kapsaisin dan sisanya : 43,3 % dihidrokapsaisin)

SIGMA-ALDRICH		SIGMA LIFE SCIENCE	
		Riedstrasse 2, D-99555 Steinheim/Germany Tel: +49 73 2997 2550 Fax: +49 73 2997 2557	
Certificate of Analysis			
Product Name:	CAPSAICIN natural		
Product Number:	360376		
Product Brand:	Sigma		
Molecular Formula:	$C_{18}H_{27}NO_3$		
Molecular Mass:	305.41		
CAS Number:	404-86-4		
TEST	SPECIFICATION	LOT STBB8238V RESULTS	
APPEARANCE (COLOR)	WHITE TO OFF-WHITE TO BEIGE	WHITE	
APPEARANCE (FORM)	POWDER	POWDER	
PURITY (HPLC AREA %)	CA. 55%, REMAINDER DIHYDROCAPSAICIN	56.7 %	
SOLUBILITY (COLOR)	FAINT YELLOW TO BROWN	COLORLESS	
SOLUBILITY (TURBIDITY)	CLEAR TO SLIGHTLY HAZY	CLEAR	
SOLUBILITY (METHOD)	5%, CHCL3	5%, CHCL3	
CARBON CONTENT	TYP. 69.6-70.8%	70.6 %	
NITROGEN CONTENT	TYP. 4.5-4.6%	4.6 %	
INFRARED SPECTRUM	CONFORMS TO STRUCTURE	CONFORMS	
QC RELEASE DATE	10/DEC/10		
 Claudia Mayer, Manager Quality Control Steinheim, Germany			
Sigma-Aldrich warrants, that its products conform to the information contained in this and other Sigma-Aldrich publications. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice for additional terms and conditions of sale. The values given on the 'Certificate of Analysis' are the results determined at the time of analysis.			
Sigma-Aldrich	Certificate of Analysis - Product 360376 Lot STBB8238V	Page 1 of 1	

Lampiran 63. Sertifikat analisis tikus putih



**BAGIAN PRODUKSI TERNAK DAGING KERJA DAN ANEKA TERNAK
DEPARTEMEN ILMU PRODUKSI DAN TEKNOLOGI PETERNAKAN
FAKULTAS PETERNAKAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR**

Sekretariat : Jl. Agatis, Kampus IPB, Dramaga, Bogor 16680
Telepon : (0251) 8624774, Fax. (0251) 8624774

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Dr. Ir. Asnath M Fuah, MS

Jabatan : Kepala Bagian Produksi Ternak Daging Kerja dan Aneka Ternak

Alamat : Jl. Agatis Kampus IPB Darmaga-Bogor

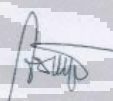

Telp. 0251-8624774, Fax. 0251-8624774

Menyatakan bahwa tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *spraque dawley* (SD) yang dikembangkan di Laboratorium Aneka Ternak, Fakultas Peternakan IPB, Telah memenuhi syarat sebagai hewan uji untuk penelitian atau kegiatan praktikum.

Demikian surat keterangan ini dibuat dengan sebenar-benarnya.

Bogor, 8 maret 2012


Kepala Bagian
Produksi Ternak Daging, Kerja dan Aneka Ternak

Dr. Ir. Asnath M. Fuah, MS
NIP. 195410151979032001

Lampiran 64. Sertifikat analisis Span 20

2009年 2月10日 0時44分 京化化工 4 NO. 1418 P. 1


 **Certificate of Analysis**
Printed on Feb/10/2009 (JST)

TOKYO CHEMICAL INDUSTRY CO.,LTD.
4-10-1 Nihonbashi-Honcho, Chuo-ku, Tokyo 103-0023 Japan

Chemical Name : Span 20 (=Sorbitan Monolaurate)		
Product Number : 3005	Lot : FFTRC	Amount :
Tests	Results	Specifications
Specific Gravity (20/20)	1.0618	1.0600 to 1.0640
Refractive Index (n _D 20)	1.4754	1.4730 to 1.4760
Saponification Value	162.2	155.0 to 174.0

Lampiran 65. Sertifikat analisis Mentol

PT. BRATACO




HASIL PEMERIKSAAN

Nama Bahan : Mentholum
 Batch : J 0745/10 (100727)
 Ex : Shanghai xinhua
 ED : 07-2012
 Grade : farma

Jenis pemeriksaan	Persyaratan F I V	Hasil
Pemerian	Hablur hexagonal, atau serbuk hablur tak berwarna, biasanya berbentuk jarum, atau masa yang melebur, bau enak seperti minyak permen	sesuai
Kelarutan	Sukar larut dalam air, sangat mudah larut dalam etanol, kloroform, eter dan dalam hexsan, mudah larut dalam asam asetat glacial, minyak mineral, minyak lemak dan minyak atsiri	sesuai
Identifikasi	Bila digerus dengan kamfer, atau kloral hidrat, atau fenol sama berat akan mencair	sesuai
Jarak lebur	Antara 41° - 44 °C	43.3
Sisa penguapan	Tidak lebih 0,05%	0.032%
Senyawa mudah teroksidasi	warna ungu larutan masih terlihat dalam 5 menit	sesuai


Kesimpulan : Memenuhi syarat

Pemeriksa



Tatang Suhartono
Analis

Cikarang, 25-09-2010
Penanggung Jawab



Dra. Tri Hartati,
Apoteker
SIK 3836/3

HEAD OFFICE : Jl. Cikleg Ploret No. 7R, Jakarta Pusat 10150, Telp. (021) 3522733 (Pusat) Fax. (021) 3522734, E-mail: brataco@brataco.com





BRANCH OFFICE

- **JAKARTA** : Jl. Mangga Besar V No. 5, Jakarta 11180 Telp. (021) 6290112 (Lantai 3 level) Fax. (021) 6292439
- **BANDUNG** : Jl. Boulevard Raya BWS, Ed. 10, 5, Jakarta 11240 Telp. (021) 4563992-94 Fax. (021) 4532635
- **KEPOKONG** : Jl. R. Bawakua Telp. (021) 6077159, 6083906 Fax. (021) 6033629
- **BOGOR** : Jl. Setiabudi No. 27C, Bandung Telp. (021) 7303277, 7310331-3311 Fax. (021) 7210310
- **SEMARANG** : Jl. Dharma Kotamadya No. 10 Telp. (021) 818277, 8115999 Fax. (021) 8115999
- **YOGYA** : Jl. Dharma Kotamadya No. 45, Yogyakarta Telp. (0271) 511349, 515306 Fax. (0271) 523349
- **SURABAYA** : Jl. Dharma Kotamadya No. 101, Surabaya Telp. (031) 511349, 515306 Fax. (031) 5131536
- **LEKSI** : Jl. Dharma Kotamadya No. 101, Medan Telp. (061) 411349, 415306 Fax. (061) 4131536

REPRESENTATIVE : PT. BRATACO, JALAN CIKLEG PLORET NO. 7R, JAKARTA PUSAT 10150, Telp. (021) 3522733, Fax. (021) 3522734, E-mail: brataco@brataco.com



The Ministry of Health and Family Planning, Indonesia

Lampiran 66. Sertifikat analisis propilen glikol

		
HASIL PEMERIKSAAN		
Nama Bahan	: Propylene Glycol	
No Batch	: J 0063/12 (ZI 1201 S924)	
Ex	: Dow Chemical Co.	
E.D	: 09/2013	
Grade	: Farma	
Jenis Pemeriksaan	Persyaratan USP NF 19	Hasil
Pemerian	Cairan kental jernih, tidak berwarna, tidak berbau, rasa agak manis, hygrokopik	Sesuai
Kelarutan	Dapat bercampur dgn air, dengan etanol dan dengan kloroform	Sesuai
Index Refraksi	1,431 - 1,433	1,433
Bobot per-ml	1,035 g - 1,037 g/ml	1,037 g/ml
pH		8,5
Keasambasaan	10 ml + 50 ml aquadest+ indikator bromotymol blue 3tts, titrasi dengan NaOH 0,1 atau H2SO4 0,1 N, kurang dari 0,3 ml	0,05 ml NaOH
Kesimpulan	Memenuhi Syarat	
Pemeriksa		Cikarang, 14-07-2012
		Penanggung Jawab
Tatang Suhartono		
Analisis		Dra. Citra Hartono
		Apoteker
		SIK 3856/B
HEAD OFFICE	Jl. Cideng Barat No. 78, Jakarta Pusat 10150, Telp. (021) 3522733 (handling) Fax. : (021) 3522734, E-mail : brataco@brataco.com	
BRANCH OFFICE	<ul style="list-style-type: none"> • JAWA BARU : Jl. Mangga Besar V No. 5, Jakarta 11180 Telp. (021) 6260113 (handling 3 lines) Fax. (021) 5260110 • JAWA BARU : Jl. Boulevard Raya Blok TB2 No. 5, Jakarta 14240 Telp. (021) 4584.8692-94 Fax. (021) 453.2011 • BANDUNG : Jl. Keleneng No. 8, Bandung Telp. (022) 6077129, 6 030807, 8030808 Fax. (022) 8031971 • BANDUNG : Jl. Tenzan Jakarta No. 77G, Bandung Telp. (022) 7101277, 7210909 - 309 Fax. (022) 3110591 • SEMARANG : Jl. Paterangan Timur No. 4, Semarang Telp. (024) 841-2360, 8449277 Fax. (024) 8415960 • YOGYA : Jl. Bnyengklana No. 45, Yogya Telp. (0274) 543949, 515390 Fax. (0274) 543349 • SURABAYA : Jl. Tidar No. 89, Surabaya Telp. (031) 5322887, 5323057 Fax. (031) 5910466 • MEDAN : Jl. Iskandar Muda No. 40B, Medan Telp. (061) 414.8272, 452-3150 Fax. (061) 452-5998 • DENPASAR : Jl. Gatot Subroto Barul No. 338C Denpasar Telp. (0361) 7443873, 7801787 Fax. (0361) 743336 	
SUB BRANCH OFFICE	TANGERANG, BOGOR, CIKARANG, CIREBON, TASIKMALAYA, SOLO, PURWOKERTO, TEGAL, MALANG, SIDHARJO, KEHON, KUDUS	

Lampiran 67. Sertifikat analisis etanol 96%

ROM : PT. BRATACO
 UP : Nantik SMFG 01-NAU II
 UP : AH Api 29/12-2011
 UP : Ayu P/11 2011
 UP : Puji Solo 29/12/2011
 9 Feb. 2012 10:09PM P1
 UP : Boyut 10/2 2012






HASIL PEMERIKSAAN

Nama : Alkohol 96%
 No Batch : J 0961/11 (07102011)
 Ex : Lokal
 ED : 09/2014
 Grade : Farma

Jenis Pemeriksaan	Syarat FI IV	Hasil
Pemerian	Cairan jernih mudah menguap, tidak berwarna, bau khas, mudah terbakar	sesuai
Kelarutan	Bercampur dengan air dan praktis bercampur dengan semua pelarut organik	sesuai
Identifikasi	5 ml etanol tambah beberapa tetes iod 0.1 N tambah 5 ml NaOH 1N; Endapan kuning iodoform (bau)	sesuai
Methanol test	Tidak ungu	negatif
Zat Terlarut Dalam Air	tetap jernih setelah ditambahkan air dengan volume sama	sesuai
Berat Jenis	0.800 - 0.813 g/ml	0,802 g/ml
Kadar	94.9 - 98.1%	97.7 %
Indeks Bias	1.360 - 1.362	1.362

Kesimpulan : Memenuhi Syarat

Pemeriksa

 Suhartono
 Analis



 PT. BRATACO
 Apoteker
 SIK 3836/B

HEAD OFFICE : Jl. Cidang Barat No. 78 Jakarta Pusat 10150 Telp. (021) 3522733 (hunting) Fax : (021) 3522734, E-mail : bicsek@brataco.com
 BRANCH OFFICE :
 • JAKARTA : Jl. Mangga Besar V No. 5, Jakarta 11180 Telp. (021) 6280113 (hunting 3 lines) Fax. (021) 6282430
 • BANDUNG : Jl. Boulevard Raya Blok TB2 No. 5, Jakarta 14240 Telp. (021) 4584 6592-94 Fax. (021) 451 2615
 • SEMARANG : Jl. Kelanteng No. 8, Bandung Telp. (022) 6077129, 8 035807, 6030908 Fax. (022) 6031979
 • PETERONGAN TIMUR : Jl. Tehasan Jakarta No. 776, Bandung Telp. (022) 7101277, 7210308 - 309 Fax (022) 7210310
 • SEMARANG : Jl. Peterongan Timur No. 4, Semarang Telp. (024) 841-2380, 8449277 Fax. (024) 8414983


Lampiran 68. Sertifikat analisis BHT

HASIL PEMERIKSAAN		PT. BRATACO	
Nama Bahan	: BHT/Ionol		
Batch	: J 0177/10 (110)		
Ex	: SPP Chemical		
Grade	: Farna		
E. D	: 08-2011		
=====			
Jenis pemeriksaan	Persyaratan FI IV	Hasil	
Pemerian	Habur atau kristal, putih atau putih kekuningan, bau khas lemah	sesuai	
Kelarutan	Praktis tidak larut dalam air, glycerin, propylene glycol, mudah larut dalam etanol 95%, eter dan kloroform	sesuai	
Suhu lebur	260,2°C	70,1°C	
Susut Pengeringan	40,2%	0,2%	
=====			
Kesimpulan	Memenuhi syarat		
Pemeriksa		Cikarang, 03 - 03 - 2010	
Rien Pratama Akas Apoteker		Penanggung Jawab Dra. Tri Hafid Apoteker S.I.K. 3836/8	
<small> HEAD OFFICE : Jl. Cikang Baru No. 79, Jakarta Pusat, 10150, Telp. (021) 2272731 (Pusat) Fax: (021) 2272734, E-mail: info@brataco.com BRANCH OFFICE : * JAKARTA : Jl. Mangga Besar 21, Jakarta 10170 Telp: (021) 2280443 (Pusat) Fax: (021) 2281200 * BANGKALAN : Jl. Zetriswari Raya No. 100 No. 2, Jakarta 14140 Telp: (021) 6660883-84 Fax: (021) 6660814 * BAKUSUNG : Jl. Kalerang No. 8-35-Ang 140, (021) 407129, 6528058 Fax: (021) 401019 * BEKASARI : Jl. Terusan Jendral No. 77D, Bekasi 1701, (021) 711077, 711028-348 Fax: (021) 711010 * BOGOR : Jl. Raya No. 19 Telp: (021) 8418772, 8410989 Fax: (021) 843490 * CIBINONG : Jl. Hutan Raya No. 1, Telp: (021) 22741 63248, 615360 Fax: (021) 643545 * DEPOK : Jl. Tidar No. 80 Sukowati Telp: (021) 5522897, 2013000 Fax: (021) 6318685 * MEDAN : Jl. Sialit Baru No. 118, 22500 Medan Telp: (061) 8548371, 4531119 Fax: (061) 4125914 SUNDRAMONTJE : JALAN HANG BOCDA, DEWANTARA, CIBENDI, TAMBUKASIA, SO. O, PURWOKERTO, TEGAL, MALANG, BUKITARU, BUNNIRAN, PELENGAU, KALABAR The Singapore Chemicals and Segregation Distributor </small>			


Lampiran 69. Sertifikat analisis Karbopol-940

 LUBRIZOL ADVANCED MATERIALS ASIA PACIFIC LTD 1107-1110 SHUI ON CENTRE, 6 S HARBOUR ROAD WANCHAI, HONGKONG TEL: +852 2508 1001		CERTIFICATE OF ANALYSIS			
LZ Sales Order No.: 1365869 Customer PO No.: 275843 Delivery No.: 81732891 Ex-Plant Date: April 25, 2011 Delivery Point: JAKARTA Transportation ID: 73B88996 Compartment/Seals:		Date: April 29, 2011 Page: 3 of 3 Certificate Recipient:			
Sold-to: CV. TRISTAR CHEMICALS www.tristarchemical.com Jl. Rungkut Mapan Utara CA - 24 Surabaya Telp. 031 - 8708071, Fax 031 - 877071		Material: CARBOPOL® 940 POLYMER, BOX Qty: 18.0 CT Batch No.: KK138KC342 Mfg. Date: March 13, 2011 Recommended Retest: March 12, 2013 Ship-to:			
Characteristics		Product Specifications			
		Minimum	Typical	Maximum	Result
BROOKFIELD VIS, 0.2% MUCILAGE @ 25°C	cP	19000		35000	
BROOKFIELD VIS, 0.5% MUCILAGE @ 25°C	cP	40000		60000	48800
BROOKFIELD VIS, 1.0% MUCILAGE @ 25°C	cP	45000		80000	
PPM BENZENE	ppm			5000	200
CLARITY, % TRANSMITTANCE	%	85			97
LOSS ON DRYING	%			2.0	
HM AS (PILAS, HCSB) 10 PPM MAX					Pass
Where actual values for Loss on Drying (Once/10 lots), 0.2% Brookfield Viscosity (Once/20 lots), 1.0% Brookfield Viscosity (Once/20 lots) and Heavy Metals (Once/200 lots) are not given, Lubrizon Advanced Materials, Inc. certifies that each batch/lot meets requirements for the characteristics based on historical process and product data. Because these characteristics are tested on a skip-lot test frequency as indicated on the product specification, results are not reported on the Certificate of Analysis.					
		We guarantee that the above analytical results are in conformity with the agreed upon specifications. Approved by: Lubrizon Quality Assurance			

Lampiran 70. Sertifikat analisis minyak zaitun



PT. BRATACO




HASIL PEMERIKSAAN

Nama Bahan : Olive oil
 No Batch : J 0244/11 (L0 O989)
 Ex : Valdoro Italia
 E.D : 06-2012
 Grade : Farma

Jenis Pemeriksaan	Persyaratan FI IV	Hasil
Pemerian	Cairan, kuning pucat atau kuning kehijauan, bau lemah, tidak tengik, rasa khas, pada suhu rendah sebagian atau seluruhnya membeku	Cairan, kuning kehijauan, berbau khas lemah
Kelarutan	Sukar larut dalam etanol, mudah larut dalam eter, kloroform dan dalam eter minyak tanah P	Sesuai
Bobot per ml	0,909 g – 0,919 g/ml	0,909
Indeks Bias	1,468 – 1,471	1,469
Bilangan asam	0.2 - 2.8	1.22
Bilangan sabun	187 – 196	190.8


Kesimpulan : Memenuhi Syarat

Pemeriksa



Tatang Suhartono
Analisis

Cikarang, 25-03-2011
Penanggung Jawab



Dfa Ari Hartati
Apoteker
SIK 3836/B

HEAD OFFICE : Cikarang, Jl. Cikarang Barat 01/01, Telp. (021) 8522733 (handing) Fax. (021) 8522341 E-mail: brataco@brataco.com

BRANCH OFFICE :

- JAKARTA : Jl. Pajajaran No. 5, Jakarta 11000, Telp. (021) 6290333 (handing) Fax. (021) 6290335
- BANDUNG : Jl. Pajajaran No. 5, Bandung 40132, Telp. (021) 4564292-844 Fax. (021) 4564295
- BAZARANE : Jl. Pajajaran No. 5, Bandung 40132, Telp. (021) 4564292-844 Fax. (021) 4564295
- SEMARANG : Jl. Pajajaran No. 5, Bandung 40132, Telp. (021) 4564292-844 Fax. (021) 4564295
- SURABAYA : Jl. Pajajaran No. 5, Bandung 40132, Telp. (021) 4564292-844 Fax. (021) 4564295
- MALANG : Jl. Pajajaran No. 5, Bandung 40132, Telp. (021) 4564292-844 Fax. (021) 4564295

SOLE AGENT : PT. BRATACO, CIKARANG, JAWA BARU. TEL: (021) 8522733 FAX: (021) 8522341 E-MAIL: BRATACO@BRATACO.COM

The Worldwide Chemical and Pharmaceutical Distributor