



UNIVERSITAS INDONESIA

**FORMULASI DAN UJI PENETRASI *IN VITRO*
NANOEMULSI, NANOEMULSI GEL, DAN GEL KURKUMIN**

SKRIPSI

SUCI SYAFITRI UTAMI

0806398751

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



UNIVERSITAS INDONESIA

**FORMULASI DAN UJI PENETRASI *IN VITRO*
NANOEMULSI, NANOEMULSI GEL, DAN GEL KURKUMIN**

SKRIPSI

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

**SUCI SYAFITRI UTAMI
0806398751**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI FARMASI
DEPOK
JULI 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 plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, 6 Juli 2012



(Suci Syafitri Utami)

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua

Sumber baik yang dikutip maupun dirujuk

Telah saya nyatakan dengan benar

Nama : Suci Syafitri Utami

NPM : 0806398751

Tanda Tangan : 

Tanggal : 6 Juli 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Suci Syafitri Utami
NPM : 0806398751
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Formulasi dan Uji Penetrasi *In Vitro* Nanoemulsi,
Nanoemulsi Gel, dan Gel Kurkumin

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 : Dr. Mahdi Jufri, M.Si., Apt (.....)

Pembimbing II : Dr. Abdul Mun'im, M.Si., Apt (.....)

Penguji I : Sutriyo, S.Si., M.Si., Apt (.....)

Penguji II : Dr. Berna Elya, M.Si., Apt (.....)

Ditetapkan di : Depok
Tanggal : 6 Juli 2012

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Allah S.W.T atas segala rahmat dan karunia-Nya, serta atas penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan untuk memnuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari berbagai pihak, mulai dari masa perkuliahan hingga pada penulisan skripsi ini, sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini tepat pada waktunya. Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Mahdi Jufri, M.Si., Apt., Dr. Abdul Mun'im, M.Si., Apt sebagai dosen Pembimbing yang dengan sabar memberikan bimbingan, pengarahan, saran, sumbangan ide, dan ilmu yang sangat bermanfaat selama masa penelitian hingga penulisan skripsi ini.
2. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS. selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberi kesempatan dan fasilitas selama masa perkuliahan, penelitian, dan penulisan skripsi ini.
3. Dr. Berna Elya, M.Si., Apt. selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan nasehat selama penulis menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
4. Bapak dan Ibu Dosen Farmasi UI yang telah banyak membantu dan membimbing penulis selama masa pendidikan hingga penelitian.
5. Dr. Azwar Manaf., M.Met, PhD selaku dosen Departemen Fisika atas segala bantuan dan bimbingannya selama penelitian berlangsung.
6. Keluargaku, khususnya mama, papa, Disney, Bagas, Umi, atas segala doa, dukungan, semangat, motivasi, bantuan, perhatian, kasih sayang, kesabaran, dan dana yang diberikan kepada penulis.
7. Mbak Devfa, Bapak Imih, Bapak Surya, Mbak Ulfa, Mbak Lia, Mbak Arni serta laboran dan staf karyawan lain atas segala bantuan dan kerja samanya

selama masa perkuliahan hingga penulis menyelesaikan pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.

8. Kak Radit, dan Mbak nia atas segala bantuan, pengetahuan, motivasi dan dukungannya selama penulis melakukan penelitian.
9. Wira, Sudep, Yurika, Wenny, Patricia, Delly, April, Sam, dan teman-teman KBI Farmasetika lainnya atas segala dukungan dan bantuannya selama penelitian berlangsung.
10. Teman-teman farmasi 2008 atas dukungan dan kerja samanya selama masa perkuliahan dan penelitian.
11. Keluargaku di farmasi, Kak Offi, Meidi, Tiara, dan Dini atas segala dukungan, bantuan, dan semangatnya selama ini.
12. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dan penyusunan skripsi.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik untuk sempurnanya skripsi ini. Semoga skripsi ini memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya dalam dunia farmasi, dan masyarakat pada umumnya.

Penulis
2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA
ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

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

Nama : Suci Syafitri Utami
NPM : 0806398751
Program Studi : Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : 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 :

Formulasi dan Uji Penetrasi *In vitro* Nanoemulsi, Nanoemulsi Gel, dan Gel Kurkumin

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 saya buat pernyataan ini dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada Tanggal : 6 Juli 2012

Yang menyatakan



(Suci Syafitri Utami)

ABSTRAK

Nama : Suci Syafitri Utami
Program studi : Farmasi
Judul : Formulasi dan Uji Penetrasi *In Vitro* Nanoemulsi,
Nanoemulsi Gel, dan Emulsi Gel Kurkumin.

Kurkumin merupakan salah satu bahan alam yang berfungsi sebagai antiinflamasi. Kurkumin memiliki bioavailabilitas yang rendah, dan tidak larut dalam air. Oleh karena itu, dapat diaplikasikan dalam bentuk nanoemulsi. Teknologi ini digunakan untuk meningkatkan kelarutan dan bioavailabilitas pada obat lipofilik. Tujuan penelitian ini ialah membuat dan membandingkan penetrasi dari sediaan nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel kurkumin. Nanoemulsi dan nanoemulsi gel dibuat dengan 36% Tween 80 sebagai surfaktan, minyak kelapa sawit dan *virgin coconut oil* (VCO) sebagai fase minyak, dan etanol 96% sebagai kosurfaktan. Sedangkan emulsi gel dibuat dengan 15% Tween 80 sebagai surfaktan dan karbopol 940 2% sebagai *gelling agent*. Nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel dibuat dan diukur ukuran globulnya menggunakan zetasizer. Ukuran partikel nanoemulsi, nanoemulsi gel dan emulsi gel berturut-turut ialah 10,07, 7,981, dan 4553 nm. Uji penetrasi *in vitro* kurkumin dilakukan menggunakan sel difusi Franz. Nanoemulsi gel memiliki jumlah kumulatif tertinggi yaitu $88,88 \pm 22,58 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$

Kata kunci : emulsi gel, kurkumin, nanoemulsi, nanoemulsi gel, sel difusi *Franz*.
xvi + 112 halaman : 9 gambar; 10 tabel; 41 lampiran
Daftar Pustaka : 39 (1958-2012)

ABSTRACT

Name : Suci Syafitri Utami
Program Study : Pharmacy
Title : Formulation and *In Vitro* Penetration Study of
Nanoemulsion, Nanoemulsion Gel, and Emulsion Gel

Curcumin is one of the natural compounds that used as an antiinflammation. Curcumin has a low bioavailability and insoluble in water. Because of that, curcumin can be applied in nanoemulsion form. This technologies being applied to enhance the solubility and bioavailability of lipophilic drugs. The aim of this study was to prepared and compared the *in vitro* penetration study of nanoemulsion, nanoemulsion gel, and emulsion gel curcumin. Nanoemulsion and nanoemulsion gel were prepared by 36% Tween 80 as surfactant, palm oil and virgin coconut oil (VCO) as oil phase, and 96% ethanol as cosurfactant. While emulsion gel were prepared by 15% tween 80 as surfactant and 2 % carbopol 940 as gelling agent. Their droplets size were measured using a zetasizer. Droplet size of nanoemulsion, nanoemulsion gel, and emulsion gel were 10.07, 7.981, and 4553 nm, respectively. *In vitro* penetration study was determined with Franz diffusion cell. Nanoemulsion gel showed the highest cumulative amount which was $88.88 \pm 22.58 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$

Keywords : curcumin, emulsion gel, Franz diffusion cell
nanoemulsion, nanoemulsion gel
xvi + 112 pages : 9 figures; 10 tables; 41 appendixes
Bibliography : 39 (1958-2012)

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMBUTAN.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	viii
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
1.3 Hipotesa Penelitian.....	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kunyit.....	3
2.2 Kulit.....	7
2.3 Emulsi.....	13
2.4 Nanoemulsi.....	15
2.5 Tegangan permukaan.....	16
2.6 Bahan-bahan dalam formulasi.....	18
2.7 Uji penetrasi <i>in vitro</i>	22
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Lokasi dan waktu.....	24
3.2 Alat.....	24
3.3 Bahan.....	24
3.4 Cara kerja.....	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Karakterisasi minyak kelapa sawit dan virgin coconut oil (VCO).....	43
4.2 Formulasi dan pembuatan nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel kurkumin.....	43
4.3 Evaluasi nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel.....	49
4.4 Uji Stabilitas Fisik.....	51
4.5 Pengukuran distribusi ukuran globul.....	53
4.6 Morfologi sediaan.....	54
4.7 Penetapan kadar dan uji perolehan kembali (UPK) Kurkumin dalam sediaan.....	55
4.8 Uji penetrasi secara <i>in vitro</i>	58

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	65
5.2 Saran.....	65
DAFTAR ACUAN.....	66

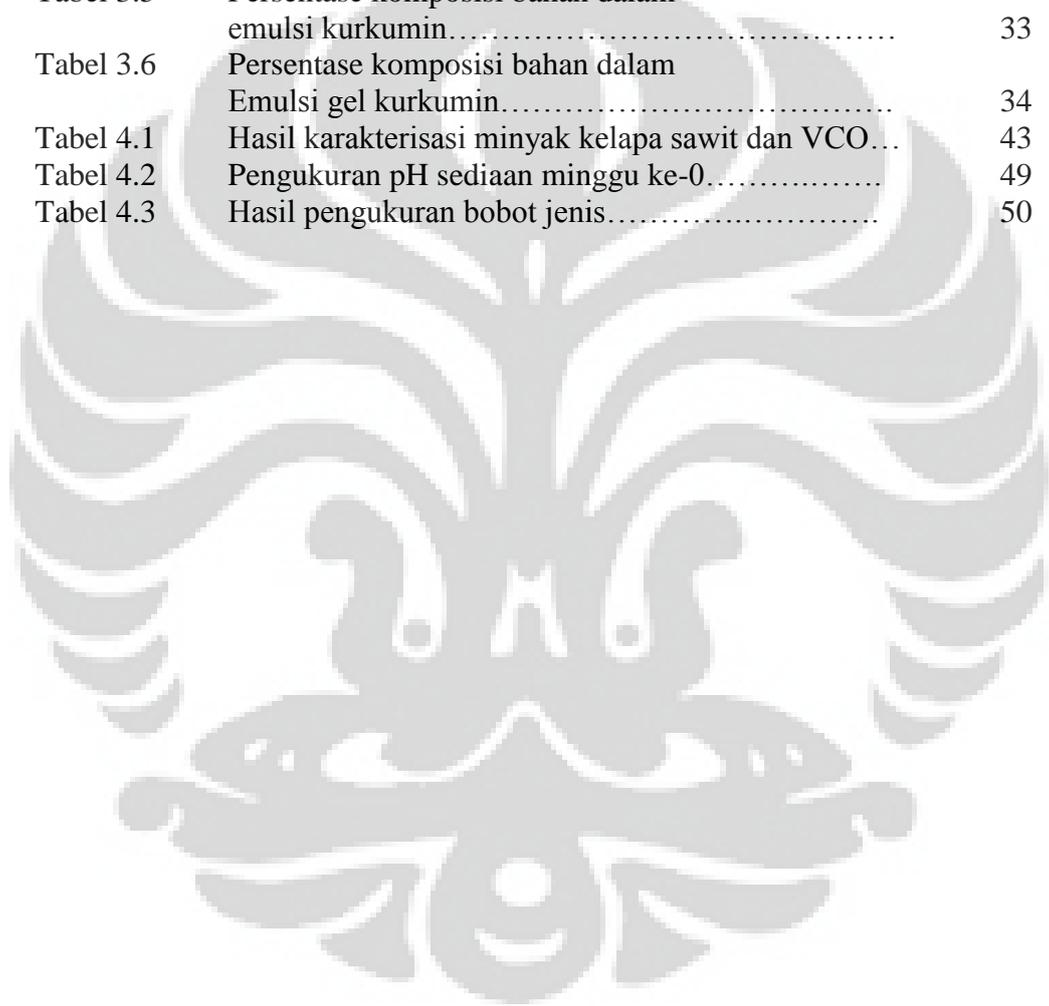


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Curcuma longa L.....	4
Gambar 2.2	Struktur kurkumin.....	6
Gambar 2.3	Struktur penampang kulit.....	9
Gambar 4.1	Pengukuran pH sediaan setiap 2 minggu.....	53
Gambar 4.2	Morfologi sediaan nanoemulsi gel.....	55
Gambar 4.3	Jumlah kumulatif penetrasi kurkumin dalam nanoemulsi.....	60
Gambar 4.4	Jumlah kumulatif penetrasi kurkumin dalam Nanoemulsi gel.....	60
Gambar 4.5	Jumlah kumulatif penetrasi kurkumin dalam emulsi gel.....	61
Gambar 4.6	Fluks kurkumin dari sediaan nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel.....	63

DAFTAR TABEL

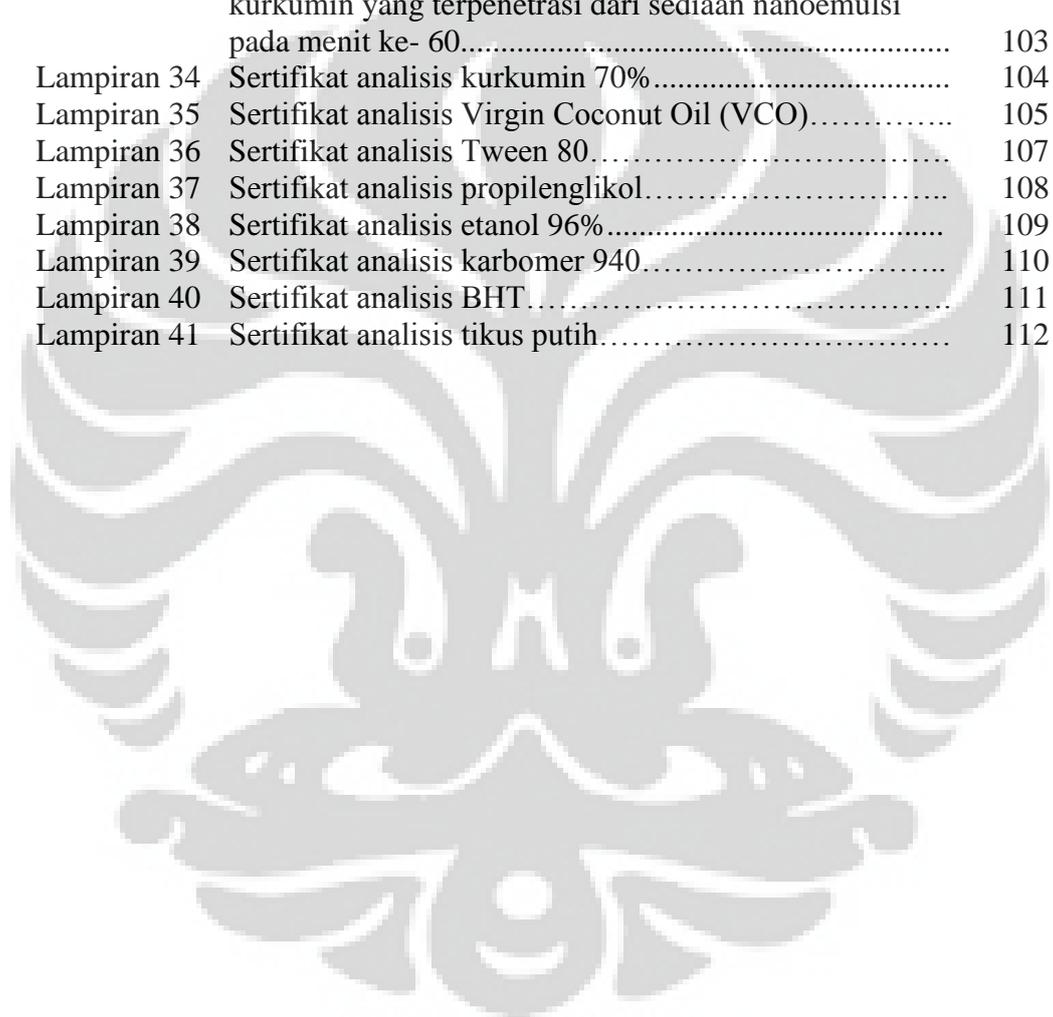
Tabel 2.1	Angka gugus HLB.....	18
Tabel 3.1	Persentase komposisi bahan dalam nanoemulsi.....	29
Tabel 3.2	Persentase komposisi basis gel untuk nanoemulsi gel.....	30
Tabel 3.3	Persentase komposisi bahan dalam sediaan nanoemulsi gel.....	31
Tabel 3.4	Persentase komposisi basis gel untuk emulsi gel....	32
Tabel 3.5	Persentase komposisi bahan dalam emulsi kurkumin.....	33
Tabel 3.6	Persentase komposisi bahan dalam Emulsi gel kurkumin.....	34
Tabel 4.1	Hasil karakterisasi minyak kelapa sawit dan VCO...	43
Tabel 4.2	Pengukuran pH sediaan minggu ke-0.....	49
Tabel 4.3	Hasil pengukuran bobot jenis.....	50



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Foto nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel minggu ke-0.....	70
Lampiran 2	Foto nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel minggu ke-2.....	70
Lampiran 3	Foto nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel minggu ke-4.....	72
Lampiran 4	Foto nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel minggu ke-6.....	73
Lampiran 5	Pemeriksaan tipe nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel menggunakan biru metilen.....	75
Lampiran 6	Foto cycling test.....	75
Lampiran 7	Uji sentrifugasi.....	76
Lampiran 8	Viskositas nanoemulsi.....	77
Lampiran 9	Viskositas nanoemulsi gel.....	78
Lampiran 10	Viskositas emulsi gel.....	79
Lampiran 8	Kurva kalibrasi kurkumin dalam metanol.....	80
Lampiran 9	Kurva kalibrasi kurkumin dalam dapar fosfat.....	80
Lampiran 13	Jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi per satuan luas membran dari sediaan nanoemulsi dengan tiga kali percobaan.....	81
Lampiran 14	Jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi per satuan luas membran dari sediaan nanoemulsi gel dengan tiga kali percobaan.....	82
Lampiran 15	Jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi per satuan luas membran dari sediaan emulsi gel dengan tiga kali percobaan.....	83
Lampiran 16	Pengukuran distribusi ukuran globul nanoemulsi menggunakan zetasizer.....	84
Lampiran 17	Pengukuran distribusi ukuran globul nanoemulsi gel menggunakan zetasizer.....	85
Lampiran 18	Pengukuran distribusi ukuran globul emulsi gel menggunakan zetasizer.....	86
Lampiran 19	Data kurva kalibrasi kurkumin dalam metanol pada panjang gelombang 421,5 nm.....	87
Lampiran 20	Data kurva kalibrasi kurkumin dalam dapar fosfat pada panjang gelombang 424,5 nm.....	87
Lampiran 21	Data uji penetrasi kurkumin dari sediaan nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel berdasarkan uji penetrasi selama 8 jam.....	88
Lampiran 22	Data perhitungan fluks kurkumin tiap waktu pengambilan dari sediaan nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel berdasarkan uji penetrasi selama 8jam.....	88
Lampiran 23	Data viskositas nanoemulsi.....	89
Lampiran 24	Data viskositas nanoemulsi gel.....	90
Lampiran 25	Data viskositas emulsi gel.....	91

Lampiran 26	Perhitungan HLB.....	92
Lampiran 27	Perhitungan kadar ekstrak kurkumin dalam etanol 96%.....	96
Lampiran 28	Contoh perhitungan bobot jenis.....	97
Lampiran 29	Contoh perhitungan tegangan permukaan.....	98
Lampiran 30	Contoh perhitungan penetapan kadar kurkumin dalam sediaan nanoemulsi.....	100
Lampiran 31	Contoh perhitungan uji perolehan kembali (UPK) kurkumin dalam sediaan nanoemulsi.....	101
Lampiran 32	Contoh perhitungan jumlah kurkumin yang terpenetrasi dari sediaan nanoemulsi pada menit ke- 60.....	102
Lampiran 33	Contoh perhitungan persentase jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi dari sediaan nanoemulsi pada menit ke- 60.....	103
Lampiran 34	Sertifikat analisis kurkumin 70%.....	104
Lampiran 35	Sertifikat analisis Virgin Coconut Oil (VCO).....	105
Lampiran 36	Sertifikat analisis Tween 80.....	107
Lampiran 37	Sertifikat analisis propilenglikol.....	108
Lampiran 38	Sertifikat analisis etanol 96%.....	109
Lampiran 39	Sertifikat analisis karbomer 940.....	110
Lampiran 40	Sertifikat analisis BHT.....	111
Lampiran 41	Sertifikat analisis tikus putih.....	112



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu bahan alam yang memiliki khasiat bagi kesehatan ialah kunyit. Kunyit merupakan tanaman yang sebagian besar kandungannya terdiri dari kurkumin. Dalam pengujian laboratorium disimpulkan bahwa kurkumin memiliki sifat antioksidan, anti mikroba, anti karsinogenik, anti inflamasi, pelindung infark miokard, hipoglikemik, dan anti reumatik (Anand, Kunnumakkara, Newman, dan Aggarwal, 2007).

Kurkumin memiliki bioavailabilitas yang rendah. Hal tersebut disebabkan metabolisme lintas pertama yang dialami oleh kurkumin dan juga karena terjadinya metabolit hasil turunan kurkumin akibat adanya metabolisme pada saluran pencernaan. Absorpsi yang rendah serta eliminasi dan ekskresi yang cepat merupakan hal yang juga membatasi bioavailabilitasnya (Anand, Kunnumakkara, Newman, dan Aggarwal, 2007).

Oleh karena kurkumin tidak larut dalam air, kurkumin dapat dibuat dengan sediaan emulsi. Emulsi biasa digunakan untuk melindungi bahan aktif dari kondisi lingkungan yang ekstrim, untuk meningkatkan stabilitas, efektivitas, dan menutupi dari bau dan rasa yang tidak enak. Nanoemulsi atau yang disebut juga miniemulsi merupakan pengembangan dari emulsi yang dapat mencegah terjadinya *creaming*, flokulasi, koalesens, dan sedimentasi (Gupta, P.K., Pandit, Kumar, Swaroop, dan Gupta, S. 2010). Nanoemulsi, memiliki kestabilan kinetik yang tinggi dikarenakan memiliki ukuran droplet yang jauh lebih kecil dibandingkan emulsi konvensional yang memiliki ukuran droplet lebih dari 1000 nm (Utami, 2009).

Teknologi nano ini merupakan metode yang efektif untuk pelepasan kurkumin sebagai bahan aktif (Anuchapreeda, Fukumori, Okonogi, dan Ichikawa, 2011). Oleh karena ukuran droplet yang kecil, nanoemulsi dapat dengan mudah berpenetrasi melewati lapisan kulit dan dapat meningkatkan penetrasi bahan aktif

yang tergabung dalam sistem penghantaran obat secara transdermal (Gupta, P.K., Pandit, Kumar, Swaroop, dan Gupta, S. 2010).

Rute pemberian obat secara transdermal merupakan suatu alternatif untuk menghindari variabilitas ketersediaan hayati obat pada penggunaan peroral, menghindari kontak langsung obat dengan mukosa lambung yang dapat menimbulkan efek samping obat tertentu sehingga dapat meningkatkan kepatuhan pasien (Meghan, dan Bogner, 2003).

Penelitian ini, membandingkan kestabilan dan kemampuan penetrasi sediaan nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel kurkumin. Dengan adanya penambahan *gelling agent* pada sediaan memungkinkan terjadinya pembesaran ukuran globul serta dapat mempengaruhi kestabilan dan penetrasinya.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk membuat dan membandingkan uji penetrasi *In vitro* sediaan nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel kurkumin menggunakan sel difusi *Franz*.

1.3 Hipotesa Penelitian

- a. Nanoemulsi memberikan jumlah kumulatif kurkumin terpenetrasi yang lebih besar dari nanoemulsi gel
- b. Nanoemulsi gel memberikan jumlah kumulatif kurkumin terpenetrasi lebih besar dari emulsi gel

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kunyit (*Curcuma longa* L.)

Kunyit (*Curcuma domestica*) atau dikenal juga dengan *Curcuma longa* termasuk salah satu tanaman rempah yang berasal dari wilayah Asia Selatan dan Tenggara. Rhizoma yang lazim disebut sebagai rimpang dari tanaman ini merupakan bagian yang paling bermanfaat dan telah digunakan sebagai bumbu masakan selama berabad-abad. Di Indonesia kunyit sudah dikenal kegunaannya sebagai penambah rasa, aroma, dan warna pada makanan. Selain itu, di Asia kunyit telah digunakan sebagai obat sejak tahun 2000 SM (Utami, 2009).

2.1.1. Klasifikasi Tanaman

Berdasarkan taksonominya, kunyit diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: <i>Curcuma</i>
Jenis	: <i>Curcuma longa</i> L.
Sinonim	: <i>Curcuma domestica</i>



[Sumber : Kohlschmidt, 2011]

Gambar 2.1. *Curcuma longa* L.

2.1.2. Morfologi

Terna dengan batang berwarna semu hijau atau agak keunguan, rimpang terbentuk dengan sempurna, bercabang-cabang, berwarna jingga. Setiap tanaman berdaun 3 sampai 8 helai, panjang tangkai daun, beserta pelepah daun sampai 70 cm; tanpa lidah-lidah, berambut halus jarang-jarang, helaian daun berbentuk lanset lebar, ujung daun lancip berekor, keseluruhannya berwarna hijau atau hanya bagian atas dekat tulang utama berwarna agak keunguan, panjang 28 sampai 85 cm, lebar 10 sampai 25 cm. Perbungaan terminal, tenda bunga, panjang 10 sampai 19 cm, lebar 5 sampai 10 cm; daun kelopak berambut berbentuk lanset, panjang 4 sampai 8 cm, lebar 2 sampai 3,5 cm, daun kelopak yang paling bawah berwarna hijau, bentuk bundar telur, makin ke atas makin menyempit serta memanjang, warna semu putih atau keunguan (Departemen Kesehatan RI, 1989).

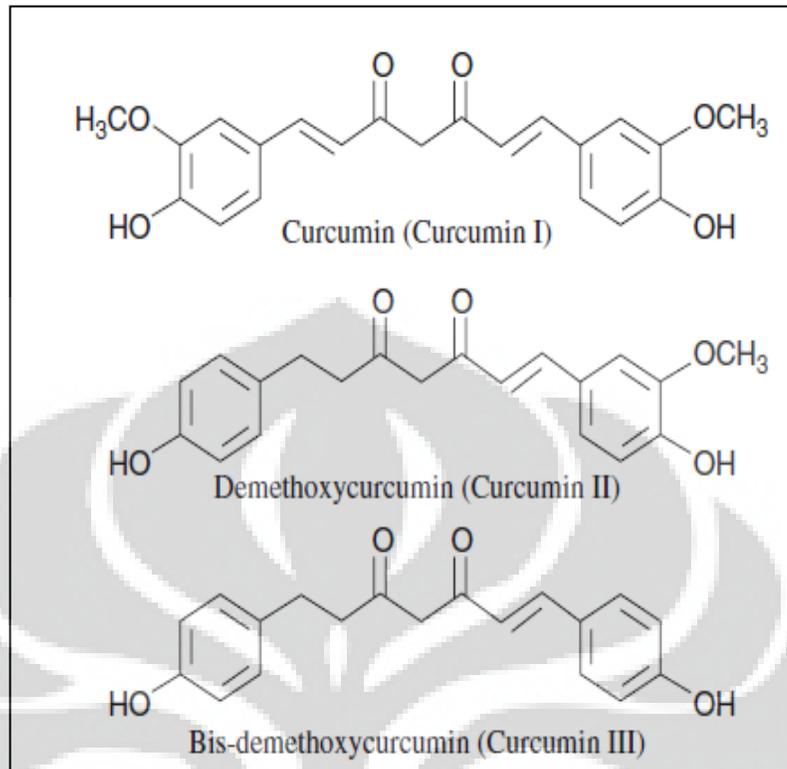
2.1.3. Ekologi dan Penyebaran

Tumbuh dan ditanam di Asia Selatan, Cina Selatan, Taiwan, Indonesia dan Filipina. Tumbuh dengan baik di tanah yang baik tata pengairannya, curah hujan

cukup banyak 2000 mm sampai 4000 mm tiap tahun dan di tempat yang sedikit kenaungan, tetapi untuk menghasilkan rimpang yang lebih besar dan baik menghendaki tempat yang terbuka. Tanah ringan seperti tanah lempung berpasir, baik untuk pertumbuhan rimpang (Departemen Kesehatan RI, 1989).

2.1.4. Kandungan Kimia

Kandungan utama dari kunyit adalah kurkumin yang diisolasi pertama kali pada tahun 1815, dan diperoleh dalam bentuk kristal pada tahun 1870. Kurkumin diidentifikasi sebagai 1,6-heptadien-3,5-dione-1,7-bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-(1E,6E) atau diferuloilmetan (Aggarwal et al., 2006). Tonnesen dan Karsen menuliskan bahwa kurkumin biasanya terdapat dalam bentuk campuran dengan demethoxykurkumin dan bisdemethoxykurkumin yang membuat warnanya menjadi kuning. Kurkumin memiliki berat molekul sebesar 368,37, titik lebur 183°C, dan titik leleh 176-177°C. Kurkumin tidak stabil pada perubahan pH. Dalam suasana asam kurkumin berwarna kuning atau kuning jingga. Sedangkan dalam suasana basa berwarna merah. Selain terjadi perubahan disosiasi, pada suasana basa kurkumin dapat mengalami degradasi membentuk asam ferulat dan feruloilmetan. Degradasi ini terjadi bila kurkumin berada dalam lingkungan pH 8,5-10,0 dalam waktu yang relatif lama, walaupun tidak berarti bahwa dalam waktu relatif singkat tidak terjadi degradasi kurkumin, karena proses degradasi juga sangat dipengaruhi oleh suhu lingkungan. Salah satu hasil degradasi, yaitu feruloilmetan memiliki warna kuning cokelat yang akan mempengaruhi warna merah yang seharusnya terjadi. Sifat lain yang penting dari kurkumin ialah aktivitasnya terhadap cahaya. Bila kurkumin terkena cahaya, akan terjadi dekomposisi struktur berupa siklisasi kurkumin atau terjadi degradasi struktur (Anshory, 2011). Kurkumin relatif tidak larut dalam air, tetapi dapat larut dalam aseton, dimetilsulfoksid, alkali, keton, asam asetat, kloroform, dan etanol (Ravindran, 2007).



[Sumber : Aggarwal *et al.*, 2006]

Gambar 2.2 Struktur Kurkumin

2.1.5. Manfaat

Kurkumin yang terkandung dari *Curcuma longa* L. ini memiliki fungsi anti-inflamasi, antioksidan, antiprotozoa, antibakterial, anti-HIV, antitumor, antikanker, menstimulasi regenerasi otot, penyakit kardiovaskular, immunosupresif, diabetes, penyembuhan luka, bahan pewarna makanan, analgesik, antimalaria, penolak serangga (Xiaoyong Wang, Yan Jiang, Yu-Wen Wang, Mou-Tuan Huang, Chi-Tang Ho, & Qingrong Huang, 2007).

2.1.6. Farmakokinetik

Bahan paling aktif yang terkandung di dalam *Curcuma longa* adalah kurkumin, yaitu sebesar 3-4%. Bioavailabilitas kurkumin sistemik rendah yang

disebabkan oleh metabolisme yang cepat dan absorpsi yang buruk (Anand, Kunnumakkara, Newman, & Aggarwal, 2007).

2.1.7. Dosis

Berdasarkan hasil penelitian, ditunjukkan bahwa vehikulum salep yang mengandung 0,5% sampai 5% polimer kurkuminoid dapat bermanfaat dalam mengatasi masalah-masalah kulit. (Xiaoyong, 2007) menggunakan kurkumin 85% sebanyak 1% untuk sediaan nanoemulsi sebagai antiinflamasi.

2.2. Kulit

Kulit adalah organ tubuh paling besar yang melapisi seluruh tubuh. Luas kulit pada manusia rata-rata sekitar 2 m² dengan berat 10 kg jika ditimbang dengan lemaknya atau 4 kg jika tanpa lemak, atau beratnya sekitar 16% dari berat badan seseorang (Kusantati, Prihatin, dan Wiana, 2008). Kulit merupakan organ yang pertama kali terkena polusi oleh zat-zat yang terdapat di lingkungan hidup kita, termasuk jasad renik (mikroba) yang tumbuh dan hidup di lingkungan kita. Kulit juga sangat kompleks, elastis dan sensitif, serta bervariasi pada keadaan iklim, umur, jenis kelamin, ras dan lokasi tubuh.

2.2.1. Anatomi Kulit

Secara histologis kulit tersusun atas 3 lapisan utama yaitu lapis epidermis atau kutikel lapis dermis (korium, kutis vera, *true skin*), dan lapis subkutis (*hypodermis*). Tidak ada garis tegas yang memisahkan antara dermis dan subkutis. Subkutis ditandai dengan adanya jaringan ikat longgar dan sel-sel yang membentuk jaringan lemak. Lapis epidermis dan dermis dibatasi oleh taut dermoepidermal (Kusantati, Prihatin, dan Wiana, 2008).

2.2.1.1. Epidermis

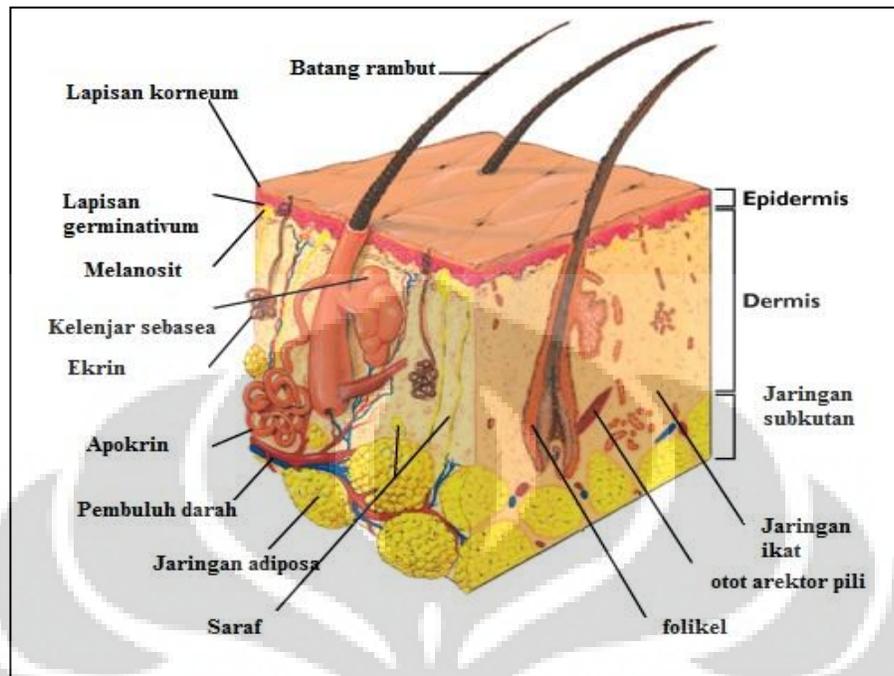
Epidermis merupakan jaringan epitel berlapis pipih, dengan sel epitel yang mempunyai lapisan tertentu. Lapisan ini terdiri dari 5 lapisan yaitu stratum germinativum, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum, dan stratum korneum.

2.2.1.2. Dermis

Dermis merupakan jaringan ikat fibroelastis, dimana di dalamnya didapatkan banyak pembuluh-pembuluh darah, pembuluh-pembuluh limfa, serat-serat saraf, kelenjar keringat dan kelenjar minyak, yang masing-masing mempunyai arti fungsional untuk kulit itu sendiri. Lapisan ini jauh lebih tebal daripada epidermis, terbentuk oleh jaringan elastis dan fibrosa padat dengan elemen seluler, kelenjar, dan rambut sebagai adneksa kulit.

2.2.1.3. Subkutis

Lapisan ini merupakan kelanjutan dermis, terdiri atas jaringan ikat longgar berisi sel-sel lemak di dalamnya. Sel lemak merupakan sel bulat, besar, dengan inti terdesak ke pinggir karena sitoplasma lemak yang bertambah. Sel-sel ini membentuk kelompok yang dipisahkan satu dengan yang lainnya oleh trabekulua dan fibrosa. Lapisan sel lemak disebut panikulus adiposus, berfungsi sebagai cadangan makanan. Di lapisan ini terdapat ujung-ujung saraf tepi, pembuluh darah, dan saluran getah bening. Tebal jaringan lemak tidak sama, bergantung pada lokasi, di abdomen 3 cm, sedangkan di daerah kelopak mata dan penis sangat tipis. Lapis lemak ini juga berfungsi sebagai bantalan.



[Sumber: Syarif, 2011]

Gambar 2.3 Struktur Penampang Kulit (telah diolah kembali)

2.2.2 Fisiologi Kulit

Kulit memiliki berbagai fungsi yaitu sebagai berikut :

2.2.2.1. Fungsi Proteksi

Epidermis berguna untuk menutupi jaringan-jaringan tubuh dari pengaruh luar. Lapisan paling luar dari kulit diselubungi dengan lapisan tipis lemak yang menjadikan kulit dapat menahan suhu tubuh, menahan luka-luka kecil, mencegah zat kimia dan bakteri masuk serta menghalau rangsang fisik seperti sinar ultraviolet dari matahari (Kusantati, Prihatin, dan Wiana, 2008).

2.2.2.2. Fungsi absorpsi

Kulit yang sehat tidak mudah menyerap air, larutan maupun benda padat. Tetapi cairan yang mudah menguap lebih mungkin mudah diserap kulit, begitu pula

zat yang larut dalam minyak. Kemampuan absorpsi kulit dipengaruhi oleh tebal tipisnya kulit, hidrasi, kelembaban udara, metabolisme dan jenis pembawa zat yang menempel di kulit. Penyerapan dapat melalui celah antarsel, saluran kelenjar atau saluran keluar rambut (Langley dan Lenny, 1958).

2.2.2.3. Fungsi ekskresi

Kelenjar-kelenjar pada kulit mengeluarkan zat-zat yang tidak berguna atau sisa metabolisme dalam tubuh misalnya NaCl, urea, asam urat, ammonia, dan sedikit lemak. Sebum yang diproduksi kelenjar palit kulit melindungi kulit dan menahan penguapan yang berlebihan sehingga kulit tidak menjadi kering (Langley dan Lenny, 1958).

2.2.2.4. Fungsi pengindera (sensori)

Kulit mengandung ujung-ujung saraf sensorik di dermis dan subkutis. Badan Ruffini yang terletak di dermis, menerima rangsangan dingin dan rangsangan panas diperankan oleh badan Krause. Badan taktil Meissner yang terletak di papil dermis menerima rangsang rabaan, demikian pula badan Merkel-Renvier yang terletak di epidermis (Langley dan Lenny, 1958).

2.2.2.5. Fungsi pengaturan suhu tubuh (termoregulasi)

Kulit mengatur suhu tubuh melalui dilatasi dan konstruksi pembuluh darah serta melalui respirasi yang dipengaruhi oleh saraf otonom (Kusantati, Prihatin, dan Wiana, 2008). Kulit melakukan peran ini dengan cara mengeluarkan keringat dan mengerutkan otot dinding pembuluh darah kulit ketika terjadi peningkatan suhu. Dengan dikeluarkannya keringat, maka terbuang pula panas tubuh. Mekanisme termoregulasi ini diatur oleh sistem saraf simpatis yang mengeluarkan zat perantara asetilkolin (Langley dan Lenny, 1958).

2.2.2.6. Fungsi pembentukan pigmen (melanogenesis)

Sel pembentuk pigmen kulit (melanosit) terletak di lapisan basal epidermis. Sel ini berasal dari rigi saraf, jumlahnya 1:10 dari sel basal. Jumlah melanosit serta jumlah dan besarnya melanin yang terbentuk menentukan warna kulit. Paparan sinar matahari mempengaruhi produksi melanin. Bila paparan bertambah produksi melanin akan meningkat (Langley dan Lenny, 1958).

2.2.2.7. Fungsi keratinisasi

Keratinisasi dimulai dari sel basal yang kuboid, bermitosis ke atas berubah bentuk lebih poligonal yaitu sel spinosum, terangkat ke atas menjadi lebih gepeng, dan bergranula menjadi sel granulosum. Kemudian sel tersebut terangkat ke atas lebih gepeng, dan granula serta intinya hilang menjadi sel spinosum dan akhirnya sampai di permukaan kulit menjadi sel yang mati, protoplasmanya mengering menjadi keras, gepeng, tanpa inti yang disebut sel tanduk. Proses ini berlangsung terus-menerus dan berguna untuk fungsi rehabilitasi kulit agar dapat melaksanakan fungsinya secara baik (Langley dan Lenny, 1958).

2.2.2.8. Fungsi produksi vitamin D

Kulit juga dapat membuat vitamin D dari bahan baku 7-dihidroksikolesterol dengan bantuan sinar matahari. Namun produksi ini masih lebih rendah dari kebutuhan tubuh akan vitamin D dari luar makanan (Langley dan Lenny, 1958).

2.2.3. Penetrasi Obat Melalui Kulit

Penetrasi melintasi stratum korneum dapat terjadi karena adanya proses difusi melalui dua mekanisme, yaitu (Lund, 1994; Walters, 1993; Mahanani, 2009) :

2.2.3.1. Absorpsi transepidermal

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.

2.2.3.2. 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.

2.2.3.3. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi absorpsi perkutan antara lain (Ansel, 1989; Walters dan Jonathan, 1993) :

- a. Harga koefisien partisi obat yang tergantung dari kelarutannya dalam minyak dan air.
- b. Kondisi pH akan mempengaruhi tingkat disosiasi serta kelarutan obat yang lipofil.
- c. Konsentrasi obat.
- d. Profil pelepasan obat dari pembawanya, bergantung pada afinitas zat aktif terhadap pembawa, kelarutan zat aktif dalam pembawa, dan pH pembawa.
- e. Komposisi sistem tempat pemberian obat, yang ditentukan dari permeabilitas stratum korneum yang disebabkan hidrasi dan perubahan struktur lipid.

- f. Peningkatan suhu kulit dapat menyebabkan perubahan difusi yang disebabkan oleh peningkatan kelarutan obat.
- g. Pembawa yang dapat meningkatkan kelembaban kulit akan mendorong terjadi absorpsi obat melalui kulit.
- h. Waktu kontak obat dengan kulit.
- i. Ketebalan kulit. Absorpsi perkutan lebih besar jika obat digunakan pada kulit dengan lapisan tanduk yang tipis daripada yang tebal.
- j. Bahan-bahan peningkat penetrasi (*enhancer*) dapat meningkatkan permeabilitas kulit dengan cara mengubah sifat fisikokimia stratum korneum sehingga mengurangi daya tahan difusi. Contohnya: DMSO, DMF, DMA, urea, dan lain-lain.
- k. Adanya sirkulasi darah *in situ* pada kulit akan meningkatkan absorpsi obat.

2.3. Emulsi

Emulsi merupakan suatu sistem dimana terdiri atas sedikitnya dua fase cair yang tidak tercampurkan. Sistem ini tidak stabil secara termodinamika dan dapat distabilkan dengan bahan pengemulsi (Sinko, 2012). Emulsi dibagi atas dua tipe yang berdasarkan fase terdispersinya, yaitu tipe minyak dalam air (m/a) dan air dalam minyak (a/m) (Lissant, 1974).

2.3.1. Stabilitas emulsi

Stabilitas emulsi ditandai dengan tidak adanya penggabungan fase internal, *pengkriman*, dan tidak berubahnya keelokan tampilan, bau, warna, dan sifat fisik lainnya. Ketidakstabilan emulsi dapat diklasifikasi sebagai berikut (Sinko, 2012) :

- a. Flokulasi dan *pengkriman* (*Creaming*)
- b. Penggabungan dan pemecahan
- c. Perubahan fisika dan kimia lainnya
- d. Inversi fase

Creaming merupakan terpisahnya emulsi menjadi dua lapisan, dimana lapisan yang satu mengandung butir-butir tetesan (fase terdispers) lebih banyak daripada lapisan yang lain. Jika densitas fase terdispersi lebih kecil dari fase kontinu, kecepatan sedimentasi menjadi negatif yaitu terjadi *pengkriman* di atas. Hal tersebut umumnya terdapat pada emulsi tipe m/a. Sedangkan jika fase internal lebih berat daripada fase eksternal, globul akan mengendap. Ini merupakan fenomena yang sering terjadi pada tipe emulsi a/m, yaitu fase internal cair memiliki densitas lebih besar daripada fase kontinu (minyak) (Sinko, 2012).

Creaming berbeda dengan pemecahan karena proses *pengkriman* merupakan suatu hal yang *reversible*, sedangkan pemecahan adalah proses yang *ireversibel*. Flokulat krim mudah didispersikan kembali melalui pengadukan karena globul minyak masih terlapisi oleh lapisan pelindung bahan pengemulsi. Sedangkan pada emulsi yang pecah, pencampuran sederhana tidak dapat mensuspensikan globul kembali dalam bentuk emulsi yang stabil karena selaput yang melapisi globul telah rusak dan minyak cenderung menyatu (Sinko, 2012).

Emulsi dapat juga mengalami perubahan tipe dari m/a menjadi a/m begitu juga sebaliknya. Hal ini dinamakan inverse fase, yang dapat terjadi melalui beberapa kondisi yaitu adanya penambahan fase minyak atau air, jenis bahan pengemulsi (hidrofil atau hidrofob), rasio volume fase, suhu pembuatan emulsi, dan penambahan elektrolit (Lissant, 1974).

2.3.2. Emulsi gel

Emulsi gel merupakan salah satu sistem penghantaran bagi obat yang bersifat hidrofobik. Dimana dalam sistem ini menggunakan kombinasi antara gel dan emulsi. *Gelling agent* yang terdapat dalam sistem emulsi ini memungkinkan formulasi menjadi stabil, dengan menurunkan tegangan permukaannya (Panwar., et al, 2011).

Beberapa keuntungan dari emulsi gel ini ialah menghindari kemungkinan terjadinya metabolisme lintas pertama, kemudahan pada pasien dalam mengaplikasikannya, meningkatkan kepatuhan pasien, pengobatan dapat segera

dihentikan jika dibutuhkan, sesuai untuk obat yang memiliki waktu paruh yang pendek maupun untuk obat keras, dan untuk penghantaran obat spesifik. Namun terdapat pula kerugian dalam emulsi gel ini, yaitu kesulitan dalam mengabsorpsi obat yang memiliki ukuran globul besar, permeabilitas yang buruk untuk beberapa obat dalam melewati kulit, dapat mengakibatkan iritasi atau reaksi alergi, dan juga dapat terjadi gelembung-gelembung pada saat pembuatan formulasi emulsi gel (Baibhav, Gurpreet, Rana, Seema, dan Vikas, 2011).

2.4. Nanoemulsi

Nanoemulsi atau biasa disebut miniemulsi merupakan dispersi halus minyak dalam air atau air dalam minyak yang memiliki ukuran droplet 50-1000 nm dan biasanya berada dalam kisaran 100-500 nm (Shah, 2010). Nanoemulsi memiliki bentuk fisik yang transparan atau *translucent*. Perbedaan antara mikroemulsi dan nanoemulsi memang masih belum jelas karena deskripsi antara keduanya hampir serupa. Meskipun penampilan dari nanoemulsi serupa dengan mikroemulsi, dimana keduanya transparan atau *translucent* dan memiliki viskositas yang rendah, namun terdapat perbedaan yang mendasar diantara keduanya. Nanoemulsi stabil secara kinetik, sedangkan mikroemulsi stabil secara termodinamik. Sebagai konsekuensi, nanoemulsi seringkali dilaporkan tidak stabil pada jangka waktu yang panjang, namun memiliki kestabilan yang lebih tinggi untuk mencegah terjadinya sedimentasi atau *creaming* dibandingkan dengan emulsi (Harwansh, 2011).

Nanoemulsi memiliki beberapa keuntungan diantaranya ialah memiliki luas permukaan yang lebih besar dan bebas energy dibandingkan dengan makroemulsi sehingga lebih efektif sebagai sistem pembawa. Nanoemulsi tidak menunjukkan masalah ketidakstabilan seperti pada makroemulsi yaitu *creaming*, flokulasi, koalesens, dan sedimentasi. Nanoemulsi juga dapat dibentuk dengan formulasi yang bervariasi seperti krim, cairan, *spray*, *foam*. Selain itu nanoemulsi juga tidak toksik dan tidak mengiritasi, oleh karena itu dapat diaplikasikan dengan mudah melalui kulit maupun membran mukosa (Shah, 2010). Nanoemulsi juga dapat meningkatkan

absorpsi, meningkatkan bioavailabilitas obat, membantu mensolubilisasi zat aktif yang bersifat hidrofob, serta memiliki efisiensi dan penetrasi yang cepat pada sebagian obat (Devarajan & Ravichandran, 2011).

2.4.1 Komponen Nanoemulsi

Umumnya sediaan nanoemulsi memiliki komponen eksipien yang digunakan seperti minyak, surfaktan, dan kosurfaktan. Pemilihan eksipien dalam nano emulsi tidak boleh mengiritasi dan sensitif terhadap kulit.

Minyak, merupakan komponen penting dalam formulasi nanoemulsi karena dapat melarutkan bahan aktif lipofilik. Surfaktan non ionik umumnya digunakan karena memiliki toksisitas yang rendah dibandingkan dengan surfaktan ionik. Dalam kebanyakan kasus, penggunaan surfaktan saja tidak cukup mampu untuk mengurangi tegangan antarmuka antara minyak-air, sehingga dibutuhkan kosurfaktan untuk membantu menurunkan tegangan antarmuka. Penambahan kosurfaktan selain dapat menurunkan tegangan antarmuka minyak-air, juga dapat meningkatkan fluiditas pada antarmuka sehingga dapat meningkatkan entropi sistem. Kosurfaktan juga dapat meningkatkan mobilitas ekor hidrokarbon sehingga penetrasi minyak pada bagian ekor menjadi lebih besar (Gupta,P.K., Pandit, Kumar, Swaroop, dan Gupta, S., 2010).

2.5. Tegangan Permukaan

Tegangan antarmuka adalah gaya per satuan panjang yang terdapat pada antarmuka dua fase cair yang tidak bercampur dan seperti tegangan permukaan, memiliki satuan dyne/cm. tegangan antarmuka selalu lebih kecil daripada tegangan permukaan karena gaya adhesif antara dua fase cair yang membentuk suatu fase cair dan fase gas berada bersama-sama. Jadi bila dua cairan bercampur dengan sempurna, tidak ada tegangan antarmuka yang terjadi.

Pengukuran tegangan permukaan dan tegangan antarmuka dapat diperoleh dengan metode kenaikan kapiler dan *Du Noy* ring. Metode kenaikan kapiler

dilakukan dengan prinsip terjadinya kenaikan cairan pada ketinggian tertentu apabila cairan yang berada dalam sebuah beaker tersebut diletakkan sebuah tabung kapiler. Hal ini terjadi berdasarkan adanya kekuatan adhesi antara molekul-molekul cairan dan dinding kapiler yang lebih besar dari kohesinya.

Tekanan permukaan cairan dapat diketahui dengan mengukur ketinggian kenaikan cairan dalam kapiler, namun tidak dapat diketahui tekanan-tekanan antarmuka. Sedangkan metode dengan tensiometer *Du Nouy* dilakukan berdasarkan gaya yang diperlukan untuk melepaskan suatu cincin platina-iridium yang dicelupkan pada permukaan atau antarmuka. Gaya tersebut sebanding dengan tegangan permukaan atau tegangan antarmuka dan dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\gamma = \frac{\text{yang dibaca pada petunjuk (dyne)}}{2 \times \text{keliling cincin}} \times \text{faktor koreksi} \quad (2.1)$$

Molekul dan ion yang diadsorpsi pada antarmuka disebut zat-zat aktif permukaan, atau surfaktan atau amfifil yang dapat bersifat hidroflik, lipofilik, ataupun berada tepat diantara kedua sifat tersebut. Amfifilik harus terpusat pada antarmuka, tidak terlalu bersifat hidroflik maupun terlalu hidrofobik agar tetap berada dalam antarmuka. Dalam mengatasi hal tersebut perlu adanya kesetimbangan antara system hidrofil dan lipofil. Griffin merancang suatu skala yang digunakan sebagai suatu ukuran kesetimbangan hidroflik-lipofilik (HLB). Semakin tinggi nilai HLB suatu zat maka semakin bersifat hidrofil. Sementara itu Davies telah menghitung nilai HLB berdasarkan angka gugusan dengan perhitungan sebagai berikut:

$$HLB = \Sigma(\text{angka gugus hidroflik}) - \Sigma(\text{angka gugus lipofilik}) + 7 \quad (2.2)$$

Tabel 2.1. Angka gugus HLB

	Gugusan senyawa	Angka gugus
Gugus Hidrofilik	-SO ₄ - Na ⁺	38,7
	-COO- Na ⁺	19,1
	Ester (cincin sorbitan)	6,8
	Ester (bebas)	2,4
	Hidroksil (bebas)	1,9
	Hidroksil (cincin sorbitan)	0,5
	-COOH	2,1
	Gugus Lipofilik	-CH-
-CH ₂ -		
-CH ₃		
=CH-		

[sumber: Lissant, 1974]

2.6. Bahan - bahan dalam Formulasi

2.6.1. Minyak kelapa sawit

Minyak kelapa sawit diperoleh dari pengolahan buah kelapa sawit. Secara garis besar buah kelapa sawit terdiri dari serabut buah (pericarp) dan inti (kernel). Serabut buah kelapa sawit terdiri dari tiga lapis yaitu lapisan luar atau kulit buah yang disebut pericarp, lapisan sebelah dalam disebut mesocarp atau pulp dan lapisan paling dalam disebut endocarp. Inti kelapa sawit terdiri dari lapisan kulit biji (testa), endosperm dan embrio. Mesocarp mengandung kadar minyak rata-rata sebanyak 56%, inti (kernel) mengandung minyak sebesar 44%, dan endocarp tidak mengandung minyak.

Minyak kelapa sawit seperti umumnya minyak nabati lainnya adalah merupakan senyawa yang tidak larut dalam air, sedangkan komponen penyusunnya

yang utama adalah trigliserida dan nontrigliserida (Pasaribu, 2004). Berdasarkan penelitian dikatakan bahwa minyak kelapa sawit memiliki waktu pecah emulsi yang besar sehingga dapat disimpulkan penggunaan minyak kelapa sawit membuat emulsi lebih stabil daripada penggunaan minyak yang lain (Primahadi, 2006).

2.6.2. VCO (*Virgin Coconut Oil*).

Virgin Coconut Oil atau VCO merupakan minyak yang dihasilkan dari buah kelapa segar. VCO dihasilkan tidak melalui penambahan bahan kimia atau proses pemanasan tinggi. VCO mengandung banyak asam lemak rantai menengah (*Medium Chain Fatty Acid*). Kandungan asam lemak rantai menengah yang paling banyak terkandung dalam VCO adalah asam laurat (Timoti, 2005). VCO dapat bermanfaat dalam pengobatan berbagai jenis penyakit berbahaya seperti kanker dan HIV/AIDS, karena di dalam *coconut oil* terdapat kandungan senyawa penting yaitu *Medium Chain Triglycerides* (MCT) yang berperan sebagai zat aktif penyerang penyakit (Timoti, 2005).

MCT sangat stabil pada suhu yang sangat rendah dan tinggi. MCT tidak mengalami polimerisasi atau penghitaman (perubahan warna) akibat penambahan panas. Sebaliknya, sebagian besar minyak nabati apabila dipanaskan pada suhu tinggi, akan menjadi kental. Sedangkan MCT masih berwujud cairan jernih dan tidak mengental meskipun pada suhu yang sangat rendah, yaitu 0°C (Syah & Sumangat, 2005). VCO juga mengandung *Medium Chain Fatty Acid* (MCFA) dimana MCFA ini dapat merangsang pembentukan kolesterol baik di dalam tubuh, sehingga VCO dapat bermanfaat mengurangi penumpukan kolesterol di dalam darah yang dapat menyebabkan obesitas dan penyakit jantung (Timoti, 2005).

2.6.3. Tween 80

Nama kimia : Polyoxyethylene 80 sorbitan monolaurate

Rumus Molekul : $C_{64}H_{124}O_{26}$

Berat Molekul : 1310, gram/mol
Kelarutan : larut dalam air, etanol, tidak larut dalam minyak mineral dan minyak sayur.

Tween 80 merupakan salah satu surfaktan non ionik yang pemerianya berupa larutan minyak berwarna kuning, memiliki nilai HLB 15. Polisorbat stabil pada elektrolit, asam lemah, dan basa. Reaksi penyabunan bertahap dapat terjadi dalam lingkungan pH asam kuat dan basa. Polisorbat biasa digunakan dalam kosmetik, produk makanan, formulasi oral, parenteral, dan topikal dan umumnya dianggap sebagai material yang tidak toksik dan tidak mengiritasi (American Pharmaceutical Association, 1994). Tween 80 digunakan sebagai surfaktan dikarenakan nilai HLB yang mendekati dengan HLB gabungan minyak kelapa sawit dan VCO yaitu 15,5 (Perhitungan tertera dalam lampiran).

2.6.4. Propilenglikol

Propilenglikol digunakan sebagai humektan, pelarut, stabilizer untuk vitamin, kosolven, *plasticizer*, desinfektan, dan pengawet. Propilenglikol merupakan pelarut yang lebih baik dibandingkan gliserin dan dapat melarutkan berbagai materi seperti kortikosteroid, fenol, sulfa, barbiturat, vitamin A dan D, alkaloid, obat-obat anestesi lokal. Aktivitas antiseptiknya setara dengan etanol dan dapat menghambat pertumbuhan jamur. Propilen glikol biasa digunakan dalam formulasi farmasetika dan secara umum dianggap sebagai material yang nontoksik. Konsentrasi propilen glikol sebagai pelarut dan kosolven pada penggunaan topikal ialah 5-80%.

Propilenglikol juga dapat digunakan untuk meningkatkan efikasi dari paraben sebagai bahan pengawet. Konsentrasi penggunaannya berkisar antara 2-5% (American Pharmaceutical Association, 1994).

2.6.5. Asam Oleat

Asam oleat digunakan sebagai *emulsifying agent* dalam makanan dan formulasi sediaan topikal. Selain itu dapat digunakan juga sebagai *enhancer* pada sediaan transdermal (American Pharmaceutical Association, 1994).

2.6.6. Metil paraben / Nipagin

Metil paraben biasa digunakan sebagai bahan pengawet dalam kosmetik, produk makanan, dan formulasi farmasetika. Data digunakan tunggal maupun kombinasi dengan paraben lainnya atau bahan antimikroba lainnya. Dalam sediaan topikal, metil paraben digunakan dalam konsentrasi berkisar antara 0,02-0,3%. Larut 1:2 dalam etanol, 1:400 dalam air, 1:50 dalam air dengan suhu 50°C, 1:30 dalam air dengan suhu 80°C, 1:5 dalam propilenglikol (American Pharmaceutical Association, 1994).

2.6.7. Propil paraben / Nipasol

Propil paraben biasa digunakan sebagai bahan pengawet dalam kosmetik, produk makanan, dan formulasi farmasetika. Digunakan dalam menghambat pertumbuhan mikroba dalam pH antara 4-8. Aktivasnya dapat diimprovisasi dengan penggunaan paraben lainnya. Konsentrasinya dalam sediaan topikal ialah 0,01-0,6%. Sangat larut dalam aseton, larut 1:1,1 dalam etanol, 1: 2500 dalam air, 1:3,9 dalam propilen glikol (American Pharmaceutical Association, 1994).

2.6.8. Butylated Hydroxytoluene (BHT)

BHT digunakan sebagai antioksidan dalam kosmetik, makanan, dan farmasetika. Konsentrasi penggunaannya dalam sediaan topikal 0,0075-0,1%. BHT praktis tidak larut dalam air, gliserin, dan propilenglikol. Larut dalam aseton, benzene, etanol (95%), eter, metanol, toluene, minyak, dan paraffin cair. Meskipun

terdapat beberapa laporan terjadinya reaksi yang tidak diinginkan yaitu iritasi kulit, BHT tetap secara umum dikatakan sebagai bahan antioksidan yang tidak mengiritasi (American Pharmaceutical Association, 1994).

2.6.9. Karbopol 940

Karbomer atau yang biasa disebut dengan karbopol merupakan salah satu *gelling agent* yang digunakan dalam aplikasi farmasetika. Karbomer dapat digunakan juga sebagai agen pengemulsi, pensuspensi, pengisi tablet, atau peningkat viskositas. Karbomer sebagai *gelling agent* biasanya digunakan dalam konsentrasi berkisar antara 0,5 – 2%. Bahan ini merupakan bahan yang higroskopik, berwarna putih, bersifat asam (pH 2,7- 3,5 dalam 0,5% b/v air, dan pH 2,5-3 dalam 1% b/v dispersi air). Karbopol 940 merupakan grade yang memiliki viskositas tertinggi yaitu 40.000-60.000 sehingga digunakan sebagai *gelling agent* yang baik (American Pharmaceutical Association, 1994).

2.7. Uji Penetrasi *in vitro*

Studi penetrasi *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 variable formulasi lainnya (Witt & Bucks, 2003).

Salah satu cara metode *in vitro* untuk mengukur jumlah obat yang terpenetrasi melalui kulit yaitu dengan menggunakan sel difusi *Franz* yang terbagi atas dua kompartemen yaitu kompartemen donor dan kompartemen reseptor yang terpisahkan oleh suatu pelapis atau potongan kulit. Membran yang digunakan dalam uji penetrasi ini dapat digunakan membran berupa kulit manusia atau kulit hewan. Membran diletakkan di antara kedua kompartemen yang dilengkapi 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 (Walters & Brain, 2002; Fan, Mitchnick, & Loxley, 2007).



BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Lokasi dan Waktu

Penelitian dilaksanakan selama bulan Februari 2012 hingga Mei 2012 di Laboratorium Farmasetika, Laboratorium Farmasi Fisika, dan Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Kuantitatif Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.

3.2. Alat

Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1601, Jepang), pH-meter tipe 510 (Eutech Instrument, Singapura), homogenizer (Omni-Multimix Inc., Malaysia), sentrifugator (Kubota 5100, Jepang), oven (Mettler, Jerman), lemari pendingin (LG, Korea), Zetasizer Ver. 620 (Malvern Instrument Ltd), TEM (JEOL JEM 1400), tensiometer Du Nuoy (Cole Parmer Surface Tensiomat 21, Amerika Serikat), pengaduk magnetic (IKA, Jerman), timbangan analitik tipe 210-LC (ADAM, Amerika Serikat), sel difusi Franz dengan diameter 1,54 cm dan volume kompartemen reseptor 13 mL (Bengkel Gelas ITB, Indonesia), spuit 1 mL dan 5 mL (Terumo Corp., Filipina), silet Goal (The Gillette Company, Jerman), alat-alat bedah (Gold Cross, Australia), klem, selang, dan alat-alat gelas.

3.3. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak kurkumin 70% dari *Curcuma longa* L. (diperoleh dari PT. Insular Multi Natural, Indonesia), standar kurkumin (Merck, Jerman), Virgin Coconut Oil (diperoleh dari PT. Inti Bergas International Mulia, Indonesia), minyak kelapa sawit (Sanco), Tween 80, propilen glikol, asam oleat, etanol 96%, metil paraben, propil paraben, BHT, kalium

dihidroksi fosfat, natrium hidroksida (diperoleh dari PT. Brataco, Indonesia), karbopol 940 (diperoleh dari CV. Tristarc Chemical, Indonesia), metanol, aquadest, aquabidest, Hewan coba : Tikus betina galur Sprague-Dawley berumur 8-10 minggu (diperoleh dari Institut Pertanian Bogor, Indonesia).

3.4. Cara Kerja

3.4.1. Penggunaan Dosis

Dosis yang dipergunakan dalam penelitian ini mengacu pada dosis yang telah di uji secara klinis khasiat pengobatan yang dilakukan secara transdermal oleh peneliti sebelumnya. Dalam tiap sediaan, dosis kurkumin yang digunakan sebesar 1,5%.

3.4.1.1. Perhitungan dosis kurkumin dalam sediaan

Kurkumin yang digunakan dalam formula merupakan filtrat kurkumin dalam etanol 96%. Kurkumin 70% sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 100 mL etanol 96% kemudian disaring menggunakan milipore 0,45 μ m. Filtrat tersebut diencerkan hingga menjadi 4 ppm kemudian diukur serapannya. Serapan yang dihasilkan dimasukkan dalam kurva kalibrasi kurkumin standar dalam etanol 96% dan dihitung kadarnya. Filtrat kurkumin yang digunakan dalam formula ialah sebanyak dosis yang diinginkan yaitu 1,5% dibagi dengan kadar kurkumin sebenarnya didalam filtrat, dan dikalikan dengan jumlah sediaan yang diinginkan.

3.4.1.2. Pembuatan kurva kalibrasi kurkumin dalam pelarut etanol 96%

Standar kurkumin 97% ditimbang seksama sebanyak \pm 50 mg, kemudian dilarutkan dalam etanol 96% dalam labu tentukur sampai 100,0 mL. Didapat larutan dengan konsentrasi 500 ppm. Larutan tersebut dipipet 1,0 mL, dan dicukupkan volumenya sampai 50,0 mL sehingga didapatkan larutan konsentrasi 100 ppm. Dari

larutan 100 ppm, dibuat larutan dengan konsentrasi 2, 2,5, 3, 4, 5, dan 6 ppm. Kemudian larutan tersebut diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dan ditentukan panjang gelombang maksimumnya. Panjang gelombang (λ) maksimum kurkumin dalam etanol ditentukan dengan melakukan scanning pada panjang gelombang antara 200-600 nm. Serapan larutan-larutan tersebut diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum, kemudian dihitung persamaan regresi linearnya. Pada proses preparasi dan pengukuran serapan larutan standar dihindarkan dari cahaya.

3.4.2. Karakterisasi minyak kelapa sawit dan *Virgin Coconut Oil* (VCO)

3.4.2.1. Organoleptis minyak kelapa sawit dan VCO

Pemeriksaan organoleptis minyak kelapa sawit dan VCO dilakukan terhadap warna dan bau.

3.4.2.2. Pengukuran bobot jenis minyak kelapa sawit dan VCO

Bobot jenis diukur menggunakan piknometer. Pada suhu ruang, piknometer bersih dan kering ditimbang (A g). Selanjutnya, piknometer diisi dengan air dan ditimbang (A_1 g). Air dikeluarkan dari piknometer dan piknometer dibersihkan. Minyak kelapa sawit diisikan ke dalam piknometer dan ditimbang (A_2 g). hal tersebut diulangi terhadap VCO. Kemudian dilakukan juga terhadap campuran minyak kelapa sawit dan VCO. Keduanya ditimbang dengan perbandingan 1:1 kemudian diisi ke dalam piknometer seperti cara sebelumnya. Bobot jenis fase minyak diukur dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\boxed{\text{bobot jenis} = \left[\frac{A_2 - A}{A_1 - A} \right] \times 1 \text{ g/ml}} \quad (3.1)$$

3.4.2.3. Pengukuran tegangan permukaan minyak kelapa sawit dan VCO

Minyak kelapa sawit dimasukkan ke dalam wadah gelas hingga mencapai ketinggian 0,5 cm dari batas atas gelas. Wadah gelas diletakkan di atas meja sampel. Meja sampel digerakkan ke atas hingga cincin platinum iridium berada pada kedalaman 0,5 cm dari permukaan minyak. Putar *knob torsion* pada sisi kanan alat hingga angka 0 pada *knob torsion* sejajar dengan angka 0 pada *knob zero* yang terdapat di depan *knob torsion*. Motor ditekan ke posisi *Neutral* lalu diubah ke posisi *Up*. Cincin akan bergerak ke atas dan *knob zero* mulai berputar. *Knob zero* akan berhenti pada suatu angka yang akan menunjukkan tegangan permukaan minyak kelapa sawit (P). Percobaan ini dilakukan 3 kali. Angka yang dihasilkan (P) dikalikan dengan faktor koreksi (F) untuk menghasilkan tegangan permukaan yang *absolute* (S). percobaan yang sama dilakukan juga dalam penentuan tegangan permukaan VCO.

$$S = P \times F$$

(3.2)

3.4.2.4. Pengukuran tegangan antarmuka minyak kelapa sawit-air, VCO-air, dan minyak kelapa sawit-VCO-air.

Aquabidest dimasukkan ke dalam wadah gelas hingga mencapai ketinggian 1 cm dari dasar gelas. Minyak kelapa sawit dimasukkan ke dalam wadah gelas yang sama hingga mencapai ketinggian 1 cm dari permukaan aquabidest. Wadah gelas diletakkan di atas meja sampel. Meja sampel digerakkan ke atas hingga cincin platinum-iridium berada pada kedalaman 0,5 cm dari permukaan atas minyak. Putar *knob torsion* pada sisi kanan alat hingga angka 0 pada *knob torsion* sejajar dengan angka nol pada *knob zero* yang terdapat di depan *knob torsion*. Motor ditekan ke posisi *Neutral* lalu diubah ke posisi *Down*. Cincin akan bergerak ke bawah dan *knob zero* akan berputar. *Knob zero* akan berhenti pada suatu angka yang akan menunjukkan tegangan antarmuka minyak dan aquabidest. Percobaan ini dilakukan 3 kali. Angka yang dihasilkan (P) dikalikan dengan faktor koreksi (F) untuk

menghasilkan tegangan permukaan yang *absolute* (S). percobaan yang sama dilakukan untuk pengukuran tegangan antarmuka VCO dengan air, dan pada gabungan minyak kelapa sawit-VCO (perbandingan 1:1) dengan air.

$$S = P \times F$$

Faktor koreksi dapat dihitung dengan

$$F = 0,7250 + \sqrt{\frac{0,01452 \times P}{C^2(D - d)} + 0,04534} - \frac{1,679 \times r}{R} \quad (3.3)$$

Keterangan :

F : Faktor koreksi

R : Jari-jari cincin = 3 cm

r : Jari-jari kawat cincin = 0,007 inchi = 0,01778 cm

P : Angka yang ditunjukkan alat

D : Berat jenis fase yang di bawah

d : Berat jenis fase yang di atas

C : Keliling cincin $\rightarrow 2\pi r = 2 \times 3,14 \times 3\text{cm} = 18,84 \text{ cm}$

3.4.3. Pembuatan sediaan nanoemulsi kurkumin

Surfaktan dan aquadest dihomogenkan dengan homogenizer kecepatan 3000 rpm. Kemudian butilhidroksitoluen (BHT) dilarutkan ke dalam minyak kelapa sawit dan VCO. Selanjutnya dimasukkan asam oleat ke dalamnya, dan campuran ini disebut dengan fase minyak. Fase minyak ini kemudian ditambahkan ke dalam campuran surfaktan dan air atau disebut dengan fase air, lalu dihomogenkan. Metil paraben dan propil paraben dilarutkan dalam propilen glikol, kemudian ditambahkan ke dalam campuran bahan sebelumnya dan dihomogenkan. Setelah itu dimasukkan

ekstrak kurkumin dalam etanol yang telah diketahui kadarnya ke dalam campuran tersebut, dan sisa etanol yang dibutuhkan dalam sediaan ditambahkan ke dalamnya. Campuran bahan ini dihomogenkan selama kurang lebih 15 menit dalam suhu ruang dengan kecepatan 3000 rpm.

Pembuatan nanoemulsi melewati beberapa tahap percobaan pendahuluan untuk mendapatkan formulasi yang tepat dalam membentuk sediaan yang stabil. Konsentrasi fase minyak, kosurfaktan, dan bahan lainnya merupakan variabel tetap dimana konsentrasinya telah ditentukan dan tidak mengalami perubahan. Suhu dan kecepatan homogenizer juga tetap, yaitu pada kecepatan 3000 rpm dan dalam suhu ruang. Konsentrasi yang diubah ialah konsentrasi penggunaan surfaktan yaitu tween 80. Konsentrasi dimulai dari 20% hingga didapatkan konsentrasi penggunaan surfaktan yang tepat dimana membentuk sediaan nanoemulsi yang stabil. Komposisi bahan nanoemulsi yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Persentase komposisi bahan dalam nanoemulsi

Bahan	Konsentrasi (% b/v)
Tween 80	36
Minyak kelapa sawit <i>Virgin Coconut Oil (VCO)</i>	5
Asam Oleat	5
Propilenglikol	5
Ekstrak kurkumin 58% dalam etanol 96%	1,5
Etanol 96%	7,4
Metil paraben	0,3
Propil paraben	0,6
Butilhidroksitoluen (BHT)	0,1
Aquadest	ad 100

3.4.4. Pembuatan sediaan nanoemulsi gel kurkumin

Pembuatan nanoemulsi gel serupa dengan pembuatan nanoemulsi hanya saja ditambahkan ke dalamnya basis gel karbopol 940 untuk menambah kekentalan dan meningkatkan kenyamanan pada aplikasinya melalui kulit. Nanoemulsi dan basis gel dibuat terpisah, dimana komposisi nanoemulsi yang digunakan sama dengan komposisi nanoemulsi kurkumin sebelumnya.

3.4.4.1. Pembuatan basis gel karbopol 940

Karbopol 940 ditambahkan dengan sebagian jumlah aquadest hingga terdispersi seluruhnya dan dihomogenkan dengan homogenizer kecepatan 500 rpm hingga membentuk basis gel yang bening. Kemudian NaOH dilarutkan dalam aquadest yang tersisa dan dicampurkan ke dalam basis gel tersebut. NaOH diperlukan selain untuk menetralkan pH basis gel, juga untuk meningkatkan kekentalan dari gel itu sendiri. Campuran ini dihomogenkan dengan kecepatan 500 rpm selama ± 5 menit dalam suhu ruang.

Tabel 3.2. Persentase komposisi basis gel untuk nanoemulsi gel

Bahan	Konsentrasi (% b/v)
Karbopol 940	4
NaOH	1,6
Aquadest	ad 100

3.4.4.2. Pembuatan nanoemulsi gel

Pembuatan nanoemulsi gel dimulai dengan pembuatan nanoemulsi terlebih dahulu menggunakan formulasi yang sama dengan pembuatan nanoemulsi kurkumin. Hanya saja persentase aquadest berkurang dengan ditambahkan basis gel ke

dalam formulasi tersebut. Nanoemulsi dibuat terlebih dahulu, kemudian dicampurkan ke dalam basis gel. Persentase masing-masing bahan dapat dilihat pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3. Persentase komposisi bahan dalam sediaan nanoemulsi gel

Bahan	Konsentrasi (% b/v)
Tween 80	36
Minyak kelapa sawit <i>Virgin Coconut Oil (VCO)</i>	5
Asam Oleat	5
Propilenglikol	5
Ekstrak kurkumin 58% dalam etanol 96%	1,5
Etanol 96%	7,4
Metil paraben	0,3
Propil paraben	0,6
Butilhidroksitoluen (BHT)	0,1
Basis gel	20
Aquadest	ad 100

3.4.5. Pembuatan sediaan emulgel kurkumin

Pembuatan emulgel kurkumin serupa dengan pembuatan nanoemulsi gel kurkumin. Emulsi dan basis gel dibuat terpisah terlebih dahulu kemudian dicampurkan dan dihomogenkan dengan homogenizer kecepatan 2000 rpm. Dalam hal ini, emulsi yang dibuat memiliki komposisi yang berbeda pada komposisi nanoemulsi kurkumin, dan cara pembuatannya juga berbeda. Pembuatan emulsi menggunakan pemanasan hingga kedua fase yaitu fase minyak dan fase air memiliki suhu yang cukup tinggi yaitu 70°C

3.4.5.1. Pembuatan basis gel karbopol 940

Karbopol 940 dibasahi dengan aquadest hingga terdispersi seluruhnya dan dihomogenkan dengan homogenizer kecepatan 500 rpm hingga membentuk basis gel yang bening. Kemudian NaOH dilarutkan dalam aquadest dan dicampurkan ke dalam basis gel tersebut. NaOH diperlukan selain untuk menetralkan pH basis gel, juga untuk meningkatkan kekentalan dari gel itu sendiri. Campuran ini dihomogenkan dengan kecepatan 500 rpm selama ± 5 menit dalam suhu ruang.

Tabel 3.4. Persentase komposisi basis gel untuk emulsi gel

Bahan	Konsentrasi (% b/v)
Karbopol 940	2
NaOH	0,8
Aquadest	ad 100

3.4.5.2. Pembuatan emulsi kurkumin

Surfaktan dan aquadest dipanaskan hingga mencapai suhu 70°C. Butilhidroksitoluen (BHT) dilarutkan ke dalam minyak kelapa sawit dan VCO kemudian dipanaskan hingga mencapai suhu 70°C. Selanjutnya dimasukkan asam oleat ke dalamnya, dan campuran ini disebut dengan fase minyak. Surfaktan dan aquadest yang telah dipanaskan disebut dengan fase air, kemudian dihomogenkan dengan homogenizer kecepatan 1500 rpm. Fase minyak kemudian ditambahkan ke dalam campuran fase air tersebut lalu dihomogenkan. Metil paraben dan propil paraben dilarutkan dalam propilen glikol, kemudian ditambahkan ke dalam campuran bahan sebelumnya dan dihomogenkan. Setelah itu dimasukkan filtrat kurkumin dalam etanol yang telah diketahui kadarnya ke dalam campuran tersebut, dan sisa etanol yang dibutuhkan dalam sediaan ditambahkan ke dalamnya. Campuran bahan ini dihomogenkan selama kurang lebih 15 menit dengan kecepatan 1500 rpm.

Pembuatan emulsi kurkumin menggunakan bahan-bahan yang sama dengan nanoemulsi dan nanoemulsi gel, konsentrasi penggunaannya juga sama kecuali konsentrasi penggunaan surfaktan. Dilakukan percobaan pendahuluan hingga ditentukan konsentrasi penggunaan surfaktan untuk dimasukkan ke dalam formula. Konsentrasi penggunaan surfaktan dibuat dari konsentrasi 10% hingga terbentuk sediaan emulsi yang stabil. Komposisi bahan dalam pembuatan emulsi kurkumin dapat dilihat pada Tabel 3.5.

Tabel 3.5. Persentase komposisi bahan dalam emulsi kurkumin

Bahan	Konsentrasi (% b/v)
Tween 80	15
Minyak kelapa sawit <i>Virgin Coconut Oil (VCO)</i>	5
Asam Oleat	5
Propilenglikol	5
Ekstrak kurkumin 58% dalam etanol 96%	1,5
Etanol 96%	7,4
Metil paraben	0,3
Propil paraben	0,6
Butilhidroksitoluen (BHT)	0,1
Aquadest	ad 100

3.4.5.3. Pembuatan emulgel kurkumin

Emulsi kurkumin yang telah dibuat dicampurkan perlahan ke dalam basis gel yang telah dibuat dan dihomogenkan dengan homogenizer kecepatan 2000 rpm selama \pm 15 menit pada suhu ruang.

Tabel 3.6. Persentase komposisi bahan dalam emulsi gel kurkumin

Bahan	Konsentrasi (% b/v)
Tween 80	15
Minyak kelapa sawit <i>Virgin Coconut Oil (VCO)</i>	5
Asam Oleat	5
Propilenglikol	5
Ekstrak kurkumin 58% dalam etanol 96%	2,6
Etanol 96%	7,4
Metil paraben	0,3
Propil paraben	0,6
Butilhidroksitoluen (BHT)	0,1
Basis gel	25
Aquadest	ad 100

3.4.6. Evaluasi fisik

3.4.6.1. Organoleptis

Sediaan nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulgel diamati terjadinya perubahan warna, perubahan bau, pemisahan fase atau pecahnya sediaan, dan kejernihan.

3.4.6.2. Pengukuran pH

Pengukuran pH dilakukan menggunakan pH-meter. Mula-mula elektroda dikalibrasi dengan dapar standar pH 4 dan pH 7. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam sediaan. Nilai pH yang muncul di layar kemudian dicatat. Pengukuran dilakukan pada suhu ruang.

3.4.6.3. Pengukuran bobot jenis (Departemen Kesehatan RI, 1995)

Bobot jenis diukur menggunakan piknometer. Pada suhu ruang, piknometer bersih dan kering ditimbang (A g). Selanjutnya, piknometer diisi dengan air dan ditimbang (A_1 g). Air dikeluarkan dari piknometer dan piknometer dibersihkan. Nanoemulsi diisikan ke dalam piknometer dan ditimbang (A_2 g). Bobot jenis nanoemulsi diukur dengan perhitungan seperti pada persamaan 3.1. Hal yang sama dilakukan untuk menghitung bobot jenis pada nanoemulsi gel dan emulsi gel kurkumin.

3.4.6.4. Pengukuran tegangan permukaan

Sediaan dimasukkan ke dalam wadah gelas hingga mencapai ketinggian 0,5 cm dari batas atas gelas. Wadah gelas diletakkan di atas meja sampel. Meja sampel digerakkan ke atas hingga cincin platinum iridium berada pada ke dalaman 0,5 cm dari permukaan sediaan. Tegangan permukaan dari sediaan dihitung berdasarkan perhitungan seperti Persamaan 3.2.

3.4.6.5. Pengukuran viskositas

Sediaan dimasukkan ke dalam gelas piala sampai mencapai volume 350 mL lalu spindle 1 dimasukkan ke dalam mikroemulsi hingga batas yang ditentukan. Pengukuran dilakukan dengan viskometer Brookfield dengan kecepatan 0,5, 1, 2, 2,5, 4, 10, 20 rpm. Pengamatan viskositas dilakukan selama 6 minggu pada minggu 0 dan 6. Data yang diperoleh diplotkan terhadap tekanan geser (dyne/cm^2) dan kecepatan geser (rpm) hingga akan di dapat sifat aliran (rheology).

3.4.6.6. Pemeriksaan tipe nanoemulsi

Pemeriksaan tipe nanoemulsi dilakukan dengan menaburkan zat warna larut air, yaitu biru metilen. Jika nanoemulsi merupakan tipe minyak dalam air maka zat

warna biru metilen akan melarut di dalamnya dan berdifusi merata ke seluruh bagian dari air. Jika nanoemulsi merupakan tipe air dalam minyak maka globul-globul zat warna biru metilen akan bergerombol pada permukaannya.

3.4.6.7. Pengukuran distribusi ukuran globul sediaan

Ukuran globul nanoemulsi diukur dengan menggunakan alat Zetasizer Nano S (Malvern). Sampel nanoemulsi sebanyak 1 gram dilarutkan dalam 100 gram *ultra pure water* di dalam *beaker glass* atau labu ukur. Sejumlah 10 mL larutan tersebut diambil dan dimasukkan ke dalam kuvet. Kuvet yang digunakan harus bersih dari busa dan lemak. Jika terdapat lemak, kuvet dibersihkan dengan toluene atau pelarut lain yang dapat melarutkan lemak. Kuvet yang telah diisi sampel dimasukkan ke dalam *sample holder*. Alat dinyalakan dan dipilih menu *particle size*. Alat akan mengukur sampel selama 15 menit. Setelah 15 menit, alat akan menghasilkan ukuran globul dan kurva distribusi. Kuvet harus dibersihkan kembali dan bebas lemak.

3.4.6.8. Morfologi Sediaan

Morfologi sediaan diukur menggunakan *Transmission Electron Microscopy* (TEM). Preparasi sampel dilakukan dengan cara meneteskan 3 tetes sampel dan 1 tetes ammonium asetat dan 1 tetes ammonium molybdat dan diaduk sampai homogen kemudian diteteskan diatas *cooper grid*, ditunggu hingga kering kemudian dianalisis dengan TEM.

3.4.7. Uji stabilitas fisik

3.4.7.1. Penyimpanan pada suhu rendah

Sampel nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulgel kurkumin disimpan pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 6 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis

(perubahan warna, bau, pemisahan fase, kejernihan) dan pengukuran pH, dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali.

3.4.7.2. Penyimpanan pada suhu kamar

Sampel nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel disimpan pada suhu kamar ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 6 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, pemisahan fase, kejernihan) dan pengukuran pH, dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali. Pengukuran viskositas dan ukuran globul dilakukan pada minggu awal dan akhir.

3.4.7.3. Penyimpanan pada suhu tinggi

Sampel nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulgel kurkumin disimpan pada suhu rendah ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 6 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, pemisahan fase, kejernihan) dan pengukuran pH, dengan pengamatan setiap 2 minggu sekali.

3.4.7.4. *Cycling test*

Cycling test menggunakan perubahan suhu dan atau kelembaban pada interval waktu tertentu sehingga produk dalam kemasan akan mengalami tekanan yang bervariasi daripada tekanan statis yang kadang-kadang lebih parah daripada penyimpanan hanya dalam satu kondisi saja. Setelah sampel melewati 6 siklus, dimana 1 siklusnya disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam, lalu dipindahkan ke oven bersuhu $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Diamati perubahan fisik yang terjadi. Jika tidak terjadi pemisahan fase berarti sediaan tersebut dinyatakan stabil secara fisik dan dapat dibawa ke daerah yang suhunya $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ dan 4°C .

3.4.7.5. Uji sentrifugasi (Uji mekanik)

Sampel nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel kurkumin dimasukkan dalam tabung sentrifugasi kemudian dimasukkan ke dalam sentrifugator dengan kecepatan putaran 3800 rpm selama 5 jam. Hasil perlakuan tersebut ekuivalen dengan efek gravitasi selama satu tahun. Kondisi fisik sediaan dibandingkan setelah percobaan dengan kondisi fisik sediaan sebelumnya.

3.4.8. Penetapan kadar dan uji perolehan kembali (UPK) kadar kurkumin dalam sediaan

Penetapan kadar dilakukan untuk mengetahui kadar kurkumin sebenarnya di dalam sediaan, sedangkan uji perolehan kembali (UPK) dilakukan untuk mengetahui berapa persentase yang didapat dari kadar yang dimasukkan pada sediaan dengan kadar yang didapat ketika diukur kembali.

3.4.8.1. Pembuatan kurva kalibrasi kurkumin dalam pelarut metanol

Standar kurkumin ditimbang seksama sebanyak $\pm 50,0$ mg, kemudian dilarutkan dalam metanol dalam labu tentukur sampai 50,0 mL. Didapat larutan dengan konsentrasi 1000 ppm. Larutan tersebut, dipipet 1,0 mL, dan diencerkan dengan metanol dan dicukupkan volumenya sampai 100,0 mL sehingga didapatkan larutan dengan konsentrasi 10 ppm. Dari larutan 10 ppm, diencerkan menjadi larutan dengan konsentrasi 1,5, 2, 2,5, 3, 4, 5, dan 6 ppm. Larutan dengan konsentrasi tersebut kemudian diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dalam panjang gelombang maksimumnya. Panjang gelombang (λ) maksimum kurkumin dalam metanol, ditentukan dengan melakukan *scanning* pada panjang gelombang antara 200-600 nm. Serapan larutan-larutan tersebut diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum, kemudian dihitung persamaan regresi linearnya.

3.4.8.2. Penetapan kadar kurkumin dalam sediaan

Sediaan ditimbang secara seksama sebanyak $\pm 1,0$ gram, kemudian dilarutkan dengan metanol dalam tabung sentrifuse hingga 10,0 mL. Larutan tersebut di sentrifuse selama 5 menit pada kecepatan 3000 rpm. Filtrat metanol yang mengandung kurkumin dipipet dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 100,0 mL. Hal ini dilakukan berulang hingga filtrat metanol sudah tidak berwarna kuning. Kemudian metanol ditambahkan hingga batas labu tentukur 100,0 mL. Larutan tersebut diukur serapannya, dan dihitung konsentrasi sebenarnya melalui persamaan kurva kalibrasi kurkumin standar dalam metanol. Dari konsentrasi yang didapat kemudian dihitung kadarnya.

3.4.8.3. Uji perolehan kembali (UPK)

Sediaan ditimbang secara seksama sebanyak $\pm 1,0$ g, kemudian dilarutkan dengan metanol dalam tabung sentrifuse hingga 10,0 mL. kemudian di sentrifuse selama 5 menit pada kecepatan 3000 rpm. Filtrat metanol yang mengandung kurkumin dipipet dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 100,0 mL. Hal ini dilakukan berulang hingga filtrat metanol sudah tidak berwarna kuning. Kemudian metanol ditambahkan hingga batas labu tentukur 100,0 mL. Larutan tersebut kemudian diukur serapannya, dan dihitung perolehan kembali dari persentase kurkumin dalam sediaan.

3.4.9. Uji penetrasi *in vitro* kurkumin dalam sediaan

3.4.9.1. Pembuatan dapar fosfat pH 7,4

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 aquadest bebas karbondioksida, kemudian pH dapar dilihat dengan pH-meter pada nilai 7,4 (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

3.4.9.2. Pembuatan kurva kalibrasi kurkumin dalam dapar fosfat pH 7,4

Kurkumin standar ditimbang secara seksama sebanyak $\pm 50,0$ mg dimasukkan ke dalam labu tentukur 50,0 mL lalu dilarutkan dalam metanol dan dicukupkan volumenya. Didapat larutan dengan konsentrasi 1000 ppm. Kemudian dipipet sebanyak 1,0 mL larutan tersebut dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 100,0 mL lalu dicukupkan volumenya dengan dapar fosfat pH 7,4. Dari larutan tersebut didapat konsentrasi 10 ppm. Larutan tersebut selanjutnya diencerkan dengan dapar fosfat pH 7,4 sehingga didapat larutan dengan konsentrasi dari 0,1 ppm sampai 0,9 ppm. Masing-masing konsentrasi diukur serapannya pada panjang gelombang maksimumnya. Panjang gelombang (λ) maksimum kurkumin dalam dapar fosfat pH 7,4 ditentukan dengan melakukan *scanning* pada panjang gelombang antara 200-600 nm. Setelah didapat serapan pada masing-masing konsentrasi kemudian dihitung persamaan regresi linearnya.

3.4.9.3. Uji penetrasi

Membran yang digunakan adalah membran abdomen kulit tikus usia 8-10 minggu. Tikus dibius dengan eter hingga mati dan bulu tikus pada bagian abdominal dicukur hati-hati. 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 larutan dapar fosfat pH 7,4 kemudian disimpan dalam suhu 4°C. Kemudian kompartemen reseptor diisi dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 sekitar 13 mL yang dijaga suhunya sekitar $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ serta diaduk dengan pengaduk magnetik pada kecepatan 300 rpm. Setelah itu, kulit abdomen tikus diletakkan diantara kompartemen donor dan kompartemen reseptor dengan sisi dermal berhubungan langsung dengan medium reseptor. Sampel ditimbang seksama sebanyak $\pm 1,0$ g kemudian diaplikasikan pada permukaan kulit. Kemudian ambil sampel pada menit ke- 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, dan 480 sebanyak 0,5

mL dari kompartemen reseptor dengan menggunakan *syringe* dan larutan dapar fosfat pH 7,4 segera ditambahkan sejumlah volume yang sama dengan volume yang diambil. Kemudian, sampel dimasukkan ke dalam labu tentukur 5,0 mL dan dicukupkan volume dengan larutan dapar fosfat pH 7,4. Sampel diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum kurkumin dengan spektrofotometer UV-Vis. Percobaan dilakukan sebanyak tiga kali.

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

$$Q = \frac{\{C_n \cdot V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \cdot S\}}{A} \quad (3.4)$$

Keterangan :

- Q = Jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi per luas area difusi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
 C_n = Konsentrasi kurkumin ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pada *sampling* menit ke- n
 V = Volume sel difusi Franz
 $\sum_{i=1}^{n-1} C_i$ = Jumlah konsentrasi kurkumin ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pada *sampling* pertama (menit ke-30) hingga sebelum menit ke-n
 S = Volume *sampling* (0,5 mL)
 A = Luas area membran

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

$$J = \frac{M}{S \times t} \quad (3.5)$$

Keterangan:

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

M = Jumlah kumulatif kurkumin yang melalui membran (μg)
S = Luas area difusi (cm^2)
t = Waktu (jam)

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



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Karakterisasi Minyak Kelapa Sawit dan *Virgin Coconut Oil* (VCO)

Karakterisasi minyak kelapa sawit dan VCO dilakukan melalui pemeriksaan terhadap organoleptis meliputi pemeriksaan warna dan bau, pengukuran bobot jenis menggunakan piknometer, dan pengukuran tegangan permukaan menggunakan tensiometer Du Nuoy. Hasil karakterisasi terhadap minyak kelapa sawit dan VCO dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel 4.1. Hasil karakterisasi minyak kelapa sawit dan VCO

Bahan	Organoleptis		Bobot jenis (g/ml)	Tegangan permukaan (dyne/cm)	Tegangan antarmuka (dyne/cm)
	Warna	Bau			
Minyak kelapa sawit	Kuning hingga jingga	Minyak kelapa sawit	0,9074	35,7917	9,5902
<i>Virgin Coconut Oil</i> (VCO)	Tidak berwarna	Minyak kelapa	0,9389	28,8579	13,5155

4.2. Formulasi dan Pembuatan Nanoemulsi, Nanoemulsi Gel, dan Emulsi Gel Kurkumin

Pada penelitian ini untuk mendapatkan formulasi nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel dilakukan percobaan pendahuluan terlebih dahulu. Percobaan pendahuluan dilakukan untuk menentukan konsentrasi surfaktan dan komposisi lain yang tepat sehingga menghasilkan sediaan nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel yang stabil.

4.2.1. Pembuatan nanoemulsi kurkumin

Pada percobaan pendahuluan pembuatan nanoemulsi kurkumin, terlebih dahulu ditentukan konsentrasi minyak, dan kosurfaktan yang diinginkan dalam formulasi. Setelah itu ditentukan konsentrasi penggunaan surfaktan yang dibutuhkan untuk pembentukan nanoemulsi kurkumin yang jernih dan stabil. Konsentrasi minyak dan kosurfaktan yang diinginkan dalam formulasi ialah 10%. Oleh karena itu ditentukan konsentrasi dari penggunaan surfaktan untuk membentuk sediaan nanoemulsi. Cui Li melakukan percobaan pembuatan mikroemulsi kurkumin dengan menggunakan fase minyak sebesar 12,5%, sedangkan penggunaan surfaktan dan kosurfaktan berturut-turut 57,5 dan 30% (Harwansh, Patra, & Pareta, 2011).

Konsentrasi surfaktan yang digunakan pada awalnya ialah 20%, namun dalam konsentrasi tersebut belum dapat menstabilkan emulsi yang terbentuk sehingga terjadi *creaming*. Kemudian konsentrasi surfaktan ditingkatkan menjadi 25%, namun masih belum stabil, oleh karena itu ditingkatkan menjadi 30, 35, dan 40%. Pada konsentrasi 30 dan 35% belum tercapai kestabilan nanoemulsi, namun pada konsentrasi 40% nanoemulsi terbentuk dan stabil. Dari konsentrasi tersebut ditentukan lagi titik kritis dimana nanoemulsi tepat terbentuk. Dengan penambahan surfaktan 35% nanoemulsi yang terbentuk tidak jernih dan belum stabil, kemudian dilakukan percobaan dengan penambahan surfaktan 37%, dan hasilnya nanoemulsi kurkumin dapat terbentuk jernih dan stabil. Kemudian ditentukan lagi pada konsentrasi 36% surfaktan, dan menghasilkan nanoemulsi yang jernih dan stabil. Maka konsentrasi penggunaan surfaktan yang dipilih ialah 36%. Sebelumnya tanpa adanya penambahan asam oleat sebagai *enhancer*, dengan konsentrasi 45% surfaktan belum dapat menstabilkan nanoemulsi dengan konsentrasi penggunaan minyak 10%. Sehingga dapat dikatakan bahwa asam oleat dapat menurunkan konsentrasi penggunaan surfaktan tunggal dalam menstabilkan nanoemulsi. Hal ini dimungkinkan karena asam oleat sendiri bersifat sebagai *emulsifying agent* (American Pharmaceutical Association, 1994).

Surfaktan yang digunakan dalam formulasi nanoemulsi ini dipilih berdasarkan perhitungan HLB dari surfaktan dan minyak yang digunakan dalam formula (perhitungan tertera dalam lampiran). Surfaktan yang digunakan ialah

Tween 80, yaitu golongan surfaktan non ionik yang toksisitasnya rendah, tidak mengiritasi kulit, dan memiliki HLB 15 (American Pharmaceutical Association, 1994).

Dalam sediaan nanoemulsi, minyak yang diinginkan ialah minyak kelapa sawit. Namun dengan penggunaan minyak kelapa sawit dapat membuat sediaan nanoemulsi membeku pada suhu 4°C. Hal ini dikarenakan komponen dalam minyak kelapa sawit mengandung asam lemak jenuh yang tinggi. Semakin banyak komponen asam lemak jenuh maka semakin tinggi titik beku atau titik cair tersebut (Pasaribu, 2004). Oleh karena itu, penggunaan minyak kelapa sawit dikombinasikan dengan penggunaan *Virgin Coconut Oil* (VCO). Dengan adanya penambahan VCO ini diharapkan sediaan tidak membeku, karena VCO mengandung *Medium Chain Triglycerides* (MCT) atau asam lemak rantai menengah dimana MCT ini sangat stabil pada suhu yang sangat rendah dan tinggi (Syah & Sumangat, 2005). Penggunaan minyak dalam nanoemulsi sebanyak 10% dengan perbandingan 1:1 antara minyak kelapa sawit dan *Virgin Coconut Oil* (VCO). Pada perbandingan ini sediaan yang dihasilkan tidak membeku pada suhu 4°C sehingga penggunaannya sudah tepat.

Pada pembuatan nanoemulsi dibutuhkan juga kosurfaktan sebagai pembantu surfaktan dalam menurunkan tegangan permukaan sehingga nanoemulsi yang terbentuk stabil. Kosurfaktan yang digunakan dalam formula ialah etanol 96%. Etanol merupakan salah satu kosurfaktan yang sering digunakan dalam pembuatan nanoemulsi maupun mikroemulsi (Shah, 2010). Pemilihan etanol selain sebagai kosurfaktan juga untuk membantu kelarutan kurkumin yang akan digunakan. Hal ini disebabkan kurkumin yang digunakan ialah kurkumin 70% dan terdapat pengisi yaitu laktosa didalamnya. Sehingga akan menyulitkan dalam pelarutan kurkumin dalam sediaan. Oleh karena itu dibuat terlebih dahulu larutan stok kurkumin dalam etanol 96% yang telah terukur kadarnya.

Penggunaan propilen glikol dalam sediaan dimaksudkan untuk meningkatkan aktivitas bahan pengawet yaitu metil paraben dan propil paraben, dan juga membantu untuk melarutkan keduanya. Hal ini disebabkan karena pengawet golongan paraben dapat menurun aktivitasnya apabila berinteraksi dengan surfaktan non ionik. Sehingga dibutuhkan propilenglikol dengan

konsentrasi 2-5% untuk meningkatkan aktivitasnya (American Pharmaceutical Association,1994). Selain itu, ditingkatkan pula konsentrasi penggunaan metil paraben dan propil paraben dalam sediaan agar efikasinya dapat maksimal, namun tetap dalam konsentrasi penggunaan yang diperbolehkan.

Dalam upaya mencegah terjadinya oksidasi minyak dan juga kurkumin dalam sediaan, maka digunakan antioksidan yaitu butilhidroksitoluen (BHT) dalam formula. Penggunaan BHT dalam sediaan sudah tepat dan dapat bekerja cukup baik sehingga sediaan tampak stabil dilihat dari penampilan fisiknya, karena apabila sediaan teroksidasi warnanya akan berubah dari tampilan sebelumnya.

Setelah formula nanoemulsi ditentukan, maka selanjutnya dibuat sediaan nanoemulsi gel dan emulsi gel untuk membandingkan ketiga sediaan tersebut dari segi tampilan fisik, ukuran globul, dan uji penetrasinya.

4.2.2. Pembuatan nanoemulsi gel

Proses pembuatan nanoemulsi gel sedikit berbeda dari nanoemulsi kurkumin. Dalam formulasi ini ditambahkan *gelling agent* yaitu karbopol 940, dan formula nanoemulsi tetap digunakan seperti formulasi nanoemulsi kurkumin sebelumnya. Awal pembuatannya dibuat dengan menambahkan sekitar 0,5% karbopol 940 ke dalam formulasi nanoemulsi, dan air yang digunakan untuk membentuk basis gel ialah setengah dari persentase air yang tersisa dalam formula nanoemulsi. Namun hasil yang didapat ialah nanoemulsi gel yang kurang kental, dan kurang homogen karena pencampurannya sulit dilakukan.

Oleh karena kekentalan nanoemulsi gel masih kurang, maka ditingkatkan konsentrasi penggunaan karbopol 940 menjadi 1, 1,5, dan 2%. Cara pembuatan sama dengan pembuatan sebelumnya, yaitu dengan menggunakan setengah dari persentase air dalam formula nanoemulsi kurkumin untuk pembuatan basis gel. Karbopol 940 dibasahi dengan air hingga basis gel terbentuk, kemudian NaOH dilarutkan dalam air dan ditambahkan ke dalam basis karbopol dan dihomogenkan hingga terbentuk basis gel. Hasil dari ketiga variasi konsentrasi tersebut menunjukkan bahwa penambahan basis gel ke dalam nanoemulsi kurkumin

dengan cara tersebut kurang baik. Hal ini disebabkan karena dalam pembuatan basis gel, air yang digunakan tidak cukup banyak sehingga karbopol sulit terbasahi seluruhnya dan hasilnya ialah basis gel yang kurang jernih dan kurang homogen. Sehingga pada penambahan nanoemulsi ke dalamnya sangat sulit dilakukan hingga pencampuran kedua sistem tersebut menjadi homogen. Selain itu, terlihat adanya pemisahan antara basis gel dengan nanoemulsi setelah sediaan didiamkan semalam. Hal ini disebabkan karena pencampuran antara keduanya belum homogen dan menjadi tidak stabil.

Pada proses pembuatan selanjutnya dilakukan dengan membuat kedua sistem yaitu nanoemulsi dan basis gel secara terpisah. Basis gel dibuat terlebih dahulu dengan variasi konsentrasi penggunaan karbopol 940 dimulai dari 1, 2, 3, dan 4%, masing – masing dinetralkan dengan NaOH 0,4, 0,8, 1,2, dan 1,6%, kemudian digunakan air untuk mendispersikan karbopol dan melarutkan NaOH sebanyak sisa konsentrasi penggunaan formula masing-masing. Cara pembuatan basis gel serupa dengan sebelumnya, yaitu mendispersikan karbopol ke dalam air hingga seluruhnya terbasahi dan membentuk basis yang jernih. Kemudian NaOH yang telah dilarutkan dalam air ditambahkan ke dalamnya sehingga kekentalan basis gel meningkat. Pada pembuatan basis gel ini diusahakan homogen dalam pencampuran NaOH ke dalam karbopol, karena apabila tidak homogen NaOH dapat membuat larutan nanoemulsi yang akan dimasukkan ke dalam basis gel menjadi merah akibat interaksi kurkumin dengan basa kuat.

Pembuatan nanoemulsi dilakukan bervariasi sesuai dengan jumlah basis gel yang ingin dimasukkan ke dalamnya. Pertama, dibuat nanoemulsi dengan persentase basis gel karbopol 1% sebanyak 10%, maka konsentrasi penggunaan air yang digunakan dalam pembuatan nanoemulsi dikurangi dengan 10% basis gel. Namun nanoemulsi gel yang terbentuk masih cair. Percobaan pendahuluan ini dilakukan dengan menambahkan konsentrasi basis gel pada formula nanoemulsi hingga ditentukan formula yang tepat. Variasi konsentrasi penggunaan basis gel ke dalam formula dimulai dari 10, 15, dan 20%.

Formula yang digunakan ialah formula nanoemulsi dengan persentase basis gel 20% dari karbopol 4%. Dalam formula ini kekentalan yang didapat tidak terlalu tinggi sehingga sediaan masih bisa mengalir, namun memiliki kekentalan

yang lebih tinggi dibandingkan dengan nanoemulsi sebelumnya. Selain itu, metode pembuatan seperti ini membuat pencampuran antara kedua sistem lebih homogen dan stabil sehingga tidak terjadi pemisahan antara basis gel dan nanoemulsi dalam sediaan.

Penggunaan karbopol 940 dalam formula sudah tepat karena memiliki kekentalan yang baik, terbentuk kejernihan yang sangat baik dan juga memiliki viskositas yang lebih tinggi dibandingkan tipe karbopol yang lainnya, yaitu memiliki viskositas 40.000-60.000 cps (American Pharmaceutical Association, 1994).

4.2.3. Pembuatan emulsi gel

Pembuatan emulsi gel serupa dengan pembuatan nanoemulsi gel, hanya saja digunakan konsentrasi surfaktan yang lebih rendah karena emulsi yang diinginkan tidak perlu memiliki ukuran globul yang sangat kecil dan juga tidak memiliki tampilan yang transparan seperti nanoemulsi.

Percobaan pendahuluan dimulai dengan penentuan konsentrasi minimum untuk menstabilkan emulsi yang terbentuk. Variasi konsentrasi penggunaan surfaktan dimulai dari 10%, sedangkan komponen lain seperti minyak, propilen, etanol, dan asam oleat serta bahan pengawet dan antioksidan tetap digunakan dalam konsentrasi yang sama seperti nanoemulsi. Hal ini untuk menghindari bias antara perbandingan uji penetrasi diantara ketiga sediaan.

Pada konsentrasi 10% surfaktan belum mampu menstabilkan sistem emulsi sehingga terbentuk *creaming*, ketika ditingkatkan menjadi 15% emulsi stabil terbentuk. Kemudian ditambahkan basis gel seperti cara pembuatan nanoemulsi gel. Basis gel yang dibuat menggunakan karbopol dengan konsentrasi 2% kemudian basis tersebut dicampurkan dengan emulsi yang telah dibuat sebelumnya. Banyaknya basis gel yang ditambahkan ke dalam formula emulsi yaitu 25%.

Fase minyak dan air pada pembuatan emulsi memerlukan pemanasan terlebih dahulu hingga mencapai suhu 70°C. Hal ini dikarenakan suhu dapat

membantu menurunkan tegangan antarmuka diantara kedua fase sehingga emulsi dapat terbentuk.

4.3. Evaluasi Nanoemulsi, Nanoemulsi Gel, dan Emulsi Gel.

Evaluasi nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel dilakukan untuk membandingkan keadaan ketiga sediaan tersebut pada minggu ke-0 setelah sediaan dibuat, dan juga minggu terakhir diamati.

Hasil evaluasi pada minggu ke-0, meliputi:

4.3.1. Pengamatan organoleptis

Nanoemulsi menghasilkan warna jingga dan jernih (Pantone 145 C), nanoemulsi gel jingga keruh (Pantone 124 C), sedangkan emulsi gel menghasilkan warna kuning terang (Pantone 3945 C). bau dari ketiga sediaan tersebut didominasi oleh bau tween 80, selain itu ketiganya tidak menunjukkan adanya pemisahan fase.

4.3.2. Pengukuran pH

pH yang diinginkan dalam sediaan yaitu pH yang berada dalam kisaran pH kulit, yaitu antara 4,5-6,5. pH tidak boleh terlalu asam karena dapat mengiritasi kulit, dan juga tidak boleh terlalu basa karena dapat menyebabkan kulit bersisik. pH ketiga sediaan dapat dilihat dalam tabel berikut:

Tabel 4.2. Pengukuran pH sediaan minggu ke-0

Sediaan	pH
Nanoemulsi	5,37
Nanoemulsi gel	5,48
Emulsi gel	5,87

Ketiga formula tersebut menghasilkan pH dalam rentang pH kulit, yaitu antara 4,5-6,5.

4.3.3. Pengukuran bobot jenis

Pada pengukuran bobot jenis menggunakan piknometer, ketiga formula menunjukkan hasil yang bervariasi. Pada nanoemulsi kurkumin, menghasilkan bobot jenis yang lebih kecil dibandingkan nanoemulsi gel dan emulsi gel. Hal ini mungkin disebabkan karena komposisi dari nanoemulsi kurkumin yang tidak menggunakan basis gel didalamnya. Hasil pengukuran bobot jenis terhadap formula nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel dapat dilihat dari tabel berikut ini:

Tabel 4.3. Hasil pengukuran bobot jenis

Sediaan	Bobot jenis (g/ml)
Nanoemulsi	1,0107
Nanoemulsi gel	2,3905
Emulsi gel	2,3181

4.3.4. Pemeriksaan tipe nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel

Pada pemeriksaan tipe sediaan nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel dengan meneteskan biru metilen pada masing-masing sediaan. Setelah diamati, metilen biru tersebut terdispersi merata ke dalam sediaan, Hal ini menunjukkan bahwa ketiga sediaan memiliki tipe emulsi minyak dalam air (m/a). Hasil tersebut sesuai dengan yang diinginkan, karena basis emulsi tipe m/a mudah dihilangkan dari kulit (Sinko,2011) selain itu HLB dari minyak dan surfaktan yang digunakan juga sesuai untuk pembentukan tipe emulsi m/a. Hal ini disebabkan sebagian besar dari komponen yang terdapat di dalam formula bersifat hidrofilik atau polar sehingga walaupun terdapat komponen yang bersifat hidrofob, tipe nanoemulsi

maupun emulsi dari sediaan bersifat minyak dalam air (m/a). Pemeriksaan tipe nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel dapat dilihat pada lampiran.

4.3.5. Pengukuran viskositas

Nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel diukur viskositasnya menggunakan viskometer Brookfield. Dari ketiga sediaan tersebut menghasilkan viskositas yang bervariasi. Nanoemulsi memiliki viskositas yang lebih rendah dari nanoemulsi gel walaupun perbedaannya tidak terlalu besar. Sedangkan emulsi gel memiliki viskositas yang jauh lebih besar. Hasil viskositas dari nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel secara berturut-turut ialah 675, 800, dan 27.000 cps. Hal ini membuktikan bahwa dengan adanya penambahan basis gel ke dalam sediaan nanoemulsi maupun emulsi mampu meningkatkan viskositasnya (Sinko, 2011).

4.3.6. Pengukuran tegangan permukaan

Pada hasil pengukuran tegangan permukaan menggunakan tensiometer Du Nuoy terhadap ketiga sediaan terlihat bahwa masing-masing memiliki tegangan permukaan yang bervariasi. Hasil pengukuran tegangan permukaan nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel secara berturut-turut adalah 36,6950; 37,3307; dan 50,3625 dyne/cm. Dibandingkan dengan emulsi gel, nanoemulsi dan nanoemulsi gel memiliki tegangan permukaan yang jauh lebih besar. Hal ini disebabkan karena penggunaan surfaktan pada nanoemulsi dan nanoemulsi gel lebih besar dibandingkan penggunaan surfaktan pada emulsi gel. Sehingga tegangan permukaan pada nanoemulsi dan nanoemulsi gel lebih kecil.

4.4. Uji Stabilitas Fisik

Pengujian stabilitas fisik dilakukan dengan menyimpan sampel formula nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel pada tiga suhu yang berbeda, yaitu suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 6

minggu. Selama periode waktu penyimpanan tersebut dilakukan pengamatan organoleptis dan pemeriksaan pH setiap 2 minggu. Pengujian ini bertujuan untuk melihat stabilitas fisik kelima formula nanoemulsi pada kondisi suhu yang berbeda. Pengukuran viskositas dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-6 menggunakan sediaan yang berada dalam suhu kamar.

Selain penyimpanan pada tiga kondisi suhu yang berbeda, ketiga sediaan juga dilakukan uji sentrifugasi dan *cycling test*. Pengamatan uji sentrifugasi dan *cycling test* dilakukan dengan membandingkan ketiga sediaan tersebut sebelum dilakukan uji. Hasil dari ketiga sediaan tersebut ialah tidak adanya penampakan terjadi pemisahan fase setelah di sentrifugasi selama 5 jam. Becher menyatakan bahwa sentrifugasi pada 3750 rpm dalam suatu radius 10 cm selama 15 jam setara dengan efek gravitasi kira-kira selama 1 tahun (Rieger, 1994). Pada hasil *cycling test* juga ketiga sediaan tidak mengalami pemisahan fase maupun terjadi pengkristalan zat aktif sehingga ketiga sediaan dapat dikatakan stabil.

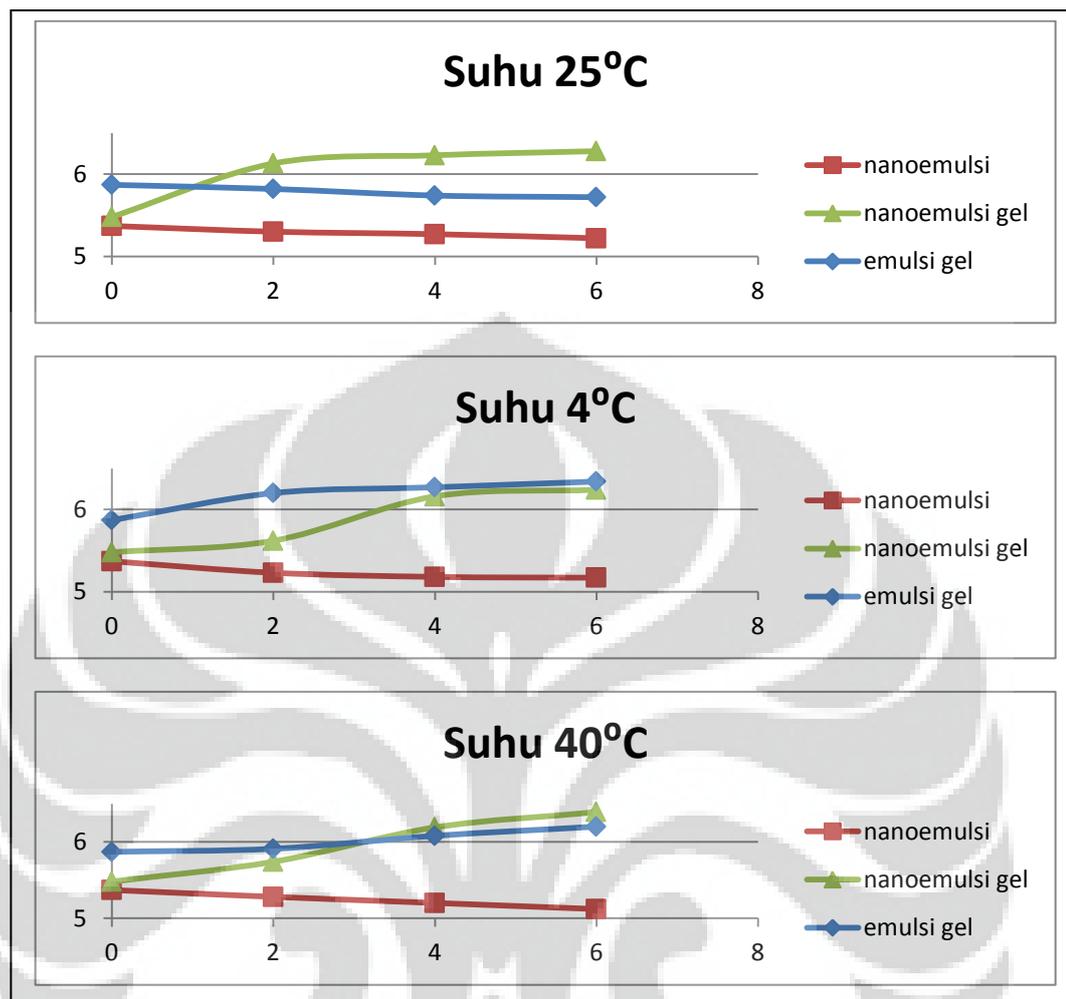
4.4.1. Penyimpanan pada suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi

4.4.1.1. Pengamatan organoleptis

Hasil ketiga sediaan selama dilakukan pada penyimpanan pada suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi tidak mengalami perubahan pada penampilan fisik. Hanya saja ketika nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel disimpan dalam suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) menjadi lebih kental dari sebelumnya, namun ketiga sediaan tidak membeku. Hal ini karena pemilihan kedua komposisi minyak sudah tepat sehingga tidak membuat sediaan beku pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$).

4.4.1.2. Pengukuran pH (Departemen Kesehatan RI, 1995)

Pada pengukuran pH, ketiga sediaan mengalami perubahan. Namun dari perubahan tersebut, ketiganya masih menunjukkan kestabilan pH untuk aplikasi melalui kulit. pH yang diinginkan untuk sediaan ialah yang sesuai dengan pH kulit, yaitu berkisar antara 4,5-6,5. Perubahan pH pada 2 minggu sekali dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Pengukuran pH sediaan setiap 2 minggu

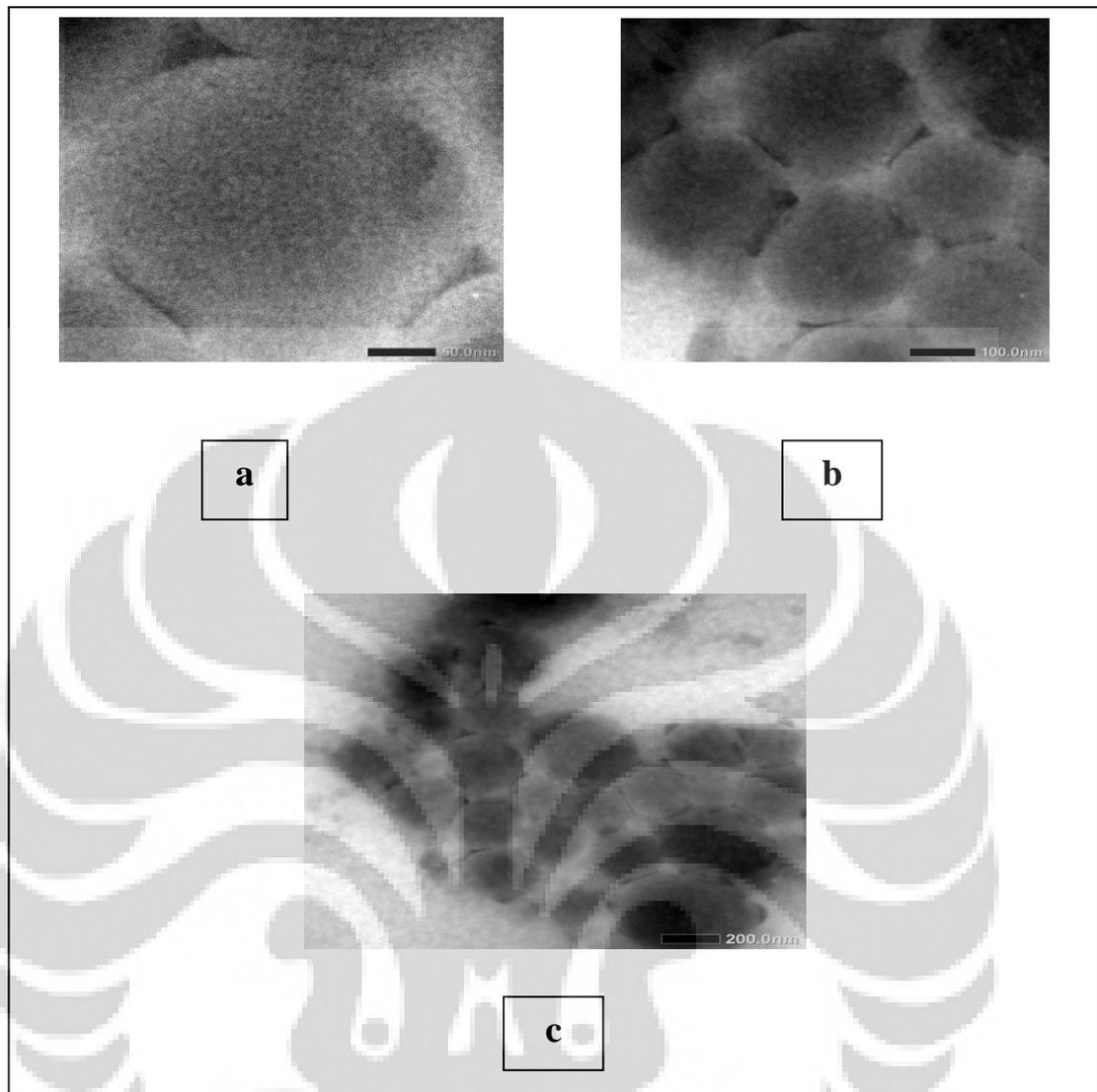
4.5. Pengukuran Distribusi Ukuran Globul

Pengukuran distribusi ukuran globul masing-masing formula dilakukan menggunakan Zetasizer. Pengukuran dilakukan pada minggu pertama sediaan dibuat, dan hasil dari pengukuran menunjukkan bahwa masing-masing sediaan memiliki ukuran globul yang bervariasi. Dari hasil yang didapat nanoemulsi memiliki ukuran 10 nm, sedangkan pada pengukuran nanoemulsi gel memiliki ukuran yang tidak seragam, sebagian besar ukuran globulnya sekitar 7 nm, sedangkan terdapat pula ukuran sekitar 200 nm. Hal ini dikarenakan sulitnya menghomogenkan dua sistem yang berbeda sehingga sulit mendapatkan ukuran

yang seragam. Apabila dalam sediaan nanoemulsi gel ini dirata-rata, ukuran globulnya mencapai 147 nm. Sementara itu emulsi gel memiliki ukuran globul yang besar yaitu 3000 nm. Kisaran ukuran droplet nanoemulsi ialah 10-200 nm sedangkan ukuran droplet emulsi konvensional berkisar 1-20.000 nm (Devarajan, & Ravichandran, 2011). Ukuran droplet nanoemulsi dan emulsi yang didapatkan sesuai dengan kisaran yang terdapat dalam literatur, hanya saja ukuran droplet nanoemulsi gel lebih kecil dari kisaran nanoemulsi seharusnya. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti lamanya pengadukan, maupun kecepatan pengadukan sehingga sediaan tidak homogen dan memiliki ukuran yang bervariasi.

4.6. Morfologi Sediaan

Morfologi sediaan hanya dilakukan pada satu sediaan yaitu nanoemulsi gel. Hal ini disebabkan nanoemulsi gel merupakan formulasi terpilih yang diharapkan dapat menjadi sediaan yang dapat diaplikasikan langsung melalui kulit. Selain itu morfologi ini hanya untuk mengetahui kesesuaian antara pengamatan morfologi menggunakan TEM dan pengukuran distribusi ukuran globul pada sediaan. Hasil morfologi nanoemulsi gel dapat dilihat pada Gambar 4.2. Dari gambar tersebut ternyata ukuran yang didapat tidak sesuai dengan yang di dapat dari pengukuran distribusi globul menggunakan zetasizer. Hal ini dapat disebabkan dari perbedaan prinsip kerja dari kedua alat tersebut. Selain itu, kemungkinan ukuran globul dari nanoemulsi telah beragregasi sehingga ukurannya menjadi lebih besar, karena pengukuran pada kedua alat dalam kurun waktu yang berbeda.



Keterangan: a.) perbesaran 80.000 kali; b.) perbesaran 40.000 kali; c.) perbesaran 15.000 kali

Gambar 4.2. Morfologi sediaan nanoemulsi gel

4.7. Penetapan Kadar dan Uji Perolehan Kembali (UPK) Kurkumin Dalam Sediaan

4.7.1. Pembuatan kurva kalibrasi kurkumin standar dalam metanol

Kurva kalibrasi kurkumin standar dalam metanol dilakukan dengan cara melarutkan kurkumin sebanyak 50,0 mg dengan metanol didalam labu tentukur

50,0 ml. Dari larutan tersebut didapat konsentrasi sebesar 1000 ppm. Kemudian diambil secara kuantitatif 1,0 ml dari larutan tersebut, dan diencerkan dengan 100,0 ml metanol dalam labu tentukur. Larutan tersebut menghasilkan konsentrasi sebesar 10 ppm. Selanjutnya dari konsentrasi tersebut diencerkan kembali hingga didapatkan konsentrasi 1,5 ppm sampai 6 ppm. Kemudian diukur masing-masing serapannya pada panjang gelombang 421,5 nm. Hasil serapan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear dan didapat $r = 0,99949$ dengan persamaan berikut:

$$y = 0,0029 + 0,1488x \quad (4.1)$$

4.7.2. Penetapan kadar kurkumin dalam sediaan

Penetapan kadar kurkumin dalam sediaan dilakukan dengan cara melarutkan kurkumin dalam sediaan dengan pelarut metanol. Sediaan sebanyak 1 gram ditambahkan metanol kemudian di sentrifuse selama 10 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Minyak dalam sediaan akan memisah dengan filtrat kurkumin dalam metanol. Filtrat kurkumin dalam metanol kemudian di pipet dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 100,0 mL. Setelah filtrat di pipet, kemudian di masukkan kembali metanol ke dalam tabung sentrifuse. Sentrifugasi dan pengambilan filtrat kurkumin dalam metanol dilakukan berulang hingga filtrat metanol yang di ambil sudah tidak berwarna kuning. Filtrat kurkumin dalam metanol ini kemudian kembali dimasukkan ke dalam labu tentukur 100,0 mL. selanjutnya di tambahkan metanol hingga batas labu. Konsentrasi yang di dapatkan dalam larutan tersebut ialah 10000 ppm, kemudian di encerkan kembali hingga menjadi 10 ppm. Dari konsentrasi tersebut didapat serapannya kemudian di plotkan ke dalam kurva kalibrasi kurkumin dalam metanol. Masing-masing sediaan dilakukan penetapan kadar sebanyak tiga kali. Hasil penetapan kadar dari nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel berturut-turut ialah 0,01677%, 0,01478%, dan 0,01569%. Kadar yang di dapatkan tidak sesuai dengan kadar yang di masukkan pada saat pembuatan sediaan. Metode lain seperti sonikasi telah dilakukan untuk memperbesar kelarutan kurkumin, namun tetap menghasilkan serapan yang rendah.

Untuk memastikan tidak adanya penjerapan kurkumin di dalam minyak, kemudian dimasukkan larutan kurkumin standar dalam metanol yang telah di ketahui konsentrasi dan serapannya. Larutan kurkumin standar tersebut di masukkan ke dalam larutan sediaan dalam metanol, kemudian di sentrifuse dan dilakukan berulang hingga filtrat yang di dapat tidak berwarna kuning. Setelah di masukkan ke dalam labu dan diencerkan hingga 10 ppm, serapan di ukur kembali. Larutan kurkumin standar dalam metanol yang di masukkan ke dalamnya memiliki konsentrasi 10 ppm dan serapan 1,5302. Larutan sediaan dengan metanol dan adanya penambahan larutan kurkumin standar tersebut seharusnya memiliki serapan yang lebih tinggi di bandingkan serapan larutan kurkumin standar. Namun, serapan yang di dapat hanya 0,3182. Hal ini menandakan terjadi interaksi atau penjerapan kurkumin di dalam minyak, sehingga serapan larutan kurkumin standar di dalamnya mengalami penurunan.

Metode lain dilakukan untuk memastikan tidak ada penjerapan kurkumin dalam minyak ialah menggunakan dua pelarut untuk memisahkan minyak dan kurkumin. Dalam hal ini digunakan pelarut petroleum eter dan metanol. Oleh karena minyak larut dalam eter dan kurkumin tidak larut pada eter, maka penggunaannya sudah tepat untuk memisahkan keduanya. Namun ketika filtrat kurkumin dalam metanol diambil dan diencerkan kembali seperti cara sebelumnya, tetap didapat serapan yang rendah. Hal ini menandakan kemungkinan terjadinya interaksi antara kurkumin dan minyak yang digunakan.

4.7.3. Uji Perolehan Kembali (UPK) nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel kurkumin

Uji perolehan kembali dilakukan dengan cara yang sama dengan penetapan kadar kurkumin dalam sediaan. Berdasarkan penetapan kadar, serapan yang di dapat dari ketiga sediaan sangat kecil, sehingga ketika dilakukan perhitungan perolehan kembali, persentase perolehan kembali ketiganya hanya berkisar 1%.

4.8. Uji Penetrasi Secara *In vitro*

4.8.1. Pembuatan kurva kalibrasi kurkumin dalam dapar fosfat 7,4

Kurva kalibrasi kurkumin dalam dapar fosfat dilakukan dengan cara melarutkan kurkumin terlebih dahulu dalam metanol, dimana konsentrasi kurkumin dalam metanol tersebut diketahui. Kemudian larutan kurkumin dalam metanol diencerkan secara kuantitatif menggunakan dapar fosfat hingga didapatkan konsentrasi 0,1 hingga 0,9 ppm. Dari masing-masing konsentrasi didapatkan panjang gelombang maksimum kurkumin 424,5 nm. Selanjutnya diukur serapan pada masing-masing konsentrasi dalam panjang gelombang maksimumnya. Konsentrasi yang telah dibuat segera diukur, karena kurkumin dalam dapar fosfat pH 7,2 dapat terdekomposisi selama kurun waktu 30 menit (Stankovic, 2004). Setelah didapat hasil serapan kemudian dibuat kurva kalibrasi. Persamaan kurva kalibrasi diperoleh yaitu:

$$y = 0,0051 + 0,0248x \quad (4.2)$$

$$r = 0,9986$$

4.8.2. Uji penetrasi sediaan

Dalam penelitian, uji penetrasi dilakukan *in vitro* dengan menggunakan sel difusi Franz. Pengujian dilakukan untuk mengetahui jumlah kurkumin yang terpenetrasi ke dalam kulit selama kurun waktu 8 jam.

Membran yang digunakan yaitu kulit bagian abdomen tikus betina dari galur Sprague-dawley yang berumur 8-12 minggu. Alasan penggunaan tikus sebagai membran karena cukup mudah diperoleh dan telah dilaporkan bahwa permeabilitas kulit tikus yang telah dicukur bulunya mirip dengan permeabilitas kulit manusia. Selain itu, kulit tikus betina juga lebih elastis dibandingkan dengan kulit tikus jantan sehingga mempermudah penggunaannya ketika diletakkan diantara kompartemen donor dan reseptor pada sel difusi Franz.

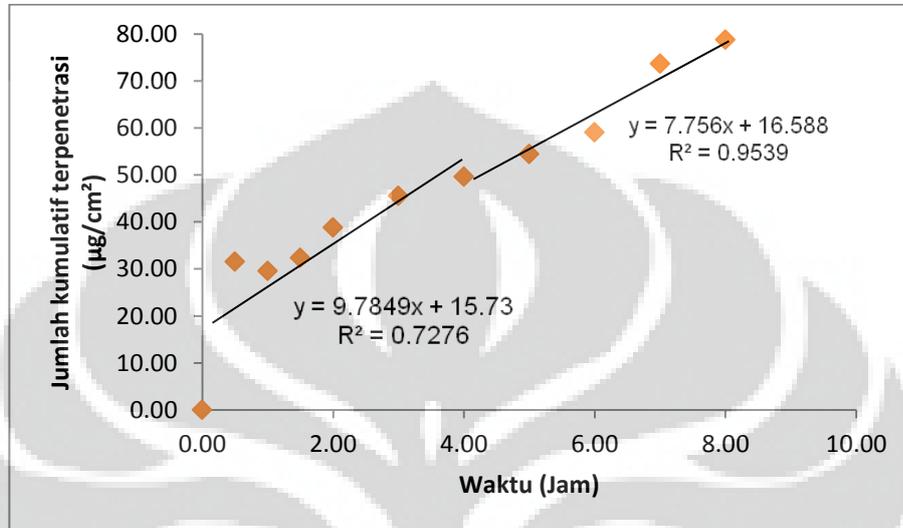
Kulit tikus dicukur terlebih dahulu secara hati-hati, kemudian dihilangkan lemak-lemak pada subkutan sehingga tidak mengganggu penyerapan kurkumin ke dalam kulit. Selain itu, kulit dimasukkan ke dalam medium larutan reseptor yaitu dapar fosfat 7,4 untuk proses hidrasi yang bertujuan untuk mengembalikan kulit

ke kondisi semula sebelum disimpan dalam lemari pendingin sampai sebelum digunakan. Dapar fosfat 7,4 dipilih sebagai cairan reseptor karena simulasi kondisi pH cairan biologis manusia yaitu pH 7,4. Dalam hal ini menjadi sedikit permasalahan karena kurkumin sukar larut dalam dapar fosfat 7,4. Beberapa penelitian menambahkan bahan lain yang dapat meningkatkan kelarutan kurkumin sehingga memudahkan penetrasi kurkumin melewati membran kulit. (Yan Chen, 2012) memasukkan dapar fosfat pH 6,5, 0,5% tween 80, dan 20% etanol sebagai cairan reseptor untuk uji penetrasi kurkumin.

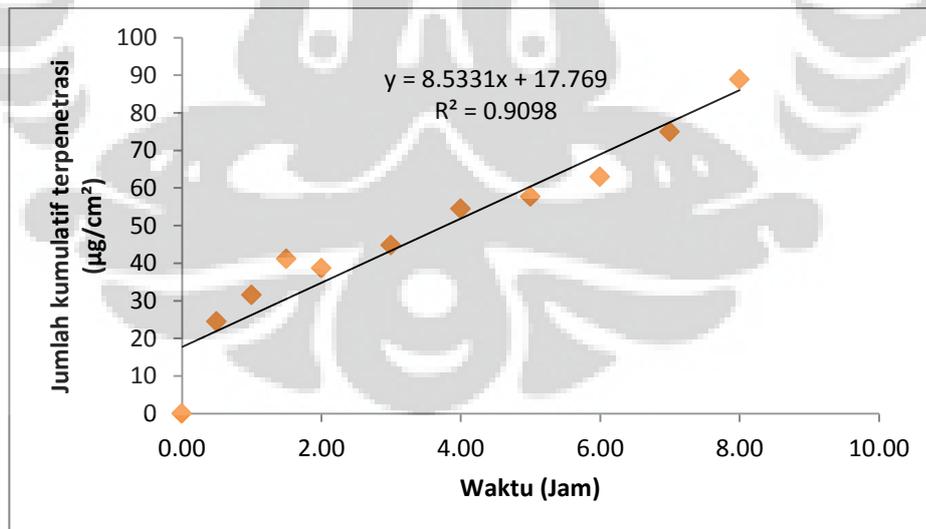
Membran diletakkan diantara kompartemen reseptor dan donor, dimana membran harus kontak dengan cairan reseptor agar sediaan yang diaplikasikan pada membran dapat berpenetrasi menembus kulit dan masuk dalam cairan reseptor. Ketika kulit tikus diletakkan di atas kompartemen reseptor, pengambilan sampel atau penambahan cairan reseptor, diusahakan tidak ada gelembung udara agar kulit dapat kontak dengan cairan reseptor. Pengadukan pada kompartemen reseptor berfungsi untuk menghomogenkan bahan aktif yang terpenetrasi di dalam cairan reseptor. Pengadukan tersebut dilakukan dengan menggunakan pengaduk magnetik dengan kecepatan 300 rpm. Selama proses berlangsung, suhu dijaga menggunakan *water jacket* pada $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ dimana pada suhu tersebut menggambarkan keadaan suhu pada manusia. Pengujian dilakukan selama 8 jam dan pengambilan sampel dilakukan sebanyak 10 kali yaitu pada menit ke-30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, dan 480. Sampel setiap kali diambil sebanyak 0,5 mL dan diencerkan dalam labu tentukur 5,0 mL sehingga dilakukan pengenceran sebanyak 10 kali.

Penetrasi kurkumin melalui membran kulit tikus selama 8 jam dari sediaan nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel berturut-turut ialah $78,79 \pm 21,30$, $88,88 \pm 22,58$, $58,41 \pm 13,55 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Dari hasil tersebut, kurkumin dalam sediaan nanoemulsi gel memiliki jumlah penetrasi kumulatif yang lebih besar dibandingkan nanoemulsi. Hal ini kemungkinan disebabkan karena ukuran globul yang didapat pada nanoemulsi gel lebih rendah dari nanoemulsi sehingga lebih memudahkan kurkumin untuk berpenetrasi. Teori tersebut dibuktikan dengan penelitian sebelumnya yang membandingkan penetrasi dari sediaan nanoemulsi dan nanoemulsi gel, dimana kemampuan penetrasi nanoemulsi lebih besar karena

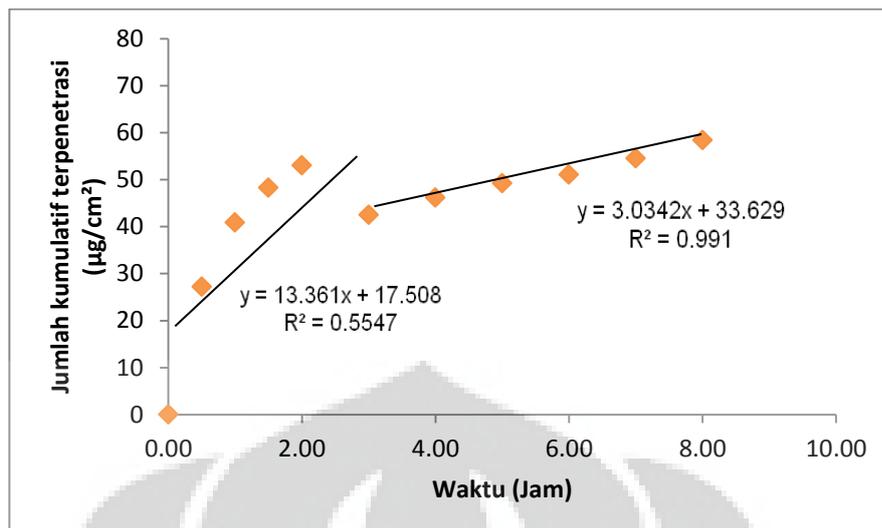
ukuran globul yang didapatkan lebih kecil (Baboota, Shakeel, Ahuja, Ali, & Shafiq, 2007). Jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi pada masing-masing sediaan dapat dilihat dalam gambar berikut:



Gambar 4.3. Jumlah kumulatif penetrasi kurkumin dalam nanoemulsi



Gambar 4.4. Jumlah kumulatif penetrasi kurkumin dalam nanoemulsi gel



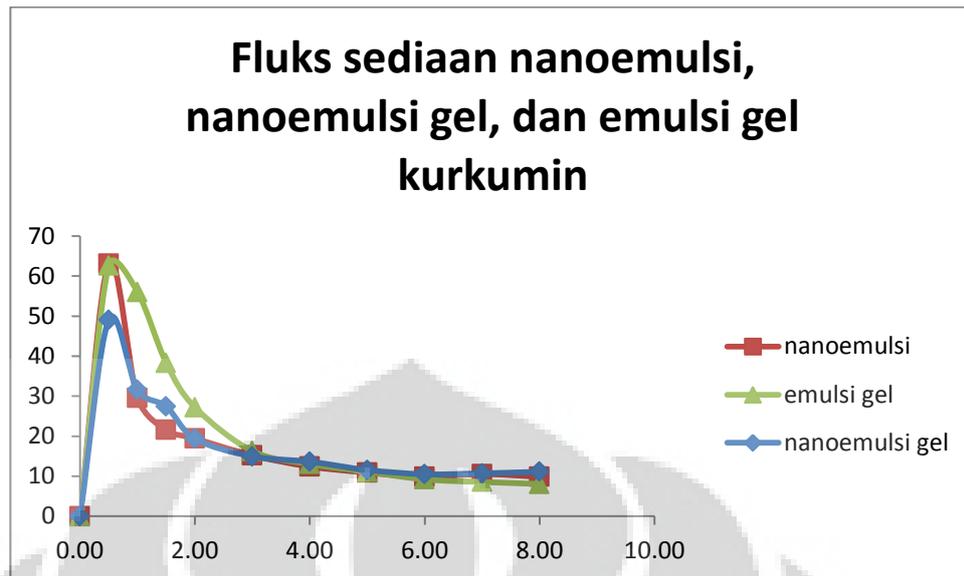
Gambar 4.5. Jumlah kumulatif penetrasi kurkumin dalam emulsi gel

Dari Gambar 4.3 dan 4.5 jumlah kumulatif memiliki grafik yang tidak linear dalam artian jumlah kumulatif yang terpenetrasi tidak mengalami kenaikan secara terus menerus. Pada jam-jam tertentu mengalami penurunan sehingga menyulitkan dalam perhitungan fluks. Fluks didapatkan melalui persamaan garis linear dari grafik jumlah kumulatif terpenetrasi yaitu $y = a + bx$, dengan b merupakan garis kemiringan yang menyatakan nilai fluks. Selain itu, fluks juga dapat dihitung berdasarkan hukum Fick pertama yaitu jumlah terpenetrasi dalam kompartemen reseptor pada satuan waktu ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jam}^{-1}$) (Sinko, 2011).

Gambar 4.3. menunjukkan jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi, dalam gambar tersebut terlihat bahwa pergerakan kenaikan grafik tidak linear sehingga dari grafik tersebut dibagi menjadi dua fase dimana fase pertama memiliki persamaan garis yang berbeda pada fase kedua, sehingga nilai fluksnya berbeda. Fase pertama ditunjukkan pada menit ke-30 hingga 240. Nilai fluks didapatkan dari persamaan garis yaitu sebesar $12,404 \pm 1,73 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jam}^{-1}$. Nilai fluks kedua didapatkan dari persamaan garis fase kedua yaitu dimulai dari menit ke-240 hingga 480 dan didapat nilainya sebesar $9,0497 \pm 2,47 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jam}^{-1}$. Nilai fluks fase pertama lebih besar dibandingkan dengan nilai fluks fase kedua. Hal ini menunjukkan kecepatan kurkumin untuk berpenetrasi lebih cepat pada fase pertama, dan melambat pada fase kedua. Pada Gambar 4.4 menunjukkan jumlah

kumulatif kurkumin yang terpenetrasi dalam sediaan nanoemulsi gel. Grafik yang didapatkan pada gambar tersebut dapat ditarik garis linearnya dan dari persamaan garisnya didapat nilai fluks sebesar $8,5331 \pm 2,82 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jam}^{-1}$.

Kurva jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi dalam sediaan emulsi gel dapat terlihat pada Gambar 4.5. Dalam gambar tersebut didapatkan dua persamaan garis linear dari dua fase. Fase pertama terlihat pada menit ke -30 hingga menit ke- 180. Fluks pertama yang didapatkan berdasarkan persamaan garis ialah $13,361 \pm 3,73 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jam}^{-1}$ sedangkan nilai fluks kedua didapat dari menit ke-180 hingga 480 sebesar $3,0342 \pm 1,51 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{jam}^{-1}$. Nilai fluks fase pertama lebih besar dibandingkan fluks fase kedua. Hal ini menandakan bahwa kecepatan penetrasi kurkumin pada jam – jam pertama lebih cepat dibandingkan jam pada fase kedua. Hal ini kemungkinan disebabkan karena kurkumin yang terdapat pada lapisan kulit terbawah saat fase pertama belum sepenuhnya terlarut dalam kompartemen reseptor sehingga dapat menghambat masuknya kurkumin pada jam berikutnya untuk menembus lapisan kulit ke dalam kompartemen reseptor tersebut. Oleh karena itu, pada saat pengambilan cairan reseptor, serapan yang didapat menurun. Ketika serapan kembali meningkat hal tersebut kemungkinan karena adanya tekanan dari kurkumin yang secara terus menerus terlepas dari kompartemen donor sehingga mendorong kurkumin yang berada pada pori –pori kulit untuk masuk dalam cairan reseptor. Beberapa faktor lain seperti kesalahan pengerjaan pada saat pengambilan cairan reseptor yang berlebih dari volume seharusnya, juga dapat meningkatkan serapan. Kesalahan pada saat pengenceran yang tidak sampai batas juga dapat meningkatkan pengukuran serapan sehingga jumlah kumulatif mengalami peningkatan yang drastis pada beberapa titik.



Gambar 4.6. Fluks kurkumin dari sediaan nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel.

Dari Gambar 4.6 dapat dilihat grafik fluks kurkumin dalam tiap sediaan. Emulsi gel memiliki kecepatan penetrasi yang lebih cepat diawal dibandingkan sediaan nanoemulsi dan nanoemulsi gel, hal ini dapat disebabkan oleh jumlah surfaktan yang digunakan. Nanoemulsi dan nanoemulsi gel memiliki konsentrasi surfaktan yang jauh lebih besar dibandingkan sediaan emulsi gel. Sehingga kurkumin dalam sediaan nanoemulsi dan nanoemulsi sulit terlepas yang menyebabkan laju penetrasinya lambat di awal. Hal ini menjadi suatu kemungkinan karena salah satu faktor yang dapat mempengaruhi laju penetrasi obat ialah komponen pembawa dalam sediaan, terutama pelarut dan surfaktan (Sinko, 2011).

Hasil dari nilai fluks ketiga sediaan tersebut tidak dapat dibandingkan karena grafik jumlah kumulatif yang didapat bervariasi. Hal ini dapat terjadi karena beberapa faktor yang sebelumnya telah dijabarkan. Kesalahan pengerjaan seperti pada saat pengambilan cairan reseptor, maupun pengenceran yang dilakukan, serta kemungkinan terdapat gelembung udara pada kompartemen reseptor juga dapat mempengaruhi hasil yang didapat. Selain itu, faktor utama yang memungkinkan terjadinya fase menurun pada tiap grafik tersebut ialah sulitnya kurkumin untuk dapat melarut ke dalam kompartemen reseptor sehingga

terjadi penghambatan pada pori-pori lapisan kulit dan menghambat kurkumin pada jam berikutnya untuk masuk ke dalam kompartemen reseptor. Dengan adanya penambahan komponen lain pada cairan reseptor, dapat meningkatkan kelarutan kurkumin, sehingga memudahkan untuk melewati *stratum corneum* (Yan Chen, Qingqing Wu, Zhenghai Zang, Ling Yuan, Xuan Liu, & Lei Zhou, 2012).

Kemampuan penetrasi dari ketiga sediaan hanya dilihat dari jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi. Jumlah kumulatif kurkumin terpenetrasi pada sediaan nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel berturut-turut ialah $78,79 \pm 21,30$, $88,88 \pm 22,58$, $58,41 \pm 13,55 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Data jumlah kumulatif tersebut menunjukkan bahwa jumlah kurkumin yang terpenetrasi dari sediaan nanoemulsi gel memiliki jumlah yang lebih besar dibandingkan dengan sediaan nanoemulsi dan emulsi gel kurkumin. Hal ini dapat disebabkan karena ukuran globul dari nanoemulsi gel lebih kecil dibandingkan sediaan nanoemulsi dan emulsi gel. Hal ini sejalan dengan yang dinyatakan penelitian sebelumnya bahwa nanoemulsi memiliki ukuran globul yang sangat kecil sehingga dapat berpenetrasi lebih mudah ke dalam stratum kormeum (Abolmaali, Tamaddon, Farvadi, Daneshamuz, & Moghimi, 2011). Meskipun pada kenyataannya nanoemulsi gel yang didapatkan memiliki ukuran yang lebih kecil dibandingkan nanoemulsi kurkumin, namun dari teori tersebut menyatakan bahwa sediaan yang memiliki ukuran globul kecil, akan lebih mudah menembus lapisan kulit sehingga dapat meningkatkan penetrasinya. Hal ini terlihat pada sediaan nanoemulsi gel dan emulsi gel yang memiliki perbedaan ukuran globul sangat jauh, begitu pula dengan hasil penetrasi kurkumin dari kedua sediaan terlihat perbedaan yang signifikan. Pada sediaan nanoemulsi dan nanoemulsi gel, hasil jumlah kumulatif yang tidak jauh berbeda juga berbanding lurus dengan perbedaan ukuran globul yang juga tidak jauh berbeda. Namun, hal ini tidak dapat menjadi satu-satunya tolak ukur perbedaan penetrasinya, karena kedua sediaan juga memiliki perbedaan komposisi formula.

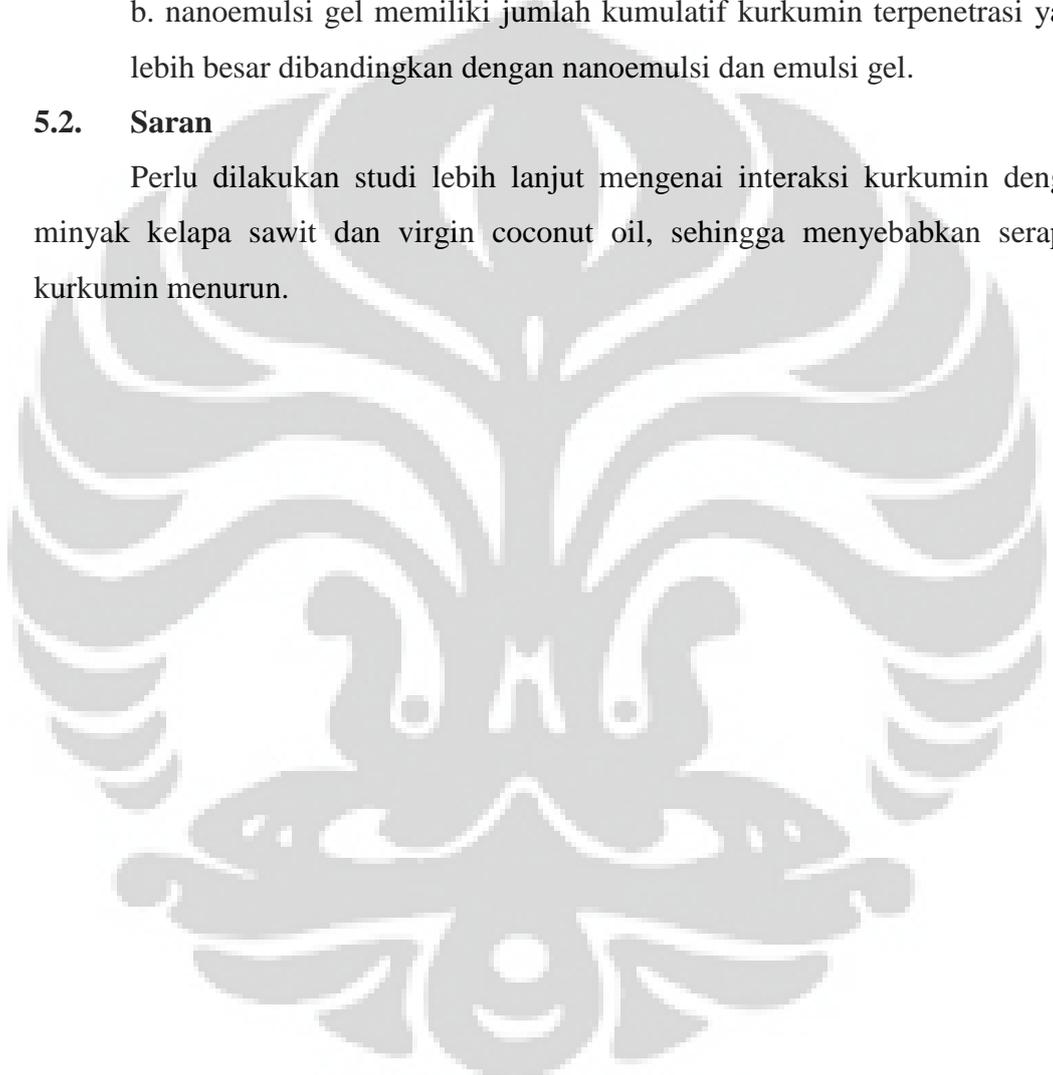
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

- a. Formulasi nanoemulsi dan nanoemulsi gel terbentuk stabil dengan penggunaan 36% tween 80 sebagai surfaktan.
- b. nanoemulsi gel memiliki jumlah kumulatif kurkumin terpenetrasi yang lebih besar dibandingkan dengan nanoemulsi dan emulsi gel.

5.2. Saran

Perlu dilakukan studi lebih lanjut mengenai interaksi kurkumin dengan minyak kelapa sawit dan virgin coconut oil, sehingga menyebabkan serapan kurkumin menurun.



DAFTAR ACUAN

- Abolmaali, S. S., Tamaddon, A. M., Farvadi, F. S., Daneshamuz, S., & Moghimi, H. (2011). Pharmaceutical Nanoemulsions and Their Potential Topical and Transdermal Applications. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences* , 142-143.
- Aggarwal, Bharat B., et al. (2006). Curcumin- Biological and Medicinal Properties. 298-300.
- American Pharmaceutical Association. (1994). Handbook of Pharmaceutical Excipients (2nd ed). London: The Pharmaceutical Press.
- Anand, P., Kunnumakkara, A.B., Newman, R.A., dan Aggarwal, B.B. (2007). Bioavailability of Curcumin : Problems and Promises. Washington: American Chemical Society.
- Ansel, H.C. (1989). Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi (4th ed.) (Farida Ibrahim, Penerjemah). Jakarta: UI Press.
- Anshory, Hady. Kurkumin dari rimpang temulawak. <http://hadyherbs.wordpress.com/category/kimia-bahan-alam/kurkumin/> (5,Des 2011).
- Anuchapreeda, S., Fukumori, Y., Okonogi, S., dan Ichikawa, H. (2011). Preparation of Lipid Nanoemulsions Incorporating Curcumin for Cancer Therapy. *Journal of Nanotechnology*.
- Baboota, S., Shakeel, F., Ahuja, A., Ali, J., & Shafiq, S. (2007). Design, Development and Evaluation of Novel Nanoemulsion Formulations For Transdermal Potential of Celecoxib. *Acta Pharm* , 327-329.
- Baibhav, J., Gurpreet, S., Rana, A.C., Seema, S., & Vikas, S.(2011) Emulgel: A Comprehensive Review on The Recent Advances In Topical Drug Delivery. *International Research Journal of Pharmacy*, 66-68.
- Devarajan V., Ravichandran V., 2011. Nanoemulsions : as modified drug delivery tool. *International journal of comprehensive pharmacy*
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1989). Vedemekum Bahan Obat Alam. Jakarta: Departemen Kesehatan RI – Dirjen Badan POM.

- Departemen Kesehatan RI. (1995). Farmakope Indonesia Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Fan, Qiuxi, Mitchnick, Mark, & Loxley, Andrew. (2007). In Vitro Release Testing. *Drug Delivery Technology*. 63-65.
- Gupta, P.K., Pandit, J.K., Kumar, A., Swaroop, P., dan Gupta, S. (2010). *Pharmaceutical nanotechnology Novel Nanoemulsion-High Energy Emulsification preparation, Evaluatin, and Application*. The Pharma Research.
- Harwansh, Ranjit Kumar., Patra, Kartik Ch., Pareta, Surendra K., 2011. Nanoemulsion as potential vehicles for transdermal delivery of pure phytopharmaceuticals and poorly soluble drug. *International Journal of Drug Delivery*.
- Kohlschmidt, Tammy. (2011). Turmeric and Cancer. Thermographyforhealth.wordpress.com/category/turmeric/ . (29 April 2012).
- Kusantati, H., Prihatin, P.T., dan Wiana, W. (2008). *Tata Kecantikan Kulit*. Jakarta : Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan.
- Langley, & Lenny Lester. (1958). *Dynamic anatomy and physiology*. USA: Mc Graww Hill.
- Lissant, K.J. (1974). *Emulsions and emulsion Technology* (6th ed.) New York: Marcel Dekker, Inc.
- Lund, W. (1994). *The Pharmaceutical Codex*, 12th edition. London: The Pharmaceutical Press.
- Meghan., dan Bogner, R.H. (2003). *Transdermal Drug Delivery*. 31 Januari 2012. A Jobson Publication.
- Pantone, Inc. Pantone® Formula Guide Coated / Uncoated (2nd ed.). (2004-2005). New Jersey: Pantone, Inc., 124 C, 145C, 3945C.
- Panwar, A.S., Upadhyay, N., Bairagi, M., Gujar, S., Darwhekar, G.N., & Jain, D.K. (2011). Emulgel: A Review. *Asian Journal of Pharmacy and Life Science*, 333-336.
- Pasaribu, Nurhida. (2004). *Minyak Buah Kelapa Sawit*. Sumatera Utara: Departemen Kimia FMIPA Universitas Sumatera Utara.

- Primahadi, Yoga. (2006). Pengaruh Variasi Jenis Minyak Pada Emulsi Air Dalam Minyak Menggunakan Emulsifier Fosfolipid.
- Ravindran, P.N. (Ed.). (2007). *Turmeric : The Genus Curcuma*. CRC Press.
- Rieger, M.M. (1994). Emulsi. Dalam: Lachman, L., H.A. Liebermasn, & J.L.Kanig. Teori dan Praktek Farmasi Industri I. Terjemahan: Siti Suyatmi. Jakarta: UI-Press, 1994: 1029-108.
- Shah P, Bhalodia D, Shelat P. 2010. Nanoemulsion : A Pharmaceutical Review. Sys Rev Pharm :India
- Sinko, P.J. (2011). Farmasi Fisika dan Ilmu Farmasetika (Joshita Djajadisastra & Amalia H. Hadinata, Penerjemah) (5th ed.). Jakarta: EGC.
- Stankovic, Ivan. (2004). Curcumin. *Chemical and Technical Assesment*, 8.
- Syah, A.N.A, & Sumangat, D. (2005). *Medium Chain Triglyceride (MCT) : Trigliserida Pada Minyak Kelapa dan Pemanfaatannya*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen Pertanian.
- Syarif, Baba. (2011). Deria Perasa. April, 29, 2012. <http://berandamadina.wordpress.com/tag/deria-perasa/>.
- Thakker, K.D., dan Chern, W.H. (2003). Development and Validation of In Vitro Release Test for Semisolid Dosage Forms-Case Study. *Dissolution Technologies* 2003, 10-15.
- Timoti, Hana. (2005). Aplikasi Teknologi Membran Pada Pembuatan Virgin Coconut Oil (VCO). PT Nawapanca Adhi Cipta.
- Utami, A.N. (2009). *Perbandingan Efek Kurkumin Dalam Sediaan Topikal*. Skripsi Sarjana Kedokteran. FK UI.
- Walters, K.A & Jonathan, H. (1993). Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement. New York: Marcel Dekker Inc.
- Witt, Krista & D. Bucks. (2003). Studying In Vitro Skin Penetration and Drug Release to Optimize Dermatological Formulations In *Pharmaceutical Technology*. USA: Advanstars Communication Inc.
- Xiaoyong Wang, Yan Jiang, Yu- Wen Wang, Mou-Tuan Huang, Chi-Tang Ho, dan Qingrong Huang. (2007). Enhancing anti-inflammation activity of curcumin through o/w nanoemulsions. *Elsevier*.
- Yan Chen, Qingqing Wu, Zhenghai Zhang, Ling Yuan, Xuan Liu, & Lei Zhou.

(2012). Preparation of Curcumin-Loaded Liposomes and Evaluation of Their Skin Permeation and Pharmacodynamics. *Molecules*, 5976-5983.



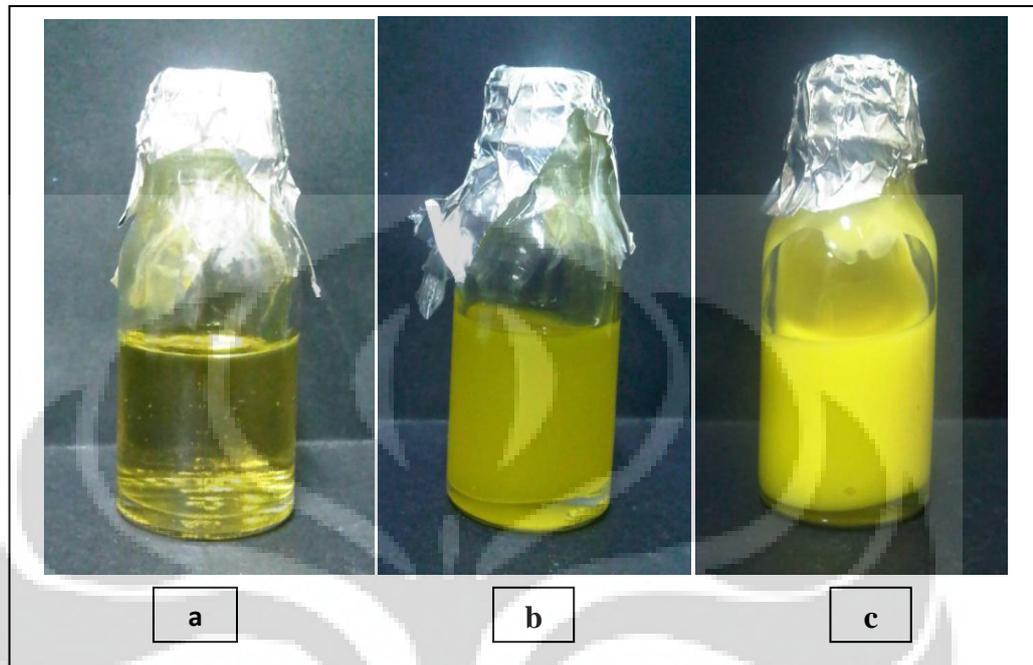




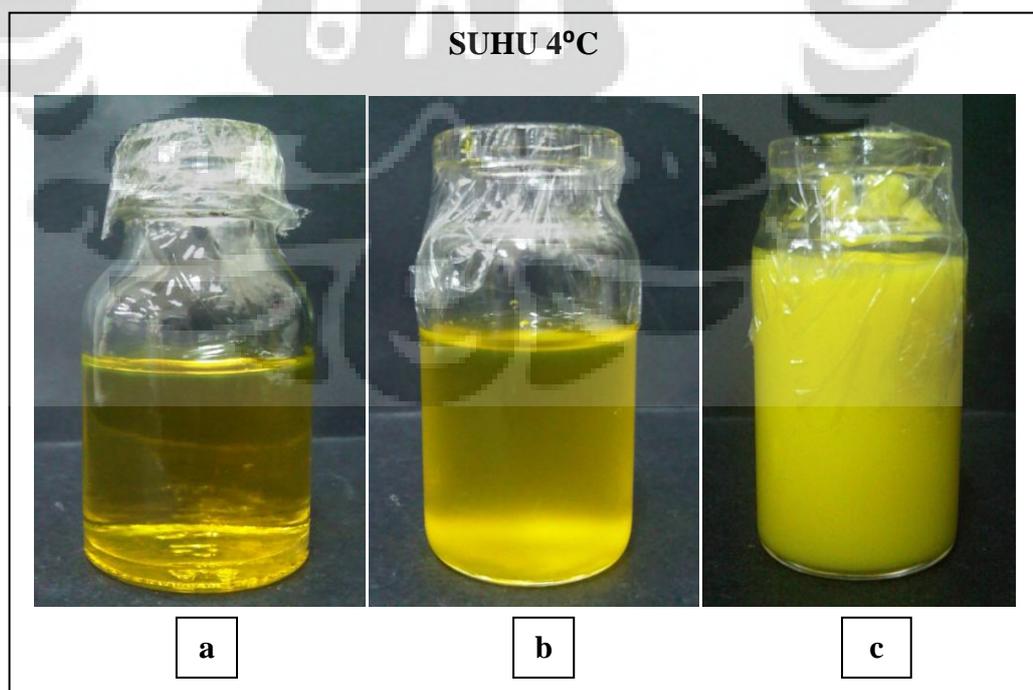
Daftar Lampiran

Lampiran Gambar	: 70-83
Lampiran Tabel	: 84-88
Lampiran Contoh Perhitungan	: 89-99
Lampiran Sertifikat	: 100-112

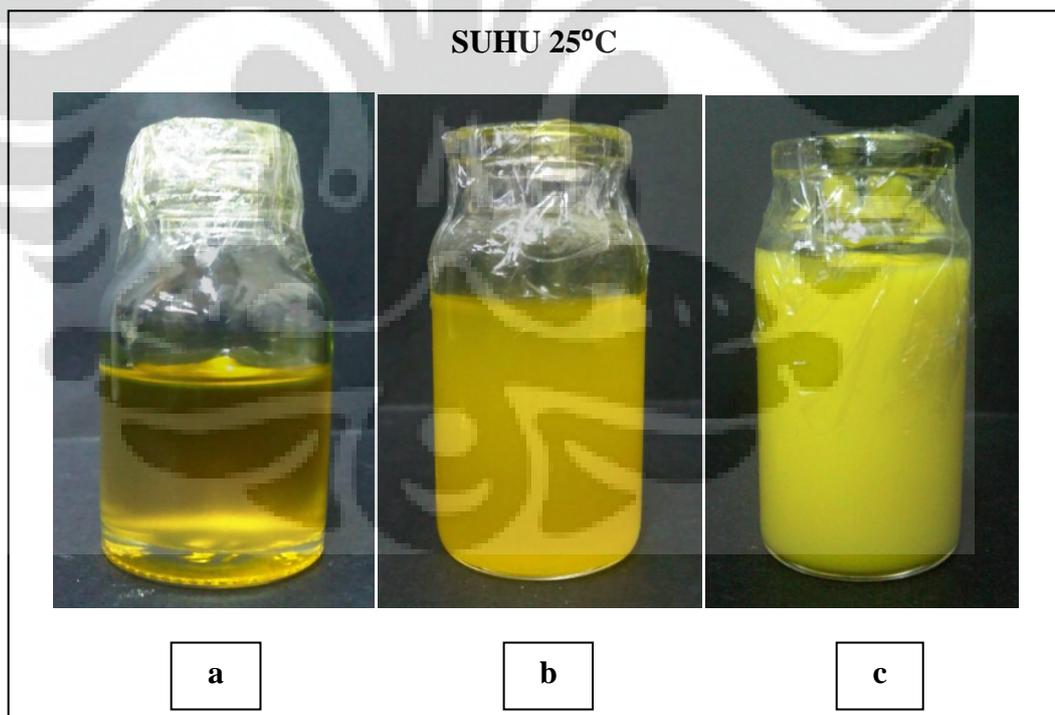
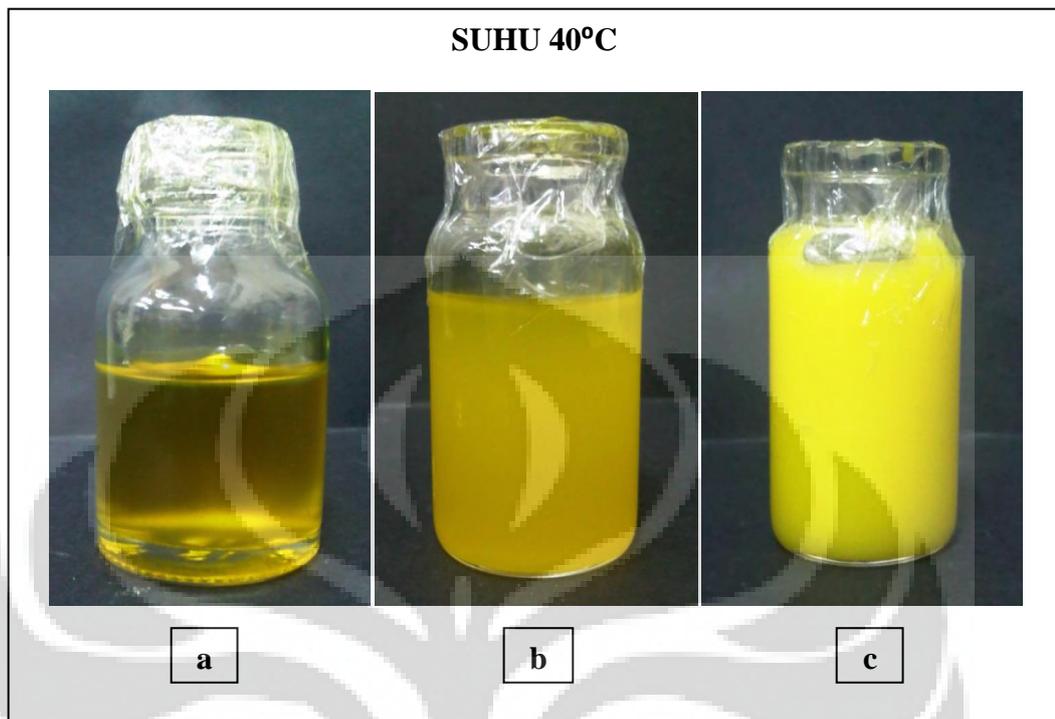
Lampiran 1. Foto nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel minggu ke-0 : a.) Nanoemulsi; b.) Nanoemulsi gel; c.) Emulsi gel



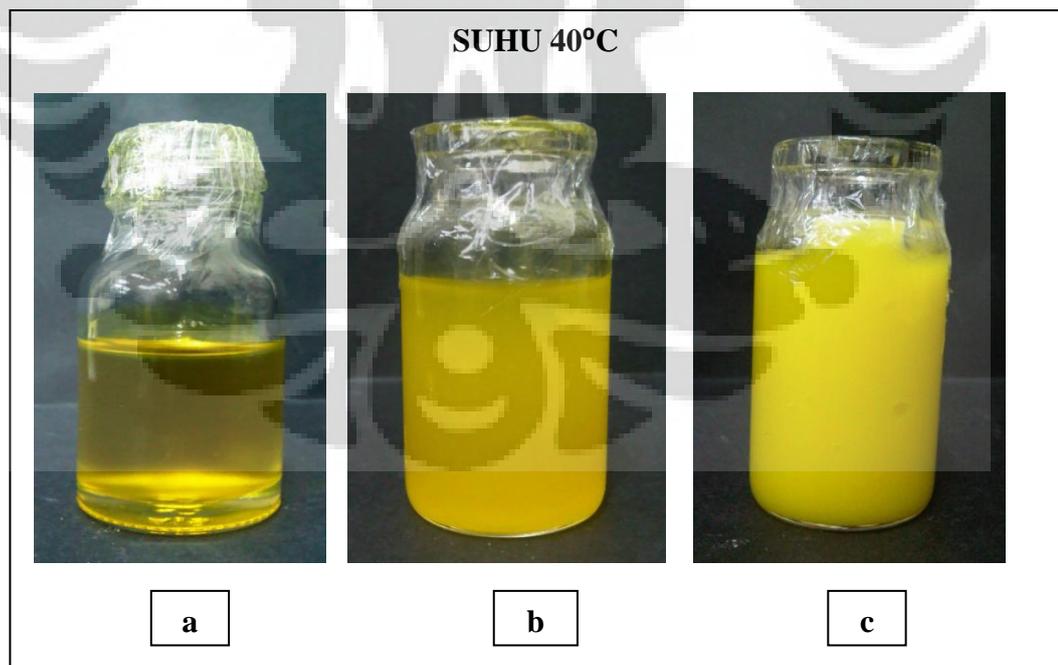
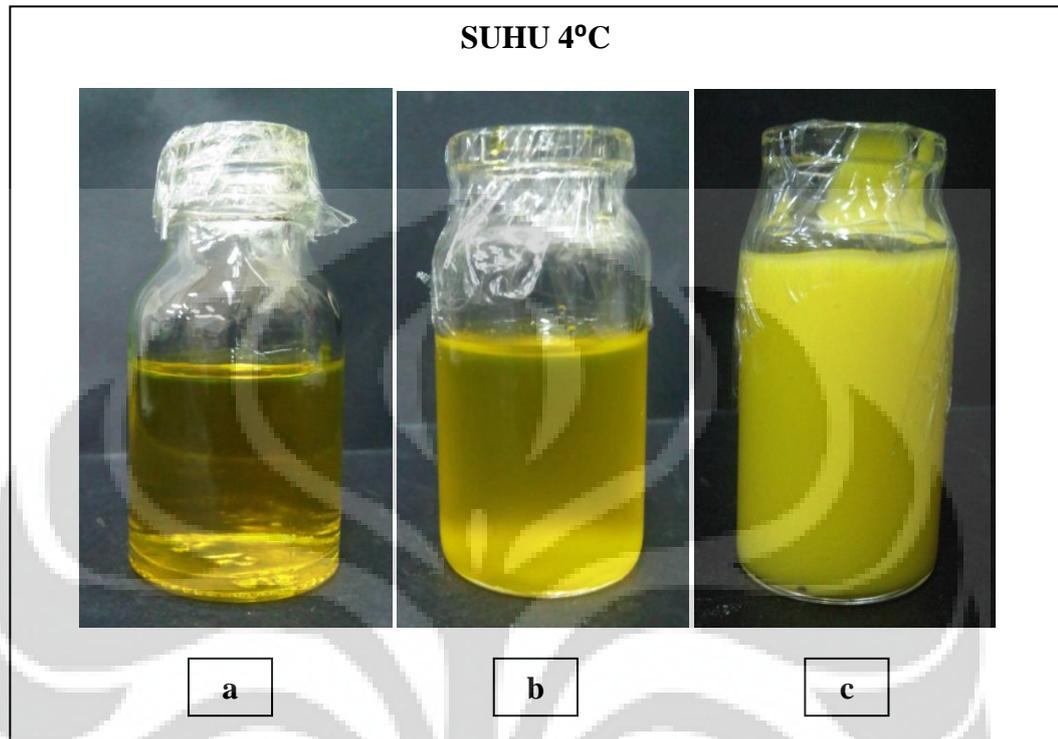
Lampiran 2. Foto nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel minggu ke-2: a.) Nanoemulsi; b.) Nanoemulsi gel; c.) Emulsi gel



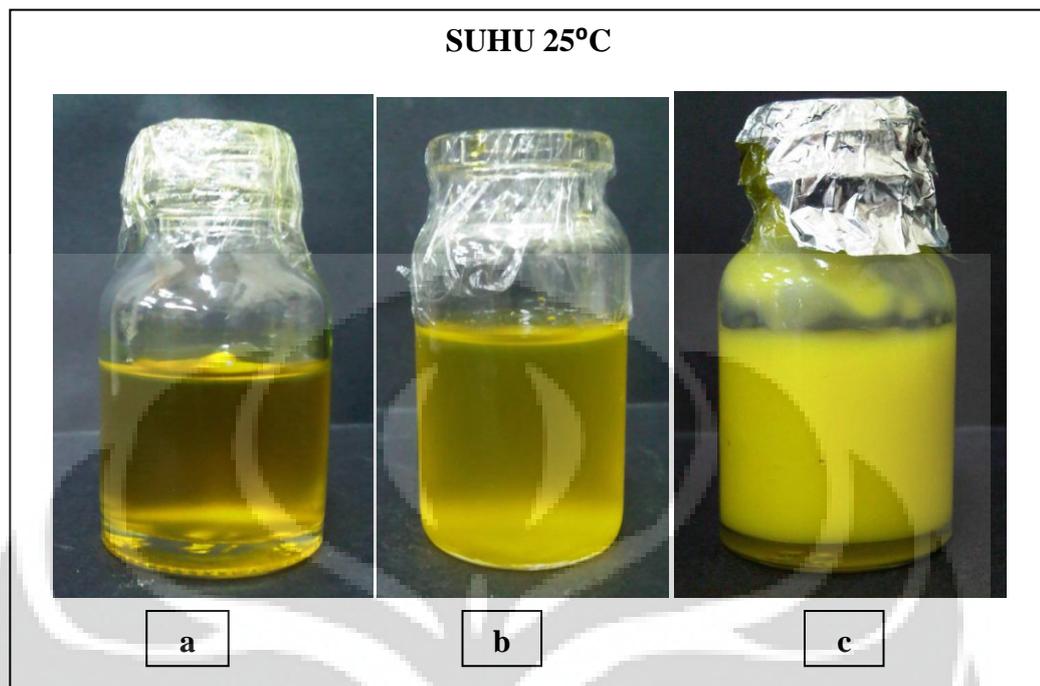
(Lanjutan)



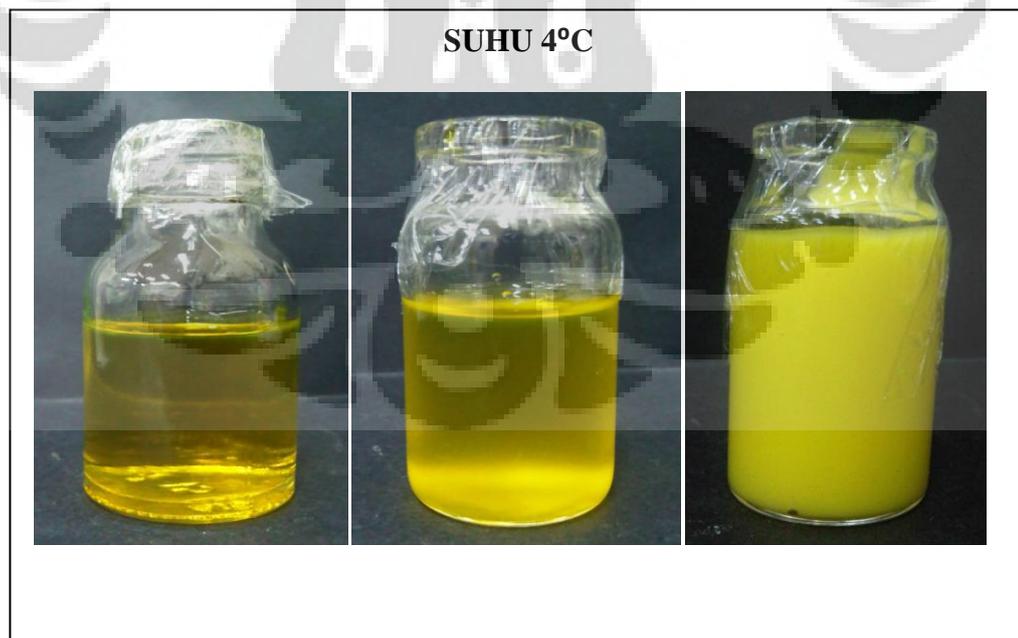
Lampiran 3. Foto nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel minggu ke-4: a.) Nanoemulsi; b.) Nanoemulsi gel; c.) Emulsi gel



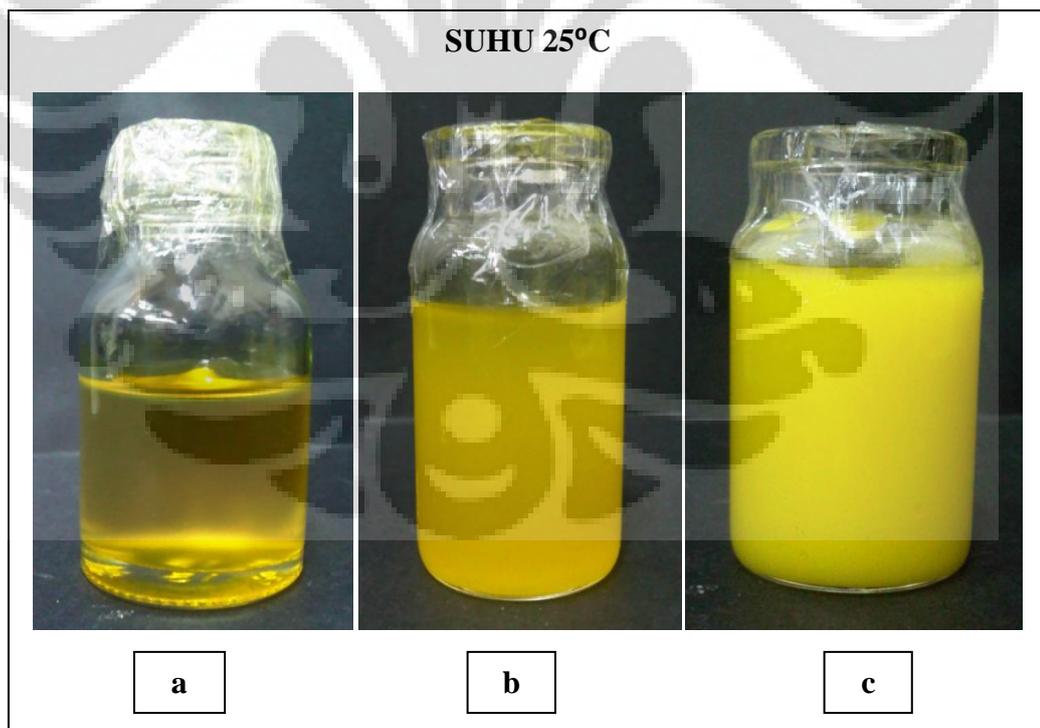
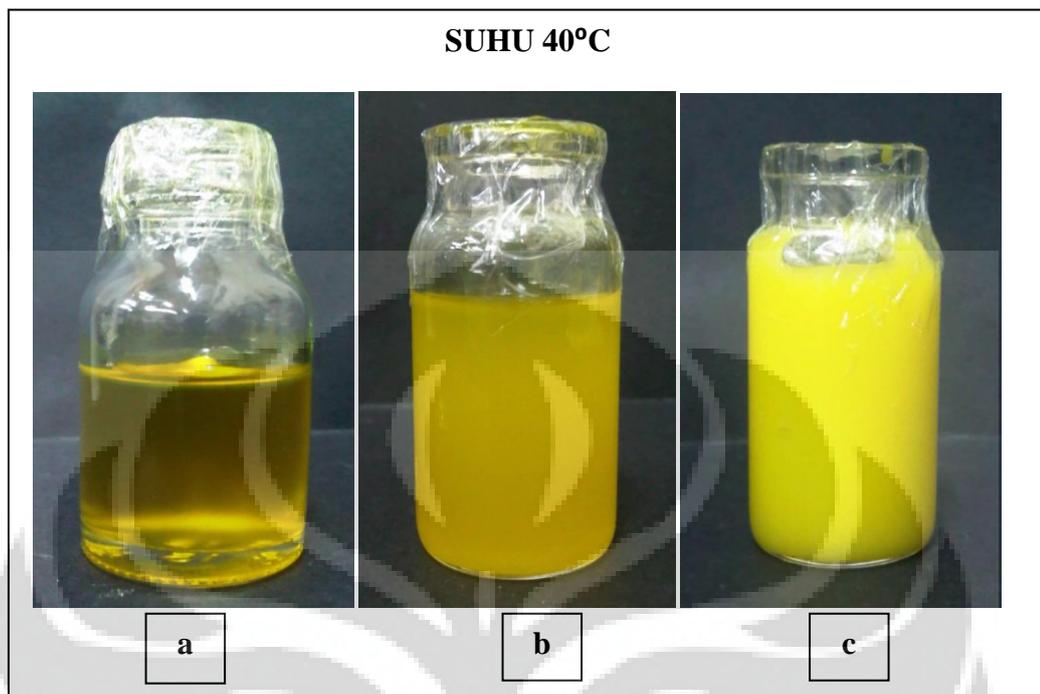
(Lanjutan)



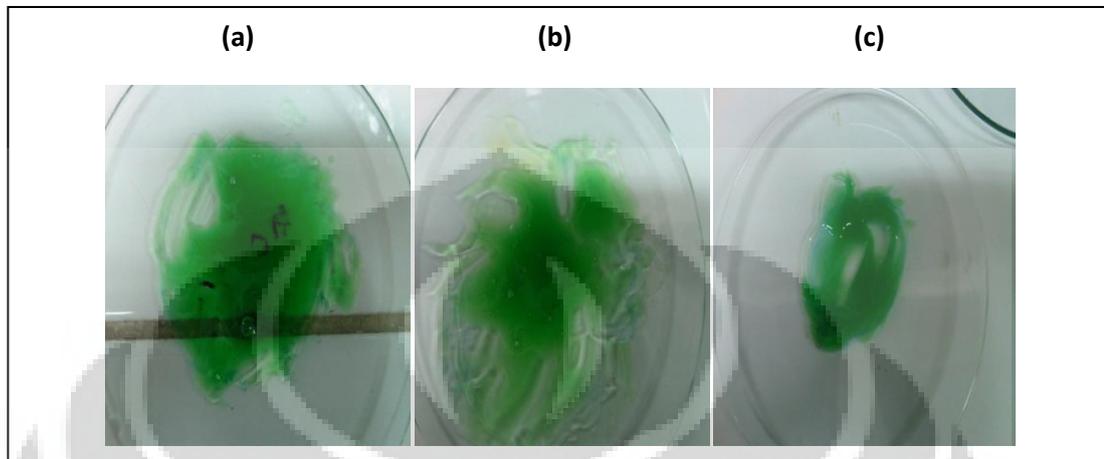
Lampiran 4. Foto nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel pada minggu ke-6:
a.) nanoemulsi; b.) nanoemulsi gel; c.) emulsi gel



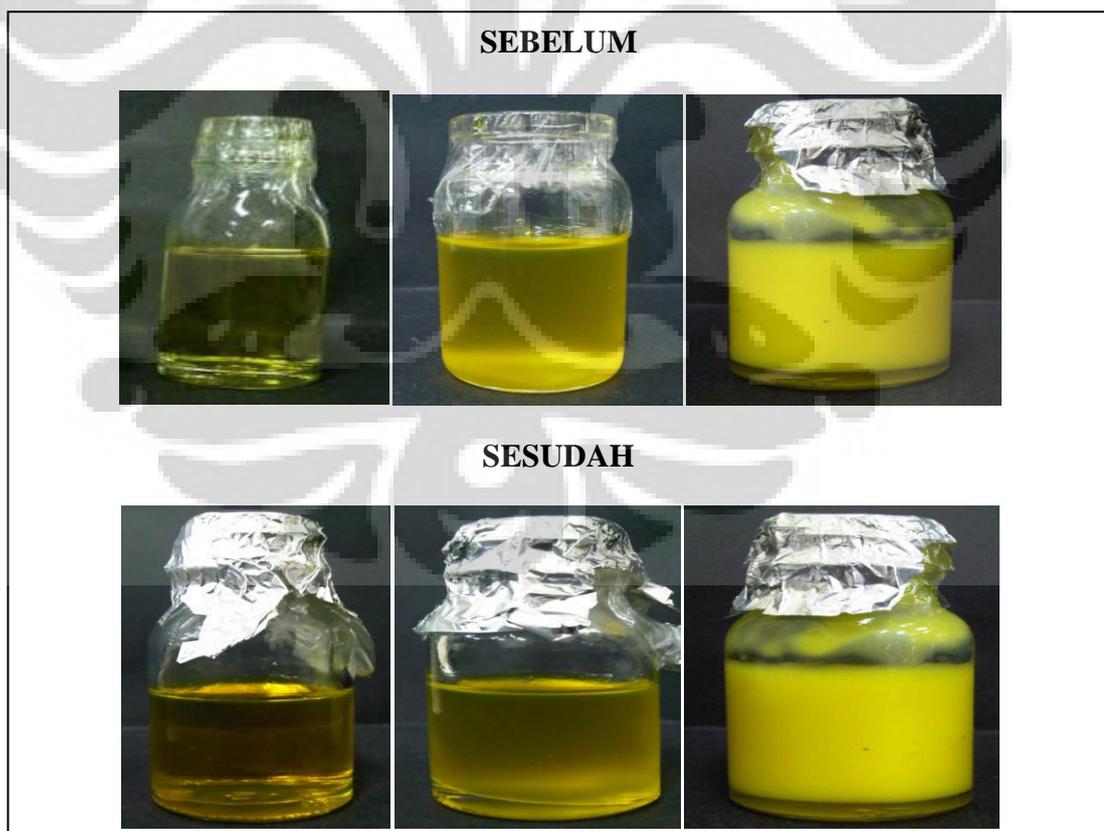
(Lanjutan)



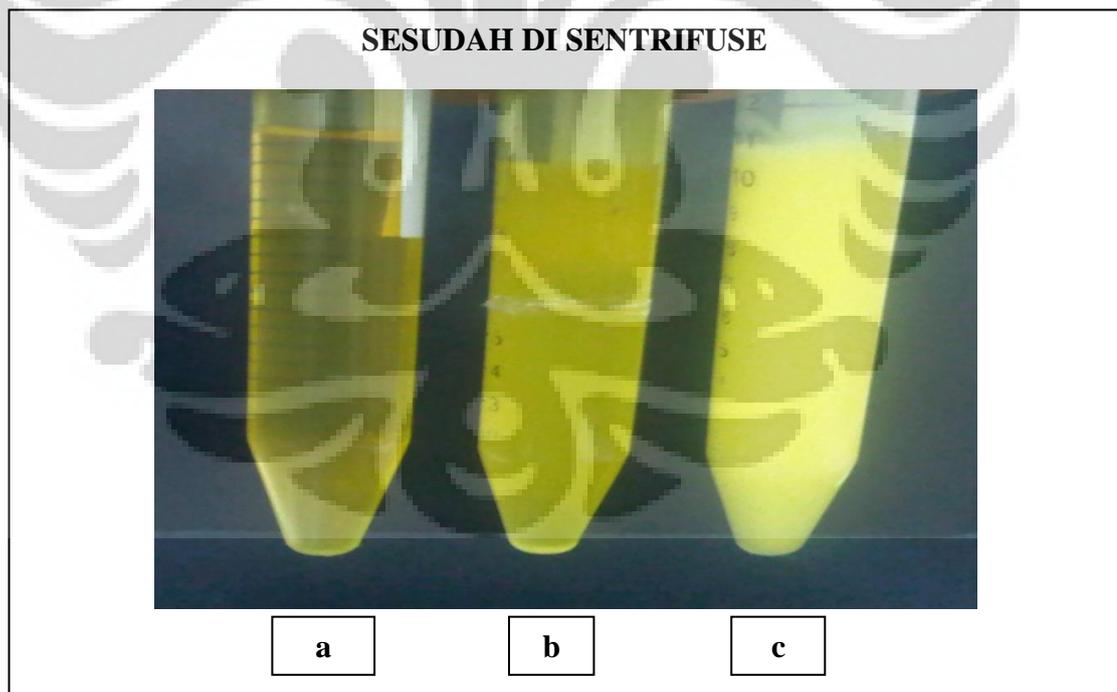
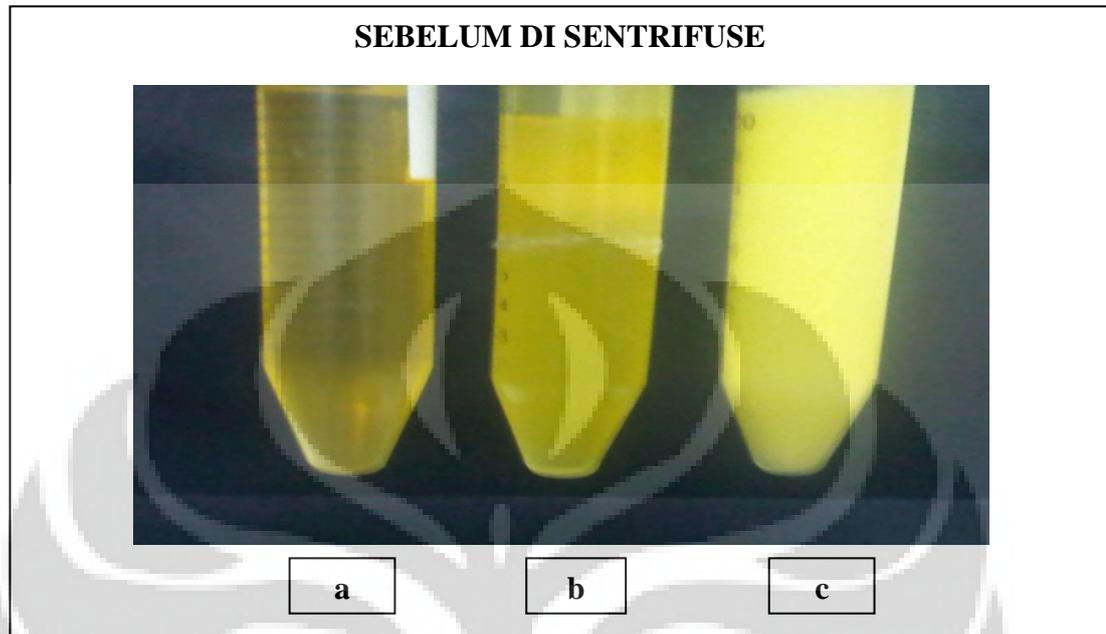
Lampiran 5. Pemeriksaan tipe nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel menggunakan biru metilen: a). Sediaan nanoemulsi; b). Nanoemulsi gel; c). Emulsi gel

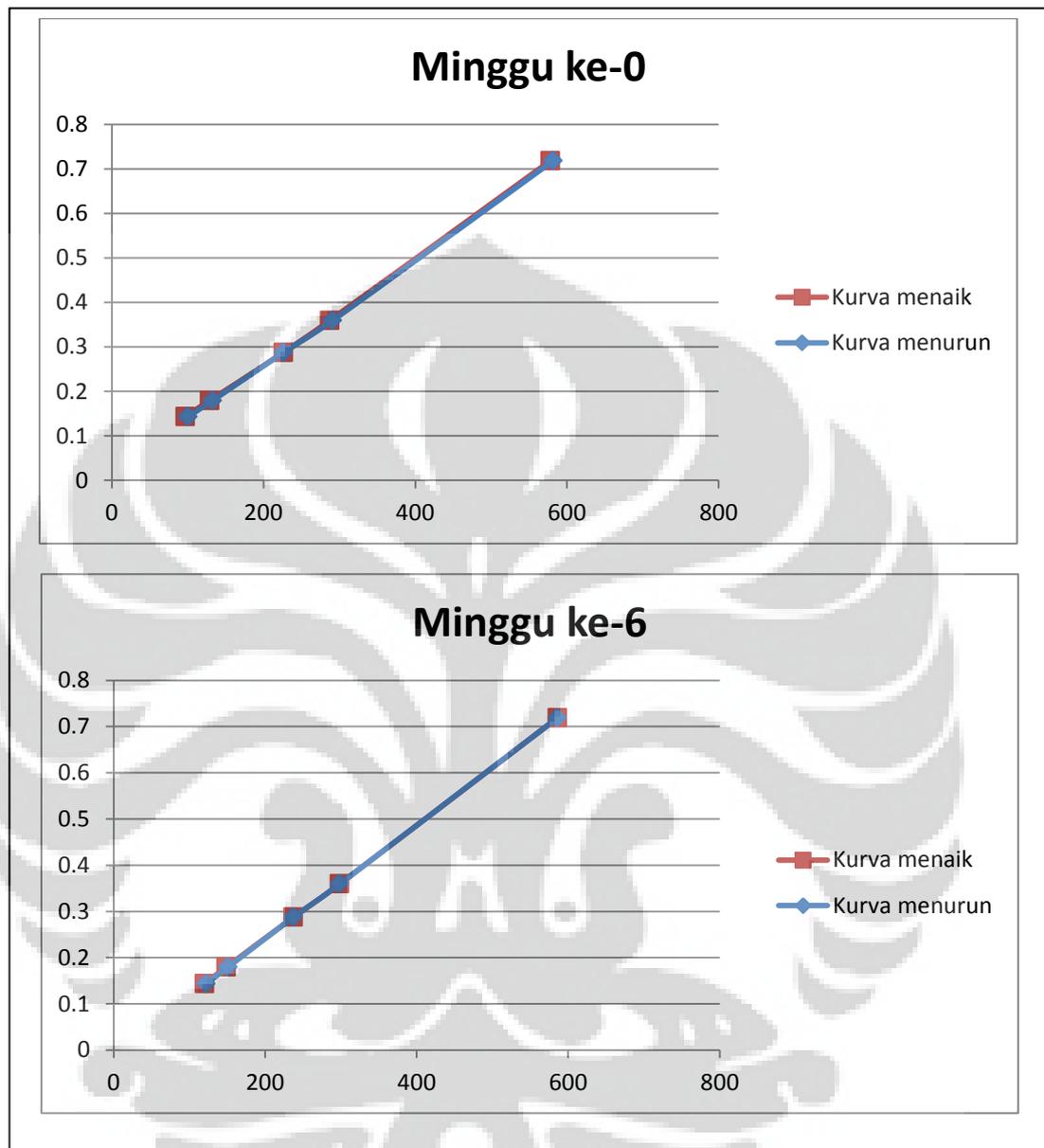


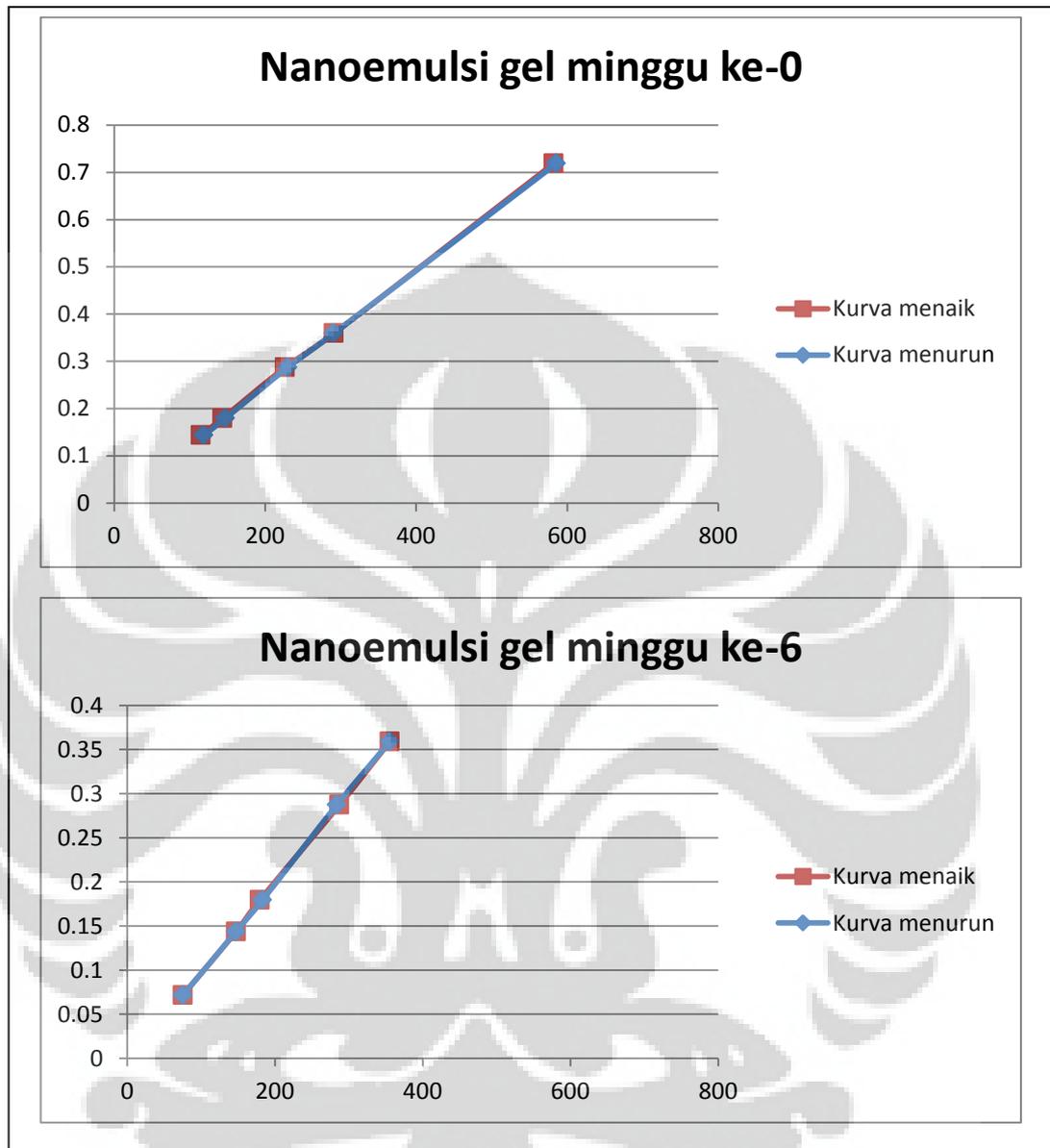
Lampiran 6. Foto *cycling test* sediaan: nanoemulsi (kiri); nanoemulsi gel (tengah); emulsi gel (kanan)

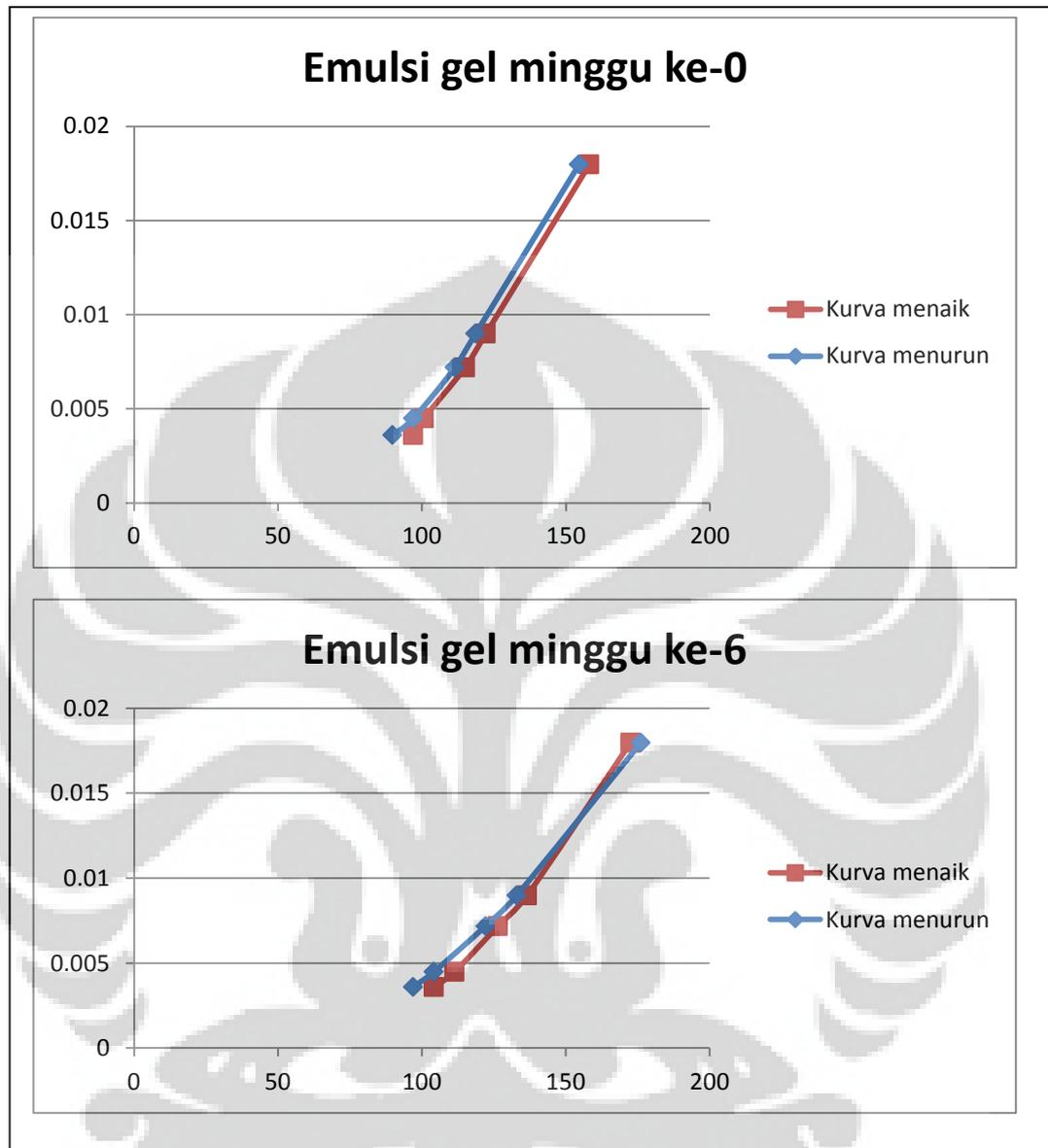


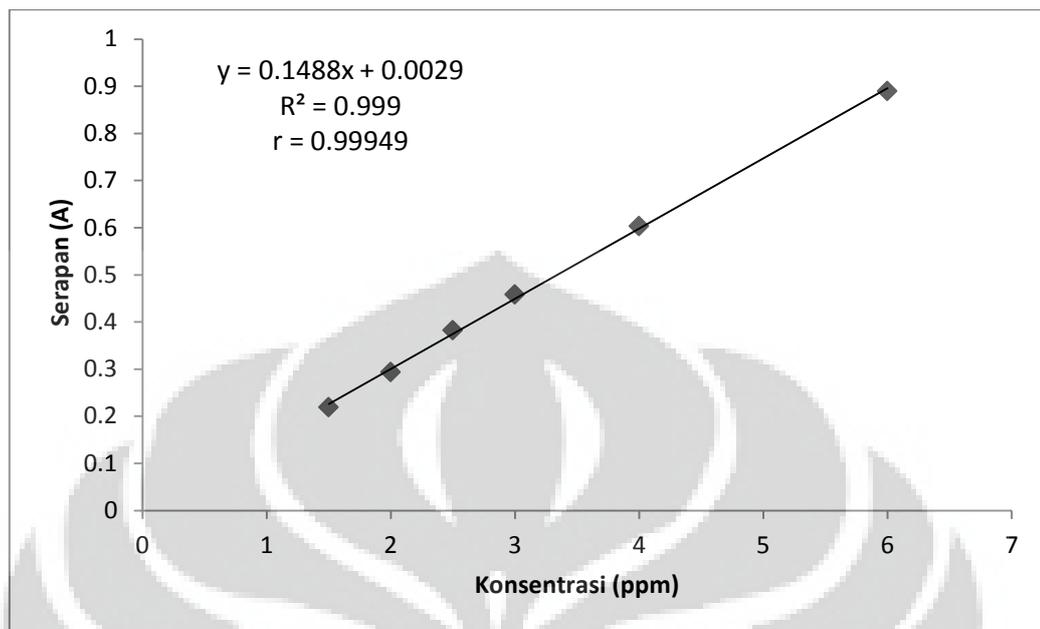
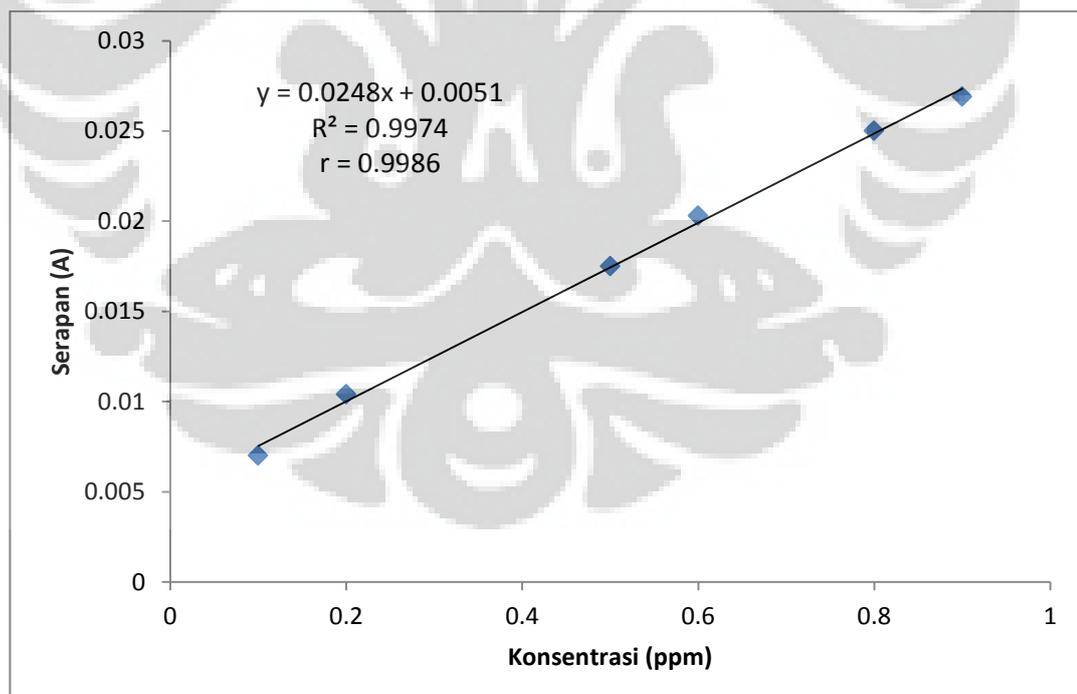
Lampiran 7. Uji sentrifugasi : a). Sediaan nanoemulsi; b). Nanoemulsi gel; c). Emulsi gel



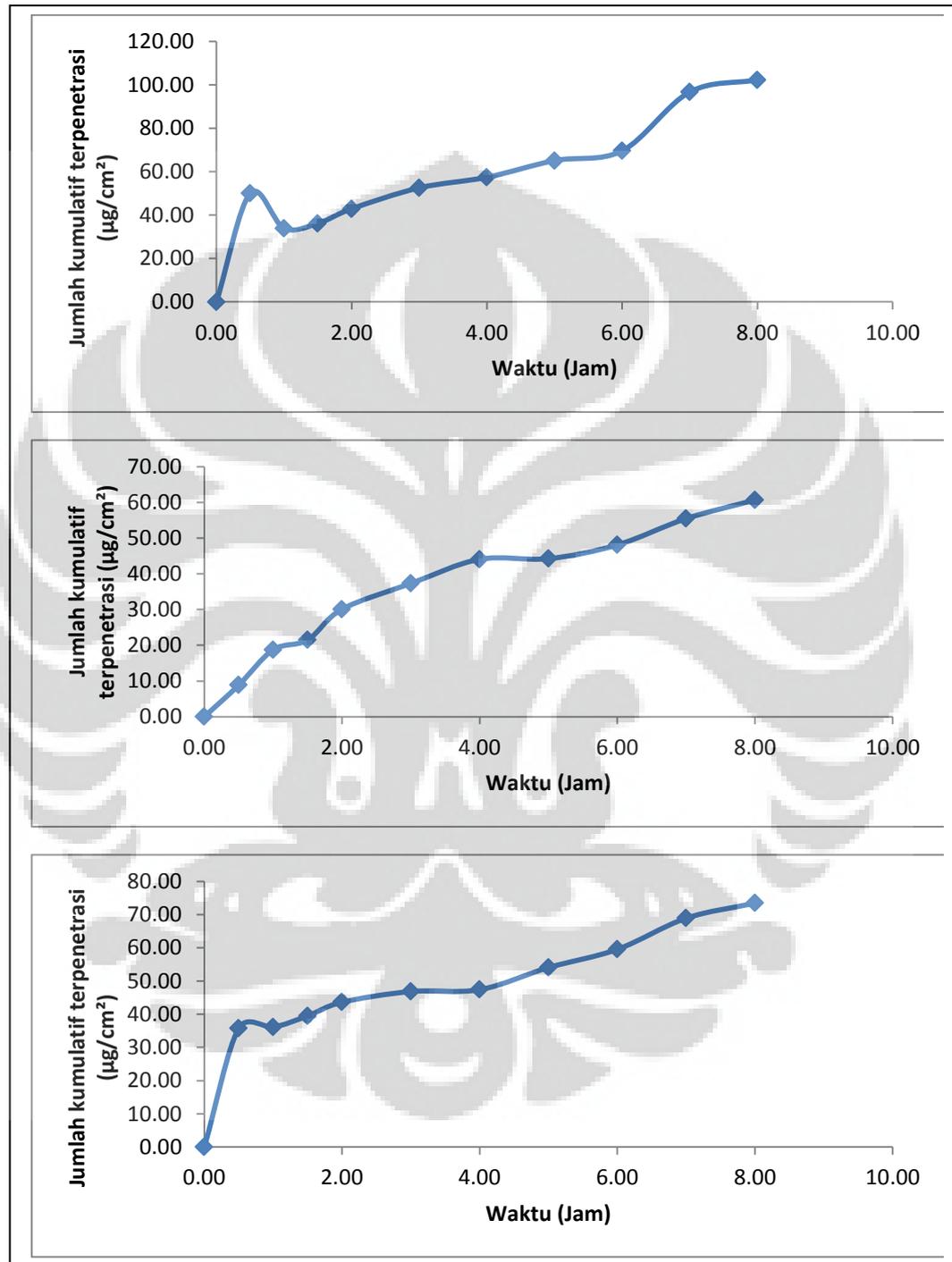
Lampiran 8. Viskositas nanoemulsi

Lampiran 9. Viskositas nanoemulsi gel

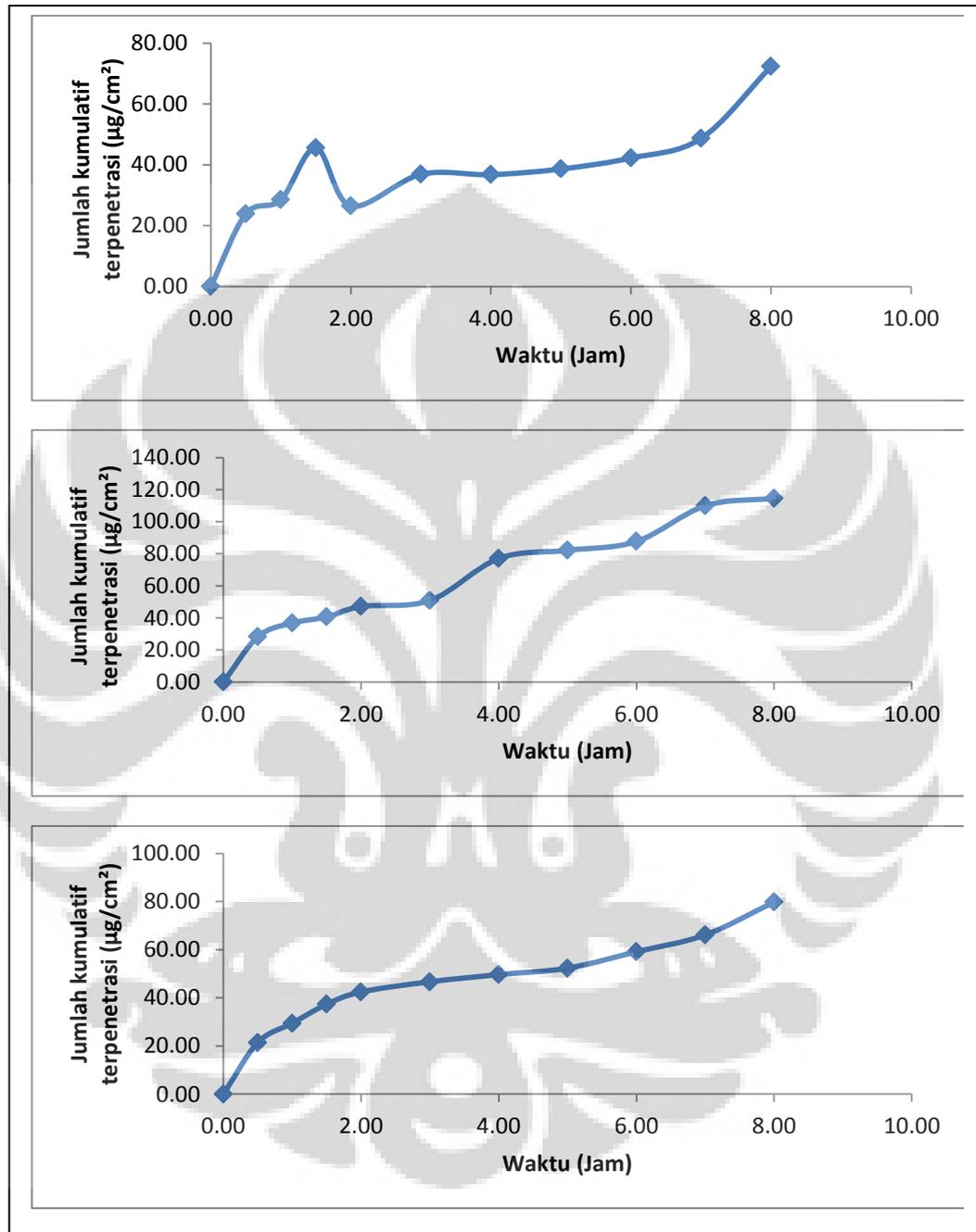
Lampiran 10. Viskositas emulsi gel

Lampiran 11. Kurva kalibrasi kurkumin dalam metanol**Lampiran 12.** Kurva kalibrasi kurkumin dalam dapar fosfat

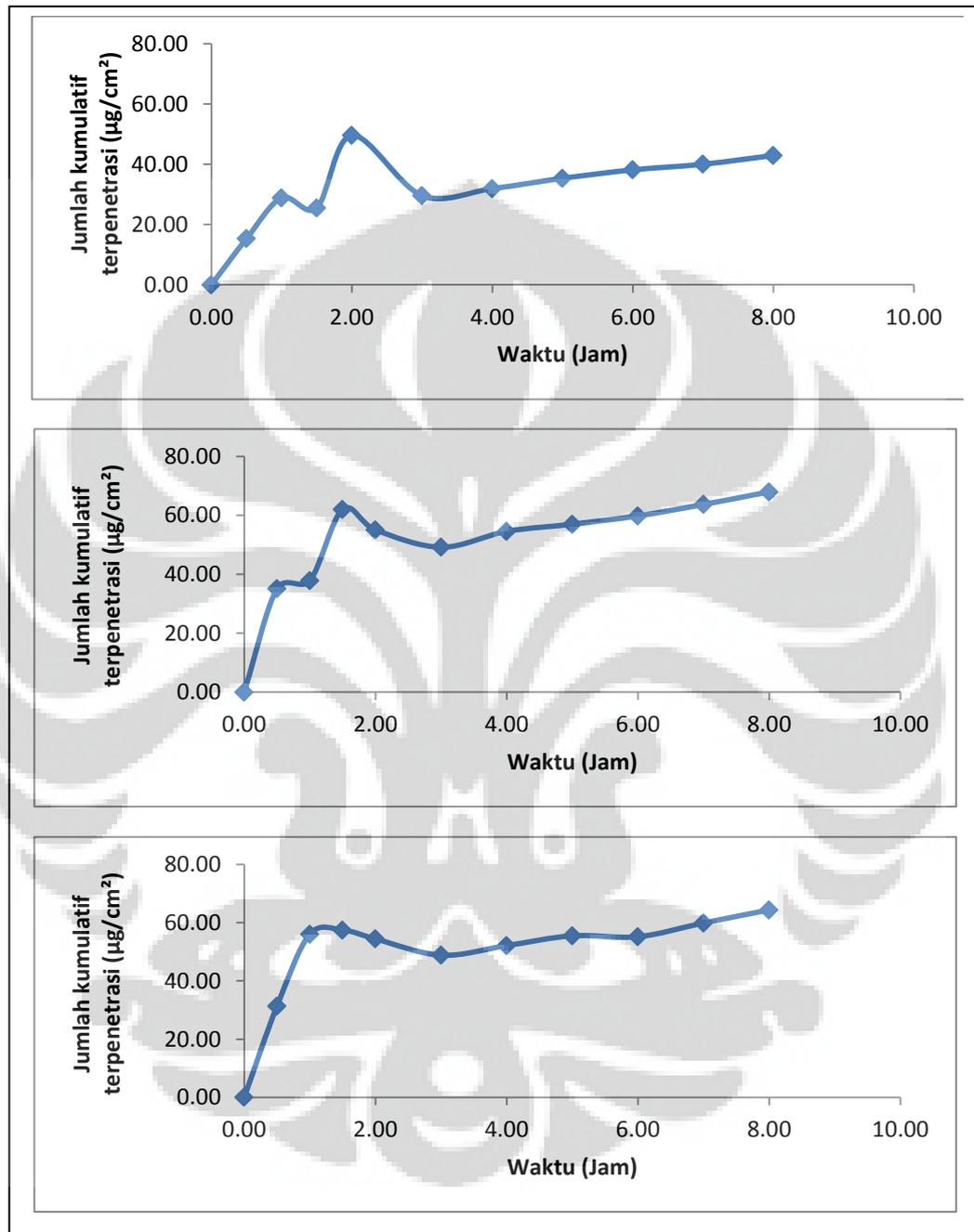
Lampiran 13. Jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi per satuan luas membran dari sediaan nanoemulsi dengan tiga kali percobaan.



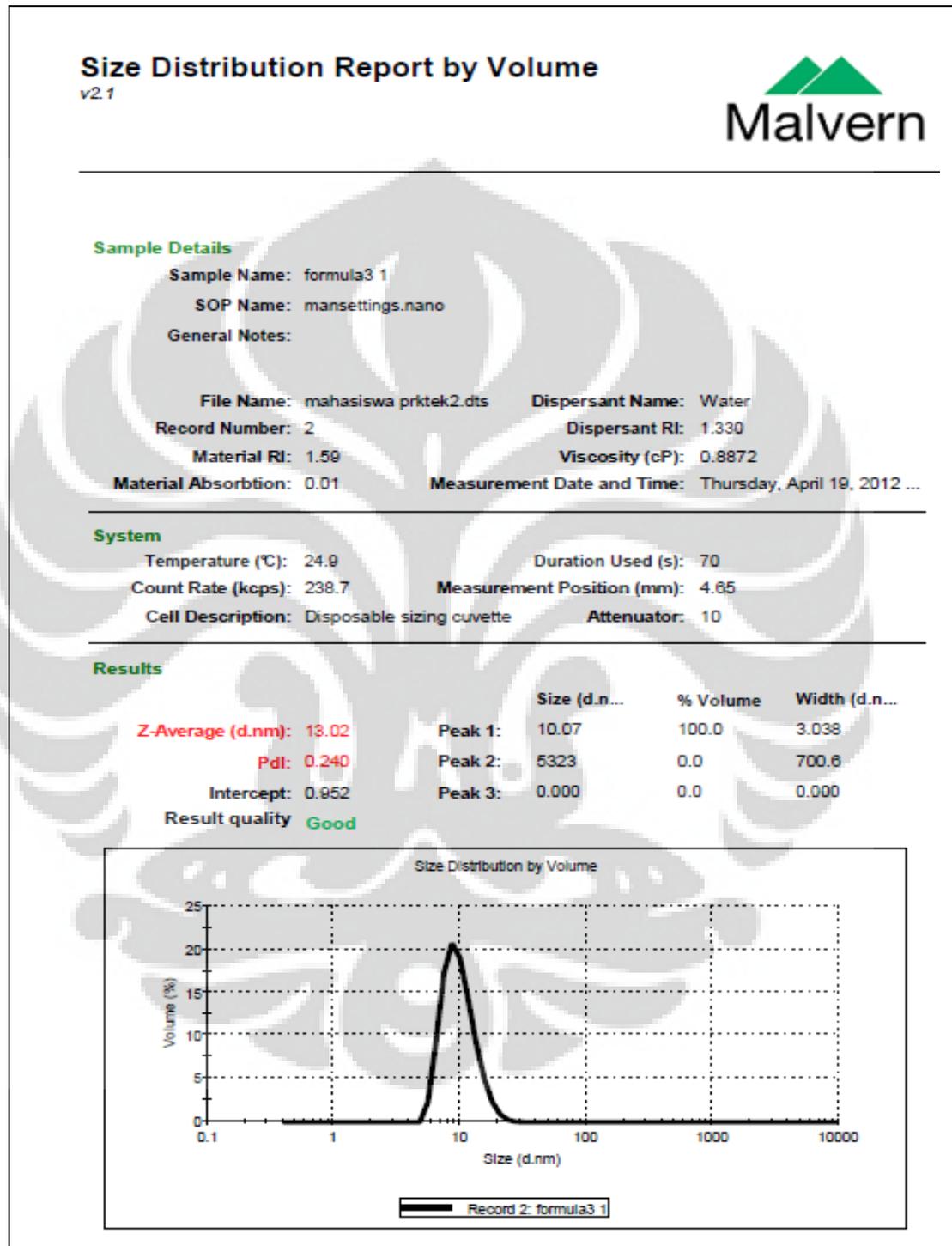
Lampiran 14. Jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi per satuan luas membran dari sediaan nanoemulsi gel dengan tiga kali percobaan.



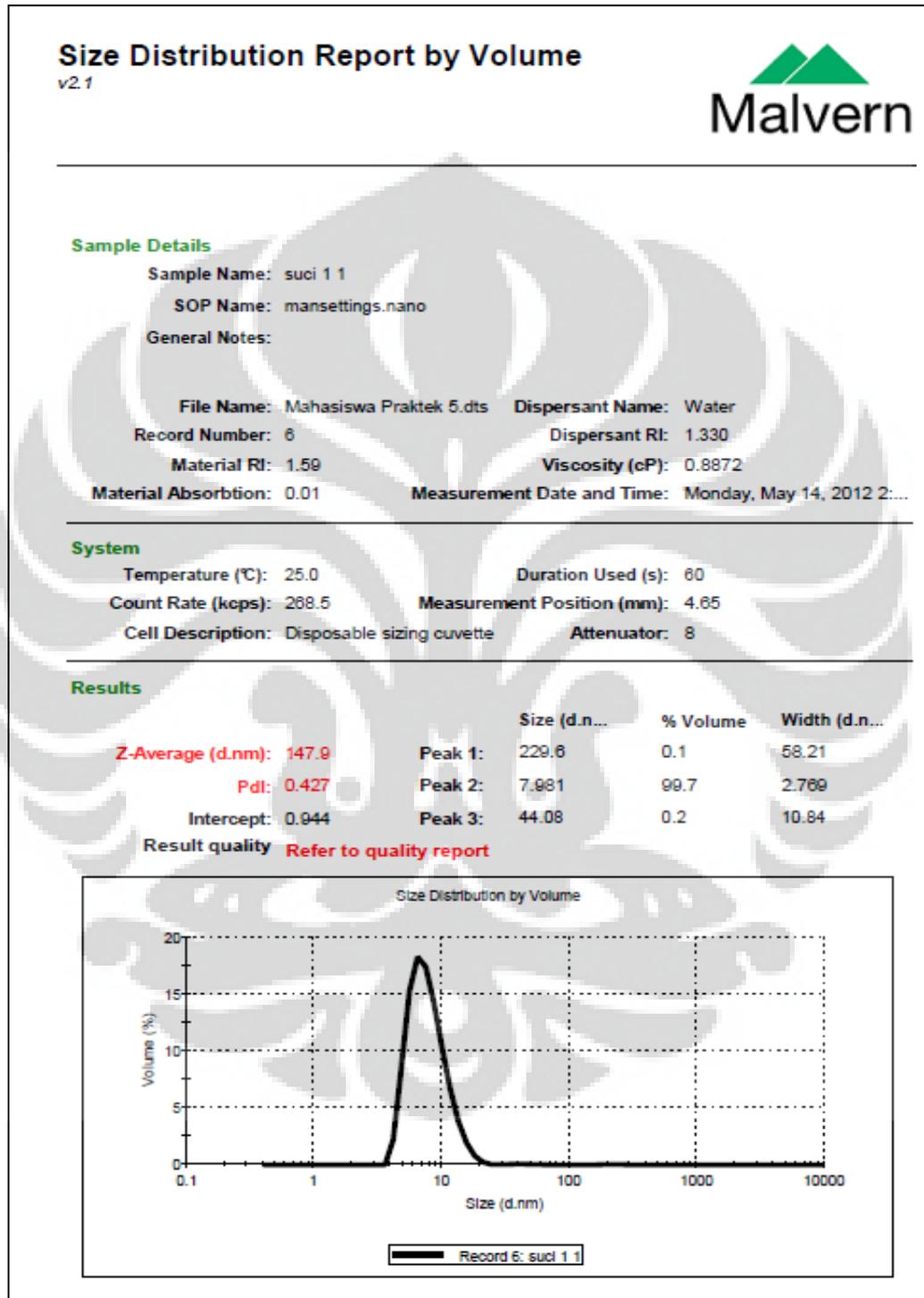
Lampiran 15. Jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi per satuan luas membran dari sediaan emulsi gel dengan tiga kali percobaan.



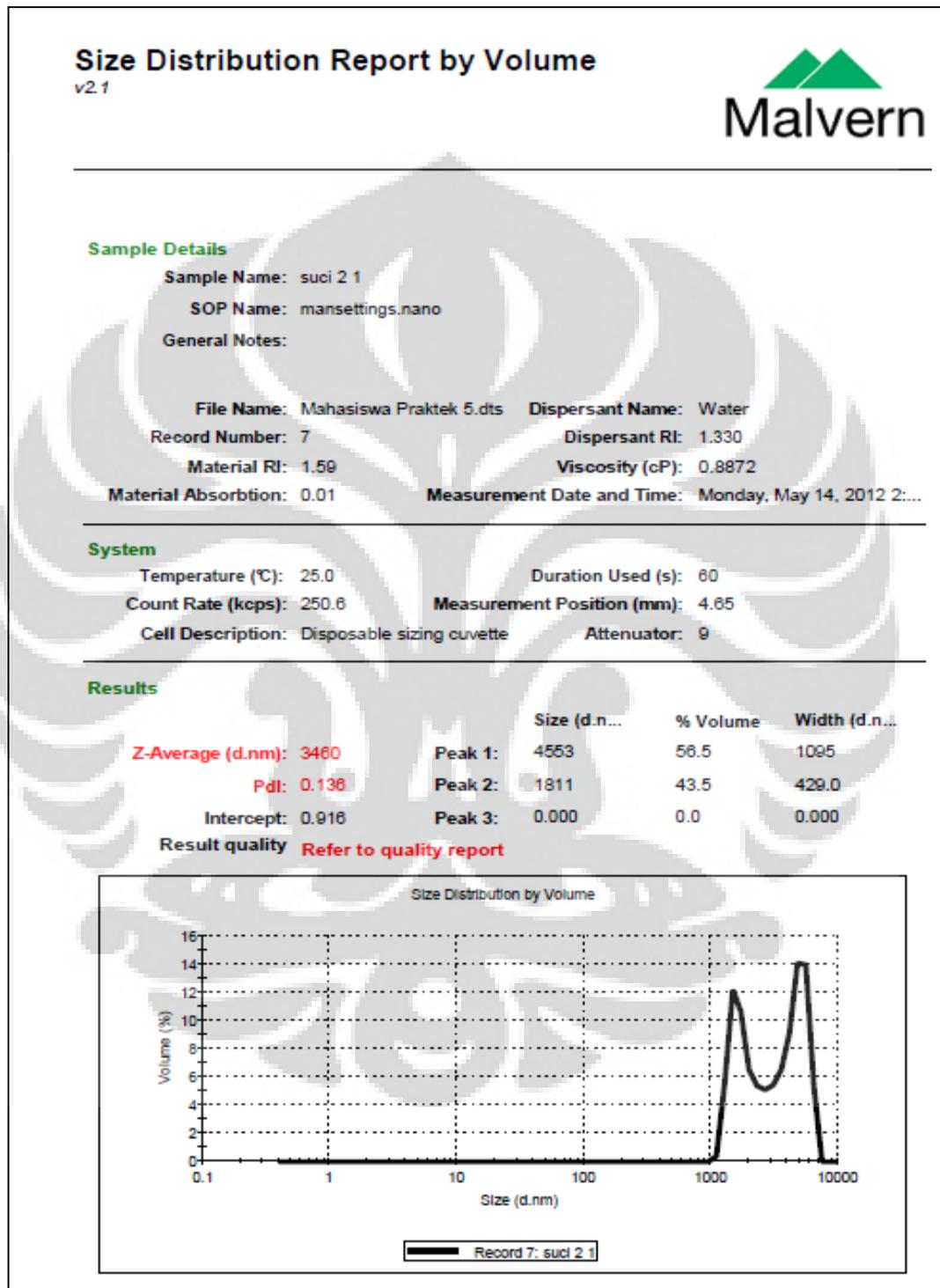
Lampiran 16. Pengukuran distribusi ukuran globul nanoemulsi menggunakan zetasizer.



Lampiran 17. Pengukuran distribusi ukuran globul pada sediaan nanoemulsi gel dengan menggunakan Zetasizer.



Lampiran 18. Pengukuran distribusi ukuran globul pada sediaan emulsi gel dengan menggunakan Zetasizer.



Lampiran 19. Data kurva kalibrasi kurkumin dalam metanol pada panjang gelombang 421,5 nm

Panjang gelombang (nm)	Konsentrasi (ppm)	Serapan (A)
421.5	1.5	0.2191
421.5	2	0.2933
421.5	2.5	0.3821
421.5	3	0.4583
421.5	4	0.6031
421.5	6	0.8896

Lampiran 20. Data kurva kalibrasi kurkumin dalam dapar fosfat pada panjang gelombang 424,5 nm

Panjang gelombang (nm)	Konsentrasi (ppm)	Serapan (A)
424.5	0.1	0.007
424.5	0.2	0.0104
424.5	0.5	0.0175
424.5	0.6	0.0203
424.5	0.8	0.025
424.5	0.9	0.0269

Lampiran 21. Data uji penetrasi kurkumin dari sediaan nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel berdasarkan uji penetrasi selama 8 jam

Waktu (Menit)	Jumlah Kurkumin Terpenetrasi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)		
	Nanoemulsi	Nanoemulsi Gel	Emulsi Gel
30	$31,54 \pm 20,91$	$24,51 \pm 3,45$	$27,23 \pm 10,49$
60	$29,58 \pm 9,46$	$31,58 \pm 4,57$	$40,87 \pm 13,85$
90	$32,37 \pm 9,58$	$41,15 \pm 4,14$	$48,30 \pm 19,88$
120	$38,86 \pm 7,61$	$38,68 \pm 10,85$	$53,01 \pm 3,00$
180	$45,55 \pm 7,70$	$44,79 \pm 7,18$	$42,52 \pm 11,20$
240	$49,62 \pm 6,94$	$54,50 \pm 20,62$	$46,18 \pm 12,41$
300	$54,46 \pm 10,43$	$57,70 \pm 22,27$	$49,26 \pm 12,09$
360	$59,08 \pm 10,76$	$63,01 \pm 22,98$	$51,03 \pm 11,40$
420	$73,68 \pm 21,02$	$74,91 \pm 31,59$	$54,51 \pm 12,71$
480	$78,79 \pm 21,30$	$88,89 \pm 22,59$	$58,41 \pm 13,55$

Lampiran 22. Data perhitungan fluks kurkumin tiap waktu pengambilan dari sediaan nanoemulsi, nanoemulsi gel, dan emulsi gel berdasarkan uji penetrasi selama 8jam

Waktu (Menit)	Fluks kurkumin ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \text{jam}^{-1}$)		
	Nanoemulsi	Nanoemulsi Gel	Emulsi Gel
30	$63,08 \pm 41,82$	$49,02 \pm 6,91$	$54,46 \pm 20,97$
60	$29,57 \pm 9,46$	$31,58 \pm 4,57$	$40,87 \pm 13,85$
90	$21,58 \pm 6,39$	$27,43 \pm 2,76$	$32,20 \pm 13,25$
120	$19,43 \pm 3,80$	$19,34 \pm 5,42$	$26,51 \pm 1,50$
180	$15,18 \pm 2,57$	$14,93 \pm 2,39$	$14,17 \pm 3,73$
240	$12,40 \pm 1,73$	$13,62 \pm 5,15$	$11,55 \pm 3,10$
300	$10,89 \pm 2,09$	$11,54 \pm 4,45$	$9,85 \pm 2,42$
360	$9,85 \pm 1,79$	$10,50 \pm 3,83$	$8,50 \pm 1,90$
420	$10,53 \pm 3,00$	$10,70 \pm 4,51$	$7,79 \pm 1,82$
480	$9,85 \pm 2,66$	$11,11 \pm 2,82$	$7,30 \pm 1,69$

Lampiran 23. Data viskositas nanoemulsi

a.) Minggu ke-0

spindel	kecepatan	Dial reading	Faktor koreksi	viskositas	shearing stress F/A = $dr \times 7.187$ (dyne/cm ²)	rate of shear $Dv/dr = F/A \times 1/\eta$
1	2	13,5	50	675	97,02	0,14
	2,5	18	40	720	129,37	0,18
	4	31,5	25	787,5	226,39	0,29
	5	40	20	800	287,48	0,35
	10	80,5	10	805	578,55	0,72
	10	81	10	810	582,15	0,72
	5	40,5	20	810	291,07	0,36
	4	31,5	25	787,5	226,39	0,29
	2,5	18,5	40	740	132,96	0,18
	2	14	50	700	100,62	0,14

b.) Minggu ke-6

spindel	kecepatan	Dial reading	Faktor koreksi	viskositas	shearing stress F/A = $dr \times 7.187$ (dyne/cm ²)	rate of shear $Dv/dr = F/A \times 1/\eta$
1	2	16,7	50	835	120,02	0,14
	2,5	20,7	40	828	148,77	0,18
	4	33	25	825	237,17	0,29
	5	41,5	20	830	298,26	0,35
	10	81,5	10	815	585,74	0,72
	10	81,5	10	815	585,74	0,72
	5	41,5	20	830	298,26	0,36
	4	33	25	825	237,17	0,29
	2,5	21	40	840	150,93	0,18
	2	17	50	850	122,18	0,14

Lampiran 24. Data viskositas sediaan nanoemulsi gel:

a.) Minggu ke-0

Spindle	kecepatan	Dial reading	Faktor koreksi	viskositas	shearing stress F/A = $dr \times 7.187$ (dyne/cm ²)	rate of shear $Dv/dr = F/A \times 1/\eta$
1	2	16	50	800	114,99	0,14
	2,5	20	40	800	143,74	0,18
	4	31,5	25	787,5	226,39	0,29
	5	40,5	20	810	291,07	0,35
	10	81	10	810	582,15	0,72
	10	81,5	10	815	585,74	0,72
	5	40,5	20	810	291,07	0,36
	4	32	25	800	229,98	0,29
	2,5	20,5	40	820	147,33	0,18
	2	16,5	50	825	118,58	0,14

b.) Minggu ke-6

Spindle	kecepatan	Dial reading	Faktor koreksi	viskositas	shearing stress F/A = $dr \times 7.187$ (dyne/cm ²)	rate of shear $Dv/dr = F/A \times 1/\eta$
1	1	10,5	100	1050	75,46	0,07
	2	20,5	50	1025	147,33	0,14
	2,5	25	40	1000	179,67	0,18
	4	40	25	1000	287,48	0,29
	5	49,5	20	990	355,76	0,36
	5	49,5	20	990	355,76	0,36
	4	39,5	25	987,5	283,89	0,29
	2,5	25,5	40	1020	183,27	0,18
	2	20,5	50	1025	147,33	0,14
	1	10,5	100	1050	75,46	0,07

Lampiran 25. Data viskositas sediaan emulsi gel

a.) Minggu ke-0

spindel	kecepatan	Dial reading	Faktor koreksi	viskositas	shearing stress F/A = $dr \times 7.187$ (dyne/cm ²)	rate of shear $Dv/dr = F/A \times 1/\eta$
5	2	13,5	2000	27.000	97,02	0,003
	2,5	14	1600	22.400	100,61	0,004
	4	16	1000	16.000	114,99	0,007
	5	17	800	13.600	122,18	0,009
	10	22	400	8.800	158,11	0,017
	10	21,5	400	8.600	154,52	0,017
	5	16,5	800	13.200	118,58	0,009
	4	15,5	1000	15.500	111,40	0,007
	2,5	13,5	1600	21.600	97,02	0,004
2	12,5	2000	25.000	89,84	0,003	

b.) Minggu ke-6

spindel	kecepatan	Dial reading	Faktor koreksi	viskositas	shearing stress F/A = $dr \times 7.187$ (dyne/cm ²)	rate of shear $Dv/dr = F/A \times 1/\eta$
5	2	14,5	2000	29.000	104,21	0,003
	2,5	15,5	1600	24.800	111,40	0,004
	4	17,6	1000	17.600	126,49	0,007
	5	19	800	15.200	136,55	0,009
	10	24	400	9.600	172,49	0,017
	10	24,5	400	9.800	176,08	0,017
	5	18,5	800	14.800	132,96	0,009
	4	17	1000	17.000	122,18	0,007
	2,5	14,5	1600	23.200	104,21	0,004
2	13,5	2000	27.000	97,02	0,003	

Lampiran 26. Perhitungan HLB

1. Perhitungan HLB minyak kelapa sawit

Persentase fase minyak dalam minyak kelapa sawit :

Asam miristat	: 1,1%
Asam palmitat	: 40%
Asam stearat	: 3,6%
Asam oleat	: 39%
Asam linoleat	: 7%
<hr/>	
Total	: 90,7%

Angka Gugus HLB

	Gugusan senyawa	Angka gugus
Gugus Hidrofilik	-SO ₄ - Na ⁺	38,7
	-COO- Na ⁺	19,1
	Ester (cincin sorbitan)	6,8
	Ester (bebas)	2,4
	Hidroksil (bebas)	1,9
	Hidroksil (cincin sorbitan)	0,5
	-COOH	2,1
Gugus Lipofilik	-CH-	-0,475
	-CH ₂ -	
	-CH ₃	
	=CH-	

Dari rumus bangun dapat dihitung harga HLB sebagai berikut :

Rumus:

$$HLB = \Sigma (\text{angka gugus hidrofilik}) - \Sigma (\text{angka gugus lipofilik}) + 7$$

- Asam miristat $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12} \text{COOH}$
 $\text{HLB} = 2,1 - (-0,475 \times 13) + 7 = 15,275$
- Asam Palmitat $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{14} \text{COOH}$

$$\text{HLB} = 2,1 - (-0,475 \times 15) + 7 = 16,225$$

- Asam linoleat $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4=\text{CH}-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
 $\text{HLB} = 2,1 - (-0,475 \times 16) + 7 = 16,7$
- Oleat $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
 $\text{HLB} = 2,1 - (-0,475 \times 16) + 7 = 16,7$
- Stearat $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
 $\text{HLB} = 2,1 - (-0,475 \times 17) + 7 = 17,175$

Konsentrasi masing –masing minyak di dalam fase minyak :

$$\text{Asam miristat} : \frac{1,1\%}{90,7\%} \times 100\% = 1,213\%$$

$$\text{Asam palmitat} : \frac{40\%}{90,7\%} \times 100\% = 44,101\%$$

$$\text{Asam stearat} : \frac{3,6\%}{90,7\%} \times 100\% = 3,969\%$$

$$\text{Asam oleat} : \frac{39\%}{90,7\%} \times 100\% = 42,999\%$$

$$\text{Asam linoleat} : \frac{7\%}{90,7\%} \times 100\% = 7,718\%$$

HLB minyak kelapa sawit

$$\text{Asam miristat} : 1,213\% \times 15,275 = 0,1853$$

$$\text{Asam palmitat} : 44,101\% \times 16,225 = 7,1554$$

$$\text{Asam stearat} : 3,969\% \times 17,175 = 0,6748$$

$$\text{Asam oleat} : 42,999 \times 16,7 = 7,3098$$

$$\text{Asam linoleat} : 7,718\% \times 18,5 = 1,4277 +$$

$$\text{Total HLB} = 16,49$$

2. Perhitungan HLB VCO (Virgin Coconut Oil)

Persentase fase minyak dalam VCO :

$$\text{Asam Kaprilat} : 56,4\%$$

$$\text{Asam Kaprat} : 43,34\%$$

$$\text{Asam Laurat} : 0,2\% +$$

$$\text{Total} : 99,94\%$$

Angka Gugus HLB

	Gugusan senyawa	Angka gugus
Gugus Hidrofilik	-SO ₄ - Na ⁺	38,7
	-COO- Na ⁺	19,1
	Ester (cincin sorbitan)	6,8
	Ester (bebas)	2,4
	Hidroksil (bebas)	1,9
	Hidroksil (cincin sorbitan)	0,5
	-COOH	2,1
	Gugus Lipofilik	-CH-
-CH ₂ -		
-CH ₃		
=CH-		

Dari rumus bangun dapat dihitung harga HLB sebagai berikut :

Rumus:

$$HLB = \Sigma (\text{angka gugus hidrofilik}) - \Sigma (\text{angka gugus lipofilik}) + 7$$

- Kaprilat CH₃ (CH₂)₆ COOH
HLB = 2,1 - (-0,475x7) + 7 = 12,425
- Kaprat CH₃ (CH₂)₈ COOH
HLB = 2,1 - (-0,475 x 9) + 7 = 13,375
- Laurat CH₃ (CH₂)₁₀ COOH
HLB = 2,1 - (-0,475 x 11) + 7 = 14,325

Konsentrasi masing –masing minyak di dalam fase minyak :

$$\text{Kaprilat} : \frac{56,4\%}{99,94\%} \times 100\% = 0,56\%$$

$$\text{Kaprat} : \frac{43,34\%}{99,94\%} \times 100\% = 0,43\%$$

$$\text{Laurat} : \frac{0,2\%}{99,94\%} \times 100\% = 0,002\%$$

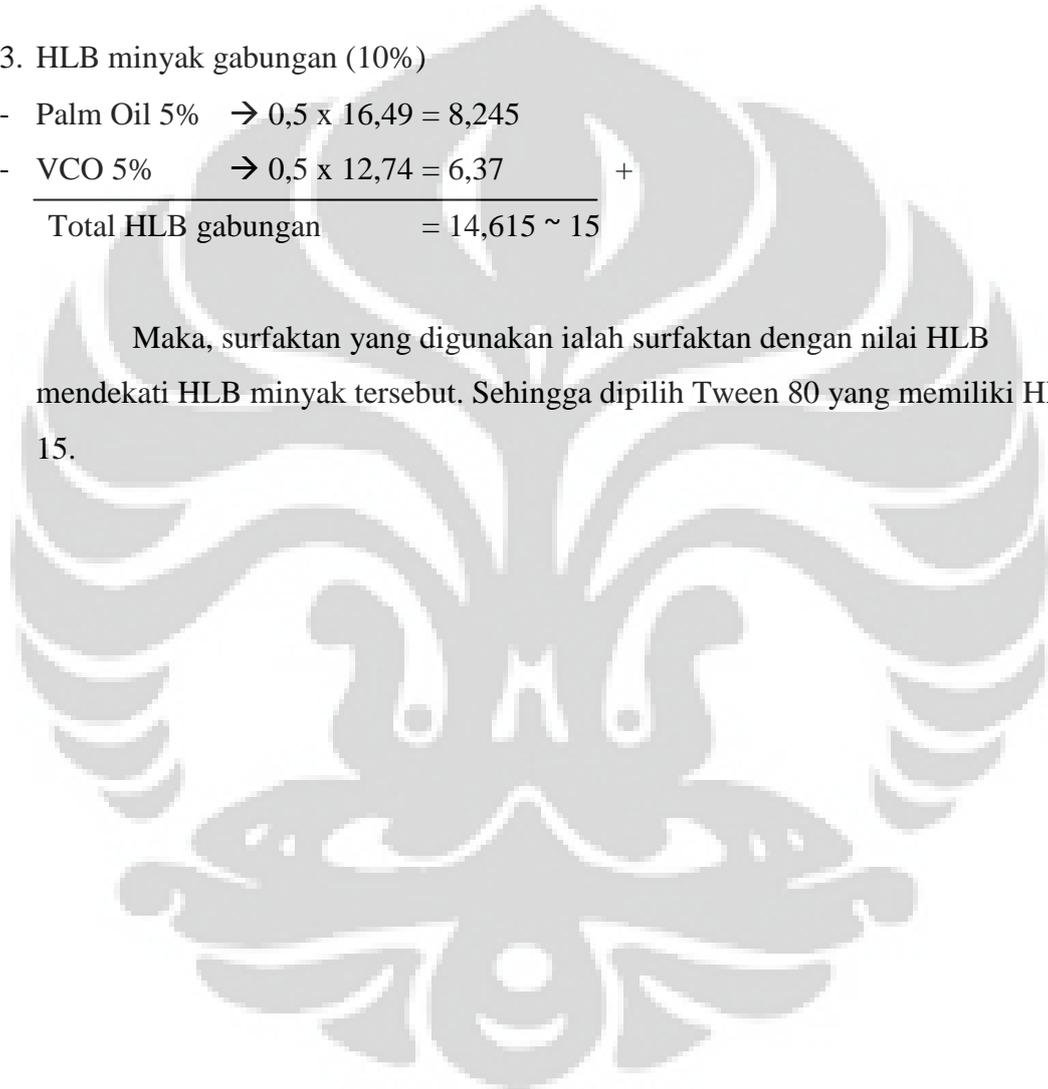
HLB VCO

Kaprilat	: 0,56% x 12,425	= 6,958
Kaprat	: 0,43% x 13,375	= 13,375
Laurat	: 0,002% x 14,325	= 14,325 +
<hr/>		
Total HLB		= 12,74

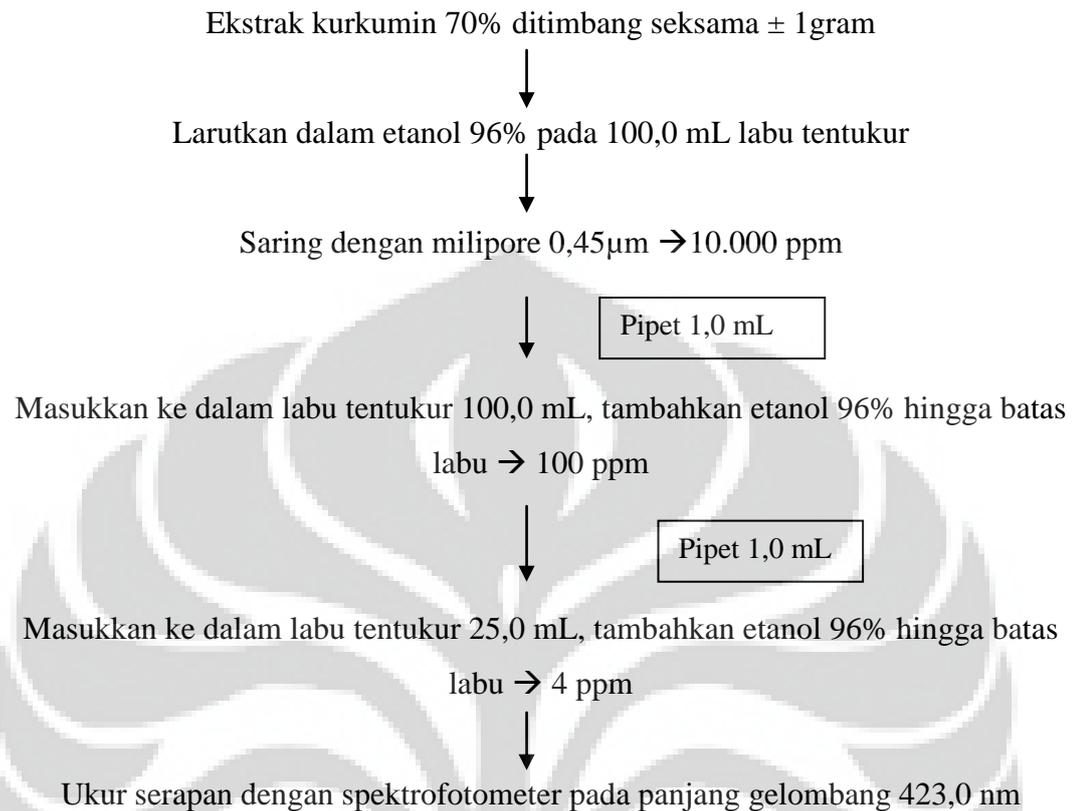
3. HLB minyak gabungan (10%)

- Palm Oil 5%	→ 0,5 x 16,49 = 8,245	
- VCO 5%	→ 0,5 x 12,74 = 6,37	+
<hr/>		
Total HLB gabungan		= 14,615 ~ 15

Maka, surfaktan yang digunakan ialah surfaktan dengan nilai HLB mendekati HLB minyak tersebut. Sehingga dipilih Tween 80 yang memiliki HLB 15.



Lampiran 27. Perhitungan kadar ekstrak kurkumin dalam etanol 96%



- Serapan yang di dapat : 0,3276 A
- Persamaan regresi linear kurkumin dalam etanol 96% :
 $y = -0,0134 + 0,1469x$
 $0,3276 = -0,0134 + 0,1469 x$
 $x = 2,3215$ ppm
- Kadar ekstrak kurkumin dalam etanol 96% = $\frac{2,3215 \text{ ppm}}{4 \text{ ppm}} \times 100\% = 58\%$
Maka kadar ekstrak kurkumin dalam etanol 96% ialah 58 %
- Kadar kurkumin yang diinginkan dalam sediaan ialah 1,5%
Jumlah etanol 96% yang mengandung ekstrak kurkumin dimasukkan ke dalam sediaan sebanyak $\frac{1,5\%}{58\%} \times 100\% = 2,6\%$

Lampiran 27. Contoh perhitungan bobot jenis

Bobot minyak kelapa sawit diukur dengan menggunakan persamaan:

$$\text{bobot jenis} = \left[\frac{A2 - A}{A1 - A} \right] \times 1 \text{ g/ml}$$

Dimana, A : bobot piknometer kering (g)

A1 : bobot piknometer yang diisi dengan aquabidest (g)

A2 : bobot piknometer yang diisi dengan minyak kelapa sawit (g)

Diketahui:

$$A = 13,6310 \text{ g}$$

$$A1 = 24,2238 \text{ g}$$

$$A2 = 23,2763 \text{ g}$$

Oleh karena pengukuran dilakukan pada suhu 27°C maka berat jenis air = 0,9965

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis minyak kelapa sawit} &= \frac{A2 - A}{A1 - A} \times 0,9965 \text{ g/ml} \\ &= \frac{23,2763 - 13,6310}{24,2238 - 13,6310} \times 0,9965 \text{ g/ml} \\ &= 0,9074 \text{ g/ml} \end{aligned}$$

Jadi, bobot jenis minyak kelapa sawit = 0,9074 g/ml

Lampiran 28. Contoh perhitungan tegangan permukaan

Tegangan permukaan minyak kelapa sawit diukur dengan menggunakan persamaan:

$$S = P \times F$$

Dimana, S : tegangan permukaan yang absolut (dyne/cm)

P : tegangan permukaan yang ditunjukkan pada alat (dyne/cm)

F : faktor koreksi yang diukur dengan persamaan:

$$F = 0,7250 + \sqrt{\frac{0,01452 \times P}{C^2(D - d)}} + 0,04534 - \frac{1,679 \times r}{R}$$

Dimana, F : Faktor koreksi

R : Jari-jari cincin = 3 cm

r : Jari-jari kawat cincin = 0,007 inchi = 0,01778 cm

P : Angka yang ditunjukkan alat

D : Berat jenis fase yang di bawah

d : Berat jenis fase yang di atas

C : Keliling cincin $\rightarrow 2\pi r = 2 \times 3,14 \times 3 \text{ cm} = 18,84 \text{ cm}$

(Lanjutan)

1. Perhitungan faktor koreksi untuk minyak kelapa sawit

$$F = 0,7250 + \sqrt{\frac{0,01452 \times P}{C^2(D - d)} + 0,04534} - \frac{1,679 \times r}{R}$$

$$F = 0,7250 + \sqrt{\frac{0,01452 \times 39}{18,84 \times 18,84(0,9074 - 0)} + 0,04534} - \frac{1,679 \times 0,01778}{3}$$

$$F = 0,9177$$

2. Perhitungan tegangan permukaan absolut untuk minyak kelapa sawit

Diketahui:

$$P = 39 \text{ dyne/cm}$$

$$F = 0,9177$$

$$S = P \times F$$

$$= 39 \times 0,9177$$

$$= 35,7917 \text{ dyne/cm}$$

Jadi, tegangan permukaan absolut minyak kelapa sawit = 35,7917 dyne/cm

Lampiran 29. Contoh perhitungan penetapan kadar kurkumin dalam sediaan nanoemulsi

Persamaan regresi : $y = 0,0029 + 0,1488x$

Bobot nanoemulsi yang ditimbang : 1,0021 gram

Nanoemulsi ditambahkan metanol pada tabung sentrifuse hingga 10,0 mL

Sentrifuse selama 5 menit
dengan kecepatan 3000 rpm.

Filtrat kurkumin dalam metanol diambil dan dimasukkan ke dalam labu tentukur
100,0 mL

Lakukan berulang hingga filtrat metanol tidak berwarna kuning, kemudian labu
tentukur 100,0 mL ditambahkan metanol hingga batas.

Larutan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang
gelombang 421,5 nm

Didapat, serapan yang terukur : 0,2660 A

Konsentrasi sediaan dalam metanol : 10021 ppm

$$y = 0,0029 + 0,1488x$$

$$0,2660 = 0,0029 + 0,1488x$$

$$x = 1,7681 \text{ ppm}$$

Konsentrasi kurkumin dalam sediaan : 1,7681 ppm

$$\% \text{ kadar} = \frac{1,7681 \text{ ppm}}{10021 \text{ ppm}} \times 100\% = 0,0176 \%$$

Lampiran 30. Contoh perhitungan uji perolehan kembali (UPK) kurkumin dalam sediaan nanoemulsi

Persamaan regresi : $y = 0,0029 + 0,1488x$

Bobot nanoemulsi yang ditimbang : 1,0021 gram

Nanoemulsi ditambahkan metanol pada tabung sentrifuse hingga 10,0 mL

Sentrifuse selama 5 menit
dengan kecepatan 3000 rpm.

Filtrat kurkumin dalam metanol diambil dan dimasukkan ke dalam labu tentukur

100,0 mL

Lakukan berulang hingga filtrat metanol tidak berwarna kuning, kemudian labu tentukur 100,0 mL ditambahkan metanol hingga batas.

Larutan diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 421,5 nm

Didapat, serapan yang terukur : 0,2660 A

Konsentrasi kurkumin dalam sediaan : $\frac{1,5}{100} \times 1002100 \mu g = 15031,5 \mu g$

Konsentrasi kurkumin dalam metanol : $\frac{15031,5 \mu g}{100 ml} = 150,315 ppm$

$y = 0,0029 + 0,1488x$

$0,2660 = 0,0029 + 0,1488x$

$x = 1,7681 ppm$

Konsentrasi kurkumin dalam sediaan : 1,7681 ppm

% perolehan kembali = $\frac{1,7681 ppm}{150,315 ppm} \times 100\% = 1,1763 \%$

Lampiran 31. Contoh perhitungan jumlah kurkumin yang terpenetrasi dari sediaan nanoemulsi pada menit ke- 60

Serapan (y) = 0,0105 A

$y = 0.0248x + 0.0051$

$x = 0,2177$ ppm

Faktor pengenceran (FP) = volume labu tentukur : volume sampling
 = 5,0 mL : 0,5 mL
 = 10 kali

Konsentrasi terpenetrasi = konsentrasi kurkumin x FP
 = 0,2177 ppm x 10
 = 2,177 ppm

Rumus jumlah kumulatif yang terpenetrasi :

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

C_n = Konsentrasi kurkumin ($\mu\text{g/ml}$) pada *sampling* menit ke- $n=0,2177$
 $\mu\text{g/ml}$

V = Volume sel difusi Franz = 13,0 ml

$\sum_{i=1}^{n-1} C_i$ = Nilainya 0 untuk *sampling* pertama (menit ke-30)

S = Volume *sampling* = 0,5 ml

A = Luas area membran = $1,54 \text{ cm}^2$

$Q = \frac{(2,177 \mu\text{g/ml} \times 13 \text{ ml}) + (1,0484 \times 0,5 \text{ ml})}{1,54 \text{ cm}^2} = 18,72 \mu\text{g/cm}^2$

Jadi, jumlah kurkumin yang terpenetrasi dari sediaan nanoemulsi pada menit ke-60 adalah $18,72 \mu\text{g/cm}^2$

Lampiran 32. Contoh perhitungan persentase jumlah kumulatif kurkumin yang terpenetrasi dari sediaan nanoemulsi pada menit ke- 60

Jumlah kurkumin dalam 1 gram sampel adalah 15.000 μg

Sampel yang diaplikasikan pada kulit sebanyak 1 gram

% jumlah kumulatif terpenetrasi =

$$\begin{aligned} & \frac{\text{jumlah kumulatif terpenetrasi} \times \text{luas membran}}{\text{berat kurkumin}} \times 100\% \\ & = \frac{18,72 \times 1,54}{15.000 \mu\text{g}} \times 100\% \\ & = 0,19\% \end{aligned}$$

Berdasarkan perhitungan penetapan kadar, kadar kurkumin dalam sediaan nanoemulsi ialah 0,01677%.

Dalam 1 gram sampel : 167,7 μg

% jumlah kumulatif terpenetrasi =

$$\begin{aligned} & \frac{\text{jumlah kumulatif terpenetrasi} \times \text{luas membran}}{\text{berat kurkumin}} \times 100\% \\ & = \frac{18,72 \times 1,54}{167,7 \mu\text{g}} \times 100\% \\ & = 17,19\% \end{aligned}$$

Lampiran 34. Sertifikat analisis Virgin Coconut Oil (VCO)

SUCOFINDO	
 SUCOFINDO WORLDWIDE SERVICES CORRESPONDENTS OF: SGS Société Générale de Surveillance S.A., GENEVA	PT. (PERSERO) SUPERINTENDING COMPANY OF INDONESIA GENERAL SERVICES STRATEGIC BUSINESS UNIT HEAD OFFICE : GRAHA SUCOFINDO JL. RAYA PASAR MINGGU KAV. 34 JAKARTA 12780 PO BOX 2377 JKT 10001 PHONE : (021) 7983666 FAX : (021) 7987029 TELEX : 66056, 66057, 66058 SUCO IA CABLE SUCOFINDO No. : JUM 0186751
	LABORATORY : JL. ARTERI TOL CIBITUNG, BEKASI 17520 CIBITUNG PHONE : (021) 88321176 (15 Lines) FAX : (021) 88321166 (4 lines)
REPORT OF ANALYSIS	
Principal Pemberi Order	: INTI BERGAS INTERNATIONAL MULIA, PT. Menara Imperium Lt. 15 Suite 15A J. H.R. Rasuna Said Kav. 1 – Jakarta 12980
The following sample (s) was submitted and identified the principal as :	
Subject Hal	: VIRGIN COCONUT OIL
Date Received Tanggal Penerimaan	: August 15, 2006.
Tested For Analisa / Uji	: Fatty Acid Composition, FFA as Lauric, Taste, Odor, Heavy Metals, Microbiological test.
Description of Sample Keterangan Contoh	: Packing : Original Packing 1 (One) Sample.
Sample Identification Identifikasi Contoh	: Premium Virgin Oil Cocos
Your Reference Referensi	: -
Order Number Nomor Order	: 38 / 001836 / 08 / 2006.
Date of Testing Tanggal Pengujian	: August 15 – 29, 2006.
Date of Report Tanggal Laporan	: August 29, 2006.
No. of Pages Including Cover Jml. Hal. Termasuk hal. Muka	: 2 Pages.
Page 1 of 2	
<small>This test result (s) related to the sample (s) submitted only and the report / certificate can not be reproduced in any way, Except in full context and with the prior approval in writing from Sucofindo Laboratory.</small>	
<small>This inspection order has been accepted and this certificate/report is issued subject to the Standard General Conditions of the INTERNATIONAL FEDERATION OF INSPECTION AGENCIES (IFIA). The company's liability is limited under the terms of Article 10 thereof. Issuance of this certificate/report does not exonerate the buyers and sellers from exercising all their rights and discharging their liabilities under the Contract of Sale.</small>	
SCI JUM-01	
SUCOFINDO	

Lampiran 35. Sertifikat analisis Tween 80

PT. BRATACO



HASIL PEMERIKSAAN

Nama Bahan : Tween 80
 Batch : J 0817/11 (2193)
 Ex : Kao
 Grade : farma

Jenis pemeriksaan	Persyaratan FI IV	Hasil
Pemerian	Cairan kental, jernih, berwarna kuning muda hingga coklat, berbau khas lemah	cairan, kuning muda, jernih, bau khas lemah
Kelarutan	Larut dalam air, dalam etanol 95%, dalam etil asetat P, tidak larut dalam minyak mineral	sesuai
Identifikasi	Menurut cara identifikasi pada F.I. ed.IV	sesuai
pH	6 - 8	7.0
Bobot Jenis	1,06 g/ml - 1,09 g/ml	1,076
Bilangan asam	Tidak lebih dari 2,2	0.84
Bilangan sabun	45-55	49.50

Kesimpulan : *Memenuhi syarat*

Pemeriksa



Tatang Suhartono
Analisis

Cikarang, 24.06.2011



Dr. CINTA RIANG G
Apoteker
SIK 3836/B

HEAD OFFICE : Jl. Cikong Bant No.78, Jakarta Pusat 10150, Telp. (021) 3522733 (hunting) Fax. : (021) 3522734, E-mail : biosen@brataco.com
 BRANCH OFFICE :
 • JAKARTA : Jl. Mangga Besar V No.5, Jakarta 11180 Telp. (021) 6290113 (hunting 3 lines) Fax. (021) 6292430
 • BANDUNG : Jl. Boulevard Raya Blok 7B2 No. 8, Jakarta 14340 Telp. (021) 4584089-94 Fax. (021) 4520615
 • SEMARANG : Jl. Kolesong No. 8, Bandung Telp. (022) 8077129, 8030808 Fax. (022) 8031979
 • YOGYA : Jl. Tuguank Jakarta No. 77C, Bandung Telp. (022) 7101277, 7816308-309 Fax. (022) 7210910
 • SURABAYA : Jl. Brigjen. Katarmo No. 18 Telp. (034) 8415272, 8416999 Fax. (034) 8416990
 • MEDAN : Jl. Bhevanjara No. 45, Yogyakarta Telp. (0274) 843349, 815390 Fax. (0274) 843348
 • TANGERANG : Jl. Tidar No. 89, Surabaya Telp. (031) 8322887, 8328057 Fax. (031) 8310465
 • BOGOR : Jl. Iskandar Muda no. 40 B, Medan Telp. (061) 4148272, 4823189 Fax. (061) 4525968
 • CIKARANG :
 • CIREBON :
 • TASIKMALAYA :
 • SOLO :
 • PURWOKERTO :
 • TEGAL :
 • MALANG :
 • SIDOARJO :
 • DENPASAR :
 • PALEMBANG :
 • MAKASSAR :

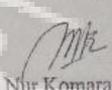
The Nationwide Chemicals and Ingredients Distributor

FRM NO. : 0218934659

FROM : PT. BRATACO

11 Jan. 2012 9:32PM, P1

Lampiran 37. Sertifikat analisis etanol 96%

HASIL PEMERIKSAAN		BRATACO CHEMIKA	
Nama Bahan	: Alcohol 96%		
No Batch	: J 1995/08		
Ex	: lokal		
Jenis Pemeriksaan	Hasil Pemeriksaan		
Pemerian	Cairan jernih mudah menguap, tidak berwarna, bau khas, mudah terbakar		
Kelarutan	Bercampur dengan air dan praktis bercampur dengan semua pelarut organik		
Identifikasi	5 ml etanol tambah beberapa tts iod 0.1 N tambah 5 ml NaOH 1N; Endapan kuning iodoform (bau)		
Methanol test	1 tts etanol + 1 tts $KmNO_4$ 1:20 + 1 tts Asam fosfat 1:20 + beberapa tts Na. Di sulfite 1:20 kocok ad jernih lalu tambahkan 5 ml campuran asam kromatropat 50 mg dan asam sulfat P 75 ml dan air 33.3 ml : tidak ungu		
Keasaman	Sesuai (dibutuhkan 0,2 ml NaOH 0,02 N untuk menetralkan)		
Zat Tak Larut Dalam Air	Sesuai (tetap jernih setelah ditambahkan air dengan volume sama)		
Permanganat Test Time	18.10 menit		
Berat Jenis	0,8100 g/ml		
Kadar	95.7 %		
Indeks Bias	1.360		
<i>Kesimpulan : Memenuhi Syarat FIIV</i>			
Pemeriksa	Cikarang 25 November 2008		
 Nur Komarawati Analisis	 Apoteker SIK 3836/B		
KANTOR PUSAT : Jl. Cideng Barat No. 78 Jakarta Pusat 10150, Telp. (021) 3522733 (Hunting 5 Lines) Fax. (021) 3462825, Email : brataco@india.net.id KANTOR CABANG : <ul style="list-style-type: none"> • JAKARTA : Jl. Mangga Besar V No. 5, Jakarta 11180 Telp. (021) 6120312 (Hunting 3 Lines), (021) 6200113 (Hunting 3 Lines) Fax. (021) 6202430 • BURUHAYA : Jl. Tidar No. 60 Telp. (031) 8322887, 5407687, 5325057 Fax. (031) 5310485 • SEMARANG : Jl. Patirongan Timur No. 4 Telp. (024) 414980, 412900 Fax. (024) 412300 • BANDUNG : Jl. Klenteng No. 8 Telp. (022) 877129, 830807, 830808 Fax. (022) 831978 Jl. Terusan Jakarta No. 77 G Telp. (022) 7104277, 7210308-310 Fax. (022) 7101277 			

Lampiran 38. Sertifikat analisis karbomer 940

 <p>LUBRIZOL ADVANCED MATERIALS ASIA PACIFIC LTD 1107-1110 SHUI ON CENTRE, 5 HARBOUR ROAD WANCHAI HONGKONG TEL: +852 2509 1021</p>		<p>CERTIFICATE OF ANALYSIS</p>		
<p><i>LZ Sales Order No.:</i> 1365869</p> <p><i>Customer PO No.:</i> 275843</p> <p><i>Delivery No.:</i> 81732891</p> <p><i>Ex-Plant Date:</i> April 25, 2011</p> <p><i>Delivery Point:</i> JAKARTA</p> <p><i>Transportation ID:</i> B88996</p> <p><i>Compartment/Seals:</i></p>		<p><i>Date:</i> April 29, 2011 <i>Page:</i> 3 of 3</p> <p><i>Certificate Recipient:</i></p>		
<p><i>Sold-to:</i></p> <div style="border: 1px solid black; border-radius: 15px; padding: 5px; text-align: center;"> <p>CV. TRISTAR CHEMICALS</p> <p>www.tristarchemical.com Jl. Hongkut Mapan Utara CA - 24 Surabaya Telp. 031 - 8708071, Fax 031 - 8707111</p> </div>		<p><i>Material:</i> CARBOPOL® 940 POLYMER, BOX</p> <p><i>Qty:</i> 18.0 CT</p> <p><i>Batch No.:</i> KK138K342</p> <p><i>Mfg. Date:</i> March 13, 2011</p> <p><i>Recommended Dates:</i> March 12, 2013</p>	<p><i>Ship-to:</i></p>	
<p>Characteristics</p>	<p>Product Specifications</p>			
	<p>Minimum</p>	<p>Typical</p>	<p>Maximum</p>	<p>Result</p>
BROOKFIELD VIS, 0.2% MCHLAGE @ 25°C	cP 19000		35000	
BROOKFIELD VIS, 0.5% MCHLAGE @ 25°C	cP 40000		60000	48800
BROOKFIELD VIS, 1.0% MCHLAGE @ 25°C	cP 45000		80000	
PPM BENZENE	ppm		5000	200
CLARITY, % TRANSMITTANCE	%	85		97
LOSS ON DRYING	%		2.0	
HMAS (PLAS HG/5B) TO PPM MAX				Pass
<p>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, Lubrizol 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.</p>				
<p style="text-align: right;"><i>We guarantee that the above analytical results are in conformity with the agreed upon specifications.</i></p> <p style="text-align: right;"><i>Approved by: Lubrizol Quality Assurance</i></p>				

Lampiran 40. 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 *sprague 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