



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**FORMULASI DAN UJI PENETRASI *IN VITRO* VITAMIN B3  
DALAM SEDIAAN SERUM PEPTIDA CU-GHK**

**SKRIPSI**

**ANDISTI RIZKY MARSELINA  
0806321120**

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



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**FORMULASI DAN UJI PENETRASI *IN VITRO* VITAMIN B3  
DALAM SEDIAAN SERUM PEPTIDA CU-GHK**

**SKRIPSI**

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

**ANDISTI RIZKY MARSELINA  
0806321120**

**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, 06 Juli 2012



Andisti Rizky Marselina

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Andisti Rizky Marselina  
NPM : 0806321120  
Tanda Tangan :   
Tanggal : 06 Juli 2012

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :  
Nama : Andisti Rizky Marselina  
NPM : 0806321120  
Program Studi : Farmasi  
Judul Skripsi : Formulasi dan Uji Penetrasi *In Vitro* Vitamin B3  
dalam Sediaan Serum Peptida Cu-GHK

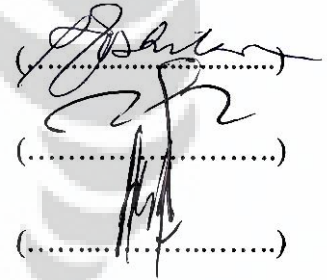
Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. Joshita Djajadisastra, M.S., Ph.D.

Penguji I : Dr. Mahdi Jufri, M.Si

Penguji II : Dr. Arry Yanuar, M.S



(.....)  
(.....)  
(.....)

Ditetapkan di : Depok  
Tanggal : 06 Juli 2012

## KATA PENGANTAR

Puji syukur dan terima kasih penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala limpahan rahmat, karunia, dan nikmat yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana Farmasi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Dalam penulisan skripsi ini penulis mendapat banyak bantuan, bimbingan, pengarahan, dan saran-saran dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan penuh ketulusan dan kerendahan hati penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

1. Pharm. Dr. Joshita Djajadisastra, MS., Ph.D., selaku dosen Pembimbing Skripsi, yang telah bersedia memberikan bimbingan, pengarahan, sumbangan ide-ide dan ilmu-ilmu yang bermanfaat selama penelitian dan selama penulis menempuh pendidikan di Program Sarjana Reguler Farmasi FMIPA UI.
2. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S., Apt., selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas selama masa pendidikan dan penelitian berlangsung.
3. Prof. Drs. Maksum Radji M.Biomed., Ph.D., Apt, selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan nasehat selama penulis menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
4. Mama, Papa, Uni Sari, Adik Dicky dan Adik Cici tercinta serta tante dan sepupu-sepupu saya, yang senantiasa memberikan semangat, motivasi, bantuan, perhatian, kasih sayang, kesabaran, dukungan moril maupun materil, dan doa yang selalu dipanjatkan.
5. Seluruh Bapak dan Ibu Dosen Farmasi FMIPA UI atas bimbingannya selama ini.
6. Bapak/Ibu laboran dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI terutama Mba Devfanny, Bpk. Imi, dan Bpk. Surya atas semua bantuan yang diberikan, terutama saat penelitian berlangsung.

7. Teman-teman seperjuangan Delly, teman sebimbangan dan semua teman-teman di KBI Farmasetika, Teknologi Farmasi, dan Kimia Farmasi Kuantitatif 08 lainnya yang tidak dapat disebutkan satu-persatu, terima kasih telah mendengarkan keluh kesah selama penelitian berlangsung dan kerja sama selama ini.
8. Teman-teman baikku (7icon) Samira, Charla, Tika, Devin, Santi, dan Zhuisa atas semua pertolongan, persahabatan, dan dukungannya.
9. Kakak Astrid Tilaar atas hibah peptida Cu-GHKnya serta Kak Radit dan Mba' Nia atas bimbingan dan bantuannya selama penelitian berlangsung.
10. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan dorongan semangat, bantuan, bimbingan, dan pengarahan selama penelitian dan penyusunan skripsi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran untuk kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi ilmu pengetahuan dalam dunia farmasi khususnya 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 : Andisti Rizky Marselina  
NPM : 0806321120  
Program Studi : Farmasi  
Departemen : Farmasi  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis karya : Skripsi

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

Formulasi dan Uji Penetrasi *In Vitro* Vitamin B3 dalam Sediaan Serum Peptida  
Cu-GHK

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

Dibuat di : Depok  
Pada tanggal : 06 Juli 2012  
Yang menyatakan



(Andisti Rizky Marselina)

viii



## ABSTRAK

Nama : Andisti Rizky Marselina  
Program Studi : Farmasi  
Judul : Formulasi dan Uji Penetrasi *In Vitro* Vitamin B3 dalam Sediaan Serum Peptida Cu-GHK

Peptida merupakan suatu komponen bioaktif yang beberapa tahun terakhir banyak dimanfaatkan dalam produk kosmetik, terutama produk perawatan kulit karena memiliki aktivitas sebagai antikerut. Vitamin B3 sebagai pelembab kulit akan memberikan efek sinergis sebagai antikerut apabila dikombinasi dengan peptida. Dalam penelitian ini, akan dilihat manfaat lain dari peptida yaitu sebagai bahan peningkat penetrasi melalui mekanisme mempengaruhi lipid intermolekuler lapisan tanduk. Oleh karena itu, diformulasikan suatu sediaan serum peptida dan gel tanpa peptida Cu-GHK untuk membandingkan perbedaan jumlah vitamin B3 yang terpenetrasi. Serum merupakan suatu bentuk sediaan baru yang berarti sediaan terkonsentrat tinggi dan mengandung peptida dengan viskositas rendah. Daya penetrasi vitamin B3 diuji secara *in vitro* dengan alat sel difusi Franz menggunakan membran abdomen tikus. Nilai fluks vitamin B3 selama 8 jam beturut-turut ialah 688,9 dan 701,6  $\mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$ . Hasil percobaan menyatakan bahwa peptida Cu-GHK menghambat penetrasi vitamin B3. Kemudian uji stabilitas fisik dilakukan melalui *cycling test* dan pengamatan pada penyimpanan selama 8 minggu di suhu tinggi ( $40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), suhu kamar ( $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), dan suhu rendah ( $4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ). Kedua sediaan menunjukkan kestabilan fisik yang baik dengan parameter kestabilan di ketiga suhu yaitu organoleptis, pH, dan viskositas (suhu kamar).

Kata kunci : peptida Cu-GHK, vitamin B3, peningkat penetrasi, gel, penetrasi  
xvi + 82 halaman : 16 gambar; 4 tabel; 39 lampiran  
Daftar Pustaka : 50 (1979 – 2011)

## ABSTRACT

Name : Andisti Rizky Marselina  
Program Study : Pharmacy  
Title : Formulation and Vitamin B3 *In Vitro* Penetration Test in Cu-GHK peptide serum

Peptide is a bioactive component that has been used in cosmetics in recent years, especially in skin care products because of its function as anti-wrinkle substance. In this research, peptide is not only as a bioactive component but also as a penetration-enhancing agent through the mechanism of intermolecular affect of stratum corneum lipids. The combination of the peptide and vitamin B3 result in a synergict effect producing anti-wrinkle substance which is as skin moisturizer. Therefore, gels were formulated with or without Cu-GHK peptide to compare the difference in the number of penetrated vitamin B3. *In vitro* penetration study was determined with Franz diffusion cell using rat abdominal membrane. Vitamin B3 flux values within 8 hours process were recorded 688,9 dan 701,6 g cm<sup>-2</sup> hour<sup>-1</sup>. It opposite hipotesis because of peptide was not increased the penetration. Then, physical stability test of gels were performed through cycling tests and observation on storage for 8 weeks at high temperature (40 ° ± 2 ° C), room temperature (28 ± 2°C), and cold temperature (4 ° ± 2 ° C). Both of gels show good physical stability on three parameters of stability, are organoleptic, pH, and viscosity (room temperature).

Keywords : Cu-GHK peptide, vitamin B, penetration enhancer, gel, penetration  
xvi + 82 pages : 16 figures; 4 tables; 39 appendixes  
Bibliography : 50 (1979 – 2011)

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME</b> .....	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINILITAS</b> .....	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI</b> .....	<b>viii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xv</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	2
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>3</b>
2.1 Kosmetik .....	3
2.2 Kulit .....	4
2.3 Permeabilitas dan Penetrasi Kulit .....	8
2.4 Penuaan Kulit .....	10
2.5 Komponen Bioaktif .....	11
2.6 Sediaan Gel .....	17
2.7 Uji Penetrasi Menggunakan Sel Difusi Franz .....	23
2.8 Stabilitas dan Uji Kestabilan .....	26
<b>BAB 3 METODE PENELITIAN</b> .....	<b>28</b>
3.1 Lokasi .....	28
3.2 Alat .....	28
3.3 Bahan .....	28
3.4 Cara Kerja .....	28
3.5 Evaluasi Sediaan Gel .....	30
3.6 Uji Penetapan Kandungan Vitamin B3 dalam Sediaan .....	32
3.7 Uji Penetrasi Sediaan Gel Vitamin B3 secara <i>In Vitro</i> .....	33
<b>BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>36</b>
4.1 Formulasi dan Pembuatan Sediaan .....	36
4.2 Evaluasi Sediaan Gel .....	37
4.3 Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel .....	40
4.4 Uji Penetapan Kandungan Vitamin B3 dalam Sediaan .....	43
4.5 Uji Penetrasi Sediaan Gel Vitamin B3 secara <i>In Vitro</i> .....	43

<b>BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>49</b>
5.1 Kesimpulan .....	49
5.2 Saran .....	49
 <b>DAFTAR ACUAN .....</b>	 <b>50</b>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Diagram Dasar Untuk Struktur Kulit .....	4
Gambar 2.2	Struktur Kimia Niasinamida .....	11
Gambar 2.3	Struktur Molekul Kompleks Cu-GHK .....	16
Gambar 2.4	Struktur Kimia Karbomer .....	18
Gambar 2.5	Struktur Kimia Gliserin .....	19
Gambar 2.6	Struktur Kimia Natrium Metabisulfit .....	19
Gambar 2.7	Struktur Kimia Metilparaben .....	20
Gambar 2.8	Struktur Kimia Propilparaben .....	21
Gambar 2.9	Struktur Kimia Etanol .....	22
Gambar 2.10	Struktur Kimia Asam Sitrat Monohidrat .....	22
Gambar 2.11	Diagram Ruang difusi Franz .....	23
Gambar 2.12	Pengambilan Sampel dari Sel Difusi Franz .....	24
Gambar 4.1	Penampilan gel formula 1 dan 2 Minggu ke-0 .....	38
Gambar 4.2	Grafik hasil pengukuran pH kedua gel pada penyimpanan suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi.....	41
Gambar 4.3	Grafik jumlah kumulatif niasinamida yang terpenetrasi per satuan luas membran dari sediaan gel formula 1 dan 2 .....	46
Gambar 4.4	Fluks niasinamida dari sediaan gel formula 1 dan 2.....	48

## DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Formulasi Gel.....	29
Tabel 4.1	Hasil Evaluasi Gel Formula 1 dan 2 pada Minggu ke-0 .....	37
Tabel 4.2	Hasil Pengukuran Bobot Jenis .....	39
Tabel 4.3	Hasil Pengamatan <i>Cycling Test</i> .....	42



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Foto hasil pengamatan organoleptis formula 1 dan 2 pada minggu ke-0 .....	54
Lampiran 2.	Foto sebelum dan sesudah <i>Cycling Test</i> formula 1 dan 2 .....	54
Lampiran 3.	Foto hasil pengamatan organoleptis formula 1 dan 2 pada penyimpanan suhu rendah ( $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) selama 8 minggu .....	55
Lampiran 4.	Foto hasil pengamatan organoleptis formula 1 dan 2 pada penyimpanan suhu kamar ( $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) selama 8 minggu .....	56
Lampiran 5.	Foto hasil pengamatan organoleptis formula 1 dan 2 pada penyimpanan suhu tinggi ( $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) selama 8 minggu .....	57
Lampiran 6.	Spektrum serapan larutan standar niasinamida dalam aquadem dengan konsentrasi 24 ppm pada panjang gelombang maksimum 262,0 nm .....	58
Lampiran 7.	Kurva kalibrasi standar niasinamida dalam aquadem pada $\lambda=262,0$ nm .....	58
Lampiran 8.	Spektrum serapan larutan standar niasinamida dalam dapar fosfat pH 7,4 dengan konsentrasi 24 ppm pada panjang gelombang maksimum 262,0 nm .....	59
Lampiran 9.	Kurva kalibrasi standar niasinamida dalam larutan dapar fosfat pH 7,4 pada $\lambda =262,0$ nm .....	59
Lampiran 10.	Jumlah kumulatif niasinamida yang terpenetrasi per satuan luas membran percobaan 1 dari sediaan gel formula 1 dan 2 .....	60
Lampiran 11.	Jumlah kumulatif niasinamida yang terpenetrasi per satuan luas membran percobaan 2 dari sediaan gel formula 1 dan 2 .....	60
Lampiran 12.	Jumlah kumulatif niasinamida yang terpenetrasi per satuan luas membran percobaan 3 dari sediaan gel formula 1 dan 2 .....	61
Lampiran 13.	Tabel hasil pengamatan organoleptis formula 1 dan 2 pada suhu rendah ( $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) selama penyimpanan 8 minggu .....	62
Lampiran 14.	Tabel hasil pengamatan organoleptis formula 1 dan 2 pada suhu kamar ( $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) selama penyimpanan 8 minggu .....	62
Lampiran 15.	Tabel hasil pengamatan organoleptis formula 1 dan 2 pada suhu tinggi ( $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) selama penyimpanan 8 minggu .....	62
Lampiran 16.	Tabel hasil pengukuran pH formula 1 dan 2 pada suhu rendah ( $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) selama penyimpanan 8 minggu .....	63
Lampiran 17.	Tabel hasil pengukuran pH formula 1 dan 2 pada suhu kamar ( $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) selama penyimpanan 8 minggu .....	63
Lampiran 18.	Tabel hasil pengukuran pH formula 1 dan 2 pada suhu tinggi ( $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) selama penyimpanan 8 minggu .....	63
Lampiran 19.	Hasil pengukuran viskositas formula 1 dan 2 pada suhu kamar ( $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) pada minggu ke-0 .....	64
Lampiran 20.	Hasil pengukuran viskositas formula 1 dan 2 pada suhu kamar ( $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) pada minggu ke-8 .....	65
Lampiran 21.	Serapan niasinamida standar dengan pelarut aquadem dalam pembuatan kuva kalibrasi pada $\lambda= 262,0$ nm .....	66
Lampiran 22.	Serapan niasinamida standar dengan pelarut dapar fosfat pH 7,4 dalam pembuatan kuva kalibrasi pada $\lambda= 262,0$ nm .....	66

Lampiran 23.	Hasil uji penetrasi niasinamida dalam larutan dapar fosfat pH 7,4 dari sediaan gel formula 1 dan 2 (n=10) .....	67
Lampiran 24.	Hasil perhitungan fluks niasinamida tiap waktu pengambilan dari sediaan gel formula 1 dan 2 berdasarkan uji penetrasi selama 8 jam (n=10) .....	67
Lampiran 25.	Hasil jumlah kumulatif terpenetrasi, persentase jumlah terpenetrasi dan fluks niasinamida dari sediaan gel formula 1 dan 2 berdasarkan uji penetrasi selama 8 jam (n=10) .....	68
Lampiran 26.	Contoh perhitungan bobot jenis .....	69
Lampiran 27.	Contoh perhitungan kandungan niasinamida dalam sediaan .....	70
Lampiran 28.	Contoh perhitungan jumlah niasinamida yang terpenetrasi dari sediaan gel formula 1 pada menit ke-30 .....	71
Lampiran 29.	Contoh perhitungan jumlah niasinamida yang terpenetrasi dari sediaan gel formula 1 pada menit ke-60 .....	72
Lampiran 30.	Contoh perhitungan fluks niasinamida dari sediaan gel formula 1 .....	73
Lampiran 31.	Contoh perhitungan persentase jumlah kumulatif niasinamida yang terpenetrasi dari sediaan gel formula 1.....	74
Lampiran 32.	Sertifikat Analisis Vitamin B3 .....	75
Lampiran 33.	Sertifikat Analisis Karbomer.....	76
Lampiran 34.	Sertifikat Analisis Gliserin.....	77
Lampiran 35.	Sertifikat Analisis Metilparaben .....	78
Lampiran 36.	Sertifikat Analisis Propilparaben .....	79
Lampiran 37.	Sertifikat Analisis Natrium metabisulfit .....	80
Lampiran 38.	Sertifikat Analisis Etanol 96% .....	81
Lampiran 39.	Sertifikat Analisis aquademineralisata.....	82



# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Kulit merupakan tempat utama aplikasi kosmetik. Kulit dapat melindungi tubuh dari rangsangan eksternal dan kerusakan akibat kehilangan lembab. Kulit tersusun dari tiga lapisan utama dan tiap lapisan memiliki fungsi yang berbeda. Lapisan epidermis berperan pada tahap penetrasi dan menjaga kelembapan sedangkan lapisan dermis berperan penting dalam elastisitas dan kekencangan kulit (Mitsui, 1997). Salah satu tanda penuaan ialah hilangnya elastisitas dan fleksibilitas kulit, epidermis kering serta pecah-pecah sehingga menyebabkan timbulnya kerut (Tranggono dan Latifah, 2007).

Akhir-akhir ini, banyak senyawa baik dari hewan, tumbuhan, kimia sintesis, bahkan manusia diuji dan diteliti sebagai bahan aktif kosmesetikal, terutama vitamin dan peptida bioaktif (Zhang & Falla, 2009). Pemanfaatan vitamin B3 (niasinamida) sebagai antikerut belum banyak diteliti (Burgess, 2005). Vitamin B3 merupakan vitamin yang memiliki aktivitas sebagai pelembab dan antioksidan. Vitamin B3 bekerja dengan meningkatkan kandungan air pada lapisan tanduk dan meningkatkan sintesis matriks ekstraseluler (Bissett, 2009; Gehring W, 2010; Lupo, 2001). Kombinasi niasinamida dan peptida banyak digunakan dalam formulasi topikal karena efek sinergis dalam regulasi dan sintesis matriks ekstraseluler (Barel, Paye, Maibach, 2009; Zhang & Falla, 2009). Salah satu peptida yang digunakan ialah tembaga glisil-histidil-lisin (Cu-GHK) yang berfungsi merangsang penyembuhan luka dengan meningkatkan produksi kolagen. Tembaga merupakan kofaktor enzim lisil oksidase dan prolil hidroksilase (enzim sintesis kolagen) (Bissett, 2009).

Serum peptida antikerut termasuk golongan kosmetik pelembab (Tranggono & Latifah, 2007). Serum merupakan suatu istilah dalam kosmetik yang berarti sediaan terkonsentrat tinggi dan mengandung peptida dengan viskositas rendah, yang menghantarkan film tipis dari bahan aktif pada permukaan kulit (Draelos, 2010). Bentuk sediaan ini ditujukan untuk mempermudah

pemakaian dan memberikan rasa nyaman pada kulit karena mudah meresap dan melembabkan kulit (Mitsui, 1997).

Penetrasi komponen bioaktif melalui lapisan tanduk menjadi kunci dari pengembangan terapi topikal (Draelos, 2000). Beberapa faktor utama yang mempengaruhi penetrasi ialah bobot molekul, formulasi dan penggunaan peningkat penetrasi (Tranggono & Latifah, 2007). Peptida dapat bertindak sebagai peningkat penetrasi dengan mekanisme mempengaruhi lipid intermolekuler lapisan tanduk dan meningkatkan penyerapan perkutan (Touitou & Barry, 2007; Barel, Paye, & Maibach, 2009). Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilihat peran peptida dalam penetrasi vitamin B3 secara *in vitro* dengan membandingkan penetrasi vitamin B3 dalam sediaan serum peptida dan gel tanpa peptida serta dilakukan beberapa evaluasi terhadap sediaan yang dihasilkan.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk memformulasikan dan mengetahui daya penetrasi secara *in vitro* vitamin B3 (niasinamida) dalam sediaan serum peptida Cu-GHK dibandingkan dengan vitamin B3 dalam sediaan gel tanpa peptida.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kosmetik

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 445/Menkes/Permenkes/1998, kosmetik adalah sediaan atau paduan bahan yang siap digunakan pada bagian luar badan (epidermis, rambut, kuku, bibir, dan organ kelamin bagian luar), gigi, dan rongga mulut untuk membersihkan, menambah daya tarik, mengubah penampilan, melindungi supaya tetap dalam keadaan baik, memperbaiki bau badan tetapi tidak dimaksudkan untuk mengobati atau menyembuhkan suatu penyakit.

Pada tahun 1955 Lubowe menciptakan istilah “*Cosmedics*” yang merupakan gabungan dari kosmetik dan obat yang dapat mempengaruhi faal kulit secara positif, namun bukan obat (Tranggono, Latifah, 2007). Pada tahun 1980, Albert Kligman menyebutnya dengan istilah “*Cosmeceuticals*” yaitu suatu produk kosmetik yang mengandung bahan aktif biologis, tetapi bukan obat yang memberikan efek menguntungkan dengan pemberian secara topikal dan istilah ini yang digunakan hingga sekarang (Draelos, & Thaman, 2006).

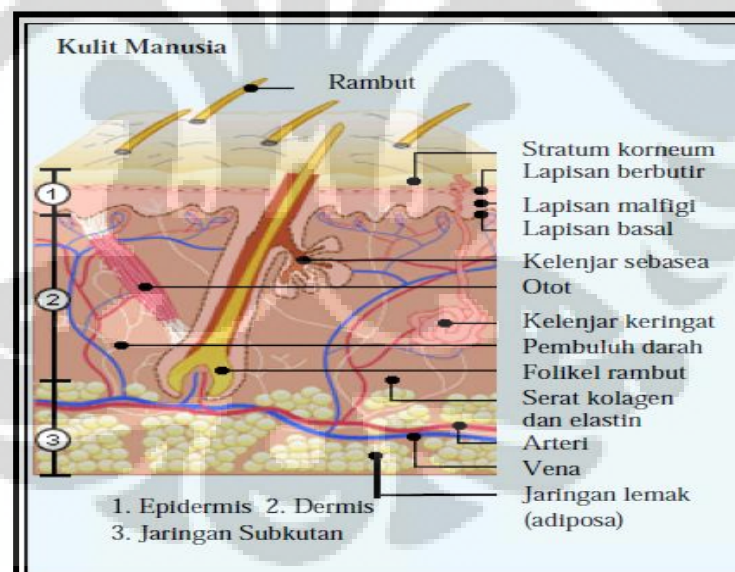
Tujuan utama penggunaan kosmetik pada masyarakat modern ialah untuk kebersihan pribadi, meningkatkan daya tarik melalui *make up*, meningkatkan rasa percaya diri, melindungi kulit dan rambut dari kerusakan sinar UV, polusi, dan faktor lingkungan yang lain, mencegah penuaan, dan secara umum membantu seseorang lebih menikmati dan menghargai hidup (Tranggono & Latifah, 2007).

Kosmetik dapat digolongkan menjadi dua kelompok berdasarkan kegunaannya, yaitu kosmetik perawatan kulit dan kosmetik riasan (dekoratif atau *make-up*). Kosmetik perawatan kulit meliputi pembersih, pelembab, pelindung, dan pengampelas atau penipis kulit. Kosmetik riasan atau dekoratif diperlukan untuk merias dan menutupi kekurangan pada kulit sehingga menghasilkan penampilan yang lebih menarik serta menimbulkan efek psikologis yang baik. Sediaan serum peptida antikerut termasuk golongan kosmetik pelembab (Tranggono & Latifah, 2007).

Serum merupakan suatu istilah dalam kosmetik yang diciptakan oleh ahli kosmetik. Serum ialah sediaan terkonsentrat tinggi dengan viskositas rendah, yang menghantarkan film tipis dari bahan aktif pada permukaan kulit (Draelos, 2010). Bentuk sediaan ini hanya ditujukan untuk mempermudah pemakaian dan memberikan rasa nyaman pada kulit karena mudah meresap ke dalam kulit (Mitsui, 2009).

## 2.2 Kulit

Kulit merupakan pelindung yang lentur dan elastis, menutupi seluruh permukaan tubuh dan melindungi tubuh dari berbagai tipe rangsangan eksternal, mencegah penetrasi dari bahan asing yang berbahaya dan radiasi serta kerusakan akibat kehilangan lembab (Alache, Devissague, & Hermann, 1993; Harry, 1982; Tranggono dan Fatma, 2007). Selain itu, kulit dapat menghantarkan sinyal seksual dan sosial dengan warna, tekstur, dan baunya yang dapat ditingkatkan secara fisiologis dan kultural dengan ilmu pengetahuan kosmetik dan seni kosmetik (Harry, 1982)



[Sumber: Mbah, Uzor, & Omeje, 2011]

**Gambar 2.1** Diagram dasar untuk struktur kulit (telah diolah kembali)

### 2.2.1 Anatomi kulit

Kulit tersusun atas tiga lapisan utama yaitu lapis epidermis (kulit ari), lapis dermis (korium, kutis, kulit jangat), dan lapis subkutis (*hypodermis*). Di dalam

kulit juga ditemukan berbagai adneksa-adneksa kulit seperti rambut, kelenjar keringat, dan kelenjar sebacea. Tidak ada garis tegas yang memisahkan antara dermis dan subkutis (Mitsui, 1997; Tranggono dan Latifah, 2007).

#### 2.2.1.1 Epidermis

Epidermis tersusun dari beberapa lapisan sel dengan tebal sekitar 0,1-0,3 mm (Mitsui, 1997). Di dalam epidermis paling banyak mengandung sel keratinosit yang mengandung protein keratin. Secara histologis, epidermis dibagi menjadi lima lapisan yaitu, lapisan tanduk (*stratum korneum*), lapisan lusidum, lapisan granulosum, lapisan spinosum, dan lapisan basal (Tranggono dan Latifah, 2007). Lapisan basal merupakan pembatas membran dasar yang kontak dengan dermis. Lapisan spinosum ialah lapisan sel yang lebih dalam dan lapisan paling tebal dalam epidermis yang mengandung serat protein. Di atas lapisan spinosum, terdapat sel granul (pada lapisan granulosum) yang berperan dalam proses keratinisasi untuk menghasilkan lapisan tanduk (Mitsui, 1997).

Lapisan lusidum terletak tepat di bawah lapisan tanduk. Antara lapisan lusidum dan lapisan granulosum terdapat lapisan keratin tipis (*rein's barrier*) yang bersifat *impermeable*. Lapisan tanduk merupakan lapisan sel kulit mati yang mengandung air paling rendah sekitar 10-30%. Lapisan tanduk tersusun atas lipid (asam lemak bebas atau esternya, fosfolipid, skualen, dan kolesterol), urea, asam amino, asam organik, dan air serta dilapisi oleh lapisan tipis lembab dan bersifat asam disebut dengan "mantel asam kulit" (Tranggono dan Latifah, 2007).

Lapisan tanduk erat hubungannya dengan kosmetik karena dapat mencerminkan kondisi kulit. Lapisan ini berperan pada tahap penembusan sehingga menentukan konsentrasi senyawa aktif pada sel target. Membran tersebut memiliki ketahanan yang sangat baik terhadap berbagai senyawa kimia dan biologis. Ketahanan ini disebabkan oleh adanya jembatan disulfida (menyusun serat keratin  $\alpha$ ) dan ikatan kovalen antarmolekul. Ketebalan lapisan tanduk dapat dirangsang oleh paparan ulang senyawa kimia atau fisika. Respon ini melindungi epidermis dari rangsangan luar (Mitsui, 1997; Alache, Devissaguet, & Hermann, 1993).

### 2.2.1.2 Dermis

Di dalam dermis terdapat banyak pembuluh-pembuluh darah, serabut saraf, kelenjar keringat, kelenjar minyak, dan folikel rambut (Tranggono dan Latifah, 2007). Dermis tersusun atas matriks ekstraseluler yang disintesis dan disekresikan oleh fibroblast. Bahan dasar matriks ekstraseluler ini terdiri dari glikosaminoglikan atau mukopolisakarida asam (asam hialuronat dan dermatan sulfat), dan protein berserat. Glikosaminoglikan ada sebagai proteoglikan yang menggabungkan protein, dan berisi sejumlah besar air sehingga dapat membentuk gel. Protein berserat tertanam dalam gel ini yang tersusun dari serat kolagen dan elastin (Mitsui, 1997).

Kolagen merupakan protein utama dari matriks ekstraseluler dan memelihara bentuk jaringan. Kolagen tersusun atas beberapa asam amino, terutama glisin, prolin, dan hidrokisprolin. Kolagen lebih tebal daripada elastin. Serat-serat elastin dihubungkan satu sama lain oleh ikatan *crosslink* untuk mempertahankan elastisitas jaringan. Selain itu, matriks ekstraseluler berfungsi sebagai mediator interaksi induksi reseptor antar sel sehingga mempengaruhi proliferasi dan differensiasi sel. Kolagen tipe I dan II merupakan urat saraf. Kekuatan tegangan kulit diakibatkan oleh dominasi kolagen ini (Zhang & Falla, 2009). Oleh karena itu, dermis memegang peranan penting dalam elastisitas dan kekencangan kulit (Mitsui, 1997).

### 2.2.1.3 Subkutis

Jaringan subkutan mengandung sel-sel adiposa dan banyak terdapat diantara jaringan ikat. Lemak subkutan berperan dalam mengatur temperatur. Lemak ini berkembang dengan baik pada wanita dibandingkan pada pria (Mitsui, 1997).

## 2.2.2 Fisiologis kulit

Kulit merupakan suatu organ yang memiliki beberapa fungsi penting, antara lain :



a. Fungsi proteksi

Serabut elastis dari lapisan dermis dan jaringan lemak subkutan berfungsi untuk mencegah trauma mekanik langsung ke dalam tubuh. Lapisan tanduk dan mantel lemak kulit berfungsi sebagai penghalang penetrasi air dan kehilangan cairan tubuh serta melawan racun dari luar. Permukaan kulit yang tidak rata berperan dalam difraksi sinar untuk melindungi tubuh dari sinar yang berbahaya.

b. Fungsi termoregulasi

Kulit menyesuaikan temperatur tubuh dengan mengubah aliran darah ke kulit melalui mekanisme dilatasi dan konstiksi pembuluh kapiler kulit dan penguapan keringat, yang keduanya dipengaruhi oleh saraf otonom. Lapisan tanduk dan jaringan subkutan mencegah perubahan temperatur tubuh dengan menghalangi hantaran temperatur eksternal ke dalam tubuh.

c. Fungsi Persepsi Sensoris

Kulit bertanggung jawab sebagai indra terhadap rangsangan. Ada bermacam-macam reseptor pada kulit, yaitu reseptor yang sensitif terhadap tekanan, rabaan, temperatur, dan nyeri. Rangsangan dari luar akan diterima oleh reseptor-reseptor tersebut dan diteruskan ke sistem saraf pusat, selanjutnya diinterpretasikan oleh korteks serebri.

d. Fungsi Absorpsi

Beberapa senyawa dapat diabsorpsi ke dalam tubuh melalui dua jalur absorpsi, yaitu melalui jalur epidermis dan melalui kelenjar sebacea folikel rambut. Steroid dan bahan yang larut dalam lemak (vitamin A, D, E dan K) dapat diserap melalui kulit, namun bahan yang larut dalam air tidak mudah diserap akibat dari fungsi penghalang lapisan tanduk.

e. Fungsi Lain

Kulit dapat menggambarkan kondisi emosional, seperti memerah, ketakutan (pucat dan rambut berdiri), dan sebagai organ penerima emosi.

### 2.3 Permeabilitas dan Penetrasi Kulit

Reaksi positif kulit terhadap pemakaian kosmetik merupakan hal yang sangat diinginkan oleh pembuat dan pemakai kosmetik. Untuk dapat memberikan reaksi, kulit harus dapat dipenetrasi oleh komponen aktif dalam kosmetik. Penetrasi zat aktif ke dalam kulit dapat terjadi melalui dua jalur yaitu transepidermal (melalui lapisan tanduk) dan transfolikular (melalui kelenjar sebacea folikel rambut). Penetrasi dipengaruhi oleh dua faktor utama, yaitu (Tranggono dan Latifah, 2007; Ansel, 1989):

#### 2.3.1 Kondisi kulit

- a. Kelembaban kulit. Pembawa yang dapat meningkatkan kelembaban kulit akan mendorong terjadi absorpsi zat aktif melalui kulit.
- b. Keadaan kulit (normal atau hasil modifikasi). Komposisi sistem tempat pemberian sediaan, yang ditentukan dari permeabilitas lapisan tanduk yang disebabkan hidrasi dan perubahan struktur lipid.
- c. Suhu kulit. Peningkatan suhu kulit dapat menyebabkan perubahan difusi yang disebabkan oleh peningkatan kelarutan zat aktif.
- d. Adanya sirkulasi darah *in situ* pada kulit akan meningkatkan absorpsi zat aktif.
- e. Usia, jenis kelamin, dan kecepatan metabolisme bahan di dalam kulit.

#### 2.3.2 Bahan yang dikenakan pada kulit

- a. Bobot molekul bahan
- b. Harga koefisien partisi zat aktif yang tergantung kelarutan bahan dalam lemak maupun air
- c. Bahan berbasis lemak atau garam
- d. PH bahan akan mempengaruhi tingkat disosiasi serta kelarutan obat yang lipofil.
- e. Kecepatan pemberian bahan pada kulit. Bahan yang berbasis lemak lebih mudah berpenetrasi dan angka keasaman yang tinggi ( $\text{pH} > 11$ ) akan memperbesar daya penetrasi karena kulit akan diperlunak (Tranggono dan Latifah, 2007).



- f. Profil pelepasan zat aktif dari pembawanya, bergantung pada afinitas zat aktif terhadap pembawa, kelarutan zat aktif dalam pembawa, dan pH pembawa.
- g. Waktu kontak zat aktif dengan kulit.
- h. Bahan-bahan peningkat penetrasi (*enhancer*) dapat meningkatkan permeabilitas kulit dengan cara mengubah sifat fisikokimia lapisan tanduk sehingga mengurangi daya tahan difusi. Contohnya: DMSO, DMF, DMA, urea, dan lain-lain.

Mekanisme aksi bahan-bahan peningkat penetrasi percutan masih belum diketahui. Namun, secara umum bahan-bahan tersebut mempengaruhi lapisan tanduk dengan cara (Touitou & Barry, 2007):

1. Mempengaruhi lipid intermolekuler lapisan tanduk sehingga menurunkan penghalang lipid lapis ganda terhadap molekul obat. Pengaruhnya dapat berupa fluktuasi, ekstraksi lipid, perubahan polaritas, atau pemisahan fase yang menyebabkan terbentuknya celah yang memungkinkan senyawa polar menembus lapisan tersebut.
2. Mengubah sifat melarutkan lapisan tanduk sehingga meningkatkan koefisien partisi obat ataupun bekerja sebagai kosolven jaringan.
3. Mempengaruhi keratin intraseluler lapisan tanduk dengan cara mendenaturasi atau mengubah konformasinya sehingga menyebabkan terjadinya *swelling*, peningkatan hidrasi, dan vaskuolisasi.
4. Mempengaruhi desmosom, pengikat antar sel tanduk sehingga terjadi pemisahan lapisan tanduk.
5. Memodifikasi aktivitas termodinamik sediaan. Penetrasi cepat pelarut dari sediaan ataupun penguapannya menyebabkan senyawa obat berada pada kondisi aktif secara termodinamik dan mendorong obat untuk menembus lapisan tanduk.

Dalam studi ini, hipotesis bahwa peptida dapat meningkatkan penetrasi diketahui dari beberapa studi sebelumnya dan alasan, antara lain:

1. Peptida Magainin yang diketahui dapat membentuk inti dalam sel membran bakteri sehingga dapat meningkatkan permeabilitas kulit dengan mengganggu struktur lemak lapisan tanduk (Kim, Ludovice, & Prausnitz, 2007)

2. RALA (alanin-leusin-alanin), suatu peptida amfipatik yang digunakan sebagai pembawa karena dapat meningkatkan penghantaran sodium diklofenak melalui sistem kristal cair. Mekanisme penetrasi peptida ini ke dalam sel dan ke dalam nukleus berdasarkan pada agregasi peptida pada permukaan lapisan ganda sel (Avrahami, Aserin, & Garti, 2010).
3. Peptida-Pz (4-fenilazobenziloksikarbonil-Pro-Leu-Gly-Pro-Arg) yang dapat meningkatkan penetrasi intestinal pada kelinci dan lapis tunggal CaCO<sub>2</sub> dengan cara *tight junction* (Yen, 1995).
4. Oligoarginin, yaitu suatu peptida yang *dilink* dengan polimer poli (asam N-vinilasetamid-co-akrilat) dapat meningkatkan penyerapan seluler molekul bioaktif yang dicampur secara fisik kedalam peptida-polimer ini (Sakuma, 2010).
5. Kemiripan gugus asam amino yang menyusun peptida dengan urea dan seramida yaitu mengandung gugus karboksil dan amida menjadi alasan lain peptida Cu-GHK berfungsi sebagai peningkat penetrasi (Touitou & Barry, 2007).

#### **2.4 Penuaan Kulit**

Seiring bertambahnya usia, manusia pasti akan mengalami penuaan. Proses penuaan ini terlihat pada terbentuknya kerutan atau keriput pada kulit atau terjadinya kemunduran kondisi dan fungsi kulit. Proses penuaan dapat terjadi secara alami dan penuaan akibat kerusakan baik anatomi maupun fisiologi pada semua organ tubuh, mulai dari pembuluh darah hingga kulit (Tranggono dan Latifah, 2007).

Proses alami merupakan penuaan kulit yang tidak dapat dihindari oleh semua makhluk hidup. Perubahan akibat proses penuaan yang terjadi pada kulit dapat dibagi atas perubahan anatomis, fisiologis, serta kimiawi. Perubahan anatomis terlihat langsung pada hilangnya elastisitas dan fleksibilitas kulit sehingga menyebabkan timbulnya keriput dan kerut, epidermis kering dan pecah-pecah, penebalan kulit, hiperpigmentasi, tumor kulit, dan sebagainya (Tranggono dan Latifah, 2007).

Banyak faktor luar yang mempengaruhi penuaan kulit, yang paling utama ialah sinar matahari (sinar UV). Kulit yang sering terpapar sinar matahari

cenderung lebih cepat kering, keriput, dan kasar. Kulit kering disebabkan oleh menurunnya fungsi kelenjar minyak kulit (kelenjar sebacea). Keriput disebabkan oleh berkurangnya kadar air kulit dan mengeringnya serabut kolagen serta elastin akibat penurunan sekresi hormon-hormon kelamin. Penurunan kecepatan metabolisme sel basal dan proses keratinisasi mengakibatkan regenerasi sel-sel epidermis menjadi lambat (Tranggono dan Latifah, 2007).

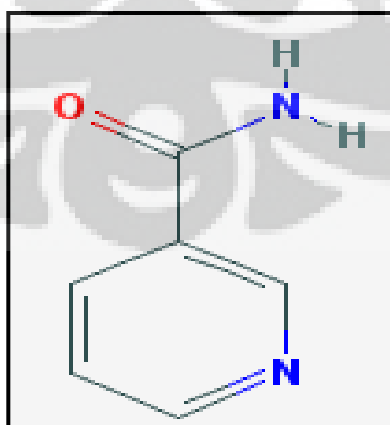
## 2.5 Komponen Bioaktif

Banyak komponen bioaktif dalam produk kosmeseutikal yang memberikan efek biologis pada kulit, antara lain vitamin, peptida, logam, asam hidroksil, seramida (Bissett, 2009), enzim, asam hialuronat, dan asam amino (Brandt, Cazzaniga, & Hann, 2011).

### 2.5.1 Vitamin

Saat ini, vitamin merupakan bahan tambahan yang banyak dimanfaatkan untuk produk perawatan kulit, termasuk pembersih, pelembab, antioksidan dan formulasi terapeutik. Vitamin diyakini dapat mencegah penuaan berdasarkan fungsinya sebagai antioksidan. Vitamin yang sering digunakan ialah vitamin C, E, A, pantenol, dan vitamin B3 (pelembab). Vitamin B3 (niasinamida) merupakan bahan baru yang digunakan dalam perawatan kulit (Draelos, 2000).

#### 2.5.1.1 Vitamin B3 (Niasinamida)



[Sumber : <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary>]

**Gambar 2.2** Struktur Kimia Niasinamida (telah diolah kembali)

Niasinamida berupa serbuk kristal putih atau hampir putih atau kristal tak berwarna dan tidak berbau. Larut dalam 1 : 1,5 air, 1:10 air mendidih, 1:5,5 dalam alkohol dehidrasi, dan larut dalam gliserol. Vitamin ini sangat stabil terhadap panas, cahaya, oksigen dan kelarutannya dalam air juga mempermudah formulasi niasinamida sebagai bahan pelembab (Draelos, 2000). Larutan 5% dalam air memiliki pH 6,0-7,5 (Sweetman, 2009). Namun, untuk mencegah hidrolisis menjadi asam nikotinat yang dapat menyebabkan merah, maka dalam formulasi dapat dipilih pH 4-7 (Bissett, 2009).

Niasinamida mampu meningkatkan fungsi penghalang lapisan kulit sehingga meningkatkan resistensi kulit terhadap lingkungan dari senyawa yang dapat merusak seperti surfaktan, pelarut, dan dapat mengurangi iritasi, inflamasi, dan kekasaran dimana dapat menyebabkan penuaan pada kulit. Selain itu, vitamin ini dapat meningkatkan kandungan air pada lapisan tanduk, antigaris halus, antikerut, antioksidan, mengurangi hiperpigmentasi, dan antijerawat. Efek antikerut niasinamida diperoleh dengan meningkatkan produksi fibroblast untuk merangsang sintesis kolagen (Bissett, 2009; Draelos & Traman, 2006; Lupo, 2001; Salvador & Chisvert, 2007). Penggunaan dalam waktu lama dapat ditoleransi dengan baik oleh kulit. Dosis topikal vitamin B3 ialah 1%-5% (Bissett, 2009; Gehring W, 2010; Lupo, 2001).

Suatu percobaan di Taiwan dengan 17 subjek, setelah 12 minggu pengobatan dengan niasinamida 4%, terjadi pengurangan jumlah kerutan pada kulit secara signifikan (Lupo, 2001; Zussman, Ahdout, & Kim, 2010). Pada kulit yang menua, aplikasi topikal niasinamida meningkatkan struktur permukaan, menghaluskan keriput, dan menghambat karsinogenesis (Gehring W, 2010).

Niasinamida topikal 5% juga diuji selama 12 minggu kepada wanita Kaukasian yang berusia 50 tahun. Hasilnya menunjukkan bahwa terjadi peningkatan signifikan selama 8 hingga 12 minggu berupa pengurangan garis halus dan kerutan pada kulit wajah, mengurangi lipid sebacea dan ukuran pori-pori, serta meningkatkan elastisitas kulit (Bissett, 2009).

Percobaan lain menunjukkan krim niasinamida 2% diuji pada kulit kering, 4-8 minggu menurunkan kehilangan air (Gao, Zhang, Wei, & Chen, 2008). Suatu

penelitian di Jepang melaporkan bahwa niasinamida 4% mengurangi kerutan di daerah mata. (Kawada, Date, Konishi, Kawara & Narita, 2009).

### 2.5.2 Peptida

Protein merupakan molekul besar dengan bobot molekul bervariasi antara 5000 hingga jutaan. Protein mudah dipengaruhi oleh suhu tinggi dan pH. Protein tersusun atas 20 jenis asam amino yang terikat melalui ikatan peptida. Hidrolisis protein yang tidak sempurna akan menghasilkan peptida (Poedjiadi, 1994).

Peptida ialah kumpulan dari beberapa asam amino, misalnya kumpulan dari tiga asam amino disebut dengan tripeptida. Apabila peptida ini dihidrolisis lebih lanjut maka akan dihasilkan asam-asam amino. Peptida dapat bereaksi dengan ion logam berat, seperti ion  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ , dan  $\text{Ca}^{2+}$  dalam suasana basa dan membentuk kelat (Poedjiadi, 1994).

Di alam sebagian besar reaksi kimia, respon biologis, dan proses regulasi di beberapa bagian dimodulasi oleh asam amino. Peptida ini memiliki karakteristik rantai pendek, stabil, dan mudah disintesis membuat senyawa ini banyak digunakan dalam produk kosmetikal. Selain itu, peptida yang digunakan terdiri dari asam L-amino alami sehingga tidak imunogenik dan mudah dipecah untuk menghasilkan asam amino alami pada individu. Peptida dapat dimanfaatkan untuk peradangan, proliferasi, pigmentasi, angiogenesis, imunitas bawaan, dan regulasi sintesis matriks ekstraseluler (Zhang & Falla, 2009).

Hal yang perlu diperhatikan ialah aktivitas reproduksi, stabilitas, keamanan, formulasi, dan penghantaran peptida melalui kulit (Zhang & Falla, 2009). Peptida memiliki stabilitas kimia yang terbatas. Hidrolisis peptida mungkin terjadi dalam lingkungan cair, terutama pada peptida rantai panjang. Peptida molekul kecil dan hampir identik dengan peptida manusia memiliki toksisitas yang kecil (Draelos, 2010).

Target utama peptida bukan hanya lapisan tanduk, tetapi peptida dapat menghantarkan pesan yang dibawanya kepada sel kulit yang hidup. Peptida harus dapat melewati penghalang percutan agar mencapai epidermis (keratinosit), lapisan basal (melanosit, akhir sel saraf), dermis (fibroblast), dan *hypodermis* (adiposa). Molekul peptida yang besar sulit untuk berpenetrasi ke lapisan kulit

yang lebih dalam dan peptida dengan molekul kecil masih terlalu hidrofilik untuk dapat berpenetrasi ke dalam lapisan pertama dan kedua lapisan tanduk. Oleh sebab itu, pada molekul peptida kecil dapat ditambahkan suatu rantai lipofilik (asam lemak), seperti palmitat, asetat, dan sebagainya untuk meningkatkan laju penetrasinya (Draelos, 2010; Barel, Paye, & Maibach, 2009).

Sekitar 25 peptida yang digunakan dalam kosmetikal, antara lain palmitoil heksapeptida-6 (Dermaxyl)<sup>®</sup>, oligopeptida-10, palmitoil tripeptida-5, palmitoil-KTTS (Matrixyl)<sup>®</sup>, asetil-heksapeptida-3 (Argireline)<sup>®</sup>, tembaga tripeptida glisil-histidil-lisin (Cu-GHK; Brand *example* Neova)<sup>®</sup> dan sebagainya (Zhang & Falla, 2009; Burgess, 2005; Walters & Roberts, 2008).

Ada beberapa peptida yang berasal dari fragmen dermal kolagen yang digunakan dalam produk perawatan kulit, antara lain palmitoil lisin-treonin-treonin-lisin-serin (Pal-KTTKS), tembaga lisil-histidil-lisin (Cu-GHK), dan Asetil glutamat-glutamat-metionin-glutamin-arginin-arginin (As-EEMQRR). Peptida ini dapat menstimulasi produksi kolagen melalui mekanisme kerja dalam proses penyembuhan luka sehingga mengurangi garis halus dan kerut pada kulit. Tripeptida glisil-histidil-lisin juga bekerja melalui mekanisme penyembuhan luka dan digunakan dalam formula dermokosmetik, terutama ketika dikompleks dengan ion logam (Draelos & Thaman, 2006).

Peptida Cu-GHK dengan konsentrasi 2% memberikan efek sebagai antikerut yang setara dengan 10% peptida As-EEMQRR. Suatu studi menyatakan bahwa peptida Cu-GHK menunjukkan peningkatan dalam ketebalan kulit, hidrasi, dan kelembutan kulit dalam waktu 12 minggu. Selain itu, dengan penggunaan 2% Cu-GHK dapat menurunkan kerutan sedangkan 10% As-EEMQRR hanya mengurangi kerutan sejumlah 30% (Draelos, 2010).

Penetrasi peptida yang buruk ke dalam kulit menjadi suatu tantangan dalam formulasi, terutama jika semakin meningkatnya jumlah residu asam amino yang menyusunnya (Draelos, 2010). Semakin meningkat jumlah residu asam amino maka daya penetrasinya akan semakin buruk (Bissett, 2009). Hal ini disebabkan oleh bobot molekul yang semakin besar. Namun bobot molekul tidak mempengaruhi pelembab superfisial. Oleh karena itu, jika suatu peptida ditujukan

**Universitas Indonesia**



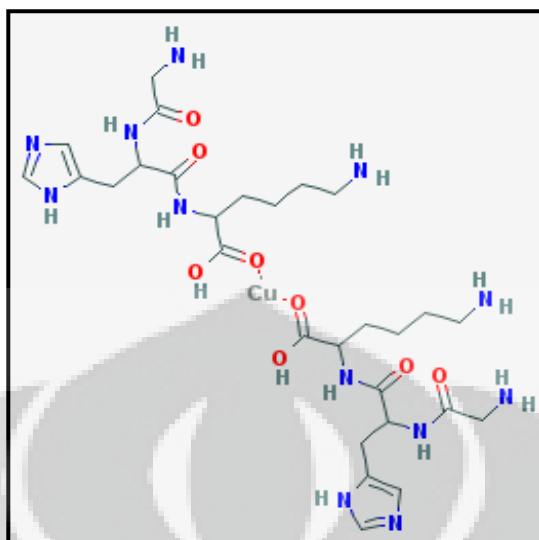
untuk berpenetrasi dan melembabkan lapisan stratum korneum yang lebih dalam maka peptida rantai pendek akan memberikan hasil yang terbaik (Salvador & Chisvert, 2007).

### 2.5.3 Logam

Produk kosmetik biasanya mengandung beberapa logam, yaitu seng, tembaga, selenium, dan mangan, serta garam-garam yang membentuk kompleks dengan senyawa organik, seperti oksida seng, tembaga peptida, dan selenometionin. Logam memiliki fungsi tertentu pada kulit terkait peran mereka sebagai kofaktor yang dibutuhkan dalam kegiatan metaloenzim. Seng berfungsi sebagai antioksidan superoksida dismutase protein dan metalotionin. Tembaga merupakan kofaktor untuk protein, terutama lisil oksidase dan prolil hidroksilase, enzim yang penting dalam sintesis kolagen. Selenium merupakan kofaktor enzim peroksidase untuk antioksidan glutathion. Kompleks Cu-tripeptida dapat memberikan efek antipenuaan pada wajah. Namun, beberapa logam dan kompleksnya dalam formulasi dapat memberikan reaksi negatif, seperti menghasilkan warna (misalnya, tembaga biru-hijau), seng dapat membentuk kompleks dengan avobenzon, tabir surya UV A sehingga mengurangi efek dan estetika dari produk kosmetik (Bissett, 2009).

Pada organisme mamalia tembaga ditemukan terutama dalam bentuk kompleks dengan tripeptida spesifik, yaitu Cu-GHK (tembaga-glisil-histidil-lisin). Peptida GHK memberikan afinitas yang tinggi terhadap ion  $\text{Cu}^{2+}$  (tembaga), dimana membentuk kompleks tembaga tripeptida (Cu-GHK) secara spontan (Zhang, Timothy, Falla, 2009).

#### 2.5.4 Kompleks Peptida Cu-GHK (Tembaga-glisil-histidil-lisin)



[Sumber : <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi>]

**Gambar 2.3** Struktur Kimia Kompleks Cu-GHK (telah diolah kembali)

Tembaga glisil-histidil-lisin (Cu-GHK) dengan rumus molekul  $C_{28}H_{48}CuN_{12}O_8$  memiliki bobot molekul sebesar 744,302320 g/mol (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi>). Kompleks tembaga-GHK pertama kali diisolasi dari plasma manusia. Kompleks ini merupakan bentuk dasar dimana tembaga diangkut ke dalam jaringan dan menyebar melalui membran sel (Zhang & Falla, 2009). Tembaga-GHK merupakan fragmen dari kolagen dermis (Bissett, 2009).

Tripeptida GHK berasal dari matriks ekstraseluler yang mengikat protein SPARC (sekresi protein, asam, kaya sistein). Protein ini diekspresikan oleh sel endotel selama pengembangan dan pemodelan jaringan sehingga menghasilkan urutan GHK spesifik akibat degradasi protease seperti elastase, stromelisin, tripsin, dan subtilisin. Proses ini berlangsung ketika matriks *turnover*. SPARC merupakan sumber dari peptida yang mengikat logam yang merangsang angiogenesis (Zhang & Falla, 2009). Tembaga merupakan kofaktor yang berfungsi untuk aktivitas lisil oksidase, yaitu suatu enzim yang terlibat dalam sintesis kolagen (Bissett, 2009). Tembaga memiliki sifat permeabilitas yang baik (Mazurowska & Mojski, 2007).



Kompleks ini (Cu-GHK) dapat merangsang penyembuhan luka dan perbaikan jaringan dengan meningkatkan produksi komponen matriks ekstraseluler, seperti kolagen, elastin, glukosaminoglikan dan matriks spesifik membentuk matriks metaloproteinase sehingga dapat meningkatkan kekuatan dan elastisitas kulit (Bissett, 2009; Mazurowska & Mojski, 2007). Pemberiaan 2% Cu-GHK topikal menunjukkan perbaikan pada ketebalan kulit, hidrasi, kehalusan, dan kerutan (Bissett, 2009).

Kemampuan penetrasi Cu-GHK melalui lapisan tanduk dan perannya dalam proses transportasi ion tembaga merupakan isu utama untuk aktivitas kosmetik dan farmasi. Mekanisme degradasi utama tripeptida GHK terletak pada pemecahan dari ikatan peptida histidin dan lisin. Pada pH alkali (pH fisiologis) amino lisin dalam kompleksnya akan terprotonasi dan dapat berinteraksi dengan reseptor seluler (Conato, et.al., 2001).

## 2.6 Sediaan Gel

Menurut Farmakope Indonesia Edisi Keempat, gel kadang-kadang disebut jeli, merupakan sistem semipadat terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar, terpenetrasi oleh suatu cairan. Jika massa gel terdiri dari jaringan partikel kecil yang terpisah, gel digolongkan sebagai sistem dua fase (misalnya gel aluminium hidroksida). Gel fase tunggal terdiri dari makromolekul organik yang tersebar serba sama dalam suatu cairan sedemikian hingga tidak terlihat adanya ikatan antara molekul makro yang terdispersi dalam cairan. Gel fase tunggal dapat dibuat dari makromolekul sintetik (misalnya karbomer) atau dari gom alam (misalnya tragakan). Gel dapat digunakan untuk obat yang diberikan secara topikal atau dimasukkan ke dalam lubang tubuh.

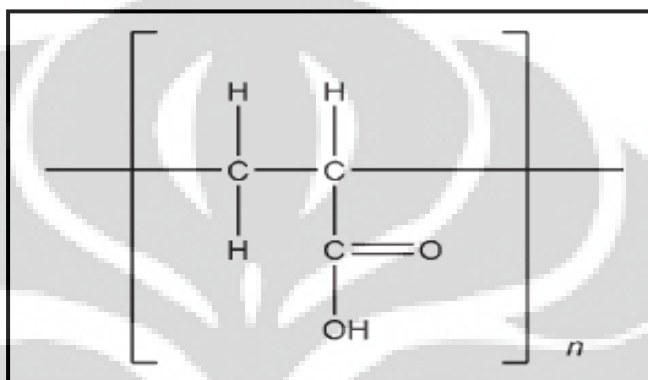
Gel merupakan tipe basis yang menghasilkan penampilan seragam, dari transparan hingga semitransparan dan memberikan rasa lembab. Gel cair (minyak) digunakan dibawah krim *make up* karena sifatnya yang dapat memberikan rasa lembab dan cerah. Perkembangan teknologi menghasilkan suatu produk baru dimana gel cair dan minyak memiliki fungsi dalam menyediakan air dan melembabkan (Mitsui, 1997). Komposisi gel cair umumnya terdiri dari pelarut air,

alkohol, dan propilenglikol dan turunannya. Produk gel mengandung hingga 70% air dan minyak dengan jumlah yang sangat rendah (Shai, Maibach, & Baran, 2009).

### 2.6.1 Formulasi Gel

Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan gel antara lain:

#### 2.6.1.1 Karbomer



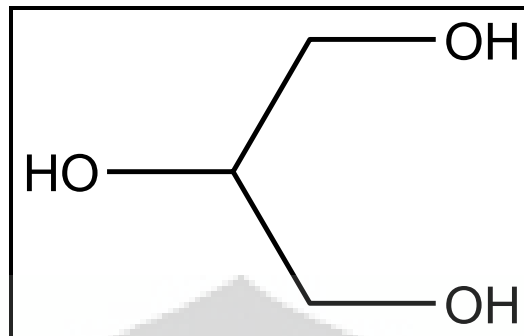
[Sumber: Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009]

**Gambar 2.4.** Struktur Kimia Karbomer (telah diolah kembali)

Karbomer atau karbopol merupakan polimer sintetik dengan bobot molekul besar dari asam akrilat yang di-*crosslink* dengan alilsukrosa atau alil eter dari pentaeritritol. Pemerianya berupa serbuk berwarna putih, halus, higroskopis, sedikit berbau, dan bersifat asam. Karbomer dapat mengembang dalam air, gliserin, dan setelah dinetralkan, mengembang dalam etanol 95%.

Karbomer digunakan sebagai bahan pensuspensi, agen peningkat viskositas, pembentuk gel, pengemulsi, dan pengikat tablet pada berbagai produk farmasi. Karbomer dengan konsentrasi 0,5-2,0% digunakan sebagai bahan pembentuk gel. Karbomer dalam larutan 0,5% memiliki pH asam yaitu sebesar 2,7-3,5. Larutan dalam air memiliki viskositas yang rendah dan bila dinetralkan dengan basa, seperti asam amino, natrium hidroksida akan memiliki viskositas yang tinggi. Satu gram karbomer dapat dinetralkan oleh 0,4 gram natrium hidroksida. Viskositas akan berkurang apabila pH kurang dari 3 atau lebih besar dari 12. Gel cepat kehilangan viskositas pada paparan sinar ultraviolet tetapi dapat diminimalisir dengan penambahan antioksidan.

### 2.6.1.2 Gliserin

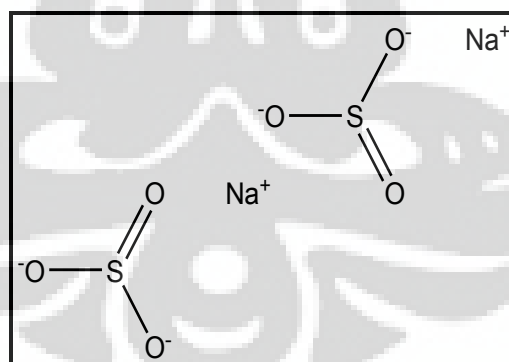


[Sumber: Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009]

**Gambar 2.5.** Struktur Kimia Gliserin (telah diolah kembali)

Gliserin berupa cairan jernih, tidak berwarna, tidak berbau, kental, higroskopis, serta berasa manis. Gliserin larut dalam air, etanol 95% dan metanol. Gliserin digunakan secara luas dalam preparasi oral, topikal, dan parenteral. Pada formulasi topikal dan kosmetik, gliserin digunakan sebagai humektan dan emolien pada konsentrasi  $\leq 30$ . Selain itu, juga digunakan dalam gel cair maupun non-cair, sebagai pelarut dan kosolven. Bahan ini tidak kompatibel dengan agen pengoksidasi kuat, seperti kalium permanganat.

### 2.6.1.3 Natrium Metabisulfit



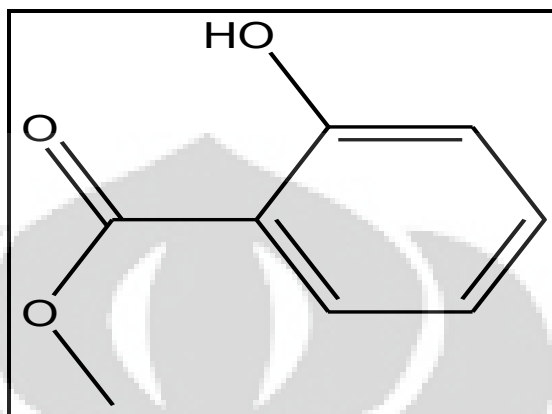
[Sumber: Wade and Weller, 1994]

**Gambar 2.6.** Struktur Kimia Natrium Metabisulfit (telah diolah kembali)

Natrium metabisulfit merupakan kristal tidak berwarna, serbuk kristal berwarna putih hingga putih krem yang berbau. Digunakan sebagai antioksidan dalam sediaan oral, parenteral dan topikal. Natrium metabisulfit sedikit larut

dalam etanol (95%), mudah larut dalam gliserin dan air. Konsentrasi yang digunakan sebagai antioksidan adalah 0,01-0,1%. (Wade and Weller, 1994).

#### 2.6.1.4 Metilparaben



[Sumber: Wade and Weller, 1994]

**Gambar 2.7.** Struktur Kimia Metilparaben (telah diolah kembali)

Nipagin atau metil paraben merupakan serbuk kristal putih atau tidak berwarna dan tidak berbau. Larut dalam etanol dan propilen glikol, sedikit larut dalam air. Memiliki aktivitas sebagai pengawet antimikroba untuk sediaan kosmetik, makanan dan sediaan farmasi. Efektif pada rentang pH yang besar dan mempunyai spektrum antimikroba yang luas meskipun lebih efektif terhadap jamur dan kapang. Campuran paraben digunakan untuk mendapatkan pengawet yang efektif. Konsentrasi yang digunakan untuk sediaan topikal adalah 0,02-0,3% (Wade and Weller, 1994).

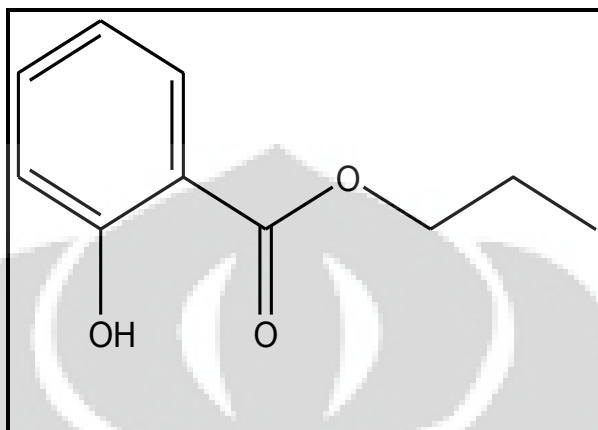
Metilparaben atau metilhidroksibenzoat digunakan secara luas sebagai formulasi farmasetik. Dapat digunakan secara tunggal, atau dengan kombinasi dengan paraben lain atau dengan antimikroba lain. Pada kosmetik, metilhidroksibenzoat digunakan sebagai pengawet antimikroba.

Paraben efektif pada rentang pH yang besar dan mempunyai spektrum antimikroba yang luas meskipun lebih efektif terhadap jamur dan kapang. Aktivitas antimikroba meningkat sejalan dengan panjang rantai dan moitas alkil yang meningkat, kelarutannya berkurang. Campuran paraben digunakan untuk mendapatkan pengawet yang efektif. Kekuatan pengawet meningkat dengan penambahan 2-5% propilenglikol, atau menggunakan paraben dengan kombinasi antimikroba lain seperti imidurea. Penggunaan topikal metilhidroksibenzoat

**Universitas Indonesia**

berkisar antara 0,02-0,3%. Dalam kosmetik penggunaan paraben memungkinkan 0,4% tetapi total paraben yang digunakan tidak lebih dari 0,8%.

#### 2.6.1.5 Propilparaben



[Sumber: Wade and Weller, 1994]

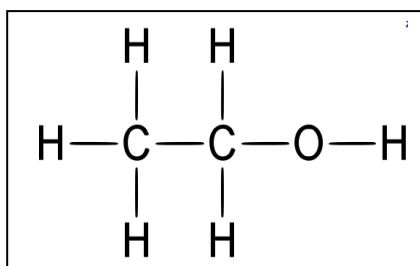
**Gambar 2.8.** Struktur Kimia Propilparaben (telah diolah kembali)

Nipasol atau propil paraben merupakan serbuk kristal putih atau tidak berwarna dan tidak berbau. Larut dalam etanol dan propilen glikol, sedikit larut dalam air. Propil paraben yang memiliki aktivitas sebagai antimikroba, umumnya digunakan sebagai pengawet untuk sediaan farmasi, kosmetik dan makanan. Konsentrasi yang digunakan untuk sediaan topikal adalah 0,01-0,6% (Wade and Weller, 1994).

Propilparaben atau propilhidroksibenzoat berupa serbuk putih, kristal, tidak berbau dan tidak berasa. Bahan ini sangat larut dalam aseton dan eter; 1:1,1 etanol; 1:250 gliserin; 1:110 propilenglikol; dan 1:2500 air. Propilparaben digunakan sebagai bahan pengawet. Propilparaben dapat berubah warna dengan adanya besi dan hidrolisis oleh basa lemah atau asam kuat.

Aktivitas antimikroba ditunjukkan pada pH antara 4-8. Bahan ini secara luas digunakan sebagai bahan pengawet dalam kosmetik, makanan, dan produk farmasetika. Penggunaan kombinasi paraben dapat meningkatkan aktivitas antimikroba. Dalam sediaan topikal, konsentrasi yang umum digunakan adalah 0,01-0,6%.

## 2.6.1.6 Etanol 96%



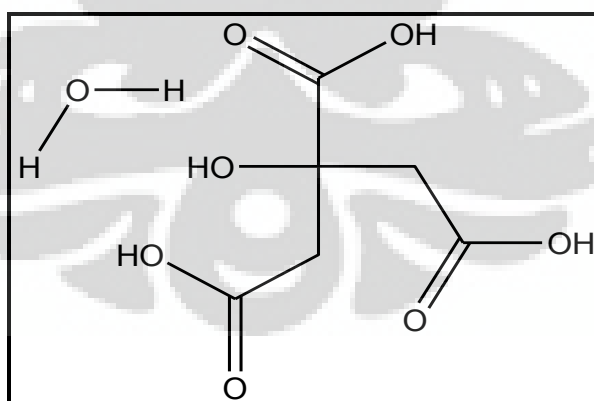
[Sumber: Wade and Weller, 1994]

**Gambar 2.9.** Struktur Kimia Etanol 96% (telah diolah kembali)

*Spiritus fortior* atau etanol 96% merupakan cairan bening yang mudah menguap pada suhu rendah, jernih, memiliki bau yang khas dan mudah terbakar. Etanol dapat bercampur dengan air, kloroform, eter dan gliserin. Etanol dapat digunakan sebagai antimikroba (konsentrasi lebih dari 10% v/v), disinfektan dan pelarut dalam sediaan topikal (konsentrasi 60-90% v/v). Etanol dalam formula ini digunakan sebagai pelarut (Wade and Weller, 1994).

Alkohol 96% berupa cairan jernih, tidak berwarna, mudah menguap, mudah terbakar, higroskopis, dan mengandung tidak kurang dari 95,1% v/v atau 92,6% b/b. Larut dalam air dan diklormetan. Etanol banyak digunakan sebagai pelarut dan pendingin pada kulit.

## 2.6.1.7 Asam Sitrat Monohidrat



[Sumber : Rowe, Sheskey, &amp; Quinn, 2009]

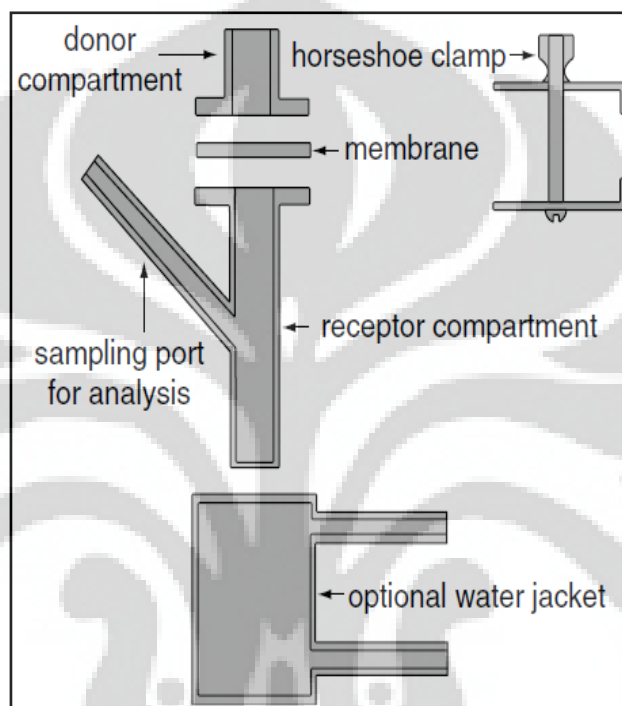
**Gambar 2.10.** Struktur Kimia Asam Sitrat Monohidrat (telah diolah kembali)

Asam sitrat merupakan Kristal translusen atau tidak berwarna, tidak berbau dan memiliki rasa asam yang kuat. Asam sitrat digunakan dalam produk

farmasetika dan produk makanan untuk mengadjust pH larutan. Selain itu asam sitrat juga digunakan sebagai agen pendapar, antioksidan, dan pengawet.

Asam sitrat tidak kompatibel dengan potassium tartat, alkali, asetat, sulfida, agen pengoksidasi, basa, agen pereduksi dan nitrat. Asam sitrat secara potensial dapat menyebabkan ledakan dalam kombinasi dengan logam nitrat.

## 2.7 Uji Penetrasi Secara *In Vitro* Menggunakan Sel Difusi Franz



[Sumber : Draelos & Thaman, 2006]

**Gambar 2.11.** Diagram ruang difusi Franz (telah diolah kembali)

Penelitian daya penetrasi dan pelepasan zat aktif melalui kulit secara *in vitro* merupakan cara yang paling dipilih karena mudah dan hemat dalam mengarakterisasi absorpsi dan penetrasi obat melalui kulit. Selain itu, diperlukan saat pengembangan formulasi sediaan topikal untuk mengidentifikasi dan memilih formulasi yang baik. Formulasi yang baik akan memberikan pelepasan zat aktif yang optimal dan deposisi zat aktif menuju lapisan kulit yang diinginkan (lapisan tanduk, epidermis, atau dermis). Kegagalan dalam melaksanakan penelitian ini akan memberikan hasil yang toksik dan kegagalan pada uji klinis, bukan dikarenakan oleh aktivitas zat aktif namun karena karakteristik dari formulasi (Witt & Bucks, 2003).



Langkah pertama pada pengantaran obat secara topikal adalah pelepasan zat aktif dari pembawanya. Kecepatan pelepasan tergantung pada aktivitas termodinamik zat aktif terkait formulasi dan hal ini dapat dipastikan dengan menggunakan suatu sistem sel difusi yang biasa digunakan pada penelitian daya penetrasi zat aktif pada kulit secara *in vitro*. Kecepatan pelepasan zat aktif yang kecil berhubungan dengan rendahnya bioavailabilitas dari formula yang digunakan. Umumnya, konsentrasi formula zat aktif yang kecil dengan kelarutannya yang besar akan menahan zat aktif pada permukaan kulit dan memiliki kecepatan pelepasan yang kecil. Oleh karena itu, karakterisasi dari pelepasan zat dari suatu formulasi akan memberikan informasi berharga mengenai strategi dan pemilihan formula (Witt & Bucks, 2003).



[Sumber : Witt & Bucks, 2003]

**Gambar 2.12.** Pengambilan sampel dari sel difusi Franz (telah diolah kembali)

Studi penetrasi kulit secara *in vitro* berhubungan dengan penilaian bioavailabilitas zat aktif pada kulit dengan mengukur kecepatan dan jumlah komponen yang menembus kulit dan jumlah komponen yang tertahan pada kulit. Salah satu teknik yang telah dikenal baik untuk mengukur permeasi kulit secara *in vitro*, termasuk kosmetik ialah sel difusi Franz. Sel difusi Franz terdiri atas dua komponen yaitu kompartemen donor dan kompartemen reseptor yang dipisahkan oleh membran biologis atau kulit pengganti. Membran yang digunakan dapat berupa kulit manusia atau kulit hewan. Membran diletakkan di antara kedua kompartemen. Kompartemen reseptor diisi dengan larutan penerima yang sesuai.

**Universitas Indonesia**



Suhu pada membran (kulit) harus dijaga sesuai dengan suhu kulit sebenarnya menggunakan *water jacket* di sekeliling kompartemen reseptor. Cairan reseptor yang dipilih tidak membatasi difusi sel senyawa uji, dimana kelarutan dan stabilitas senyawa uji dalam cairan reseptor harus terjamin. Larutan salin atau *buffer* salin biasanya digunakan untuk senyawa hidrofilik (Salvador & Chisvert, 2007). Sediaan yang akan diuji diaplikasikan pada membran kulit (permukaan lapisan tanduk). Pada interval waktu tertentu diambil beberapa ml cairan dari kompartemen reseptor dan jumlah obat yang terpenetrasi melalui kulit dapat dianalisis dengan metode analisis yang sesuai. Setiap diambil sampel cairan dari kompartemen reseptor harus selalu digantikan dengan cairan yang sama sejumlah volume yang diambil (Draeos, 2010; Draeos & Thaman, 2006; Salvador & Chisvert, 2007; Witt & Bucks, 2003; Levintova, Plakogiannis & Bellantone, 2011).

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

$$Q = \frac{\{C_n \cdot V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \cdot S\}}{A} \quad (2.1)$$

Keterangan:

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

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

$V$  = Volume sel difusi Franz (13 ml)

$\sum_{i=1}^{n-1} C_i$  = Jumlah konsentrasi niasinamida ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) pada *sampling* pertama (menit ke-( $n-1$ )) hingga sebelum menit ke- $n$

$S$  = Volume *sampling* (0,5 ml)

$A$  = Luas area membran ( $\text{cm}^2$ )

Kemudian dilakukan perhitungan fluks obat berdasarkan hukum Fick I:

$$J = \frac{M}{S \times t} \quad (2.2)$$

Keterangan:

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

M = Jumlah kumulatif niasinamida yang melalui membran ( $\mu\text{g}$ )

S = Luas area difusi ( $\text{cm}^2$ )

t = Waktu (jam)

Selanjutnya dibuat grafik jumlah kumulatif niasinamida yang terpenetrasi ( $\mu\text{g}$ ) per luas area difusi ( $\text{cm}^2$ ) terhadap waktu (jam) dan grafik fluks ( $\mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$ ) terhadap waktu (jam).

## 2.8 Stabilitas dan Uji Kestabilan

Stabilitas didefinisikan sebagai kemampuan suatu produk obat atau kosmetik untuk bertahan dalam batas spesifikasi yang diterapkan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan untuk menjamin identitas, kekuatan, kualitas dan kemurnian produk. Definisi sediaan kosmetik yang stabil yaitu suatu sediaan yang masih berada dalam batas yang dapat diterima selama periode waktu penyimpanan dan penggunaan, dimana sifat dan karakteristiknya sama dengan yang dimilikinya saat dibuat (Djajadisastra, 2004).

Ketidastabilan fisika dari sediaan ditandai dengan adanya perubahan warna, timbul bau, pengendapan suspensi atau caking, perubahan konsistensi dan perubahan fisik lainnya (Djajadisastra, 2004). Nilai kestabilan suatu sediaan farmasetika atau kosmetik dalam waktu yang singkat dapat diperoleh dengan melakukan uji stabilitas dipercepat. Pengujian ini dimaksudkan untuk mendapatkan informasi yang diinginkan dalam waktu sesingkat mungkin dengan cara menyimpan sediaan sampel pada kondisi yang dirancang untuk mempercepat terjadinya perubahan yang biasa terjadi pada kondisi normal. Jika hasil pengujian suatu sediaan pada uji dipercepat diperoleh hasil yang stabil, hal itu menunjukkan bahwa sediaan tersebut stabil pada penyimpanan suhu kamar selama setahun. Pengujian yang dilakukan pada uji dipercepat yaitu *cycling test*.

Uji ini merupakan simulasi adanya perubahan suhu setiap tahun bahkan setiap harinya selama penyimpanan produk (Djajadisastra, 2004).

Parameter-parameter yang digunakan dalam uji kestabilan fisik adalah:

a. Organoleptis atau penampilan fisik

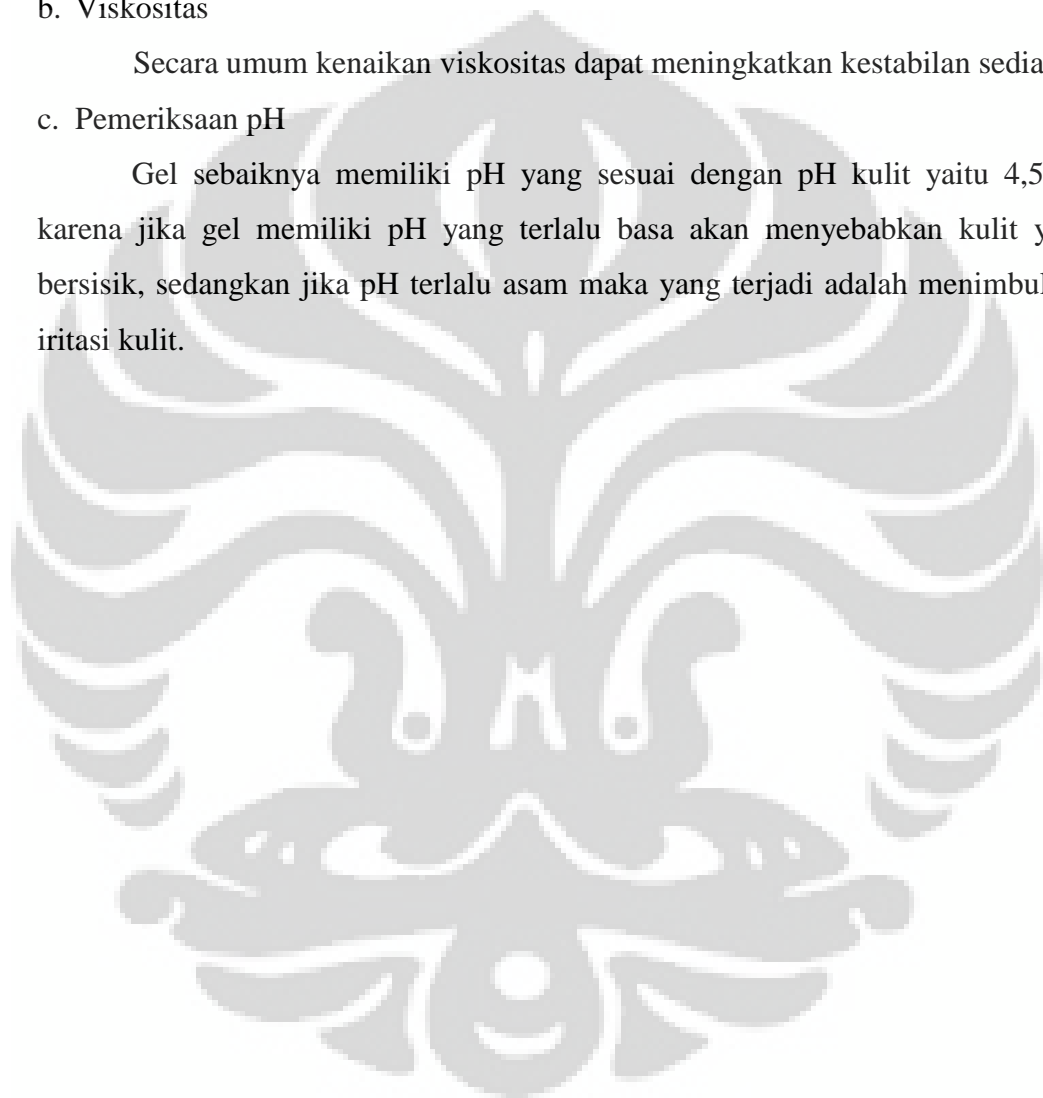
Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengamati adanya perubahan bentuk, kejernihan, timbulnya bau atau tidak dan perubahan warna.

b. Viskositas

Secara umum kenaikan viskositas dapat meningkatkan kestabilan sediaan.

c. Pemeriksaan pH

Gel sebaiknya memiliki pH yang sesuai dengan pH kulit yaitu 4,5-6,5 karena jika gel memiliki pH yang terlalu basa akan menyebabkan kulit yang bersisik, sedangkan jika pH terlalu asam maka yang terjadi adalah menimbulkan iritasi kulit.



## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Lokasi**

Penelitian dilaksanakan dari bulan Februari 2012 sampai bulan Mei 2012 di Laboratorium Farmasetika dan Laboratorium Kimia Farmasi Kuantitatif Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia Depok.

#### **3.2 Alat**

Homogenizer (Multimix, Malaysia), pH meter (Eutech Instrument pH 510, Singapura), Viskometer Hoppler (HAAKE, USA), sel difusi franz dengan volume reseptor 13 mL (Multimix, Malaysia), Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1600, Jepang), pengaduk magnetik (IKA® C-MAG HS 7), timbangan analitik (Adam AFA-210 LC, USA), termostat (Polyscience model 9000, Amerika Serikat), refrigerator (Toshiba), Oven (Mettler, Jerman), termometer, alat-alat gelas dan alat-alat bedah.

#### **3.3 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah vitamin B3 (India), peptida Cu-GHK (Kanada), karbomer (Hongkong), gliserin (P&G), natrium hidroksida (Jerman), metilparaben (India), propilparaben (Gujarat), natrium metabisulfit (Thailand), asam sitrat (Indonesia), etanol 96% (Indonesia), dan aqua demineralisata (Indonesia).

Hewan coba: Tikus betina galur *Sprague-Dawley* dengan berat  $\pm$  150 gram berumur 8-10 minggu.

#### **3.4 Cara Kerja**

##### **3.4.1 Perhitungan Konsentrasi**

Konsentrasi yang dipergunakan dalam penelitian ini mengacu pada dosis yang telah diujicobakan secara klinis khasiat pengobatan yang dilakukan secara topikal oleh peneliti sebelumnya pada jurnal. Di dalam

sediaan, konsentrasi niasinamida yang digunakan sebesar 4% (Kawada, Date, Konishi, Kawara & Narita, 2009; Lupo, 2001).

### 3.4.2 Formula Gel

Gel dibuat dalam dua formula yang dibedakan pada kandungan peptida. Formula pertama mengandung peptida 2 % dan formula kedua tanpa peptida.

**Tabel 3.1** Komposisi Bahan dalam Sediaan Gel

Bahan	Konsentrasi (%) (b/b)	
	Formula 1 (%)	Formula 2 (%)
Niasinamida	4,00	4,00
Peptida Cu-GHK	2,00	-
Karbomer	0,50	0,50
Natrium hidroksida	0,20	0,20
Gliserin	20,00	20,00
Metilparaben	0,25	0,25
Propilparaben	0,02	0,02
Natrium metabisulfit	0,10	0,10
Asam sitrat	0,20	0,20
Etanol 96%	2,00	2,00
Aqua Demineralisata	70,73	72,73

### 3.4.3 Pembuatan Sediaan Gel

#### 3.4.3.1 Formula 1

Karbomer didispersikan ke dalam aqua demineralisata, diaduk secara perlahan-lahan. Larutan natrium hidroksida dalam aqua demineralisata ditambahkan ke dalamnya hingga diperoleh gel yang viskos. Setelah itu, gliserin ditambahkan ke dalam basis gel, diaduk dengan menggunakan alat *homogenizer* dengan kecepatan 1000 rpm. Metilparaben dan propilparaben dilarutkan dalam etanol 96%, ditambahkan ke dalam basis gel sambil diaduk dengan *homogenizer*.

Vitamin B3 dilarutkan dalam aqua demineralisata, dimasukkan ke dalam massa gel, sambil dihomogenisasi. Selanjutnya, peptida Cu-GHK dimasukkan ke dalam campuran, diaduk hingga homogen. Sodium metabisulfit dilarutkan dalam aqua demineralisata, ditambahkan ke dalam campuran, dan ditambahkan sedikit demi sedikit larutan asam sitrat diaduk dengan menggunakan alat *homogenizer* dengan kecepatan 500 rpm hingga terbentuk gel dengan viskositas rendah dan semitransparan.

#### 3.4.3.2 Formula 2

Karbomer didispersikan ke dalam aqua demineralisata, diaduk secara perlahan-lahan. Larutan natrium hidroksida dalam aqua demineralisata ditambahkan ke dalamnya hingga diperoleh gel yang viskos. Setelah itu, gliserin ditambahkan ke dalam basis gel, diaduk dengan menggunakan alat *homogenizer* dengan kecepatan 1000 rpm. Metilparaben dan propilparaben dilarutkan dalam etanol 96%, ditambahkan ke dalam basis gel sambil diaduk dengan *homogenizer*. Vitamin B3 dilarutkan dalam aqua demineralisata, dimasukkan ke dalam massa gel, sambil dihomogenisasi. Selanjutnya, sodium metabisulfit dilarutkan dalam aqua demineralisata, ditambahkan ke dalam campuran, dan ditambahkan sedikit demi sedikit larutan asam sitrat diaduk dengan menggunakan alat *homogenizer* dengan kecepatan 500 rpm hingga terbentuk gel dengan viskositas rendah dan semitransparan.

### 3.5 Evaluasi Sediaan Gel

Evaluasi dari masing-masing sediaan:

#### 3.5.1 Pengamatan Organoleptis

Sediaan diamati terjadinya perubahan bentuk, timbulnya bau atau tidak, terjadinya sineresis atau tidak dan perubahan warna.

#### 3.5.2 Pemeriksaan Homogenitas

Sediaan diletakkan di antara dua kaca objek lalu diperhatikan adanya partikel-partikel kasar atau ketidakhomogenan di bawah cahaya.

#### 3.5.3 Pengukuran pH

Uji pH dapat dilakukan menggunakan indikator universal atau pH meter.

**Universitas Indonesia**

Jika pH diukur dengan menggunakan pH meter, mula-mula elektroda dikalibrasi dengan dapar standar pH 4 dan pH 7. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam sediaan, catat nilai pH yang muncul di layar. Pengukuran dilakukan pada suhu ruang.

#### 3.5.4 Pengukuran Viskositas (Martin, Swarbrick, & Cammarata, 1993)

Pengukuran viskositas dilakukan menggunakan viskometer Hoppler (viskometer bola jatuh) di mana jenis bola yang digunakan adalah stainless steel. sediaan dimasukkan ke dalam suatu tabung gelas yang hampir vertikal dengan volume tertentu. Bola yang digunakan dimasukkan ke dalam tabung dan salah satu sisi tabung ditutup agar sediaan tidak keluar dan tabung tidak bocor, sedangkan sisi yang lainnya ditutup sebelum sediaan dimasukkan ke dalam tabung gelas. Selanjutnya, tabung gelas diputar dan bola akan mulai bergerak ke bawah. Waktu yang diperlukan bola untuk jatuh dihitung antara garis putih awal dan garis putih akhir yang ada pada tabung gelas. Percobaan ini dilakukan sebanyak tiga kali dan dihitung rata-ratanya. Kemudian, viskositas diukur dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\eta = t (S_b - S_f) \times K \text{ [mPa.s]} \quad (3.1)$$

Keterangan :

$\eta$	= viskositas (cps)
$t$	= waktu (detik)
$S_b$	= gravitasi jenis bola ( $\text{g/cm}^3$ )
$S_f$	= gravitasi jenis sediaan ( $\text{g/cm}^3$ )
$K \text{ [mPa.s]}$	= konstanta ( $\text{cm}^3/\text{g.s}$ )

#### 3.5.5 Uji Stabilitas Sediaan Gel (Djajadisastra, 2004)

##### 3.5.5.1 Uji stabilitas pada suhu tinggi

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

#### 3.5.5.2 Uji stabilitas pada suhu kamar

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

#### 3.5.5.3 Uji stabilitas pada suhu rendah

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

#### 3.5.5.4 *Cycling test*

Sediaan disimpan pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam lalu dikeluarkan dan ditempatkan pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Perlakuan ini adalah satu siklus. Percobaan diulang sebanyak 6 siklus. Kondisi fisik sediaan dibandingkan selama percobaan dengan sediaan sebelumnya.

### **3.6 Uji Penetapan Kandungan Vitamin B3 dalam Sediaan Gel**

#### 3.6.1 Pembuatan Spektrum Serapan dan Kurva Kalibrasi

Niasinamida standar  $\pm 50$  mg ditimbang, dimasukkan ke dalam labu tentukur 100,0 mL dan dilarutkan dengan aqua demineralisata, kemudian aqua demineralisata ditambahkan hingga batas, kocok homogen. Sebanyak 10,0 mL larutan tersebut dipipet dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 50,0 mL. Volume labu tentukur dicukupkan hingga batas dengan aqua demineralisata ( $C=100$  ppm). Kemudian, dilakukan pengenceran dengan cara yang sama seperti diatas hingga didapatkan konsentrasi 10 ppm. Larutan konsentrasi 10 ppm diukur serapannya dan ditentukan panjang gelombang maksimum dan catat serapan. Larutan standart 100 ppm dipipet sebanyak 3,0; 4,0; 6,0; dan 8,0 mL, masing-masing dimasukkan ke dalam labu tentukur 25,0 mL dan larutan standar 100 ppm dipipet sebanyak 3,0 mL dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL. Volume labu tentukur dicukupkan hingga batas dengan aqua demineralisata, kocok hingga homogen. Masing-masing larutan diukur serapan pada panjang gelombang maksimum. Serapan yang diperoleh dicatat dan dibuat kurva kalibrasi dari serapan yang diperoleh.



### 3.6.2 Persiapan Larutan Sampel dan Penetapan Kadar Sampel

Sampel gel ditambahkan aqua demineralisata 10 mL yang kemudian memisah, lalu disaring dengan menggunakan kertas saring dalam labu tentukur 50,0 mL. Kertas saring pertama kali dijenuhkan terlebih dahulu dengan aqua demineralisata. Basis yang terpisah dicuci sebanyak tiga kali dengan aqua demineralisata dengan setiap kali pencucian sebanyak 5 mL aqua demineralisata. Larutan yang tersaring dicukupkan hingga batas labu tentukur. Kemudian larutan dipipet sebanyak 2,0 mL dan diencerkan dalam labu tentukur sampai 10,0 mL dengan aqua demineralisata. Larutan tersebut dipipet lagi 1,0 mL dan diencerkan ke dalam labu tentukur sampai 10,0 ml dengan aqua demineralisata. Serapan larutan tersebut diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum niasinamida, dan dihitung kadarnya dengan menggunakan kurva kalibrasi.

## 3.7 Uji Penetrasi Sediaan Gel Vitamin B3

### 3.7.1 Pembuatan Dapar Fosfat pH 7,4 (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995)

Dapar fosfat pH 7,4 dibuat dengan cara 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 aqua demineralisata bebas karbondioksida, kemudan pH dapar dicek pada nilai 7,4.

### 3.7.2 Pembuatan Kurva Kalibrasi Niasinamida dalam Dapar Fosfat pH 7,4

Niasinamida standar  $\pm 50$  mg ditimbang, dimasukkan ke dalam labu tentukur 100,0 mL dan dilarutkan dengan dapar fosfat pH 7,4, kemudian dapar fosfat pH 7,4 ditambahkan hingga batas, kocok homogen. Sebanyak 10 mL larutan tersebut dipipet dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 50,0 mL. Volume labu tentukur dicukupkan hingga batas dengan dapar fosfat pH 7,4 ( $C=100$  ppm). Kemudian, dilakukan pengenceran dengan cara yang sama seperti diatas hingga didapatkan konsentrasi 10 ppm. Larutan konsentrasi 10 ppm diukur serapannya dan ditentukan panjang gelombang maksimum dan catat serapan. Larutan standart 100 ppm dipipet sebanyak 3,0; 4,0; 6,0; dan 8,0 mL, masing-masing dimasukkan

**Universitas Indonesia**

ke dalam labu tentukur 25,0 mL dan larutan standar 100 ppm dipipet sebanyak 3,0 mL, dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL. Volume labu tentukur dicukupkan hingga batas dengan dapar fosfat pH 7,4, kocok hingga homogen. Masing-masing larutan diukur serapan pada panjang gelombang maksimum. Serapan yang diperoleh dicatat dan dibuat kurva kalibrasi dari serapan yang diperoleh.

### 3.7.3 Uji penetrasi niasinamida

Membran yang digunakan adalah kulit tikus bagian abdomen berusia 2-3 bulan dengan berat  $\pm 180 - 200$  g. Pertama, tikus dibius dengan eter hingga mati kemudian bulu tikus pada bagian abdominal dicukur dengan hati-hati menggunakan pisau cukur. Setelah itu, kulit tikus disayat pada bagian perut dengan ketebalan  $0,6 \pm 0,1$  mm dan lemak-lemak pada bagian subkutan yang menempel dihilangkan secara hati-hati. Kemudian kulit tikus direndam dalam medium yang akan digunakan (larutan dapar fosfat pH 7,4) selama 30 menit setelah itu disimpan dalam suhu  $4^{\circ}\text{C}$ . Kulit dapat digunakan pada rentang waktu 24 jam. 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 dengan kecepatan 250 rpm. Kulit abdomen tikus kemudian diletakkan di antara kompartemen donor dan kompartemen reseptor dengan posisi lapisan tanduk menghadap ke atas. Sampel 1 gram diaplikasikan pada permukaan kulit. Kemudian sampel diambil pada menit ke-30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, dan 480 sebanyak 0,5 mL dari kompartemen reseptor menggunakan *syringe* dan segera digantikan dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 sejumlah volume yang sama. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam labu tentukur 10,0 mL dan dicukupkan volumenya dengan larutan dapar fosfat pH 7,4. Sampel diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum niasinamida dengan spektrofotometer UV-Vis. Percobaan dilakukan sebanyak tiga kali.

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

$$Q = \frac{C_n V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i S}{A} \quad (3.2)$$

Keterangan:

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

C<sub>n</sub> = Konsentrasi niasinamida ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) pada sampling menit ke-n

$\sum_{i=1}^{n-1} C_i$  = Jumlah konsentrasi niasinamida ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) pada sampling pertama (menit ke-(n-1)) hingga sebelum menit ke-n

V = Volume sel difusi Franz

S = Volume sampling (0,5 mL)

A = Luas area membran

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

$$J = \frac{M}{S.t} \quad (3.3)$$

Keterangan :

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

S = Luas area difusi ( $\text{cm}^{-2}$ )

M = Jumlah kumulatif niasinamida yang melalui membran ( $\mu\text{g}$ )

t = Waktu (jam)

Setelah itu dibuat grafik jumlah kumulatif yang terpenetrasi ( $\mu\text{g}$ ) per luas area difusi ( $\text{cm}^{-2}$ ) terhadap waktu (jam).

## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Formulasi dan Pembuatan Sediaan

Pada pembuatan sediaan gel digunakan karbomer sebagai *gelling agent* karena karbomer sangat stabil dan tidak mengalami banyak perubahan viskositas dalam waktu lama atau akibat temperatur serta tidak mudah dikontaminasi oleh bakteri (Mitsui, 1997). Selain itu, karbomer memberikan nilai estetika yang baik untuk produk kosmetik karena tidak meninggalkan residu ketika diaplikasikan pada kulit. Untuk memperoleh sediaan gel yang terbaik maka dilakukan optimasi. Percobaan pendahuluan untuk pemilihan konsentrasi karbomer yaitu konsentrasi 0,4%, 0,5% dan 0,6%. Pada percobaan pendahuluan disertakan pula bahan tambahan lainnya yaitu gliserin, metilparaben, propilparaben, etanol 96%, natrium metabisulfit, dan zat aktif vitamin B3 (niasinamida). Hasil yang diperoleh yaitu sediaan gel dengan konsentrasi karbomer 0,4% secara fisik memberikan sifat kekentalan sesuai yang diinginkan yaitu berupa gel cair, sedangkan konsentrasi karbomer 0,5% dan 0,6% memiliki viskositas yang lebih tinggi.

Kemudian dilakukan pengecekan pH terhadap sediaan gel dengan konsentrasi karbomer 0,4%, diperoleh pH 7,26. Sediaan berada diluar rentang pH *balance* kulit (4,5-6,5) sehingga ditambahkan suatu bahan yang dapat menurunkan pH sediaan yaitu asam sitrat monohidrat. Setelah itu, dilakukan pengecekan pH terhadap sediaan tersebut sehingga diperoleh nilai pH 5,57. Penurunan pH sediaan menyebabkan viskositas menurun karena viskositas karbomer dipengaruhi oleh pH (Rowe, Sheskey, & Quinn, 2009). Oleh sebab itu, dipilih gel dengan konsentrasi karbomer 0,5% agar memberikan viskositas yang sedikit lebih tinggi dan berfungsi sebagai *gelling agent*.

Gliserin digunakan sebagai humektan dan emolien karena sifatnya yang mampu menjaga kelembapan kulit (Mitsui, 1997) dan membantu mengembangkan karbomer. Kombinasi metilparaben dan propilparaben digunakan sebagai pengawet karena adanya kandungan air dalam jumlah yang cukup besar dapat digunakan sebagai medium pertumbuhan mikroba. Etanol 96% digunakan sebagai pelarut metilparaben dan propilparaben. Natrium metabisulfit

digunakan sebagai antioksidan untuk mencegah terjadinya oksidasi pada niasinamida dan peptida serta menjaga stabilitas basis gel terhadap paparan sinar ultraviolet.

Pada proses pembentukan basis hingga pencampuran bahan tambahan lain, digunakan kecepatan putaran *homogenizer* 1000 rpm, kemudian diturunkan menjadi 500 rpm ketika larutan asam sitrat dicampurkan ke dalam formula. Hal ini dimaksudkan untuk mengurangi gelembung udara yang terbentuk akibat kemampuan karbomer untuk terperangkap udara cukup tinggi. Selain itu, pada tahap ini hanya digunakan untuk homogenisasi sehingga tidak dibutuhkan putaran *homogenizer* yang tinggi.

## 4.2 Evaluasi Sediaan Gel

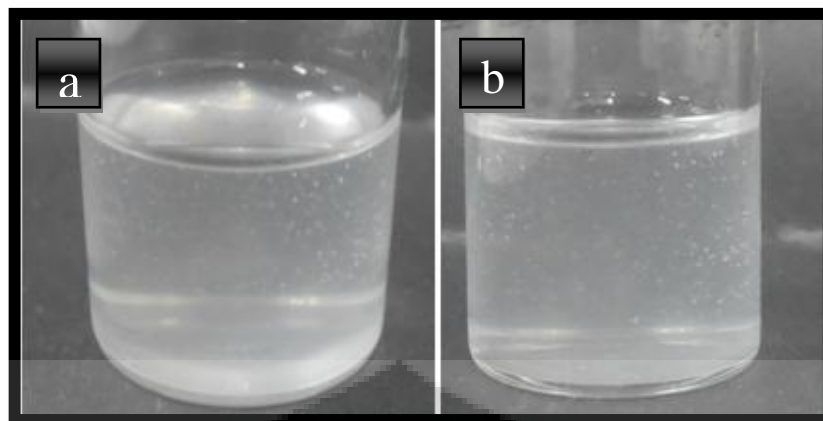
Evaluasi fisik kedua formula pada minggu ke-0 dilakukan untuk membandingkan perubahan yang terjadi setelah dilakukan uji stabilitas fisik pada kedua formula tersebut.

### 4.2.1 Pengamatan Organoleptis dan Homogenitas

Pengamatan hasil sediaan dapat dilihat pada Tabel 4.1 dan Gambar berikut ini.

**Tabel 4.1** Hasil evaluasi sediaan gel formula 1 dan 2 pada minggu ke-0

Pengamatan	Formula 1	Formula 2
<b>Organoleptis</b>	Semitransparan	Semitransparan
	Berbau karbomer	Berbau karbomer
	Terdapat lebih banyak gelembung udara	Terdapat gelembung udara
	Homogen	Homogen
<b>pH</b>	5,63	5,57
<b>Viskositas</b>	1415,3495 cps	1155,1114 cps



Keterangan : a = formula 2  
b = formula 1

**Gambar 4.1.** Penampilan gel formula 1 dan 2 pada minggu ke-0

Pengamatan organoleptis kedua formula gel pada minggu ke-0 menunjukkan bahwa gel yang dihasilkan semitransparan, berbau karbomer dan terdapat gelembung gas. Tidak ada perbedaan warna antara sediaan serum peptida dengan gel tanpa peptida. Warna sediaan semitransparan disebabkan oleh adanya beberapa bahan yang terdispersi dalam sediaan.

Sediaan memiliki bau karbomer karena karbomer memiliki bau yang khas. Gelembung gas yang terdapat dalam sediaan dihasilkan ketika proses homogenisasi menggunakan alat *homogenizer* karena karbomer mudah terperangkap udara. Namun, gelembung gas tersebut dapat dihilangkan jika menggunakan alat *homogenizer* yang dilengkapi dengan *vacum*. Setelah diamati, pada formula 2, gelembung udara hilang setelah didiamkan selama satu malam, sedangkan pada formula 1 gelembung udara hilang setelah didiamkan selama tiga hari. Hal ini dikarenakan viskositas sediaan yang lebih tinggi sehingga gelembung udara semakin sulit untuk keluar.

#### 4.2.2 Pengamatan Homogenitas

Pemeriksaan homogenitas terhadap kedua formula menunjukkan kedua formula homogen secara fisik. Hal tersebut terlihat pada gel cair yang diratakan pada objek glass, bagian gel tercampur dengan sempurna.

#### 4.2.3 Pengukuran pH

Pada pemeriksaan pH diketahui bahwa adanya peptida dapat mempengaruhi pH sediaan. Formula 1 yang mengandung peptida memiliki pH 5,63 lebih tinggi apabila dibandingkan dengan pH Formula 2 yang tidak mengandung peptida yaitu 5,57. Nilai pH formula 1 yang sedikit lebih tinggi dikarenakan pengaruh pH basa dari peptida. Dengan demikian kedua formula gel cair tersebut masih dalam rentang pH *balance* (4,5-6,5).

#### 4.2.4 Pengukuran Bobot Jenis

Pada hasil pengukuran bobot jenis menggunakan piknometer terhadap kedua formula menunjukkan hasil yang bervariasi, namun perbedaan tersebut tidak terlalu jauh. Hasil pengukuran bobot jenis terhadap formula gel dapat dilihat pada tabel berikut ini:

**Tabel 4.2.** Hasil pengukuran bobot jenis

Sediaan	Bobot jenis (g/ml)
Formula 1	1,0760
Formula 2	1,0717

#### 4.2.5 Pengukuran Viskositas

Kedua formula yang dihasilkan memiliki tipe aliran Newton. Hal tersebut terlihat dari bentuknya yang cair. Oleh karena itu, nilai viskositas ditentukan menggunakan viskometer yang biasa digunakan untuk mengukur viskositas untuk tipe aliran sistem Newton.

Pada penelitian ini, viskometer yang digunakan adalah viskometer bola jatuh dengan jenis bola yang digunakan adalah tipe stainless steel. Pada viskometer bola jatuh, jenis bola yang dipilih adalah bola yang dapat menghasilkan lamanya bola jatuh antara kedua garis tidak kurang dari 30 detik (Martin, Swarbrick, & Cammarata, 1993).

Hasil viskositas formula 1 dan formula 2 pada minggu ke-0 berturut-turut adalah 1415,3495 dan 1155,1114 centipoise (cps). Dari hasil pengukuran viskositas terlihat bahwa formula 2 memiliki viskositas yang lebih kecil karena kandungan air yang lebih banyak di dalam formula tersebut. Sedangkan formula 1



mengandung peptida yang terdiri dari tiga jenis asam amino yang diketahui dapat menetralkan karbomer sehingga menaikkan viskositasnya.

### 4.3 Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel

Uji stabilitas fisik dilakukan pada suhu penyimpanan yang berbeda-beda yaitu suhu rendah ( $4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), suhu kamar ( $28^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), dan suhu tinggi ( $40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ). Tujuan dilakukan uji stabilitas fisik untuk mengetahui apakah terjadi perubahan fisik pada kedua formula gel yang disimpan selama 8 minggu pada suhu yang berbeda-beda (Lund, 1994). Pengamatan yang dilakukan meliputi organoleptis, homogenitas, pH, viskositas dan konsistensi.

Selain penyimpanan pada suhu yang berbeda-beda, kedua formula gel juga diuji *cycling test* yaitu menyimpan kedua formula dalam suhu rendah selama 24 jam lalu dipindahkan ke penyimpanan suhu tinggi selama 24 jam. Perlakuan tersebut disebut 1 siklus dan untuk memperjelas perubahan yang terjadi masing-masing formula dikondisikan sebanyak 6 siklus. Pengamatan yang dilakukan meliputi organoleptis, kristalisasi dan sineresis.

#### 4.3.1 Penyimpanan pada Suhu Rendah, Kamar, dan Tinggi

##### 4.3.1.1 Pengamatan Organoleptis dan Homogenitas

Hasil pengamatan organoleptis dan homogenitas kedua formula gel pada suhu rendah ( $4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), suhu kamar ( $28^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), dan suhu tinggi ( $40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) dapat dilihat pada Lampiran 12-14. Foto masing-masing formula saat minggu ke-2 sampai minggu ke-8 pada suhu rendah ( $4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), suhu kamar ( $28^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), dan suhu tinggi ( $40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) dapat dilihat pada Lampiran 3-5. Kedua formula gel homogen, tidak terjadi perubahan bau maupun warna. Dengan demikian kedua formula gel stabil karena vitamin B3 stabil terhadap panas, cahaya, dan oksigen (Draelos, 2000) dan peptida juga stabil.

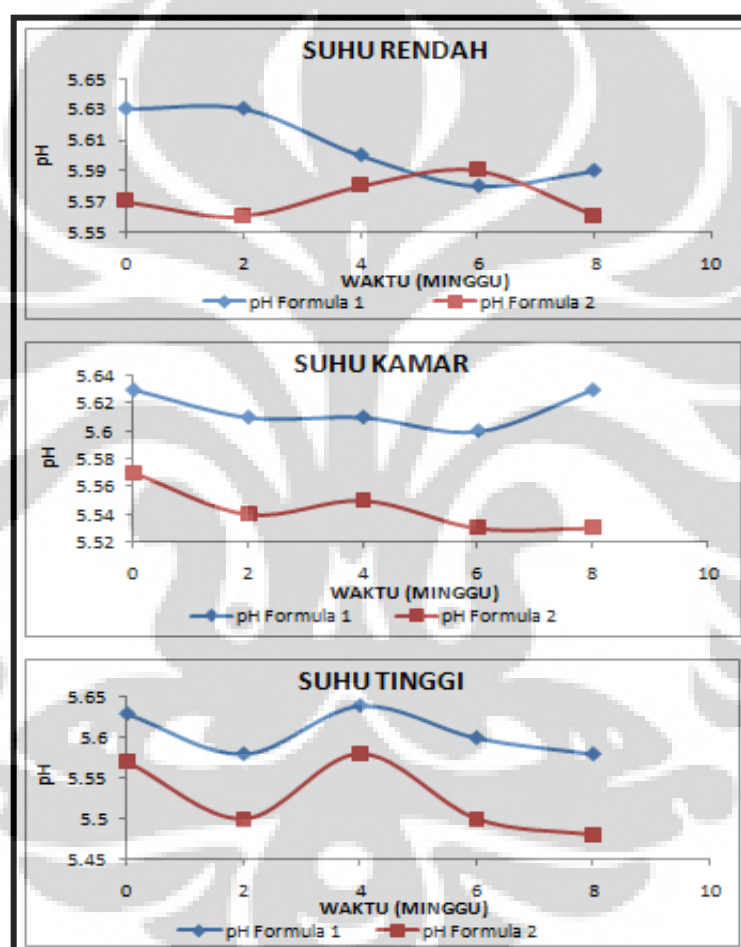
##### 4.3.1.2 Pengukuran pH

Nilai pH kedua formula gel saat minggu ke-2 sampai minggu ke-8 pada suhu rendah ( $4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), suhu kamar ( $28^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), dan suhu tinggi ( $40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) dapat dilihat pada Lampiran 15-17. Grafik perubahan pH dapat dilihat pada gambar 4.2. Nilai pH dari suatu sediaan topikal harus berada dalam kisaran pH



*balance* yang sesuai dengan pH kulit, yaitu 4,5-6,5. Nilai pH tidak boleh terlalu asam karena dapat menyebabkan iritasi kulit, dan juga tidak boleh terlalu basa karena dapat menyebabkan kulit bersisik.

Berdasarkan hasil pengukuran pH sediaan gel ternyata nilai pH sediaan gel masih berada di dalam kisaran pH *balance*. Perubahan pH kedua formula gel selama 8 minggu penyimpanan pada tiga suhu yang berbeda secara umum tidak terjadi perubahan yang bermakna dari tiap dua minggunya. Kedua formula memiliki pH yang relatif stabil.



**Gambar 4.2.** Hasil pengukuran pH kedua gel pada penyimpanan suhu rendah, suhu kamar, dan suhu tinggi

#### 4.3.1.3 Pengukuran Viskositas

Viskositas suatu sediaan dipengaruhi beberapa faktor diantaranya, yaitu faktor pencampuran atau pengadukan saat proses pembuatan sediaan, pemilihan zat pengental, proporsi fase terdispersi, dan ukuran partikel (Ansel, 1989). Setelah

penyimpanan selama 8 minggu pada kondisi penyimpanan suhu kamar terlihat bahwa viskositas kedua formula gel mengalami perubahan. Formula 1 mengalami penurunan viskositas dari 1415,3495 menjadi 1385,2357 centipoise, namun perubahan tidak terjadi secara bermakna. Sedangkan formula 2 mengalami peningkatan viskositas dari 1155,1114 menjadi 1396,1782 centipoise. Hal ini diasumsikan akibat terjadinya penguapan etanol 96% dan struktur polimer kembali seperti semula (rapat) karena tidak ada pengaruh tekanan geser lagi.

#### 4.3.2 *Cycling Test*

Tujuan dari *cycling test* adalah untuk mengetahui terbentuknya kristal atau tidak (Djajadisastra, 2004; Zats & Kushla, 1996). Selain itu juga untuk mengetahui apakah terjadi sineresis atau tidak. Uji *cycling test* dilakukan dengan menyimpan sediaan gel pada suhu dingin ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ) selama 24 jam kemudian dipindahkan ke dalam suhu tinggi ( $40 \pm 2^\circ\text{C}$ ) selama 24 jam. Percobaan tersebut merupakan satu siklus dan uji ini dilakukan sebanyak 6 siklus.

Hasil dari *cycling test* dapat dilihat pada tabel 4.3 dan Lampiran 2 (gambar). Kedua formula gel menunjukkan hasil yang stabil, yaitu tidak terjadi pembentukan kristal dan tidak terjadi sineresis. Hal ini menunjukkan bahwa *gelling agent* karbomer stabil dan mampu mempertahankan penjerapan air dalam matriks.

**Tabel 4.3** Hasil pengamatan *cycling test*

Gel	Pengamatan		
	Awal	Siklus ke-6	
	Warna	Warna	Terbentuknya kristal dan sineresis
<b>Formula 1</b>	semitransparan terdapat lebih banyak gelembung gas	Semitransparan, tidak terdapat gelembung gas	Tidak terbentuk kristal dan tidak mengalami sineresis
<b>Formula 2</b>	semitransparan terdapat gelembung gas	Semitransparan, tidak terdapat gelembung gas	Tidak terbentuk kristal dan tidak mengalami sineresis

#### 4.4 Uji Penetapan Kandungan Vitamin B3 dalam Sediaan

##### 4.4.1 Pembuatan Kurva Kalibrasi Vitamin B3 dalam Aqua demineralisata

Kurva serapan vitamin B3 10 ppm dalam aquadem menunjukkan panjang gelombang ( $\lambda$ ) maksimum pada 262,0 nm. Larutan induk dibuat dengan konsentrasi 100 ppm diencerkan menjadi beberapa konsentrasi dan diukur serapannya pada panjang gelombang 262,0 nm lalu dibuat persamaan kurva kalibrasi. Persamaan kurva kalibrasi yang diperoleh yaitu:

$$y = 0,002 + 0,0237x \text{ dengan } r^2 = 0,9996 \quad (4.1)$$

##### 4.4.2 Uji Penetapan Kandungan Vitamin B3

Penetapan kadar vitamin B3 dalam sediaan ditetapkan secara spektrofotometri dengan menggunakan pelarut aqua demineralisata. Pelarut aquadem dipilih karena dapat melarutkan niasinamida secara sempurna. Namun, basis gel dan pengawet tidak larut dalam aquadem sehingga dilakukan proses penyaringan dan pencucian terhadap basis dengan menggunakan aqua demineralisata. Sediaan yang tidak mengandung zat aktif digunakan sebagai *baseline* untuk menghindari terjadinya gangguan serapan dari bahan tambahan lain.

Larutan sampel diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum niasinamida yaitu 262,0 nm. Persen penetapan kandungan dinyatakan sebagai rasio antara hasil kadar yang diperoleh dengan kadar yang sebenarnya. Kriteria cermat diberikan jika hasil analisis memberikan rasio antara 80-120% (Harmita, 2006).

Hasil penetapan kadar niasinamida untuk formula 1 sebesar 100,50% dan formula 2 sebesar 101,06 %. Berdasarkan hasil tersebut, kedua formula memenuhi persyaratan yang dinyatakan dalam spesifikasi kecermatan.

#### 4.5 Uji Penetrasi Secara In Vitro

##### 4.5.1 Pembuatan Kurva Kalibrasi Vitamin B3 dalam Dapar Fosfat pH 7,4

Kurva serapan vitamin B3 100 ppm dalam larutan dapar fosfat pH 7,4 menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 262,0 nm. Larutan induk dibuat dengan konsentrasi 100 ppm diencerkan menjadi beberapa konsentrasi dan

diukur serapannya pada panjang gelombang 262,0 nm lalu dibuat persamaan kurva kalibrasi. Persamaan kurva kalibrasi yang diperoleh yaitu :

$$y = 0,0159 + 0,0235 x \text{ dengan } r^2 = 0,9999 \quad (4.2)$$

#### 4.5.2 Uji Penetrasi Vitamin B3

Dalam penelitian ini, dilakukan uji penetrasi secara *in vitro* dengan menggunakan sel difusi Franz. Pengujian dilakukan untuk mengetahui jumlah vitamin B3 yang dapat berpenetrasi melalui kulit selama interval waktu tertentu dari sediaan gel yang terbuat dari *gelling agent* karbomer.

Membran yang digunakan yaitu kulit bagian abdomen tikus betina dari galur *Sprague-Dawley* yang berumur 2 - 3 bulan dengan berat  $\pm 180 - 200$  gram dengan ketebalan membran  $0,6 \pm 0,1$  mm dan luas membran  $1,54 \text{ cm}^2$ . Sebenarnya, lebih baik digunakan kulit manusia agar hasil yang didapat lebih valid. Namun, sulit didapat dan harus memiliki kode etik penelitian sehingga digunakan kulit tikus yang lebih mudah di dapat dan permeabilitas kulit tikus yang telah dicukur bulunya mendekati permeabilitas kulit manusia.

Kulit tikus dicukur terlebih dahulu secara hati-hati, kemudian dihilangkan lemak subkutan yang terdapat pada kulit dimaksudkan agar tidak mengganggu uji penetrasi niasinamida melalui kulit. Setelah itu, kulit dimasukkan ke dalam medium larutan reseptor yaitu dapar fosfat pH 7,4 untuk proses hidrasi yang bertujuan untuk mengembalikan kulit ke kondisi semula sebelum disimpan dalam lemari pendingin sampai sebelum digunakan dengan batas waktu maksimal 24 jam. Dapar fosfat pH 7,4 dipilih sebagai cairan reseptor karena simulasi kondisi pH cairan biologis manusia yaitu pH 7,4, selain itu niasinamida dapat larut dalam dapar fosfat pH 7,4.

Membran kulit diletakkan diantara kompartemen reseptor dan donor, dimana membran harus kontak dengan cairan reseptor agar sediaan yang diaplikasikan pada membran dapat berpenetrasi menembus kulit menuju cairan reseptor. Pengadukan pada kompartemen reseptor berfungsi untuk homogenisasi yang dapat mempercepat proses pelarutan zat yang terpenetrasi dan konsentrasi zat tersebar merata di dalam larutan reseptor. Pengadukan tersebut dilakukan dengan menggunakan pengaduk magnetik dengan kecepatan 250 rpm untuk

menghindari terbentuknya gelembung udara akibat putaran yang terlalu tinggi. Selama proses berlangsung, suhu dijaga dengan menggunakan *water jacket* pada  $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  yang menggambarkan suhu tubuh manusia dengan menggunakan air yang mengalir keluar dari termostat.

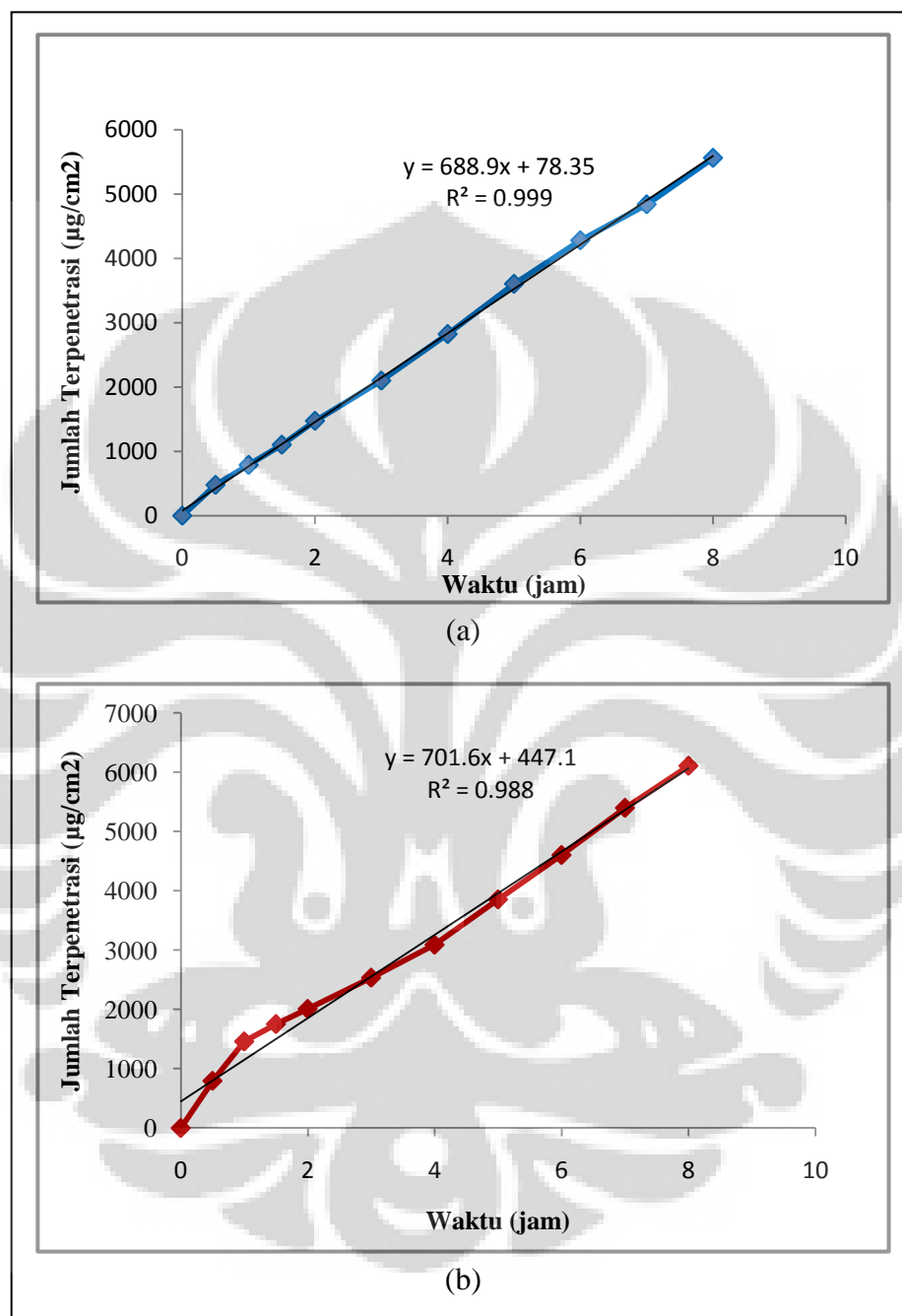
Pengujian dilakukan selama 8 jam dan pengambilan sampel dilakukan pada 10 titik yaitu pada menit ke-30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, dan 480. Sampel setiap kali diambil sebanyak 0,5 mL dan diencerkan dalam labu tentukur 10,0 mL sehingga dilakukan pengenceran sebanyak 20 kali. Pengenceran tersebut dilakukan karena serapan berada diantara 0,2 - 0,8. Larutan kompartemen reseptor diganti kembali dengan larutan dapar fosfat pH 7,4 sejumlah volume yang sama setiap kali dilakukan pengambilan sampel yang bertujuan untuk menjaga volume cairan reseptor tetap konstan selama percobaan. Kemudian dilakukan pengukuran serapan sampel dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum niasinamida dalam dapar fosfat yaitu pada 262,0 nm. Untuk setiap formula uji penetrasi dilakukan sebanyak tiga kali.

Penetrasi niasinamida melalui membran kulit tikus selama 8 jam dari sediaan gel formula 1 dan 2 berturut-turut adalah  $5560,31 \pm 160,81$  dan  $6102,12 \pm 42,33$   $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . Berdasarkan hasil tersebut, jumlah niasinamida yang terpenetrasi lebih banyak ialah pada sediaan gel formula 2 (tanpa peptida). Kemudian fluks diperoleh pada keadaan *steady state* dengan mengikuti kaidah hukum Fick. Hukum Fick pertama memberikan aliran (laju difusi melalui satuan luas) dalam aliran pada keadaan *steady state* (Martin & Cammarata, 1983).

Jumlah kumulatif obat terpenetrasi melalui membran kulit tikus diplotkan terhadap waktu dan dibuat persamaan regresi linier sehingga dapat ditentukan nilai fluks niasinamida (dapat dilihat pada Gambar 4.3). Fluks ditentukan dari kemiringan grafik tersebut pada keadaan *steady state*. Kondisi *steady state* terlihat sebagai suatu garis mendatar pada kurva fluks yang diplotkan terhadap satuan waktu.

Nilai fluks niasinamida formula 1 dan 2 berturut-turut adalah 688,9 dan 701,6  $\mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$ . Formula 2 memiliki nilai fluks yang lebih tinggi selama 8

jam percobaan. Hal ini berarti bahwa formula tersebut memiliki kecepatan penetrasi obat yang lebih tinggi.



**Gambar 4.3** Jumlah kumulatif niasinamida yang terpenetrasi per satuan luas membran dari sediaan gel (a) formula 1 dan (b) formula 2

Salah satu faktor yang mempengaruhi penetrasi yaitu bahan-bahan peningkat penetrasi. Hipotesis awal berasumsi bahwa peptida dapat bertindak sebagai peningkat penetrasi melalui mekanisme mempengaruhi lipid

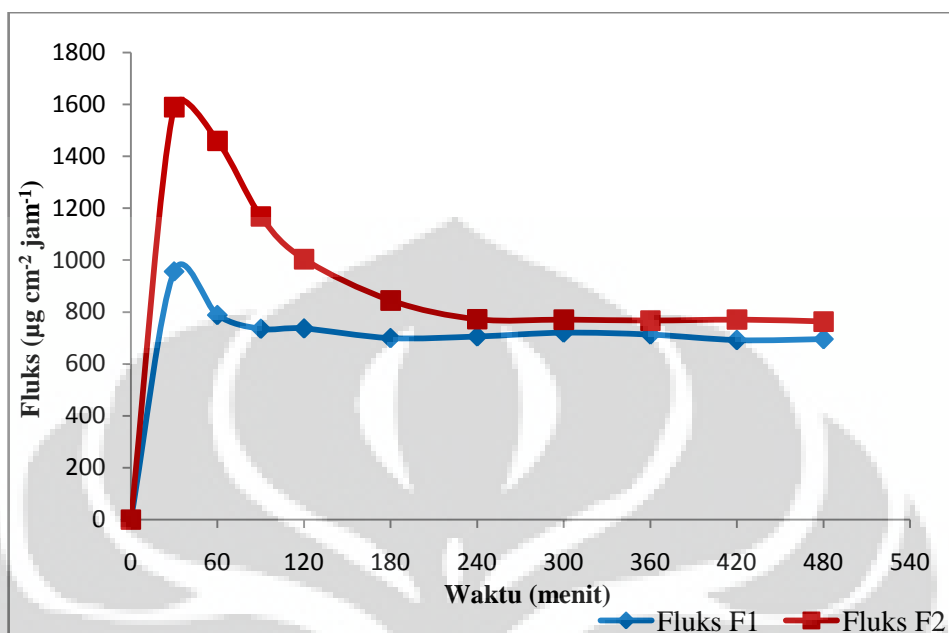
intermolekuler lapisan tanduk sehingga menurunkan penghalang lipid lapis ganda terhadap molekul obat. Pengaruhnya dapat berupa fluktuasi, disrupsi lapisan tanduk dan pemisahan fase yang menyebabkan terbentuknya celah yang memungkinkan senyawa polar menembus lapisan tersebut sehingga akan membantu zat aktif vitamin B3 untuk berpenetrasi (Kim, 2007; Yen, 1995; Avrahami, 2010). Namun, dari hasil percobaan menunjukkan bahwa hipotesis awal tidak terbukti karena formula 2 yang tidak mengandung peptida Cu-GHK menunjukkan jumlah niasinamida yang terpenetrasi dan fluks niasinamida selama 8 jam lebih besar dibandingkan formula 1. Hal ini dikarenakan adanya tembaga pada kompleks peptida menyebabkan terjadinya persaingan dengan vitamin B3 untuk menembus sel. Tripeptida secara alami diisolasi dari fraksi albumin serum manusia yang membentuk kompleks dengan tembaga akan meningkatkan penyerapan tembaga oleh sel sehingga penyerapan vitamin B3 menjadi terhambat (Patt, 2010). Selain itu, tiap sekuens peptida memiliki target spesifik dengan afinitas ikatan yang tinggi terhadap sel target (Draelos, 2010).

Gel tanpa peptida memiliki nilai fluks dan jumlah yang terpenetrasi selama 8 jam lebih besar karena tidak adanya persaingan dengan tembaga-tripeptida. Pada gambar 4.3 terlihat jumlah terpenetrasi vitamin B3 dalam sediaan serum peptida menunjukkan kurva yang hampir linier atau penetrasi yang teratur. Hal ini juga diasumsikan bahwa peptida dapat berfungsi sebagai pembawa yang mampu mengontrol pelepasan vitamin B3 secara teratur. Dengan demikian pemakaian sediaan serum peptida tidak perlu terlalu sering karena vitamin B3 juga memiliki toleransi yang tinggi terhadap kulit jika digunakan dalam waktu yang lama (Bissett, 2009).

Faktor lain yang mempengaruhi penetrasi melalui membran adalah bahan-bahan yang digunakan dan pelepasan obat dari pembawa. Jumlah terpenetrasi yang lebih tinggi juga dicapai pada formula 2 yang tidak mengandung peptida dikarenakan formula 2 memiliki nilai viskositas yang lebih rendah. Hal ini dikaitkan dengan kekuatan sediaan dalam menjerap zat aktif dan kandungan air yang lebih banyak di dalam sediaan. Kekuatan tersebut salah satunya dipengaruhi oleh kekentalan sediaan. Semakin tinggi viskositas atau kekentalan sediaan maka semakin sulit pelepasan zat aktif. Kandungan air yang banyak akan



mempengaruhi proses hidrasi dan kelembapan kulit sehingga meningkatkan penetrasi vitamin B3.



**Gambar 4.4.** Fluks niasinamida tiap waktu pengambilan dari sediaan gel formula 1 dan 2

Pada Gambar 4.4 dapat terlihat data fluks per waktu. Berdasarkan gambar tersebut, kedua formula mencapai fluks tertinggi pada menit ke-30. Hal tersebut menggambarkan bahwa kedua sediaan gel memberikan pelepasan obat yang cepat. Nilai fluks niasinamida dari kedua formula yang meningkat pada menit-menit awal, selanjutnya menurun. Hal ini disebabkan pada menit-menit awal, masih terdapat perbedaan konsentrasi yang cukup besar antara kompartemen donor dan reseptor. Lama-kelamaan akan terjadi kesetimbangan pada sistem tersebut sehingga mencapai suatu kondisi *steady state* akhirnya nilai fluks akan terus menurun (Martin & Cammarata, 1983).

## BAB 5

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian terhadap uji stabilitas fisik dan uji penetrasi secara *in vitro* dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Sediaan serum peptida Cu-GHK dan gel tanpa peptida menunjukkan kestabilan fisik yang relatif baik pada suhu rendah ( $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), suhu kamar ( $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), maupun suhu tinggi ( $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) karena tidak terjadi perubahan yang bermakna pada organoleptis, pH, dan viskositas.
2. Uji penetrasi terhadap kedua sediaan gel memberikan hasil nilai fluks vitamin B3 selama 8 jam dari sediaan gel formula 1 dan 2 berturut-turut yaitu 688,9 dan 701,6  $\mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$ .
3. Peptida tidak terbukti sebagai peningkat penetrasi vitamin B3 dalam sediaan serum peptida. Hal ini dikarenakan persaingan antara vitamin B3 dengan tembaga pada kompleks tembaga-tripeptida dalam menembus sel sehingga penetrasi vitamin B3 terganggu.

#### 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan konsentrasi peptida yang bervariasi pada studi penetrasi vitamin B3 secara *in vitro* untuk membuktikan bahwa peptida Cu-GHK benar menghambat penetrasi vitamin B3.
2. Perlu dilakukan pengujian terhadap kulit yang digunakan pada percobaan uji penetrasi secara *in vitro* vitamin B3 guna mengetahui perubahan yang terjadi pada kulit tersebut.
3. Perlu dilakukan penelitian menggunakan peptida lain sebagai pembanding terhadap peptida Cu-GHK.
4. Perlu dilakukan penelitian secara *in vivo* pada sediaan serum peptida untuk mengetahui kemampuan peptida dan niasinamida sebagai antikerut.
5. Perlu dilakukan penentuan jumlah peptida Cu-GHK dan vitamin B3 yang terpenetrasi secara simultan.

## DAFTAR ACUAN

- Alache, J.M., Devissaguet, J.Ph., & Hermann, A.M.G. (1993). *Farmasetika 2 Biofarmasi Edisi ke-2* (Widji Soeratri, Penerjemah). Surabaya: Airlangga University Press.
- Ansel, H. C. (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi* edisi keempat (Farida Ibrahim, Penerjemah). Jakarta: UI Press, 493-494.
- Avrahami, M.C, Aserin, A., & Garti, N. (2010). H<sub>II</sub> mesophase and peptide cell-penetrating enhancers for improved transdermal delivery of sodium diclofenac. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 77, 131-138.
- Barel, A.O., Paye, M., Maibach, H.I. (2009). *Handbook of Cosmetic Science and Technology* (3rd ed.). New York : Informa Heltcare Ltd.
- Bissett, Donald. L. (2009). Common cosmeceuticals. *Clinics in Dermatology*, 27, 435-445.
- Brandt, F.S., Cazzaniga, A., & Hann, M. (2011). Cosmeceuticals: Current Trends and Market Analysis. *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery* , 141-143.
- Burgess, Cheryl M.(2005). *Cosmetic Dermatology*. New York: Springer-Verlag.
- Conato, C., et al. (2001). Copper complexes of glycyl-histidyl-lysine and two of its synthetic analogues: chemical behaviour and biological activity. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1526, 199-210.
- Crandal, Wilson T. (2005). *Method For Topical Treatment of Carpal Tunel Syndrome*. United States of America.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1979). *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi Keempat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Djajadisastra, J. (2004). *Cosmetic Stability*. Seminar Setengah Hari HIKI, Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia, Depok.
- Draelos, Z.D. (2000, September-Oktober). Novel Topical Therapies in Cosmetic Dermatology. *Curr Probl Dermatol* , 235-239.
- Draelos, Z.D. (2010). *Cosmetic Dermatology Products and Procedures*. USA: Blackwell Publishing Ltd.

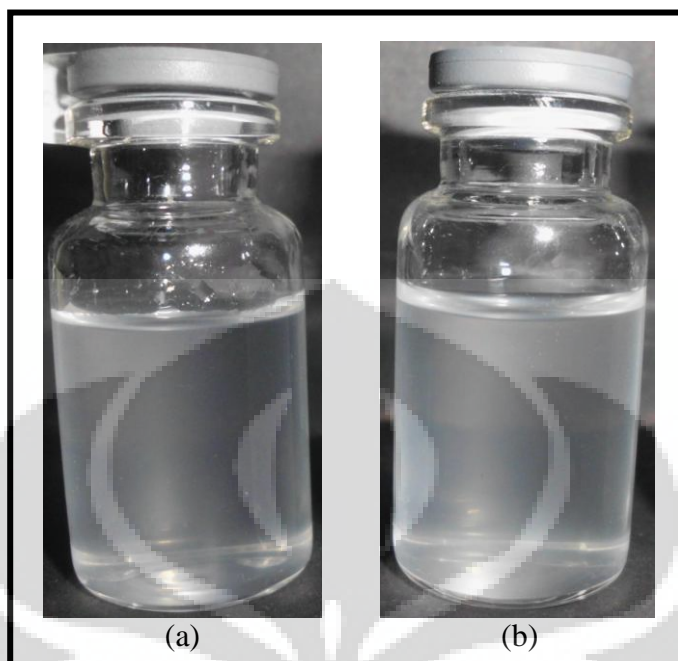
- Draelos, Z.D., & Thaman, L.A. (Ed.). (2006). *Cosmetic Formulation of Skin Care Products*. Vol. 30. New York: Taylor and Francis Group, LLC.
- Flynn, L.Gordon. (1990). *Topical Drug Absorption and Topical Pharmaceutical*. New York : Marcel Dekker Inc.
- Gao, X.H., Zhang, L., Wei, H., & Chen, H.D. (2008). Efficacy and safety of innovative for cosmeceuticals. *Clinics in Dermatology*, 26, 367-374.
- Harry, Ralph G. (1982). *Harry's Cosmetology 7th Ed*. London: Longman Group Ltd. 5-6.
- Hostýnek, J.J., Dreher, F., & Maibach, H.I. (2006). Human stratum corneum penetration by copper: In vivo study after occlusive and semi-occlusive application of metal as powder. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 1539-1543.
- Kawada, A., Date, A., Konishi, N., Kawara, S., & Narita, L. (2009). An Evaluation of Antiwrinkle Effects of A Novel Cosmetic Containing Niacinamide Using The Guideline of Japan Cosmetic Industry Association. *American Academy of Dermatology 67th Annual Meeting* , 187.
- Kim, Y.C, Ludovice, P.J, & Prausnitz, M.R. (2007).transdermal Delivery Enhanced by Magainin Pore-forming peptide. *Journal of Control Release*, 122, 375-383.
- Lachman, L., Lieberman, H.A., & Kanig, J.L. (1994). *Teori dan Praktek Farmasi Industri I* (Siti Suyatmi, Penerjemah). Jakarta: UI Press.
- Levintova, Y., Plakogiannis, F.M., & Bellantone, R.A. (2011). An improved in vitro method for measuring skin permeability that controls excess hydration of skin using modified Franz diffusion cells. *International Journal of Pharmaceutics*,419, 96-106.
- Lund, Walter. (1994). *The Pharmaceutical Code* (12th Ed.). London: The Pharmaceutical Press, 134, 138, 139.
- Lupo, M.R. (2001). Antioxidants and Vitamins in Cosmetics. *Clinics in Dermatology*, 19, 467-473.
- Maquart, F.X., Pickart, L., Laurent, M., Gillery, P., Monboisse, J.C., & Borel, J.P. (1988). Stimulation of collagen synthesis in fibroblast cultures by the tripeptide-copper complex glycil-L-histidyl-L-lysine-Cu<sup>2+</sup>. *Federation of European Biochemical Societies*, volume 238, number 2, 343-346.
- Martin, A., Swarbick, J., & Cammarata, A. (1983). *Farmasi Fisik Jilid II Edisi Ketiga* (Joshita Djajadisastra, Penerjemah). Jakarta: UI Press.

- Mazurowska, L., & Mojski, M. (2007). ESI-MS study of the mechanism of glycyl-L-histidyl-L-lysine-Cu(II) complex transport through model membrane of stratum corneum. *Talanta*, 72, 650-654.
- Mbah, C.J., Uzor, P.F., & Omeje, E.O. (2011). Perspectives on Transdermal Drug Delivery. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3(3):680-700.
- Mitsui, T. (1997). *New Cosmetic Science*. Amsterdam: Elsevier Science B.V.
- Moffat, A.C., Osselton, M.D., & Widdop, B. (2005). *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*, (3th ed.). Great Britain : Pharmaceutical Press.
- Poedjiadi, A. (1994). *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI PRESS).
- Rieger, M. (2000). *Harry's Cosmeticology* (8th ed.). New York: Chemical Publishing Co. Inc.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., & Quinn, M.E. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (6th ed.). Grayslake: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association.
- Sakuma, S. et al. (2010). Oligoarginine-linked polymers as new class of penetration enhancers. *Journal of Control Release*, 148, 187-196.
- Salvador, A. & Chisvert, A. (2007). *Analysis of Cosmetic Products*. Amsterdam: Elsevier B.V.
- Shai, A., Maibach, H I., & Baran, R. (2009). *Handbook of Cosmetic Skin Care* (2nd ed.). London: Informa UK Ltd.
- Suwantong, O. et al. (2007). Electrospun Cellulose Acetate Fiber Mats Containing Curcumin and Release Characteristic of The Herbal Substance. *Science Direct, Polymer*, 7548.
- Sweetman, S.C. (2009). *Martindale The Complete Drug Reference* (36th ed.). London: Pharmaceutical Press.
- Thakker, K.D., & Chern, W.H. (2003, May). Development and Validation of In Vitro Release Tests for Semisolid Dosage Forms—Case Study. *Dissolution Technology*. 10-15.
- Touitou, E., & Barry, B.W. (2007). *Enhancement in Drug Delivery*. New York: CRC Press.
- Tranggono, R.I., & Latifah, F. (2007). *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

- Walters, K.A., & Roberts, M.S. (2008). *Dermatologic, Cosmeceutic, and Cosmetic Development Therapeutic and Novel Approaches*. New York : Informa healthcare.
- Walters, K.A. (2002). *Dermatological and Transdermal Formulations*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Walters, K.A., & Jonathan H. (1993). *Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement*. New York: Marcel Dekker Inc.
- Wilkinson, J.B., & Moore, R.J. (Ed.). (1982). *Harry's Cosmeticology* (7th ed.). Great Britain: George Godwin London.
- Witt, K., & Bucks, D. (2003, June). Studying In Vitro Skin Penetration and Drug Release to Optimize Dermatological Formulations. *Pharmaceutical Technology*. New York: Anvanstar Communication Inc.
- Yen, W.C, & Lee, V.H.L. (1995, January). Penetration enhancement effect of Pz-peptide, a paracellularly transported peptide, in rabbit intestinal segments and Caco-2 cell monolayers. *Journal of Control Release*, 36, 25-37.
- Zhang, L., & Falla, T.J. (2009). Cosmeceuticals and peptides. *Clinics in Dermatology*, 27, 485-494.
- Zussman, J., Ahdout, J., & Kim, J. (2010). Vitamins and photoaging: Do scientific data support their use?. *The Academy of Dermatology*, 63, 507-25.

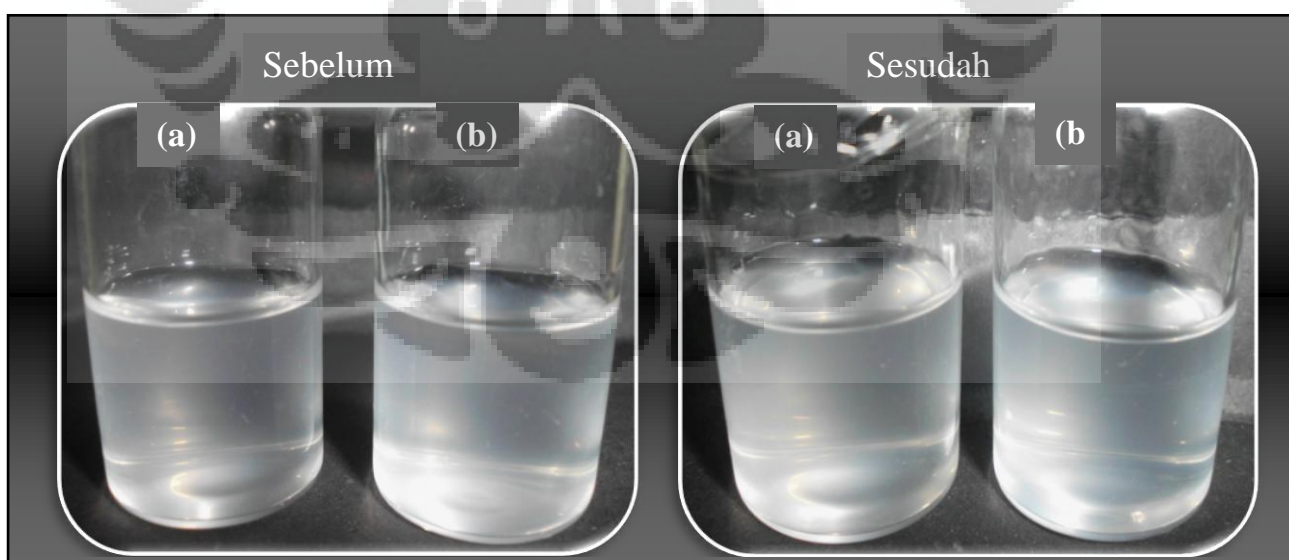


**Lampiran 1.** Foto hasil pengamatan organoleptis formula 1 dan 2 pada minggu ke-0



Keterangan : (a) = formula 2 (gel tanpa peptida)  
(b) = formula 1 (gel peptida)

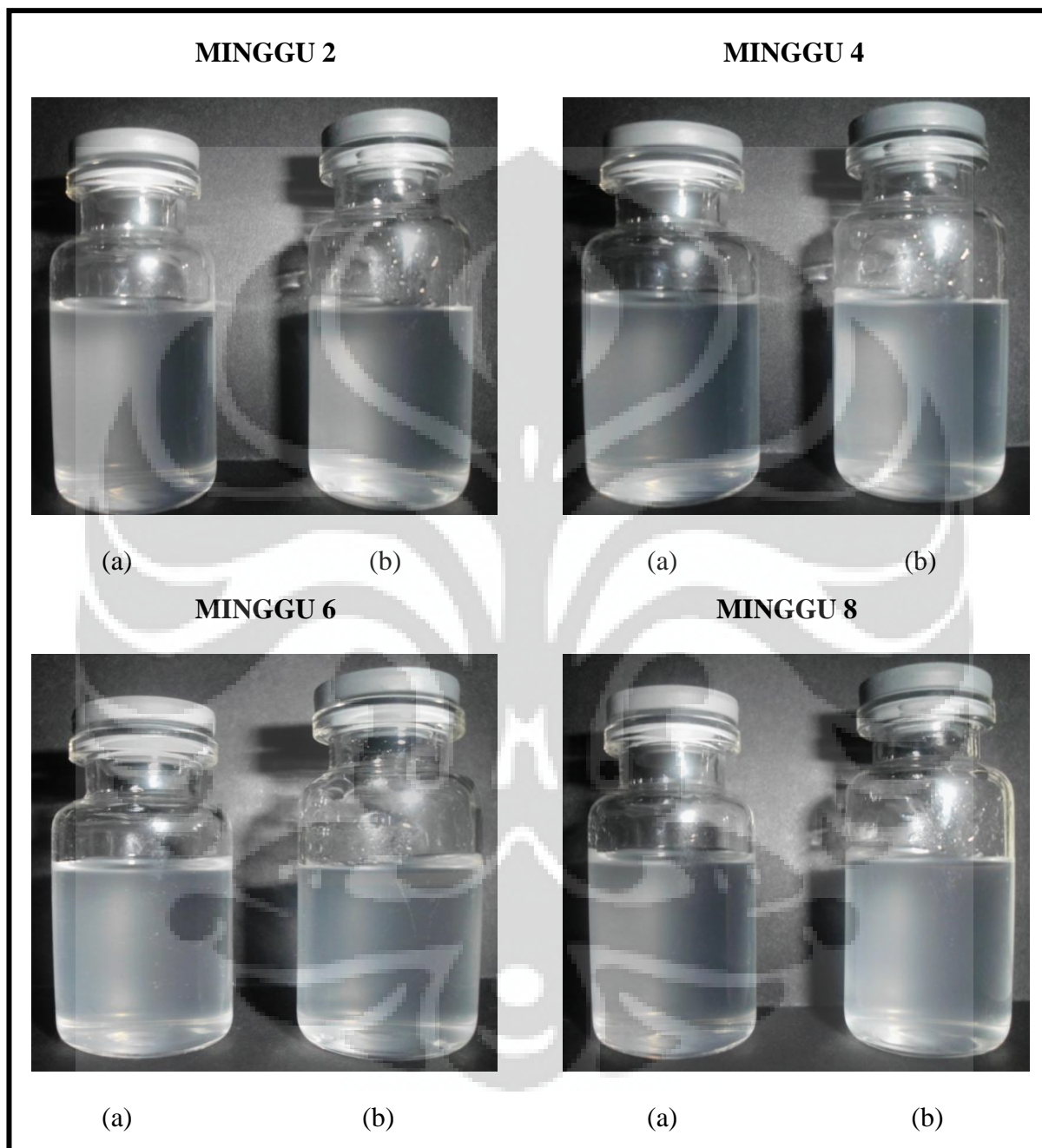
**Lampiran 2.** Foto sebelum dan sesudah *Cycling Test* formula 1 dan 2



Keterangan : (a) = formula 2  
(b) = formula 1

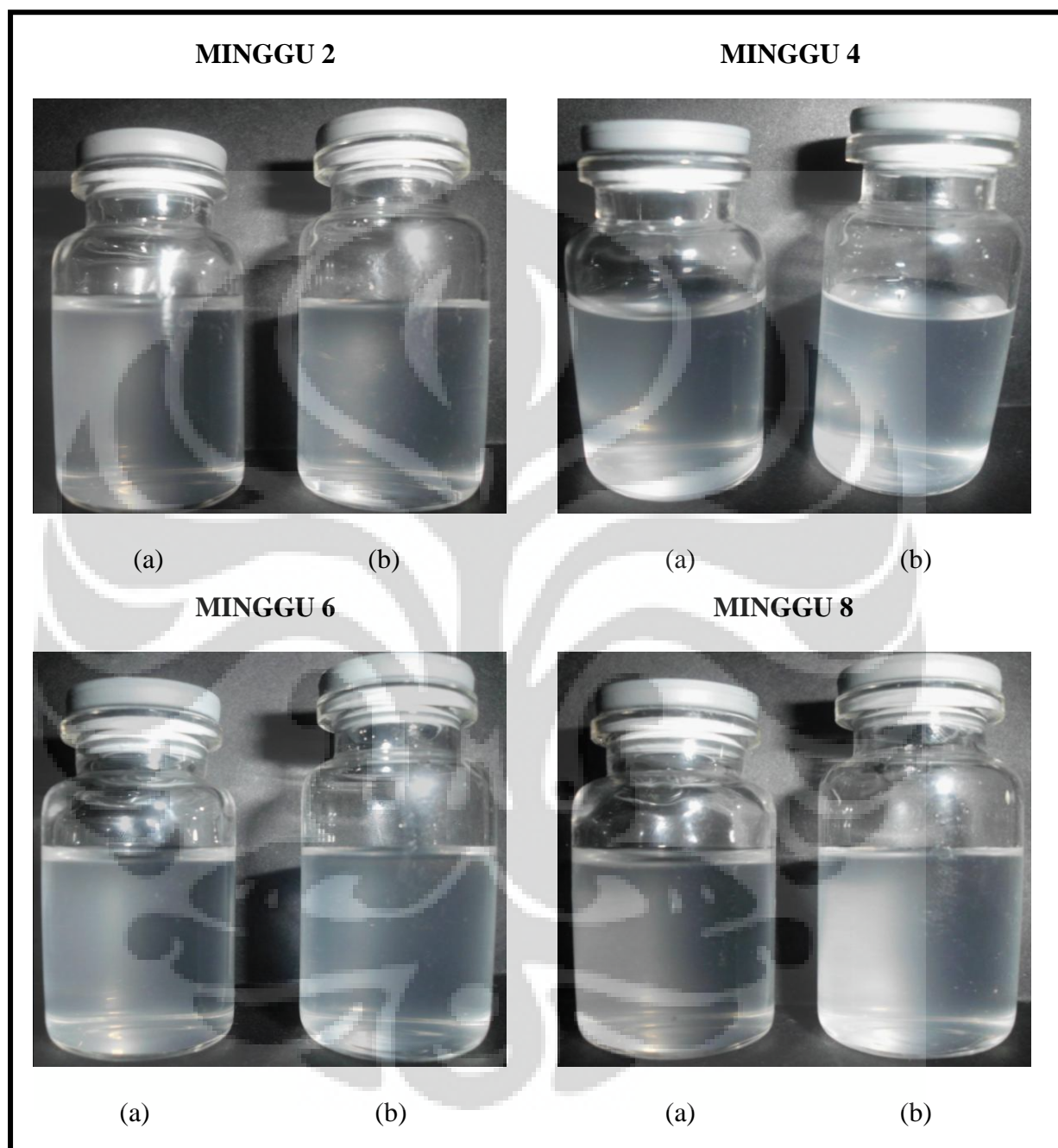


**Lampiran 3.** Foto hasil pengamatan organoleptis formula 1 dan 2 pada penyimpanan suhu rendah ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ) selama 8 minggu



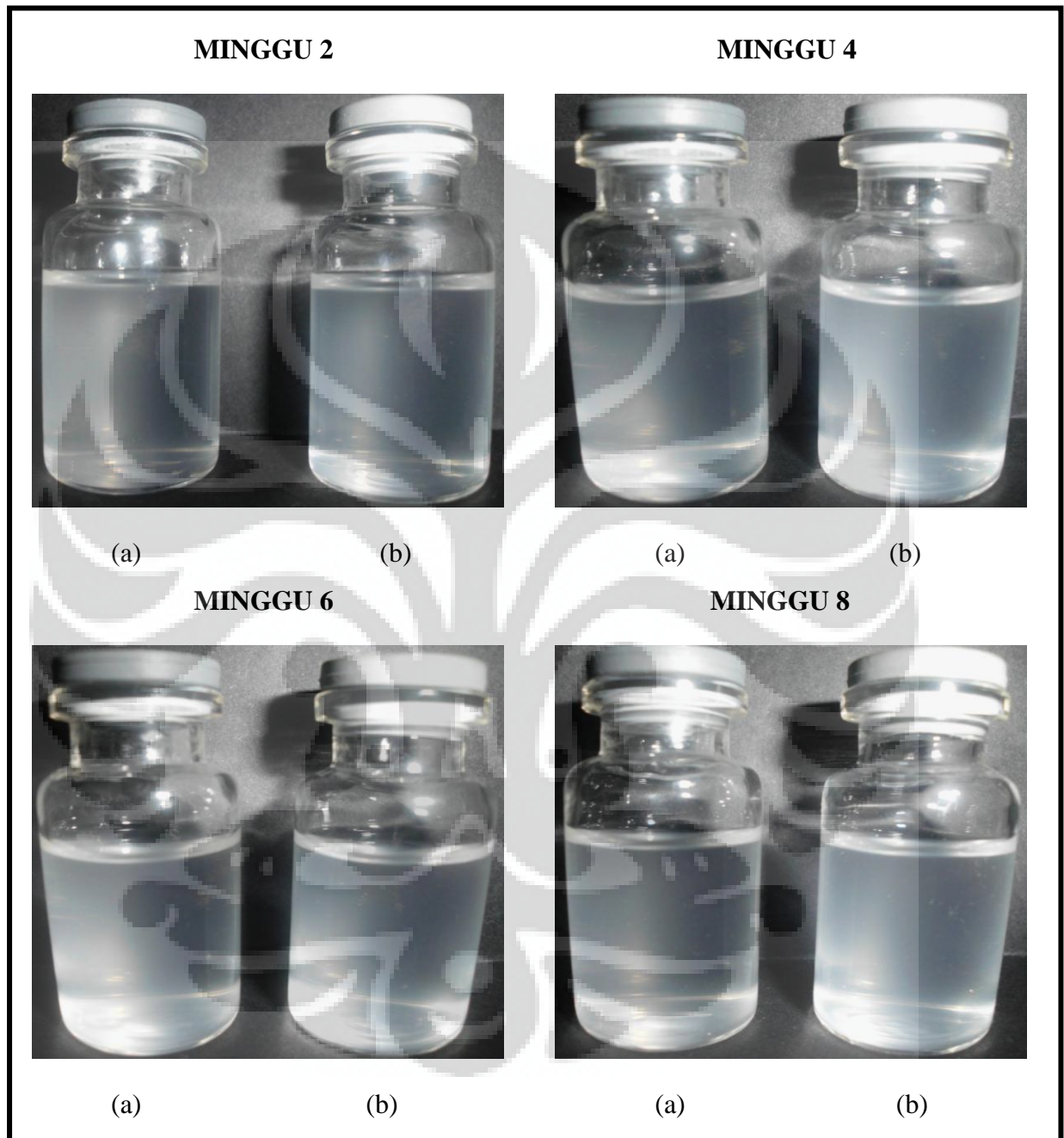
Keterangan : (a) = formula 2  
(b) = formula 1

**Lampiran 4.** Foto hasil pengamatan organoleptis formula 1 dan 2 pada penyimpanan suhu kamar ( $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ) selama 8 minggu



Keterangan : (a) = Formula 2  
(b) = Formula 1

**Lampiran 5.** Foto hasil pengamatan organoleptis formula 1 dan 2 pada penyimpanan suhu tinggi ( $40 \pm 2^\circ\text{C}$ ) selama 8 minggu

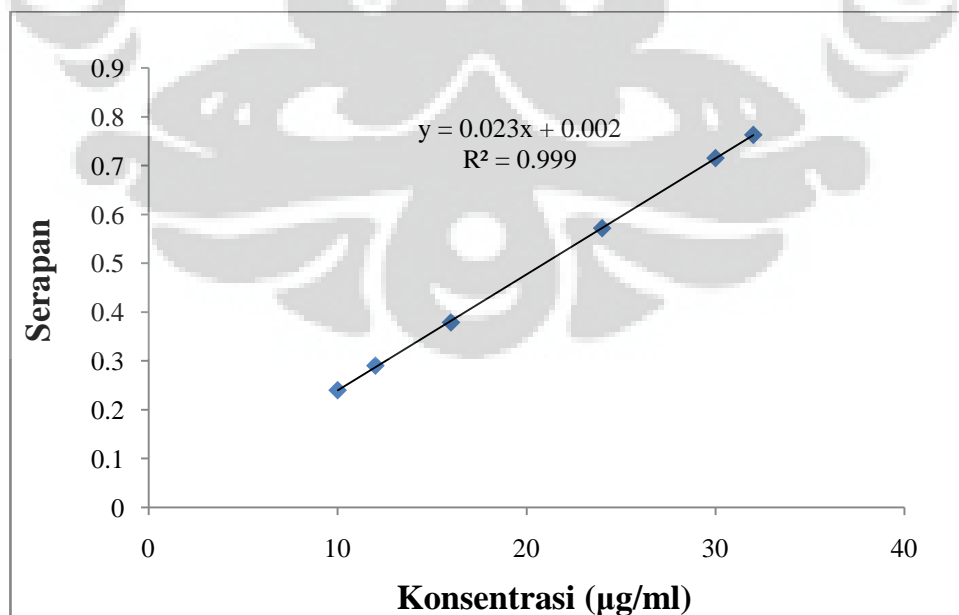


Keterangan : (a) = formula 2  
(b) = formula 1

**Lampiran 6.** Spektrum serapan larutan standar niasinamida dalam aquadem dengan konsentrasi 24 ppm pada panjang gelombang maksimum 262,0 nm



**Lampiran 7.** Kurva kalibrasi standar niasinamida dalam aquadem pada  $\lambda = 262,0$  nm

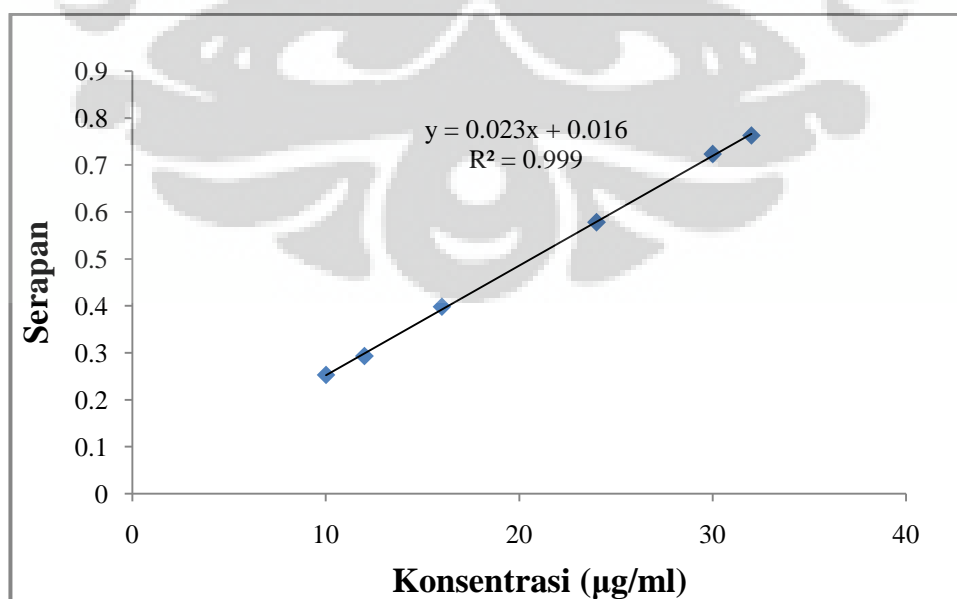




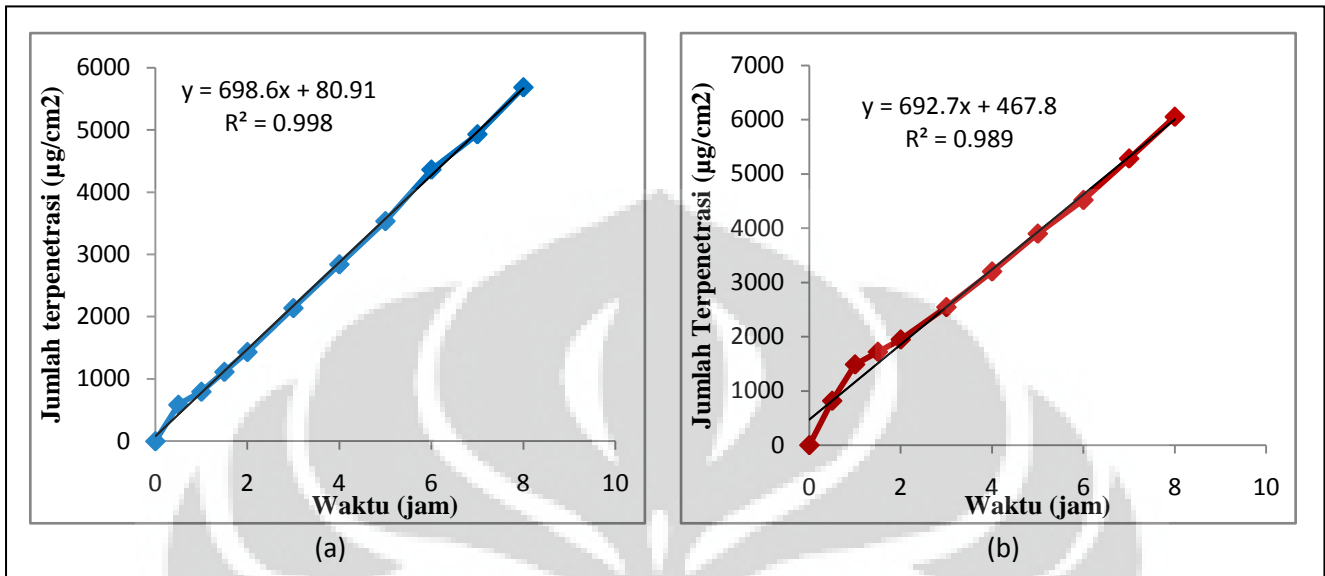
**Lampiran 8.** Spektrum serapan larutan standar niasinamida dalam dapar fosfat pH 7,4 dengan konsentrasi 24 ppm pada panjang gelombang maksimum 262,0 nm



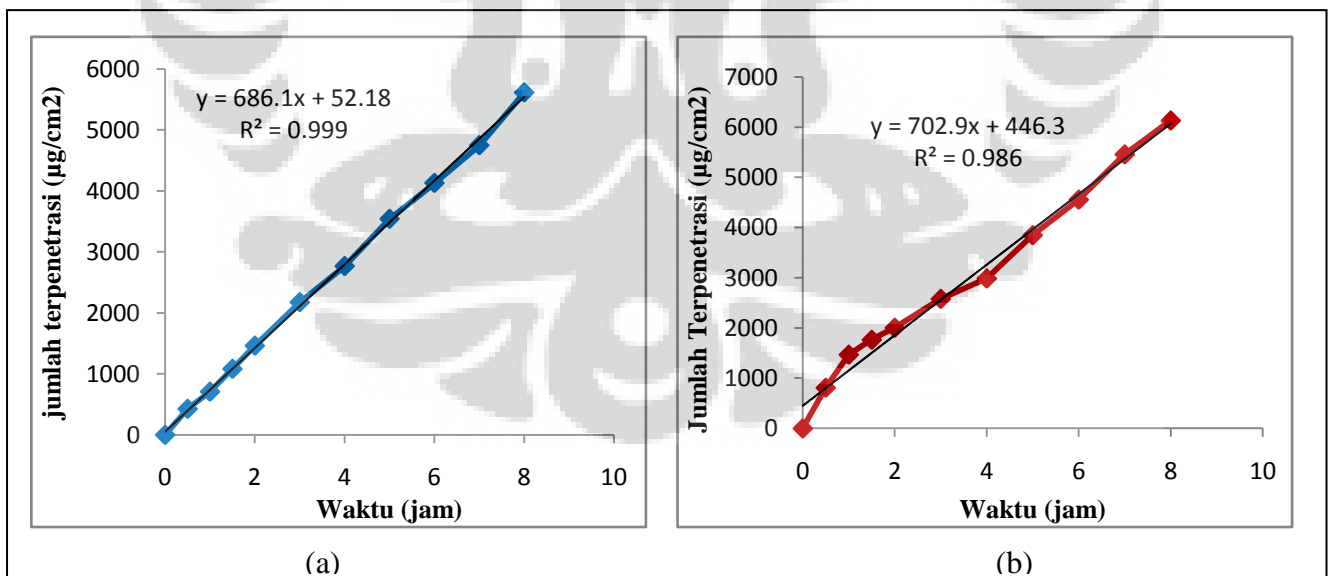
**Lampiran 9.** Kurva kalibrasi standar niasinamida dalam larutan dapar fosfat pH 7,4 pada  $\lambda = 262,0$  nm



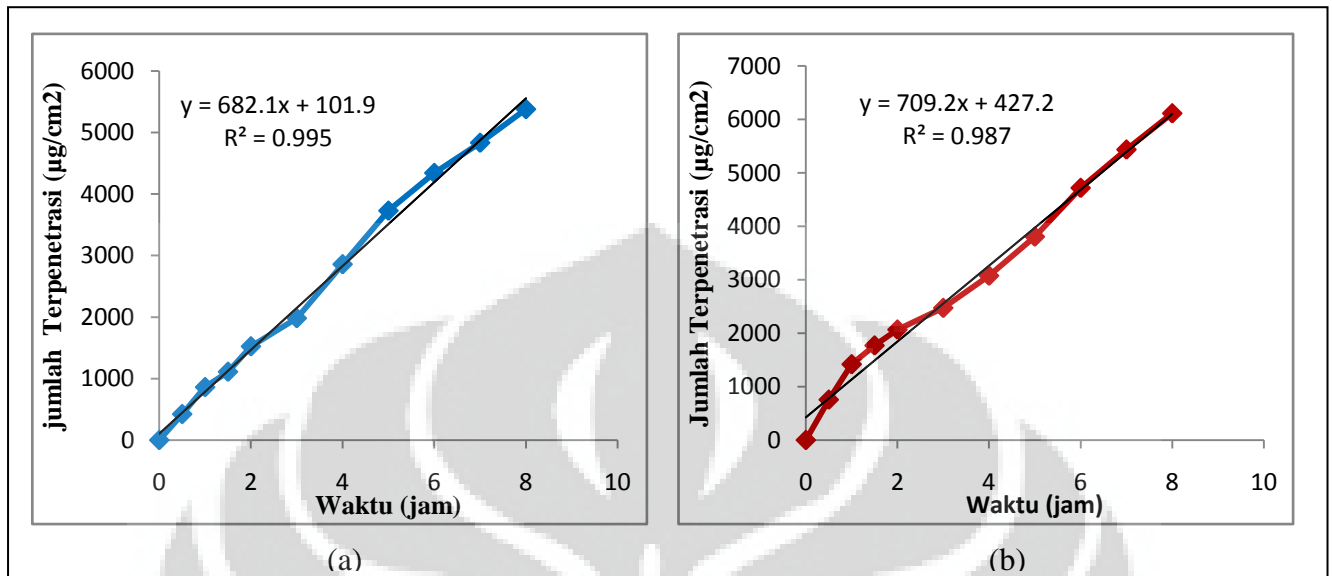
**Lampiran 10.** Jumlah kumulatif niasinamida yang terpenetrasi per satuan luas membran percobaan 1 dari sediaan gel (a) formula 1 dan (b) formula 2



**Lampiran 11.** Jumlah kumulatif niasinamida yang terpenetrasi per satuan luas membran percobaan 2 dari sediaan gel (a) formula 1 dan (b) formula 2



**Lampiran 12.** Jumlah kumulatif niasinamida yang terpenetrasi per satuan luas membran percobaan 3 dari sediaan gel (a) formula 1 dan (b) formula 2





**Lampiran 13.** Tabel hasil pengamatan organoleptis formula 1 dan 2 pada suhu rendah ( $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) selama penyimpanan 8 minggu

Minggu ke-	Warna	Bau	Homogenitas
2	semitransparan	Khas karbomer	Homogen
4	semitransparan	Khas karbomer	Homogen
6	semitransparan	Khas karbomer	Homogen
8	semitransparan	Khas karbomer	Homogen

**Lampiran 14.** Tabel hasil pengamatan organoleptis formula 1 dan 2 pada suhu kamar ( $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) selama penyimpanan 8 minggu

Minggu ke-	Warna	Bau	Homogenitas
2	semitransparan	Khas karbomer	Homogen
4	semitransparan	Khas karbomer	Homogen
6	semitransparan	Khas karbomer	Homogen
8	semitransparan	Khas karbomer	Homogen

**Lampiran 15.** Tabel hasil pengamatan organoleptis formula 1 dan 2 pada suhu tinggi ( $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) selama penyimpanan 8 minggu

Minggu ke-	Warna	Bau	Homogenitas
2	semitransparan	Khas karbomer	Homogen
4	semitransparan	Khas karbomer	Homogen
6	semitransparan	Khas karbomer	Homogen
8	semitransparan	Khas karbomer	Homogen

**Lampiran 16.** Tabel hasil pengukuran pH formula 1 dan 2 pada suhu rendah ( $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ) selama penyimpanan 8 minggu

Minggu ke-	Formula 1			Formula 2		
	I	II	Rata-rata	I	II	Rata-rata
2	5,62	5,64	5,63	5,53	5,59	5,56
4	5,64	5,56	5,60	5,54	5,62	5,58
6	5,64	5,52	5,58	5,57	5,60	5,59
8	5,64	5,54	5,59	5,54	5,57	5,56

**Lampiran 17.** Tabel hasil pengukuran pH formula 1 dan 2 pada suhu kamar ( $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ) selama penyimpanan 8 minggu

Minggu ke-	Formula 1			Formula 2		
	I	II	Rata-rata	I	II	Rata-rata
2	5,59	5,63	5,61	5,54	5,53	5,54
4	5,63	5,59	5,61	5,55	5,55	5,55
6	5,60	5,61	5,61	5,53	5,52	5,53
8	5,63	5,63	5,63	5,52	5,53	5,53

**Lampiran 18.** Tabel hasil pengukuran pH formula 1 dan 2 pada suhu tinggi ( $40 \pm 2^\circ\text{C}$ ) selama penyimpanan 8 minggu

Minggu ke-	Formula 1			Formula 2		
	I	II	Rata-rata	I	II	Rata-rata
2	5,59	5,57	5,58	5,50	5,50	5,50
4	5,60	5,59	5,60	5,58	5,57	5,58
6	5,65	5,62	5,64	5,50	5,50	5,50
8	5,57	5,59	5,58	5,47	5,48	5,48

**Lampiran 19.** Hasil pengukuran viskositas formula 1 dan 2 pada suhu kamar ( $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ) pada minggu ke-0

Jenis bola	$S_b$	Sediaan	t			B	$S_f$	$\eta$			Rata-rata
			1	2	3			1	2	3	
stainless steel	7,709	Formula 1	47	47	47	4,54	1,0760	1415,3495	1415,3495	1415,3495	1415,3495
		Formula 2	39	38	38	4,54	1,0717	1175,2003	1145,0670	1145,0670	1155,1114

Keterangan :

- t : lamanya bola jatuh antara kedua titik (s)
- $S_b$  : gravitasi jenis bola ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )
- $S_f$  : gravitasi jenis cairan ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )
- B : konstanta bola ( $\text{mPa}\cdot\text{s}\cdot\text{cm}^3/\text{g}\cdot\text{s}$ )
- $\eta$  : viskositas ( $\text{mPa}\cdot\text{s}$  (cps))

**Lampiran 20.** Hasil pengukuran viskositas formula 1 dan 2 pada suhu kamar ( $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ) pada minggu ke-8

Jenis bola	$S_b$	Sediaan	t			B	$S_f$	$\eta$			
			1	2	3			1	2	3	Rata-rata
stainless steel	7,709	Formula 1	46	46	46	4,54	1,0760	1385,2357	1385,2357	1385,2357	1385,2357
		Formula 2	47	46	46	4,54	1,0717	1416,2671	1386,1337	1386,1337	1396,1782

Keterangan :

- t : lamanya bola jatuh antara kedua titik (s)
- $S_b$  : gravitasi jenis bola ( $\text{g/cm}^3$ )
- $S_f$  : gravitasi jenis cairan ( $\text{g/cm}^3$ )
- B : konstanta bola ( $\text{mPa.s.cm}^3/\text{g.s}$ )
- $\eta$  : viskositas ( $\text{mPa.s}$  (cps))

**Lampiran 21.** Serapan niasinamida standar dengan pelarut aquadem dalam pembuatan kuva kalibrasi pada  $\lambda = 262,0$  nm

<b>Konsentrasi (ppm)</b>	<b>Serapan (A)</b>
10	0,2397
12	0,2900
16	0,3785
24	0,5715
30	0,7150
32	0,7626

**Lampiran 22.** Serapan niasinamida standar dengan pelarut dapar fosfat pH 7,4 dalam pembuatan kuva kalibrasi pada  $\lambda = 262,0$  nm

<b>Konsentrasi (ppm)</b>	<b>Serapan (A)</b>
10	0,2529
12	0,2932
16	0,3928
24	0,5780
30	0,7233
32	0,7634

**Lampiran 23.** Hasil uji penetrasi niasinamida dalam larutan dapar fosfat pH 7,4 dari sediaan gel formula 1 dan 2 (n=10)

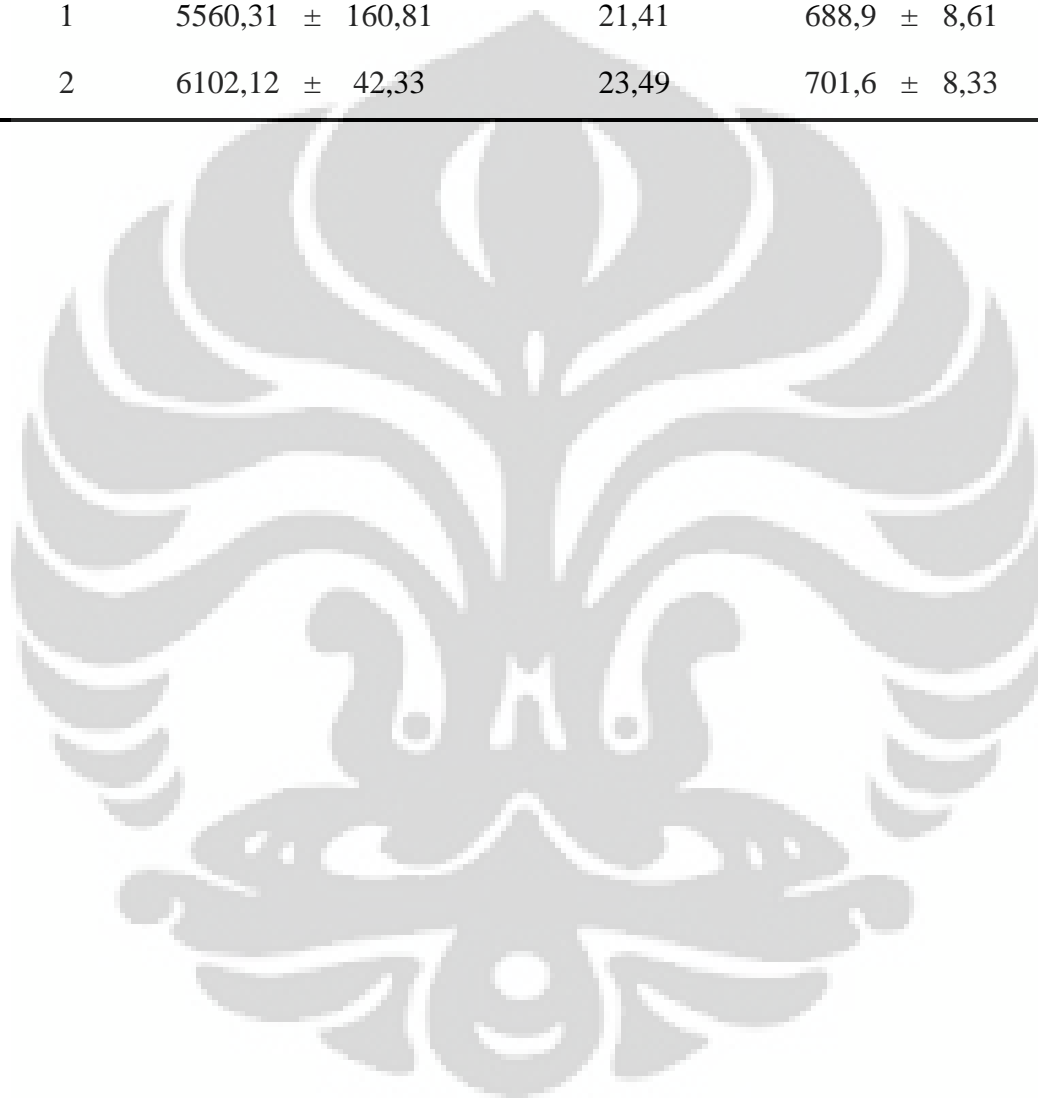
Waktu (menit)	Jumlah niasinamida terpenetrasi ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )			
	Formula 1		Formula 2	
30	478,00	$\pm$ 93,75	794,58	$\pm$ 33,13
60	788,06	$\pm$ 77,09	1458,80	$\pm$ 35,43
90	1102,40	$\pm$ 17,98	1752,01	$\pm$ 28,70
120	1473,20	$\pm$ 46,38	2006,97	$\pm$ 60,82
180	2098,56	$\pm$ 102,57	2533,18	$\pm$ 54,15
240	2822,33	$\pm$ 49,30	3088,37	$\pm$ 107,45
300	3602,40	$\pm$ 109,57	3852,11	$\pm$ 45,49
360	4279,31	$\pm$ 130,35	4599,94	$\pm$ 106,93
420	4838,26	$\pm$ 92,77	5394,19	$\pm$ 95,91
480	5560,31	$\pm$ 160,81	6102,12	$\pm$ 42,33

**Lampiran 24.** Hasil perhitungan fluks niasinamida tiap waktu pengambilan dari sediaan gel formula 1 dan 2 berdasarkan uji penetrasi selama 8 jam (n=10)

Waktu (menit)	Fluks niasinamida ( $\mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$ )			
	Formula 1		Formula 2	
30	955,99	$\pm$ 187,51	1589,17	$\pm$ 66,27
60	788,06	$\pm$ 77,09	1458,80	$\pm$ 35,43
90	734,94	$\pm$ 11,99	1168,01	$\pm$ 19,13
120	736,60	$\pm$ 23,19	1003,49	$\pm$ 30,41
180	699,52	$\pm$ 34,19	844,39	$\pm$ 18,05
240	705,58	$\pm$ 12,32	772,09	$\pm$ 26,86
300	720,48	$\pm$ 21,91	770,42	$\pm$ 9,10
360	713,22	$\pm$ 21,72	766,66	$\pm$ 17,82
420	691,18	$\pm$ 13,25	770,60	$\pm$ 13,70
480	695,04	$\pm$ 20,10	762,76	$\pm$ 5,29

**Lampiran 25.** Hasil jumlah kumulatif niasinamida yang terpenetrasi, persentase jumlah niasinamida yang terpenetrasi dan fluks niasinamida dari sediaan gel formula 1 dan 2 berdasarkan uji penetrasi selama 8 jam

<b>Formula</b>	<b>Jumlah kumulatif niasinamida yang tepenetrasi (<math>\mu\text{g}/\text{cm}^2</math>)</b>	<b>% jumlah kumulatif niasinamida yang terpenetrasi</b>	<b>Fluks (<math>\mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}</math>)</b>
1	5560,31 $\pm$ 160,81	21,41	688,9 $\pm$ 8,61
2	6102,12 $\pm$ 42,33	23,49	701,6 $\pm$ 8,33





**Lampiran 26.** Contoh perhitungan bobot jenis

Bobot jenis sediaan gel formula 1 diukur dengan menggunakan persamaan:

$$\text{Bobot jenis} = \frac{A_2 - A}{A_1 - A} \times 1 \text{ g/ml}$$

A : bobot piknometer kering (g)

A1 : bobot piknometer yang diisi dengan aquadem (g)

A2 : bobot piknometer yang diisi dengan sediaan (g)

Diketahui:

$$A = 12,1067 \text{ g}$$

$$A1 = 23,4722 \text{ g}$$

$$A2 = 24,3358 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis gel} &= \frac{A_2 - A}{A_1 - A} \times 1 \text{ g/ml} \\ &= \frac{24,3358 \text{ g} - 12,1067 \text{ g}}{23,4722 \text{ g} - 12,1067 \text{ g}} \times 1 \text{ g/ml} \\ &= 1,0760 \text{ g/ml} \end{aligned}$$

Jadi, bobot jenis sediaan gel = 1,0760 g/ml

**Lampiran 27.** Contoh perhitungan penetapan kandungan niasinamida dalam sediaan

Persamaan regresi :  $y = 0,0237 x + 0,0021$  dengan  $r = 0,99996$

Gel ditambahkan aquadem 10 mL sehingga memisah

Larutan disaring dalam labu tentukur 50,0 mL, kemudian basis yang terendap dicuci 3

kali dengan volume pencucian 5 mL

Larutan dicukupkan hingga 50,0 mL

Larutan tersebut dipipet 2,0 mL dan diencerkan lagi dengan aquadem hingga 10,0 mL

Larutan tersebut dipipet 1,0 mL dan diencerkan lagi dengan aquadem hingga 10,0 mL

Larutan diukur serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis

$$\text{Faktor pengenceran} = \frac{50 \times 10 \times 10}{2 \times 1} = 2500$$

$$\text{Kadar niasinamida} = \frac{\text{kadar diperoleh} \times \text{faktor pengenceran}}{\text{bobot niasinamida seharusnya}} \times 100\%$$

Berat gel formula 1 sebesar 1,0064 g (mengandung 40,256 mg niasinamida)

Serapan yang diperoleh 0,3885

Kadar diperoleh = 16,30 ppm

Kadar niasinamida = 101,23 %

**Lampiran 28.** Contoh perhitungan jumlah niasinamida yang terpenetrasi dari sediaan gel formula 1 pada menit ke-30

$$\text{Serapan (y)} = 0.0975$$

$$y = 0,0159 + 0,0235 x$$

$$x = 3,4723$$

$$\begin{aligned} \text{Faktor pengenceran (FP)} &= \text{volume labu tentukur} : \text{volume sampling} \\ &= 10 \text{ ml} : 0,5 \text{ ml} = 20x \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi terpenetrasi} &= x \cdot \text{FP} \\ &= 3,4723 \cdot 20 \\ &= 69,446 \mu\text{g/ml} \end{aligned}$$

Rumus jumlah kumulatif yang terpenetrasi :

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

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

$C_n$  = Konsentrasi niasinamida ( $\mu\text{g/ml}$ ) pada sampling menit ke-30

$\sum_{i=1}^{n-1} C_i$  = Jumlah konsentrasi niasinamida ( $\mu\text{g/ml}$ ) pada sampling pertama (menit ke-30 hingga sebelum menit ke-60)

V = Volume sel difusi Franz

S = Volume sampling (0,5 ml)

A = Luas area membrane

$$Q = \frac{(69,446 \mu\text{g/ml} \times 13 \text{ ml}) + (0 \times 0,5 \text{ ml})}{1,54 \text{ cm}^2} = 586,2325 \mu\text{g/cm}^2$$

Jadi, jumlah niasinamida yang terpenetrasi dari sediaan gel formula 1 pada menit ke-10 adalah  $586,2325 \mu\text{g/cm}^2$

**Lampiran 29.** Contoh perhitungan jumlah niasinamida yang terpenetrasi dari sediaan gel formula 1 pada menit ke-60

$$\text{Serapan (y)} = 0.1235$$

$$y = 0,0159 + 0,0235 x$$

$$x = 4,5787$$

$$\begin{aligned} \text{Faktor pengenceran (FP)} &= \text{volume labu tentukur} : \text{volume sampling} \\ &= 10 \text{ ml} : 0,5 \text{ ml} = 20x \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi terpenetrasi} &= x \cdot \text{FP} \\ &= 4,5787 \cdot 20 \\ &= 91,574 \mu\text{g/ml} \end{aligned}$$

Rumus jumlah kumulatif yang terpenetrasi :

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

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

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

$\sum_{i=1}^{n-1} C_i$  = Jumlah konsentrasi niasinamida ( $\mu\text{g/ml}$ ) pada sampling pertama (menit ke-10 hingga sebelum menit ke-n)

V = Volume sel difusi Franz

S = Volume sampling (0,5 ml)

A = Luas area membrane

$$Q = \frac{(91,574 \mu\text{g/ml} \times 13 \text{ ml}) + (69,446 \times 0,5 \text{ ml})}{1,54 \text{ cm}^2} = 795,5747 \mu\text{g/cm}^2$$

Jadi, jumlah niasinamida yang terpenetrasi dari sediaan gel formula 1 pada menit ke-10 adalah  $795,5747 \mu\text{g/cm}^2$

**Lampiran 30.** Contoh perhitungan fluks niasinamida dari sediaan gel formula 1

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

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

Keterangan :

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

$S$  = Luas area difusi ( $\text{cm}^2$ )

$M$  = Jumlah kumulatif niasinamida yang melalui membran ( $\mu\text{g}$ )

$t$  = Waktu (jam)

Diketahui :  $M/S = 5560,31 \pm 160,81 \mu\text{g/cm}^2$

$$(M/S)_1 = 5688,28 \mu\text{g/cm}^2$$

$$(M/S)_2 = 5612,85 \mu\text{g/cm}^2$$

$$(M/S)_3 = 5379,80 \mu\text{g/cm}^2$$

$$J_1 = \frac{5688,28 \mu\text{g/cm}^2}{8 \text{ jam}} = 711,04 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$$

$$J_2 = \frac{5612,85 \mu\text{g/cm}^2}{8 \text{ jam}} = 701,61 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$$

$$J_3 = \frac{5379,80 \mu\text{g/cm}^2}{8 \text{ jam}} = 672,48 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$$

$$J \text{ rata-rata} = 695,04 \pm 20,10 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$$

Jadi jumlah fluks niasinamida dari sediaan gel formula 1 adalah  $695,04 \pm 20,10 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$

**Lampiran 31.** Contoh perhitungan persentase jumlah kumulatif niasinamida yang terpenetrasi dari sediaan gel formula 1

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

Sampel yang diaplikasikan pada kulit sebanyak 1 g

Dalam 1 g sampel mengandung niasinamida sebanyak 40 mg = 40.000  $\mu\text{g}$

Data 1

$$\% \text{ jumlah kumulatif terpenetrasi} = \frac{5697.54 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \times 1,54 \text{ cm}^2}{40.000 \mu\text{g}} \times 100\% = 21,94 \%$$

Data 2

$$\% \text{ jumlah kumulatif terpenetrasi} = \frac{5623.43 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \times 1,54 \text{ cm}^2}{40.000 \mu\text{g}} \times 100\% = 21,65 \%$$

Data 3

$$\% \text{ jumlah kumulatif terpenetrasi} = \frac{5395.99 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \times 1,54 \text{ cm}^2}{40.000 \mu\text{g}} \times 100\% = 20,77 \%$$

Jadi % jumlah kumulatif niasinamida yang terpenetrasi dari sediaan gel adalah 21,45  $\pm$  0,61 %

## Lampiran 32. Sertifikat analisis Vitamin B3

**WD WESTERN DRUGS LTD.**  
(Formerly known as western drugs Pvt. Ltd.)  
F-271 (A), Mewar Industrial Area, Madri, Udalpur - 313003 (Raj.), India.  
Phone: +91-294-2490676; 2490042; Fax: +91-294-2490676;  
Email: infoudalpur@westerndrugs.com; Website: westerndrugs.com

**CERTIFICATE OF ANALYSIS**

Purchase Order No.	Date	Our Reference No.	C. O. A. Date	Lab Register Page No.
2011001145	05.10.2011	EXP - 2189	01.11.2011	11-12/02/160
Name of Product	Lot No.	Date of Manufacturing	Date of Expiry	Date of Analysis
NICOTINAMIDE BP	1112/NMD(P)/B/142	OCT, 2011	SEP, 2016	28.10.2011

Tests	BP 2011	USP 33	EP 6.5	Results
Appearance	White Crystalline Powder	White Crystalline Powder	White Crystalline Powder	White Crystalline Powder
Solubility	Freely Soluble in water and Ethanol	N.A.	Freely Soluble in water and Ethanol	Complies
<b>Identification</b>				
A. Melting point	128° to 131° C	128° to 131° C	128° to 131° C	129° C ✓
B. UV Test	N.A.	0.63 to 0.67	N.A.	0.658 ✓
Ratio $A_{248}$ to $A_{265}$ nm	N.A.	0.63 to 0.67	N.A.	0.658 ✓
C. IR Test	IR Spectrum to match with Reference standard No. 1	IR Spectrum to match with Reference standard No. 1	IR Spectrum to match with Reference standard No. 1	Matches
Appearance of 5% $w/v$ Solution	Not more intense than BY <sub>7</sub>	N.A.	Not more intense than BY <sub>7</sub>	Complies
pH of 5% $w/v$ Solution	6.0 to 7.5	N.A.	6.0 to 7.5	6.63 ✓
Related Substance	Spot of test solution is not more intense than spot of Reference solution	N.A.	Spot of test solution is not more intense than spot of Reference solution	Complies ✓
Heavy Metal	≤ 30 PPM	≤ 30 PPM	≤ 30 PPM	< 10 PPM
Loss on Drying	≤ 0.5% w/w	≤ 0.5% w/w	≤ 0.5% w/w	0.2184 %w/w(USP) 0.2382 %w/w(BP/EP)
Sulphated Ash / Residue on Ignition	≤ 0.1% w/w	≤ 0.1% w/w	≤ 0.1% w/w	0.0568 %w/w ✓
Chloride	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
Sulphate	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
Readily Carbonizable Sub.	N.A.	No More colour than matching Fluid A	N.A.	Complies
<b>Assay (On Dried Basis)</b>				
A. Non Aqueous Titration	99.0 to 101.0 % w/w	N.A.	99.0 to 101.0 % w/w	99.39 %w/w ✓
B. HPLC Method	N.A.	98.5 to 101.5 % w/w	N.A.	99.26 %w/w ✓
C. UV Method	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
<b>Special Requirement</b>				
S. No.	Test	Specification	Results	
	N.A.	N.A.	N.A.	

REPORT: Certified that the sample referred above confirms to the following specifications:  
1. Manufacturing Specifications of WDL.      2. BP 2011 for Nicotinamide (Nicotinamide)  
3. USP 33 for Nicotinamide                      4. EP 6.5 for Nicotinamide

*WD*  
N. SINGH  
(Approved Chemist)

*Rachana*  
**RACHANA PALIWAL**  
(Q.A. ASSISTANT)

BIN NO.: AAACW2424PFT001      Page 1 of 1  
HEAD OFFICE: 213, Creative Industrial Estate, N.M. Joshi Marg, Mumbai-400 013 Phone No.: 91-22-23016622, 23016623;  
Fax No.: 91-22-23016625; E-mail: sales@westerndrugs.com



## Lampiran 33. Sertifikat analisis Karbomer 940

<b>Lubrizol</b>		<b>CERTIFICATE OF ANALYSIS</b>			
LUBRIZOL ADVANCED MATERIALS ASIA PACIFIC LTD 1107-1110 SHUI ON CENTRE, 6 S HARBOUR ROAD WANCHAI, HONGKONG TEL: +852 2508 1021		Date: April 29, 2011		Page: 3 of 3	
LZ Sales Order No.: 1365869		Certificate Recipient:			
Customer PO No.: 275843					
Delivery No.: 81732891					
Ex-Plant Date: April 25, 2011					
Delivery Point: JAKARTA Transportation ID: #B88996 Compartment/Seals:		Material: CARBOPOL® 940 POLYMER, BOX Qty: 18.0 CT Batch No.: KK138KC342 Mfg. Date: March 13, 2011 Recommended Retest: March 12, 2013			
Sold-to: <div style="border: 1px solid black; border-radius: 50%; padding: 5px; display: inline-block;"> <b>CV. TRISTAR CHEMICALS</b> </div> www.tristarchemical.com Jl. Kungkut Mapan Utara CA - 24 Surabaya Telp. 031 - 8708071, Fax 031 - 8708071		Ship-to:			
Characteristics	Product Specifications				
	Minimum	Typical	Maximum	Result	
BROOKFIELD VIS, 0.2% MUCILAGE @ 25 C	cP	19000	35000		
BROOKFIELD VIS, 0.5% MUCILAGE @ 25 C	cP	40000	60000	48800	
BROOKFIELD VIS, 1.0% MUCILAGE @ 25 C	cP	45000	80000		
PPM BENZENE	ppm		5000	200	
CLARITY, % TRANSMITTANCE	%	85		97	
LOSS ON DRYING	%		2.0		
HM AS (Pb,As,Hg,Cd) TO PPM MAX				Pass	
Where actual values for Loss on Drying (Once/10 lots), 0.2% Brookfield Viscosity (Once/20 lots), 1.0% Brookfield Viscosity (Once/20 lots) and Heavy Metals (Once/ 200 lots) are not given, 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.					
We guarantee that the above analytical results are in conformity with the agreed upon specifications. Approved by: Lubrizol Quality Assurance					

## Lampiran 34. Sertifikat analisis Gliserin


**PT. BRATACO**


**HASIL PEMERIKSAAN**

Nama Bahan : Glycerin  
 Batch : J 0877/11 (11080388-G8)  
 Ex : P & G  
 ED : 04/2014  
 Grade : farma

Jenis Pemeriksaan	Persyaratan FI IV	Hasil Pemeriksaan
Pemerian	Cairan, jernih, tidak berwarna, tidak berbau, rasa manis diikuti rasa hangat, higroskopik	Sesuai
Kelarutan	Dapat bercampur dengan air dan etanol, praktis tidak larut dalam kloroform dan dalam eter	Sesuai
Identifikasi	Panaskan dengan kalium bisulfat P terjadi uap merangsang	Positif
pH	5,5 - 7,5	6,0
Kadar Air	≤2,0%	1,25%
Indeks Bias	1,471-1,474	1,472
Refraksi Suhu	1,055-1,061	1,057
	dengan kadar 98,0% - 100,0%	

**Kesimpulan : Memenuhi Syarat**

Pemeriksa :   
 Tatiana Suhartono

Pengedara :   
 SIK 308676

10/09/2014

HEAD OFFICE :  
 BRANCH OFFICE :

• SURABAYA : J. Tension Jukung No. 77G, Bandung  
 • SEMARANG : J. Bawangan Timur No. 5, Semarang  
 • SURABAYA : J. Tidar No. 98, Surabaya  
 • MEDAN : J. Iskandar Muda No. 10, Medan  
 • CIPINANG : J. Gede Subrata Barat No. 200C, Cipinang



Lampiran 35. Sertifikat analisis Metilparaben

**HASIL PEMERIKSAAN**

**PT. BRATACO**

Nama Bahan	: Metil Paraben (MPagin)
No Batch	: J 0096/10 (MP-103/08-09)
Ex	: India
E.D	: 10-2013
Grade	: farma

Jenis Pemeriksaan	Persyaratan PIV	Hasil Pemeriksaan
Pemerian	Serbuk atau hablur kecil, tidak berwarna, Putih, tidak berbau atau berbau khas jemah, mempunyai $n_D^{20} > 1,54$ rasa terbakar	Sesuai
Kelarutan	Sukar larut dalam air, benzena; mudah larut dalam etanol dan eter	Sesuai
Identifikasi	Dididihkan 10 mg dengan 10 ml air, dinginkan, tambahkan 0,05 ml larutan besi (III) klorida P; terjadi warna ungu kemerahan	Positif
Keasaman	Panaskan 750 mg dalam 15 ml air pada suhu $80^{\circ}\text{C}$ selama 1 menit, dinginkan dan saring; pada 10 ml filtrat, tambahkan 0,2 ml NaOH 0,1 N dalam 2 menit muncul metil LP; larutan berwarna kuning	Sesuai
Jarak lebur	$125^{\circ}\text{C} - 128^{\circ}\text{C}$	$127^{\circ}\text{C}$
Kand	99,0% - 100,5%	99,6%


**Kesimpulan: Memenuhi Syarat**

Pemeriksa: *[Signature]*


Cikarang 25-01-2010  
 Penyempurnaan:  
**PT. BRATACO CHEMICAL**  
*[Circular Stamp]*  
 Apoteker  
 SIK 3836/01

PT. BRATACO CHEMICAL Tbk  
 Gedung PT. BRATACO CHEMICAL Tbk  
 Jl. Raya Cikarang - Bekasi Km 13,5 No. 201 Cikarang Selatan  
 Bekasi, Jawa Barat 17153  
 Telp. (021) 84427522, 84427524, 84427526, 84427528  
 Faks. (021) 84427523, 84427525, 84427527, 84427529  
 e-mail: sales@bratacochem.com, brataco@bratacochem.com  
 www.bratacochem.com  
 PT. BRATACO CHEMICAL Tbk adalah salah satu perusahaan anggota PT. BRATACO Tbk.

## Lampiran 36. Sertifikat analisis Propilparaben



## PT. BRATACO



**HASIL PEMERIKSAAN**

Nama Bahan : Nipasol/ Propyl Paraben  
 Batch : J 0126/10 (PP-26/08-09)  
 Ex : GUJARAT  
 E.D : 09-2013  
 Grade : Farma


---

Jenis pemeriksaan	Persyaratan	Hasil
Pemerian	Serbuk putih, atau hablur kecil, tidak berwarna	sesuai
Kelarutan	Sangat sukar larut dalam air dan air mendidih, mudah larut dalam etanol dan dalam eter	sesuai gumpal
Identifikasi	Didihkan 10 mg zat dengan 10 ml air, dinginkan, tambahkan 3 tetes larutan FeCl <sub>3</sub> LP; terjadi warna ungu kemerahan	sesuai
Keasaman	Panaskan 750 mg dalam 15 ml air pada suhu 80° C selama 1 menit, dinginkan dan saring; pada 10 ml filtrat, tambahkan 0,2 ml NaOH 0,1 N dan 2 tetes merah metil LP; Larutan berwarna kuning	sesuai
pH 10% b/v	4,5-7,5	6,0
Suhu lebur	Antara 95° - 98° C	98,0°
Susut pengeringan	Tidak lebih dari 0,5%	0,5%
Kadar	99,0% - 101,0%	99,685%

---


Kesimpulan : Memenuhi syarat FI IV

Pemeriksa



**Rian Pratama Akba**  
Analisis

Cikarang, 26 - 11-2009  
Penanggung Jawab



**Dra. Tn Hartati**  
Apoteker  
S.I.K. 3836/B

---

HEAD OFFICE : Jl. Cideng Barat No. 78, Jakarta Pusat 10150, Telp. (021) 8622733 (hunting) Fax. (021) 9522734, E-mail: mtaak@brataco.com


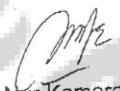

BRANCH OFFICE :

- **JAKARTA** : Jl. Mangga Besar V No.5, Jakarta 11180 Telp. (021) 9290110 (hunting 0 line) Fax. (021) 8262480
- **BOULEVARD** : Jl. Boulevard Raya Blok TB2 No. 8, Jakarta 14240 Telp. (021) 4544682-84 Fax. (021) 4532616
- **BANDUNG** : Jl. Kalenteng No. 6, Bandung Telp. (022) 6077128, 6292606 Fax. (022) 6031978
- **TANGERANG** : Jl. Terpesik Jakarta No. 775, Bandung Telp. (025) 7101277, 7210508-309 Fax. (022) 7210310
- **SEMARANG** : Jl. Brigjen. Katamso No. 18 Telp. (024) 8415272, 8419998 Fax. (024) 8414950
- **YOGYA** : Jl. Dhyangkarsa No. 44, Yogyakarta Telp. (0274) 543348, 815390 Fax. (0274) 543949
- **SURABAYA** : Jl. Tikar No. 85, Surabaya Telp. (031) 8322887, 8325057 Fax. (031) 5310468
- **MEDAN** : Jl. Iskandar Muda no. 40 B, Medan Telp. (061) 4148272, 4923159 Fax. (061) 4525998

SUB BRANCH OFFICE : TANGERANG, BOGOR, CIKARANG, CIREBON, TASIKMALAYA, SOLO, PURWOKERTO, TEGAL, MALANG, SIDARJO, DENPASAR, PALEMBANG, MAKASSAR

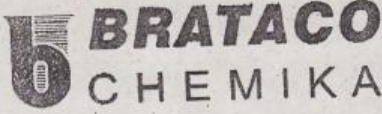
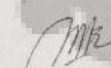
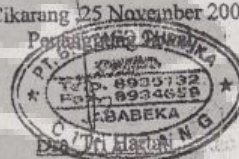
The Netherlands Chemicals and Ingredients Distributor

## Lampiran 37. Sertifikat analisis Natrium metabisulfit

HASIL PEMERIKSAAN			
Nama Bahan	: Natrium Metabisulfit FG		
Batch	: J 1119 / 08		
Ex	: Thailand		
Jenis pemeriksaan	Persyaratan	Hasil	
Pemerian	Serbuk atau serbuk hablur, yang berbentuk hablur tidak berwarna, serbuk berwarna putih atau kuning gading, bau belerang rasa asam dan asin	Serbuk putih	
Kelarutan	Larut dalam 2 bagian air, sukar larut dalam etanol 95%P	Sesuai	
Identifikasi	Larutan ditambahkan larutan iodium; warna iodium hilang	Sesuai	
Logam Berat	< 20 bpj	< 20 bpj	
Kadar air		0,8%	
Kadar	Tidak Kurang dari 65 % -67.4% SO <sub>2</sub>	65.90%	
Kesimpulan : Memenuhi syarat			
Pemeriksa		Cikarang 21 Pebruari 2008	Penanggung jawab
			
Nur Komarawati		Dra. Tri Hartati	
Analisis		Apoteker	
		S.I.K. 3836/B	
<b>KANTOR PUSAT</b> : Jl. Cideng Barat No. 78 Jakarta Pusat 10150, Telp. : (021) 3522733 (Hunting 5 Lines) Fax. : (021) 3462625, E-mail : brataco@idola.net.id <b>KANTOR CABANG</b> : <ul style="list-style-type: none"> <li>• JAKARTA : Jl. Mangga Besar V No. 5, Jakarta 11180 Telp. : (021) 6120312 (Hunting 3 Lines), (021) 6290113 (Hunting 3 Lines) Fax. : (021) 6292430</li> <li>• SURABAYA : Jl. Tidar No. 89 Telp. (031) 5322887, 5467667, 5325057 Fax. (031) 5310465</li> <li>• SEMARANG : Jl. Pterongan Timur No. 4 Telp. (024) 414980, 412300 Fax. (024) 412300</li> <li>• BANDUNG : Jl. Kienteng No. 8 Telp. (022) 677129, 630807, 630808 Fax. (022) 631979</li> <li>• MEDAN : Jl. Terusan Jakarta No. 77 G Telp. : (022) 7101277, 7210308-310 Fax. : (022) 7101277</li> <li>• MEDAN : Jl. Abdullah Lubis No. 27 A / 41 Telp. : (061) 578303, 542041 Fax. : (061) 542041</li> </ul> <b>KANTOR PERWAKILAN</b> : PALEMBANG, PADANG, LAMPUNG, BALIKPAPAN, UJUNG PANDANG, BANJARMASIN, MENADO dan DENPASAR			



## Lampiran 38. Sertifikat analisis Etanol 96%

HASIL PEMERIKSAAN			
Nama Bahan	: Alcohol 96%		
No Batch	: J 1995/08		
Ex	: lokal		
<i>Jenis Pemeriksaan</i>		<i>Hasil Pemeriksaan</i>	
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		1tt etanol + 1tts KmNO <sub>4</sub> 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 F.I.V</i>			
Pemeriksa		Cikarang 25 November 2008	
			
Nur Komarawati		Apoteker	
Analisis		SIK 3836/B	
<p>KANTOR PUSAT : Jl. Cidang Barat No. 78 Jakarta Pusat 10150, Telp. : (021) 3622733 (Hunting 5 Lines)            Fax. : (021) 3462825, E-mail : brataco@idola.net.id</p> <p>KANTOR CABANG</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• JAKARTA : Jl. Mangga Besar V No. 5, Jakarta 11180              Telp. : (021) 8120312 (Hunting 3 Lines), (021) 6200113 (Hunting 3 Lines) Fax. : (021) 6202430</li> <li>• SURABAYA : Jl. Tidar No. 60 Telp. : (031) 6922887, 6407667, 6325057 Fax: (031) 5310485</li> <li>• SEMARANG : Jl. Pelanggaran Timur No. 4 Telp. : (024) 414980, 412300 Fax: (024) 412300</li> <li>• BANDUNG : Jl. Kienteng No. 8 Telp. : (022) 677129, 830807, 830808 Fax: (022) 631979              Jl. Terusan Jakarta No. 77 C Telp. : (022) 7101277, 7210308-310 Fax : (022) 7101277</li> </ul>			

## Lampiran 39. Sertifikat analisis aquademineralisata

Lip. Bp. Adi



**PT Brataco Chemika**  
 Jl. Dewi Sartika No. 22 Bogor  
 Telp: 0251-321783, 382566  
 Fax: 0215-377710


---

**PEMERIKSAAN AQUA DEMINERALISATA**

Nomor Batch : 0213  
 Kode Barang : A04213  
 Tgl Produksi : 1 Juni 2009  
 Jumlah : 4.000 Liter  
 Operator : Mulyadi

No.	Parameter	Hasil	Keterangan
1.	Pemerian	Cairan Jernih, Tidak Berwarna, Tidak Berbau, Tidak Berasa	Sesuai
2.	Konduktivitas	001	Memenuhi Syarat
3.	pH	6.45	Memenuhi Syarat
4.	Klorida	Jernih	Memenuhi Syarat
5.	Sulfat	Tidak terjadi kekeruhan	Memenuhi Syarat
6.	Kalsium	Tidak terjadi kekeruhan	Memenuhi Syarat
7.	Logam Berat	Warna kurang pekat	Memenuhi Syarat

Bogor, 2 Juni 2009




Ferry Effendi  
 Apoteker



