



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH PEPTIDA TEMBAGA-GLISIL-L-HISTIDIL-L-
LISIN (CU-GHK) TERHADAP PENETRASI
IN VITRO SERTA STABILITAS FISIK DAN KIMIA
VITAMIN C DALAM SEDIAAN SERUM**

SKRIPSI

**SAMIRA TAUFIK
0806453680**

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



UNIVERSITAS INDONESIA

**PENGARUH PEPTIDA TEMBAGA-GLISIL-L-HISTIDIL-L-
LISIN (CU-GHK) TERHADAP PENETRASI
IN VITRO SERTA STABILITAS FISIK DAN KIMIA
VITAMIN C DALAM SEDIAAN SERUM**

SKRIPSI

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

**SAMIRA TAUFIK
0806453680**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM 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, 10 Juli 2012



Samira Taufik

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Samira Taufik

NPM : 0806453680

Tanda Tangan : 


Tanggal : **10** Juli 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Samira Taufik
NPM : 0806453680
Program Studi : Sarjana Farmasi
Judul Proposal : Pengaruh Peptida Tembaga-Glisil-L-Histidil-L-
Lisin (Cu-GHK) terhadap Penetrasi *In Vitro* serta
Stabilitas Fisik dan Kimia Vitamin C dalam
Sediaan Serum

DEWAN PENGUJI

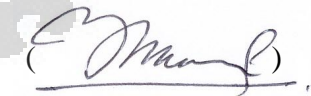
Pembimbing I : Dr. Joshita Djajadisastra, M.S., PhD

()

Penguji I : Dr. Silvia Surini, M. Pharm.Sc., Apt

()

Penguji II : Dr. Herman Suryadi, MS., Apt

()

Ditetapkan di: Depok

Tanggal: **10** Juli 2012

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi.

Skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Indonesia. Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dari berbagai pihak yang telah penulis terima, kiranya sulit bagi penulis untuk menyelesaikan penulisan ini tepat pada waktunya. Pada kesempatan ini, dengan segala kerendahan hati penulis menyampaikan terima kasih yang tulus kepada:

1. Dr. Joshita Djajadisastra, M.S., Ph.D sebagai pembimbing yang selalu sabar membimbing dan memberi saran selama penelitian berlangsung sampai tersusunnya skripsi ini.
2. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS. sebagai Kepala Departemen Farmasi FMIPA UI.
3. Dr. Herman Suryadi selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan perhatian dan bimbingan selama pendidikan di Fakultas Farmasi UI.
4. Dr. Mahdi Jufri sebagai Koordinator Skripsi dan seluruh Bapak dan Ibu Dosen Farmasi FMIPA UI atas bimbingannya selama ini.
5. Bapak/Ibu laboran dan karyawan Fakultas Farmasi UI atas semua bantuan yang diberikan, terutama saat penelitian berlangsung.
6. Keluarga tercinta, Mama, Babah, Amalia, Sarah, dan Haris atas semua dukungan, kasih sayang, perhatian, kesabaran, dorongan semangat, doa yang tidak henti-hentinya, dan dana yang diberikan untuk penulis.
7. Teman-teman baikku, Devin, Selly, Tika, Charla, Nju, dan Santi atas semua perhatian dan kenangan indah bersama kalian selama ini sebagai *Seven Icons*.

8. Teman-teman KBI Farmasetika, Delly, Uchi, Yurika, Novia, Sudep, Petsy, Dika, Wenny, Nalla, Lidya, Kak Uke, Kak Echi, Kak Nube, Kak Radit, dan lain-lain yang selalu saling mendukung.
9. Teman-teman KBI Kimia Farmasi, Adon, Yogo, Nui, Citra, Cyncyn, Nisa, Rio, dan Basyar atas kerja sama dan bantuannya selama ini.
10. Teman-teman Farmasi angkatan 2008, keluarga Farmasiku (Kak Citra, Ayu, Rozi, dan Uci), serta adik-adik kelasku atas segala bantuan, ukhuwah, persahabatan, dan kenangan indah bersama kalian.
11. PT Deksa Medika dan semua pihak yang telah memberikan bantuan kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.

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 khususnya pada dunia farmasi dan masyarakat pada umumnya.

Penulis
2012

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

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

Nama : Samira Taufik
NPM : 0806453680
Program Studi : Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

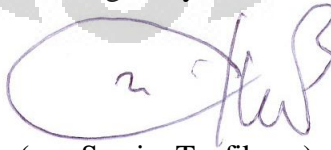
demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Pengaruh Peptida Tembaga-Glisil-L-Histidil-L-Lisin (Cu-GHK) terhadap Penetrasi In Vitro serta Stabilitas Fisik dan Kimia Vitamin C dalam Sediaan Serum

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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : ...10 Juli 2012.....
Yang menyatakan


(Samira Taufik)

ABSTRAK

Nama : Samira Taufik
Program Studi : Farmasi
Judul : Pengaruh Peptida Tembaga-Glisil-L-Histidil-L-Lisin (Cu-GHK) terhadap Penetrasi *In Vitro* serta Stabilitas Fisik dan Kimia Vitamin C dalam Sediaan Serum

Vitamin C diketahui mempunyai aktivitas sebagai antioksidan dan antikerut. Perkembangan di dunia formulasi kosmetika memperkenalkan sediaan serum, yaitu sediaan dengan komponen bioaktif berupa peptida yang lebih banyak. Tembaga-Glisil-L-Histidil-L-Lisin (Cu-GHK) adalah salah satu peptida yang mampu memberikan efek antikerut dan menghidrasi kulit. Karena kemampuan hidrasinya, kemungkinan peptida Cu-GHK juga mampu memberi efek peningkatan daya penetrasi komponen lain dalam satu sediaan. Maka dibuat penelitian untuk mengetahui pengaruh peptida Cu-GHK terhadap penetrasi vitamin C dalam sediaan serum dan pengaruh peptida tersebut terhadap stabilitas fisik dan kimia serum. Dibuat dua sediaan, yaitu serum vitamin C yang mengandung peptida Cu-GHK dan gel vitamin C tanpa peptida, kemudian dibandingkan daya penetrasinya secara *in vitro* dengan sel difusi Franz menggunakan membran abdomen tikus. Jumlah kumulatif vitamin C yang terpenetrasi melalui kulit tikus dari serum vitamin C adalah $17329 \pm 865,55 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ dan dari gel vitamin C adalah $17869 \pm 606,94 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Presentase jumlah kumulatif vitamin C yang terpenetrasi dari serum vitamin C adalah $49,98 \pm 2,06\%$ dan dari gel vitamin C adalah $54,6 \pm 1,44\%$. Fluks vitamin C dari serum adalah $1250,40 \pm 43,58 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{jam}$ dan dari gel adalah $1285,53 \pm 89,09 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{jam}$. Dari uji stabilitas fisik, suhu dingin didapatkan paling stabil, sedangkan uji stabilitas kimia menunjukkan terjadi penguraian Vitamin C pada semua kondisi penyimpanan.

Kata kunci : Cu-GHK, KLT Densitometer , penetrasi, sel difusi Franz, serum, stabilitas fisik, stabilitas kimia, vitamin C

xv+90 halaman ; 12 gambar; 2 tabel; 50 lampiran

Daftar pustaka : 47 (1973-2011)

ABSTRACT

Name : Samira Taufik
Program Study : Pharmacy
Title : Effect of Copper-Glycyl-L-Histidil-L-Lysin (Cu-GHK) Peptide on Vitamin C *In Vitro* Penetration and Physical and Chemical Stability in Serum Preparation

Vitamin C still has antioxidant and antiwrinkle activities. The cosmeceutical formulation introduced serum, dosage form which contain a plenty of bioactive peptide compound. Copper-Glycyl-L-Histidil-L-Lysin (Cu-GHK) is one of peptide well-known by its antiwrinkle and skin hydration activity. Because of its hydration effect, Cu-GHK might enhance penetration of the other compound in a preparation. Therefore, were made a research to understand the effect of Cu-GHK peptide on vitamin C penetration in serum preparation, and effect of those peptide on its physical and chemical stability. Two kinds of preparation were made, i.e. serum vitamin C with Cu-GHK and gel vitamin C without Cu-GHK. Penetration ability through skin was examined by *in vitro* Franz diffusion cell test using rat abdomen skin. Total cumulative penetration of vitamin C from serum and gel were $17329 \pm 865.55 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ and $17869 \pm 606.94 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, respectively. The percentage of penetrated vitamin C from serum and gel were $49.98 \pm 2.06\%$ and $54.6 \pm 1.44\%$, respectively. Flux of vitamin C from serum and gel were $1250.40 \pm 43.58 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{jam}$ and $1285.53 \pm 89.09 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \cdot \text{hour}$, respectively. From physical test, cold temperature condition shown the most stable form, while chemical stability test using TLC densitometer revealed vitamin C degradation at all temperature condition.

Keywords : Chemical stability, Cu-GHK, penetration, physical stability, Franz diffusion cell, serum, TLC densitometer, Vitamin C

xv + 90pages ; 12 figures; 2 tables; 50 appendixes

References : 47 (1973-2011)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR.....	vi
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Kosmetik	4
2.2 Kulit	4
2.3 Vitamin C.....	7
2.4 Peptida Cu-GHK.....	9
2.5 Serum Kosmetik	11
2.6 Uji Stabilitas	14
2.7 Uji Penetrasi dengan Sel Difusi Franz	16
2.8 Kromatografi Lapis Tipis	18
3. METODE PENELITIAN	20
3.1 Tempat dan Waktu	20
3.2 Alat.....	20
3.3 Bahan.....	20
3.4 Cara Kerja.....	21
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
4.1 Optimasi Kondisi Analisis secara KLT Densitometri.....	28
4.2 Pembuatan Sediaan.....	30
4.3 Evaluasi Fisik.....	31
4.4 Hasil Uji Stabilitas.....	33
4.5 Uji Penetrasi dengan Sel Difusi Franz.....	41
5. KESIMPULAN DAN SARAN	48
5.1 Kesimpulan	48
5.2 Saran	48
DAFTAR ACUAN	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Sruktur Dasar Kulit Manusia	5
Gambar 2.2.	Rumus Struktur Asam-L-Askorbat	7
Gambar 2.3.	Rumus Struktur Asam Dehidroaskorbat	8
Gambar 2.4.	Rumus Struktur Peptida Cu-GHK	10
Gambar 4.1.	Grafik Kurva Kalibrasi	30
Gambar 4.2.	Grafik Perbandingan pH terhadap Waktu	35
Gambar 4.3.	Grafik Perubahan viskositas	36
Gambar 4.4.	Grafik Perbandingan Kadar terhadap Waktu	39
Gambar 4.5.	Grafik Laju Penguraian Vitamin C.....	40
Gambar 4.6.	Profil jumlah terpenetrasi Kedua Sediaan.....	46
Gambar 4.7.	Diagram fluks kedua sediaan.....	47
Gambar 4.8.	Kurva fluks kedua sediaan.....	47



DAFTAR TABEL

Tabel 3.1.	Formulasi Serum dan Gel Vitamin C	15
Tabel 4.1.	Hasil perhitungan reaksi orde pertama.....	41



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Densitogram pemisahan asam askorbat dengan asam dehidroaskorbat	56
Lampiran 2.	Spektrum serapan bercak asam askorbat	56
Lampiran 3.	Spektrum serapan bercak asam dehidroaskorbat	57
Lampiran 4.	Foto organoleptis kedua formula pada minggu ke-0.....	58
Lampiran 5.	Foto hasil pengamatan organoleptis suhu rendah selama 8 minggu	59
Lampiran 6.	Foto hasil pengamatan organoleptis suhu kamar selama 8 minggu	60
Lampiran 7.	Foto hasil pengamatan organoleptis suhu tinggi selama 8 minggu	61
Lampiran 8.	Foto hasil pengamatan <i>cycling test</i>	62
Lampiran 9.	Contoh densitogram hasil uji stabilitas kimia suhu rendah minggu ke-2	63
Lampiran 10.	Contoh densitogram hasil uji stabilitas kimia suhu kamar minggu ke-2	64
Lampiran 11.	Contoh densitogram hasil uji stabilitas kimia suhu tinggi minggu ke-2.....	65
Lampiran 12.	Densitogram uji perolehan kembali serum vitamin C.....	66
Lampiran 13.	Densitogram uji perolehan kembali gel vitamin C.....	66
Lampiran 14.	Contoh densitogram uji penetrasi serum vitamin C menit ke-60.....	67
Lampiran 15.	Contoh densitogram uji penetrasi gel vitamin C menit ke-60.....	67
Lampiran 16.	Jumlah kumulatif vitamin C yang terpenetrasi per satuan luas membran percobaan 1 dari sediaan (a) serum dan (b) gel.....	68
Lampiran 17.	Jumlah kumulatif vitamin C yang terpenetrasi per satuan luas membran percobaan 2 dari sediaan (a) serum dan (b) gel	68
Lampiran 18.	Jumlah kumulatif vitamin C yang terpenetrasi per satuan luas membran percobaan 3 dari sediaan (a) serum dan (b) gel	68
Lampiran 19.	Gambar skema alat sel difusi Franz	69
Lampiran 20.	Data kurva kalibrasi vitamin C.....	70
Lampiran 21.	Daftar faktor retardasi asam askorbat dan asam dehidroaskorbat	70
Lampiran 22.	Hasil pengamatan organoleptis kedua formula pada minggu ke-0.....	71
Lampiran 23.	Skema sel difusi Franz (Telah diolah kembali)	71
Lampiran 24.	Hasil pengamatan organoleptis kedua formula pada penyimpanan suhu ruang ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu	72
Lampiran 25.	Hasil pengamatan organoleptis kedua formula pada penyimpanan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu	72

Lampiran 26.	Hasil perhitungan viskositas minggu ke-0.....	73
Lampiran 27.	Hasil perhitungan viskositas minggu ke-8.....	74
Lampiran 28.	Hasil pengukuran pH kondisi suhu rendah selama 8 minggu.....	75
Lampiran 29.	Hasil pengukuran pH kedua formula pada penyimpanan suhu ruang ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu	75
Lampiran 30.	Hasil pengukuran pH kedua formula pada penyimpanan suhu tinggi ($40 \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu	75
Lampiran 31.	Hasil pengamatan kedua formula setelah dilakukan <i>cycling test</i> 1.....	76
Lampiran 32.	Hasil uji stabilitas kimia kondisi suhu rendah selama 8 minggu	76
Lampiran 33.	Hasil uji stabilitas kimia kondisi suhu kamar selama 8 minggu	76
Lampiran 34.	Hasil pengamatan organoleptis kelima formula pada penyimpanan suhu tinggi ($40 \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu.....	76
Lampiran 35.	Data uji perolehan kembali	77
Lampiran 36.	Hasil uji penetrasi vitamin C dalam larutan penerima dapar fosfat-metanol dari kedua sediaan.....	77
Lampiran 37.	Hasil perhitungan fluks vitamin C tiap waktu pengambilan dari kedua sediaan berdasarkan uji penetrasi selama 8 jam.....	78
Lampiran 38.	Hasil jumlah kumulatif vitamin C yang terpenetrasi, persentase jumlah kumulatif vitamin C yang terpenetrasi dan fluks vitamin C dari kedua sediaan berdasarkan uji penetrasi selama 8 jam	78
Lampiran 39.	Contoh perhitungan bobot jenis	79
Lampiran 40.	Contoh perhitungan penetapan kadar perolehan kembali Vitamin C dari sediaan serum.....	80
Lampiran 41.	Contoh perhitungan kadar vitamin C untuk mengetahui stabilitas kimia.....	81
Lampiran 42.	Contoh perhitungan laju reaksi (k), waktu paruh ($t_{1/2}$), dan waktu daluwarsa (t_{90}) pada sediaan serum yang disimpan pada suhu rendah.....	82
Lampiran 43.	Contoh perhitungan jumlah vitamin C yang terpenetrasi dari sediaan serum pada menit ke-30 untuk percobaan pertama.....	83
Lampiran 44.	Contoh perhitungan fluks vitamin C dari sediaan serum	84
Lampiran 45.	Sertifikat analisis vitamin C	85
Lampiran 46.	Sertifikat analisis gliserin	86
Lampiran 47.	Sertifikat analisis Natrium metabisulfit	87
Lampiran 48.	Sertifikat analisis metil paraben	88
Lampiran 49.	Sertifikat analisis propil paraben	89
Lampiran 50.	Sertifikat analisis kalium dihidrogen fosfat	90

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kulit merupakan organ tubuh terluar, dimana dapat diamati tanda-tanda penuaan pada manusia dengan mudah. Salah satu tanda yang muncul adalah kerutan, terjadi karena penurunan kadar air lapisan tanduk kulit serta perubahan pada jumlah dan kualitas kolagen dan serabut elastin dermis sehingga terjadi penurunan elastisitas kulit (Mitsui, 1993).

Perkembangan dunia kosmetik saat ini telah menawarkan berbagai solusi untuk mencegah penuaan dan kerut. Target utama dari bahan anti penuaan adalah kerusakan oksidatif dan metabolisme kolagen. Telah diketahui bahwa vitamin C adalah salah satu antioksidan yang paling poten (Colven & Pinnell, 1996), dapat memodulasi efek kerusakan karena UV yang diinduksi oleh ROS (*Radical Oxygen Species*). Paparan sinar UV menyebabkan terbentuknya radikal bebas atau ROS yang merupakan molekul tidak stabil (Draelos, 2010). ROS akan berikatan dengan komponen sel untuk menjadi stabil, sehingga akan merusak komponen sel seperti lemak, protein, dan asam nukleat (Moore, 1982). Kerusakan komponen sel menyebabkan penuaan dini pada kulit yang ditandai dengan kulit kering, keriput dan kusam. Untuk mencegah terjadinya hal tersebut diperlukan suatu sediaan kosmetik yang mampu menetralisasi ROS, yaitu dengan antioksidan (Moore, 1982).

Telah diketahui pula bahwa plasma dan cairan tubuh lainnya mengandung berbagai macam faktor pertumbuhan yang dapat meningkatkan perbaikan dan peremajaan aktivitas beberapa sel dan jaringan (Zelles, 1995). Salah satu agen anti penuaan yang terdapat pada plasma dan saliva manusia adalah tri-peptida dengan sekuens asam amino glisil-L-histidil-L-lisin dan afinitas tinggi terhadap tembaga (*copper*). Peptida ini mampu meregulasi perbaikan dan pembaharuan kulit, sehingga dapat meremajakan kulit dengan meningkatkan molekul pembawa air di

dermis, menstimulasi sintesis kolagen, dan mengurangi kerusakan oksidatif (Pickart, 2008). Keberadaan peptida dalam suatu sediaan dapat menjadi peningkat efektivitas sediaan anti-penuaan. Peptida akan memberikan lingkungan kulit yang sehat karena kemampuannya untuk mengikat air pada lapisan tanduk kulit (Secchi, 2008), sehingga mungkin dapat meningkatkan penetrasi bahan aktif lain.

Penelitian yang dilakukan adalah merupakan aplikasi komponen vitamin C dalam sediaan likuid koloid gel dengan sedikit pelarut dan banyak komponen bioaktif, yang dalam istilah kosmetik disebut sebagai serum (Draelos, 2010). Konsep pembuatan serum adalah teknologi gel dengan viskositas yang lebih rendah dan kurang jernih (semi-transparan), dan mengandung komponen bioaktif yang lebih banyak dari sediaan kosmetik pada umumnya sehingga tercipta suatu bentuk konsentrat. Komponen bioaktif yang digunakan adalah berbagai macam bentuk vitamin dan peptida. Serum merupakan bentuk yang mudah untuk diaplikasikan ke kulit dalam jumlah yang lebih sedikit, mampu memberikan perasaan nyaman pada konsumen, serta memiliki estetika. Keunggulan utama dari sediaan serum adalah dapat menghasilkan efek yang diinginkan lebih cepat karena mengandung zat aktif dengan konsentrasi tinggi dan cepat diabsorpsi kulit (Mitsui, 1993).

Peptida Cu-GHK di dalam serum gel akan meningkatkan efektivitas agen antikerut vitamin C, karena aktivitasnya dalam perbaikan dan pembaruan kulit. Selain itu, keberadaan peptida Cu-GHK dapat mengikat air di lapisan tanduk kulit, sehingga mampu memberikan lingkungan yang sehat dan lembab (Secchi, 2008). Dari teori tersebut, kemungkinan dapat terjadi peningkatan penetrasi vitamin C dalam sediaan yang mengandung peptida. Telah diketahui bahwa salah satu tantangan dalam pembuatan sediaan vitamin C adalah penetrasinya yang buruk terhadap kulit, biasanya hanya 1% dari dosis topikal yang dapat menembus kulit, sehingga perlu digunakan suatu agen peningkat penetrasi (*enhancer*) (Bisset, 2009). Karena hal ini, muncul gagasan untuk membandingkan daya penetrasi vitamin C dalam sediaan gel peptida (serum) Cu-GHK dengan daya penetrasi vitamin C dalam sediaan gel tanpa peptida. Metode uji penetrasi yang digunakan adalah dengan sel difusi Franz.

Vitamin C merupakan suatu zat yang tidak stabil. Pembuatan vitamin C dalam bentuk serum yang mengandung ion Cu(II) dari Cu-GHK tentunya akan mendapat banyak kesulitan dalam stabilitasnya, baik fisik maupun kimia. Vitamin C dapat teroksidasi menjadi bentuk asam dehidroaskorbat (Gerasimos, Pantelis, & Panayiotis, 2004) yang tak dapat berperan sebagai agen anti kerut. Untuk itu, diperlukan suatu uji stabilitas untuk mengetahui sampai sejauh mana sediaan serum vitamin C ini masih bertahan. Uji stabilitas yang diperlukan adalah uji stabilitas fisik dengan parameter organoleptis, pH, dan viskositas, serta uji stabilitas kimia untuk mengetahui berapa kadar vitamin C yang masih bertahan dalam sediaan secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri. Uji stabilitas dilihat pada kondisi penyimpanan suhu kamar, suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$).

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya penetrasi vitamin C dalam sediaan gel dengan peptida Cu-GHK (serum) dibandingkan dengan sediaan vitamin C dalam sediaan gel tanpa peptida Cu-GHK, dan untuk menguji kestabilan sediaan tersebut baik secara fisik maupun secara kimia akibat penambahan peptida Cu-GHK.

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.

Penggolongan kosmetik berdasarkan kegunaannya, yaitu kosmetik perawatan kulit (pembersih, pelembab, pelindung, dan pengampelas kulit) dan kosmetik riasan/dekoratif. Serum merupakan salah satu kosmetik perawatan kulit (Mitsui, 1993). Tujuan penggunaan kosmetik perawatan kulit adalah untuk membersihkan kulit, menjaga keseimbangan kelembaban kulit, menunda penuaan, dan melindungi kulit dari radiasi sinar UV (Mitsui, 1993).

2.2 Kulit

2.2.1 Definisi dan Bagian-bagian Kulit

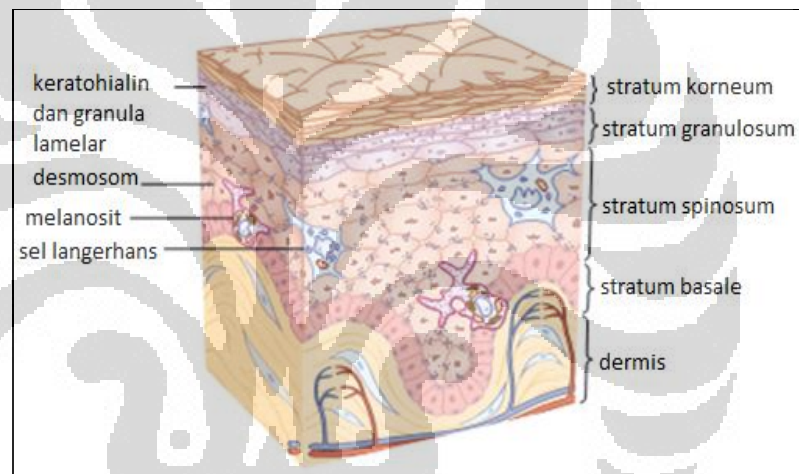
Kulit merupakan organ terluas dari tubuh, yaitu sekitar 1,6 m². Ketebalan kulit tergantung pada umur, jenis kelamin, dan lokasi kulit tersebut berada pada tubuh (Mitsui, 1993).

Kulit manusia terdiri atas tiga lapisan. Lapisan terluar disebut epidermis dan lapisan kedua adalah dermis. Dermis dibentuk dari jaringan yang berada dibawah epidermis. Daerah dermis yang berada di dekat epidermis disebut papilari dermis, dan dermis yang terletak lebih dalam disebut retikuler dermis. Tidak seperti epidermis, kebanyakan sel-sel dermis tidak berkontak seluler antara satu sama lain dan terdapat banyak rongga ekstraseluler. Bagian kulit yang memiliki struktur jaringan makromolekuler ini disebut matriks ekstraseluler (Mitsui, 1993).

Bahan dasar dari matriks ekstraseluler adalah glukosaminoglikan dan serabut protein. Glukosaminoglikan ini terdiri dari sejumlah besar air membentuk gel. Serabut protein berada pada gel ini. Serabut protein terdiri dari kolagen dan elastin, yang berguna sebagai bahan pembangun kulit (Mitsui, 1993).

Kolagen adalah protein utama matriks ekstrasel dan menjaga bentuk jaringan. Serabut-serabut elastin saling sambung satu sama lain, membentuk tautan untuk menjaga elastisitas jaringan. Karena fungsi pembangun ini, dermis memegang peranan penting dalam elastisitas kulit (Mitsui, 1993).

Lapisan ketiga disebut lapisan subkutan atau hipodermis, yang merupakan kelanjutan dermis dan berada dibawah dermis (Mitsui, 1993).



[Sumber : Draelos, 2010]

Gambar 2.1 Struktur dasar kulit manusia (telah diolah kembali)

2.2.2 Penetrasi Kulit

Kulit merupakan sawar karena mengandung lapisan lipid, tanduk, dan malpighi. Penetrasi molekul dari luar tubuh ke dalam kulit dapat terjadi melalui dua mekanisme, yaitu absorpsi transappendeal dan absorpsi transepidermal (Lund, 1994 dan Walters, 1993).

2.2.2.1 Absorpsi transappendeal

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

2.2.2.2 Absorpsi transepidermal

Absorpsi transepidermal dapat terjadi melalui dua jalur, yaitu jalur transeluler yang berarti melalui protein di dalam sel dan melewati daerah yang kaya akan lipid, dan jalur paraseluler yang berarti jalur melalui ruang antar sel. Penetrasi ini berlangsung melalui dua tahap. Yang pertama adalah pelepasan obat dari pembawa ke stratum korneum, tergantung pada koefisien partisi obat dalam pembawa dan stratum korneum. Yang kedua difusi melalui epidermis dan dermis dibantu oleh aliran pembuluh darah dalam lapisan dermis.

Penetrasi melalui jalur transepidermal lebih baik daripada transappendageal karena luas permukaan pada jalur transappendageal lebih kecil. Faktor-faktor yang mempengaruhi penetrasi adalah sifat fisikokimia obat, sifat pembawa yang digunakan, dan kondisi kulit. Karena telah diketahui faktor-faktor tersebut, maka dapat diusahakan penggunaan suatu agen untuk meningkatkan penetrasi ke kulit.

Peningkat penetrasi adalah suatu bahan yang berinteraksi dengan konstituen stratum korneum untuk meningkatkan penetrasi suatu zat ke kulit. Mekanisme aksi peningkat penetrasi dapat melalui berbagai cara (Williams & Barry, 2007), seperti:

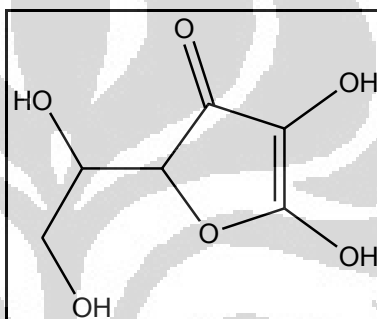
- a) Memodifikasi lipid intersel untuk menurunkan resistensi barier lipid bilayer.
- b) Mengubah sifat pelarut stratum korneum sehingga dapat memodifikasi partisi obat atau kosolven ke jaringan
- c) Bekerja terhadap keratin intrasel stratum korneum, mendenaturasinya, atau memodifikasinya yang menyebabkan peningkatan hidrasi stratum korneum. Peningkatan hidrasi dapat meningkatkan kelembaban, dimana kelembaban ini dapat mengembangkan stratum korneum sehingga dapat terbentuk anyaman serabut keratin yang stabil pada daerah polar yang kaya air dan daerah non polar yang kaya lipid. Sifat ini menyebabkan stratum korneum mempunyai afinitas yang sama terhadap senyawa larut air maupun larut lemak.

2.3 Vitamin C

2.3.1 Monografi Vitamin C

Vitamin C atau asam askorbat adalah serbuk atau hablur berwarna putih atau agak kuning, tidak berbau, dan berasa asam. Oleh pengaruh cahaya, vitamin C menjadi gelap, dan dalam keadaan kering mantap di udara. Vitamin C dalam larutan cepat teroksidasi (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

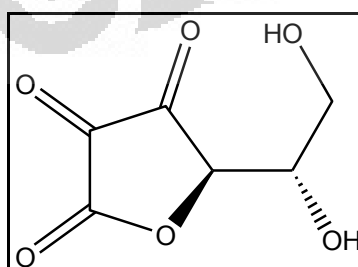
Vitamin C mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol (95%) P, praktis tidak larut dalam kloroform P, dalam eter P, dan dalam benzen P. (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).



[Sumber: Vernin, *et al.*, 1998]

Gambar 2.2 Rumus struktur asam-L-askorbat

Asam askorbat dalam air merupakan asam lemah dan agen pereduksi. Asam askorbat bekerja sebagai pendonor satu elektron terhadap aseptor elektron, dan setelah donasi akan menghasilkan produk oksidasi, yaitu asam dehidroaskorbat (Gerasimos, Pantelis, & Panayiotis, 2004). Karena telah menjadi bentuk oksidasinya, maka vitamin C tidak dapat berperan sebagai antioksidan.



[Sumber: Vernin, *et al.*, 1998]

Gambar 2.3 Rumus struktur asam dehidroskorbat

2.3.2 Kegunaan Vitamin C

Fungsi asam askorbat yang paling utama bagi kulit adalah pada sintesis kolagen dan elastin yaitu sebagai kofaktor baik prolil dan lisil hidroksilase yang mengkatalisis pembentukan hidrosiprolin dan hidrosilisin (Ronchetti, *et al.*, 1996). Prolin dan lisin ditemukan pada molekul kolagen dan hidroksilasinya memfasilitasi ekskresi prokolagen dari fibroblas (Dehm & Prockop, 1971), dan membentuk sifat yang membuat kolagen lebih stabil dan kurang sensitif terhadap panas (Berg & Prockop, 1973).

Asam askorbat juga berperan sebagai antioksidan di kulit, memodulasi efek UV yang diinduksi ROS (Wenstrup, *et al.*, 1989). Asam askorbat adalah antioksidan paling efisien pada kompartemen larut air (Colven & Pinnell, 1996). Pada hewan, ditemukan bahwa aplikasi 5% asam askorbat dua jam sebelum pemaparan UVA dan UVB akan mengurangi kerutan kulit akibat UVB (Bissett, *et al.*, 1990).

Dosis terendah vitamin C yang dibutuhkan oleh kulit adalah 0,08 mg/inci kulit. Rentang kadar topikal yang dapat digunakan sebagai sediaan kosmetik adalah dari 3% sampai 17%, dimana beberapa uji telah membuktikan terjadinya peningkatan tekstur kulit dan peningkatan kolagen dan elastin kulit. (Bissett, 2009).

2.4 Peptida Cu-GHK

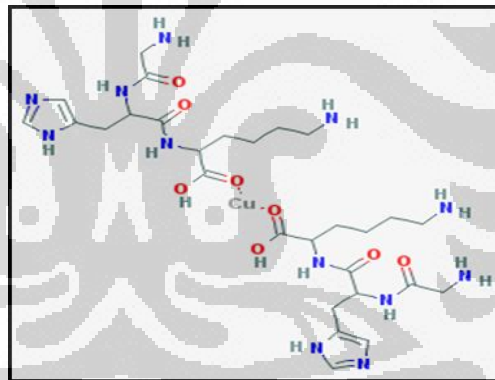
2.4.1 Peptida

Protein adalah senyawa dengan berat molekul besar yang terdiri dari gabungan lebih dari 50 asam amino dengan ikatan peptida. Peptida adalah senyawa dengan berat molekul rendah yang menghasilkan dua atau lebih asam amino pada waktu hidrolisis (Leswara, 2005). Yang perlu diperhatikan dalam membuat suatu formulasi peptida adalah pencegahan terjadinya degradasi selama proses produksi dan penyimpanan (Ericksson, 2003). Salah satu karakter obat peptida adalah ketidakstabilannya dalam media air. Selain itu, dapat terjadi degradasi apabila dipaparkan terhadap suhu ekstrem. Karena hal tersebut, diperlukan senyawa pelindung untuk menstabilkan peptida tersebut (Hinrichs, Prinsen, dan Frijlink, 2001). Senyawa-senyawa yang sering digunakan sebagai

penstabil peptida adalah senyawa-senyawa poliol seperti gula (inulin, levan, dekstran) dan alkohol polivalen lainnya (gliserol dan propilen glikol) (Katdare et al., 2006).

2.4.2 Definisi Cu-GHK

Glisin-L-Histidin-L-Lisin (GHK) adalah tripeptida yang diisolasi dari plasma manusia (Pickart & Thaler, 1973), yang memiliki afinitas yang kuat terhadap ion Cu (II) sehingga dapat membentuk kompleks Cu-GHK secara spontan (Conato et al., 2001). Keberadaan ion Cu(II) dalam kompleks ini berperan dalam kemampuan penetrasi peptida ke kulit. Peptida merupakan senyawa dengan bobot molekul yang cukup besar, sehingga sulit menembus lapisan tanduk. Aktivitas biologis logam dikulit berperan terhadap penetrasi oleh kulit (Mazurowska dan Mojski, 2006). Kemampuan penetrasi ion Cu(II) adalah pada pH sekitar 4 (Mazurowska dan Mojski, 2006).



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

Gambar 2.4 Rumus struktur peptida Cu-GHK

2.4.3 Kegunaan Cu-GHK

Cu-GHK memiliki aktivitas mampu merangsang sintesis kolagen, elastin, dan glukosaminoglikan (Simeon, et al., 2000) sehingga dapat meningkatkan kekuatan dan elastisitas kulit. Telah dibuktikan bahwa peptida ini meningkatkan kondisi kulit dengan mempercepat perbaikan kulit, meningkatkan sirkulasi, dan meningkatkan produksi protein kulit (Pickart, 2008). Karena peranan ini, Cu-GHK dapat digunakan sebagai agen poten antikerut.

Universitas Indonesia

Kemaknaan biologis Cu-GHK merupakan hasil dari hubungannya dengan tembaga (*copper*). Ion Cu(II) digunakan oleh enzim-enzim yang terlibat dalam berbagai proses biologis di sel, sehingga memberikan Cu(II) ke jaringan dapat memperbaiki berbagai aspek dari metabolisme jaringan termasuk pertahanan antioksidan, perbaikan jaringan, dan oksigenasi (Pickart, 2008).

Berdasarkan hasil penelitian, telah terbukti bahwa penggunaan secara topikal 2 % Cu-GHK selama 12 minggu dapat mengurangi tanda-tanda penuaan. Sediaan dengan peptida ini mengurangi garis-garis halus dan dalam dari kerut wajah, dan meningkatkan densitas dan ketebalan kulit (Leyden, *et al.*, 2002). Penggunaan peptida ini juga aman, karena setelah 20 kali penggunaan terbukti non-alergenik (Finkley, Appa, dan Bhandarkar, 2005).

Cara kerja peptida ini adalah dengan meregulasi pembaruan dan perbaikan kulit, meningkatkan peremajaan dengan meningkatkan kemampuan mengikat air matriks dermal, menstimulasi sintesis kolagen, dan mengurangi kerusakan oksidatif (Pickart & Margolina, 2008).

2.5 Serum Kosmetik

Pengertian serum kosmetik berbeda dengan serum pada bioteknologi. Serum kosmetik adalah suatu sediaan likuid yang mengandung bahan bioaktif lebih banyak dan sedikit pelarut (Draelos, 2010), sehingga memiliki kecenderungan konsentrat. Bahan bioaktif yang mewakili adalah berbagai macam peptida. Serum sebenarnya hanyalah merupakan istilah komersial di dunia kosmetik, dimana likuid koloid mengandung lebih banyak komponen bioaktif. Teknologi pembuatan serum dalam penelitian ini merupakan teknologi pembuatan gel. Nama serum mulai berkembang karena beberapa alasan, seperti perubahan gaya hidup dimana konsumen ingin menyederhanakan penggunaan kosmetik untuk menghemat waktu, bentuk konsentrat yang dianggap memiliki efek yang lebih baik, penggunaan wadah yang elegan, perkembangan teknologi pelembab dan zat aktif berdasarkan fisiologi kulit, perkembangan teknik produksi, dan bukti-bukti kegunaannya (Mitsui, 1993).

Serum memperbaiki kekurangan-kekurangan pada produk perawatan kulit tradisional pada efek, perasaan saat digunakan, dan sistem kecantikan. Dengan

kata lain, serum memiliki setidaknya satu efek menjanjikan di antara humektan, tabir surya, pemutih, antioksidan, dan peremajaan, atau memiliki lebih dari satu efek (Mitsui, 1993)

Pemilihan dan kombinasi polimer larut air dan humektan harus dilakukan secara hati-hati karena serum akan digunakan dalam jumlah yang sedikit dan harus memenuhi kebutuhan akan perasaan lembut dan lembab setelah digunakan (Mitsui, 1993).

2.6.1 Gel

Teknologi pembuatan serum adalah gel. Gel adalah sediaan semi padat atau padat yang transparan, serta mengandung cairan atau dispersi dari satu atau lebih zat aktif dalam basis hidrofilik atau hidrofobik yang cocok (Pharmaceutical Codex: Principle and Practice of Pharmaceutics, 1994). Gel umumnya mengandung air, tetapi etanol dan minyak dapat digunakan sebagai fase pembawa (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

Gel adalah tipe pembawa yang menghasilkan tampilan eksternal seragam, transparan sampai semitransparan, dan memberikan perasaan lembab dan ringan karena kandungan air yang cukup tinggi (Mitsui, 1993). Untuk membuat gel, dibutuhkan suatu pembawa yang disebut *gelling agent* (Mitsui, 1993).

2.6.2 Formula Sediaan Serum Vitamin C

2.6.2.1 Vitamin C (Bisset, 2009)

Dalam sediaan, vitamin C digunakan sebagai zat aktif untuk anti-kerut. Bentuk vitamin C yang digunakan adalah asam askorbat dengan rentang konsentrasi 3-17%. Di pasaran, kadar dalam sediaan adalah 5-10%. Bentuk asam askorbat meskipun merupakan bentuk yang tidak stabil dalam larutan, namun dapat dipertahankan dengan beberapa cara, seperti menggunakan antioksidan lain dan menjaga pH sediaan tetap pada rentang 3,5. Karena pH 3,5 berasal dari zat aktif vitamin C, maka sediaan tidak terlalu iritatif.

2.6.2.2 Peptida Cu-GHK

Dalam sediaan, peptida Cu-GHK digunakan sebagai peningkat efektivitas vitamin C sebagai agen anti kerut, dan kemungkinan dapat menjadi *enhancer*. Konsentrasi yang digunakan adalah 2% (Bisset, 2009).

2.6.2.3 Hidroksi Propil Metil Selulosa (HPMC) (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009)

HPMC adalah serbuk berwarna putih, tidak berbau, dan tidak berasa. Dalam sediaan semi padat, HPMC digunakan sebagai pembentuk reologi. Sebagai *gelling agent*, konsentrasi yang digunakan adalah 0,25-5 %. Untuk membuat gel dari HPMC, mula-mula HPMC didispersikan di 20-30% air yang telah dipanaskan 50-90°C (viskositas larutan akan menurun dengan meningkatnya temperatur) dan diaduk konstan. Panas dapat dipindahkan setelah HPMC seluruhnya terdispersi. Larutan HPMC stabil pada pH 3-11. Karena merupakan senyawa non-ionik, maka HPMC tidak membentuk kompleks dengan garam metalik atau ion organik untuk membentuk presipitat yang tidak larut.

2.6.2.4 Gliserin (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009)

Gliserin adalah cairan higroskopis, kental, tidak berbau, tidak berwarna, dan jernih. Gliserin berfungsi sebagai humektan dan emolien dalam sediaan. Konsentrasi yang digunakan untuk mencapai fungsi tersebut adalah kurang dari 30 %.

2.6.2.5 Etanol 95% (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009)

Etanol atau alkohol adalah cairan mudah menguap, tidak berwarna, dan jernih. Penggunaannya dalam formulasi adalah sebagai kosolven dan peningkat penetrasi ke kulit. Konsentrasi yang biasa digunakan sebagai pelarut dalam sediaan topikal adalah 60-90%.

2.6.2.6 Natrium Metabisulfit (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009)

Natrium metabisulfit adalah kristal prisma yang tidak berwarna, dan larut dalam air dan gliserin. Dalam sediaan, natrium metabisulfit digunakan sebagai antioksidan dengan konsentrasi 0,01-1%.

2.6.2.7 Metil Paraben (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009)

Metil paraben atau nipagin adalah serbuk kristal putih dan tidak berbau. Kelarutan nipagin adalah mudah larut dalam etanol dan propilen glikol, dan sukar larut dalam air. Nipagin digunakan sebagai pengawet sendiri atau bersama dengan nipasol dengan konsentrasi penggunaan 0,02-0,3 %.

2.6.2.8 Propil Paraben (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009)

Propil paraben atau nipasol adalah serbuk tidak berasa, tidak berbau, dan berwarna putih. Nipasol adalah pengawet yang paling sering digunakan dalam dunia kosmetik. Keunggulannya adalah keefektifitasannya dalam rentang pH yang luas. Nipasol digunakan sebagai antimikroba dalam sediaan kosmetik, dengan konsentrasi 0,01-0,6 %. Kelarutan nipasol adalah mudah larut dalam etanol dan sukar larut dalam air.

2.6.3 Stabilitas Gel

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

Untuk memperoleh nilai kestabilan suatu sediaan farmasetika atau kosmetik dalam waktu yang singkat, maka dapat dilakukan uji stabilitas dipercepat. Pengujian ini dimaksudkan untuk mendapatkan informasi yang diinginkan pada waktu sesingkat mungkin dengan cara menyimpan sampel pada kondisi yang dirancang untuk mempercepat terjadinya perubahan yang biasanya

terjadi pada kondisi normal. Jika hasil pengujian suatu sediaan pada uji dipercepat selama 3 bulan diperoleh hasil yang stabil, hal itu menunjukkan bahwa sediaan tersebut stabil pada penyimpanan suhu kamar selama setahun. Pengujian yang dilakukan pada uji dipercepat antara lain (Djajadisastra, 2004):

a. *Elevated temperature*

Setiap kenaikan suhu 10°C akan mempercepat reaksi 2 sampai 3 kalinya, tetapi secara praktis cara ini agak terbatas karena kenyataannya suhu yang jauh di atas normal akan menyebabkan perubahan yang tidak pernah terjadi pada suhu normal.

b. *Elevated humidities*

Umumnya uji ini dilakukan untuk menguji kemasan produk. Jika terjadi perubahan pada produk dalam kemasan karena pengaruh kelembaban, maka hal ini menandakan bahwa kemasannya tidak memberikan perlindungan yang cukup terhadap atmosfer.

c. *Cycling test*

Tujuan dari uji ini adalah sebagai simulasi adanya perubahan suhu setiap tahun bahkan setiap harinya. Oleh karena itu, uji ini dilakukan pada suhu dan kelembaban pada interval waktu tertentu sehingga produk dalam kemasan akan mengalami stres yang bervariasi daripada stres statis.

2.6.3.1 Stabilitas Fisik

Ketidakstabilan yang dapat terjadi pada gel adalah sineresis. Sineresis merupakan suatu fenomena dimana gel mengerut secara alamiah dan sebagian dari cairannya terperas keluar, yang terjadi karena struktur matriks serat gel mengeras (Martin, Swabrick, dan Cammarata, 1983).

Parameter-parameter yang digunakan dalam uji kestabilan fisik adalah:

a. Organoleptis atau penampilan fisik

Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengamati adanya perubahan atau pemisahan serum, timbulnya bau atau tidak, dan perubahan warna.

b. Pemeriksaan pH

Serum sebaiknya memiliki pH yang sesuai dengan pH kulit, yaitu 4,5-6,5.

c. Homogenitas

Sampel diletakkan diantara dua kaca obyek, lalu diamati dibawah cahaya adanya ketidakhomogenan dari gel.

d. Pengukuran Viskositas (Martin, Swarbick, dan Cammarata, 1983).

Dilakukan dengan menggunakan viskometer Hoopler. Dalam tipe viskometer ini, suatu bola gelas atau bola besi jatuh ke bawah dalam suatu tabung gelas yang hampir vertikal, mengandung cairan yang akan diuji pada temepatur konstan. Laju jatuhnya bola yang mempunyai kerapatan dan diameter tertentu adalah kebalikan fungsi viskositas sampel tersebut waktu bagi bola untuk jatuh antara dua tanda diukur dengan teliti dan diulang beberapa kali. Kemudian viskositas suatu cairan dihitung dari:

$$\eta = t (S_b - S_f)B \quad (2.1)$$

Keterangan:

η = viskositas sediaan (mPa.s (cps))

t = waktu interval (detik)

S_b = gravitasi jenis bola (g/cm³)

S_f = gravitasi jenis cairan (g/cm³)

B = konstanta bola (mPa.s. cm³/g.s)

2.6.3.2 Stabilitas Kimia

Stabilitas kimia suatu obat adalah lamanya waktu suatu obat untuk mempertahankan integritas kimia dan potensinya (Ansel & Prince, 2004). Stabilitas fisik dan kimia bahan obat tersendiri maupun bersama-sama dengan bahan-bahan formulasi merupakan kriteria yang paling penting untuk berhasilnya suatu produk obat (Ansel, 1989).

Reaksi kimia adalah proses perubahan kimia antara zat-zat pereaksi yang berubah menjadi zat-zat hasil reaksi. Orde suatu reaksi ialah jumlah semua eksponen (dari konsentrasi) dalam persamaan laju. Orde reaksi keseluruhan adalah jumlah pangkat konsentrasi-konsentrasi yang menghasilkan sebuah garis lurus (Martin, Swarbick, & Cammarata, 1983).

a. Reaksi orde-nol (Attwood dan Alexander, 2008)

Berkurangnya suatu senyawa berjalan konstan dan tidak tergantung pada konsentrasi dari satu reaktan. Laju reaksi:

$$x = k_0 \cdot t \quad (2.2)$$

b. Reaksi orde-satu (Attwood dan Alexander, 2008)

Kecepatan reaksi tergantung pada konsentrasi satu reaktan. Laju reaksi:

$$k = \frac{2,303}{t} \log \frac{a}{a-x} \quad (2.3)$$

Waktu paruh untuk reaksi orde satu adalah:

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{0,693}{k} \quad (2.4)$$

Orde reaksi dapat ditentukan dengan beberapa metode (Martin, Swarbick, & Cammarata, 1983):

a. Metode substitusi.

Data yang terkumpul dari hasil pengamatan jalannya suatu reaksi disubstitusikan ke dalam bentuk integral dari persamaan berbagai orde reaksi. Jika persamaan itu menghasilkan harga k yang tetap konstan dalam batas-batas variasi percobaan, maka reaksi dianggap berjalan sesuai dengan orde tersebut.

b. Metode grafik

Jika konsentrasi diplot terhadap t dan didapatkan garis lurus, reaksi orde nol. Reaksi dikatakan orde-pertama bila $\log(a - x)$ terhadap t menghasilkan garis lurus.

c. Metode waktu paruh

Dalam reaksi orde-nol, waktu paruh sebanding dengan konsentrasi awal, a . Waktu-paruh reaksi orde pertama tidak bergantung pada a .

2.7 Uji Penetrasi Sel Difusi Franz (Witt & Bucks; Thakker & Chern, 2003)

Studi penetrasi kulit secara *in vitro* berhubungan dengan mengukur kecepatan dan jumlah komponen yang menembus kulit dan jumlah komponen yang tertahan pada kulit. Salah satu cara untuk mengukur jumlah obat yang terpenetrasi melalui kulit yaitu dengan sel difusi Franz.

Sel difusi Franz terdiri atas dua komponen, yaitu kompartemen donor dan kompartemen reseptor. Membran yang digunakan dapat berupa kulit manusia, kulit hewan, atau kulit artifisial. Membran diletakkan diantara dua kompartemen, dilengkapi dengan *o-ring* untuk menjaga letak membran. Kompartemen reseptor diisi dengan larutan penerima. Suhu pada sel dijaga dengan sirkulasi air menggunakan *water jacket* disekeliling kompartemen reseptor. Sediaan yang akan diuji diaplikasikan pada membran kulit. Pada interval tertentu di ambil beberapa mL cairan dari kompartemen reseptor dan jumlah obat yang terpenetrasi melalui kulit dapat dianalisis dengan metode analisa yang sesuai. Setiap diambil sampel cairan dari kompartemen reseptor harus selalu digantikan dengan cairan yang sama sejumlah volume yang diambil.

Jumlah kumulatif sampel yang terpenetrasi per luas area difusi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) dihitung dengan rumus:

$$Q = \left\{ \frac{C_n \cdot V + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \cdot S}{A} \right\} \quad (2.5)$$

Keterangan:

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

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

V = Volume sel difusi Franz (13,0 ml)

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

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

A = Luas area membran ($1,52 \text{ cm}^2$)

Kemudian dilakukan perhitungan fluks obat berdasarkan hukum Fick I:

$$J = \frac{M}{S \times t} \quad (2.3)$$

Keterangan :

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

M = Jumlah kumulatif sampel yang melalui membran (μg)

S = Luas area difusi (cm^2)

t = Waktu (jam)

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

2.8 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Densitometri

Kromatografi dapat didefinisikan sebagai metode pemisahan campuran berdasarkan perbedaan distribusi antara dua atau lebih fase terlarut (Wellings, 2006). Kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan suatu campuran menjadi dua atau lebih komponen, dengan menggunakan fase gerak yang dilewatkan ke fase diam. Fase gerak dapat mengalir melewati fase diam melalui aksi kapilaritas. Pemisahan terjadi ketika satu komponen lebih kuat diadsorpsi oleh fase diam daripada komponen lain dalam suatu campuran. Metode ini dapat digunakan untuk memastikan kemurnian komponen, mengidentifikasi komponen dalam campuran, dan mendapatkan data kuantitatif dari komponen yang ada.

Fase diam yang digunakan berupa matriks khusus yang sangat halus (silika gel, alumina, atau bahan lain yang sejenis) (Bacher, 2009). Sebelum digunakan, lempeng KLT harus diaktivasi terlebih dahulu. Temperatur yang biasa digunakan untuk mengaktivasi lempeng silika adalah 120°C selama 30 menit (Hahn-Deinstop, 2007).

Fase gerak pada kromatografi lapis tipis biasanya terdiri dari campuran dua atau lebih pelarut yang bercampur. Fase gerak dipilih berdasarkan

pertimbangan yang sesuai antara pelarut, zat yang akan dipisahkan, dan fase diam yang akan digunakan. Fase gerak yang digunakan bisa diperoleh berdasarkan percobaan sebelumnya seperti yang tertera di literatur atau terkadang fase gerak diperoleh berdasarkan proses *trial-and-error* (Striegel dan Hill, 1996)

Dasar parameter yang biasa digunakan dalam analisis pemisahan dengan kromatografi lapis tipis adalah dengan menghitung nilai faktor retardasi atau nilai R_f , dimana:

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh pusat bercak sampel}}{\text{jarak yang ditempuh fase gerak}} \quad (2.6)$$

Rentang nilai R_f adalah dari 1-0 (Sherma dan Bernard, 2003). Harga R_f adalah spesifik untuk suatu zat karena ditentukan oleh harga koefisien distribusinya. Namun, harga R_f sering berbeda dengan yang dimuat di literatur karena harga ini dipengaruhi oleh kondisi percobaan seperti temperatur, ukuran spot, kejenuhan bejana, waktu perambatan, dan lain-lain.

BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Laboratorium Farmasetika dan Laboratorium Kimia Farmasi Kuantitatif Fakultas Farmasi Universitas Indonesia, Depok, selama bulan Februari hingga Mei 2012.

3.2 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, wadah gel, neraca analitik (Accu-Lab), pH meter tipe-510 (Eutech Instrument, Singapura), oven (Mettler, Jerman), lempeng KLT Silika gel F₂₅₄ (Merck, Jerman), bejana KLT (CAMAG), pipet kapiler kuantitatif (CAMAG), *TLC Scanner III* (CAMAG), nanomat 4 (CAMAG), komputer yang dilengkapi dengan program winCATS, pengaduk magnetik (Boeco MSH-300, Jerman), penangas air, viskometer Hoopler, sel difusi Franz standar USP, kamera digital, dan lemari pendingin.

3.3 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam askorbat (Brataco), peptida Cu-GHK (Uni Pex, Kanada), gliserin (Brataco, Indonesia), HPMC (Brataco, Indonesia), etanol (Brataco, Indonesia), sodium metabisulfit (Brataco, Indonesia), metil paraben (Brataco, Indonesia), propil paraben (Brataco, Indonesia), natrium hidroksida (Merck, Jerman), natrium dihidrogen fosfat (Merck, Jerman), kalium dihidrogen fosfat (Merck, Jerman), metanol (Merck, Jerman), butanol (Merck, Jerman), asam asetat glasial (Merck, Jerman), dan kulit tikus (Institut Pertanian Bogor, Indonesia).

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Optimasi Kondisi Analisa Secara KLT Densitometri (Dian, 2006; Sari, 2010)

3.4.1.1 Pembuatan Asam Dehidroaskorbat dari Asam Askorbat

a. Pembuatan larutan I₂

Iodium ditimbang sebanyak 2,538 g, dilarutkan dalam larutan 3,6 g KI dalam 20 ml air, lalu dicukupkan dengan akuades sampai 200 ml.

b. Oksidasi asam askorbat menggunakan larutan I₂

Asam askorbat ditimbang sebanyak 1 g, dimasukkan dalam labu ukur 10,0 ml. Ditambahkan larutan iodium sampai larutan berwarna kuning. Larutan didiamkan satu malam agar sisa I₂ menguap. Setelah larutan tidak berwarna, dicukupkan dengan akuades sampai batas 10,0 ml.

3.4.1.2 Pemilihan Fase Gerak

Larutan baku asam askorbat dan asam dehidroaskorbat dengan konsentrasi 200 ppm (1 µg) ditotolkan pada lempeng dengan jarak penotolan 1 cm kemudian dielusi dengan jarak elusi 5 cm. Setelah elusi, lempeng dianalisa menggunakan *TLC scanner* Camag III. Fase gerak yang digunakan adalah metanol-air dan butanol-asetat-air dengan perbandingan masing-masing 5:1 dan 3:1:1. Sebelum digunakan, lempeng diaktifkan dengan cara dipanaskan dalam oven pada suhu 120°C selama 10 menit.

3.4.1.3 Pemilihan Panjang Gelombang Optimum Menggunakan *TLC Scanner* Camag III

Larutan baku asam askorbat dan asam dehidroaskorbat dengan konsentrasi masing-masing 200 ppm ditotolkan sebanyak 5µl pada lempeng KLT, dielusi dengan fase gerak terpilih, lalu dideteksi dengan *TLC scanner* pada panjang gelombang optimum 254 nm. Setiap bercak ditentukan spektrum karakteristiknya pada panjang gelombang 200-400 nm. Dari spektrum yang diperoleh, ditentukan panjang gelombang maksimum masing-masing bercak setelah deteksi kedua.

3.4.1.4 Pembuatan Kurva Kalibrasi dan Pengujian Linearitas

Larutan baku asam askorbat dibuat dengan konsentrasi 200, 400, 500, 600, 800, dan 1000 ppm, lalu masing-masing konsentrasi ditotolkan sebanyak 5 μ l dengan jarak penotolan 1cm pada lempeng yang telah diaktifkan. Lalu lempeng dielusi dengan fase gerak terpilih.

3.4.2 Formulasi Pembuatan Serum Antikerut

3.4.2.1 Persentase komposisi bahan masing-masing serum seperti pada tabel berikut:

Tabel 3.1 Formulasi gel Vitamin C dengan peptida dan tanpa peptida

Bahan	Konsentrasi (%)	
	Gel Vitamin C dengan Peptida (serum vitamin C)	Gel Vitamin C tanpa Peptida
Vitamin C	10	10
Cu-GHK	2	-
HPMC	0,75	0,75
Gliserin	20	20
Etanol 95%	2	2
Natrium Metabisulfit	0,1	0,1
Metil paraben	0,25	0,25
Propil paraben	0,02	0,02
NaOH	0,04	0,04
Aqua demineralisata	Ad 100	Ad 100

3.4.2.2 Cara Pembuatan Serum Vitamin C dengan Peptida Cu-GHK

Pembuatan serum vitamin C didasarkan pada pembuatan gel, hanya saja diharapkan viskositasnya lebih rendah. Mula-mula, HPMC dilarutkan dalam sebagian aqua demineralisata yang dijaga suhunya 70°C dan diaduk dengan pengaduk magnetik kecepatan 300 rpm, sampai terbentuk basis gel. Kemudian, sebagian gliserin dimasukkan ke massa gel. Basis didinginkan, kemudian peptida

Cu-GHK yang telah dilarutkan dalam sisa gliserin dimasukkan kedalam massa gel, dihomogenkan dengan pengaduk magnetik kecepatan 300 rpm. Vitamin C dan natrium metabisulfit dilarutkan dalam aqua demineralisata dan dimasukkan ke massa gel. Bahan-bahan yang merupakan fase etanol yaitu metil dan propil paraben dilarutkan ke dalam etanol kemudian di masukkan ke massa gel, dihomogenkan dengan pengaduk magnetik kecepatan 300 rpm. Selanjutnya, natrium hidroksida dilarutkan dan dicampurkan ke massa gel, dihomogenkan dengan pengaduk magnetik kecepatan 300 rpm. Sediaan dicukupkan dengan aqua demineralisata sampai 300 ml. Pengadukkan terus dilakukan selama kurang lebih 10 menit sampai terbentuk gel dengan viskositas rendah dan semitransparan.

3.4.2.3 Cara Pembuatan Gel Vitamin C Tanpa Peptida Cu-GHK

Gel vitamin C dibuat sebagai blanko negatif. Mula-mula, HPMC dilarutkan dalam sebagian aqua demineralisata yang dijaga suhunya 70⁰C dan diaduk dengan stirer kecepatan 300 rpm, sampai terbentuk basis gel. Kemudian gliserin dimasukkan ke massa gel. Selanjutnya, basis didinginkan, dan vitamin C dan natrium metabisulfit yang telah dilarutkan dalam aqua demineralisata dimasukkan ke massa gel. Bahan-bahan yang merupakan fase etanol yaitu metil dan propil paraben dilarutkan ke dalam etanol kemudian di masukkan ke massa gel, dihomogenkan dengan pengaduk magnetik kecepatan 300 rpm. Selanjutnya, natrium hidroksida dilarutkan dan dicampurkan ke massa gel, dihomogenkan dengan pengaduk magnetik kecepatan 300 rpm. Sediaan dicukupkan dengan aqua demineralisata sampai 300 ml. Pengadukkan terus dilakukan selama kurang lebih 10 menit sampai terbentuk gel dengan viskositas rendah dan semitransparan.

3.4.3 Evaluasi Serum dan Gel vitamin C

Evaluasi dari sediaan serum antikerut terdiri dari :

3.4.3.1 Pengamatan organoleptis

Sediaan diamati teksturnya dengan perasa atau perabaan, kemudian secara berkala diamati terjadinya pemisahan fase atau tidak, serta perubahan warna.

3.4.3.2 Pemeriksaan Homogenitas

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

3.4.3.3 Pengukuran pH

Uji pH dapat dilakukan menggunakan indikator universal atau pH meter. Jika pH diukur dengan menggunakan pH meter, mula-mula elektroda dikalibrasi dengan dapar standar pH 3,5 dan pH 7. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam sediaan serum gel yang sebelumnya telah diencerkan dalam air dengan konsentrasi 5%. Catat nilai pH yang muncul di layar. Pengukuran dilakukan pada suhu ruang.

3.4.3.4 Pengukuran Bobot Jenis (Departemen Kesehatan RI, 1995)

Bobot jenis diukur menggunakan piknometer. Pada suhu ruang, piknometer bersih dan kering ditimbang (A g). Selanjutnya, piknometer diisi dengan air dan ditimbang (A1 g). Air dikeluarkan dari piknometer dan piknometer dibersihkan. Sediaan diisikan ke dalam piknometer dan ditimbang (A2 g). Bobot jenis sediaan diukur dengan perhitungan:

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

Keterangan:

A : bobot piknometer kering (g)

A1 : bobot piknometer yang diisi dengan aquadest (g)

A2 : bobot piknometer yang diisi dengan serum vitamin C (g)

3.4.3.5 Penentuan Viskositas dan Sifat Alir

Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer bola jatuh dimana jenis bola yang digunakan adalah gelas boron silika. Sediaan dimasukkan ke dalam 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 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 dari sediaan diukur dengan membandingkannya dengan air berdasarkan perhitungan seperti persamaan 2.1.

3.4.3.6 Penetapan Kadar Vitamin C

Kadar vitamin C ditetapkan dengan menggunakan *TLC scanner* Camag III. Sediaan ditimbang sebanyak 1 g, dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml lalu dicukupkan volumenya menggunakan metanol. Larutan baku asam askorbat dibuat dengan konsentrasi 1000 µg/ml. Masing-masing larutan ditotolkan sebanyak 5 µl dan dielusi dengan fase gerak terpilih. Setelah elusi, lempeng dianalisis dengan *TLC scanner* dan kadar asam askorbat dalam sediaan dihitung dengan menggunakan persamaan kalibrasi.

3.4.4 Uji Stabilitas Fisik dan Kimia

3.4.5 Metode *Cycling Test*

Sampel serum gel disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam, lalu dipindahkan ke dalam oven yang bersuhu 40±2°C selama 24 jam (satu siklus). Uji dilakukan sebanyak 6 siklus kemudian diamati adanya pemisahan fase.

3.4.6 Suhu Tinggi (40±2°C)

Sampel serum gel disimpan pada suhu tinggi (40±2°C) selama 8 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, homogenitas), pengukuran pH, dan pengukuran kadar vitamin C untuk setiap 2 minggu.

3.4.7 Suhu Kamar (27-30°C)

Sampel serum gel disimpan pada suhu kamar (27-30°C) selama 8 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau,

homogenitas), pengukuran pH, dan pengukuran kadar vitamin C untuk setiap 2 minggu.

3.4.8 Suhu Rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$)

Sampel serum gel disimpan pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, homogenitas), pengukuran pH, dan pengukuran kadar vitamin C untuk setiap 2 minggu.

3.4.9 Uji Penetrasi Sediaan Serum Vitamin C dengan Sel Difusi Franz

3.4.9.1 Pembuatan Larutan Dapar Fosfat pH 7,4 (Clarke's Analysis of Drugs and Poisons, 3rd ed, 2005)

Dapar fosfat dipilih sebagai simulasi kondisi pH dermis manusia, yaitu pH 7,4. Penyiapan dapar fosfat dilakukan dengan tiga tahap. Pertama, melarutkan 9,465 g natrium dihidrogen fosfat dalam 1000 ml aqua demineralisata. Kemudian membuat lagi larutan 9,073 g kalium dihidrogen fosfat dicukupkan volumenya sampai 1000 ml. Tahap terakhir adalah mencampur 80 ml larutan natrium dihidrogen fosfat dengan 20 ml larutan kalium dihidrogen fosfat.

3.4.9.2 Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan baku asam askorbat dibuat dengan konsentrasi 200, 400, 500, 600, 800, dan 1000 ppm, lalu masing-masing konsentrasi ditotolkan sebanyak 5 μl dengan jarak penotolan 1cm pada lempeng yang telah diaktifkan. Lalu lempeng dielusi dengan fase gerak terpilih.

3.4.9.3 Uji Penetapan Kandungan

Sediaan ditimbang secara seksama sebanyak $\pm 1,0$ g, kemudian dilarutkan dengan metanol dalam labu tentukur 10,0 ml. Larutan tersebut kemudian dipipet 1,0 ml dan dimasukkan ke labu 10,0 ml. Kemudian larutan ditotolkan pada lempeng lalu dielusi dan dianalisa dengan TLC *scanner* Camag III. Pada proses preparasi dan pengukuran, larutan dihindarkan dari cahaya. Percobaan dilakukan sebanyak 3 kali.

3.4.9.4 Uji Penetrasi Vitamin C (Witt & Bucks; Thakker & Chern, 2003)

Membran yang digunakan adalah kulit tikus betina galur Sprague Dawley. Pertama-tama tikus dikorbankan dengan eter hingga mati kemudian bulu tikus dicukur dengan hati-hati. Setelah itu kulit tikus disayat pada bagian perut dengan ketebalan $0,6 \pm 0,1$ mm. Kemudian kulit tikus direndam dalam medium yang akan digunakan selama 30 menit setelah itu disimpan dalam suhu 4°C . Kulit dapat digunakan pada rentang waktu 24 jam. Uji penetrasi dilakukan menggunakan sel difusi Franz dengan luas area difusi $1,389\text{ cm}^2$ dan volume kompartemen 13 ml. Kompartemen reseptor diisi dengan larutan medium dapar fosfat pH 7,4 dan dijaga suhunya sekitar $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ serta diaduk dengan *stirrer* kecepatan 300 rpm. Kulit abdomen tikus kemudian diletakkan di antara kompartemen donor dengan kompartemen reseptor dengan posisi stratum korneum menghadap ke atas. Sampel 1 gram diaplikasikan pada permukaan kulit. Kemudian pada menit ke-10, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480 diambil sampel sebanyak 0,5 ml dari kompartemen reseptor menggunakan *syringe* dan segera digantikan dengan larutan medium sejumlah volume yang sama. Setelah itu, sampel ditotolkan dengan pipa kapiler 5 μl ke lempeng KLT, dan diukur areanya dengan menggunakan *TLC scanner* pada panjang gelombang 261 nm. Percobaan dilakukan sebanyak tiga kali.

Jumlah kumulatif vitamin C yang terpenetrasi per luas area difusi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) dihitung dengan rumus:

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

Keterangan:

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

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

V = Volume sel difusi Franz (13,0 ml)

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

S = Volume *sampling* (500 μl)

A = Luas area membran (1,52 cm^2)

Kemudian dilakukan perhitungan fluks obat berdasarkan hukum

Fick I:

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

Keterangan:

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

M = Jumlah kumulatif vitamin C yang melalui membran (μg)

S = Luas area difusi (cm^2)

t = Waktu (jam)

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

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan daya penetrasi dan stabilitas fisik dan kimia vitamin C yang ada pada sediaan gel biasa dengan sediaan yang ditambahkan dengan peptida (serum). Peptida disini diharapkan dapat berperan sebagai peningkat penetrasi vitamin C pada model kulit tikus yang dilihat melalui sel difusi Franz. Studi penetrasi kulit secara *in vitro* berhubungan dengan mengukur kecepatan dan jumlah komponen yang menembus kulit dan jumlah komponen yang tertahan pada kulit. Di samping itu, karena sediaan yang mengandung vitamin C cenderung kurang stabil, maka diperlukan pengujian kestabilan baik secara fisik maupun secara kimia terhadap sediaan tersebut. Keberadaan peptida Cu-GHK dalam sediaan serum kemungkinan dapat mempengaruhi kestabilan sediaan vitamin C itu sendiri, sehingga disini dibandingkan kestabilan secara fisik dan kimia kedua sediaan.

4.1. Optimasi kondisi analisis secara KLT densitometri

4.1.1. Pemilihan fase gerak

Kondisi analisis yang terpilih adalah elusi menggunakan lempeng silika gel 60 F₂₅₄, Merck; fase gerak butanol-asetat-air dengan perbandingan 3:1:1 (Sari, 2010) dalam pelarut metanol pada panjang gelombang 254 nm. Volume penotolan 5 µl dan jarak elusi 5 cm. Densitogram pemisahan asam askorbat dan asam dehidroaskorbat dapat dilihat pada Lampiran 1 dan data R_f dapat dilihat pada Lampiran 21.

Kombinasi fase gerak digunakan berdasarkan metode yang sudah divalidasi oleh penelitian sebelumnya. Dari hasil, didapatkan bentuk puncak yang tunggal dan tidak berekor, dengan pemisahan antara asam askorbat dan dehidroaskorbat yang cukup jelas secara kualitatif. Pelarut metanol dipilih karena

dapat melarutkan vitamin C dengan baik dan merupakan pelarut yang mudah menguap, sehingga memudahkan dalam proses pengeringan setelah sampel ditotolkan pada lempeng KLT.

4.1.2 Pemilihan Panjang Gelombang Optimum untuk Deteksi Menggunakan *TLC Scanner* Camag III

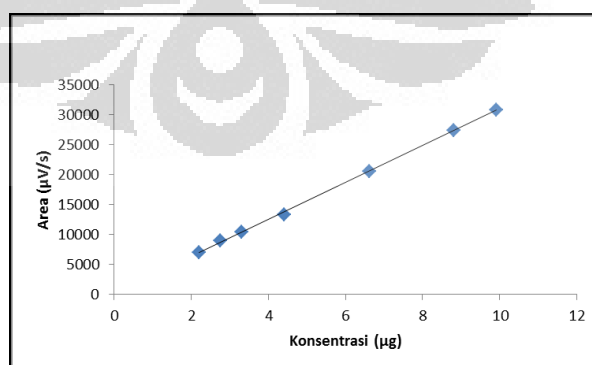
Densitogram pemisahan asam askorbat dan asam dehidroaskorbat ditentukan karakteristik spektrumnya dengan *TLC scanner* pada panjang gelombang 200-400 nm. Panjang gelombang optimum yang didapat adalah 261 nm untuk asam askorbat dan 267 nm untuk asam dehidroaskorbat. Gambar spektrum serapan bercak asam askorbat dan asam dehidroaskorbat dapat dilihat pada Lampiran 2 dan Lampiran 3.

4.1.3 Kurva Kalibrasi (linearitas)

Uji linearitas dilakukan untuk menghitung kadar vitamin C pada perhitungan uji perolehan kembali, uji stabilitas kimia, dan uji penetrasi. Kurva kalibrasi terdiri dari 7 konsentrasi dengan rentang 2,204-9,918 μg menghasilkan nilai linearitas 0,99605. Persamaan garis yang didapatkan adalah

$$y = -16,68 + 3112x \quad (4.1)$$

Rentang kurva kalibrasi dapat dilihat pada Lampiran 20, dan grafik kurva kalibrasi dapat dilihat pada Gambar 4.1 sebagai berikut.



Gambar 4.1 Kurva kalibrasi vitamin C dalam pelarut metanol

4.2 Pembuatan Sediaan

Pada penelitian ini, formula serum disamakan dengan formula gel, hanya saja pada sediaan serum ditambahkan peptida Cu-GHK. Gel vitamin C perlu dibuat sebagai blanko negatif, pembanding dari segi penetrasi, stabilitas fisik dan kimia.

Pada pembuatan kedua sediaan, digunakan basis gel hidroksi propilmetil selulosa (HPMC). Basis ini dipilih karena memiliki kompatibilitas yang paling sesuai dengan vitamin C, dan karena merupakan senyawa non-ionik, maka tidak bereaksi dengan Cu yang merupakan logam (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009). Sebelumnya telah dicoba menggunakan karbomer, namun hasil menunjukkan bahwa basis karbomer tidak dapat menjadi gel karena suasana tidak netral dikarenakan keberadaan vitamin C yang bersuana sangat asam. Dengan menggunakan HPMC, dapat terbentuk gel dengan viskositas yang diharapkan dan kompatibel terhadap vitamin C.

Vitamin C merupakan suatu zat yang tidak stabil dan mudah teroksidasi. Oleh karena itu, diperlukan suatu antioksidan tambahan yang mampu mengalami oksidasi terlebih dahulu dibandingkan vitamin C. Penggunaan natrium metabisulfit sudah tepat karena merupakan bahan yang kompatibel dengan vitamin C dan mampu menjaga vitamin C tetap stabil pada basis gel sampai lebih dari 94,03 % (Maia, *et al.*, 2006). Natrium metabisulfit bekerja dengan baik pada pH asam (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009), sehingga sesuai dengan vitamin C yang membutuhkan pH asam. Selain itu, natrium metabisulfit juga berperan sebagai *antibrowning agent* (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009).

Sediaan yang dibuat memiliki kandungan air yang cukup tinggi, sehingga mudah untuk ditumbuhi mikroba, maka diperlukan pengawet. Pengawet yang paling sering digunakan untuk kosmetik karena aman dan tidak menimbulkan sensitisasi adalah metil dan propil paraben. Pengawet ini efektif pada rentang pH yang luas dan memiliki spektrum antimikrobia yang lebar (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009). Campuran paraben dipakai untuk mendapatkan pengawet yang efektif karena efek sinergis akan terjadi (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009). Penggunaan pengawet ini sudah tepat karena kompatibel dengan vitamin C. Etanol digunakan sebagai pelarut pengawet paraben (Rowe, Sheskey, dan Quinn,

2009). Selain itu, etanol juga berfungsi sebagai peningkat penetrasi kulit (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009).

Peptida merupakan sediaan yang kurang stabil, sehingga diperlukan senyawa pelindung untuk menstabilkan peptida tersebut (Hinrichs, Prinsen, dan Frijlink, 2001). Senyawa-senyawa yang sering digunakan sebagai penstabil peptida adalah senyawa-senyawa poliol seperti gula (inulin, levan, dekstran) dan alkohol polivalen lainnya (gliserol dan propilen glikol) (Katdare, *et al.*, 2006). Penggunaan gliserin sudah tepat, karena merupakan bahan yang kompatibel dengan vitamin C. Selain itu, gliserin juga berfungsi sebagai humektan, yang mampu mengikat air sehingga dapat melembabkan kulit (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009).

Karena menggunakan zat aktif vitamin C, maka sediaan cenderung asam. Untuk itu digunakan sedikit NaOH sebagai adjust pH. Namun, pH sediaan masih harus dijaga asam agar vitamin C tetap stabil, karena asam askorbat hanya stabil pada pH rendah.

4.3 Evaluasi Fisik

Evaluasi terhadap kedua bentuk sediaan perlu dilakukan untuk mengetahui perbedaan kondisi serum vitamin C dan gel vitamin C saat baru dibuat dan setelah penyimpanan pada suhu yang berbeda-beda. Pada penelitian diamati perubahan-perubahan secara fisik dan kimia yang terjadi pada masing-masing bentuk sediaan tersebut. Hasil evaluasi sediaan pada minggu ke-0 dapat dilihat pada Lampiran 22, yang meliputi:

4.3.1 Pengamatan Organoleptis

Kedua bentuk sediaan tidak berwarna (jernih), berbau sedikit tajam (bau vitamin C), dan tidak nampak adanya pemisahan. Bau pada sediaan disebabkan oleh kandungan 5% vitamin C yang terdapat dalam masing-masing sediaan. Foto pengamatan organoleptis pada minggu ke-0 dapat dilihat pada Lampiran 4.

4.3.2 Pemeriksaan Homogenitas

Hasil pemeriksaan ketiga bentuk sediaan pada minggu ke-0 adalah homogen.

4.3.3 Pemeriksaan pH

Hasil pemeriksaan pH sediaan serum vitamin C dan gel vitamin C pada minggu ke-0 secara berturut-turut adalah 3,69 dan 3,74. Keduanya tidak masuk pada rentang pH kulit 4,5-6 dikarenakan penggunaan zat aktif vitamin C yang bersifat asam. pH vitamin C sendiri adalah 2,5. Selain itu, pH sekitar 3,5 dibutuhkan oleh vitamin C untuk tetap berada pada keadaan stabilnya. Kedua sediaan memberikan rentang pH yang hampir sama, menunjukkan peptida Cu-GHK belum memberikan pengaruh terhadap pH pada minggu ke-0 sediaan dibuat.

4.3.4 Pemeriksaan Bobot Jenis

Pada hasil pengukuran bobot jenis menggunakan piknometer terhadap kedua formula menunjukkan hasil yang bervariasi, tetapi perbedaan tersebut tidak terlalu jauh. Hasil pengukuran bobot jenis terhadap serum vitamin C dan gel vitamin C berturut-turut adalah 1,0897 g/ml dan 1,0961 g/ml. Angka ini menunjukkan bahwa sediaan lebih berat daripada akuades.

4.3.5 Pengukuran Viskositas

Sediaan pada masing-masing formula yang dihasilkan memiliki tipe aliran Newton. Hal tersebut terlihat dari bentuknya yang cair. Oleh karena itu, nilai viskositas dari masing-masing formula diperoleh menggunakan viskometer yang biasa digunakan untuk mengukur viskositas untuk tipe aliran sistem Newton. Pada penelitian ini, viskometer yang digunakan adalah viskometer bola jatuh (viskometer Hoopler) dengan jenis bola yang digunakan adalah tipe gelas boron silika. Pada viskometer bola jatuh, jenis bola yang dipilih adalah yang dapat menghasilkan lamanya bola jatuh antara kedua garis tidak kurang dari 30 detik (Martin, Swarbick, & Cammarata, 1993).

Hasil viskositas untuk serum vitamin C dan gel vitamin C berturut-turut adalah 6,0636 cps dan 6,9806 cps. Data untuk pengukuran viskositas dapat dilihat pada Lampiran 26.

4.4 Hasil Uji Stabilitas

Pengujian stabilitas dilakukan dengan menyimpan sampel formula serum vitamin C dan gel vitamin C pada tiga suhu yang berbeda, yaitu suhu rendah (4°C), suhu kamar ($28 \pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu. Selama periode waktu penyimpanan tersebut dilakukan pengamatan organoleptis dan pemeriksaan pH untuk mengetahui kestabilan fisik dan mengukur kadar vitamin C tersisa untuk mengetahui kestabilan kimia. Sampel diambil tiap 2 minggu. Pengukuran viskositas dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-8 menggunakan sediaan yang disimpan pada suhu kamar.

4.4.1 Uji Stabilitas Fisik

4.4.1.1 Pengamatan Organoleptis

Kedua sediaan menunjukkan perubahan yang cukup signifikan secara fisika pada penyimpanan di suhu tinggi dan suhu kamar, sedangkan penyimpanan pada suhu rendah menunjukkan kestabilan secara fisik. Hasil pengamatan organoleptis kedua sediaan pada suhu kamar, suhu tinggi, dan suhu rendah dapat dilihat pada Lampiran 23, 24, dan 25. Foto hasil pengamatan organoleptis masing-masing sediaan selama 8 minggu pada suhu kamar, suhu tinggi, suhu rendah dapat dilihat pada Lampiran 5, 6, dan 7.

Pada kondisi penyimpanan suhu tinggi, kedua sediaan menunjukkan perubahan secara nampak. Pada dua minggu pertama, kedua sediaan memisah secara total dengan basis, dengan kata lain terjadi sineresis yang sempurna. Sineresis adalah gejala pada saat gel mengerut secara alamiah dan sebagian dari cairannya terperas ke luar. Hal ini terjadi karena struktur matriks serat gel yang terus mengeras dan akhirnya mengakibatkan terperasnya air ke luar (Martin, Swarbrick, & Cammarata, 1983). Ini menunjukkan bahwa kedua sediaan telah tidak stabil secara fisik pada suhu tinggi. Namun, pada penyimpanan suhu rendah

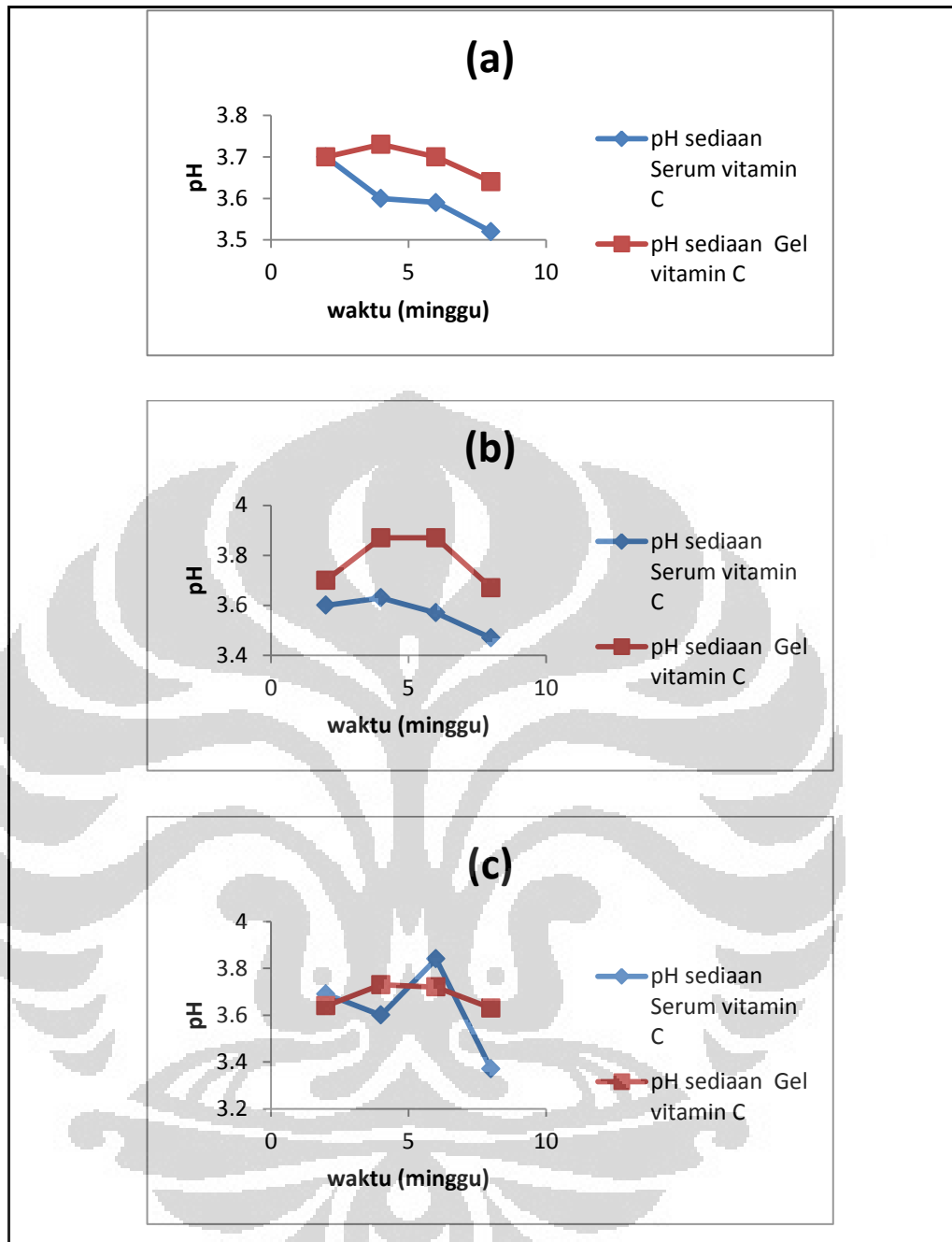
dan suhu kamar, kedua sediaan tetap stabil dan homogen, tidak nampak terjadinya sineresis.

Perubahan warna terjadi pada penyimpanan suhu tinggi dan suhu kamar. Suhu kamar masih jernih dan tanpa warna sampai minggu ke-4, namun mulai menguning pada minggu ke-6. Sedangkan pada suhu tinggi sudah mulai tampak perubahan warna pada minggu ke-2 penyimpanan. Kestabilan warna didapatkan sampai minggu ke-8 pada penyimpanan suhu rendah. Perubahan warna ini dapat terjadi karena sifat dari asam askorbat pada sediaan. Setelah pemanasan, asam askorbat bersikap seperti gula tereduksi. Produk degradasi asam askorbat akan bereaksi dengan asam amino, peptida, dan lipid, termasuk peptida Cu-GHK dalam sediaan serum. Reaksi ini akan meningkatkan produksi sejumlah produk aromatik melalui reaksi *browning* nonenzimatik (Vernin, *et al.*, 1998).

Bau yang menguat pada penyimpanan suhu tinggi dan suhu kamar juga dihasilkan oleh pengaruh pemanasan asam askorbat, yang akan membuat asam askorbat bersikap seperti gula tereduksi.

4.4.1.2 Pengukuran pH

Selama 8 minggu, pemeriksaan pH kedua sediaan tidak menunjukkan pH yang tetap. Hasil pengukuran pH serum vitamin C dan gel vitamin C pada suhu kamar, suhu tinggi, dan rendah selama 8 minggu dapat dilihat pada Lampiran 28, 29, dan 30. Grafik hubungan pH dengan waktu penyimpanan pada suhu kamar, hangat, dan dingin dapat dilihat pada Gambar 4.2 berikut ini.



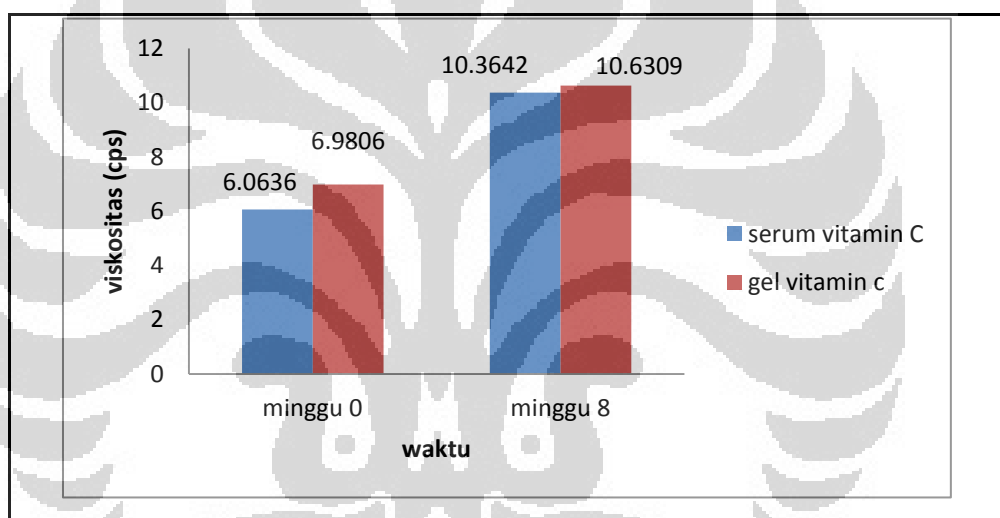
Gambar 4.2 Grafik perbandingan pH terhadap waktu untuk setiap kondisi penyimpanan: (a) suhu rendah; (b) suhu kamar; (c) suhu tinggi

Dari grafik tersebut, jelas terlihat bahwa pH paling tidak stabil pada penyimpanan suhu tinggi. Namun, secara keseluruhan, akhirnya akan memberikan pH yang lebih rendah dibandingkan pH semula. Hal ini diduga akibat terjadinya pelepasan ion hidrogen (H^+) yang dimiliki oleh vitamin C akibat adanya proses

oksidasi lambat yang bergantung pada kondisi penyimpanan masing-masing sediaan.

4.4.1.3 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 sediaan mengalami peningkatan. Hasil perubahan viskositas kedua sediaan dapat dilihat pada Gambar 4.2 berikut dan Lampiran 27.



Gambar 4.3 Perubahan viskositas kedua sediaan pada penyimpanan suhu kamar

Hasil evaluasi viskositas kedua formula pada penyimpanan suhu kamar meningkat pada minggu ke-8 yang menunjukkan kedua formula tersebut menjadi kental seiring dengan waktu penyimpanan yang lama. Peningkatan viskositas kedua formula terjadi dikarenakan adanya tekanan geser dari pengaduk yang digunakan saat pembuatan sediaan. Tekanan geser akan mengubah struktur polimer basis sediaan menjadi agak renggang, sehingga sediaan menjadi encer saat baru dibuat. Setelah dilakukan penyimpanan, struktur dari polimer tersebut akan kembali seperti semula, sehingga sediaan menjadi lebih kental (Martin, Swabrick, & Cammarata, 1993).

4.4.2 *Cycling Test*

Uji ini dilakukan pada suhu yang berbeda dengan interval waktu tertentu sehingga sediaan dalam wadah akan mengalami stres bervariasi. Uji ini dilakukan dengan menyimpan masing-masing sediaan pada suhu 5°C selama 24 jam lalu dipindahkan pada suhu 40°C selama 24 jam. Perlakuan tersebut merupakan 1 siklus dan untuk memperjelas perubahan yang terjadi dilakukan sebanyak 6 siklus atau 12 hari.

Hasil pengamatan *cycling test* dapat dilihat pada Lampiran 31, sedangkan foto sediaan sebelum dan sesudah *cycling test* dapat dilihat pada Lampiran 8. Hasil pengujian *cycling test* tidak menunjukkan adanya perbedaan secara fisik dengan keadaan awal sediaan. Sediaan tetap stabil dan tidak mengalami sineresis.

4.4.3 Uji Stabilitas Kimia

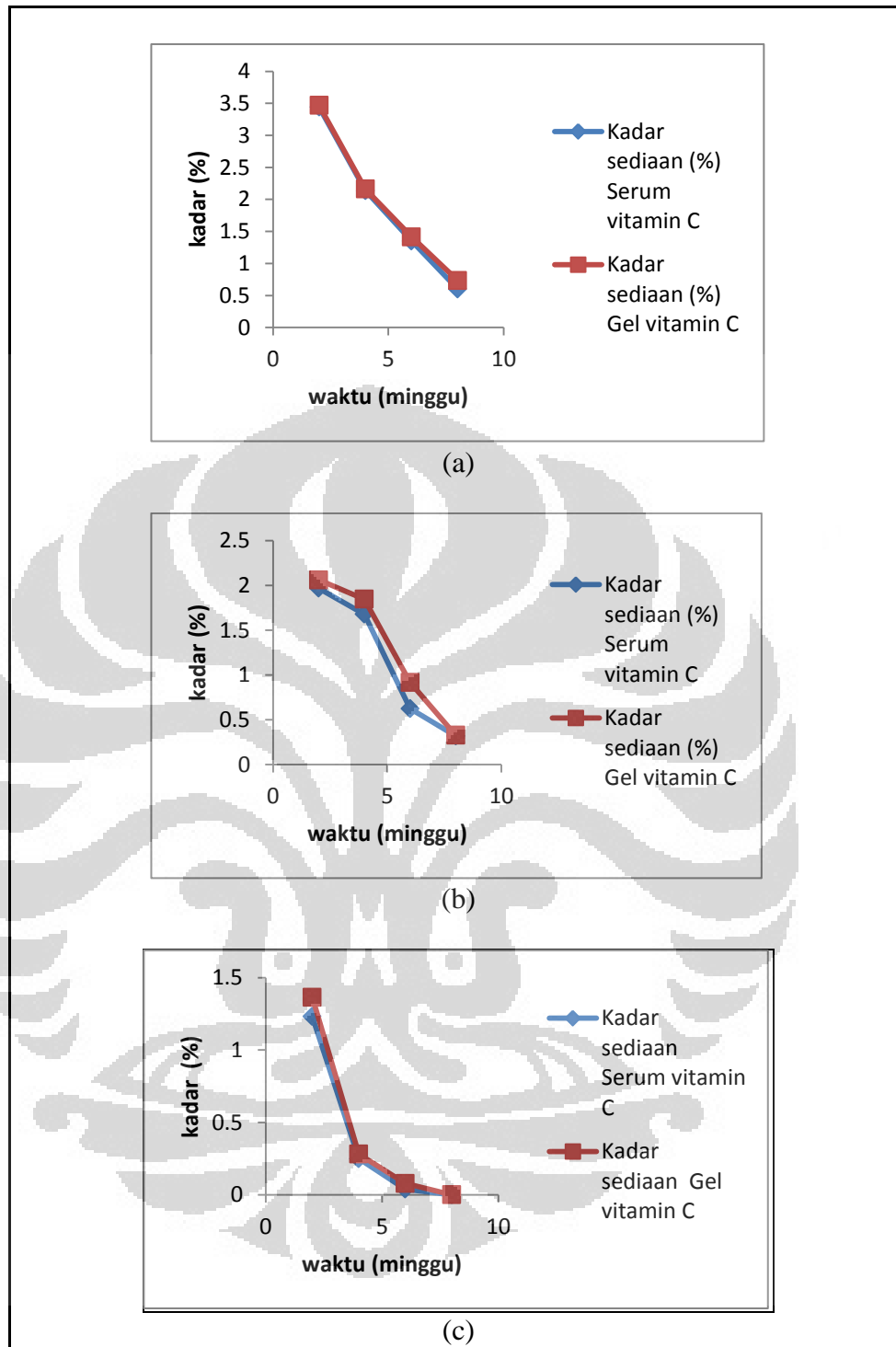
Asam askorbat dalam air merupakan asam lemah (pK_a 4,17) dan merupakan agen pereduksi yang bekerja sebagai pendonor satu elektron terhadap aseptor elektron. Setelah donasi satu elektron tersebut, maka asam askorbat akan menghasilkan satu produk oksidasi, yaitu asam dehidroaskorbat (Gerasimos, Pantelis, & Panayiotis, 2004). Asam dehidroaskorbat tidak dapat memberikan efek sebagai antioksidan karena telah mengalami oksidasi, sehingga tidak dapat memberi manfaat terhadap kulit. Untuk itu, diperlukan analisis kuantitatif terhadap kestabilan vitamin C dalam sediaan. Karena asam askorbat dan asam dehidroaskorbat memiliki panjang gelombang yang mirip (261 nm dan 267 nm), maka diperlukan alat analisis yang sensitif dapat memisahkan kedua zat tersebut. Untuk itu dipilih metode KLT Densitometri. Metode ini telah banyak digunakan untuk memisahkan asam askorbat dengan asam dehidroaskorbat, dan merupakan metode pilihan selain Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) karena sederhana, cepat, dan efisien (Roomi & Tsao, 1998).

Hasil pengukuran kadar serum vitamin C dan gel vitamin C menunjukkan penurunan yang nampak tiap minggunya untuk setiap kondisi penyimpanan. Hasil pengukuran dapat dilihat pada Lampiran 32, 33, dan 34. Densitogram untuk masing-masing suhu dapat dilihat pada Lampiran 9, 10, dan 11.

Grafik hubungan kadar vitamin C kedua sediaan selama 8 minggu dapat dilihat pada Gambar 4.4.

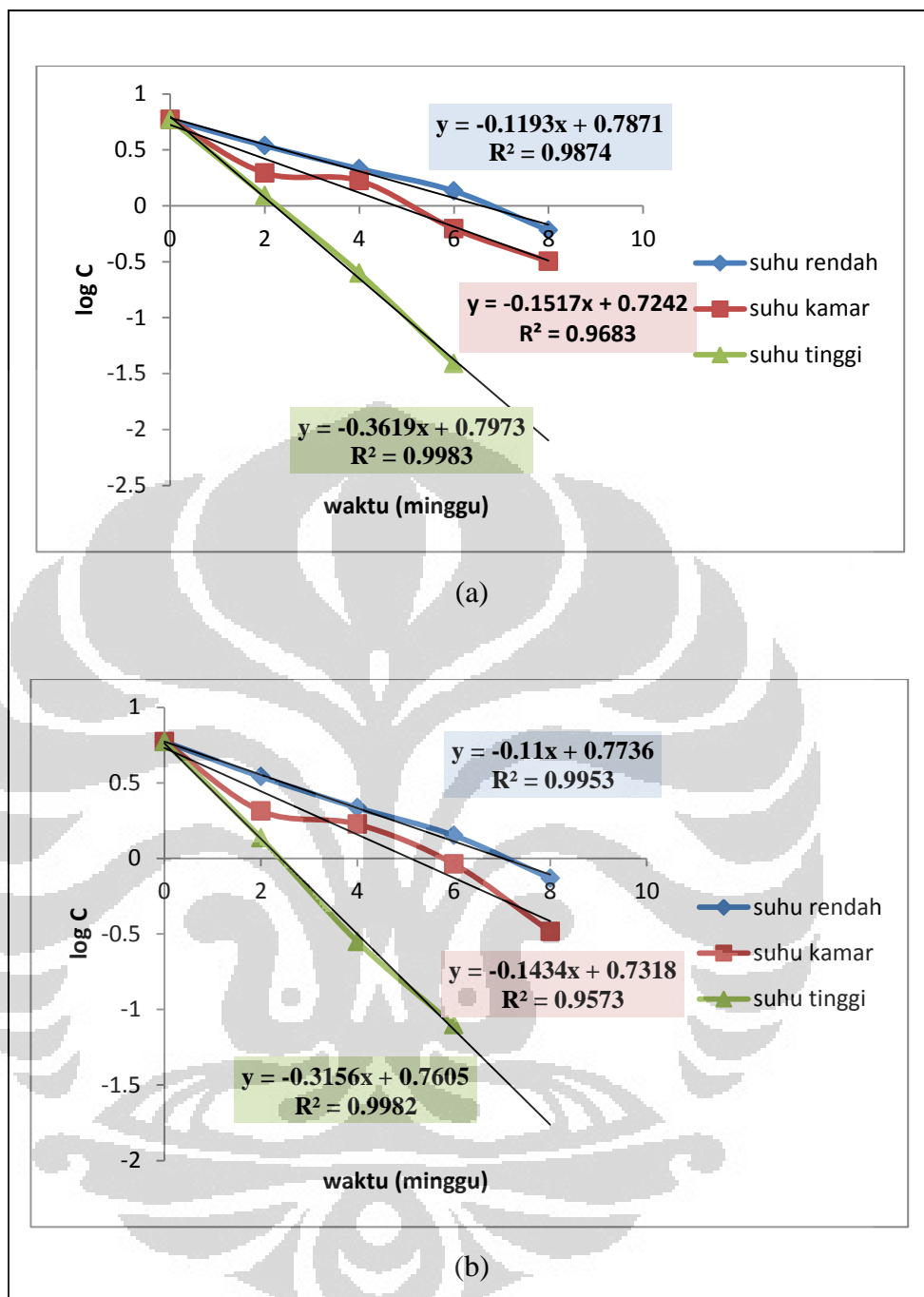
Pada suhu tinggi, vitamin C dengan cepat akan terurai sehingga kadarnya akan menurun, sampai akhirnya habis setelah minggu ke-6. Pada suhu kamar, kadar vitamin C menurun sedikit lebih lambat dibandingkan pada suhu hangat, tetapi kadarnya telah habis terurai pada minggu ke-6. Pada suhu rendah, kadar vitamin C menunjukkan kestabilan hanya sampai minggu ke-2. Setelah minggu ke-4, kadar menurun drastis sampai seperlimanya, namun masih ada dalam sediaan sampai minggu ke-8.

Gambar 4.5 menunjukkan bahwa penurunan kadar sediaan serum lebih curam dibandingkan sediaan gel. Hal ini mungkin terjadi akibat adanya logam Cu dari peptida Cu-GHK pada sediaan serum yang dapat bertindak sebagai katalisator untuk reaksi oksidasi vitamin C. Namun, perbedaan penurunan kadar kedua sediaan tidak terlalu nampak. Vitamin C dari kedua sediaan tetap menurun sampai dibawah batas penggunaan kosmetik (yaitu lebih dari 3%) pada semua kondisi penyimpanan mulai dari pertama sampel diambil (minggu ke-2).



Gambar 4.4 Grafik stabilitas kimia kedua sediaan: (a) suhu rendah; (b) suhu kamar; (c) suhu tinggi

Dari data yang didapatkan, dapat ditentukan orde reaksi penguraian dari kedua sediaan dengan memplot log konsentrasi terhadap waktu. Grafik log konsentrasi terhadap waktu dapat dilihat pada gambar 4.5.



Gambar 4.5 Laju penguraian vitamin C dalam sediaan sediaan
(a) serum; (b) gel

Dari grafik tersebut, didapatkan nilai regresi untuk masing-masing suhu pada setiap kondisi. Hasil yang didapatkan adalah garis lurus, sehingga menunjukkan bahwa reaksi adalah orde-pertama (Martin, Swabrick, dan Cammarata, 1993). Dari persamaan garis, dapat ditentukan nilai k dan waktu paruh untuk masing-masing sediaan pada tiap kondisi penyimpanan. Contoh

Universitas Indonesia

perhitungan nilai laju reaksi (k), waktu paruh ($t_{1/2}$), dan waktu daluwarsa (t_{90}) terdapat pada Lampiran 42. Nilai k untuk kedua sediaan pada masing-masing suhu terdapat pada Tabel 4.1 berikut.

Tabel 4.1 Hasil perhitungan reaksi orde pertama

Sediaan	Kondisi Penyimpanan	Kemiringan	k	$t_{1/2}$ (hari)	t_{90} (hari)
Serum vitamin C	Suhu rendah	-0,1193	0,2747	35,32	5,35
	Suhu kamar	-0,1517	0,3494	27,767	4,21
	Suhu tinggi	-0,3619	0,8335	11,64	1,76
Gel vitamin C	Suhu rendah	-0,110	0,2533	38,30	5,80
	Suhu kamar	-0,1434	0,3303	29,37	4,45
	Suhu tinggi	-0,3156	0,7268	13,35	2,02

Dari tabel di atas, dapat dilihat bahwa dengan makin tingginya temperatur, maka laju penguraian (k) juga makin cepat. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa kecepatan reaksi akan bertambah tiap kenaikan suhu (Martin, Swarbick, & Cammarata, 1983). Dengan bertambahnya suhu, waktu paruh dan waktu daluwarsa dari sediaan menjadi lebih cepat.

Kecepatan reaksi serum vitamin C yang mengandung peptida Cu-GHK lebih besar dibanding gel vitamin C tanpa peptida. Hal ini disebabkan oleh keberadaan ion Cu(II) yang mampu menjadi katalis penguraian vitamin C menjadi asam dehidroaskorbat. Sehingga, didapatkan waktu paruh dan waktu daluwarsa yang lebih lama pada sediaan gel dibandingkan dengan sediaan serum.

4.5 Uji Penetrasi dengan Sel Difusi Franz

4.5.1 Uji Perolehan Kembali

Hasil uji perolehan kembali asam askorbat rata-rata untuk sediaan serum dan gel masing-masing adalah 98,17 % dan 102,71 %. Densitogram uji perolehan kembali asam askorbat dapat dilihat pada Lampiran 12 dan 13. Data uji perolehan kembali dapat dilihat pada Lampiran 35. Hasil deteksi vitamin C pada kedua sediaan tersebut masih memenuhi batas spesifikasi uji perolehan kembali yang dinyatakan dalam spesifikasi periksa. Spesifikasi waktu simpan atau spesifikasi periksa atau spesifikasi umur produk adalah spesifikasi yang harus

dipenuhi sepanjang waktu simpannya, yaitu 98 – 102% (*United States Pharmacopoeia 30th Edition*. USA: The Official Compendia of Standards. 2007).

4.5.2 Uji Penetrasi Vitamin C

Uji penetrasi dapat dilakukan baik secara *in vivo* maupun secara *in vitro*. Dalam penelitian ini, dilakukan uji penetrasi secara *in vitro* dengan menggunakan sel difusi Franz. Pengujian dilakukan untuk mengetahui jumlah vitamin C yang dapat berpenetrasi melalui kulit selama interval waktu tertentu.

Membran yang digunakan yaitu kulit bagian abdomen tikus betina dari galur Sprague-Dawley yang berumur 8-10 minggu, dengan berat ± 150 gram dengan ketebalan membran $0,6 \pm 0,1$ mm dan luas membran $1,52$ cm². Kulit hewan sering digunakan secara luas untuk menggantikan kulit manusia terutama dikarenakan sulitnya untuk mendapatkan kulit manusia, walaupun memang terdapat beberapa variabilitas di antara keduanya. Alasan penggunaan kulit tikus sebagai membran karena cukup mudah didapat dan telah dilaporkan bahwa permeabilitas kulit tikus yang telah dicukur bulunya mirip dengan permeabilitas kulit manusia. Kulit manusia memiliki koefisien permeabilitas sebesar $92,27$ cm/jam x 10^5 , sedangkan kulit tikus yang sudah dicukur bulunya memiliki koefisien permeabilitas sebesar $103,08$ cm/jam x 10^5 (Wester & Maibach, 1990).

Terlebih dahulu rambut tikus dicukur karena dikhawatirkan bahan kimia yang diaplikasikan dapat menempel pada keratin rambut sehingga akan mengurangi jumlah zat aktif yang akan mencapai stratum korneum (Angel, 2008). Rambut tikus dicukur dengan hati-hati agar kulit tidak terluka karena kulit yang luka akan berpengaruh pada penetrasi zat aktif. Lemak subkutan harus dihilangkan terlebih dahulu agar tidak mengganggu penetrasi vitamin C masuk ke dalam kulit. Kulit dapat disimpan dalam lemari pendingin sebelum digunakan tetapi sebaiknya digunakan kulit yang masih segar, kulit dapat digunakan dalam rentang waktu tidak lebih dari 24 jam. Selanjutnya kulit dihidrasi dengan menggunakan larutan medium dapar fosfat-metanol (2:1) dengan tujuan untuk mengembalikan kulit ke kondisi semula sebelum disimpan dalam lemari pendingin. (Wester & Maibach, 1990).

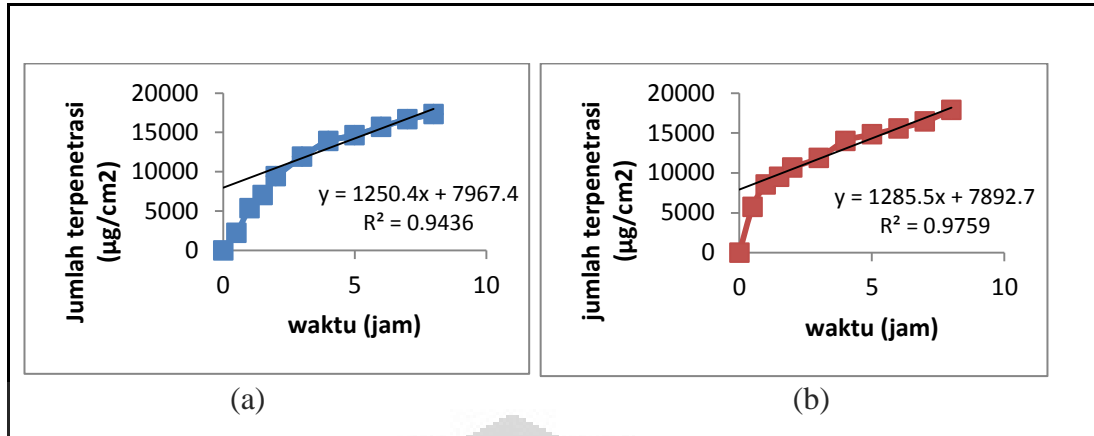
Hal penting lainnya yang perlu diperhatikan adalah zat aktif dalam hal ini vitamin C harus larut dalam cairan kompartemen reseptor yang digunakan. Larutan dapar fosfat-metanol (2:1) merupakan cairan reseptor digunakan dalam penelitian ini agar vitamin C dapat larut dalam cairan kompartemen dan pelarut mudah menguap setelah ditotolkan pada lempeng KLT. Pengadukan pada kompartemen reseptor berfungsi untuk homogenisasi yang dapat mempercepat proses pelarutan zat yang terpenetrasi (Angel, 2008). Pengadukan dilakukan dengan menggunakan pengaduk magnetik dengan kecepatan konstan. Suhu dijaga dengan menggunakan *water jacket* pada $37^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ dengan menggunakan air yang dialirkan dari termostat. Suhu $37^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ini menggambarkan suhu tubuh manusia. Suhu harus tetap dijaga karena suhu juga berpengaruh pada banyaknya zat aktif yang dapat terdifusi masuk ke dalam kulit. Semakin tinggi suhu, maka akan semakin banyak zat aktif yang larut dalam kompartemen reseptor sehingga area yang diukur akan semakin besar (Ansel, 1989). Membran harus kontak dengan cairan reseptor agar sediaan yang diaplikasikan pada membran dapat berpenetrasi langsung menembus kulit menuju cairan reseptor.

Karena banyaknya hal secara teknis yang harus diperhatikan dalam uji penetrasi, maka setiap perbedaan perlakuan dapat memberikan hasil yang berbeda. Di samping itu, dapat terurainya vitamin C oleh cahaya menyebabkan selama proses sampel dilindungi dari cahaya. Oleh karena itu, dalam penelitian ini diusahakan untuk mengeliminasi segala kemungkinan-kemungkinan yang dapat mengganggu uji penetrasi dengan cara mengkondisikan perlakuan yang sama pada kedua sediaan tersebut. Kecepatan pengadukan dan pengambilan sampel juga dapat mempengaruhi hasil uji penetrasi. Makin besar kecepatan pengadukan maka obat dalam kompartemen reseptor akan menjadi semakin homogen sehingga diusahakan menggunakan kecepatan yang sama yaitu 300 rpm pada setiap perlakuan. Tempat dan alat pengambilan sampel juga mempengaruhi hasil uji penetrasi. Adanya variasi dalam ketebalan kulit dapat juga memberikan hasil yang berbeda tetapi sedapat mungkin diusahakan ketebalan kulit yang digunakan kurang lebih sama yaitu sekitar 0,6 mm.

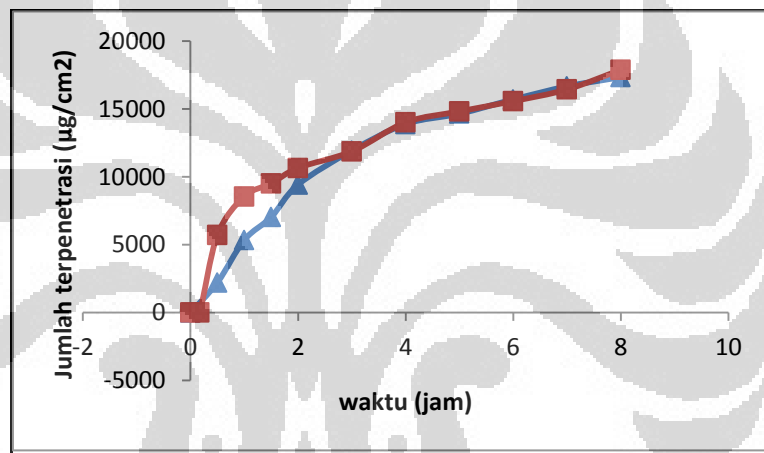
Pengujian dilakukan selama 8 jam dan pengambilan sampel dilakukan sebanyak 10 kali yaitu pada menit ke-30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420,

480. Sampel setiap kali diambil sebanyak 0,5 ml. Setiap kali dilakukan pengambilan sampel larutan kompartemen reseptor diganti kembali sebanyak yang diambil menggunakan larutan dapar fosfat-metanol untuk menjaga volume cairan reseptor tetap konstan selama percobaan. Dalam percobaan difusi, larutan dari kompartemen reseptor dipindahkan dan diganti terus-menerus dengan pelarut baru untuk menjaga konsentrasi selalu rendah. Keadaan ini disebut sebagai suatu keadaan "sink", dimana kompartemen donor sebagai sumber dan kompartemen reseptor sebagai "sink" (Martin & Cammarata, 1993). Selanjutnya dilakukan pengukuran area sampel dengan menggunakan alat *TLC scanner* pada panjang gelombang maksimum vitamin C yaitu pada 261 nm. Untuk setiap formula, uji penetrasi dilakukan sebanyak tiga kali dengan menggunakan serum dan gel vitamin C yang juga disiapkan sebanyak tiga kali.

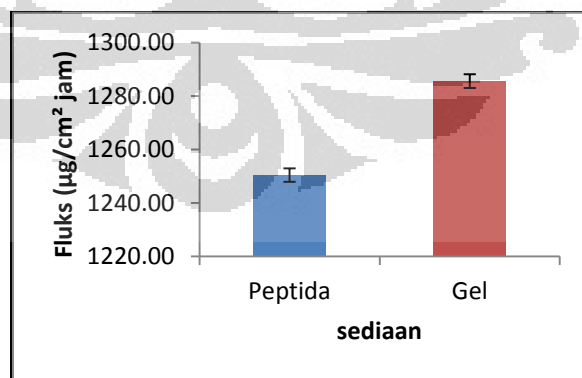
Jumlah kumulatif vitamin C yang terpenetrasi melalui kulit tikus dari sediaan serum vitamin C adalah $17329 \pm 865,55 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ dan dari sediaan gel vitamin C adalah $17869 \pm 606,94 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Presentase jumlah kumulatif vitamin C yang terpenetrasi dari sediaan serum vitamin C adalah $49,98 \pm 2,06\%$ dan dari sediaan gel vitamin C adalah $54,6 \pm 1,44\%$. Fluks vitamin C dari sediaan serum vitamin C adalah $1250,40 \pm 43,58 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \text{ jam}$ dan dari sediaan gel vitamin C adalah $1285,53 \pm 89,09 \mu\text{g}/\text{cm}^2 \text{ jam}$. Cara perhitungan jumlah kumulatif vitamin C terpenetrasi dapat dilihat pada Lampiran 42, dan cara perhitungan fluks dapat dilihat dalam Lampiran 43. Hasil pengujian penetrasi vitamin C dalam larutan dapar fosfat dapat dilihat pada Lampiran 36, sedangkan hasil fluks vitamin C dari ketiga sediaan dapat dilihat pada Lampiran 37. Profil jumlah kumulatif vitamin C terpenetrasi dapat dilihat pada Gambar 4.6 dan Gambar 4.7, dan diagram dan kurva fluks vitamin C dapat dilihat pada Gambar 4.8 dan Gambar 4.9. Gambar skema alat sel difusi Franz dapat dilihat pada Lampiran 19.



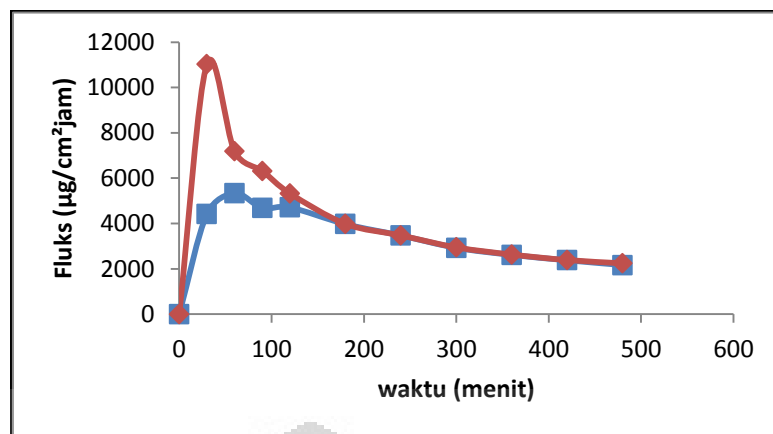
Gambar 4.6 Profil jumlah terpenetrasi masing-masing sediaan, (a) serum;
(b) gel



Gambar 4.7 Profil jumlah terpenetrasi kedua sediaan



Gambar 4.8 Diagram fluks kedua sediaan



Gambar 4.9 Kurva fluks kedua sediaan

Dari hasil, didapatkan bahwa konsentrasi vitamin C yang terpenetrasi lebih tinggi pada sediaan gel tanpa peptida Cu-GHK dibandingkan pada sediaan serum vitamin C. Hal ini menyebabkan hipotesis tidak tepat, karena diharapkan dengan dibuat sediaan serum yang berpeptida, mampu terjadi peningkatan daya penetrasi dari vitamin C. Hal ini dimungkinkan karena terjadi kompetisi antara kedua komponen bioaktif. Pada penelitian sebelumnya, diketahui bahwa vitamin C dapat berperan sebagai peningkat penetrasi, dalam hal ini adalah peningkat penetrasi kafein (Angel, 2008). Baik vitamin C maupun peptida Cu-GHK keduanya mampu meningkatkan penetrasi komponen lain dalam sediaan. Kemungkinan vitamin C adalah peningkat penetrasi yang lebih baik dibandingkan Cu-GHK, sehingga jumlah terpenetrasi peptida Cu-GHK lebih banyak dibandingkan vitamin C. Kompetisi ini membuat jumlah vitamin C yang terpenetrasi dari sediaan yang mengandung peptida Cu-GHK lebih sedikit dibandingkan jumlah vitamin C yang terpenetrasi dari sediaan gel tanpa peptida Cu-GHK.

Penetran terdifusi dari kompartemen donor menuju kompartemen reseptor secara difusi pasif sesuai dengan kaidah hukum Fick. Hukum Fick pertama memberikan aliran (laju difusi melalui satuan luas) dalam aliran pada keadaan tunak (*steady state*). Hukum Fick kedua secara umum menyatakan suatu perubahan dalam konsentrasi difusan terhadap waktu pada setiap jarak, x , yakni suatu aliran keadaan tunak (Martin & Cammarata, 1993).

Mula-mula konsentrasi difusan dalam kompartemen donor akan turun dan konsentrasi difusan dalam kompartemen reseptor akan naik sampai sistem

tersebut mencapai keseimbangan. Bila sistem tersebut telah berada dalam periode waktu yang cukup, konsentrasi difusan dalam kompartemen donor dan kompartemen reseptor menjadi konstan terhadap waktu. Pada penetrasi dalam keadaan tunak, laju hilangnya obat dari pembawa dalam kompartemen donor adalah sama dengan laju berkurangnya obat dalam kompartemen reseptor. Laju penetrasi akan meningkat mencapai puncak, kemudian selanjutnya akan mengalami penurunan. Hal ini terlihat dalam nilai fluks vitamin C yang meningkat pada menit-menit awal, selanjutnya setelah menurun lalu nilai fluks akan meningkat kembali pada waktu yang berbeda. Pada umumnya fluks akan meningkat pada menit ke-120 sampai menit ke-180. Hal ini diduga karena jarak waktu pengambilan sampel yang berubah dari sebelumnya dan belum tercapainya nilai "steady state". Di samping itu, hal ini dikarenakan pada menit tersebut, masih terdapat gradien konsentrasi yang cukup besar antara kompartemen donor dan kompartemen reseptor. Gradien konsentrasi merupakan "driving force" untuk suatu molekul melewati membran secara difusi pasif. Lama-kelamaan gradien konsentrasi akan semakin kecil, setelah mencapai suatu kondisi "steady state" akhirnya nilai fluks akan terus menerus menurun (Martin & Cammarata, 1993). Kondisi "steady state" terlihat sebagai suatu garis mendatar pada kurva fluks yang diplotkan terhadap satuan waktu.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil uji penetrasi secara *in vitro* dengan sel difusi Franz dapat disimpulkan bahwa sediaan vitamin C dalam bentuk gel tanpa peptida memberikan hasil penetrasi lebih tinggi dibandingkan dengan sediaan serum berpeptida Cu-GHK. Kedua sediaan baik serum maupun gel vitamin C yang disimpan pada suhu kamar dan suhu tinggi ($40^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu dapat dinyatakan tidak stabil secara fisik dan kimia, sedangkan penyimpanan pada suhu rendah ($4^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$) stabil secara fisik namun tidak secara kimia.

5.2 Saran

1. Perlu dibuat sediaan serum vitamin C dengan menggunakan jenis peptida yang lain.
2. Perlu dibuat sediaan serum Cu-GHK dengan menggunakan komponen bioaktif lain selain vitamin C.

DAFTAR ACUAN

- Angel. (2008). *Pengaruh Natrium Askorbat dan Tokoferol Asetat Terhadap Penetrasi Kafein Dalam Sediaan Krim Antiselulit Secara In Vitro Dengan Menggunakan Sel Difusi Franz*. Skripsi Sarjana Farmasi. Depok: FMIPA UI.
- Ansel, Howard C. (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi* (Ed. Ke-4) (Farida Ibrahim, Penerjemah). Jakarta: UI Press.
- Ansel, H. C. dan Prince, Shelly J. (2006). *Kalkuasi Farmasetik : Panduan Untuk Apoteker*. (Cucu Aisyah dan Ella Elviana, Penerjemah). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Attwood, D. dan Alexander T. F. (2008). *Physical Pharmacy*. London: Pharmaceutical Press.
- Berg, R.A. & Prockop, D.J. (1973). The thermal transition of a nonhydroxylated form of collagen: evidence for the role of hydroxylproline in stabilizing the triple helix of collagen. *Biochem Biophys Res Commun*, 52, 115-20.
- Bissett, D.L., Chatterjee, R., & Hannon, D.P. (1990). Photoprotective effect of superoxide-scavenging antioxidants against ultraviolet radiation-induced chronic skin damage in the hairless mouse. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 7, 56-62.
- Conato, Chiara, *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.
- Colven, R.M. & Pinnell, S.R. (1996). Topical vitamin C in aging. *Clin Dermatol*, 14, 227-34.
- Dehm, P. & Prockop, D.J. (1971). Synthesis and extrusion of collagen by freshly isolated cells from chick embryo tendon. *Biochim Biophys Acta*, 238, 536-46.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1979). *Farmakope Indonesia Edisi III*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

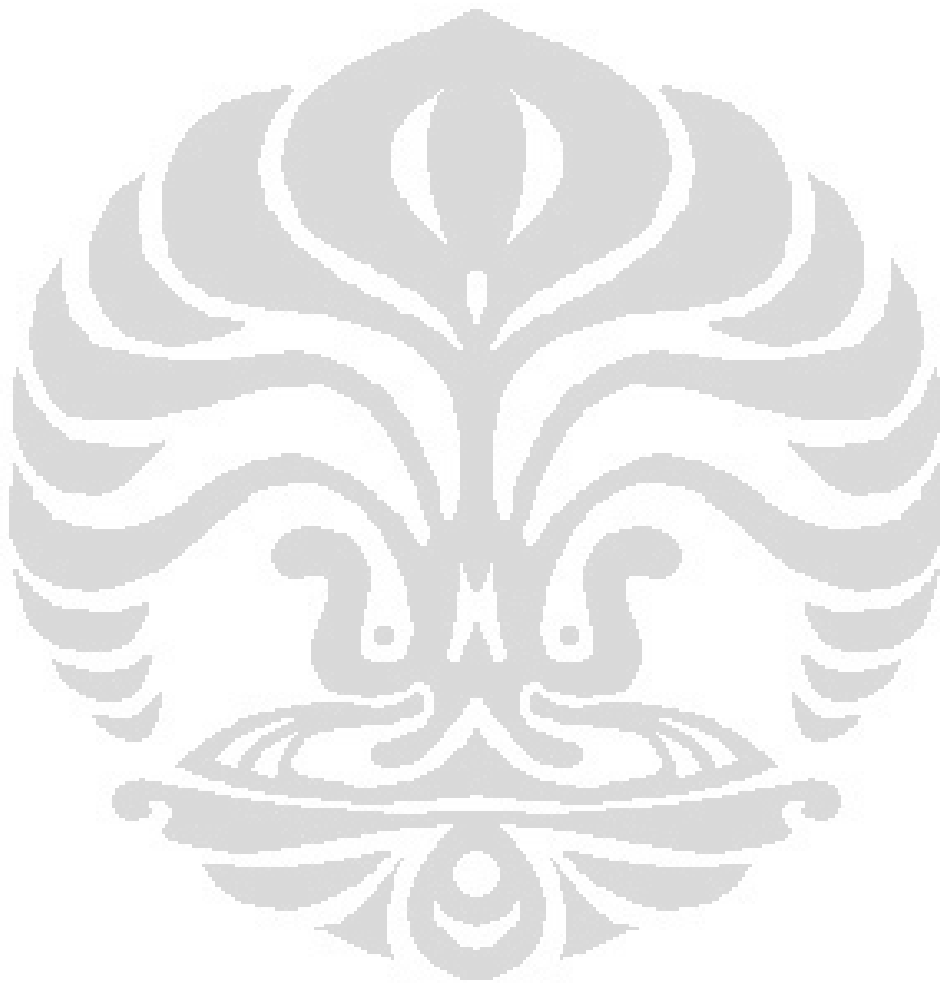
- Dian, AL. (2008). *Penetapan Kadar Askorbil Fosfat dan Asam Askorbat dalam Larutan Topikal Vitamin C secara Kromatografi Lapis Tipis Densitometri*. Skripsi Sarjana Farmasi. Depok: FMIPA UI.
- Djajadisastra, J. (2004). *Cosmetic Stability*. Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Depok: Seminar Setengah Hari HIKI.
- Draelos, Z.D. (2010). *Cosmetic Dermatology Products and Procedures*. West Sussex: Wiley-Blackwell.
- Gerasimos, Tsivgoulis M., Pantelis, A., Afroudakis, & Panayiotis, V. Ioannou. (2003). Preparation of dehydro-L-(+)-ascorbic acid dimer by oxidation of ascorbic acid with arsenic acid/iodine and formation of complexes between arsenious acid and ascorbic acid. Greece: Department of Chemistry, University of Patras.
- Eriksson, H.J.C., et al. (2003). *Investigation into the Stabilisation of Drugs by Sugar Glasses* (ed. Ketiga). *Pharmaceutical Research* 20 (9) : 1437-1443.
- Finkley, M.B., Appa, Y., & Bhandarkar, S. (2005). Copper Peptide and Skin. *Cosmeceuticals and Active Cosmetic* (2nd Edition). P. Eisner and Hl. Maibach (Eds.) Marcel Dekker, New York, 549-563.
- Hahn-Deinstrop, E. (2007). *Applied Thin-Layer Chromatography; Best Practice and Avoidance of Mistakes; Second, Revised and Enlarged Edition*, diterjemahkan oleh R. G. Leach. Weinheim, Germany: WILEY-VCH Verlag GmbH.
- Hinrichs, W.L., Prinsen, M.G., & Frijlink, H.W. (2001). Inulin Glasses for the Stabilisation of Therapeutic Proteins. *International Journal of Pharmaceutics*, 251, 163-174.
- Katdare, Ashok, Chaubal, & Mahesh V. (2006). Exipient Development for Pharmaceutical, Biotechnology, and Drug Delivery System. *Informa Healthcare USA, Inc.*, New York, 291-300.
- Leyden, J., Stephens, T., Finkey, M.B., Appa, Y., & Barkovic, S. (2002). Skin Care Benefits of Copper Peptide Containing Facial Cream. *Amer Academy Dermat Meeting*, 68.
- Leswara, Nelly Dhevita. (2005). *Buku Ajar Kimia Organik*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI.

- Lund, W. (1994). *The Pharmaceutical Codex*, 12th edition. London: The Pharmaceutical Press.
- Lupo, Mary P. (2001). Antioxidants and Vitamins in Cosmetics. *Dermatology*, 19, 467-473.
- Maia, Adriana M., *et al.* (2006). Influence of sodiummetabisulfite and glutathione on the stability of vitamin C in O/W emulsion and extemporaneous aqueous gel. *Pharmaceutical Sciences*, 322, 130-135.
- Martin, A., Swarbick, J., & Cammarata, A. (1983). *Farmasi Fisik* Jilid II edisi ketiga terj. dari Physical Pharmacy oleh Joshita. Jakarta: UI Press.
- Mazurowska, Lena & Mojski, Mirosław . (2006). ESI-MS study of the mechanism of glycyl-l-histidyl-l-lysine-Cu(II) complex transport through model membrane of stratum corneum. Faculty of Chemistry, Warsaw University of Technology, Noakowskiego 3, 00-664 Warsaw, Poland.
- Mitsui, Takeo. (Ed.). (1996). *New Cosmetic Science*. Amsterdam : Elsevier.
- Moffat, Anthony C., Osselton, M David, & Widdop, Brian. (2005). *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons* (ed Ketiga). Pharmaceutical Press.
- Moore, Wilkinson. (1982). *Harry's Cosmeticology* (7th ed.). George London : Godwin, 3-6, 247-254.
- Pickart, L. (2008). The human tri-peptide GHK and tissue remodeling. *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, 19(8), 969-988.
- Pickart, L. & Margolina, A. (2008). GHK-Copper Peptide in Skin Remodeling and Anti-Aging. *Skin Biology*, 136, 1-9.
- Pickart, L. & Thaler, M.M. (1973). Tripeptide in human serum which prolongs survival of normal liver cells and stimulates growth in neoplastic liver. *Nature - New Biology*, 243, 85-7.
- Pickart, L. (1983). The biological effects and mechanism of the plasma tripeptide Glycyl-L-Histidyl-L-Lysine. *Lymphokines*, 8, 425-44.
- Ronchetti, I.P., Quaglino, D Jr., & Bergamini, G. (1996). Ascorbic acid and connective tissue. *Biochemistry and biomedical cell biology*. New York (NY): Plenum Press, 41.

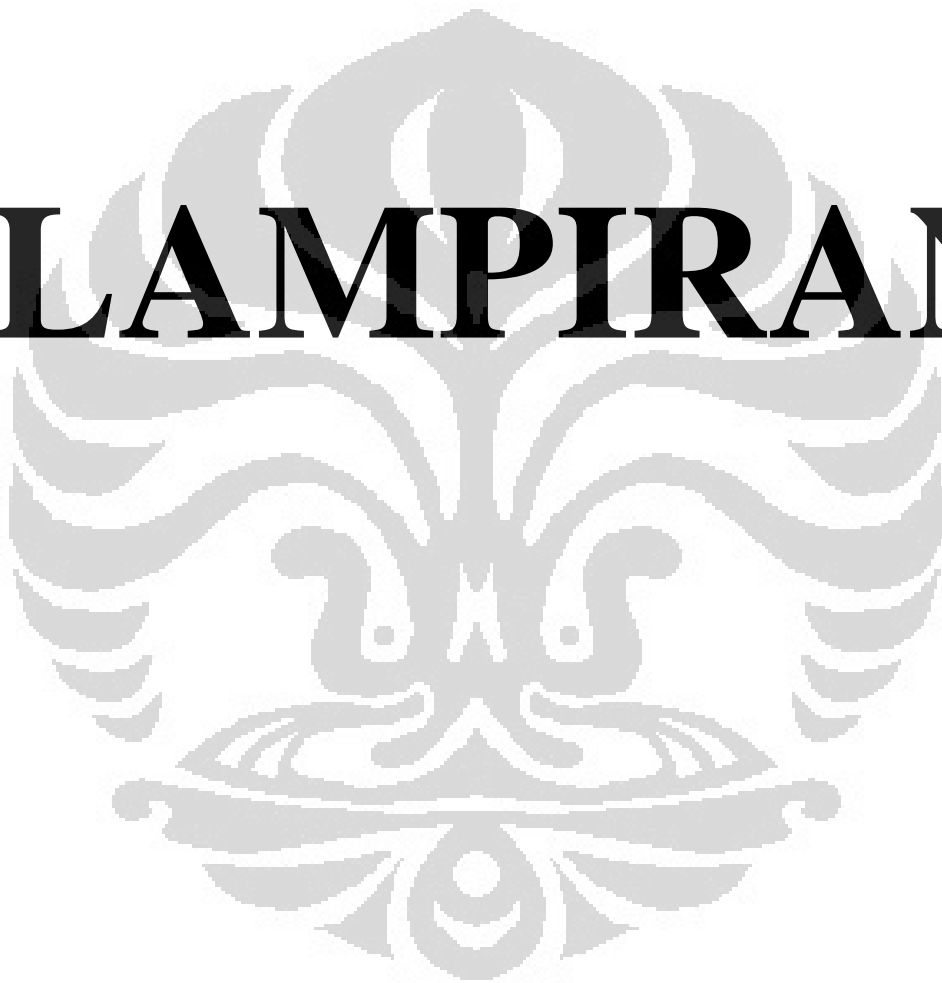
- Roomi, M. W., and C. S. Tsao. (1998). Thin-Layer Chromatographic Separation of Isomers of Ascorbic Acid and Dehydroascorbic Acid as Sodium Borate Complexes on Silica Gel and Cellulose Plates. *J. Agric. Food Chem*, 46, 1406-1409.
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J., & Quinn, M.E. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (6th ed.). Grayslake: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association.
- Rafika, Sari. (2010). *Penetapan Kadar Askorbil Fosfat dan Asam Askorbat dalam Larutan Topikal Vitamin C secara Kromatografi Lapis Tipis Densitometri*. Skripsi Sarjana Farmasi. Depok: FMIPA UI.
- Secchi, Gianfranco. (2008). Role of protein in cosmetics. *Clinics in Dermatology*, 26, 321–325.
- Sherma, J. dan Bernard F.(2003). *Handbook of Thin-Layer Chromatography third edition*. New York: Marcel Dekker.
- Simeon, A., Monier, F., Emonard, H., Wegrowski, Y., Bellon, G., Monboisse, J.C., Gillery, P., Hornebeck, W., & Maquart, F.X. (1999). Fibroblast-cytokine-extracellular matrix interactions in wound repair. *Current Topics in Pathology*, 93, 95-101.
- Striegel, M. F. dan Hill, Jo. (1996). *Thin Layer for Binding Media Analysis*. Los Angeles: The Getty Conservation Institute.
- Thakker, Kailas D. & Chern, Wendy H. (2003). Development and Validation of In Vitro Release Tests for Semisolid Dosage Forms—Case Study. *Dissolution Technology*, 10-15.
- United States Pharmacopoeia* (30th Edition). (2007).USA: The Official Compendia of Standards.
- Vernin, G., *et al.* (1998). Thermal decomposition of ascorbic acid 1. *Carbohydrate Research*, 305, 1-15.
- Wenstrup, R.J., Murad, S., & Pinnell, S.R. (1989). Ehlers-Danlos syndrome type VI: clinical manifestations of collagen lysyl hydroxylase deficiency. *J Pediatr*, 115, 405-9.
- Williams, Adrian C. & Barry, Brian W. (2007). *Enhancement in Drug Delivery*. USA: CRC Press.

Witt, Krista & Bucks, Daniel. (2003). Studying In Vitro Skin Penetration and Drug Release to Optimize Dermatological Formulations. *Pharmaceutical Technology*, Advanstar USA.

Zelles, T., Purushotham, K.R., Macauley, S.P., Oxford, G.E., & Humphreys-Beher, M.G. (1995). Saliva and growth factors: the fountain of youth resides in us all. *J Dent Res*, 74(12), 1826-32.



LAMPIRAN

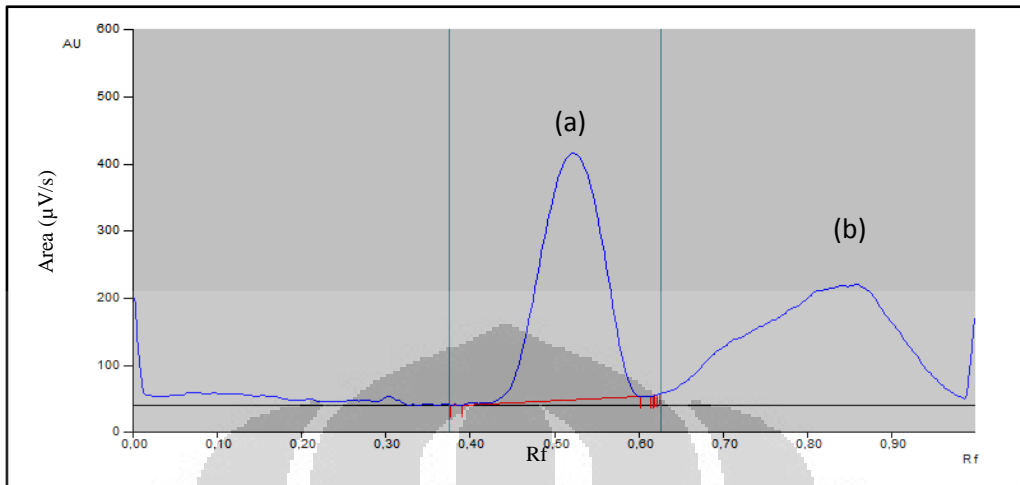




Daftar Lampiran

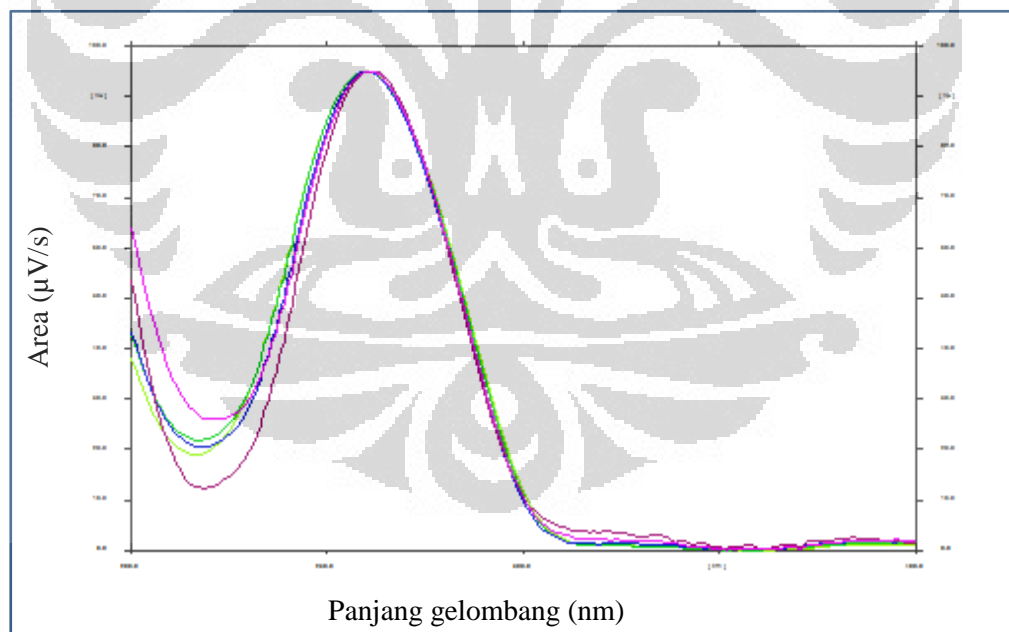
1. Lampiran gambar
1. Lampiran tabel
2. Lampiran contoh perhitungan
3. Lampiran sertifikat analisis

Lampiran 1. Densitogram pemisahan asam askorbat dengan asam dehidroaskorbat



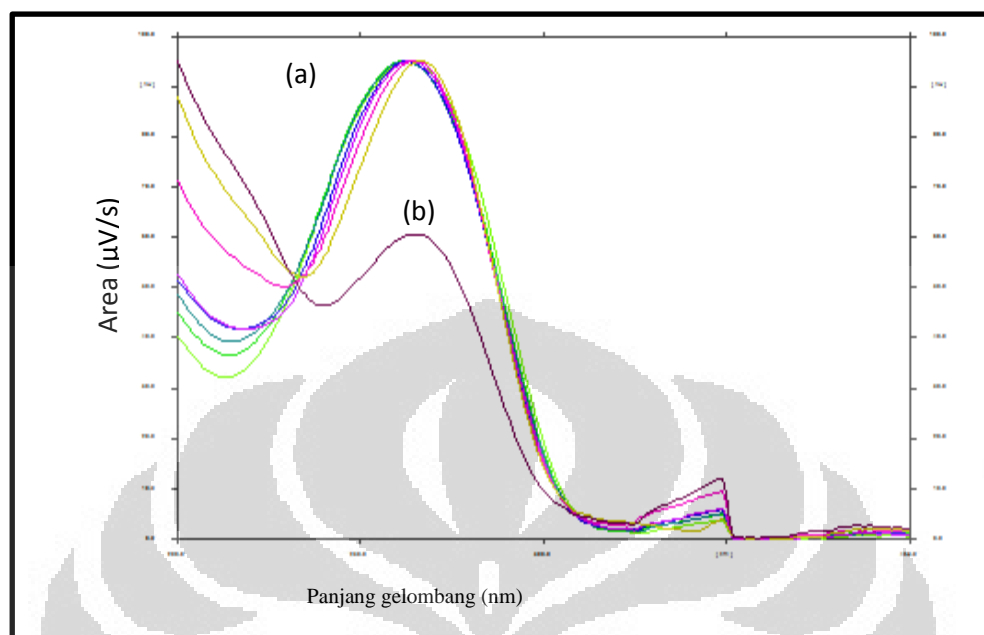
Keterangan: Kondisi fase gerak butanol-asetat-air (3:1:1) pada panjang gelombang 261 nm, (a) asam askorbat; (b) asam dehidroaskorbat

Lampiran 2. Spektrum serapan bercak asam askorbat



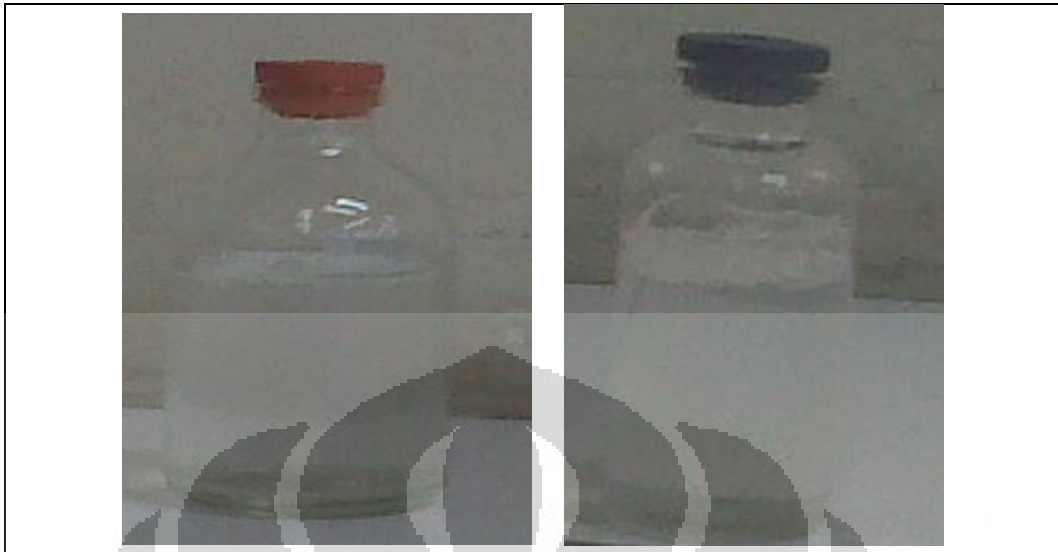
Keterangan: Spektrum serapan larutan asam askorbat 100, 200, 300, 400, dan 500 ppm dalam pelarut metanol, panjang gelombang optimum 261 nm.

Lampiran 3. Spektrum serapan bercak asam dehidroaskorbat



Keterangan: Perbandingan spektrumserapan asam askorbat (a) dalam pelarut metanol dan asam dehidroaskorbat (b), dengan panjang gelombang analisis 261 nm. Didapatkan panjang gelombang optimum asam askorbat adalah 261 nm dan panjang gelombang optimum asam dehidroaskorbat adalah 267 nm.

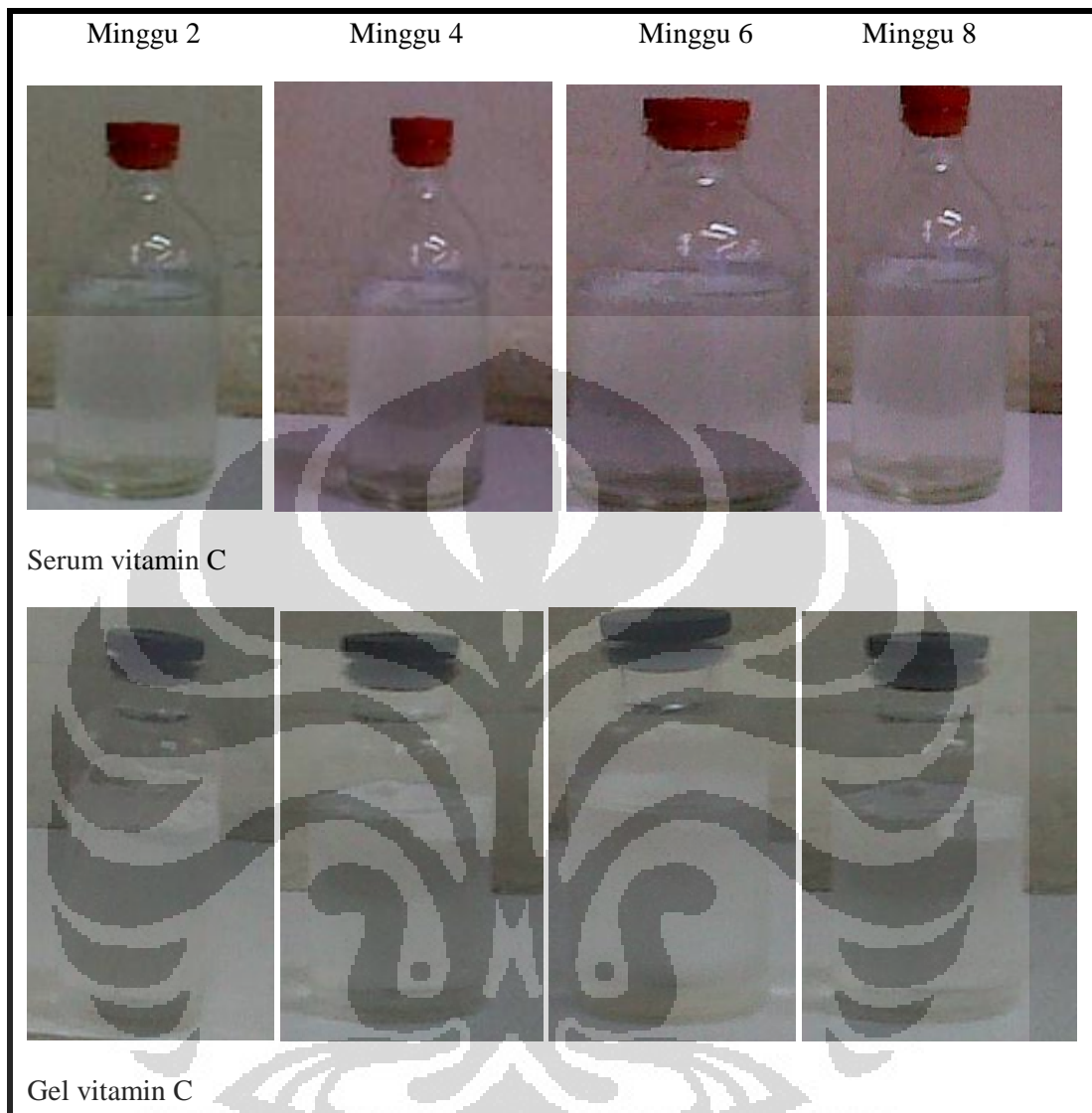
Lampiran 4. Foto organoleptis kedua formula pada minggu ke-0



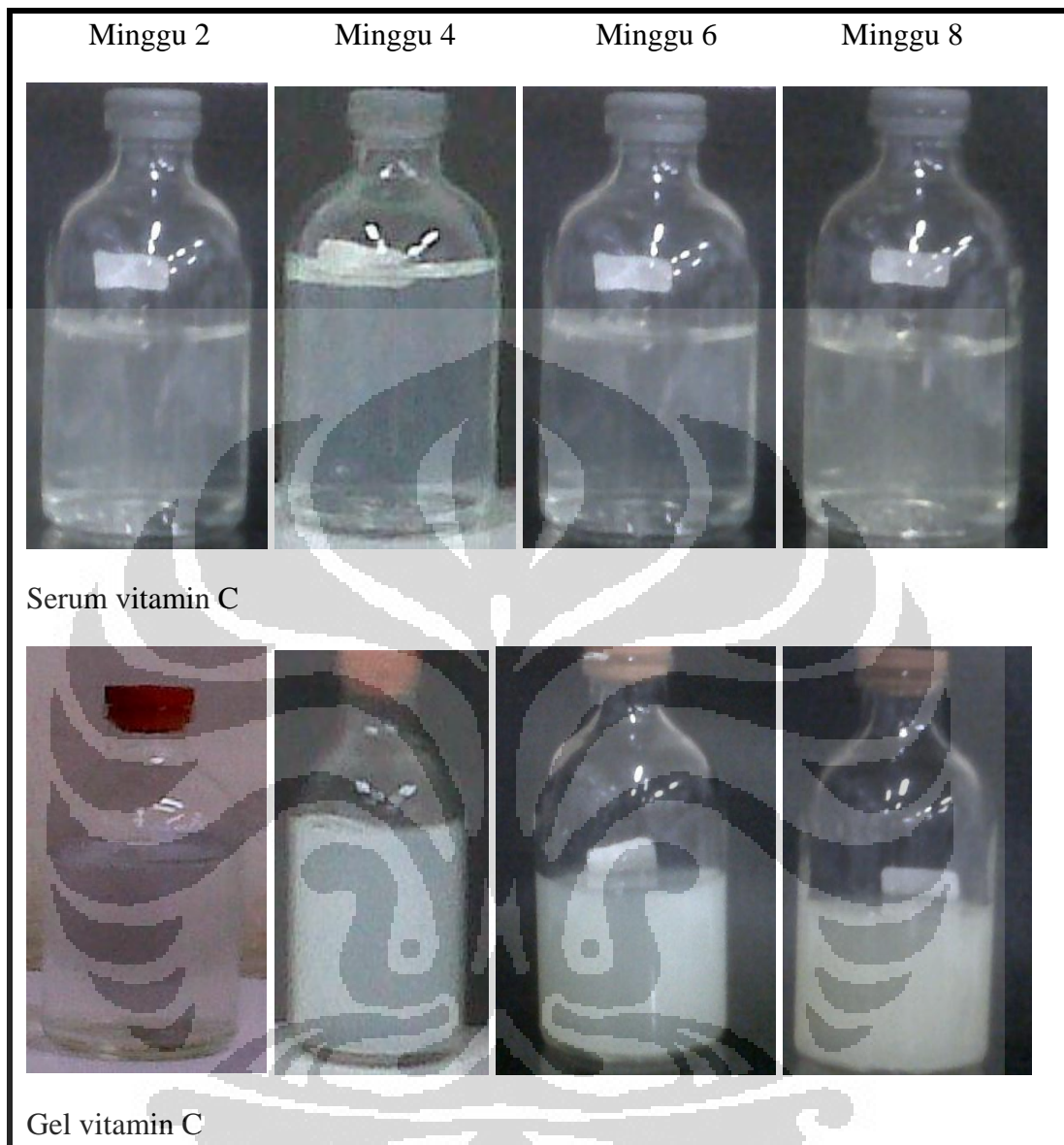
Gel Vitamin C

Serum vitamin C

Lampiran 5. Foto hasil pengamatan organoleptis suhu rendah selama 8 minggu



Lampiran 6. Foto hasil pengamatan organoleptis suhu kamar selama 8 minggu



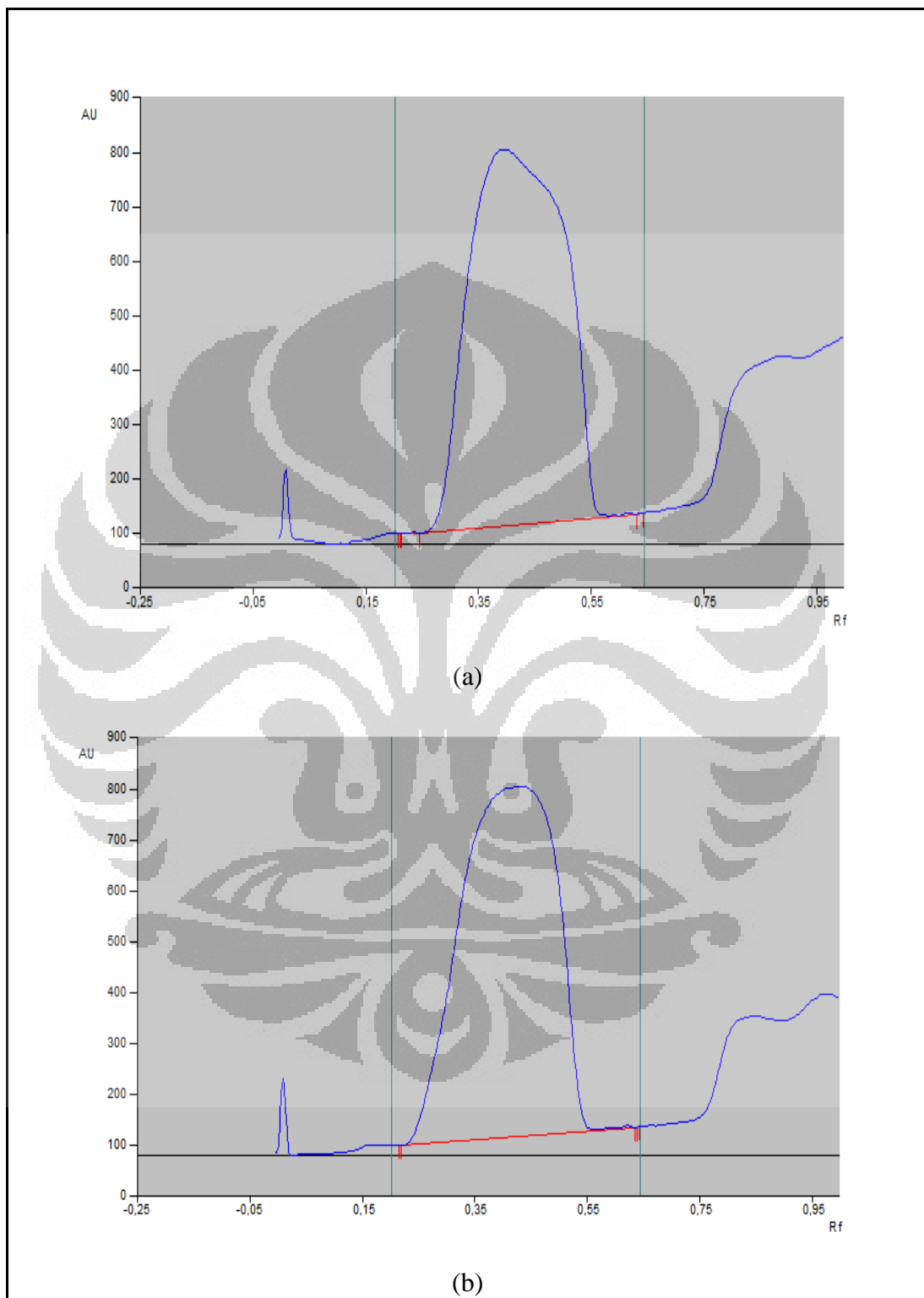
Lampiran 7. Foto hasil pengamatan organoleptis suhu tinggi selama 8 minggu



Lampiran 8. Foto hasil pengamatan *cycling test*

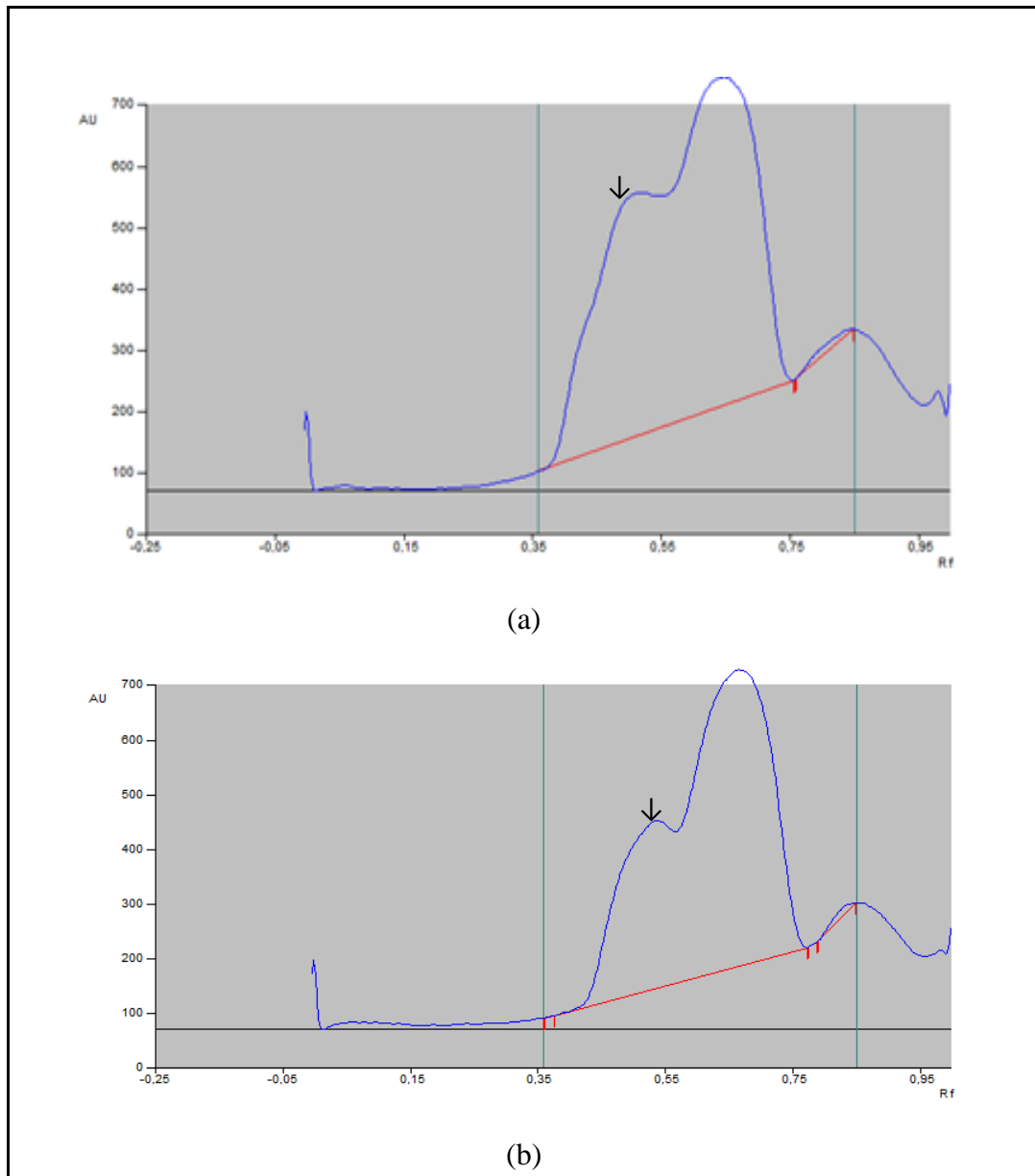


Lampiran 9. Contoh densitogram hasil uji stabilitas kimia suhu rendah minggu ke-2



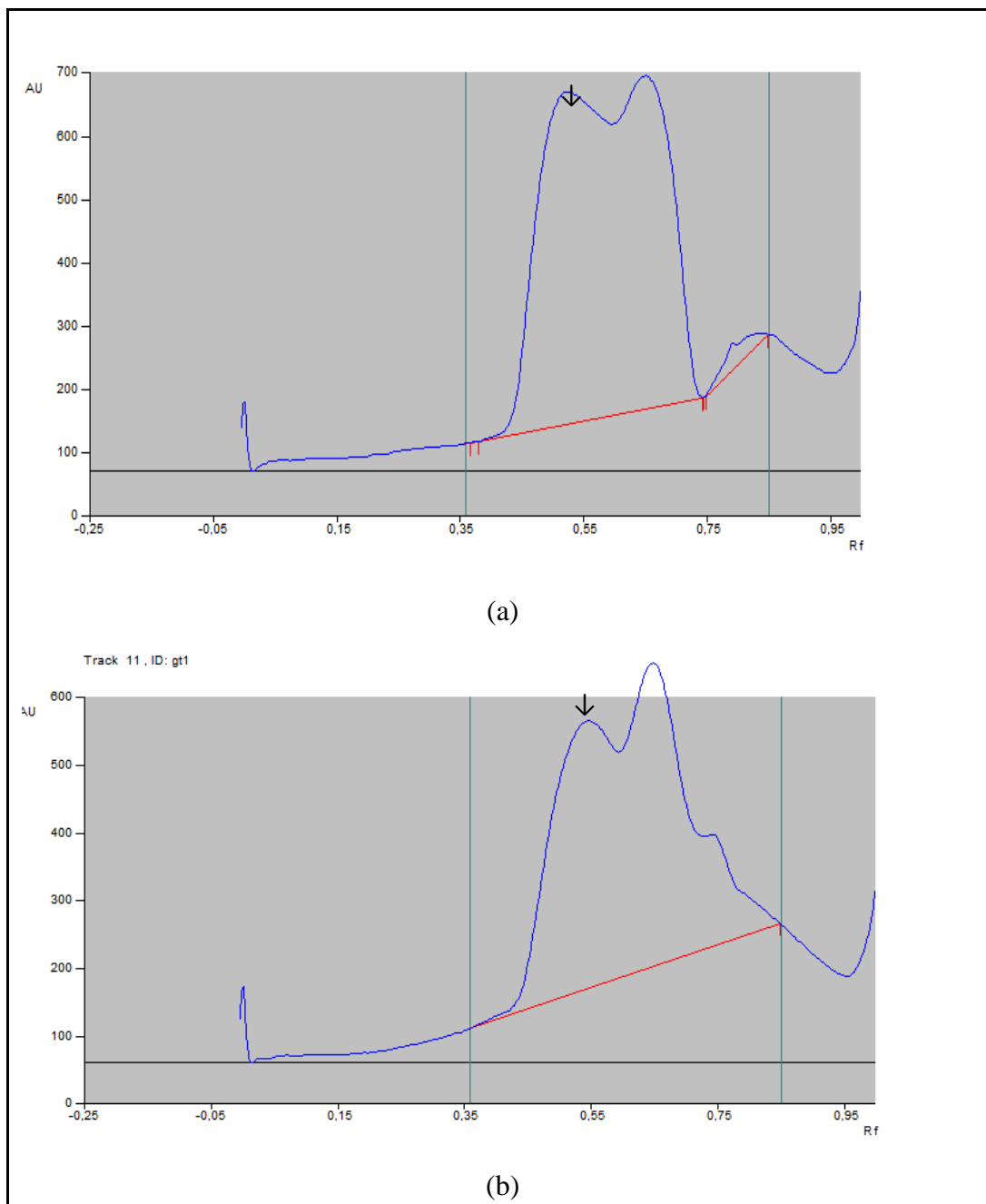
Keterangan: gel vitamin C, pelarut metanol, panjang gelombang 261 nm, area (a) serum vitamin C = 54583,83 AU dan (b) gel vitamin C = 55405,89 AU.

Lampiran 10. Contoh densitogram hasil uji stabilitas kimia suhu kamar minggu ke-2

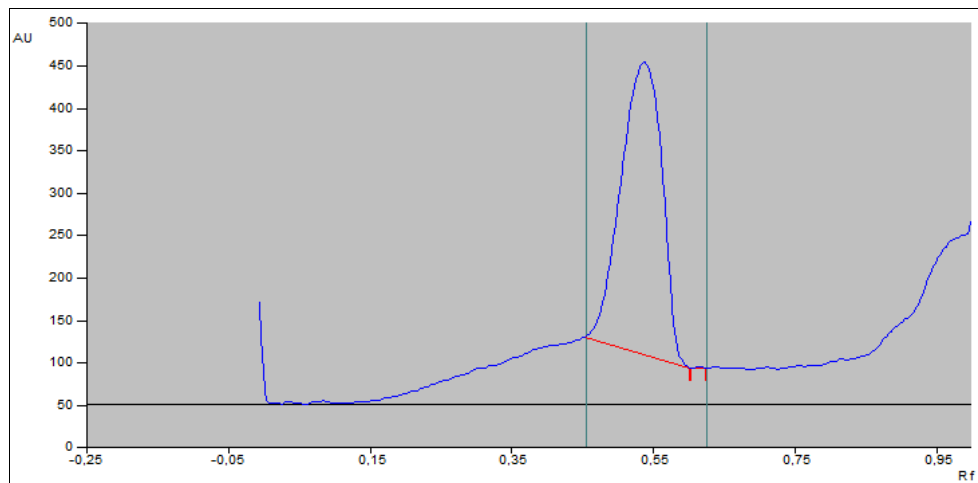


Keterangan: gel vitamin C, pelarut metanol, panjang gelombang 261 nm, area (a) serum vitamin C = 30110,36 AU dan (b) gel vitamin C = 30125,59 AU.

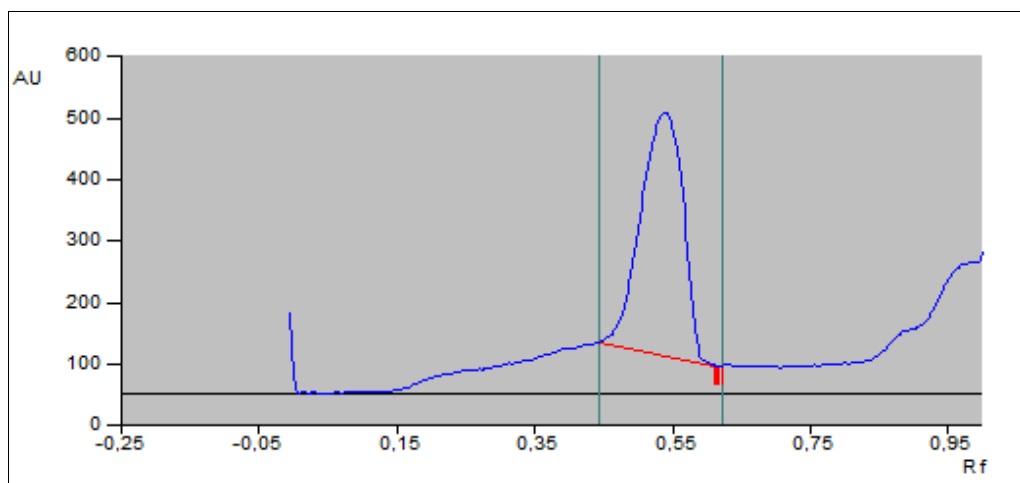
Lampiran 11. Contoh densitogram hasil uji stabilitas kimia suhu tinggi minggu ke-2



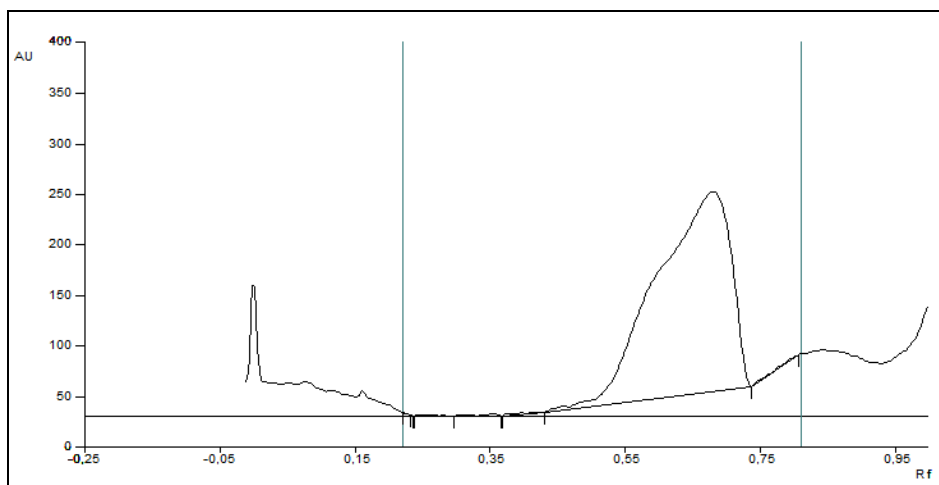
Keterangan: gel vitamin C, pelarut metanol, panjang gelombang 261 nm, area (a) serum vitamin C = 21152,66 AU dan (b) gel vitamin C = 21360,00 AU.

Lampiran 12. Densitogram uji penetapan kandungan serum vitamin C

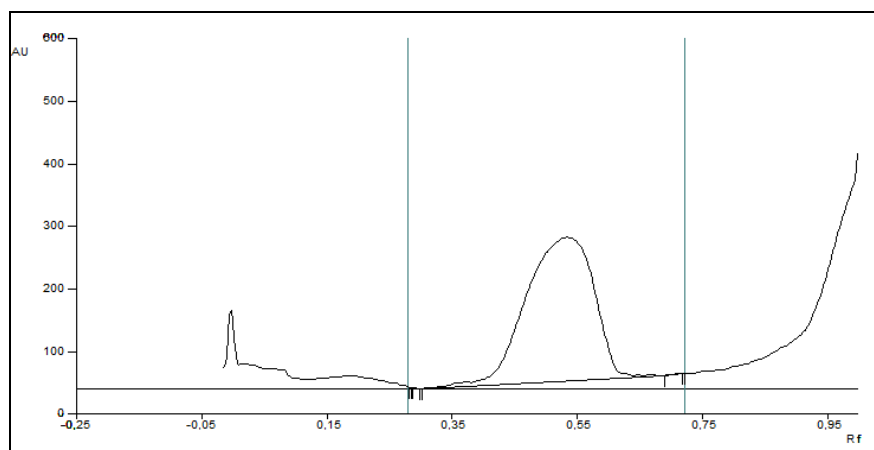
Keterangan: kondisi fase gerak butanol-asetat-air (3:1:1), pelarut metanol, panjang gelombang 261 nm

Lampiran 13. Densitogram uji penetapan kandungan gel vitamin C

Keterangan: kondisi fase gerak butanol-asetat-air (3:1:1), pelarut metanol, panjang gelombang 261 nm.

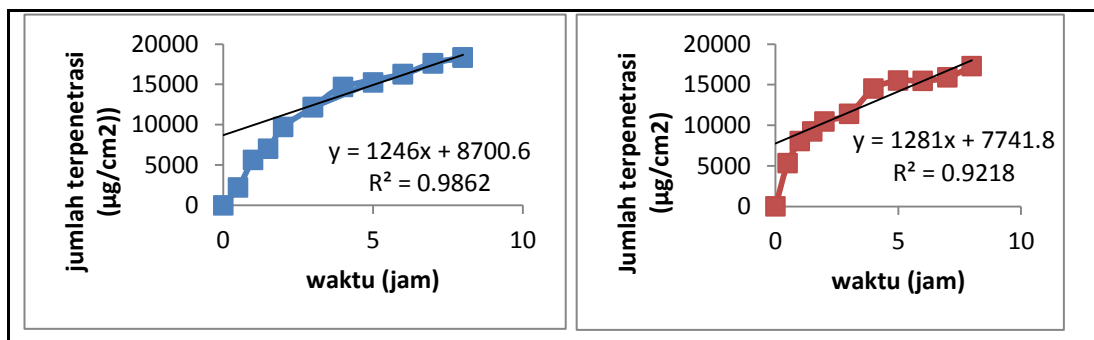
Lampiran 14. Contoh densitogram uji penetrasi serum vitamin C menit ke-60

Keterangan: kondisi fase gerak butanol-asetat-air (3:1:1), panjang gelombang 261 nm., area = 10063,71 AU

Lampiran 15. Contoh densitogram uji penetrasi gel vitamin C menit ke-60

Keterangan: kondisi fase gerak butanol-asetat-air (3:1:1), panjang gelombang 261 nm., area = 11403,61 AU

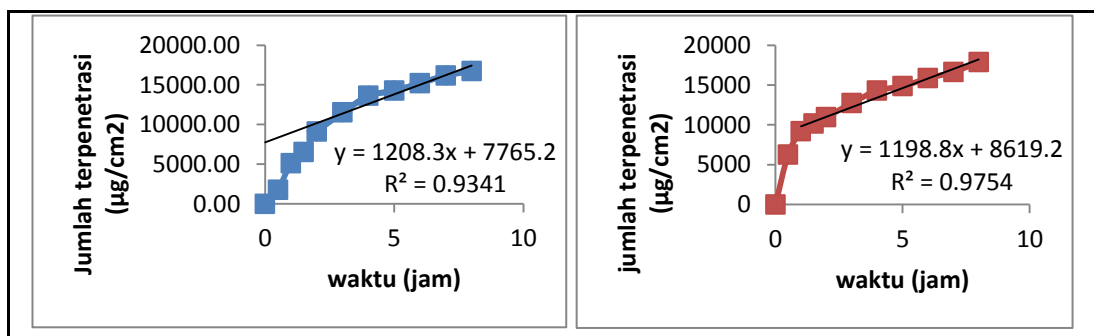
Lampiran 16. Jumlah kumulatif vitamin C yang terpenetrasi per satuan luas membran percobaan 1 dari sediaan (a) serum dan (b) gel



(a)

(b)

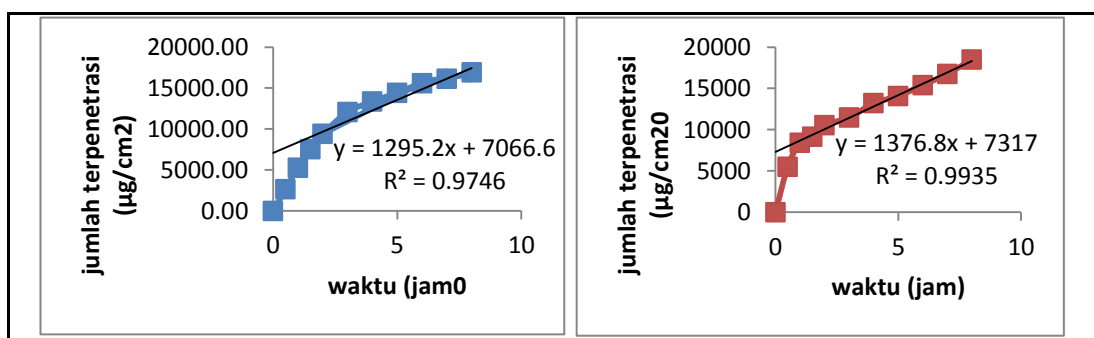
Lampiran 17. Jumlah kumulatif vitamin C yang terpenetrasi per satuan luas membran percobaan 2 dari sediaan (a) serum dan (b) gel



(a)

(b)

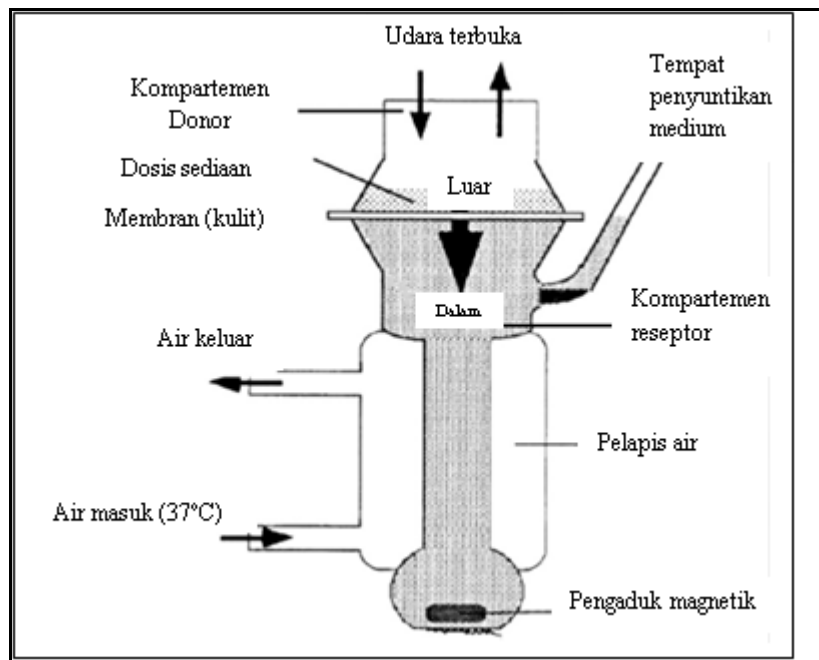
Lampiran 18. Jumlah kumulatif vitamin C yang terpenetrasi per satuan luas membran percobaan 3 dari sediaan (a) serum dan (b) gel



(a)

(b)

Lampiran 19. Gambar skema alat sel difusi Franz (telah diolah kembali)



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

Lampiran 20. Data kurva kalibrasi vitamin C

Konsentrasi (μg)	Area (AU)
2,204	7026,81
2,755	8974,74
3,306	10373,02
4,408	13365,85
6,612	20559,86
8,816	27418
9,918	30848,14

Lampiran 21. Daftar faktor retardasi asam askorbat dan asam dehidroaskorbat

Senyawa	Rf	Maksimum Rf	Minimum Rf	Panjang gelombang (nm)
Asam askorbat	0,56	0,6	0,4	261
Asam dehidroaskorbat	0,85	0,9	0,7	267

Lampiran 22. Hasil pengamatan organoleptis kedua formula pada minggu ke-0

Sediaan	Warna	Kejernihan	Pemisahan	Bau
Serum vitamin C	Tidak berwarna	Ya	Tidak	Vitamin C
Gel vitamin C	Tidak berwarna	Ya	Tidak	Vitamin C

Lampiran 23. Hasil pengamatan organoleptis suhu rendah selama 8 minggu

Sediaan	Minggu ke-	Warna	Kejernihan	Pemisahan	Bau
Serum vitamin C	2	Tidak berwarna	Ya	Tidak	Vitamin C
	4	Tidak berwarna	Ya	Tidak	Vitamin C
	6	Tidak berwarna	Ya	Tidak	Vitamin C
	8	Tidak berwarna	Ya	Tidak	Vitamin C
Gel vitamin C	2	Tidak berwarna	Ya	Tidak	Vitamin C
	4	Tidak berwarna	Ya	Tidak	Vitamin C
	6	Tidak berwarna	Ya	Tidak	Vitamin C
	8	Tidak berwarna	Ya	Tidak	Vitamin C

Lampiran 24. Hasil pengamatan organoleptis kedua formula pada penyimpanan suhu ruang ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu

Sediaan	Minggu ke-	Warna	Kejernihan	Pemisahan	Bau
Serum vitamin C	2	Tidak berwarna	Ya	Tidak	Vitamin C
	4	Tidak berwarna	Ya	Tidak	Vitamin C
	6	Kuning	Ya	Tidak	Vitamin C
	8	Kuning	Ya	Tidak	Vitamin C
Gel vitamin C	2	Tidak berwarna	Ya	Tidak	Vitamin C
	4	Tidak berwarna	Ya	Tidak	Vitamin C
	6	Kuning	Ya	Tidak	Vitamin C
	8	Kuning	Ya	Tidak	Vitamin C

Lampiran 25. Hasil pengamatan organoleptis kedua formula pada penyimpanan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu

Sediaan	Minggu ke-	Warna	Kejernihan	Pemisahan	Bau
Serum vitamin C	2	Kuning	Ya	Ya	Vitamin C
	4	Kuning	Ya	Ya	Vitamin C
	6	Kuning	Ya	Ya	Vitamin C
	8	Kuning	Ya	Ya	Vitamin C
Gel vitamin C	2	Kuning	Ya	Ya	Vitamin C
	4	Kuning	Ya	Ya	Vitamin C
	6	Kuning	Ya	Ya	Vitamin C
	8	Kuning	Ya	Ya	Vitamin C

Lampiran 20. Hasil perhitungan viskositas minggu ke-0

Jenis Bola	Sb	Sediaan	t				B	Sf	η				Rata-rata
			1	2	3	4			1	2	3	4	
Gelas boron silika	2,224	Serum vitamin C	101,66	100,98	100,19	101,46	0,0529	1,0897	6,1000	6,05445	6,0118	6,0881	6,0636
		Gel vitamin C	117,25	116,1	115,54	117,38		1,0961	6,9958	6,9272	6,9958	7,0035	6,9806

Keterangan: η = viskositas sediaan (mPa.s (cps)); t = waktu interval (detik); Sb = gravitasi jenis bola (g/cm^3); Sf = gravitasi jenis cairan (g/cm^3); B = konstanta bola ($\text{mPa.s. cm}^3/\text{g.s}$)

Lampiran 21. Hasil perhitungan viskositas minggu ke-8

Jenis Bola	Sb	Sediaan	t				B	Sf	η				Rata-rata
			1	2	3	4			1	2	3	4	
Gelas boron silika	2,224	Serum vitamin C	174,9	182,2	159,6	174,2	0,0529	1,0897	10,4947	10,9328	9,5767	10,4528	10,3642
		Gel vitamin C	174,9	182,2	196,0	159,6			1,0961	10,4356	10,8711	11,6945	

Keterangan: η = viskositas sediaan (mPa.s (cps)); t = waktu interval (detik); Sb = gravitasi jenis bola (g/cm^3); Sf = gravitasi jenis cairan (g/cm^3); B = konstanta bola ($\text{mPa.s. cm}^3/\text{g.s}$)

Lampiran 28. Hasil pengukuran pH kondisi suhu rendah selama 8 minggu

Minggu ke-	pH sediaan	
	Serum vitamin C	Gel vitamin C
2	3,70	3,70
4	3,60	3,73
6	3,59	3,70
8	3,52	3,64

Lampiran 29. Hasil pengukuran pH kedua formula pada penyimpanan suhu ruang ($28 \pm 2^\circ\text{C}$) selama 8 minggu

Minggu ke-	pH sediaan	
	Serum vitamin C	Gel vitamin C
2	3,60	3,70
4	3,63	3,87
6	3,57	3,87
8	3,47	3,67

Lampiran 30. Hasil pengukuran pH kedua formula pada penyimpanan suhu tinggi ($40 \pm 2^\circ\text{C}$) selama 8 minggu

Minggu ke-	pH sediaan	
	Serum vitamin C	Gel vitamin C
2	3,69	3,64
4	3,60	3,73
6	3,84	3,72
8	3,37	3,63

Lampiran 31. Hasil pengamatan kedua formula setelah dilakukan *cycling test*

Sediaan	Warna	Kejernihan	Pemisahan	Bau
Serum vitamin C	Tidak berwarna	Ya	Tidak	Vitamin C
Gel vitamin C	Tidak berwarna	Ya	Tidak	Vitamin C

Lampiran 32. Hasil uji stabilitas kimia kondisi suhu rendah selama 8 minggu

Minggu ke-	Kadar sediaan (%)	
	Serum vitamin C	Gel vitamin C
2	3,4420	3,4698
4	2,1395	2,1632
6	1,3535	1,4180
8	0,6023	0,7376

Lampiran 33. Hasil uji stabilitas kimia kondisi suhu kamar selama 8 minggu

Minggu ke-	Kadar sediaan (%)	
	Serum vitamin C	Gel vitamin C
2	1,9675	2,0599
4	1,6770	1,8454
6	0,6247	0,9174
8	0,3184	0,3272

Lampiran 34. Hasil uji stabilitas kimia kondisi suhu tinggi selama 8 minggu

Minggu ke-	Kadar sediaan	
	Serum vitamin C	Gel vitamin C
2	1,2308	1,3644
4	0,2492	0,2812
6	0,0388	0,0791
8	0,00	0,00

Lampiran 35. Data uji perolehan kembali

Sediaan	Konsentrasi (µg)	Area	UPK (%)	Rata-rata (%)
Serum vitamin C	10,02	32017,80	102,78	98,18
	10,26	25551,13	80,16	
	10,18	35338,38	111,60	
Gel vitamin C	10,12	30429,52	96,64	102,71
	10,01	29216,87	93,82	
	10,34	37844,05	117,66	

Lampiran 36. Hasil uji penetrasi vitamin C dalam larutan penerima dapar fosfat-metanol dari kedua sediaan

Waktu (Menit)	Jumlah Vitamin C terpenetrasi (µg/cm ²)	
	Serum vitamin C	Gel vitamin C
30	2209 ± 427,51	5707± 499,97
60	5337 ± 262,62	8543± 593,90
90	7028 ± 512,23	9502± 553,74
120	9417 ± 306,45	10651± 272,52
180	11923 ± 360,65	11869± 745,43
240	13880 ± 707,43	14002± 704,17
300	14639 ± 506,94	14811± 704,54
360	15693 ± 538,93	15566± 242,15
420	16654 ± 852,26	16429± 477,13
480	17329 ± 865,55	17869± 606,94

Lampiran 37. Hasil perhitungan fluks vitamin C tiap waktu pengambilan dari kedua sediaan berdasarkan uji penetrasi selama 8 jam

Waktu (Menit)	Fluks Vitamin C ($\mu\text{g cm}^{-2}\text{ jam}^{-1}$)	
	Serum vitamin C	Gel vitamin C
30	4418 \pm 855,01	11020 \pm 527,32
60	5337 \pm 2688,41621	7179 \pm 775,29
90	4685 \pm 341,49	6314 \pm 386,17
120	4709 \pm 153,23	5325 \pm 136,26
180	3974 \pm 120,22	3987 \pm 224,16
240	3470 \pm 176,86	3473 \pm 150,97
300	2928 \pm 101,39	2947 \pm 120,36
360	2615 \pm 89,82	2631 \pm 60,98
420	2379 \pm 121,75	2390 \pm 10,27
480	2166 \pm 108,19	2245 \pm 59,36

Lampiran 38. Hasil jumlah kumulatif vitamin C yang terpenetrasi, persentase jumlah kumulatif vitamin C yang terpenetrasi dan fluks vitamin C dari kedua sediaan berdasarkan uji penetrasi selama 8 jam

Sediaan	Jumlah kumulatif Vitamin C yang terpenetrasi ($\mu\text{g/cm}^2$)	% jumlah kumulatif vitamin C yang terpenetrasi	Fluks ($\mu\text{g/cm}^2\text{ jam}$)
Serum vitamin C	17329 \pm 865,55	49,98 \pm 2,06	2166 \pm 108,19
Gel vitamin C	17869 \pm 606,94	54,6 \pm 1,44	2245 59,36

Lampiran 39. Contoh perhitungan bobot jenis

Bobot jenis serum vitamin C diukur dengan menggunakan persamaan:

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

Dimana,

A : bobot piknometer kering (g)

A1 : bobot piknometer yang diisi dengan aquabidest (g)

A2 : bobot piknometer yang diisi dengan serum vitamin C (g)

Diketahui:

A = 10,3212 g

A1 = 21,4681 g

A2 = 20,5502 g

$$\text{Bobot jenis serum vitamin C} = \left[\frac{A_2 - A}{A_1 - A} \right] \times 1 \text{ g/ml}$$

$$= \left[\frac{21,4681 - 10,3212}{20,5502 - 10,3212} \right] \times 1 \text{ g/ml}$$

$$= 1,0897 \text{ g/ml}$$

Jadi, bobot jenis serum vitamin C = 1,0897 g/ml

Lampiran 40. Contoh perhitungan penetapan kandungan vitamin C dari sediaan serum

Persamaan regresi: $y = - 16,68 + 3112 x$

Bobot serum yang ditimbang = $\pm 1,0$ g (mengandung vitamin C $\pm 0,05$ g)
 Serum dicukupkan volumenya dalam labu tentukur 25,0 ml dengan metanol
 = 2000 ppm = 2000 μ g/ml = 2 μ g/ μ l

Dipipet sebanyak 5 μ l, sehingga konsentrasi yang tertotol sebesar 10 μ g.

Data 1

Konsentrasi vitamin C seharusnya = μ g

Area yang terukur (y) = 32017,80

Konsentrasi vitamin C perolehan kembali = 10,02 ppm

Kadar perolehan kembali vitamin C dalam serum = 102,78 %

Data 2

Konsentrasi vitamin C seharusnya = μ g

Area yang terukur (y) = 25551,13

Konsentrasi vitamin C perolehan kembali = 10,26 ppm

Kadar perolehan kembali vitamin C dalam serum = 80,16 %

Data 3

Konsentrasi vitamin C seharusnya = μ g

Area yang terukur (y) = 35338,38

Konsentrasi vitamin C perolehan kembali = 10,18 ppm

Kadar perolehan kembali vitamin C dalam serum = 111,60 %

Kadar perolehan kembali vitamin C rata-rata dalam serum =
 (102,78 + 80,16 + 111,60)% = 98,18 %

Jadi kadar perolehan kembali vitamin C rata-rata dalam serum adalah 98,18 %

Lampiran 41. Contoh perhitungan kadar vitamin C untuk mengetahui stabilitas kimia

Serum yang ditimbang: 1,2442 g

Kadar serum: 622,1 μg

Area yang didapat: 41403,89 AU

Persamaan kurva kalibrasi: $y = -16,68 + 3112x$

Konsentrasi terukur: 13,3099 μg

Konsentrasi vitamin C dalam sampel = $(13,3099 \mu\text{g} : 622,1 \mu\text{g}) \times 100\%$
 $= 2,1395 \%$

Lampiran 42. Contoh perhitungan laju reaksi (k), waktu paruh ($t_{1/2}$), dan waktu daluwarsa (t_{90}) pada sediaan serum yang disimpan pada suhu rendah

Persamaan orde pertama $\rightarrow \log C = \log C_0 - \frac{kt}{2,303}$

Persamaan regresi yang didapat dari plot log C terhadap t :

$$y = -0,1193x + 0,7871; r = 0,9937$$

$$b = \text{kemiringan} = -0,1193$$

a) Untuk menghitung k menggunakan rumus:

$$b = -\frac{k}{2,303}$$

Sehingga:

$$-k = 2,303 \times b$$

$$-k = 2,303 \times (-0,1193)$$

$$k = \frac{0,2747}{2 \text{ minggu}}$$

b) Untuk menghitung waktu paruh menggunakan rumus:

$$t \frac{1}{2} = \frac{0,693}{k}$$

$$t \frac{1}{2} = \frac{0,693}{\frac{0,2747}{2 \text{ minggu}}}$$

$$t \frac{1}{2} = 2,522 \times 2 \text{ minggu} = 35,32 \text{ hari} \approx 35 \text{ hari}$$

c) Untuk menghitung waktu daluwarsa menggunakan rumus:

$$t_{90} = \frac{0,105}{k}$$

$$t_{90} = \frac{0,105}{\frac{0,2747}{2 \text{ minggu}}}$$

$$t_{90} = 0,3822 \times 2 \text{ minggu} = 5,35 \text{ hari} = 5 \text{ hari}$$

Lampiran 43. Contoh perhitungan jumlah vitamin C yang terpenetrasi dari sediaan serum pada menit ke-30 untuk percobaan pertama

Luas puncak yang diperoleh = 1043,36 $\mu\text{V/s}$

Persamaan kurva kalibrasi $\rightarrow y = 3112x + 16,36$ dengan nilai $r = 0,99605$

Konsentrasi terukur = 0,6606 μg

Konsentrasi vitamin C dalam sampel = 0,6606 $\mu\text{g}/5,0 \mu\text{L} = 0,1321 \mu\text{g}/\mu\text{L}$

Rumus jumlah kumulatif yang terpenetrasi:

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

Keterangan:

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

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

$\sum_{i=n}^{n-1} C$ = Jumlah konsentrasi vitamin C ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) pada sampling pertama (menit ke-30 hingga sebelum menit ke-n)

V = Volume sel difusi Franz (μL)

S = Volume sampling (500 μL)

A = Luas area membran (cm^2)

$$Q = \frac{(0,1321 \mu\text{g}/\mu\text{L} \times 13000) + (0 \times 500 \mu\text{L})}{1,52 \text{ cm}^2} = 1130,04 \mu\text{g}/\text{cm}^2$$

Jadi, jumlah vitamin C yang terpenetrasi dari sediaan serum pada menit ke-30 untuk percobaan pertama adalah 1130,04 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

Lampiran 44. Contoh perhitungan fluks vitamin C dari sediaan serum

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

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

Keterangan :

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

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

M = Jumlah kumulatif vitamin C yang melalui membran (μg)

t = Waktu (jam)

Diketahui : $M/S = 17329 \pm 865,55 \mu\text{g}/\text{cm}^2$

$$(M/S)_1 = 18324,26 \mu\text{g}/\text{cm}^2$$

$$(M/S)_2 = 16750,09 \mu\text{g}/\text{cm}^2$$

$$(M/S)_3 = 16913,44 \mu\text{g}/\text{cm}^2$$

$$J_1 = \frac{18324,26 \mu\text{g}/\text{cm}^2}{8 \text{ jam}} = 2290,53 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$$


$$J_1 = \frac{16750,09 \mu\text{g}/\text{cm}^2}{8 \text{ jam}} = 2093,76 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$$

$$J_1 = \frac{16913,44 \mu\text{g}/\text{cm}^2}{8 \text{ jam}} = 2114,18 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$$


$$J \text{ rata-rata} = 2166,17 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$$

Jumlah fluks kapsaisinoid dari sediaan serum adalah $2166,17 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$.

Lampiran 45. Sertifikat analisis vitamin C



PT. BRATACO
HASIL PEMERIKSAAN




Nama Bahan : Vit C Uncoated
 Batch : J 0163/12 (1111070202)
 Ex : CSPS Weisheng Pharmaceutical
 E.D : 10/2014
 Grade : Farma

Jenis pemeriksaan	Persyaratan FI IV	Hasil
Pemerian	Hablur atau serbuk hablur putih atau agak kuning, oleh cahaya lambat laun menjadi gelap, dalam keadaan kering stabil di udara, dalam larutan cepat teroksidasi	sesuai
Kelarutan	Mudah larut dalam air, agak sukar larut dalam etanol, tidak larut dalam kloroform, dalam eter dan dalam benzena	...
Identifikasi	Larutan 1:50 mereduksi tembaga (II) tartar alkali LP secara perlahan – lahan pada suhu kamar, tetapi lebih cepat bila dipanaskan 2 ml larutan 2% tambahkan 4 tetes larutan metilen blue hangatkan hingga suhu 40°C, warna biru akan pudar dan atau hilang	sesuai
pH 1%	2.1-2.6	2.5
Titik lebur	Lebih kurang 190 °C	190.0°C
Kadar	99,0% - 100,5%	99.53%

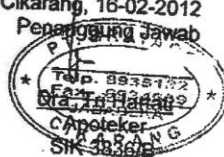
Kesimpulan : Memenuhi syarat

Pemeriksa



Putreni
Analis

Cikarang, 16-02-2012
Penasang Jawab



HEAD OFFICE : J. Cideng Barat No. 78, Jakarta Pusat 10150, Telp. (021) 3522733 (hunting) Fax : (021) 3522734, E-mail : btokek@brataco.com

BRANCH OFFICE :

- JAKARTA : J. Mangga Besar V No. 5, Jakarta 11180 Telp. (021) 6290113 (hunting 3 line) Fax. (021) 6292430
- BANDUNG : J. Boulevard Raya Blok. T83 No. 5, Jakarta 42940 Telp. (021) 4584.6982-94 Fax. (021) 453.2615
- SEMARANG : J. Kelencong No. 8, Bandung Telp. (022) 8077128, 6 030807, 6030808 Fax. (022) 6031879
- YOGYA : J. Terusan Jakarta No. 77G, Bandung Telp. (022) 7104271, 7210508 - 309 Fax (022) 7210310
- SURABAYA : J. Palarangan Timur No. 4, Semarang Telp. (024) 841-2380, 8448277 Fax. (024) 8414968
- MEDAN : J. Bhayangkara No. 45, Yogyakarta Telp. (0274) 543348, 515390 Fax. (0274) 515349
- DENPASAR : J. Tikar No. 88, Surabaya Telp. (031) 5322887, 5329157 Fax. (031) 5310465
- SUB BRANCH OFFICE : J. Iskandar Muda No. 408, Medan Telp. (061) 414.8272, 452.3158 Fax. (061) 452.5986
- TANGERANG, BOGOR, CIKARANG, CIREBON, TASIKMALAYA, SOLO, PURWOKERTO, TEGAL, MALANG, SIDOARJO, KEDIRI, KUDUS, PALEMBANG, MAKASSAR, PEKAN BARU, LAMPUNG

The Nationwide Chemical and Ingredient Distributor

Lampiran 46. Sertifikat analisis gliserin


PT. BRATACO


HASIL PEMERIKSAAN

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

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%	1.9%
Index Bias	1.471-1.474	1.472
Reaktivitas	1.255 g/ml - 1.260 g/ml (20°C) dengan kadar 98.0% - 100.0%	1.259 g/ml

Kesimpulan : Memenuhi Syarat




Pemeriksa

 Tatang Suhartono
 Analis

Pengetik

 W. G. H. H. H.
 Analis

SIR 38567E

HEAD OFFICE : Jl. Lingsing Barat No. 10, Venohari, Kecamatan Venohari, Kabupaten Tangerang, Banten 15111
 BRANCH OFFICE :
 • JAWABTA : Jl. Pemuda No. 10, Venohari, Kecamatan Venohari, Kabupaten Tangerang, Banten 15111
 • SEMARANG : Jl. Tugu Sakti No. 77G, Bandung, Jawa Tengah 50132
 • SURABAYA : Jl. Tidar No. 89, Surabaya, Jawa Timur 60132
 • MEDAN : Jl. Iskandar Muda No. 4, Medan, Sumatera Utara 20132
 • CENPASAR : Jl. Geger Suboto Barat No. 3386C, Denpasar, Bali 80132
 SUB BRANCH OFFICE : TAMERAMPONG, Kabupaten Pangasinan, Kalimantan Barat 78000


Lampiran 47. 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 belewang 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 ₂	65.90%	
Kesimpulan : Memenuhi syarat			
Pemeriksa		Cikarang 21 Pebruari 2008 Penanggung jawab  Dra. Tri Hartati Apoteker S.I.K. 3836/B	
	 Nur Komarawati Analis		
KANTOR PUSAT : Jl. Cideng Barat No. 78 Jakarta Pusat 10150, Telp. : (021) 3522733 (Hunting 5 Lines) Fax. : (021) 3452025, E-mail : brataco@idola.net.id KANTOR CABANG : <ul style="list-style-type: none"> • JAKARTA : Jl. Mangga Besar V No. 5, Jakarta 11180 Telp. : (021) 6120312 (Hunting 3 Lines), (021) 6290113 (Hunting 3 Lines) Fax. : (021) 6292430 • SURABAYA : Jl. Tidar No. 89 Telp. (031) 5322887, 5467667, 5325057 Fax. (031) 5310465 • SEMARANG : Jl. Paterongan Timur No. 4 Telp. (024) 414680, 412300 Fax. (024) 412300 • BANDUNG : Jl. Kienteng No. 8 Telp. (022) 677126, 630807, 630808 Fax. (022) 631979 • MEDAN : Jl. Terusan Jakarta No. 77 G Telp. : (022) 7101277, 7210308-310 Fax. : (022) 7101277 • MEDAN : Jl. Abdullah Lubis No. 27 A / 41 Telp. : (061) 579303, 542041 Fax. : (061) 542041 KANTOR PERWAKILAN : PALEMBANG, PADANG, LAMPUNG, BALIKPAPAN, UJUNG PANDANG, BANJARMASIN, MENADO dan DENPASAR			

Lampiran 48. Sertifikat analisis metil paraben

Rp. Angkur Solo 7/6 2010

HASIL PEMERIKSAAN

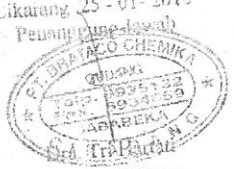

PT. BRATACO

Nama Bahan : Methyl Paraben (Mipagin)
 No Batch : I 0096/10 (MP-103/08-09)
 Ex : India
 L.D : 10-2013
 Grade : farma

Jenis Pemeriksaan	Persyaratan IV	Hasil Pemeriksaan
Pemerian	Serbuk atau hablur kecil, tidak berwarna, Putih, tidak berbau atau berbau khas lemah, mempunyai sedikit rasa terbakar	Sesuai
Kelarutan	Sukar larut dalam air, benzene; mudah larut dalam etanol dan eter	Sesuai
Identifikasi	Didihkan 10 mg dengan 10 ml air, dinginkan, tambahkan 0,05 ml larutan besi (II) klorida P; terjadi warna ungu kemerahan	Positif
Keasraan	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 metil metil LP; larutan berwarna kuning	Sesuai
Titik Peleburan	125° C - 128° C	127° C
Keasraan	99,0% - 100,5%	99,6%

Kesimpulannya Memenuhi Syarat


Dibuat pada 25-01-2010
 Rina Pudiana Akbar
 Analis

Cikarang, 25-01-2010
 Penanggungjawab




 Apoteker
 SIK 3836/B

HEAD OFFICE: BRANDIATACO, Cikarang, Jawa Barat, Indonesia. Tel: (0261) 8231113, Fax: (0261) 8231111
 1. Cianjur: (0261) 8231113, Fax: (0261) 8231111
 2. Cirebon: (0261) 8231113, Fax: (0261) 8231111
 3. Depok: (0261) 8231113, Fax: (0261) 8231111
 4. Bandung: (0261) 8231113, Fax: (0261) 8231111
 5. Bekasi: (0261) 8231113, Fax: (0261) 8231111
 6. Bekasi: (0261) 8231113, Fax: (0261) 8231111
 7. Bekasi: (0261) 8231113, Fax: (0261) 8231111
 8. Bekasi: (0261) 8231113, Fax: (0261) 8231111
 9. Bekasi: (0261) 8231113, Fax: (0261) 8231111
 10. Bekasi: (0261) 8231113, Fax: (0261) 8231111

Lampiran 49. Sertifikat analisis profil paraben



PT. BRATACO


HASIL PEMERIKSAAN

Nama Bahan : Nipazol/ 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 $FeCl_3$ L.P; terjadi warna ungu kemerahan	sesuai
Keasaman	Panaskan 750 mg dalam 15 ml air pada suhu $80^\circ C$ 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 $95^\circ - 98^\circ C$	$98,0^\circ$
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. Tri Hartati
Apoteker
S.I.K. 3836/B

HEAD OFFICE : Jl. Cideng Barat No. 78, Jakarta Pusat. Telp. (021) 3622733 (homeing) Fax. : (021) 3522734, E-mail : hscek@brataco.com


BRANCH OFFICE

- JAKARTA : Jl. Mangga Besar V No. 5, Jakarta 11180 Telp. (021) 0290113 (homeing 0 line) Fax. (021) 6292490
- BANDUNG : Jl. Boulevard Raya Blok T62 No. 8, Jakarta 14240 Telp. (021) 4564992-94 Fax. (021) 452618
- SEMARANG : Jl. Kalenteng No. 6, Bandung Telp. (022) 4077159, 903009 Fax. (022) 6031876
- YOGYA : Jl. Terusan Jakarta No. 775, Bandung Telp. (022) 7101277, 7210306-309 Fax. (022) 7210310
- SURABAYA : Jl. Brigjen. Katarmo No. 18 Telp. (024) 8415272, 8419996 Fax. (024) 8414980
- MEDAN : Jl. Bhayangkara No. 48, Yogya Telp. (0274) 643348, 616390 Fax. (0274) 642949
- TANGERANG : Jl. Tidar No. 85, Surabaya Telp. (031) 8322887, 5125057 Fax. (031) 5310466
- CIREBON : Jl. Iskandar Muda no. 40 B, Medan Telp. (061) 4148272, 4823159 Fax. (061) 4525996

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

The Netherlands Chemicals and Ingredients Distributor

Lampiran 50. Sertifikat analisis kalium dihidrogen fosfat



Specification

1.04873.1000 Potassium dihydrogen phosphate for analysis
EMSURE® ISO

	Spec. Values
Assay	
alkalimetric, calculated on dried substance	99.5 - 100.5 %
alkalimetric; dried substance	≥ 99.5 %
pH-value (5 %; water)	4.2 - 4.5
Chloride (Cl)	≤ 0.0005 %
Sulphate (SO ₄)	≤ 0.003 %
Total nitrogen (N)	≤ 0.001 %
Heavy metals (as Pb)	≤ 0.001 %
As (Arsenic)	≤ 0.0002 %
Cu (Copper)	≤ 0.0003 %
Fe (Iron)	≤ 0.001 %
Na (Sodium)	≤ 0.02 %
Pb (Lead)	≤ 0.001 %
Reducing substances	passes test
Loss on drying	
110 °C	≤ 0.2 %
130 °C	≤ 0.2 %

Corresponds to ISO

Dr. Matthias Ohm

responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature

Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany); +49 6151 72-0
SA-7 710487300001000000 V. 965 Date: 30.08.2011

Page 1 of 1