



UNIVERSITAS INDONESIA

**FORMULASI DAN UJI STABILITAS FISIK GEL LIPOSOM YANG
MENGANDUNG FRAKSINASI EKSTRAK METANOL KULIT MANGGIS
(*Garcinia mangostana* L.) SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

SKRIPSI

**WENNY SILVIA MARINDA
0806398801**

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



UNIVERSITAS INDONESIA

**FORMULASI DAN UJI STABILITAS FISIK GEL LIPOSOM YANG
MENGANDUNG FRAKSINASI EKSTRAK METANOL KULIT MANGGIS
(*Garcinia mangostana* L.) SEBAGAI ANTIOKSIDAN**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Farmasi

**WENNY SILVIA MARINDA
0806398801**

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

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

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

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

Depok, 6 Juli 2012



Wenny Silvia Marinda

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Wenny Silvia Marinda

NPM : 0806398801

Tanda Tangan :



Tanggal : 6 Juli 2012

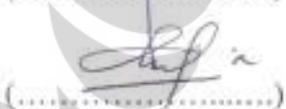
HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Wenny Silvia Marinda
NPM : 0806398801
Judul : Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Gel Liposom Yang Mengandung Fraksinasi Ekstrak Metanol Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) Sebagai Antioksidan

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

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Dr. Mahdi Jufri, M.Si., Apt. 

Pembimbing II : Dr. Berna Elya M.Si., Apt. 

Penguji I : Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S., Apt. 

Penguji II : Dr. Iskandarsyah, M.S., Apt. 

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 6 Juli 2012

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena atas segala limpahan karunia dan rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Tanpa bantuan dan dukungan dari berbagai pihak sejak masa perkuliahan dan masa penyusunan skripsi, sulit bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih dan rasa hormat dengan segala kerendahan dan ketulusan hati kepada:

1. Dr. Mahdi Jufri M.Si., Apt. sebagai dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu dan pikiran serta memberikan ilmu-ilmu bermanfaat untuk membantu dan mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi ini;
2. Dr. Berna Elya M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing dan pembimbing akademik yang telah memberikan banyak perhatian, saran, ilmu-ilmu bermanfaat dan bantuan selama ini;
3. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S., Apt., selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan untuk melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini;
4. Seluruh Bapak dan Ibu dosen Departemen Farmasi FMIPA UI atas segala ilmu pengetahuan dan didikannya selama ini;
5. Bapak, Ibu laboran dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI terutama Mbak Devfanny, Pak Imi dan Mbak Lia atas bantuan yang telah diberikan selama penelitian.
6. dr. Ayu, drg. Laifa, Mbak Lilis, Mas Yopi dan Mega Armayani yang telah memberikan kesempatan dan kemudahan ketika penulis melakukan penelitian

di Laboratorium Kultur Jaringan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Ciputat;

7. Mama, Bapak, Kak Eno dan Koko Joni tercinta yang telah memberi dukungan, kasih sayang, semangat dan doa yang menyertai penulis selama ini;
8. Sahabat tercinta Nurul, Citra, Celestia, Sinsin, Hannie, Puji, Rio dan Evelina, teman-teman KBI farmasetika terutama Dian Rahma yang telah banyak membantu dan bersedia mendengarkan keluh-kesah penulis dalam proses penulisan skripsi ini serta rekan-rekan farmasi 2008 lainnya atas dukungan, semangat, rasa kebersamaan, dan persaudaraan yang indah selama ini;
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, yang telah memberikan semangat, dukungan dan bantuannya dalam mempermudah dan memberikan jalan selama penelitian dan penulisan skripsi ini hingga selesai.

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

Penulis

2012

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

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

Nama : Wenny Silvia Marinda
NPM : 0806398801
Program Studi : Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

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

Formulasi Dan Uji Stabilitas Fisik Gel Liposom Yang Mengandung Fraksinasi Ekstrak Metanol Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) Sebagai Antioksidan

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, 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 : 6 Juli 2012
Yang menyatakan



(Wenny Silvia Marinda)

ABSTRAK

Nama : Wenny Silvia Marinda
Program Studi : Farmasi
Judul : Formulasi Dan Uji Stabilitas Fisik Gel Liposom Yang Mengandung Fraksinasi Ekstrak Metanol Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) Sebagai Antioksidan

Kulit manggis (*Garcinia Mangostana* L.) terbukti kaya akan kandungan xanton yang memiliki potensi aktivitas antioksidan yang sangat tinggi terutama pada hasil fraksinasi diklorometana. Pada penelitian ini digunakan metode peredaman DPPH (2,2-Difenil-1-pikril hidrazil) untuk mengetahui nilai IC_{50} dari hasil fraksinasi diklorometana. Liposom adalah suatu sistem pembawa obat yang dapat meningkatkan efektivitas penghantaran obat terutama pada kosmetik karena berbahan utama lipid yang mudah terhidrasi dalam kulit. Penelitian ini bertujuan untuk memformulasi hasil fraksinasi diklorometana kulit manggis ke dalam 4 formula liposom yang berbeda kemudian dihitung efisiensi penjerapan berdasarkan aktivitas antioksidan supernatan dengan metode peredaman DPPH. Selanjutnya liposom diformulasikan ke dalam gel untuk melihat stabilitas secara fisik. Nilai IC_{50} dari hasil fraksinasi diklorometana sebesar 17,47 ppm. Efisiensi penjerapan liposom diperoleh dari keempat formula sebesar 39,89; 57,09; 64,80; dan 74,33%. Sediaan gel liposom secara fisik terbukti stabil dalam berbagai suhu penyimpanan dan *cycling test*.

Kata kunci : antioksidan, DPPH, efisiensi penjerapan, fraksinasi diklorometana, gel liposom, kulit manggis, liposom, stabilitas fisik.
xvi + 103 halaman : 20 gambar; 2 tabel; 43 lampiran
Daftar acuan : 51 (1986-2011)

ABSTRACT

Name : Wenny Silvia Marinda
Program Study: Pharmacy
Title : Formulation And Physical Stability Test of Liposome Gel Containing
Fractionation of Methanol Extract From Mangosteen Pericarp
(*Garcinia mangostana* L.) As Antioxidant

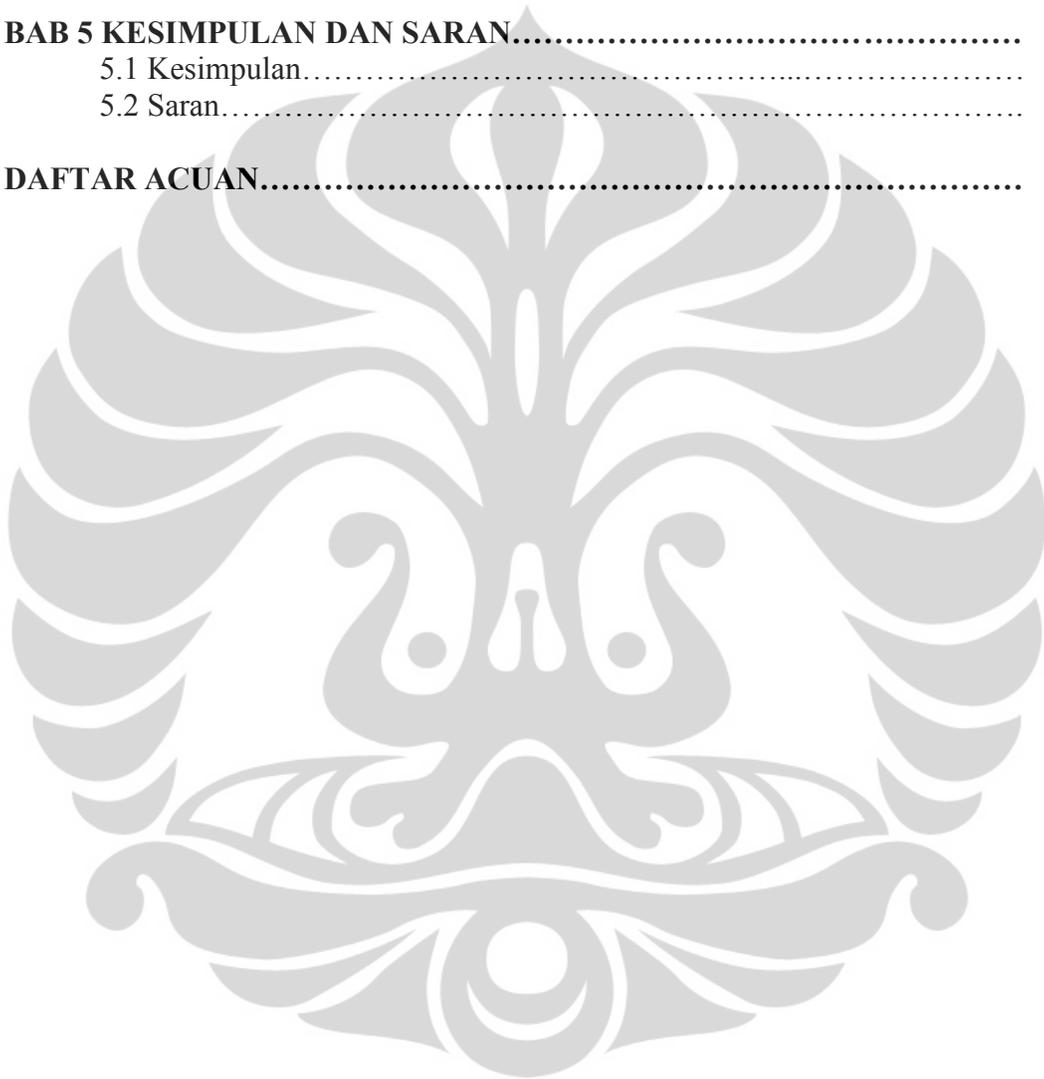
The mangosteen pericarp (*Garcinia mangostana* L.) has been proved rich in compounds of xanthone that have very high potential of antioxidant activity, especially the fractionation of dichloromethane. The method was used in this study the reduction of DPPH (2,2-Diphenyl-1-pikril hidrazil) to determine the IC₅₀ value of the fractionation of dichloromethane. Liposome is a drug carrier system that can enhance the effectiveness of drug delivery, especially in cosmetics because it's made from the lipid that easily hydrated into the skin. The aim of this study to formulate the fractionation of dichloromethane from mangosteen pericarp into four different liposome formulas then the entrapment efficiency was calculated based on antioxidant activity of the supernatant by the method of DPPH reduction. Subsequently, the liposome was formulated into gel dosage form to know the physical stability. IC₅₀ values of the fractionation of dichloromethane was 17,47 ppm. The entrapment efficiency of liposomes were obtained from the four formulas respectively 39,89; 57,09; 64,80; and 74,33%. Liposome gel was physically proved that stable in a wide range of temperature storage and cycling test.

Keywords : antioxidant, dichloromethane fractionation, DPPH , entrapment efficiency, gel, liposome, mangosteen pericarp, physical stability.
xvi + 103 pages : 20 pictures; 2 tables; 43 appendices
Bibliography : 51 (1986-2011)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	ii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	viii
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Manggis.....	3
2.2 Kulit.....	6
2.3 Liposom.....	10
2.4 Kosmetik.....	19
2.5 Gel.....	19
2.6 Sinar Matahari.....	23
2.7 <i>Photoaging</i>	24
2.8 Radikal Bebas dan Antioksidan.....	25
2.9 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Metode Peredaman DPPH.....	26
2.10 Spektrofotometer UV-Vis.....	27
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN.....	29
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	29
3.2 Alat.....	29
3.3 Bahan.....	29
3.4 Cara Kerja.....	30
3.5 Evaluasi.....	39
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....	42
4.1 Fraksinasi Ekstrak Metanol Kulit Manggis.....	42
4.2 Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan Fraksi Diklorometan.....	43
4.3 Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Diklorometan.....	44
4.4 Pembuatan Liposom.....	46

4.5 Penyeragaman Distribusi Vesikel Liposom dan Pemurnian.....	48
4.6 Evaluasi Liposom.....	49
4.7 Uji Aktivitas Antioksidan Supernatan.....	52
4.8 Efisiensi Penjerapan Liposom.....	54
4.9 Pembuatan Gel Liposom.....	54
4.10 Evaluasi Sediaan Gel Liposom.....	55
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN.....	62
5.1 Kesimpulan.....	62
5.2 Saran.....	62
DAFTAR ACUAN.....	63



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	<i>Garcinia mangostana</i> L.....	3
Gambar 2.2	Kandungan Xanton Kulit Manggis.....	5
Gambar 2.3	Struktur Kulit.....	7
Gambar 2.4	Gambar Liposom Unilamelar.....	11
Gambar 2.5	Rumus Kimia Fosfatidilkolin.....	18
Gambar 2.6	Rumus Kimia Kolesterol.....	18
Gambar 2.7	Unit Monomer Asam Akrilat dalam Polimer Karbomer.....	20
Gambar 2.8	Rumus Kimia Metilparaben.....	21
Gambar 2.9	Rumus Kimia Propilenglikol.....	22
Gambar 4.1	Ekstrak Metanol Kulit Manggis.....	43
Gambar 4.2	Hasil Fraksinasi Diklorometana.....	43
Gambar 4.3	Uji pendahuluan Aktivitas Antioksidan.....	44
Gambar 4.4	Hasil Mikroskop Konvokal.....	51
Gambar 4.5	Hasil TEM.....	52
Gambar 4.6	Diagram Persentase Inhibisi Supernatan.....	53
Gambar 4.7	Diagram Efisiensi Penjerapan Obat.....	54
Gambar 4.8	Grafik Perubahan pH Rata-Rata Sediaan Gel Liposom.....	57
Gambar 4.9	Rheogram Gel Liposom Minggu Ke-0.....	58
Gambar 4.10	Rheogram Gel Liposom Minggu Ke-4.....	58
Gambar 4.11	Peningkatan Viskositas Gel Liposom.....	59

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1	Formulasi Liposom Fraksinasi Diklorometana.....	34
Tabel 3.2	Formulasi Gel.....	38



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Spektrum Serapan Larutan DPPH.....	67
Lampiran 2	Kurva Regresi Linear Aktivitas Antioksidan Vitamin C.....	67
Lampiran 3	Kurva Regresi Linear Aktivitas Antioksidan Serbuk Fraksi Diklorometana.....	68
Lampiran 4	Liposom Mengandung Fraksinasi Diklorometana.....	68
Lampiran 5	Pemurnian Liposom Dengan Ultrasentrifugasi.....	69
Lampiran 6	Supernatan Hasil Pemurnian Liposom.....	69
Lampiran 7	Hasil Pengukuran Distribusi Ukuran Vesikel Liposom Formula 4 Sebelum Sonikasi.....	70
Lampiran 8	Hasil Pengukuran Disribusi Ukuran Vesikel Liposom Formula 4 Setelah Sonikasi.....	71
Lampiran 9	Uji Stablilitas Penyimpanan Pada Suhu Kamar.....	72
Lampiran 10	Uji Stablilitas Penyimpanan Pada Suhu Rendah.....	73
Lampiran 11	Uji Stablilitas Penyimpanan Pada Suhu Tinggi.....	74
Lampiran 12	Hasil <i>Cycling Test</i> 6 Siklus.....	75
Lampiran 13	Hasil Pengukuran Disribusi Ukuran Vesikel Liposom Dalam Gel	76
Lampiran 14	Foto Alat.....	77
Lampiran 15	Foto Alat.....	78
Lampiran 16	Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C.....	79
Lampiran 17	Uji Aktivitas Antioksidan Serbuk Fraksi Diklorometan.....	80
Lampiran 18	Uji Aktivitas Antioksidan Supernatan Formula 1.....	81
Lampiran 19	Uji Aktivitas Antioksidan Supernatan Formula 2.....	82
Lampiran 20	Uji Aktivitas Antioksidan Supernatan Formula 3.....	83
Lampiran 21	Uji Aktivitas Antioksidan Supernatan Formula 4.....	84
Lampiran 22	Hasil Pengamatan Organoleptis.....	85
Lampiran 23	Hasil Pengamatan pH Sediaan.....	85
Lampiran 24	Nilai Viskositas Gel Liposom Minggu Ke-0.....	86
Lampiran 25	Nilai Viskositas Gel Liposom Minggu Ke-4.....	87
Lampiran 26	Hasil Konsistensi Gel Liposom.....	88
Lampiran 27	Hasil <i>Cycling Test</i>	88
Lampiran 28	Perhitungan Aktivitas Antioksidan.....	89
Lampiran 29	Perhitungan IC ₅₀	89
Lampiran 30	Perhitungan Aktivitas Antioksidan Supernatan dan Penjerapan...	90
Lampiran 31	Diagram Alir Ekstraksi Dan Fraksinasi Kulit Manggis.....	91
Lampiran 32	Diagram Alir Pembuatan Liposom dengan Metode Hidrasi Lapis Tipis Dan Pemurnian Liposom.....	92
Lampiran 33	Diagram Alir Pembuatan Gel Liposom.....	93
Lampiran 34	Hasil Determinasi Tumbuhan.....	94
Lampiran 35	Sertifikat Analisis Ekstrak Metanol Kulit Manggis.....	95
Lampiran 36	Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Manggis.....	96
Lampiran 37	Sertifikat Analisis Kolesterol.....	97

Lampiran 38	Sertifikat Analisis Fosfatidilkolin.....	98
Lampiran 39	Sertifikat Analisis Karbopol 940.....	99
Lampiran 40	Sertifikat Analisis Propilen Glikol.....	100
Lampiran 41	Sertifikat Analisis Tween 80.....	101
Lampiran 42	Sertifikat Analisis Vitamin C.....	102
Lampiran 43	Sertifikat Analisis Metilparaben.....	103



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Liposom adalah vesikula lipid lapis ganda atau multi lapis yang mengandung fosfolipid dan kolesterol yang mengelilingi sebuah kompartemen berair (Swarbrick, 2007). Liposom sebagai pembawa obat yang unik karena dapat menyerap berbagai variasi polaritas obat, yaitu obat hidrofilik dapat terjerap dalam inti kompartemen berair sementara obat lipofilik dapat terjerap ke dalam membran lipid (Liu, 2008). Dengan keistimewaan tersebut, formulasi liposom digunakan dalam meningkatkan pengiriman obat herbal (Mukherjee, Venkatesh, Maiti, Mukherjee dan Saha, 2009). Liposom sebagai pembawa bahan kosmetik memiliki keuntungan karena lipid yang terhidrasi dengan baik dapat mengurangi kekeringan pada kulit yang merupakan penyebab utama penuaan dan sebagian besar produk dengan pembawa liposom adalah sediaan anti-penuaan (Lipowsky dan Sackmann, 1995). Penerapan teknologi liposom untuk sediaan topikal telah terbukti efektif dalam penghantaran obat ke dalam kulit (Venkateswarlu, J. Reddy, Ramesh, V. Reddy, Pravallika dan Suneetha, 2011).

Garcinia mangostana L. atau buah manggis merupakan buah tropis khas Asia Tenggara mengandung berbagai senyawa kimia pada kulit buah yaitu derivat xanton yang memiliki aktivitas antioksidan, antijamur, antimikroba dan potensi sitotoksik. Hasil fraksinasi diklorometana dari ekstrak metanol kulit manggis terbukti memiliki aktivitas antioksidan paling signifikan (Hyun-Ah, Bao-Ning, Keller, Mehta dan Kinghorn, 2006).

Kulit mengandung banyak enzim antioksidan seperti superoksida dismutase, katalase dan glutathion peroksidase serta molekul-molekul antioksidan nonenzimatik seperti tokoferol, koenzim Q10, askorbat dan karotenoid tetapi antioksidan jaringan kulit sangat kurang efektif dan cenderung menurun potensinya seiring dengan usia. Antioksidan mengurangi radikal bebas menjadi molekul yang kurang reaktif,

sehingga menghindari dan mengurangi kerusakan oksidatif (Yaar dan Gilchrest, 2007). Penggunaan antioksidan dalam perawatan anti penuaan kulit sangat penting untuk mencegah terjadinya kerusakan kulit lebih lanjut (Burgess, 2005).

Pada penelitian ini liposom yang mengandung fraksinasi diklorometana dari ekstrak metanol kulit manggis diformulasikan dalam sediaan gel karena bersifat melembabkan, memberikan efek dingin, tidak lengket dan tidak berminyak sehingga nyaman digunakan konsumen. Selanjutnya dilakukan uji stabilitas fisik gel liposom yang mengandung fraksinasi diklorometana dari ekstrak metanol kulit manggis.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan hasil fraksinasi diklorometana dari ekstrak metanol kulit manggis, memformulasi liposom yang mengandung fraksinasi diklorometana dari ekstrak metanol kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) dan menguji stabilitas fisik gel liposom.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

2.1.1 Klasifikasi

- Divisi : Spermatophyta
- Subdivisi : Angiospermae
- Kelas : Dicotyledone
- Bangsa : Guttiferales atau Clusiales
- Suku : Guttiferae (Clusiaceae)
- Marga : *Garcinia*
- Jenis : *Garcinia mangostana* L. (Hutapea, 1994)



[Sumber : Dokumentasi Pribadi]

Gambar 2.1 *Garcinia mangostana* L.

2.1.2 Uraian Tanaman

2.1.2.1 Nama Umum dan Daerah

Nama umum *Garcinia mangostana* L. di Indonesia adalah manggis. Tetapi terdapat beragam nama daerah untuk manggis di Indonesia, yaitu: Manggoita (Aceh), Gusteu (Gayo), Manggisto, Manggus, atau Manggusta (Sumatera Utara), Magi (Nias), Lakopa, Malakopa (Mentawai), Manggista (Sumatera Barat), Manggusta, Manggustan (Manado, Maluku), Manggos (Minangkabau), Manggih (Lampung), Manggus, Manggos (Madura), Mangghis (Bali), Manggis, Manggista, Manggusta (Bima), Manggustang (Sulawesi Utara), Manggastan (Gorontalo), Manggusta (Makassar), Kirasa, Manggisi, Mangkosota (Bugis), Manggisi (Roti), Makis (Halmahera Selatan), Mangustang (Halmahera Utara), Mangustang (Ternate dan Tidore). Di negara lain manggis dikenal dengan *Mangistan* (Belanda), *Mangoustan* (Prancis) dan *Mangosteen* (Inggris) (Heyne, 1987).

2.1.2.2 Morfologi

Manggis merupakan pohon berbuah yang memiliki tinggi sekitar 15 meter. Berbatang berkayu bulat, tegak, memiliki percabangan simodial dan berwarna hijau kotor. Berdaun tunggal dengan bentuk lonjong, ujung meruncing, pangkal yang tumpul dan tepi rata, pertulangan menyirip, panjang daun sekitar 20 sampai 25 cm dengan lebar 6 sampai 9 cm, tebal dan tangkai berbentuk silindris berwarna hijau. Manggis berbunga tunggal dan berkelamin dua berada di ketiak daun dengan panjang sekitar 1 sampai 2 cm. Buah berbentuk bulat dengan diameter 6 sampai 8 cm berwarna coklat keunguan. Biji bulat berwarna kuning dengan diameter 2 cm dan dalam satu buah terdapat 5 sampai 7 biji. Berakar tunggang dengan warna putih kecokelatan (Hutapea, 1994).

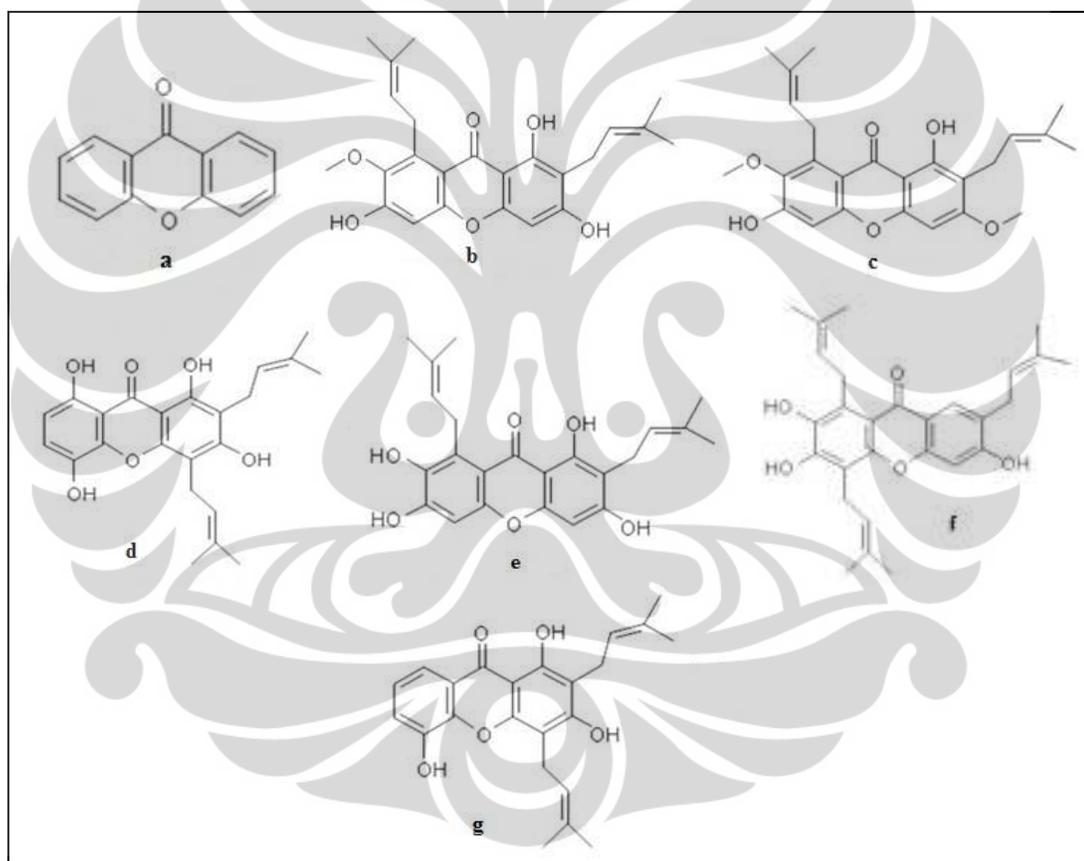
2.1.2.3 Ekologi dan Penyebaran

G.mangostana L. tumbuh baik pada iklim tropis yang bercurah hujan tinggi per tahun dan banyak dijumpai di negara Asia Tenggara seperti Indonesia, Thailand,

Malaysia dan Filipina, kemudian tersebar ke benua Australia, Afrika dan Amerika (Morton, 1987).

2.1.2.4 Kandungan Kimia

Kandungan kimia kulit manggis salah satunya adalah derivat xanton. Derivat xanton telah diisolasi dari kulit manggis yaitu α -mangostin, β -mangostin, dan γ -mangostin, garsinon E, 8-deoksigartanin dan gartanin (Pedraza-Chaverri, Cárdenas-Rodríguez, Orozco-Ibarra dan Pérez-Rojas, 2008).



Keterangan :
 a. Inti xanton
 b. α -mangostin
 c. β -mangostin
 d. Gartanin
 e. γ -mangostin
 f. Garsinon-E
 g. 8-deoksigartanin

[Sumber : Pedraza-Chaverri, Cárdenas-Rodríguez, Orozco-Ibarra dan Pérez-Rojas, 2008]

Gambar 2.2 Kandungan Xanton Kulit Manggis

2.1.3 Penggunaan

Masyarakat di Asia Tenggara menggunakan kulit buah manggis (*G. mangostana* L.) secara tradisional untuk pengobatan sakit perut, diare, disentri, luka terinfeksi, nanah dan ulkus kronis. Beberapa penelitian ilmiah membuktikan bahwa ekstrak kulit manggis memiliki manfaat sebagai antioksidan, antitumor, antialergi, antiinflamasi, antibakteri, antifungi dan antivirus (Pedraza-Chaverri, Cárdenas-Rodríguez, Orozco-Ibarra dan Pérez-Rojas, 2008).

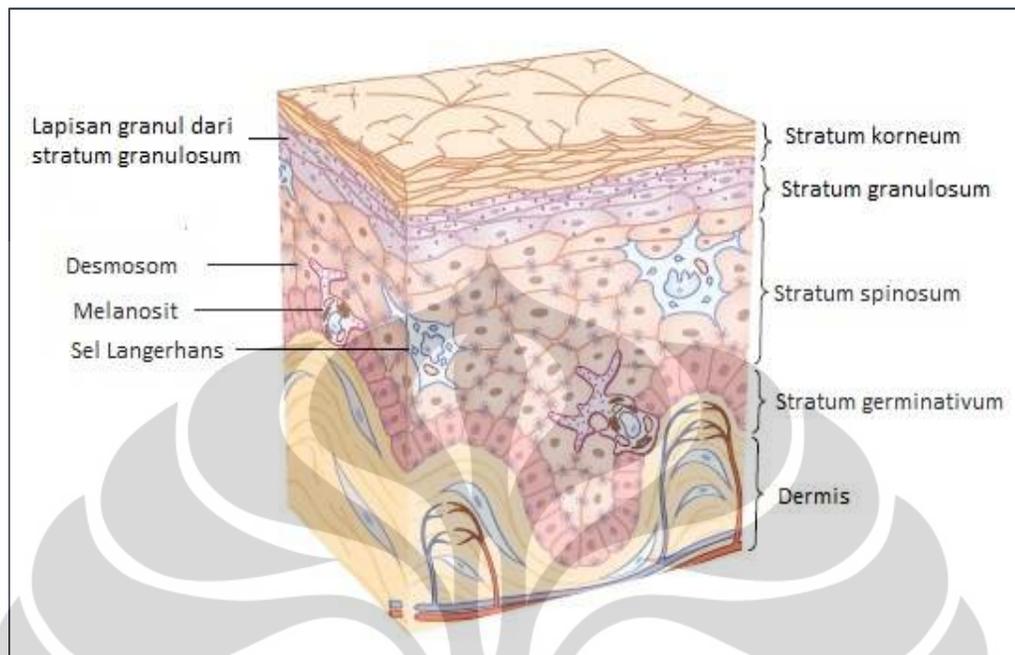
2.2 Kulit

2.2.1 Definisi

Kulit adalah bagian terluas dari tubuh, terhitung lebih dari 10% dari massa tubuh dan bagian yang paling utama berinteraksi dengan lingkungan (Walters, 2002). Kulit tersusun dari jaringan yang tumbuh, diferensiasi dan beregenerasi (Gregoriadis, Florence dan Patel, 1993)

2.2.2 Anatomi

Kulit terbagi menjadi tiga lapisan utama yaitu epidermis, dermis dan jaringan subkutan (Seeley, Stephens dan Tate, 2003).



[Sumber : Draelos, 2010]

Gambar 2.3 Struktur Kulit

2.2.2.1 Epidermis

Lapisan terluar dari kulit yang dilapisi film emulsi lipid yang memiliki pH asam dan berperan sebagai “mantel asam” atau permukaan lipid. Epidermis terdiri dari empat bagian yaitu stratum korneum (lapisan tanduk), stratum granulosum (lapisan granular), stratum spinosum dan stratum germinativum (lapisan basal). Normalnya dibutuhkan 3-4 minggu untuk replikasi epidermis dengan proses divisi dan diferensiasi. Stratum korneum terbuat dari sel keratin yang mati dan secara konstan terkelupas, lapisan film lipid dan stratum korneum kontak langsung dengan lingkungan dan memungkinkan aplikasi obat secara topikal.

2.2.2.2 Dermis

Dermis berhubungan dengan epidermis pada sambungan *epidermal-dermal junction*. Tebalnya satu sampai empat kali tebal epidermis, tergantung pada area tubuh. Secara metabolisme, dermis kurang aktif dibandingkan dengan epidermis serta terdiri dari polisakarida dan protein (kolagen dan elastin).

Matriks ini terdiri dari saraf, pembuluh darah, folikel rambut, kelenjar sebacea dan kelenjar keringat. Pada dermis terdapat sel mast, makrofag, melanosit, leukosit dan sel endotelial dari pembuluh darah. Fungsi epidermis adalah menutrisi epidermis dan menghubungkan ke jaringan subkutan.

2.2.2.3 Jaringan subkutan

Jaringan subkutan berperan sebagai pembentukan dan penyimpanan lipid. Fungsi dari lipid subkutan adalah sebagai regulator panas dan *shock absorber*. Jaringan subkutan adalah tempat metabolisme lipid dan terdiri dari syaraf serta pembuluh darah yang menembus dermis. Pada lapisan ini juga terdapat pangkal dasar folikel rambut dan kelenjar keringat.

2.2.3 Fisiologi

Kulit batas antara tubuh dan lingkungan eksternal, sehingga memisahkan kita dari lingkungan eksternal tetapi juga memungkinkan kita untuk berinteraksi dengan lingkungan eksternal. Fungsi utama kulit adalah proteksi, sensori, regulasi temperatur, produksi vitamin D dan ekskresi (Seeley, Stephens dan Tate, 2003).

2.2.3.1 Proteksi

Kulit berperan proteksi dengan melawan abrasi dan sinar ultraviolet. Kulit juga mencegah masuknya mikroorganisme dan mencegah dehidrasi dengan mengurangi hilangnya air dari tubuh.

2.2.3.2 Sensori

Kulit memiliki reseptor yang dapat mendeteksi panas, dingin, sentuhan, tekanan dan rasa sakit.

2.2.3.3 Regulasi temperatur

Temperatur tubuh diregulasi dengan mengontrol aliran darah melalui kulit dan aktivitas kelenjar keringat.

2.2.3.4 Produksi vitamin D

Ketika terpapar sinar ultraviolet, kulit memproduksi molekul yang dapat ditransformasi menjadi vitamin D.

2.2.3.5 Ekskresi

Sedikit dari produk sisa dibuang melalui kulit dan dalam kelenjar sekresi.

2.2.4 Absorpsi Perkutan

Absorpsi perkutan adalah perpindahan obat dari permukaan kulit ke dalam stratum korneum, dipengaruhi gradien konsentrasi dan difusi melalui stratum korneum, epidermis dasar, dermis lalu menuju ke mikrosirkulasi (Beringer, DerMarderosian, Felton, Gelone dan Gennaro, 2005). Penyerapan perkutan melibatkan urutan berikut (Draelos, 2010):

- a. Partisi molekul ke dalam stratum korneum dari fase pembawa yang digunakan.
- b. Difusi molekul melalui stratum korneum
- c. Partisi dari stratum korneum ke epidermis
- d. Difusi melalui epidermis dan dermis bagian atas dan serapan kapiler

Ada tiga mekanisme difusi obat pada stratum korneum yaitu (Ansel, 1989):

- a. Penetrasi transelular (menyeberangi sel).
- b. Penetrasi intraselular (antarsel).
- c. Penetrasi transappendageal (melalui folikel rambut, keringat dan kelenjar lipid)

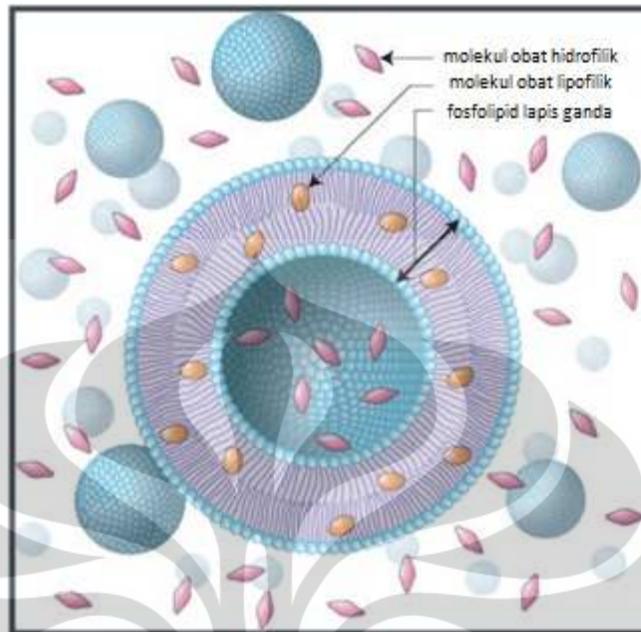
Faktor-faktor yang mempengaruhi absorpsi perkutan adalah sifat fisikokimia obat, sifat pembawa dan kondisi fisiologi kulit. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut (Ansel, 1989):

- a. Konsentrasi obat.
- b. Homogenitas campuran obat dan pembawa.
- c. Semakin luas area aplikasi, semakin besar absorpsi perkutan.
- d. Bahan obat memiliki daya tarik fisiologi yang lebih besar dari pembawa.

- e. Derajat kelarutan bahan obat.
- f. Fisikokimia pembawa.
- g. Hidrasi kulit.
- h. Lama aplikasi meningkatkan absorpsi.
- i. Waktu kontak obat dengan kulit.
- j. Absorpsi lebih besar jika diaplikasikan pada stratum korneum yang tipis daripada stratum korneum yang tebal.

2.3 Liposom

Liposom adalah vesikel mikroskopik yang tersusun dari satu atau lebih cangkang enkapsulasi lipid sferis lapis ganda. Lapisan ganda terbentuk dari lipid seperti kolesterol dan lesitin. Lesitin memiliki bagian molekul hidrofilik dan hidrofobik yang memiliki kelarutan berbeda dan secara spontan membentuk lapisan tunggal atau ganda, yang kemudian membentuk vesikel tertutup dengan adanya larutan air. Ukuran liposom berkisar dari 0,025 μm hingga lebih dari 5 μm . Kemampuan liposom menjerap dan mempertahankan obat secara luas serta fleksibilitas struktur adalah elemen utama untuk mengontrol aksi obat. Efektivitas penyerapan ditunjukkan dari volume enkapsulasi larutan air dalam lipid. Kemampuan liposom untuk menjerap obat tergantung pada sifat fisikokimia obat, komposisi liposom, muatan dan lingkungan air (Krowczynski, 1987).



[Sumber : Hupfeld, Holsaeter, Skar, Frantzen dan Brandl, 2006]

Gambar 2.4 Gambar liposom unilamellar sebagai pembawa obat hidrofilik dan lipofilik.

Sistem pengiriman obat liposom dapat meningkatkan indeks terapi, meningkatkan bioavailabilitas, meningkatkan efektivitas dan mengurangi toksisitas (Wang, Siahaan, dan Soltero, 2005).

2.3.1 Klasifikasi Liposom

Secara umum liposom dibagi menjadi tiga berdasarkan ukuran dan banyaknya membran lipid ganda, yaitu liposom multilamellar, unilamellar kecil dan unilamellar besar.

2.3.1.1 Liposom multilamellar (*Multilamellar Vesicle/MLV*)

Liposom multilamellar terdiri dari beberapa lapisan lipid bilayer konsentris dengan ukuran sekitar 0,05 - 10 μm (McNally dan Park, 2007). Liposom multilamellar tersusun dari banyak lapisan lipid dan kompartemen jerapan air (Gregoriadis, 2000).

2.3.1.2 Liposom unilamellar kecil (*Small Unilamellar Vesicle/SUV*)

Liposom unilamellar kecil berukuran sekitar 0,025 - 0,05 μm dan terdiri dari lapisan bilayer tunggal (McNally dan Park, 2007).

2.3.1.3 Liposom unilamellar besar (*Large Unilamellar Vesicle/LUV*)

Liposom unilamellar besar terdiri dari membran lipid bilayer tunggal, ukurannya berkisar 0,2 - 2 μm lebih (McNally dan Park, 2007).

2.3.2 Metode Preparasi Liposom (Pathak dan Thassu, 2009)

2.3.2.1 Metode Hidrasi Lapis Tipis

Campuran lipid dilarutkan dalam pelarut organik seperti metanol atau kloroform. Pelarut organik dihilangkan dibawah tekanan rendah dan liofilisasi. Lipid lapis tipis diredispersi dalam medium berair. Banyaknya lapisan dan ukuran vesikel dapat dikurangi dengan proses sonikasi atau ekstruksi untuk menghasilkan dispersi yang homogen.

2.3.2.2 Evaporasi Fase Terbalik (*Reverse-Phase Evaporation*)

Emulsi air dalam minyak dipersiapkan dengan melarutkan fosfolipid dalam fase organik. Fase organik kemudian dihilangkan secara perlahan dibawah tekanan rendah. Terbentuk vesikel unilamellar besar dengan inti penjerapan berair.

2.3.2.3 Metode Injeksi Eter

Lipid dilarutkan dalam eter dan diinjeksikan ke medium berair dengan kecepatan sangat rendah. Vesikel besar terbentuk dan dihilangkan dengan filtrasi gel.

2.3.3 Karakterisasi dan Evaluasi Liposom

Karakterisasi dan evaluasi liposom bertujuan untuk mengetahui ukuran dan morfologi liposom yang telah diformulasikan.

2.3.3.1 Morfologi

Evaluasi morfologi berupa evaluasi bentuk fisik liposom dapat dilihat dan diukur dengan mikroskop elektron seperti *Scanning Electron Microscope* (SEM) dan *Transmission Electron Microscope* (TEM). Penggunaan TEM lebih baik dalam menggambarkan ukuran liposom dibandingkan SEM (Williams dan Vaughn, 2007).

a. SEM (*Scanning Electron Microscopy*)

Mikroskop elektron berperan penting dalam menampilkan partikel yang memiliki ukuran terbatas yang tidak dapat terlihat pada mikroskop optik biasa serta mengevaluasi bentuk ukuran dan morfologi. Pada penggunaan SEM, sampel harus dalam keadaan kering dan penggunaan agen pengontras biasanya emas atau paladium namun penambahan agen pengontras dapat mempengaruhi ukuran partikel.

b. TEM (*Transmission Electron Microscopy*)

TEM merupakan metode evaluasi ukuran dan morfologi dari nanopartikel. Metode ini dilakukan pada keadaan sangat vakum. Tomografi TEM memiliki resolusi yang lebih besar daripada SEM dan gambar yang dihasilkan dapat diperbesar lebih banyak daripada gambar yang dihasilkan oleh SEM.

2.3.3.2 Distribusi Ukuran Partikel

Distribusi ukuran partikel diukur dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* berupa *Laser Light Scattering*. Metode *Laser Light Scattering* menggunakan mekanisme difraksi cahaya, difusi cahaya atau gabungan keduanya. Kisaran ukuran partikel yang dapat dianalisis yaitu dengan diameter 10 nm – 1 mm. Metode ini lebih sederhana dan sangat efisien (Williams dan Vaughn., 2007).

2.3.3.3 Daya Jerap Obat

Untuk mendapatkan efektivitas penyerapan dari liposom yang terbentuk, dilakukan proses pemisahan obat yang terjerap dan obat yang tidak terjerap dalam liposom. Ada tiga cara untuk pemisahan tersebut, yaitu dengan dialisis, ultrasentrifugasi, dan filtrasi gel (Gregoriadis, 1986).

a. Ultrasentrifugasi

Sentrifugasi di berbagai variasi kecepatan putaran per menit dapat secara efektif untuk pemurnian liposom dari molekul zat aktif yang tidak terikat di dalam medium suspensi. Dua atau lebih resuspensi dan sentrifugasi biasanya menghasilkan pemurnian yang komplit. Gaya sentrifugalnya mendorong liposom turun ke bawah terkait dengan ukuran partikelnya menjadi bentuk terflokulasi pada dispersinya. Untuk liposom berukuran kecil hingga medium, perlu diperhatikan kondisi pendinginan yang diperlukan dan dibutuhkan kecepatan putaran yang relatif tinggi. Di sisi lain, untuk liposom ukuran medium hingga besar, kecepatan putaran relatif lebih rendah, yaitu 2000-4000 rpm. Metode ini tidak disarankan untuk liposom yang berukuran kecil, karena memerlukan kecepatan putaran yang tinggi, yang memerlukan energi dan biaya yang lebih mahal.

b. Dialisis

Dialisis merupakan cara yang paling sederhana dan paling banyak digunakan secara umum, kecuali untuk senyawa makromolekuler. Teknik ini tidak kompleks, tidak membutuhkan peralatan yang mahal dan bisa untuk skala besar. Meskipun prosesnya lambat, dibutuhkan waktu sekitar 10-24 jam dengan penggantian minimum sebanyak 3 kali dari medium eksternalnya, namun efektif untuk pemisahan obat yang tidak terjerap. Evaluasi daya jerap obat dilakukan dengan menghitung zat aktif yang terdialisis.

c. Filtrasi gel

Teknik *gel permeation chromatographic* biasanya digunakan secara ekstensif untuk pemurnian liposom biasanya material biologis contohnya insulin. Teknik ini efektif dikembangkan untuk skala laboratorium, namun teknik ini sulit dan relatif mahal.

2.3.4 Pengaturan Ukuran

2.3.4.1 Sonikasi

Sonikasi adalah metode yang populer untuk preparasi liposom dari dispersi cair fosfolipid. Unilamellar liposom yang memiliki ukuran kurang dari 100 nm dengan mudah dihasilkan dengan tahapan ini. Ukuran dan banyaknya lamelar pada liposom sangat penting untuk diperhatikan karena berkaitan dengan saat aplikasi. Penurunan ukuran liposom dengan sonikasi adalah efek fisik dari gelembung gas yang terbentuk kemudian memecah membran liposom. Hal yang mempengaruhi hasil liposom dari sonikasi adalah kekuatan sonikasi dan frekuensi (Yamaguchi, Nomura, Matsuoka dan Koda, 2009).

2.3.4.2 Ekstrusi

Ekstrusi liposom adalah proses pengecilan ukuran yang secara luas digunakan dengan menekan liposom melalui filter dengan ukuran pori yang telah ditentukan untuk menghasilkan homogenitas dan ukuran yang lebih kecil. Ukuran liposom yang dihasilkan tergantung dari diameter pori yang digunakan. Ekstrusi biasanya digunakan untuk menghasilkan unilamellar liposom dari multilamellar liposom yang berukuran besar. Membran yang umum digunakan adalah membran polikarbonat (Mui, Chow dan Hope, 2003).

2.3.4.3 Metode Ekstrusi *Freeze-Thaw*

Pembekuan berulang dan pencairan liposom dapat menimbulkan gangguan fisik pada membran liposom akibat adanya kristal es yang terbentuk selama waktu pembekuan yang kemudian memecah multilamellar kemudian membentuk ukuran yang lebih kecil. Kecepatan pendinginan, ukuran liposom dan komponen fosfolipid mempengaruhi proses kristalisasi (Castile dan Taylor, 1999).

2.3.5 Stabilitas Liposom

Formulasi liposom harus memiliki stabilitas yang adekuat dalam periode waktu preparasi sampai penggunaan. Stabilitas liposom meliputi stabilitas kimia dari material penyusun (lipid dan obat) dan stabilitas fisika dari materi yang dijerap dan parameter ukuran. Stabilitas liposom meliputi stabilitas fisik dan stabilitas kimia (Gregoriadis, 1986).

2.3.5.1 Stabilitas Kimia

Komponen lipid dari sistem liposom dapat mengalami berbagai degradasi selama penyimpanan. Fosfolipid jenuh dan tidak jenuh dapat mengalami hidrolisis dalam media air yang menghasilkan lisofosfolipid dan asam lemak. Hidrolisis berkurang pada pH 6,5. Efek dari degradasi ini memungkinkan terjadinya kebocoran obat yang terperap dan toksisitas liposom.

2.3.5.2 Stabilitas Fisik

Liposom secara fisik dapat tidak stabil selama penyimpanan akibat dari kebocoran obat yang terperap ke dalam media atau terjadinya agregasi dari liposom menjadi ukuran yang lebih besar. Peningkatan ukuran dan kebocoran obat dalam masa penyimpanan tergantung dari lingkungan antara komponen lipid dan obat yang dijerap. Kestabilan ukuran liposom multilamellar lebih stabil dibandingkan liposom unilamellar.

2.3.6 Bahan Utama Liposom

Berbagai lipid dan amfifilik lainnya merupakan bahan utama pembentuk liposom, amfifilik diperlukan sebagai penyusun lapis ganda liposom. Amfifilik yang paling sering digunakan dalam preparasi liposom untuk sediaan farmasetika adalah fosfolipid dan spingolipid. Pemilihan lipid penyusun liposom berdasarkan profil permeabilitas, muatan dan hidrofilitas (Barenholz dan Crommelin, 1994).

Fosfolipid yang banyak digunakan pada aplikasi farmasetika dibagi menjadi empat kelompok yaitu fosfolipid dari sumber alam, fosfolipid dari sumber alam yang

termodifikasi, fosfolipid semisintetik dan fosfolipid sintetik (Barenholz dan Crommelin, 1994).

2.3.6.1 Fosfolipid Dari Sumber Alam

Ada dua sumber utama yaitu telur yang menghasilkan fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin dan sfingomielin, sedangkan kedelai menghasilkan fosfatidilinositol. Fosfatidilkolin yang berasal dari telur menyerupai derivat fosfolipid hewan yang memiliki rantai asil jenuh pada posisi 1 dan rantai utama tak jenuh pada posisi 2. Sedangkan fosfatidilkolin turunan dari kedelai memiliki rantai asil tak jenuh pada posisi 1 dan 2 dengan asam linoleat sebagai komponen utama asil. Fosfolipid dari kedua sumber memiliki berbagai tingkat kemurnian dari berbagai sumber komersil.

2.3.6.2 Fosfolipid Dari Sumber Alam yang Termodifikasi

Fosfolipid dari sumber alam yang termodifikasi secara kimia baik sebagian maupun keseluruhan terhidrogenasi untuk menurunkan tingkat ketidakjenuhan. Hal ini dapat meningkatkan resistensi terhadap peroksidase. Misalnya pada kepala polar dapat dimodifikasi dengan bantuan enzim fosfolipase D untuk mengkonversi fosfatidilkolin menjadi fosfatidilgliserol, fosfatidiletanolamin dan fosfatidilserin.

2.3.6.3 Fosfolipid Semisintetik

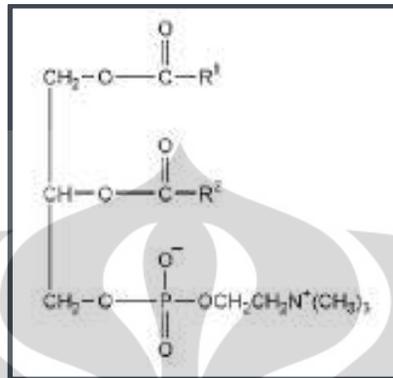
Pada fosfolipid semisintetik rantai asil dihilangkan dari fosfolipid dari sumber alam dan secara kimia diganti dengan rantai asil yang diinginkan.

2.3.6.4 Fosfolipid Sintetik

Komponen ini diperoleh dengan cara reaksi kimiawi.

2.3.7 Fosfatidilkolin

a. Rumus Kimia



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

Gambar 2.5 Rumus Kimia Fosfatidilkolin

b. Sinonim

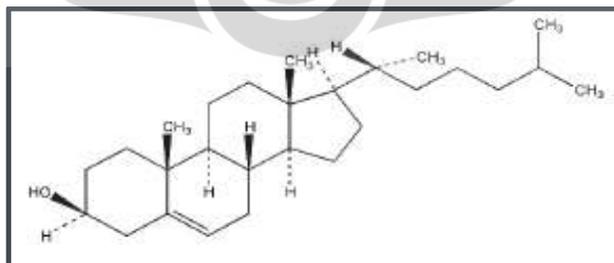
Egg lecithin, soybean lecithin, vegetable lecithin.

c. Keterangan

Fosfolipid adalah molekul amfifilik komponen utama membran sel bersifat amfifilik sehingga dapat mengasosiasikan senyawa hidrofilik dan hidrofobik. Fosfolipid dapat membentuk berbagai struktur misalnya misel dan liposom dengan ukuran yang variatif. Fosfolipid dapat bersifat anionik, kationik dan netral (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009).

2.3.8 Kolesterol

a. Rumus Kimia



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

Gambar 2.6 Rumus Kimia Kolesterol

b. Sinonim

Kolesterin, kolesterolum.

c. Keterangan

Kolesterol merupakan eksipien non-toksik dan non-iritan yang diperoleh dari organ hewan dan berisi kolestanol dan sterol jenuh lainnya (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009).

2.4 Kosmetik

Kosmetik berasal dari bahasa Yunani yaitu *kosmein* yang berarti berhias. Kosmetik dapat terbuat dari bahan alam maupun sintetis dengan tujuan untuk meningkatkan kecantikan (Wasitaatmadja, 1997).

Definisi Kosmetik Kemenkes No. 445/Menkes/Permenkes/1998 adalah: “Kosmetik adalah sediaan atau panduan bahan yang siap untuk 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” (Tranggono dan Latifah, 2007).

2.5 Gel

Gel atau disebut juga jeli, merupakan sistem semipadat terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel anorganik kecil atau molekul organik besar terpenetrasi oleh suatu cairan. Jika massa gel terdiri dari jaringan partikel kecil yang terpisah, gel digolongkan sebagai sistem dua fase (misalnya gel aluminium hidroksida). Gel fase tunggal terdiri dari makromolekul organik yang tersebar serba sama dalam suatu cairan sedemikian hingga tidak terlihat adanya ikatan antara molekul makro yang terdispersi dalam cairan. Gel fase tunggal dapat dibuat dari makromolekul sintetik (misalnya karbomer) atau dari gom alam (misalnya tragakan). Gel dapat digunakan

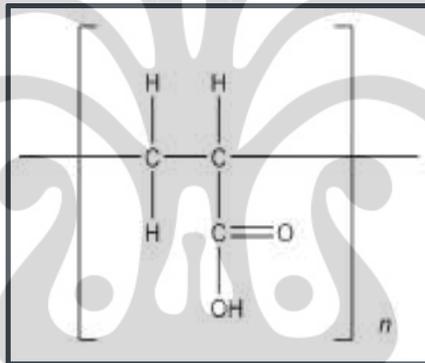
untuk obat yang diberikan secara topikal atau dimasukkan ke dalam lubang tubuh (Farmakope Indonesia Edisi IV, 1995).

Ketidakstabilan gel adalah keluarnya fase pelarut dari sediaan gel atau yang disebut sineresis. Sineresis dapat diturunkan dengan penambahan elektrolit, glukosa atau dengan meningkatkan konsentrasi polimer (Attwood dan Florence, 2008).

2.5.1 Bahan Gel

2.5.1.1 Karbopol

a. Rumus Kimia



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

Gambar 2.7 Rumus Kimia Unit Monomer Asam Akrilat dalam Polimer Karbomer

b. Sinonim

Akripol, polimer asam akrilat, *carbomera*, karboksi polimetilen, asam poliakrilat, polimer karboksivinil.

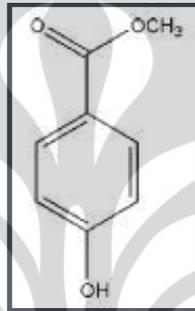
c. Keterangan

Karbopol atau karbomer digunakan pada formulasi farmasetika sediaan likuid dan semisolid sebagai modifikator reologi. Kehadiran garam kationik dapat mempercepat tingkat pelepasan obat dan mengurangi sifat bioadhesif. Inkompatibel dengan garam kationik, fenol, asam kuat dan elektrolit. Adanya logam seperti besi

dapat mengkatalisis degradasi karbomer. Kadar karbopol yang digunakan sebagai agen pembentuk gel 0,5-2,0%.

2.5.1.2 Metilparaben

a. Rumus Kimia



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

Gambar 2.8 Rumus Kimia Metilparaben

b. Sinonim

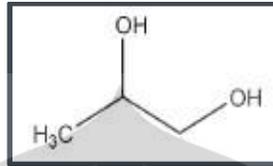
Metilis parahidroksibenzoas, metil p-hidroksibenzoat, metil parasept, nipagin.

c. Keterangan

Metilparaben digunakan secara luas sebagai pengawet antimikroba dalam kosmetik, produk makanan dan formulasi farmasetika. Metilparaben dapat digunakan secara tunggal ataupun dikombinasikan dengan paraben lain dan agen antimikroba lain. Metilparaben adalah pengawet antimikroba yang paling banyak digunakan dalam kosmetik. Paraben efektif pada kisaran pH yang luas dan memiliki aktivitas antimikroba spektrum luas, meskipun paling efektif terhadap ragi dan kapang. Untuk sediaan topikal kadar metilparaben 0,02-0,3%.

2.5.1.3 Propilenglikol

a. Rumus Kimia



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

Gambar 2.9 Rumus Kimia Propilenglikol

b. Sinonim

1,2-Dihidroksipropaan, 2-hidroksipropanol, metil etilen glikol, metil glikol, propan-1,2-diol, *propyleneglycolum*.

c. Keterangan

Propilenglikol secara luas digunakan sebagai pelarut, humektan dan pengawet pada sediaan formulasi farmasetika parenteral dan nonparenteral. Penggunaan propilenglikol untuk humektan sediaan topikal maksimal 15%.

2.5.1.4 Natrium Metabisulfit

a. Rumus Kimia



b. Sinonim

Disodium disulfit, disodium pirosulfit, garam disodium, natrii disulfis; natrii metabisulfis

c. Keterangan

Natrium metabisulfit digunakan sebagai antioksidan pada sediaan farmasetika topikal, oral dan parenteral dengan konsentrasi 0,01-1,0% b/v. Natrium metabisulfit juga memiliki aktivitas antimikroba yang lebih besar pada suasana asam (Rowe, Sheskey, dan Quinn, 2009).

2.6 Sinar Matahari

Daerah tropis banyak memperoleh sinar matahari dibandingkan belahan bumi lainnya, memperbesar risiko kerusakan kulit akibat pancaran sinar ultra violet (UV) dari sinar matahari. Sinar matahari tampak (*visible light*) yang panjang gelombangnya berkisar antara 400-800 nm tidak berpotensi untuk merusak kulit, tetapi sinar infra merah (*infra red* = IR) yang panjang gelombangnya berkisar antara 1300-1700 nm sebanyak 40% bagiannya mencapai bumi dan berpengaruh terhadap proses *photoaging* (penuaan yang disebabkan oleh sinar matahari). Gabungan antara sinar IR dengan UV-B akan menyebabkan kerusakan dermis (dermal elastosis) dan berbagai kerusakan kulit. Sinar matahari yang pada umumnya menyebabkan warna kemerahan (eritema), mempermudah timbulnya kerusakan kulit karena sifat sinar matahari merangsang pembelahan sel epidermis secara tidak teratur (Misnadiarly, 2006).

Sinar UV yang mempengaruhi kehidupan biologis mempunyai panjang gelombang antara 250-400 nm, terdiri dari beberapa segmen, yaitu segmen UV-A, UV-B dan UV-C.

2.6.1 Segmen UV-A

Segmen UV-A memiliki panjang gelombang 320-400 nm, merupakan segmen sinar UV yang paling banyak mencapai bumi sekitar 100 kali UV-B, tetapi kekuatan lebih lemah dibandingkan dengan UV-B 1:1000. Segmen UV-A masuk ke dalam dermis kemudian menyebabkan kerusakan jaringan dermis sehingga mempercepat proses penuaan, menyebabkan reaksi fotosensitivitas dan bersama UV-B berperan dalam proses keganasan kulit (Misnadiarly, 2006). Sinar UV-A memiliki *Minimal Erythmal Dose* (MED) antara 50.000-60.000 mJ/cm² (De Polo, 1998).

2.6.2 Segmen UV-B

Segmen UV-B memiliki panjang gelombang antara 290-320 nm, merupakan sinar terkuat yang mencapai bumi. Kerusakan kulit yang ditimbulkan pada bagian bawah epidermis. Kerusakan yang disebabkan dapat berupa luka bakar (*sunburn*), kelainan pra-kanker dan kerusakan. Lapisan ozon mengabsorpsi 90% segmen UV-B

terutama pada panjang gelombang 290-300 nm (Misnadiarly, 2006). Sinar UV-B memiliki *Minimal Erythemat Dose* (MED) antara 20-35 mJ/cm² (De Polo, 1998).

2.6.3 Segmen UV-C

Segmen UV-C memiliki panjang gelombang antara 200-290 nm, merupakan sinar terkuat yang diabsorpsi oleh lapisan ozon sehingga tidak mencapai permukaan bumi. Tetapi dengan adanya kebocoran lapisan ozon saat ini dan penurunannya sebanyak 8% setiap dekade, maka sinar UV-C dapat mencapai bumi dan sangat membahayakan lingkungan. Pembentukan radikal bebas intrasel yang reaktif akan mempercepat proses kerusakan dan penuaan kulit (Misnadiarly, 2006).

2.7 *Photoaging*

Photoaging adalah bentuk utama kerusakan kulit akibat paparan sinar matahari, frekuensi terjadi lebih sering dibandingkan dengan kanker kulit. Paparan UV kronis menghasilkan penuaan dini kulit yang disebut *premature skin aging*, ditandai dengan kerutan halus dan kasar pada kulit, dispigmentasi, warna memucat, perubahan tekstur, kehilangan elastisitas dan *pre-malignant actinic keratoses* (Draelos, 2010).

Sebagian besar tanda-tanda klinis disebabkan oleh perubahan dermal. Gangguan pigmen seperti keratosis seboroik, *lentigines*, dan hiperpigmentasi merupakan karakteristik dari perubahan epidermis. Kehilangan fibril kolagen jaringan ikat interstisial dan akumulasi dari ketidakaturan elastin jaringan ikat menyebabkan *solar elastosis* yang merupakan karakteristik kondisi kulit yang mengalami *photoaging* (Draelos, 2010). Masalah penuaan menjadi lebih kompleks dan berat pada kasus di mana kulit telah kehilangan fungsi sebagai pelindung mekanis (Barel, Paye dan Maibach, 2009).

2.7.1 Mekanisme *Photoaging*

Kolagen adalah salah satu komponen utama dari kulit manusia yang mempengaruhi kekuatan dan elastisitas kulit. Fibroblas dermis memproduksi molekul prekursor yang disebut prokolagen kemudian diubah menjadi kolagen. Ada dua regulator penting dari produksi kolagen yaitu *transforming growth factor* (TGF)- β dan *protein activator* (AP-1). Kolagen di kulit mengalami pergantian dan perbaikan secara terus-menerus dengan TGF- β dan AP-1 berperan penting. TGF- β merupakan sitokin yang merangsang produksi kolagen sedangkan AP-1 adalah faktor transkripsi yang menghambat produksi kolagen dan memicu pemecahan kolagen dengan meningkatkan enzim yang disebut *matrix metalloproteinase* (MMP) (Helfrich, Sachs, dan Voorhees, 2008).

Ketika kulit terkena sinar matahari, radiasi UV diserap oleh molekul-molekul kulit yang dapat menghasilkan senyawa berbahaya yang disebut *Reactive Oxygen Species* (ROS) kemudian menyebabkan kerusakan oksidatif pada komponen seluler seperti dinding sel, membran lipid, mitokondria, dan DNA. Radiasi UV memicu pembentukan ROS dan menginduksi AP-1 yang menyebabkan produksi MMP meningkat, sehingga peningkatan penghancuran kolagen. Selain itu, radiasi sinar UV menyebabkan penurunan ekspresi dari (TGF)- β 2, salah satu bagian dari TGF- β . Padahal peranan TGF- β meningkatkan pembentukan kolagen, sehingga penurunan TGF- β menyebabkan penurunan produksi kolagen. Peningkatan kerusakan dan penurunan produksi kolagen adalah penyebab terjadinya *photoaging* (Helfrich, Sachs, dan Voorhees, 2008).

2.8 Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas adalah molekul atau atom yang memiliki elektron tidak berpasangan sehingga bersifat lebih reaktif dibanding dengan molekul atau atom yang memiliki elektron yang lengkap. Karena molekul atau atom berusaha untuk mencapai keadaan stabilitas maksimum, radikal bebas akan mencoba untuk mengisi kulit terluarnya dengan mengambil elektron dari molekul lain. Ketika molekul atau atom

target kehilangan elektron sehingga berubah menjadi radikal bebas kemudian harus mengambil elektron dari target lain agar menjadi stabil. Jadi, reaksi berantai ini menyebabkan kerusakan yang cukup besar untuk protein seluler, lipid, membran, dan DNA. Sebagian besar radikal bebas dalam sistem biologis adalah turunan dari oksigen. Radikal oksigen yang paling umum di dalam tubuh adalah anion superoksida dan radikal hidroksil (Draeos, 2010).

Antioksidan adalah sebuah molekul yang dapat mencegah oksidasi molekul lain. Berperan penting dalam melindungi sel dari kerusakan dengan kemampuan memblokir proses kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Antioksidan melindungi sel dari kerusakan radikal bebas dengan menyumbangkan elektron ke radikal bebas sehingga menstabilkan dan menghentikan reaksi berantai, atau dengan menerima satu elektron tidak berpasangan bertujuan untuk menstabilkan radikal bebas dan mencegah kerusakan protein, DNA, dan lipid. Dengan menyumbangkan elektron kepada radikal bebas untuk menghentikan reaksi berantai, antioksidan itu sendiri berubah menjadi radikal bebas. Meski demikian, reaktivitas dari antioksidan tidak seaktif radikal bebas sehingga tidak berbahaya dan dapat dinetralkan dengan antioksidan lain (Draeos, 2010).

2.9 Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode Peredaman DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil)

Sebuah metode cepat, sederhana dan murah untuk mengukur kapasitas antioksidan dari suatu sampel dengan menggunakan radikal bebas, 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH). DPPH secara luas digunakan untuk menguji kemampuan sampel untuk bertindak sebagai *free radical scavenger* atau donor hidrogen dan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan dari suatu sampel. Metode DPPH dapat digunakan untuk sampel padat atau cair dan tidak spesifik untuk setiap komponen antioksidan tertentu, tetapi berlaku untuk kapasitas antioksidan keseluruhan sampel (Prakash, Rigelhof dan Miller, n.d.).

Larutan DPPH dicampurkan dengan senyawa donor atom hidrogen menyebabkan warna ungu dari DPPH berkurang menjadi kuning pucat. Serapan tersebut diukur dengan spektrofotometer UV Vis pada λ 517 nm. Reaksi dasar DPPH yang diwakilkan sebagai Z• dan AH sebagai donor hidrogen sedangkan ZH sebagai bentuk tereduksi dan A• sebagai radikal bebas adalah (Molyneux, 2003):



2.10 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrum UV-Vis merupakan hasil interaksi antara radiasi elektromagnetik (REM) dengan molekul. REM merupakan bentuk energi radiasi yang mempunyai sifat gelombang dan partikel (foton). Karena bersifat sebagai gelombang maka beberapa parameter perlu diketahui, misalnya panjang gelombang (λ), frekuensi (ν), bilangan gelombang ($\bar{\nu}$) dan serapan (A) (Harmita, 2006).

Spektrofotometer UV-Vis digunakan terutama untuk analisa kuantitatif, tetapi dapat juga untuk analisa kualitatif. Untuk analisa kualitatif yang diperhatikan adalah:

- Membandingkan λ maksimum.
- Membandingkan serapan (A), daya serap (a), $E_{1\text{cm}}^{1\%}$
- Membandingkan spektrum serapannya.

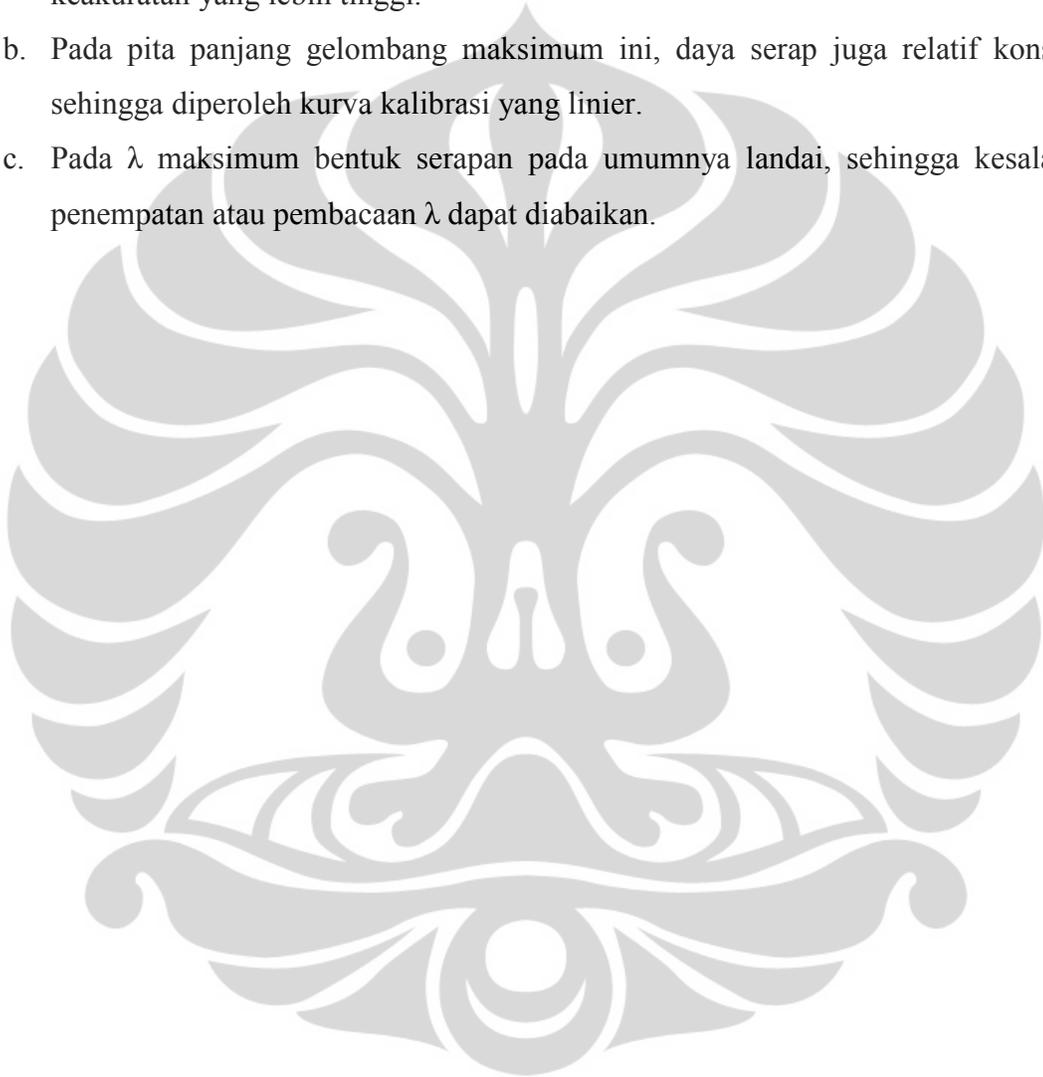
Untuk analisa kuantitatif dilakukan langkah-langkah sebagai berikut:

- Pembuatan spektrum serapan dari zat murni atau standar.
- Pembuatan kurva kalibrasi dari zat murni atau standar yang diukur pada λ maksimum.

Pembuatan spektrum serapan bertujuan untuk memperoleh panjang gelombang maksimum dari senyawa tersebut dari konsentrasi yang biasa digunakan antara 5-10 ppm ($\mu\text{g/mL}$). Faktor-faktor yang mempengaruhi spektrum serapan antara lain jenis pelarut (polar atau nonpolar), pH larutan, kadar larutan, tebal larutan dan lebar celah (Harmita, 2006)

Penetapan kadar dilakukan pada λ maksimum dengan alasan sebagai berikut (Harmita, 2006):

- a. Pada λ maksimum diperoleh serapan maksimum, dimana perubahan serapan karena konsentrasi juga maksimum, sehingga menghasilkan kepekaan dan keakuratan yang lebih tinggi.
- b. Pada pita panjang gelombang maksimum ini, daya serap juga relatif konstan, sehingga diperoleh kurva kalibrasi yang linier.
- c. Pada λ maksimum bentuk serapan pada umumnya landai, sehingga kesalahan penempatan atau pembacaan λ dapat diabaikan.



BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Laboratorium Penelitian Farmasi Fisika, Laboratorium Farmasetika, Laboratorium Fitokimia, Laboratorium Bioavailabilitas dan Bioekivalensi, serta Laboratorium Kimia Farmasi Analisis Kuantitatif Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok dan Laboratorium Kultur Jaringan, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Ciputat yang berlangsung dari bulan Februari 2012 hingga Mei 2012.

3.2 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rotavapor (Hahn Shin HS-2005S-N), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1601, Jepang), pH-meter (Eutech Instrument pH 510, Singapura), mikroskop konvokal (Olympus Fluoview FV1000), kamera digital (Canon IXUS), timbangan analitik (Sartorius), pengaduk magnetik (IKA® C-MAG HS 7), homogenizer (Multimix, Malaysia), viskometer Brookfield (Brookfield, USA), sonikator (Branson 3200), vortex (As One), *refrigerator* (Toshiba), penetrometer (Herzoo, Jerman), ultrasentrifugator (Hitachi Himac CP100WX, Jepang), *tube sealer* (Hitachi STF2, Jepang), TEM (JEOL JEM 1400), oven (Mettler, Jerman), termometer dan alat-alat gelas.

3.3 Bahan

3.3.1 Bahan Liposom

Ekstrak metanol kulit buah manggis *G. mangostana* L. (Balitro, Indonesia), fosfatidilkolin 60% (Sigma Aldrich, Singapura), kolesterol (Sigma Aldrich,

Singapura), gas nitrogen, kloroform (Mallincrodt, Indonesia), kalium dihidrogenfosfat (Brataco Chemical, Indonesia), natrium hidroksida (Brataco Chemical, Indonesia), aquademineralisata (Brataco Chemical, Indonesia) dan tween 80 (Brataco Chemical, Indonesia).

3.3.2 Bahan Gel

Metilparaben (Brataco Chemical, Indonesia), karbopol 940 (Tristar Chemical, Indonesia), propilen glikol (Brataco Chemical, Indonesia), natrium hidroksida (Brataco Chemical, Indonesia), natrium metabisulfit (Brataco Chemical, Indonesia) dan aquademineralisata (Brataco Chemical, Indonesia).

3.3.3 Pereaksi Kimia

DPPH (Wako, Jepang), metanol p.a (Mallincrodt, Indonesia), vitamin C (Brataco Chemical, Indonesia), *n*-heksana p.a (Mallincrodt, Indonesia) dan diklorometana p.a (Mallincrodt, Indonesia).

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Persiapan Simplisia

Kulit manggis diiris tipis-tipis dan dikeringkan pada udara terbuka selama 7 hari. Setelah kulit manggis kering, dihaluskan menjadi serbuk sehingga diperoleh serbuk (Hyun-Ah, Bao-Ning, Keller, Mehta dan Kinghorn, 2006).

3.4.2 Ekstraksi Simplisia Kulit Manggis Secara Maserasi dengan Metanol

Serbuk kulit manggis dimaserasi dengan 500 mL metanol sebanyak tiga kali, masing-masing selama tiga hari pada suhu ruang kemudian diuapkan dalam evaporator pada suhu 50°C menghasilkan ekstrak kental metanol (Hyun-Ah, Bao-Ning, Keller, Mehta dan Kinghorn, 2006).

3.4.3 Fraksinasi Ekstrak Metanol Kulit Manggis

Ekstrak kental metanol kulit manggis ditambahkan aquadestilata sebanyak 500 mL untuk memperoleh larutan cair kemudian dipartisi dengan 400 mL *n*-heksana p.a sebanyak tiga kali kemudian dipartisi dengan 400 mL diklorometana p.a sebanyak dua kali. Hasil fraksinasi diklorometana dikeringkan sampai semua pelarut hilang dan dihasilkan serbuk hasil fraksi diklorometana (Hyun-Ah, Bao-Ning, Keller, Mehta dan Kinghorn, 2006).

3.4.4 Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan Serbuk Fraksinasi Diklorometana Kulit Manggis Terhadap DPPH (2,2-Difenil-1-pikril hidrazil) dengan KLT.

Uji ini dilakukan pada serbuk hasil fraksinasi diklorometana untuk mengetahui aktivitas antioksidan secara kualitatif. Terlebih dahulu dibuat larutan sampel dan larutan kontrol yaitu vitamin C, larutan sampel dibuat dengan melarutkan serbuk fraksinasi diklorometana sebanyak 10 mg dalam 20,0 mL metanol p.a dan vitamin C 10 mg dalam 20,0 mL metanol p.a. Kedua larutan ditotolkan pada lempeng KLT. Kemudian disemprot dengan larutan DPPH 100 ppm.

3.4.5 Uji Aktivitas Antioksidan Serbuk Fraksinasi Diklorometana Kulit Manggis Terhadap Metode DPPH (2,2-Difenil-1-pikril hidrazil)

3.4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang DPPH

DPPH ditimbang sebanyak 5,0 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL lalu cukupkan volumenya hingga 50,0 mL dengan metanol pa diperoleh konsentrasi sebesar 100 ppm. Selanjutnya ditentukan spektrum serapannya pada panjang gelombang 400 nm hingga 800 nm serta ditentukan panjang gelombang optimumnya (Zarena, Sulaiman dan Sankar, 2009).

3.4.5.2 Penyiapan Larutan Fraksinasi Diklorometana Kulit Manggis

Untuk uji aktivitas antioksidan serbuk fraksinasi diklorometana ditimbang sebanyak 50,0 mg dilarutkan dengan metanol p.a ad. 50 mL untuk membuat

konsentrasi induk sebesar 1000 ppm. Selanjutnya diambil 10 mL larutan sampel dan dimasukkan ke dalam labu ukur ukuran 100 mL, ditambahkan metanol p.a sampai tanda batas untuk membuat konsentrasi sebesar 100 ppm. Disiapkan enam buah labu ukur dengan ukuran beragam yaitu empat buah labu ukur 10,0 mL, satu buah labu ukur 20,0 mL dan satu buah labu ukur 25,0 mL. Larutan sampel dipipet dengan sejumlah volume tertentu yaitu 1,0; 2,0; 4,0 dan 5,0 mL, ditambahkan metanol p.a sampai dengan tanda batas sehingga dihasilkan larutan sampel dengan beberapa konsentrasi yaitu 1, 5, 10, 16, 20 dan 25 ppm.

3.4.5.3 Pembuatan Blanko Positif Vitamin C

Blanko positif digunakan vitamin C yang ditimbang sebanyak 50,0 mg dilarutkan dengan metanol p.a ad. 50,0 mL untuk membuat konsentrasi larutan induk sebesar 1000 ppm selanjutnya dipipet 10,0 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 100,0 mL sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Kemudian disiapkan enam buah labu ukur dengan ukuran 10,0 mL. Pipet dengan volume 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 dan 6,0 ml sehingga diperoleh konsentrasi 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 ppm.

3.4.5.4 Pembuatan Larutan DPPH 100 ppm

DPPH ditimbang sebanyak 5,0 mg kemudian masukkan ke dalam labu ukur 50,0 mL lalu dicukupkan volumenya hingga 50,0 mL dengan metanol p.a diperoleh DPPH konsentrasi 100 ppm.

3.4.5.5 Pengujian Aktivitas Antioksidan Fraksinasi Diklorometana Kulit Manggis

Larutan uji dibuat dengan cara 3 mL dari masing-masing konsentrasi ditambahkan 1 mL DPPH 100 ppm. Campuran dikocok selama 20 detik kemudian larutan uji dan blanko diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif. Uji antioksidan dilakukan dengan metode DPPH dan pengukuran serapan menggunakan spektrofotometer UV Vis. Serapan atau absorbansi larutan uji diukur pada panjang gelombang maksimum. Dari data

absorbansi yang didapat kemudian dihitung persentase inhibisi serbuk fraksinasi diklorometan terhadap radikal bebas DPPH.

$$\text{Persentase inhibisi} = \frac{\text{serapan kontrol} - \text{serapan sampel}}{\text{serapan kontrol}} \times 100\% \quad (3.1)$$

3.4.5.6 Pengujian Aktivitas Antioksidan Blanko Positif Vitamin C

Larutan uji dibuat dengan cara 3 mL dari masing-masing konsentrasi ditambahkan 1 mL DPPH 100 ppm. Campuran dikocok selama 20 detik kemudian larutan uji dan blanko diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Vitamin C digunakan sebagai kontrol positif. Uji antioksidan dilakukan dengan metode DPPH dan pengukuran serapan menggunakan spektrofotometer UV Vis. Serapan atau absorbansi larutan uji diukur pada panjang gelombang maksimum. Dari data absorbansi yang didapat kemudian dihitung persentase inhibisi serbuk fraksinasi diklorometan terhadap radikal bebas DPPH dengan rumus 3.1.

3.4.6 Pembuatan Larutan Dapar Fosfat pH 7,4

Larutan dapar fosfat dibuat dengan dicampurkan 50 mL kalium dihidrogen fosfat 0,2 M dengan 42,80 mL natrium hidroksida 0,2 N di dalam labu ukur 200,0 mL, kemudian dicukupkan volumenya sedikit demi sedikit dengan aquademineralisata bebas CO₂ hingga 200 mL. Sebelumnya, kalium dihidrogen fosfat 0,2 M dibuat dengan menimbang 1,3609 gram serbuk kalium dihidrogen fosfat, di larutkan dengan aquades bebas CO₂ di dalam labu ukur 250,0 mL, dan dicukupkan volumenya sedikit demi sedikit hingga batas labu ukur. Untuk pembuatan natrium hidroksida 0,2 N, natrium hidroksida ditimbang sebanyak 8,0 gram, kemudian dilarutkan dalam 1000 mL aquademineralisata bebas CO₂ (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979).

3.4.7 Pembuatan Liposom Mengandung Fraksinasi Diklorometana Ekstrak Metanol Kulit Manggis dengan Metode Hidrasi Lapis Tipis

Pada penelitian ini dibuat empat formulasi liposom dengan perbandingan fosfatidilkolin yang berbeda seperti yang tertera pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Formulasi Liposom Fraksinasi Diklorometana

Bahan	Formulasi I (3:1)	Formulasi II (4:1)	Formulasi III (5:1)	Formulasi IV (6:1)
Fraksinasi diklorometana kulit manggis	50 mg	50 mg	50 mg	50 mg
<i>Egg Phosphatidilcholine</i> 60%	260 mg	345 mg	430 mg	515 mg
Kolesterol	43 mg	43 mg	43 mg	43 mg
Kloroform	20 mL	20 mL	20 mL	20 mL
Dapar fosfat pH 7,4	19,4 mL	19,4 mL	19,4 mL	19,4 mL
Tween 80	0,6 mL	0,6 mL	0,6 mL	0,6 mL

Keempat formula tersebut dibuat dengan metode hidrasi lapis tipis. Fraksinasi diklorometana, fosfolipid dan kolesterol ditimbang, lalu semua bahan tersebut dicampur dan dilarutkan dalam 20 mL kloroform. Larutan tersebut selanjutnya dievaporasi dengan *rotary evaporator* untuk menghilangkan pelarut organik selama 1 sampai 2 jam pada suhu 40°C dengan kecepatan 150 rpm dalam kondisi vakum. Labu bulat kemudian dilepaskan dari *rotary evaporator* lalu dialiri dengan gas nitrogen, didiamkan selama 24 jam dengan mulut labu tertutup. Tahapan selanjutnya dihidrasi dengan campuran dapar fosfat pH 7,4 dan tween 80 sebanyak 20 mL. Labu diletakkan pada *rotary evaporator* suhu 40°C tidak vakum dengan kecepatan 50 sampai 150 rpm serta dengan bantuan *glass beads* agar mudah terkelupas (Saputra, 2011). Hasil

suspensi tersebut dipindahkan dari *rotary evaporator* kemudian didiamkan hingga dingin pada suhu 4°C. Setelah dingin didiamkan selama 48 jam untuk selanjutnya tahapan pengecilan ukuran (Mitkari, Korde, Mahdik dan Kokare, 2010).

3.4.7.1 Penyeragaman Ukuran Liposom Secara Sonikasi

Liposom yang telah menjerap serbuk fraksi diklorometan kemudian disonikasi selama 20 menit dalam sonikator dengan tujuan untuk memperkecil ukuran liposom dan menyeragamkan ukuran (Yamaguchi, Nomura, Matsuoka dan Koda, 2009).

3.4.7.2 Evaluasi Liposom Yang Mengandung Fraksinasi Diklorometana

a. Morfologi bentuk vesikel

Morfologi karakteristik dan ukuran liposom dilihat dengan TEM (*Transmission Electron Microscope*) atau mikroskop elektron transmisi dan ukuran partikel dalam hamburan cahaya statis sistem selama solubilisasi liposom (Chetanachan, *et al.* 2008). Tahapan pengerjaan TEM adalah dengan meneteskan sampel pada *carbon coated cooper grid* sebanyak satu tetes lalu dikeringkan pada suhu ruang, setelah kering dianalisa dengan TEM.

b. Distribusi ukuran partikel liposom

Penetapan distribusi ukuran partikel dideterminasi menggunakan metode *light scattering* (pemendaran cahaya) dengan alat *particle size analyzer* (PSA) pada suhu 25°C. Larutan *aquadest* dimasukkan ke dalam *fluid tank* sebagai *baseline*, kemudian sampel dimasukkan ke dalam *fluid tank* tetes demi tetes hingga konsentrasi yang mencukupi, setelah itu akan terukur ukuran partikel globul-globul liposom. Pengukuran distribusi ukuran partikel dilakukan baik untuk liposom sebelum sonikasi maupun setelah sonikasi.

3.4.7.3 Pemurnian Liposom

Liposom disentrifugasi dengan ultrasentrifugator untuk memisahkan zat aktif yang terjerap dan tidak terjerap pada kecepatan 30.000 rpm selama 30 menit dengan temperatur 4°C dalam keadaan vakum. Melalui proses ultrasentrifugasi terbentuk

pemisahan antara supernatan dan presipitat. Presipitat liposom disimpan dalam vial kemudian diletakkan di lemari pendingin sedangkan supernatan diuji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman DPPH untuk mengetahui presentase penjerapan.

3.4.7.4 Penentuan Aktivitas Antioksidan Supernatan Metode Peredaman DPPH dari Formulasi Liposom

Supernatan tiap formulasi direaksikan dengan DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil), semakin besar aktivitas supernatan maka semakin kecil penjerapan liposom.

a. Pembuatan Larutan DPPH 100 ppm

DPPH ditimbang sebanyak 5,0 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50,0 mL lalu cukupkan volumenya hingga 50,0 mL dengan metanol p.a. Sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm.

b. Penentuan Panjang Gelombang DPPH

DPPH ditimbang sebanyak 5,0 mg kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50,0 mL lalu cukupkan volumenya hingga 50,0 mL dengan metanol p.a diperoleh konsentrasi sebesar 100 ppm. Selanjutnya ditentukan spektrum serapannya pada panjang gelombang 400 hingga 800 nm serta ditentukan panjang gelombang optimumnya yaitu λ 517 nm.

c. Penyiapan Larutan Sampel

Untuk uji aktivitas antioksidan supernatan dipipet 1,0 ml lalu ditambahkan metanol p.a dalam labu ukur 25,0 mL untuk membuat konsentrasi induk sebesar 100 ppm. Kemudian disiapkan lima buah labu ukur 10,0 mL dan satu buah 20,0 mL, larutan sampel dipipet dengan sejumlah volume tertentu yaitu 1,0 mL; 2,0 mL; 3,0 mL dan 5,0 mL, ditambahkan metanol p.a sampai dengan tanda batas sehingga dihasilkan larutan sampel dengan beberapa konsentrasi yaitu 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 30 ppm.

d. Pengujian Aktivitas Antioksidan Supernatan

Larutan uji dibuat dengan cara 3 mL dari masing-masing konsentrasi ditambahkan 1 mL DPPH 100 ppm. Campuran dikocok selama 20 detik kemudian larutan uji dan blanko diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Uji antioksidan dilakukan dengan metode peredaman DPPH dan pengukuran serapan menggunakan spektrofotometer UV Vis. Serapan atau absorbansi larutan uji diukur pada panjang gelombang maksimum λ 517 nm. Dari data absorbansi yang didapat kemudian dihitung persentase inhibisi supernatan terhadap radikal bebas DPPH dengan rumus 3.1.

3.4.7.5 Efisiensi Penjerapan Liposom Mengandung Fraksinasi Diklorometana Ekstrak Metanol Kulit Manggis

Liposom yang telah dimurnikan dengan ultrasentrifugasi pada kecepatan 30.000 rpm selama 30 menit menghasilkan presipitat dan supernatan. Supernatan diambil menggunakan *syringe* kemudian diletakkan dalam vial. Supernatan tersebut diuji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman DPPH untuk mengetahui nilai IC_{50} dari masing-masing supernatan dari empat formula liposom. Setelah diperoleh nilai IC_{50} lalu dibandingkan dengan IC_{50} serbuk hasil fraksinasi diklorometana untuk mengetahui persentase aktivitas antioksidan.

$$\text{Persentase Inhibisi Supernatan} = \frac{IC_{50} \text{ Fraksinasi Diklorometana}}{IC_{50} \text{ Supernatan}} \times 100\% \quad (3.2)$$

Setelah diperoleh persentase aktivitas antioksidan supernatan maka dihitung persentase aktivitas antioksidan presipitat yang mewakili efisiensi penjerapan liposom. Semakin kecil persentase aktivitas antioksidan supernatan maka semakin besar persentase aktivitas antioksidan pada presipitat yang artinya persentase penjerapannya semakin besar.

$$\text{Efisiensi Penjerapan} = 100\% - \text{Persentase Inhibisi Supernatan} \quad (3.3)$$

3.4.8 Pembuatan Sediaan Gel

Formulasi gel yang dibuat pada penelitian ini tertera pada Tabel 3.2. Penggunaan *gelling agent* sebesar 1% dipilih karena menghasilkan gel dengan viskositas yang tidak terlalu tinggi setelah dilakukan orientasi penggunaan *gelling agent* sebesar 0,7; 0,8; 0,9; 1; 2 dan 3%.

Tabel 3.2 Formulasi Gel

Bahan	Formulasi	Fungsi
Liposom	1,0%	Zat Aktif
Karbopol 940	1,0%	<i>Gelling agent</i>
Propilenglikol	10,0%	Humektan
Metilparaben	0,1%	Pengawet
Natrium Metabisulfit	0,8%	Antioksidan
NaOH	qs	pH <i>adjustment</i>
Aquadestilata Bebas CO ₂	Ad 100%	Pelarut

Setelah semua bahan ditimbang, karbopol 940 dicampurkan dalam aquademineralisata bebas CO₂ selama semalaman sampai karbomer terbasahi, metil paraben dilarutkan dalam propilenglikol dan NaOH dan natrium metabisulfit dilarutkan dalam sisa aquademineralisata bebas CO₂. Larutan NaOH, natrium metabisulfit, metil paraben dan propilenglikol dimasukkan ke dalam larutan karbopol 940 yang sudah mengental. Selanjutnya dilakukan homogenisasi dengan *homogenizer* kecepatan sekitar 1000 rpm yang ditingkatkan secara bertahap.

3.4.9 Penggabungan Formulasi Liposom Ke Dalam Formula Gel

Setelah basis gel jadi, liposom dimasukkan ke dalam basis gel dengan pengadukan perlahan menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan pengadukan sekitar 500 rpm selama 30 menit.

3.5 Evaluasi

3.5.1 Evaluasi Sediaan Gel

Evaluasi sediaan gel yaitu pengamatan organoleptis, pemeriksaan homogenitas, pengukuran pH, penentuan viskositas dan sifat alir dan pemeriksaan konsistensi.

3.5.1.1 Pengamatan Organoleptis

Sediaan diamati terjadinya pemisahan fase (sineresis) atau tidak, bau serta perubahan warna.

3.5.1.2 Pemeriksaan Homogenitas

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

3.5.1.3 Pengukuran pH

pH diukur dengan menggunakan pH meter yang dikalibrasi dengan dapar standar pH 4 dan pH 7. Pengukuran pH dilakukan pada suhu ruang.

3.5.1.4 Penentuan Viskositas dan Sifat Alir

Pengukuran viskositas dilakukan dengan viskometer Brookfield. Gel liposom dituang ke dalam wadah beaker glass, selanjutnya dipasang spindel. Kemudian spindel diturunkan ke dalam sediaan hingga batas yang ditentukan. Pengukuran dilakukan dengan viskometer Brookfield dengan kecepatan diatur mulai dari 0,5; 2; 4; 10 dan 20 rpm, lalu dibalik dari 20; 10; 4; 2 dan 0,5 rpm. Masing-masing pengukuran dengan perbedaan rpm dibaca skalanya ketika jarum merah yang bergerak telah stabil. Data yang diperoleh diplotkan terhadap tekanan geser (dyne/cm^2) dan kecepatan geser (/sec). Pemeriksaan viskositas dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-4 dengan penyimpanan pada suhu kamar.

3.5.1.5 Pemeriksaan Konsistensi

Sediaan yang akan diperiksa dimasukkan ke dalam wadah khusus dan diletakkan pada meja penetrometer. Peralatan diatur hingga ujung kerucut tepat menyentuh permukaan gel. Batang pendorong dilepas dengan mendorong tombol *start*. Angka penetrasi dibaca 5 detik setelah kerucut menembus sediaan. Dari pengukuran konsistensi dengan penetrometer akan diperoleh *yield value*. Pemeriksaan konsistensi dilakukan pada minggu ke-0 dan minggu ke-4 dengan penyimpanan pada suhu kamar.

3.5.2 Uji Stabilitas

Uji stabilitas sediaan gel terdiri dari metode *cycling test*, penyimpanan suhu rendah, suhu kamar dan suhu tinggi (Djajadisastra, 2002).

3.5.2.1 Metode *Cycling Test*

Sampel gel disimpan pada suhu $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam, lalu dipindahkan ke dalam oven yang bersuhu $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam (satu siklus). Uji dilakukan sebanyak 6 siklus atau selama 12 hari kemudian diamati adanya pemisahan fase. Pada setiap tahapan dilakukan pemeriksaan adanya sineresis.

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

Sampel gel disimpan pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 4 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, dan homogenitas), pengukuran pH setiap minggu serta dilakukan pemeriksaan adanya sineresis.

3.5.2.3 Suhu Kamar ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$)

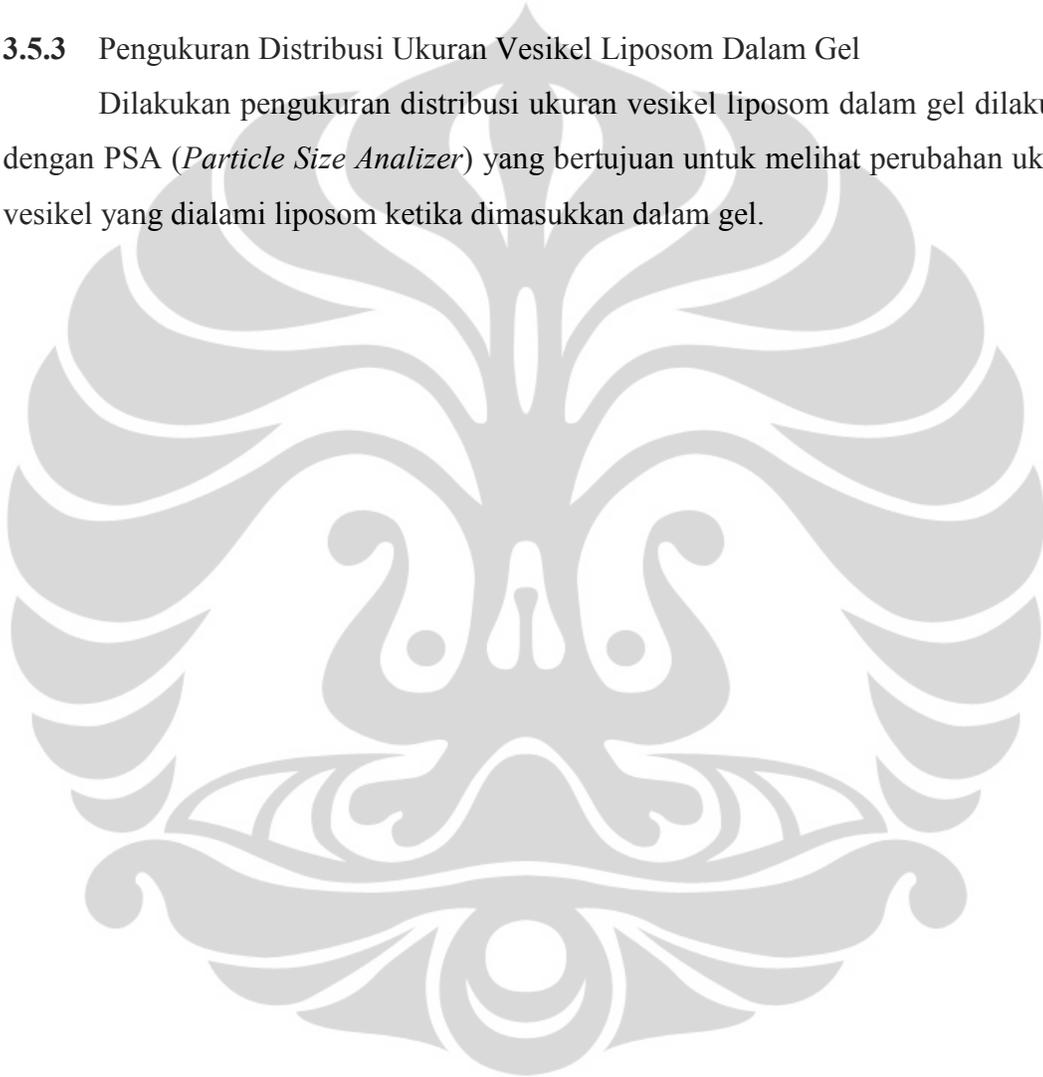
Sampel gel disimpan pada suhu kamar ($27\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 4 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, dan homogenitas), pengukuran pH setiap minggu. Pengukuran viskositas dan konsistensi dilakukan pada minggu ke-0 dan ke-4 serta dilakukan pemeriksaan adanya sineresis.

3.5.2.4 Suhu Tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$)

Sampel gel disimpan pada suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 4 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, dan homogenitas), pengukuran pH setiap minggu serta dilakukan pemeriksaan adanya sineresis.

3.5.3 Pengukuran Distribusi Ukuran Vesikel Liposom Dalam Gel

Dilakukan pengukuran distribusi ukuran vesikel liposom dalam gel dilakukan dengan PSA (*Particle Size Analyzer*) yang bertujuan untuk melihat perubahan ukuran vesikel yang dialami liposom ketika dimasukkan dalam gel.



BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

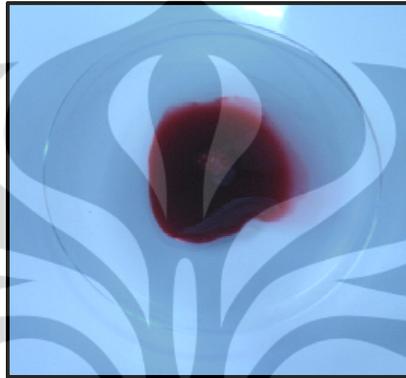
4.1 Fraksinasi Ekstrak Metanol Kulit Manggis

Tahapan pertama dalam penelitian ini adalah melakukan fraksinasi dengan pelarut *n*-heksana dan diklorometana dari ekstrak metanol kulit manggis menggunakan corong pisah. Tujuan dari fraksinasi menggunakan pelarut polaritas yang berbeda untuk menghasilkan senyawa aktif yang lebih spesifik berdasarkan kelarutannya. Fraksi diklorometana dari ekstrak metanol kulit manggis diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi karena mengandung xanton yang dominan (Hyun-Ah, Bao-Ning, Keller, Mehta dan Kinghorn, 2006).

Ekstrak kental metanol kulit manggis, dapat dilihat pada Gambar 4.1, ditambahkan aquadestilata sebanyak 500 mL untuk mengurangi kekentalan larutan ekstrak dimana ekstrak metanol larut didalam air, kemudian dipartisi dengan penambahan 400 mL *n*-heksana p.a dan dilakukan pengulangan selama tiga kali yang dimaksudkan agar memperoleh zat aktif yang lebih banyak. Pada partisi ini terbentuk dua lapisan larutan yaitu antara *n*-heksana pada bagian atas dan metanol-air pada bagian bawah. Partisi *n*-heksana menarik senyawa non polar sedangkan partisi metanol-air menarik senyawa polar. Hasil fraksinasi *n*-heksana dipisahkan, kemudian dipartisi dengan penambahan 400 mL diklorometana p.a dengan pengulangan sebanyak dua kali. Pada tahapan partisi terbentuk dua lapisan larutan yaitu diklorometana pada bagian bawah dan *n*-heksana pada bagian atas. Larutan fraksi diklorometana ditampung dalam cawan penguap dan ditutup dengan alumunium foil kemudian didiamkan selama dua hari dalam lemari asam sampai semua pelarut diklorometana menguap dan dihasilkan lapisan kering.

Penghilangan pelarut dilakukan dengan cara membiarkan pelarut menguap secara alami bukan dengan menggunakan rotavapor tujuannya agar tidak merusak senyawa yang bersifat antioksidan dalam serbuk fraksi, jika menggunakan rotavapor maka dilakukan pemanasan pada penangas air memungkinkan terjadinya penurunan

aktivitas antioksidan hasil fraksinasi. Lapisan kering dari fraksi diklorometana digerus untuk memperoleh serbuk kuning, hasil dapat dilihat pada Gambar 4.2. Secara keseluruhan dari ekstrak kental metanol sebanyak 150 mL atau seberat 256,8 gram dihasilkan serbuk kuning fraksinasi diklorometana seberat 48,5 gram.



Gambar 4.1 Ekstrak Metanol Kulit Manggis



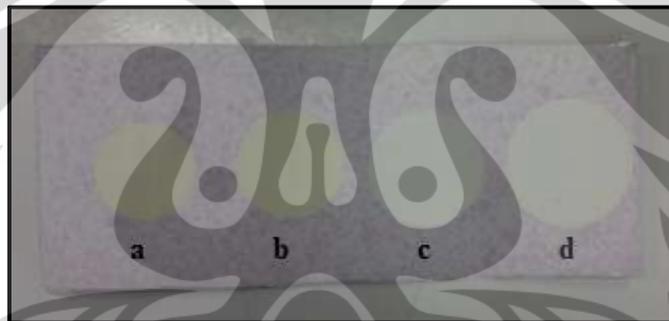
Gambar 4.2. Hasil fraksinasi diklorometana sebelum digerus (a) dan setelah digerus (b).

4.2 Uji Pendahuluan Aktivitas Antioksidan Serbuk Fraksi Diklorometana Kulit Manggis Terhadap DPPH (2,2-Difenil-1-pikril hidrazil) dengan KLT

Setelah diperoleh serbuk hasil fraksinasi diklorometana kemudian dilakukan uji pendahuluan aktivitas antioksidan secara kualitatif dengan metode peredaman

DPPH pada lempeng KLT. Terlebih dahulu dibuat larutan sampel dan larutan kontrol dengan konsentrasi yang sama, larutan sampel dibuat dengan melarutkan serbuk fraksinasi diklorometana sebanyak 10 mg dalam 20,0 mL metanol pa sedangkan larutan kontrol dibuat dengan menimbang vitamin C sebanyak 10 mg dalam 20,0 mL metanol pa. Kedua larutan ditotolkan pada lempeng KLT masing-masing dua totolan. Kemudian lempeng KLT disemprot dengan larutan DPPH konsentrasi 100 ppm.

Diperoleh daerah penghambatan berupa lingkaran berwarna kuning pada totolan sampel sedangkan pada totolan kontrol yaitu vitamin C dihasilkan daerah penghambatan berupa lingkaran berwarna putih pada lempeng KLT yang menunjukkan bahwa sampel tersebut memiliki aktivitas antioksidan secara kualitatif dengan meredam radikal DPPH yang berwarna ungu. Hasil dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3. Uji pendahuluan aktivitas antioksidan serbuk fraksinasi diklorometana (a dan b) dengan vitamin C sebagai blanko positif (c dan d).

4.3 Uji Aktivitas Antioksidan Serbuk Fraksi Diklorometana Kulit Manggis dengan Metode Peredaman DPPH (2,2-Difenil-1-pikril hidrazil)

Metode peredaman DPPH (2,2-Difenil-1-pikril hidrazil) banyak digunakan untuk menentukan aktivitas antioksidan suatu sampel dengan kemampuan meredam radikal bebas DPPH. DPPH memiliki satu elektron bebas sehingga membuatnya bersifat radikal dan tidak stabil, dengan adanya sampel yang memiliki aktivitas antioksidan maka akan mendonorkan satu atom hidrogen sehingga meredam sifat

radikal DPPH menjadi non radikal. Peredaman ini ditandai dengan adanya perubahan warna yaitu dari warna ungu menjadi kekuningan, perubahan warna ini dideteksi dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ maksimum (Molyneux, 2003).

4.3.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

Panjang gelombang yang diperoleh untuk pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode peredaman DPPH konsentrasi 100 ppm adalah 517 nm yang merupakan λ maksimum pada spektrum serapan. Berdasarkan hasil orientasi, diperoleh perbandingan larutan sampel dengan pelarut untuk memperoleh nilai absorbansi antara 0,2-0,8 yaitu dengan perbandingan 3 : 1, hasil spektrum serapan dapat dilihat pada Lampiran 1.

4.3.2 Nilai IC_{50} Serbuk Fraksinasi Diklorometana Kulit Manggis

Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode peredaman DPPH menghasilkan nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%*) yaitu nilai konsentrasi penghambatan untuk meredam 50% radikal DPPH. Nilai IC_{50} dihasilkan dari persamaan regresi persentase inhibisi beberapa konsentrasi sampel yang telah dibuat. Pada persamaan regresi $y = a + bx$ nilai y digantikan dengan 50 setelah itu dicari nilai x yang merupakan nilai IC_{50} . Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin kuat potensi aktivitas antioksidan senyawa tersebut (Molyneux, 2003).

Tahapan pertama yang dilakukan yaitu melarutkan serbuk fraksi diklorometana dalam metanol untuk menghasilkan konsentrasi larutan induk 1000 ppm kemudian diencerkan sampai diperoleh enam konsentrasi yang berbeda yaitu 1, 5, 10, 16, 20 dan 25 ppm. Kemudian masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 3 mL dan ditambahkan metanol sebanyak 1 mL. Hasil dari orientasi yaitu ketika konsentrasi sampel dinaikkan lebih dari 25 ppm diperoleh absorbansi dibawah 0,2 sehingga disimpulkan bahwa konsentrasi sampel tidak lebih dari 25 ppm. Hal ini dikarenakan saat konsentrasi lebih dari 25 ppm menghasilkan larutan berwarna kuning yang menunjukkan radikal DPPH yang berwarna ungu hampir seluruhnya telah tereduksi sehingga absorbansinya menurun.

Hasil uji aktivitas antioksidan serbuk fraksinasi diklorometana dari ekstrak metanol kulit manggis (*G.mangostana* L.) dengan metode peredaman DPPH, diperoleh nilai IC_{50} sebesar 17,47 ppm yang dibandingkan dengan blanko positif yaitu vitamin C dapat dilihat perhitungan pada Lampiran 16 dan kurva linearitas pada Lampiran 2 sedangkan perhitungan hasil fraksinasi diklorometana dapat dilihat pada Lampiran 3 dan kurva linearitas pada Lampiran 17. Hal ini menunjukkan bahwa serbuk fraksi diklorometana memiliki potensi aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Potensi antioksidan ini berasal dari xanton yang banyak terkandung pada kulit buah manggis (Hyun-Ah, Bao-Ning, Keller, Mehta dan Kinghorn, 2006).

4.4 Pembuatan Liposom

Pada penelitian ini dibuat empat formula liposom dengan perbandingan fosfatidilkolin terhadap kolesterol yang berbeda berdasarkan perhitungan molaritas. Hal ini ditujukan untuk melihat pengaruh jumlah kandungan fosfatidilkolin terhadap persentase penyerapan sehingga diperoleh formula yang terbaik. Metode yang digunakan untuk membuat liposom yaitu hidrasi lapis tipis yang merupakan metode paling umum digunakan dalam pembuatan liposom. Ada dua tahapan yang dilakukan pada metode ini yaitu pembentukan lapisan tipis dan proses hidrasi dengan dapar fosfat dikombinasikan dengan tween 80.

Berdasarkan percobaan pendahuluan diperoleh kondisi optimum dalam pembuatan liposom yang baik dengan proses pembuatan lapis tipis kecepatan rotavapor diatur mulai dari 50 rpm sampai 150 rpm, hal ini disesuaikan agar pembentukan lapis tipis lebih merata. Suhu yang digunakan untuk pembuatan liposom adalah 40°C, suhu ini digunakan untuk menjaga kandungan antioksidan di dalam zat aktif yaitu serbuk fraksi diklorometana. Pada uji pendahuluan digunakan suhu 60°C tetapi dihasilkan suspensi liposom yang berwarna kecokelatan, diduga zat aktif tidak stabil pada suhu yang tinggi.

Tahapan pertama yang dilakukan dalam pembuatan lapis tipis liposom yaitu melarutkan bahan pembentuk liposom dan zat aktif serbuk fraksinasi diklorometana

secara bersamaan dalam kloroform. Serbuk fraksinasi diklorometana dilarutkan dalam kloroform karena tidak larut dalam air tetapi mudah larut dalam pelarut organik. Kondisi vakum diperlukan dalam proses pembuatan lapis tipis liposom yang baik karena berperan mempercepat penguapan pelarut, tetapi pompa vakum tidak dinyalakan secara terus-menerus agar kloroform tidak cepat habis menguap. Lapis tipis harus terbentuk merata agar pada saat proses hidrasi permukaan lipid yang kontak dengan dapar fosfat pH 7,4 lebih luas sehingga mempengaruhi terbentuknya vesikel-vesikel liposom yang bersifat spontan dan lapis tipis mudah terkelupas. Untuk membentuk lapis tipis yang merata, kecepatan rotavapor ditingkatkan secara bertahap dimulai dari 50 rpm sampai 150 rpm. Lapis tipis selanjutnya dialiri gas nitrogen yang bersifat *inert* secara merata untuk mencegah lipid teroksidasi dan disimpan pada suhu dingin selama 24 jam agar menyempurnakan penguapan kloroform sehingga tidak mengganggu proses hidrasi.

Pada proses hidrasi ditambahkan tween 80 sebanyak 3% sebagai agen pembasah ke dalam pelarut dapar fosfat pH 7,4 agar dapat menurunkan sudut kontak pada serbuk fraksinasi diklorometana terhadap pelarut yaitu dapar fosfat pH 7,4. Tanpa ditambahkan tween 80 sebanyak 3% maka dihasilkan suspensi liposom yang buruk yaitu berupa lapisan-lapisan lemak yang tidak homogen. Hal ini menunjukkan bahwa serbuk fraksinasi diklorometana memiliki sudut kontak yang besar sehingga sulit terbasahi pelarut. Oleh karena itu, diperlukan surfaktan agar dapat menurunkan sudut kontak serbuk fraksinasi terhadap pelarut dengan menurunkan tegangan permukaan sehingga serbuk fraksinasi dapat terbasahi.

Penambahan tween sebanyak 3% dalam formulasi liposom menghasilkan suspensi liposom yang homogen dan baik, selain itu peranan surfaktan nonionik yaitu tween 80 dalam liposom dapat menstabilkan lapisan lipid bilayer dan mengurangi rigiditasnya menjadi lebih fleksibel sehingga meningkatkan penetrasi pada kulit untuk penggunaan topikal dibandingkan dengan liposom tanpa surfaktan (Badran, Shalaby, dan Al-Omrani, 2011).

Pada proses hidrasi lipid lapis tipis dilakukan dalam keadaan tidak vakum dan dibantu dengan *glass beads* agar membantu pengelupasan dan membuat suspensi

liposom lebih homogen. Setelah diperoleh suspensi liposom yang homogen kemudian disimpan dalam lemari pendingin selama 24 jam untuk menyempurnakan pembentukan globul-globul liposom.

Secara fisik hasil yang diperoleh yaitu suspensi homogen berwarna kuning muda dan tidak ada perbedaan warna pada keempat formula dikarenakan jumlah zat aktif yang ditambahkan adalah sama serta memiliki bau khas fosfatidilkolin, karena yang digunakan adalah fosfatidilkolin terbuat dari telur sehingga bau suspensi liposom seperti bau telur. Gambar keempat formula liposom dapat dilihat pada Lampiran 4.

4.5 Penyeragaman Distribusi Ukuran Vesikel dan Pemurnian Liposom

Setelah diperoleh suspensi liposom selanjutnya dilakukan penyeragaman distribusi ukuran liposom yaitu dengan proses sonikasi menggunakan ultrasonikator selama 20 menit untuk memperoleh distribusi ukuran yang lebih seragam. Ukuran vesikel liposom diukur dengan *Particle Size Analyzer* (PSA) sedangkan proses pemurnian dilakukan dengan ultrasentrifugasi kecepatan 30.000 rpm pada suhu 4°C selama 30 menit untuk memisahkan antara supernatan dan presipitat.

Pada percobaan pendahuluan untuk memurnikan liposom dengan proses sentrifugasi, telah dicoba berbagai rpm kurang dari 15.000 rpm tetapi tidak dapat memisahkan presipitat dan supernatan dengan baik sehingga diperlukan rpm yang lebih tinggi. Hal ini disebabkan karena ukuran liposom berupa nano sehingga diperlukan gaya lebih besar untuk memisahkan liposom dengan pelarutnya. Semakin besar rpm dalam proses sentrifugasi menghasilkan gaya yang besar pula.

Pemurnian yang baik ditandai dengan terlihat jelas pemisahan antara presipitat dan supernatan yang jernih. Supernatan yang jernih berarti mengandung zat aktif tidak terjerap, selanjutnya dilakukan pengukuran persentase penjerapan. Jika supernatan tampak keruh berarti masih ada liposom di dalam supernatan, hal ini akan mempengaruhi hasil perhitungan menjadi tidak akurat. Pada tahapan ultrasentrifugasi dilaksanakan dalam keadaan vakum agar membantu proses pemisahan antara

presipitat dan supernatan lebih sempurna. Hasil pemurnian keempat formula liposom dapat dilihat pada Lampiran 5 dan supernatan pada Lampiran 6.

4.6 Evaluasi Liposom Yang Mengandung Fraksinasi Diklorometana

4.6.1 Distribusi Ukuran Vesikel Liposom

Semua formula liposom dilakukan tahapan sonikasi kemudian dilihat distribusi ukuran vesikel dengan *Particle Size Analyzer* (PSA) dan dibandingkan dengan liposom sebelum disonikasi untuk melihat pengaruh sonikasi terhadap ukuran dan homogenitas vesikel liposom.

Pada formulasi pertama dan kedua, distribusi ukuran liposom sebelum sonikasi memiliki ukuran beragam dan besar yang ditunjukkan dengan adanya tiga *peak* pada hasil PSA. Setelah dilakukan tahapan sonikasi, distribusi ukuran liposom lebih seragam dibandingkan sebelum sonikasi dan ukuran liposom menjadi lebih kecil tetapi belum homogen yang ditunjukkan dengan masih adanya beberapa *peak* pada hasil PSA.

Pada formulasi ketiga distribusi ukuran liposom sebelum sonikasi memiliki ukuran yang beragam dan besar, tetapi setelah disonikasi selama 20 menit menunjukkan penurunan ukuran liposom menjadi lebih kecil tetapi belum homogen. Sedangkan pada formulasi keempat distribusi vesikel menjadi homogen walaupun ukuran vesikel liposom meningkat sedikit yang kemungkinan disebabkan adanya agregasi karena partikel yang berukuran nano memiliki kecenderungan untuk beragregasi.

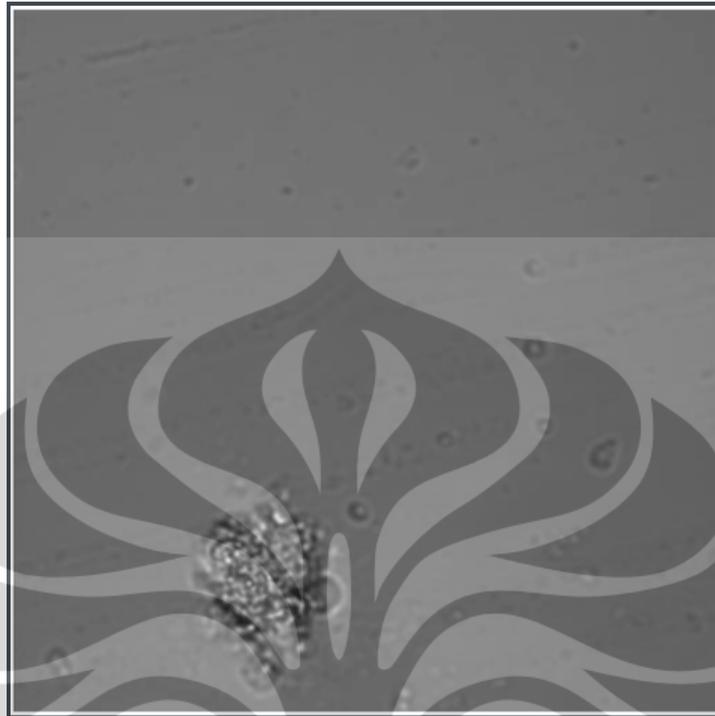
Perbedaan hasil keseragaman distribusi ukuran liposom antara keempat formula disebabkan oleh jumlah kandungan fosfatidilkolin, semakin besar kandungan fosfatidilkolin maka liposom semakin mudah homogen dan ukuran semakin kecil. Formula empat memiliki distribusi yang paling homogen dengan ukuran 552,8 nm sehingga dipilih sebagai formula terbaik. Hasil PSA formula empat

dapat dilihat pada Lampiran 7 dan Lampiran 8. Hal ini menunjukkan bahwa tahapan sonikasi terbukti dapat menyeragamkan distribusi ukuran vesikel liposom.

4.6.2 Morfologi Bentuk Vesikel

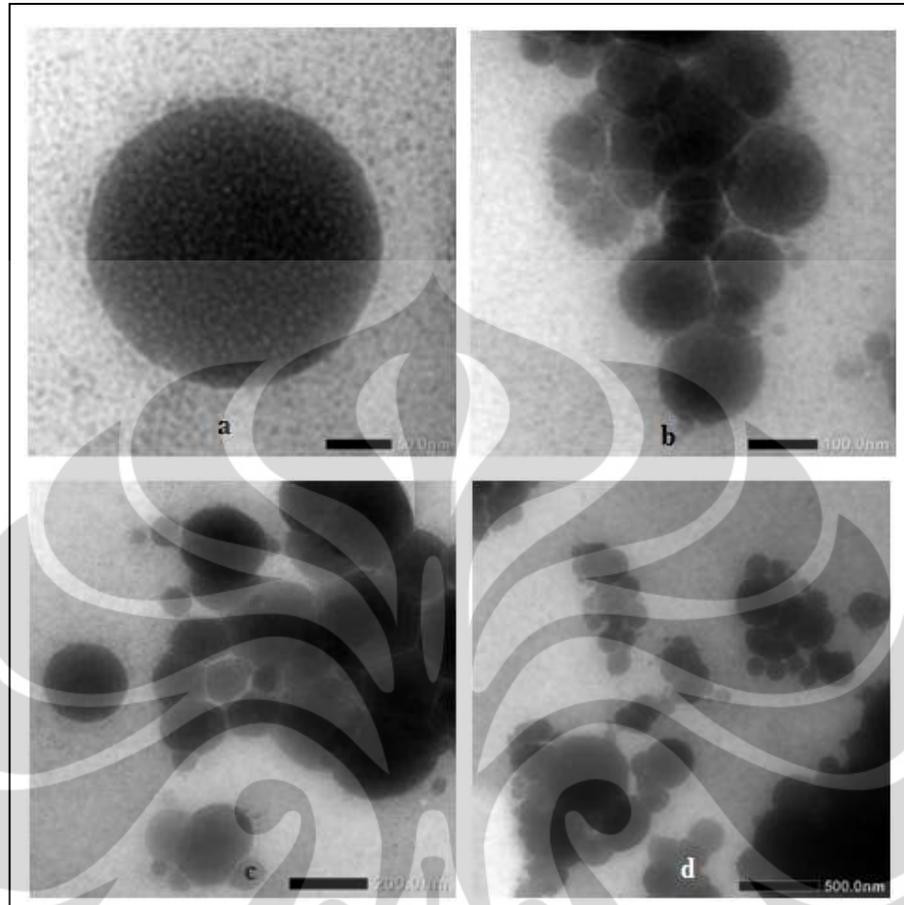
Formula empat dipilih untuk evaluasi morfologi vesikel liposom dilihat dengan mikroskop konvensional dan TEM (*Transmission Electron Microscope*). Penggunaan evaluasi morfologi vesikel liposom dapat pula dilakukan dengan SEM (*Scanning Electron Microscope*) tetapi pada pengukuran dengan SEM, sediaan yang akan dianalisa harus dalam keadaan kering sehingga suspensi liposom harus dikeringkan terlebih dahulu dengan metode *freeze dry*. Hal yang dikhawatirkan dari tahapan ini adalah pecahnya vesikel liposom akibat tekanan vakum pada saat proses *freeze dry*. Pada percobaan pendahuluan dilakukan pengukuran vesikel liposom menggunakan SEM dan dilakukan *freeze dry* untuk pengeringan sampel. Hasil yang diperoleh tidak memperlihatkan adanya vesikel-vesikel liposom, hal ini disebabkan pecahnya vesikel-vesikel liposom akibat tekanan vakum saat proses *freeze dry*. Sehingga metode pengukuran vesikel liposom dengan SEM kurang efektif.

Penggunaan mikroskop konvensional dengan perbesaran maksimum 4000x diharapkan dapat melihat lamelar liposom tetapi karena keterbatasan spesifikasi alat yang digunakan hanya mampu mendeteksi partikel berukuran minimal 400 nm sehingga hanya tampak seperti bulatan kecil dengan lingkaran putih didalamnya yang diduga sebagai lamelar liposom.



Gambar 4.4 Hasil Mikroskop Konvokal Perbesaran 4000x

Hasil mikroskop konvokal diperkuat dengan hasil evaluasi menggunakan TEM (*Transmission Electron Microscope*) perbesaran 10.000, 20.000, 40.000 dan 80.000 kali. Terlihat bentuk vesikel bulat dengan ukuran bervariasi dan tampak adanya agregat liposom, hal ini diduga terjadi agregasi antara masing-masing globul liposom, karena partikel berukuran nano memiliki kecenderungan untuk beragregasi sehingga akan membentuk ukuran partikel yang lebih besar (Kendall dan Kosseva, 2006). Tetapi secara fisik, morfologi liposom ini memiliki bentuk yang baik meskipun lamelar tidak terlihat. Hasil dapat dilihat pada Gambar 4.4.



- Keterangan :
- a. Morfologi liposom perbesaran 80.000x
 - b. Morfologi liposom perbesaran 40.000x
 - c. Morfologi liposom perbesaran 20.000x
 - d. Morfologi liposom perbesaran 10.000x

Gambar 4.5 Hasil TEM

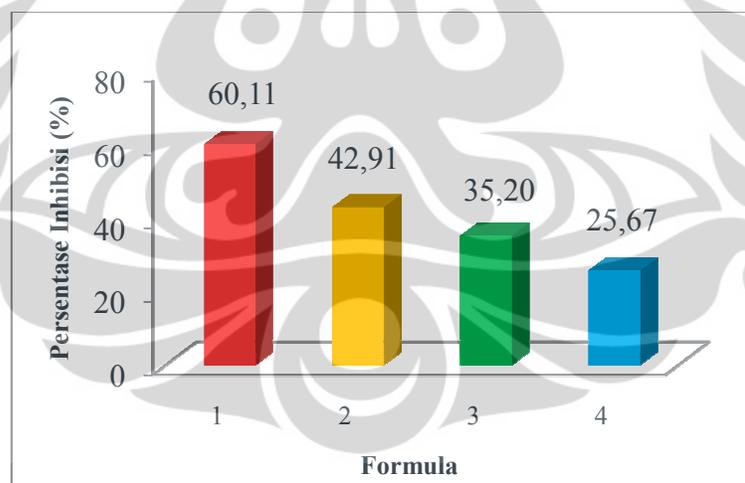
4.7 Uji Aktivitas Antioksidan Supernatan Terhadap DPPH (2,2-Difenil-1-pikril hidrazil)

4.7.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH (2,2-Difenil-1-pikril hidrazil)

Panjang gelombang yang digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan metode peredaman DPPH konsentrasi 100 ppm adalah 517 nm dengan perbandingan DPPH dan pelarut sebesar 3 : 1 yang diperoleh dari hasil orientasi.

4.7.2 Nilai IC_{50} Supernatan Dari Keempat Formula Liposom

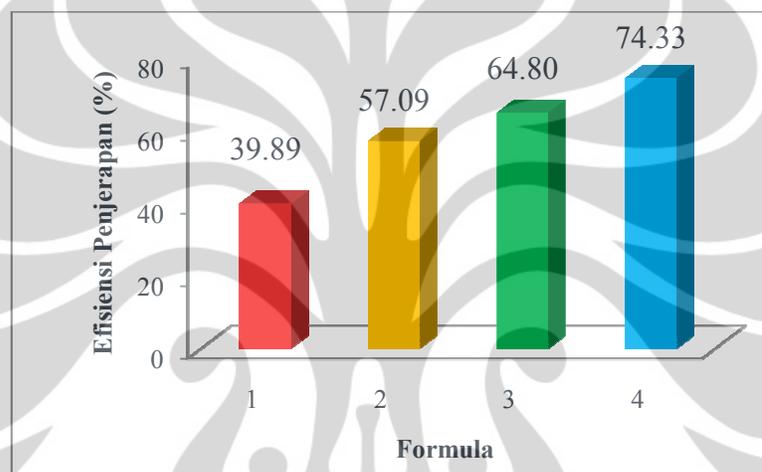
Hasil IC_{50} keempat formula memiliki hasil yang berbeda dan semakin menurun sesuai dengan peningkatan jumlah fosfatidilkolin, hal ini disebabkan perbedaan penyerapan zat aktif pada tiap formula liposom. Formula pertama memiliki supernatan dengan aktivitas antioksidan paling tinggi sedangkan formula keempat memiliki aktivitas antioksidan paling rendah. Hasil IC_{50} supernatan dari formula satu sampai empat berturut-turut adalah 60,11; 42,91; 35,20 dan 25,67% perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 19, 20, 21 dan 22. Hal ini menunjukkan bahwa formula pertama memiliki persentase penyerapan paling rendah diantara formula yang lain dan formula keempat memiliki persentase penyerapan paling tinggi. Formula keempat memiliki persentase penyerapan yang paling tinggi karena mengandung fosfatidilkolin yang paling banyak diantara formula yang lain. Semakin besar kandungan fosfatidilkolin maka penyerapan akan semakin besar karena fosfatidilkolin berperan sebagai media untuk menyerap zat aktif (Venkateswarlu, J. Reddy, Ramesh, V. Reddy, Pravallika dan Suneetha, 2011).



Gambar 4.6 Diagram Persentase Inhibisi Supernatan Keempat Formula Liposom

4.8 Efisiensi Penjerapan Liposom

Efisiensi penjerapan liposom dihitung berdasarkan nilai IC_{50} supernatan, hasil yang diperoleh dari formula satu sampai empat berturut-turut sebesar 39,89; 57,09; 64,80; dan 74,33%. Semakin rendah IC_{50} supernatan maka semakin besar persentase penjerapannya, karena semakin rendah aktivitas antioksidan supernatan menunjukkan kandungan zat aktif yang terjerap pada liposom lebih besar. Hasil dapat dilihat pada Lampiran 30.



Gambar 4.7 Diagram Efisiensi Penjerapan Obat Keempat Formula Liposom

4.9 Pembuatan Gel Liposom

Dalam pembuatan gel liposom digunakan *gelling agent* yaitu karbomer yang merupakan polimer asam akrilat bersifat hidrofilik dan stabil. Karbomer membentuk viskositas yang baik untuk sediaan gel. Pemilihan polimer hidrofilik yang memiliki karakteristik bioadhesif dalam liposom dapat meningkatkan penghantaran obat dan telah dibuktikan bahwa liposom kompatibel dengan polimer asam akrilat (Pavelic, Skalko-Basnet dan Schubert., 2001).

Pada pembuatan basis gel dilakukan dengan mencampurkan karbomer dan aquademineralisata bebas CO_2 sampai semua karbomer terbasahi, kemudian dinetralkan dengan NaOH. Karbomer yang didispersikan dalam aquademineralisata

bebas CO₂ akan terbentuk dispersi koloid asam yang setelah penambahan NaOH sebagai agen pembasa membentuk gel dengan viskositas tinggi. Penggunaan aquademineralisata bebas CO₂ bertujuan untuk meniadakan kandungan mineral yang dapat mempengaruhi dengan aktivitas antioksidan pada zat aktif dan mencegah penurunan pH sehingga sediaan menjadi asam.

Pada proses homogenisasi basis gel digunakan *homogenizer* dengan kecepatan maksimum 500-1000 rpm yang ditingkatkan secara bertahap sampai homogen. Pembuatan gel tidak diperlukan kecepatan yang terlalu tinggi karena hanya untuk proses homogenasi, jika kecepatan terlalu tinggi akan menyebabkan warna gel berkabut.

Konsentrasi karbomer yang digunakan sebesar 1% dengan tujuan membentuk gel dengan viskositas sedang agar mempermudah proses penyebaran saat aplikasi topikal pada kulit. Pada percobaan pendahuluan dicoba konsentrasi karbomer sebesar 0,7; 0,8; 0,9; 1; 2 dan 3%, viskositas gel yang dihasilkan pada konsentrasi 0,7; 0,8 dan 0,9% masih rendah sedangkan pada konsentrasi 2% dan 3% dihasilkan gel yang sangat kaku sehingga konsentrasi 1% dinilai sebagai yang paling baik.

Formulasi basis gel ditambahkan pula beberapa komponen pendukung yaitu natrium metabisulfit yang berperan sebagai antioksidan untuk mencegah reaksi oksidasi yang kemungkinan terjadi pada basis gel. Ditambahkan pula metil paraben yang berperan sebagai pengawet antimikroba sehingga mencegah adanya pertumbuhan jamur dan mikroba. Setelah diperoleh basis gel selanjutnya dilakukan pencampuran presipitat liposom ke dalam gel. Proses homogenasi menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan kurang dari 500 rpm sampai liposom homogen di dalam basis gel.

4.10 Evaluasi Sediaan Gel Liposom

Evaluasi sediaan gel liposom diperlukan untuk mengetahui kondisi sediaan gel liposom sebelum dan sesudah dilakukan uji kestabilan dengan menggunakan parameter-parameter fisik sehingga dapat diketahui kestabilan fisik dari sediaan gel

liposom. Uji kestabilan fisik gel liposom pada penelitian ini dilakukan selama 4 minggu, hal ini dikarenakan keterbatasan waktu.

4.10.1 Pengamatan Organoleptis

Pada penyimpanan berbagai suhu yaitu suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$) dan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 4 minggu tidak terjadi perubahan secara organoleptis pada sediaan gel liposom dan tidak terjadi sineresis. Hasil dapat dilihat pada Lampiran 9, 10 dan 11 serta Lampiran 22.

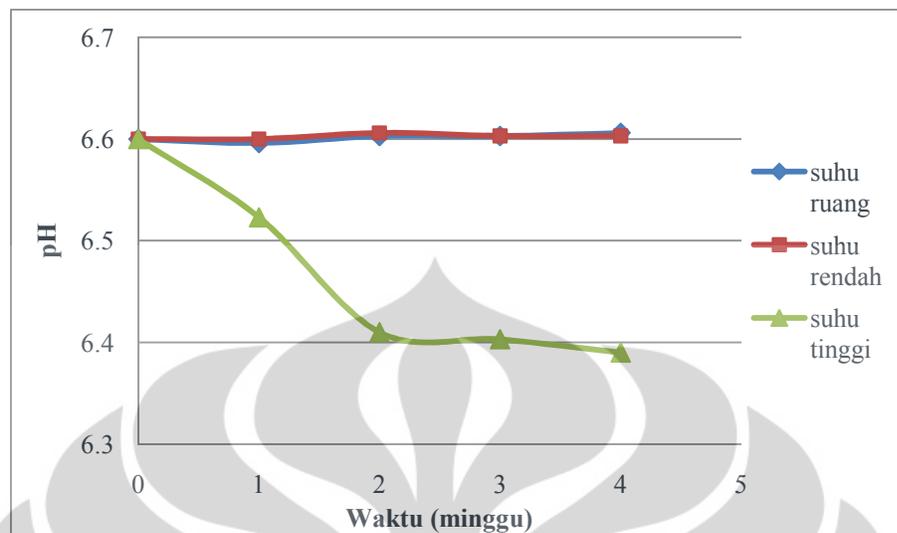
4.10.2 Pemeriksaan Homogenitas

Sediaan gel liposom diperiksa homogenitas dengan diletakkan pada dua kaca objek dan diperoleh hasil yang homogen berupa gel transparan.

4.10.3 Pengukuran pH

Sediaan topikal sebaiknya berada dalam rentang pH kulit yaitu 4,5-6,5; apabila terlalu asam akan menimbulkan iritasi kulit dan bila terlalu basa dapat menyebabkan kulit bersisik, hal ini disebabkan adanya kerusakan mantel asam pada lapisan stratum korneum kulit. pH sediaan gel liposom diukur menggunakan pH-meter.

Pengukuran pH sediaan gel liposom dilakukan setiap minggu selama 4 minggu pada tiga suhu penyimpanan yang berbeda yaitu suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$) dan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$). pH gel liposom pada minggu ke-0 adalah 6,6 agak sedikit lebih basa dari rentang pH sediaan topikal, hal ini kemungkinan saat penetralan karbomer dengan NaOH menghasilkan pH sediaan yang sangat basa. Hasil pengukuran pH gel liposom dapat dilihat pada Lampiran 23. dan grafik pada Gambar 4.8.

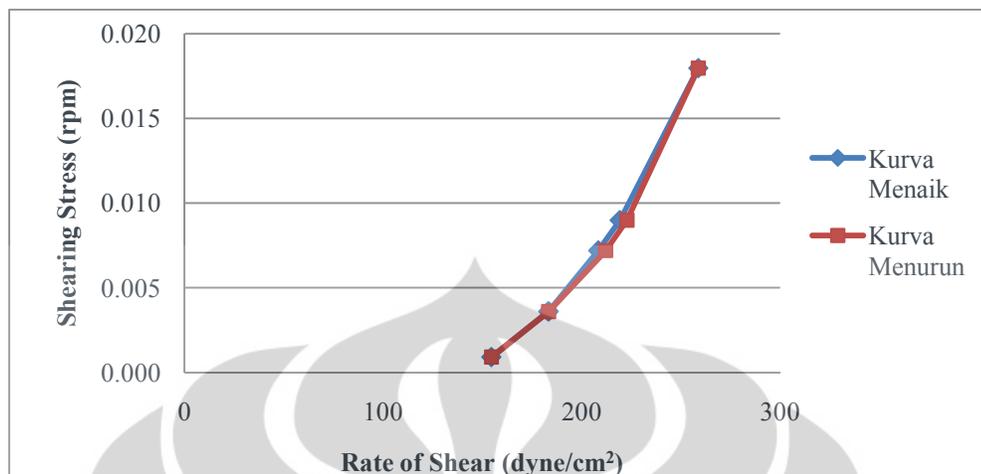


Gambar 4.8 Grafik perubahan pH rata-rata sediaan gel liposom selama 4 minggu pada suhu rendah, suhu kamar dan suhu tinggi.

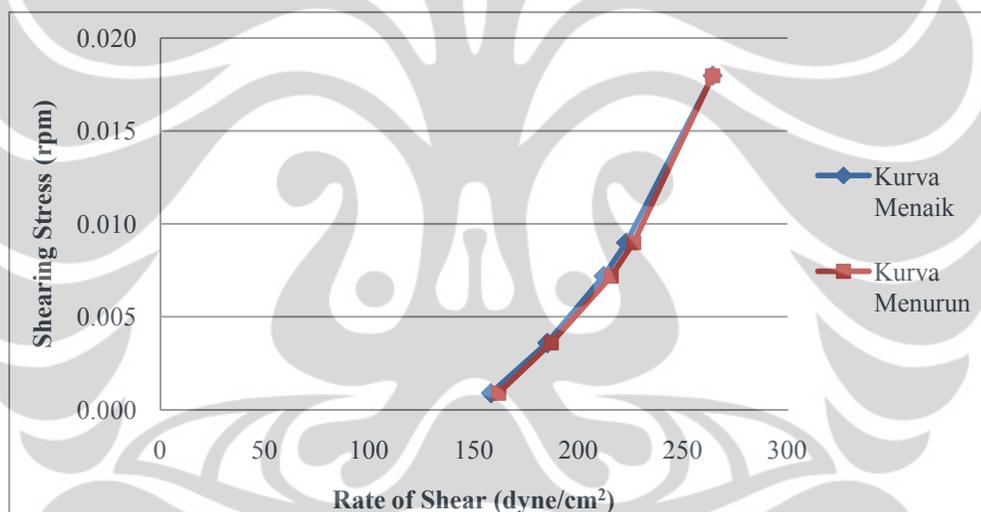
Penurunan pH gel liposom pada suhu tinggi kemungkinan adanya fosfatidilkolin yang terdegradasi akibat oksidasi atau hidrolisis. Gel liposom memang mengindikasikan kestabilan yang lebih baik pada suhu kamar dan suhu dingin (Mitkari, Korde, Mahdik dan Kokare, 2010).

4.10.4 Rheologi dan Pengukuran Viskositas

Pengukuran viskositas suatu sediaan dilakukan untuk mengetahui jenis aliran sediaan atau rheologi. Viskositas suatu sediaan dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah faktor pencampuran atau pengadukan saat proses pembuatan sediaan, pemilihan zat pengental dan surfaktan (Ansel, 1989). Viskositas diukur pada minggu ke-0 dan ke-4 pada suhu kamar ($29 \pm 2^\circ\text{C}$) dengan viskometer Brookfield menggunakan spindel 5. Gel liposom tidak mengalami kenaikan viskositas yang cukup besar antara viskositas awal dengan viskositas setelah penyimpanan selama 4 minggu, data lengkap dapat dilihat pada Lampiran 24 dan Lampiran 25. Hal ini menunjukkan bahwa gel memiliki viskositas yang relatif stabil. Hasil dapat dilihat pada Gambar 4.9. dan Gambar 4.10.

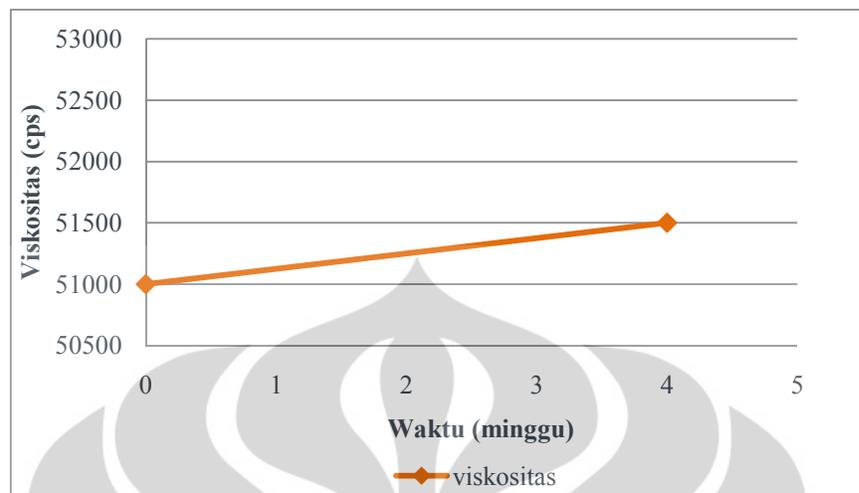


Gambar 4.9 Rheogram gel liposom minggu ke-0



Gambar 4.10 Rheogram gel liposom minggu ke-4

Dilihat pada rheogram diatas dapat diketahui bahwa gel liposom memiliki aliran pseudoplastis. Berdasarkan data pengukuran, viskositas sediaan gel liposom pada minggu ke-0 sebesar 51.000 cps sedangkan pada minggu ke-4 sebesar 51.500 cps. Viskositas gel liposom meningkat kemungkinan disebabkan oleh peningkatan ukuran globul liposom dan teknik pengadukan yang tidak homogen. Grafik peningkatan viskositas gel liposom dapat dilihat pada Gambar 4.11.



Gambar 4.11 Peningkatan viskositas gel liposom selama penyimpanan 4 minggu pada suhu kamar.

4.10.5 Pengukuran Konsistensi

Konsistensi adalah karakteristik fisik yang penting pada suatu sediaan semisolid. Nilai konsistensi berkaitan dengan kemampuan suatu sediaan untuk berpenetrasi. Pengukuran konsistensi untuk sediaan kosmetik seperti gel menggunakan penetrometer bentuk kerucut. Dari hasil pengukuran konsistensi pada minggu ke-0 diperoleh 390 (1/10 mm) sedangkan pada minggu ke-4 diperoleh 379 (1/10 mm). Nilai konsistensi gel yang menurun selama penyimpanan 4 minggu pada suhu kamar menunjukkan bahwa konsistensi gel meningkat selama penyimpanan sesuai dengan meningkatnya viskositas gel. Hal ini dapat disebabkan karena terjadinya perbesaran ukuran vesikel liposom di dalam gel sehingga meningkatkan konsistensi gel. Hasil dapat dilihat pada Lampiran 26.

4.10.6 Uji Stabilitas Fisik Sediaan

4.10.6.1 Uji Stabilitas Pada Suhu Kamar ($29 \pm 2^\circ\text{C}$)

Sediaan gel liposom pada minggu ke-0 tampak berwarna putih keruh dan sedikit berbau khas fosfolipid yang merupakan komponen utama liposom. Setelah waktu penyimpanan selama 4 minggu warna gel liposom masih tetap berwarna putih

keruh dan berbau khas fosfolipid serta tidak terjadi sineresis. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 9.

4.10.6.2 Uji Stabilitas Pada Suhu Rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$)

Sediaan gel liposom pada minggu ke-0 hingga minggu ke-4 tidak terjadi perubahan secara organoleptis, warna sediaan tetap warna putih keruh dan berbau khas fosfolipid serta tidak terjadi sineresis. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 10.

4.10.6.3 Uji Stabilitas Pada Suhu Tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$)

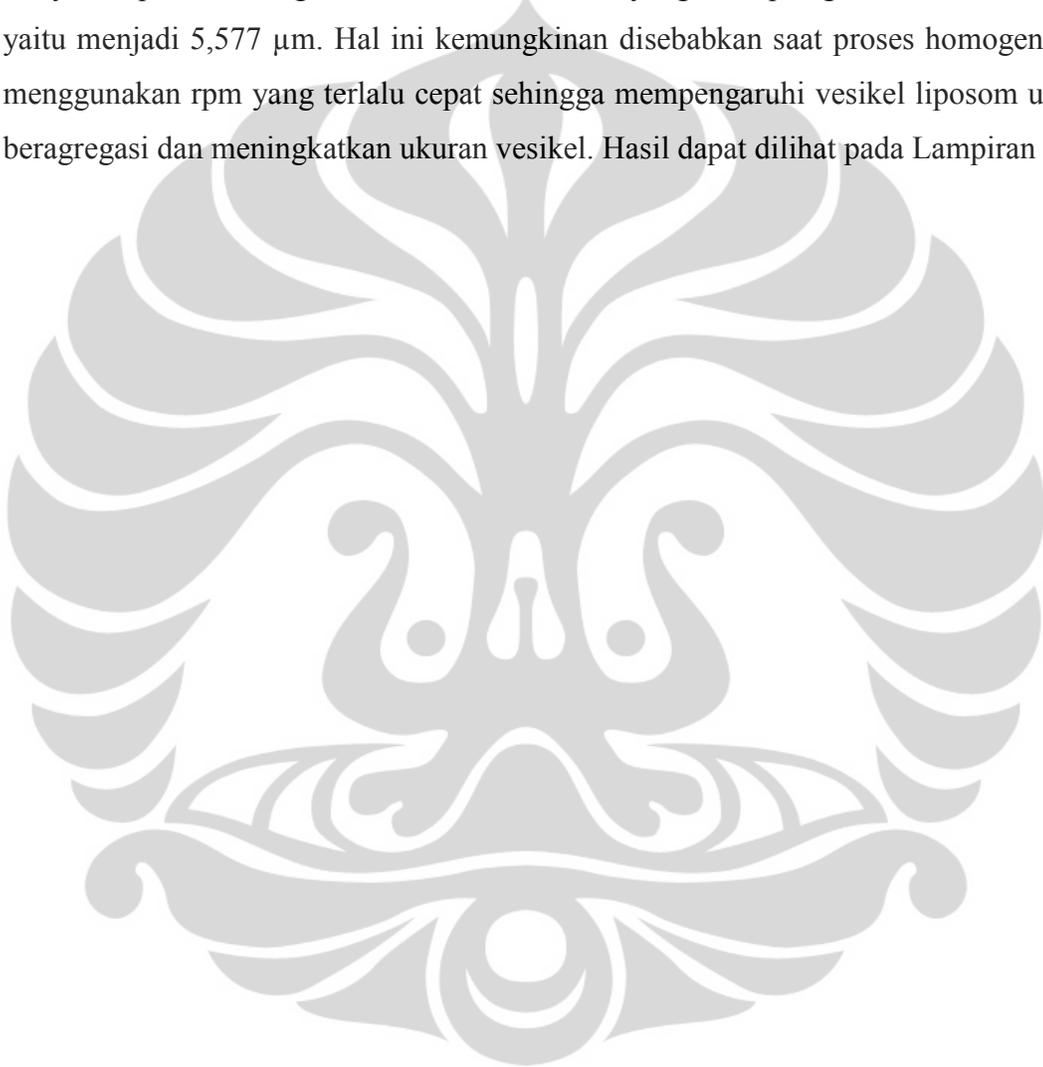
Sediaan gel liposom pada minggu ke-0 hingga minggu ke-4 tidak terjadi perubahan secara organoleptis, warna sediaan tetap warna putih keruh dan berbau khas fosfolipid serta tidak terjadi sineresis. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 11.

4.10.7 Metode *Cycling Test*

Uji ini dilakukan pada sediaan dengan suhu penyimpanan yang berbeda dalam interval waktu tertentu dengan tujuan untuk mempercepat terjadinya perubahan yang biasanya terjadi pada kondisi normal sehingga sediaan akan mengalami stress yang bervariasi dari stress statis. Uji ini dilakukan dengan penyimpanan gel liposom pada suhu 4°C selama 24 jam lalu dipindahkan pada suhu 40°C selama 24 jam, perlakuan ini disebut satu siklus. Untuk memperjelas perubahan yang terjadi dilakukan sebanyak 6 siklus atau selama 12 hari. Dari hasil pengamatan *cycling test* gel liposom selama 6 siklus sediaan tetap berwarna putih keruh dan berbau khas fosfatidilkolin serta tidak terjadi sineresis. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan gel liposom stabil tanpa adanya perubahan fisik. Gambar sediaan gel liposom selama *cycling test* dapat dilihat pada Lampiran 27 dan Lampiran 12.

4.10.8 Pengukuran Distribusi Ukuran Vesikel Liposom Dalam Gel

Dilakukan pengukuran distribusi ukuran vesikel liposom dengan PSA (*Particle Size Analyzer*) dalam gel, bertujuan untuk melihat apakah liposom yang dimasukkan dalam gel mengalami kenaikan ukuran. Dari hasil PSA yang diperoleh ternyata liposom mengalami kenaikan ukuran yang cukup signifikan sebesar 10x yaitu menjadi 5,577 μm . Hal ini kemungkinan disebabkan saat proses homogenisasi menggunakan rpm yang terlalu cepat sehingga mempengaruhi vesikel liposom untuk beragregasi dan meningkatkan ukuran vesikel. Hasil dapat dilihat pada Lampiran 13.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

- a. Hasil fraksinasi diklorometana memiliki aktifitas antioksidan yang sangat tinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 17,47 ppm
- b. Formulasi liposom dengan penambahan 3% tween 80 terbukti menghasilkan liposom dengan penjerapan dan bentuk fisik yang baik
- c. Efisiensi penjerapan tertinggi sebesar 74,33% pada formula 4, sesuai dengan peningkatan jumlah kandungan fosfatidilkolin dalam formula.
- d. Dari hasil uji stabilitas fisik sediaan gel mengandung 1% liposom menunjukkan kestabilan fisik pada penyimpanan berbagai suhu dan *cycling test*.

5.2 Saran

- a. Perlu dilakukan penentuan kadar diklorometana yang tersisa pada serbuk hasil fraksinasi diklorometana dengan menggunakan GC-MS.
- b. Perlu ditentukan efisiensi penjerapan liposom dengan menggunakan standar xanton yaitu alfa mangostin.
- c. Perlu ditingkatkan persentase liposom dalam sediaan gel.

DAFTAR ACUAN

- Ansel, H. C. (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi Keempat* (Farida Ibrahim, Penerjemah). Jakarta: UI Press.
- Attwood, D. dan A.T. Florence. (2008). *Physical Pharmacy*. Grayslake, USA: Pharmaceutical Press.
- Badran, M., K. Shalaby, dan A. Al-Omrani. (2011). Influence of the Flexible Liposomes on The Skin Deposition of A Hydrophilic Model Drug, Carboxyfluorescein: Dependency on Their Composition. *Sci. World J.*, 1-9.
- Barel, A.O., M. Paye dan H.I. Maibach. (2009). *Handbook of Cosmetic Science and Technology 3rd Edition*. New York: Informa Healthcare.
- Beringer, P., A. DerMarderosian, L. Felton, S. Gelone dan A.R. Gennaro. (2005). *Remington: The Science and Practice Pharmacy*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Boyland, J.C. dan J. Swarbick. (1994). *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. New York: Marcel Dekker Inc.
- Burgess, C.M. (2005). *Cosmetic Dermatology*. Jerman: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Castile, J.D., dan K.M.G. Taylor. (1999). Factors Affecting The Size Distribution Of Liposomes Produced By Freeze–Thaw Extrusion. *Int. J. Pharm.*, 188, 87–95.
- Chetanachan, P., P. Akarachalanon, D. Worawirunwong, P. Dararutana, A. Bangtrakulnonth, M. Bunjop dan S. Kongmuang. (2008). Ultrastructural Characterization of Liposomes Using Transmission Electron Microscope. *Adv. Materials Res.*, 55, 709-711.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Djajadisastra, J. (2002). *Buku Petunjuk Praktikum Farmasi Fisika*. Depok : Departemen Farmasi FMIPA UI.

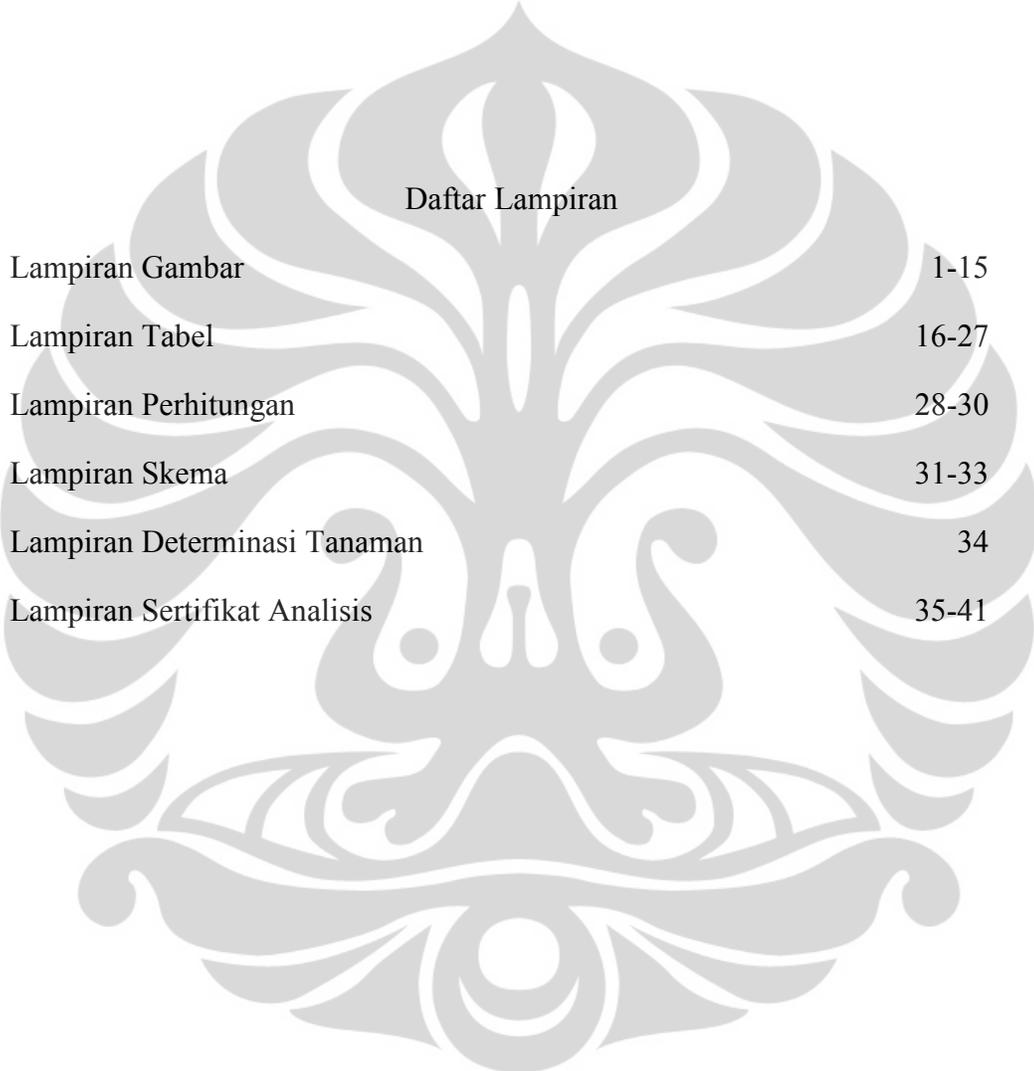
- Draelos, Z.D. (2010). *Cosmetic Dermatology Products and Procedures*. Singapore : John Wiley & Sons.
- Gad, S.C. (2008). *Pharmaceutical Manufacturing Handbook Production and Processes*. New Jersey: John Wiley & Sons.
- Gregoriadis, G. (1986). *Liposome Technology Volume I Preparation of Liposomes*. Florida: CRC Press, Inc.
- Gregoriadis, G., A.T. Florence dan H.M. Patel. (1993). *Liposomes in Drug Delivery*. Switzerland: Harwood Academic.
- Harmita. (2006). *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Helfrich, Y.R., D.L. Sachs dan J.J. Voorhees. (2008). Overview of Skin Aging and Photoaging. *Derm. Nurs.*, 20, 177-183.
- Heyne, K. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III*. Jakarta: Badan Litbang Kehutanan dan Yayasan Sarana Wana Jaya.
- Hupfeld, S., A.M. Holsaeter, M. Skar, C.B. Frantzen dan M.Brandl. (2006). Liposome Size Analysis by Dynamic/Static Light Scattering upon Size Exclusion-/Field Flow-Fractionation. *J. Nanosci. Nanotech.*, 6, 1-7.
- Hutapea, J.R. (1994). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia Jilid III*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI dan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Hyun-Ah Jung, Bao-Ning Su, W.J. Keller, R.G. Mehta, dan A.D. Kinghorn. (2006). Antioxidant Xanthones From the Pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). *J. Agri. Food Chem.*, 54, 2077-2082.
- Janoff, A.S. (1999). *Liposomes Rational Design*. New York: Marcel Dekker.
- Kendall, K., dan M.R. Kosseva. (2006). Nanoparticle Aggregation Influenced By Magnetic Fields. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 286, 112-116.
- Kirby, C. dan G. Gregoriadis. (1984). Dehydration-Rehydration Vesicles: A Simple Entrapment in Liposome. *Biotech.*, 2, 979-984.
- Krowczynski, L. (1987). *Extended-Release Dosage Forms*. USA: CRC Press.

- Lipowsky, R., dan E. Sackmann. (1995). *Handbook of Biological Physics Volume 1*. Amsterdam: Elsevier Science B.V.
- Liu, R. (2008). *Water Insoluble Drug Formulation 2nd Edition*. Florida: CRC Press.
- McNally, E.J. dan J.Y. Park. (2007). Peptides and Proteins: Oral Absorption. Dalam J. Swarbrick, *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. New York: Informa Health Care USA, Inc.
- Misnadiarly, A.D. (2006). *Faktor - Faktor Yang Berpengaruh Terhadap Kesehatan Kulit*. Cermin Dunia Kedokteran: Cermin Dunia Kedokteran, 152.
- Mitkari, B.V., S.A. Korde, K.R. Mahdik dan C.R. Kokare. (2010). Formulation and Evaluation of Topical Liposomal Gel for Fluconazole. *Indian J. Pharmaceut. Edu. Res.*, 44, 324-333.
- Mui, B., L. Chow dan M.J. Hope. (2003). Extrusion Technique to Generate Liposomes of Defined Size. *Method in Enzym.*, 367, 3-14.
- Mukherjee, P.K., M.Venkatesh, K. Maiti, K. Mukherjee dan B. P. Saha. (2009). Value Added Herbal Drug Delivery Systems-Perspectives and Developments. *Indian J. Pharmaceut. Edu. Res.*, 43, 329-337.
- Molyneux, P. (2003). The Use of Stable Free Radical Diphenilpicryl-hydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanarin J. Sci. Tech.*, 26.
- Morton, J.F. (1987). *Fruits of Warm Climates*. USA: Creative Resource Systems.
- Pathak, Y. dan D. Thassu. (2009). *Drug Delivery Nanoparticle Formulation and Characterization*. New York: Informa Healthcare USA.
- Pavelic, Z., N. Skalko-Basnet dan R. Schubert. (2001). Liposomal Gels For Vaginal Drug Delivery. *Int. J. Pharm.*, 219, 139-149.
- Pedraza-Chaverri, J., N.Cárdenas-Rodríguez, M. Orozco-Ibarra dan J.M. Pérez-Rojas. (2008). Medicinal Properties of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.). *Food Chem. Toxic.*, 46, 3227–3239.
- Prakash, A., F. Rigelhof dan E. Miller. (n.d.). Antioxidant Activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress*.

- Rowe, R.C., Paul J. Sheskey, dan M.E. Quinn. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. USA: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, 178-358.
- Saputra, L.A. (2011). *Pengaruh Frekuensi Siklus Ekstruksi dan Penambahan Asam Oleat dalam Pembentukan Nanopartikel Liposom untuk Penjerapan Spiramisin*. Skripsi Sarjana Farmasi. Depok: FMIPA UI.
- Seeley, R. R., T.D. Stephens dan P. Tate. (2003). *Anatomy and Physiology 6th Edition*. New York: McGraw-Hill.
- Swarbrick, J. (2007). *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology 3rd Edition*. New York: Informa Healthcare USA.
- Tranggono, R.I., dan F. Latifah. (2007). *Buku Pegangan Ilmu Kosmetik*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Venkateswarlu, I., J. Reddy, Ramesh, V. Reddy, Pravallika dan Suneetha. (2011). A Review on Liposomes. *Res. J. Pharmaceut., Bio. Chem. Sci.*, 2, 739-751.
- Walters, A. K. (2002). *Dermatological and Transdermal Formulations*. New York: Marcel Dekker.
- Wang, B., T. Siahaan, dan R. Soltero. (2005). *Drug Delivery Principles and Applications*. New Jersey: John Wiley & Sons.
- Wasitaatmadja, S.M. (1997). *Penuntun Ilmu Kosmetik Medik*. Jakarta: UI Press.
- Williams, R.O. dan J.M. Vaughn. (2007). Nanoparticle Engineering. Dalam J. Swarbrick, *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*. New York: Informa Health Care USA, Inc.
- Yaar, M. dan B.A. Gilchrest. (2007). Photoageing: Mechanism, Prevention and Therapy. *Brit. J. Derm.*, 157, 874–887.
- Yamaguchi, T., M. Nomura, T. Matsuoka dan S. Koda. (2009). Effects of frequency and power of ultrasound on the size reduction of liposome. *Chem. Phys. Lipids*, 160, 58–62
- Zarena, A.S., dan K.U. Sankar. (2009). A Study Of Antioxidant Properties From *Garcinia Mangostana* L. Pericarp Extract. *Central Food Tech. Res.*, 8, 23-24.



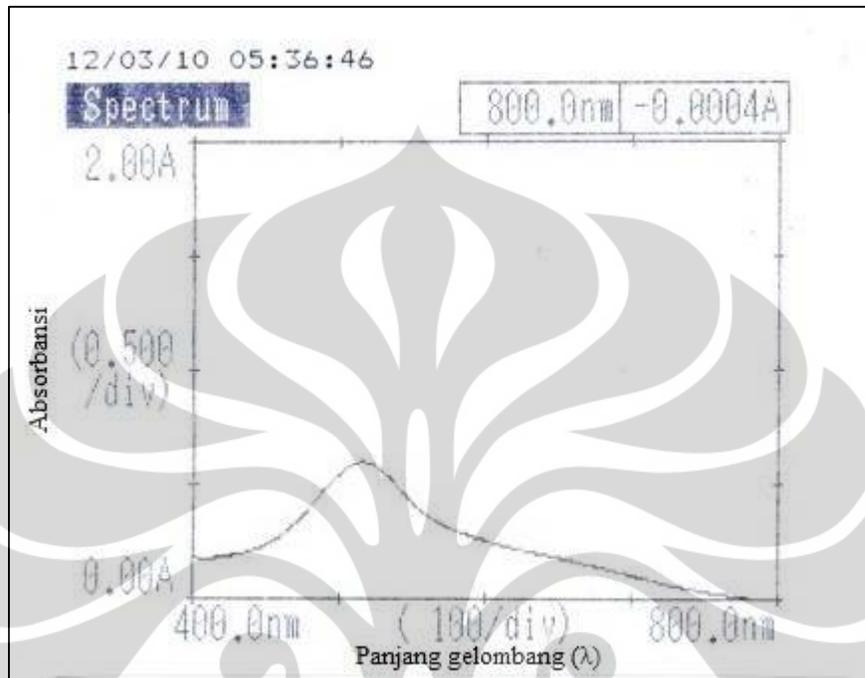
LAMPIRAN



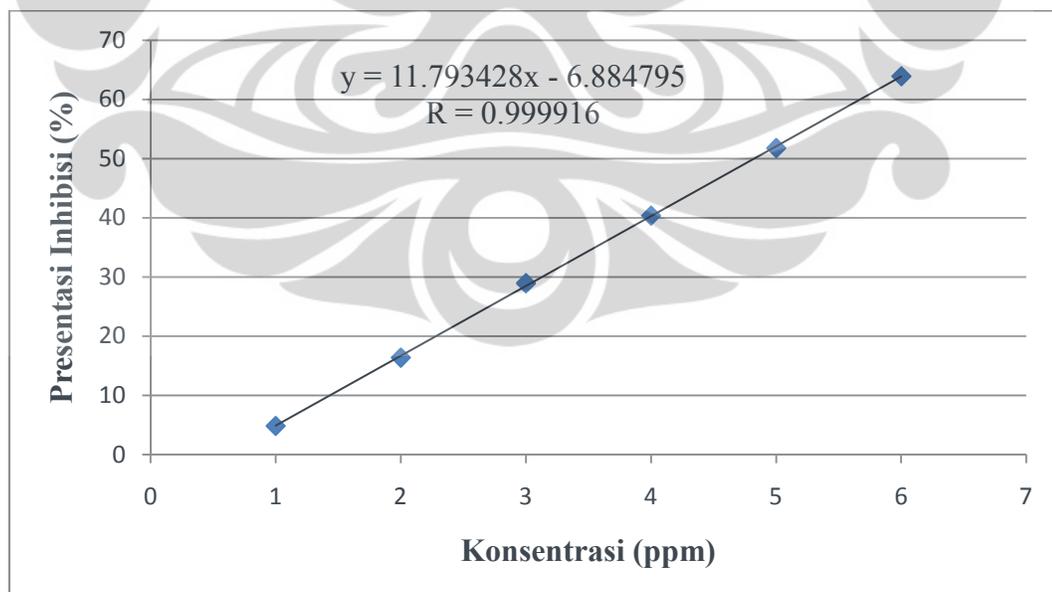
Daftar Lampiran

Lampiran Gambar	1-15
Lampiran Tabel	16-27
Lampiran Perhitungan	28-30
Lampiran Skema	31-33
Lampiran Determinasi Tanaman	34
Lampiran Sertifikat Analisis	35-41

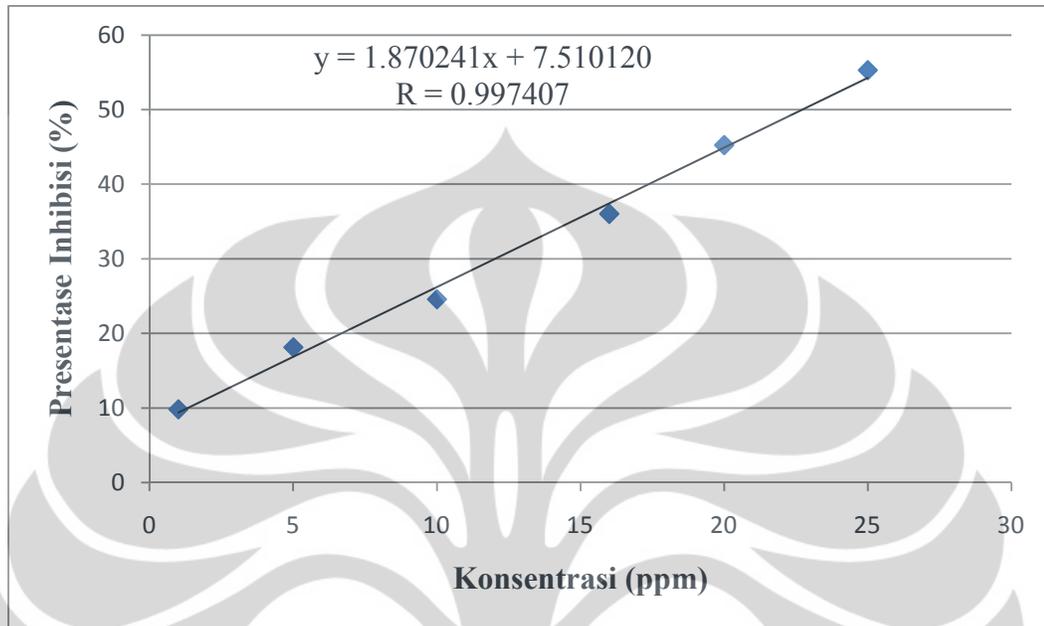
Lampiran 1. Spektrum Serapan Larutan DPPH 100 ppm Dalam Metanol Pada λ 517 nm



Lampiran 2. Kurva Regresi Linear Aktivitas Antioksidan Vitamin C terhadap DPPH



Lampiran 3. Kurva Regresi Linear Aktivitas Antioksidan Serbuk Fraksi Diklorometana Terhadap DPPH



Lampiran 4. Liposom Mengandung Fraksinasi Diklorometana Formula 1,2,3, dan 4



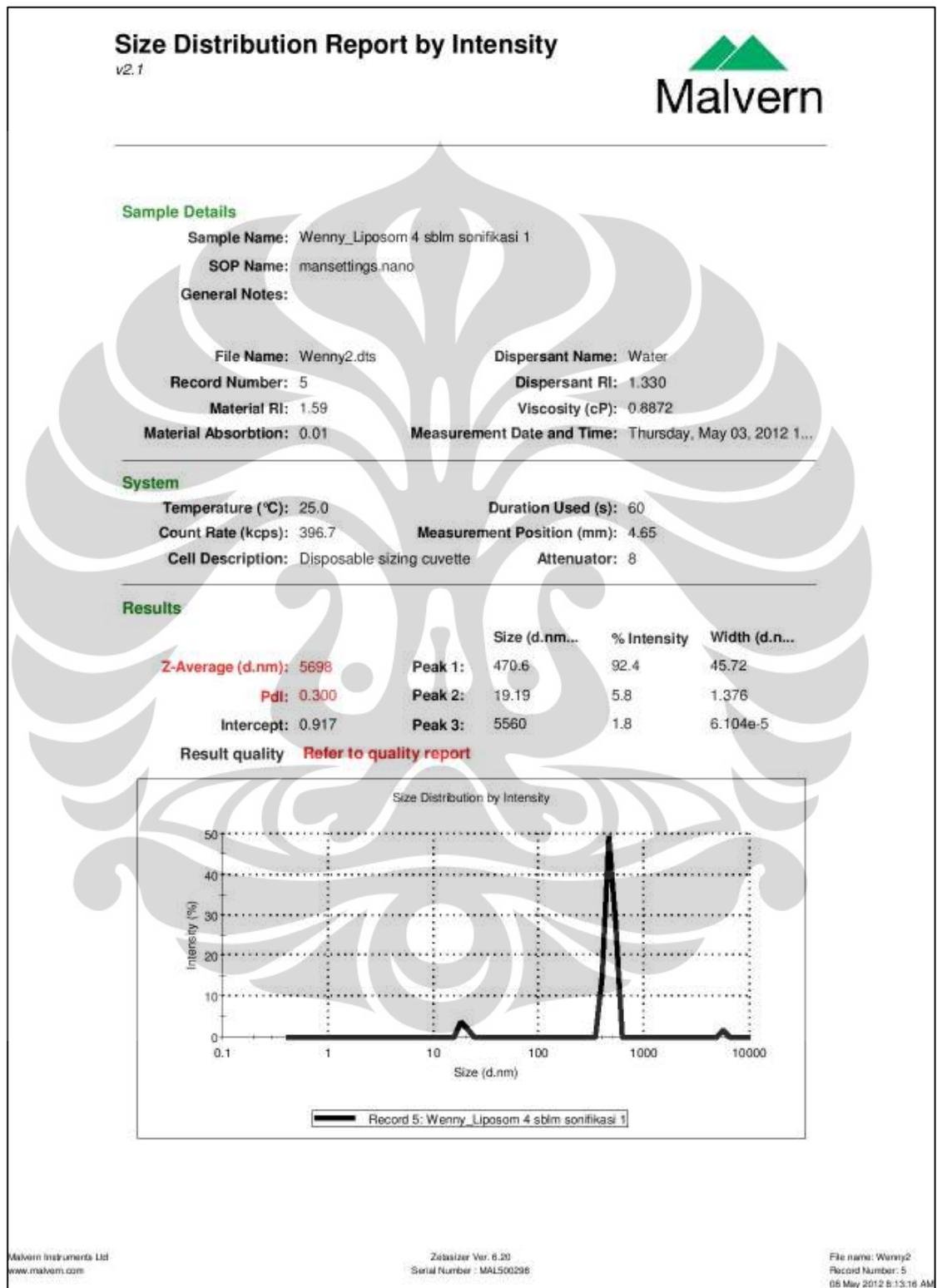
Lampiran 5. Pemurnian Liposom Dengan Ultrasentrifugasi



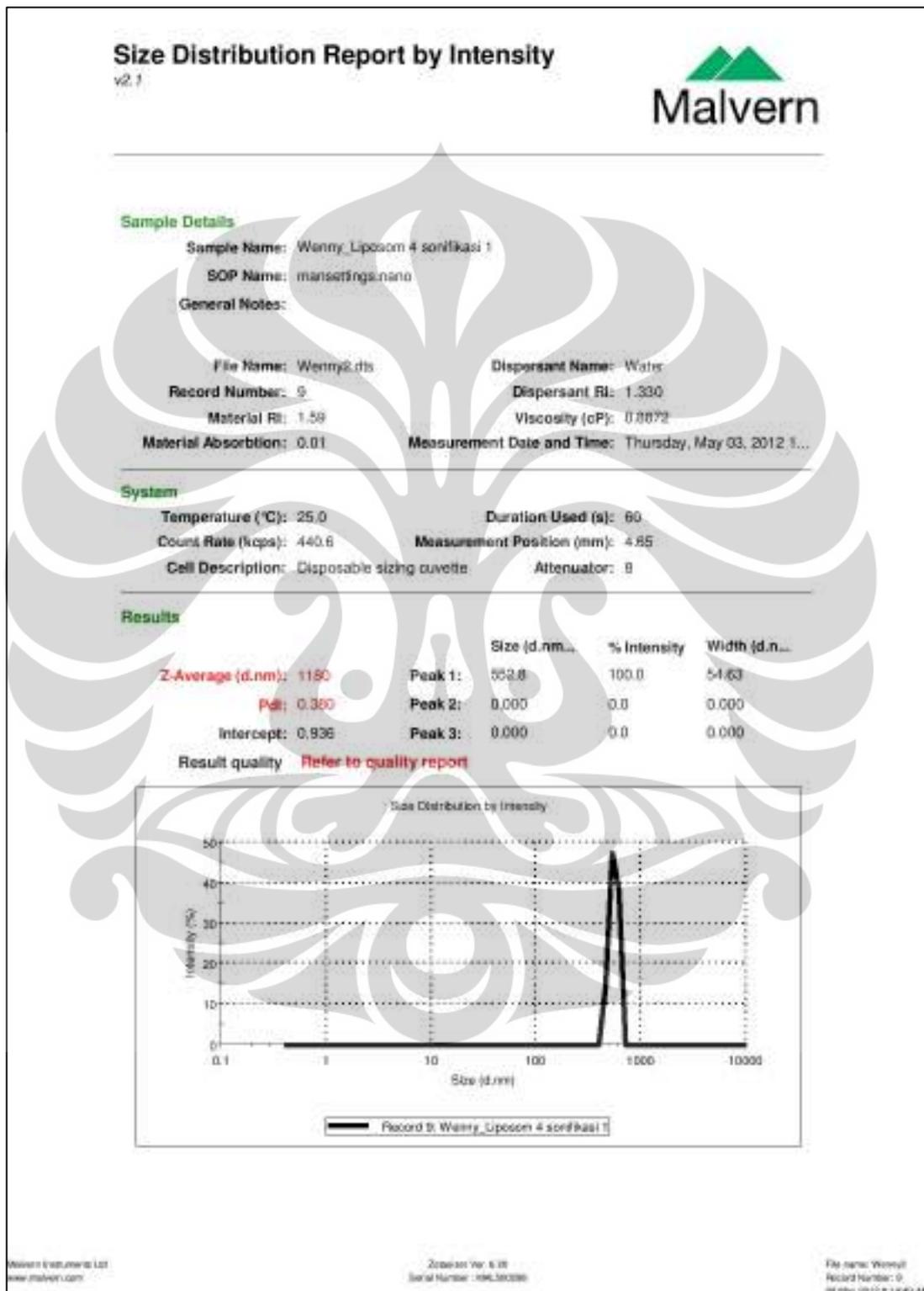
Lampiran 6. Supernatan Hasil Pemurnian Liposom Dari Formula 1,2,3 dan 4



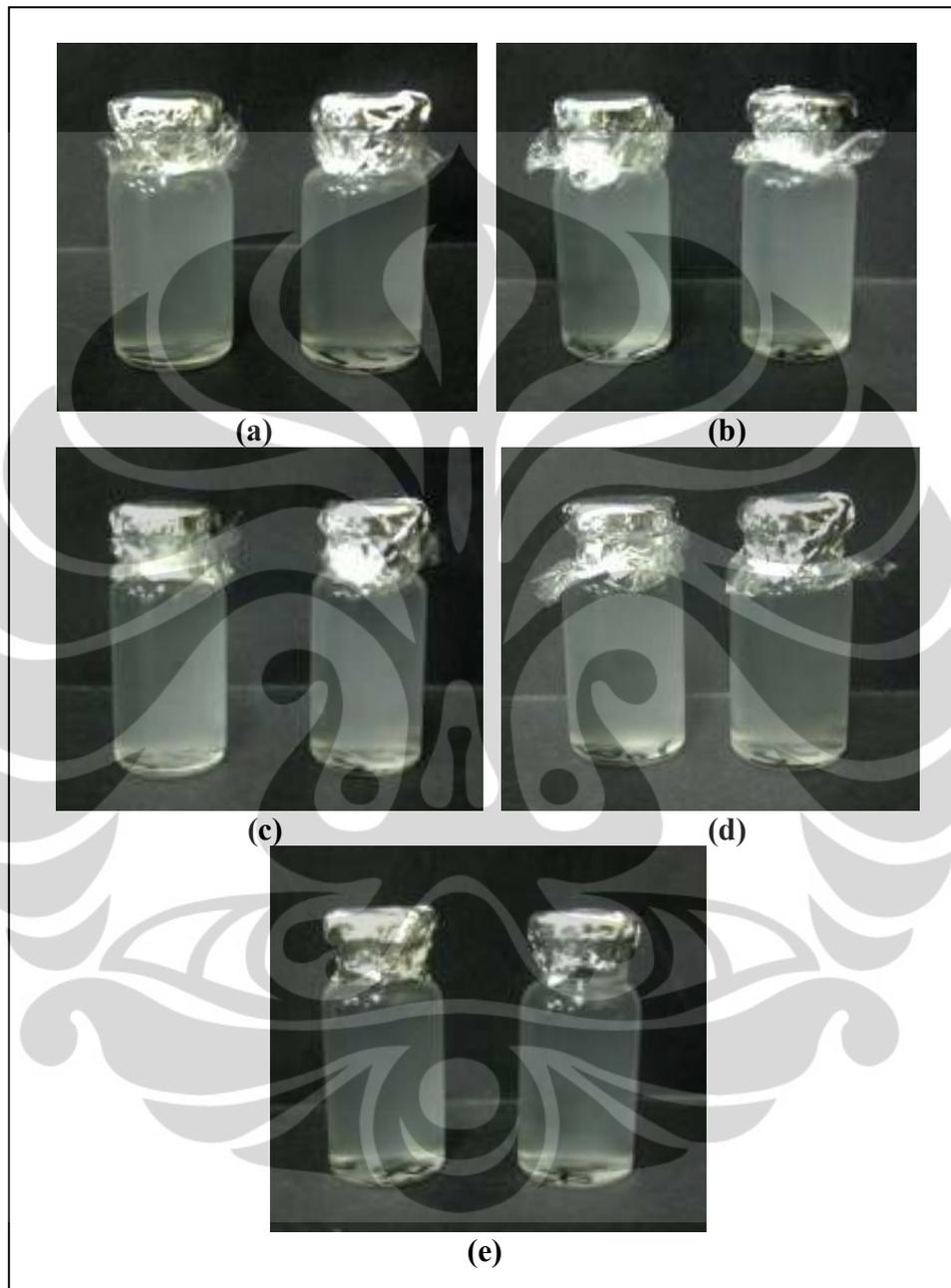
Lampiran 7. Hasil Pengukuran Distribusi Ukuran Vesikel Liposom Formula 4 Sebelum Sonikasi



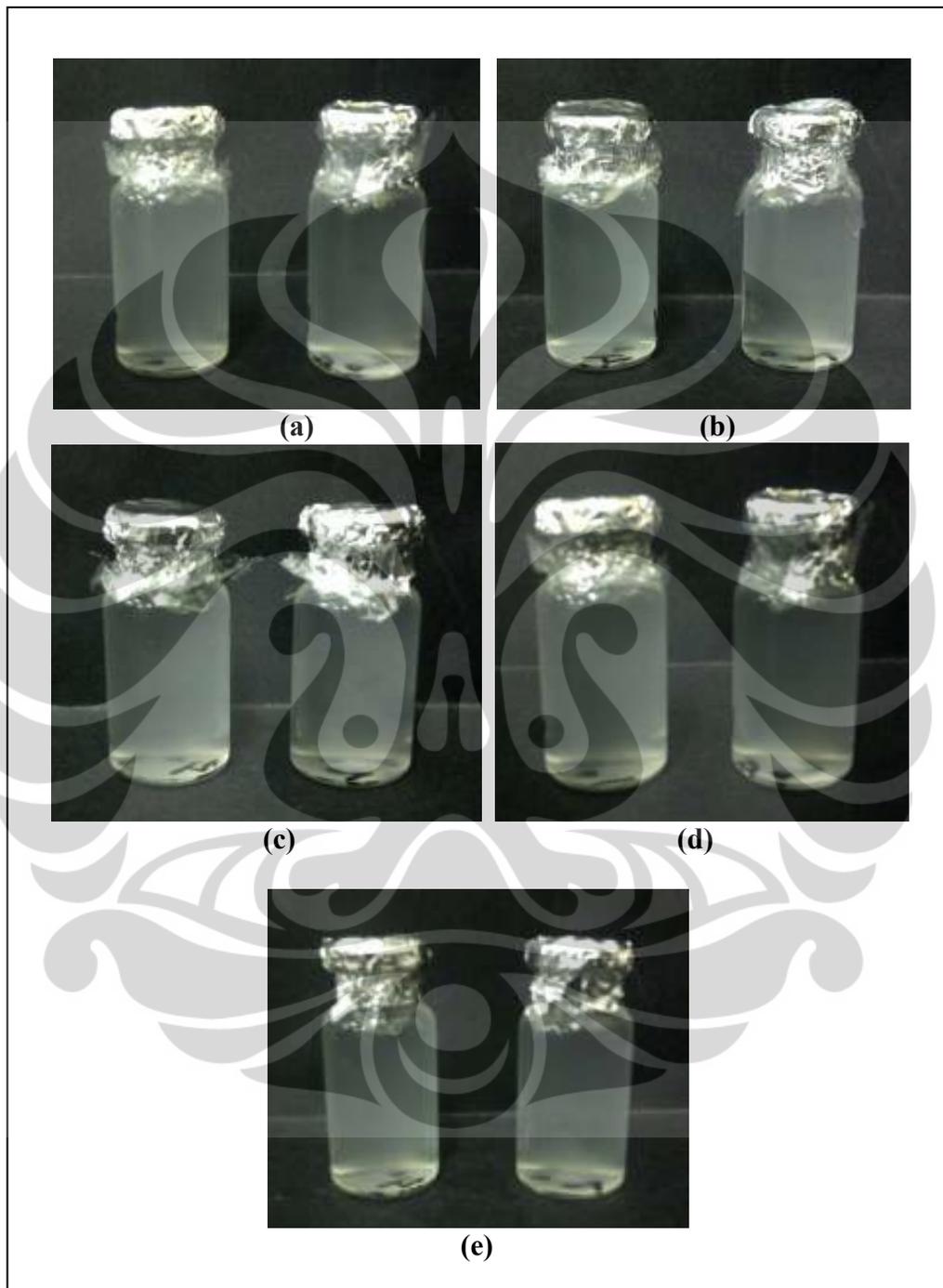
Lampiran 8. Hasil Pengukuran Distribusi Ukuran Vesikel Liposom Formula 4 Setelah Sonikasi



Lampiran 9. Uji Stablilitas Penyimpanan Pada Suhu Kamar (29°C); (a) minggu 0; (b) minggu ke-1; (c) minggu ke-2; (d) minggu ke-3; (e) minggu ke-4

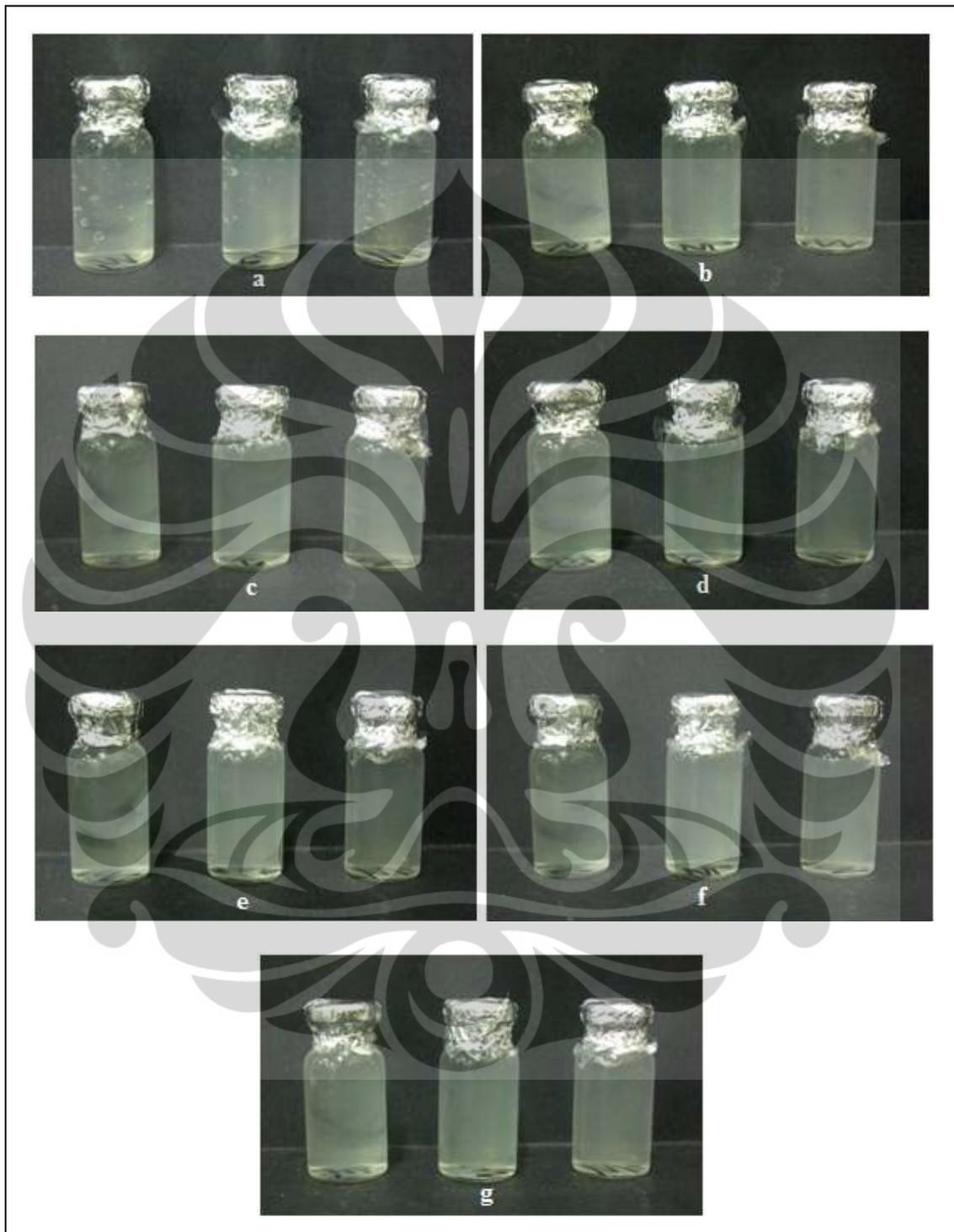


Lampiran 10. Uji Stablilitas Penyimpanan Pada Suhu Rendah (4°C); (a) minggu 0; (b) minggu ke-1; (c) minggu ke-2; (d) minggu ke-3; (e) minggu ke-4



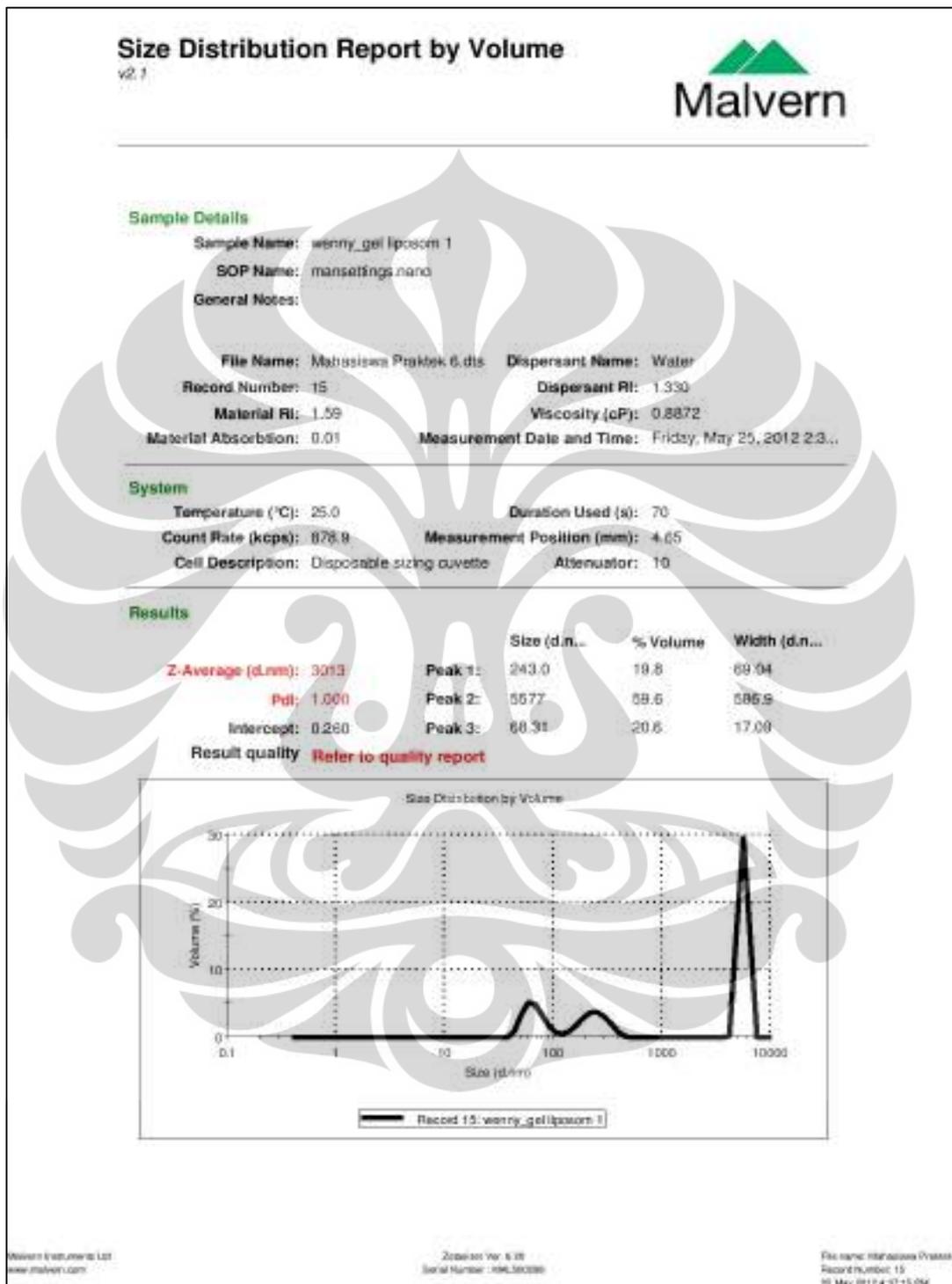
Lampiran 11. Uji Stabilitas Penyimpanan Pada Suhu Tinggi (40°C); (a) minggu 0; (b) minggu ke-1; (c) minggu ke-2; (d) minggu ke-3; (e) minggu ke-4



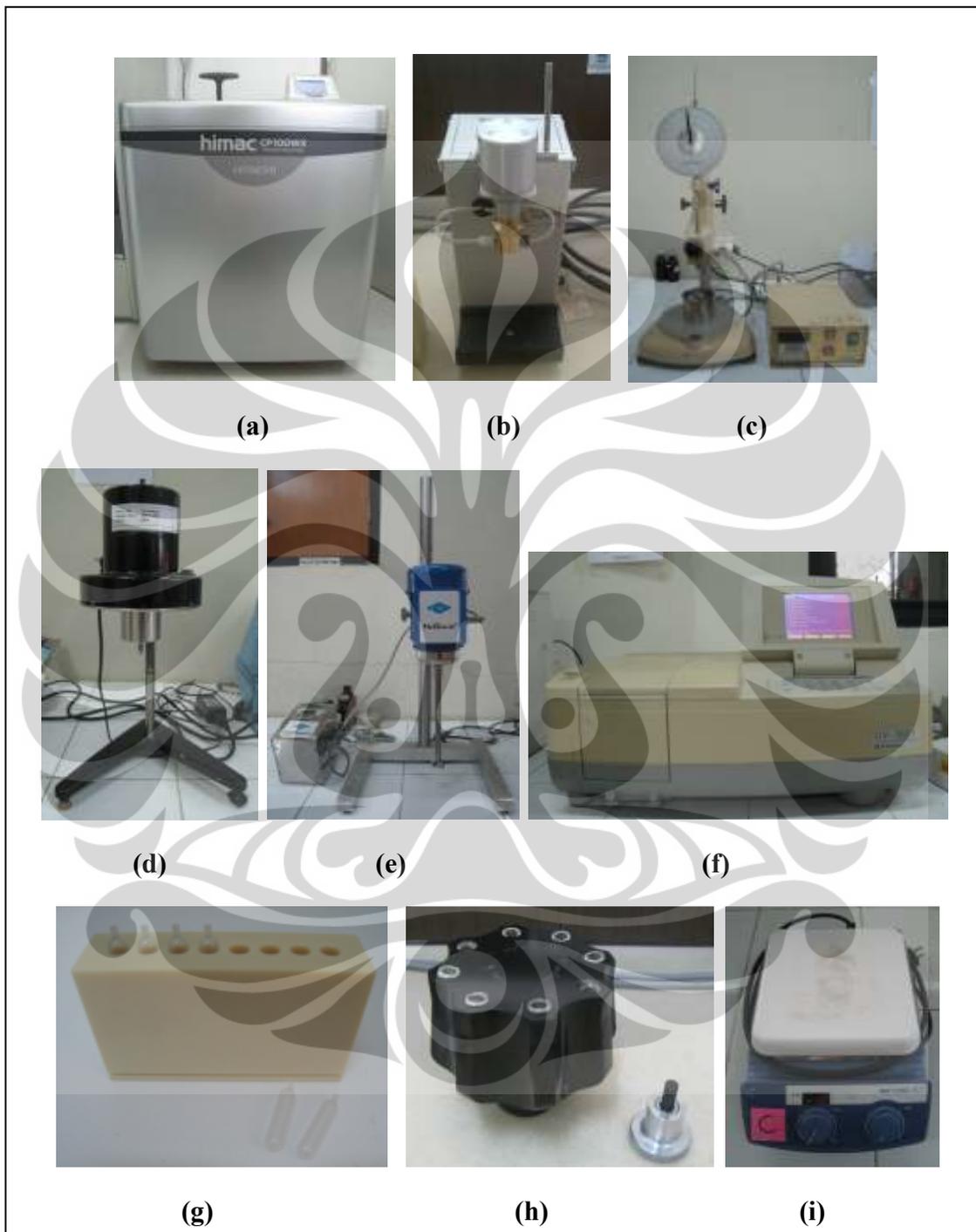
Lampiran 12. Hasil *Cycling test* 6 siklus

Keterangan : a. Siklus 0; b. Siklus 1; c. Siklus 2; d. Siklus 3; e. Siklus 4; f. Siklus 5;
g. Siklus 6.

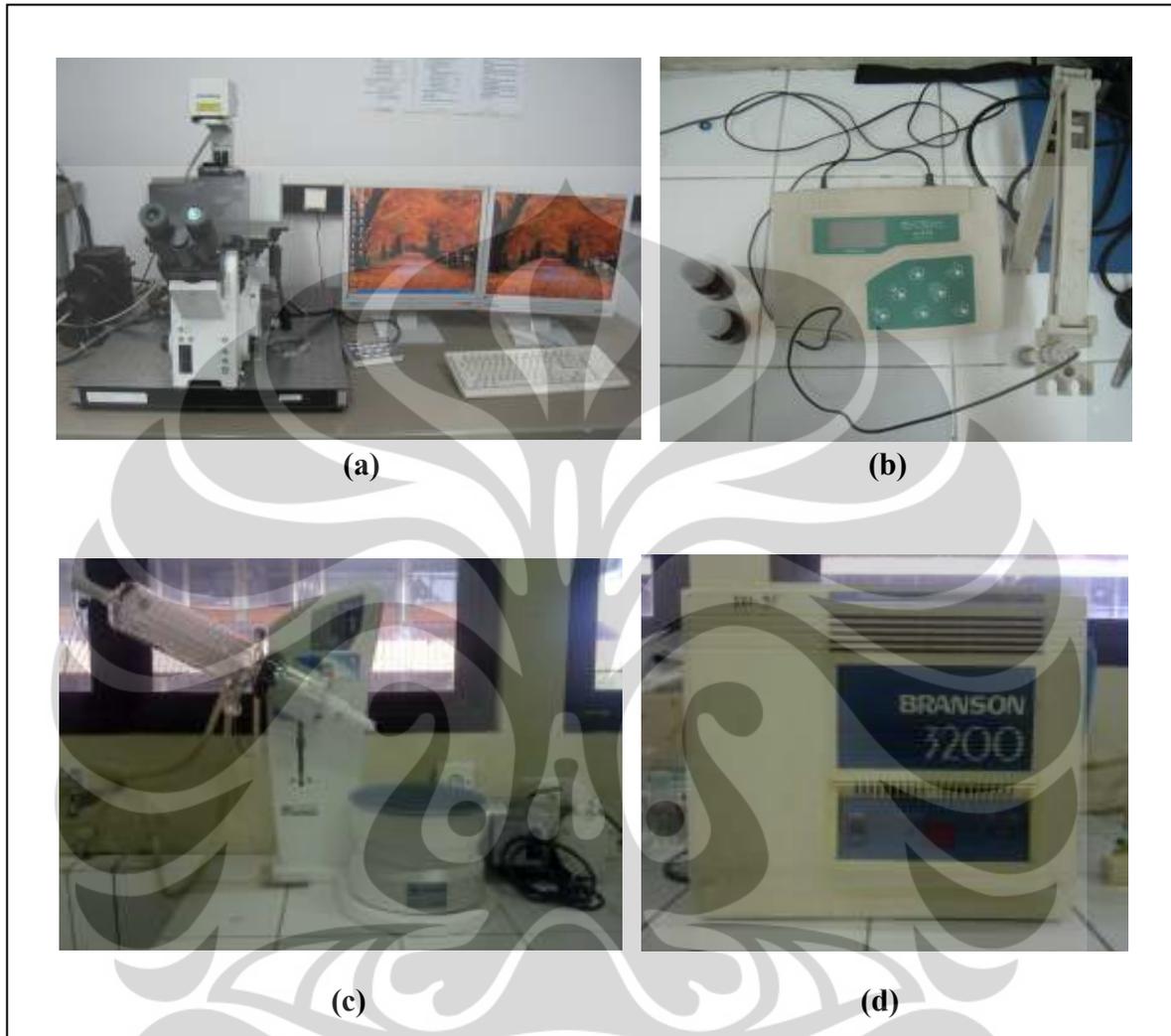
Lampiran 13. Hasil Pengukuran Distribusi Ukuran Vesikel Liposom Dalam Gel



Lampiran 14. Foto Alat



Keterangan: a. Ultrasentrifugator; b. *tube sealer*; c. penetrometer; d. viskometer; e. homogenizer; f. spektrofotometer UV-Vis; g. *tube*; h. rotor; i. pengaduk magnetik.

Lampiran 15. Foto Alat

Keterangan : a. Mikroskop konvokal; b. pH-meter; c. Rotavapor; d. Sonikator

Lampiran 16. Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C Terhadap DPPH

Sampel	Konsentrasi Supernatan (ppm)	Absorbansi		% Inhibisi (%)	Regresi linear	IC ₅₀ (ppm)	IC ₅₀ rata-rata (ppm)
		DPPH	Sampel				
Vitamin C	1	0,6034	0,5832	3,347696	y = 11,843836x - 8,945968	3,732699	3,675136
	2		0,5161	14,46801			
	3		0,4463	26,03579			
	4		0,3704	38,61457			
	5		0,2993	50,39772			
	6		0,2282	62,18097			
	1	0,6296	0,5898	4,876111	y = 11,793428x - 6,884795	3,617573	
	2		0,5263	16,407242			
	3		0,4472	28,970775			
	4		0,3753	40,390724			
	5		0,3035	51,794790			
	6		0,2272	63,913595			

Lampiran 17. Uji Aktivitas Antioksidan Serbuk Fraksi Diklorometana Kulit Manggis Terhadap DPPH

Sampel	Konsentrasi Supernatan (ppm)	Absorbansi		% Inhibisi (%)	Regresi linear	IC ₅₀ (ppm)	IC ₅₀ rata-rata (ppm)
		DPPH	Sampel				
Serbuk Fraksi Diklorometana	1	0,6448	0,5967	7,459677	y = 6,186839 + 1,835751x	17,899960	17,469579
	5		0,5381	16,547766			
	10		0,4872	24,441680			
	16		0,4236	34,305210			
	20		0,3647	43,439826			
	25		0,3077	52,279776			
	1	0,5974	0,5388	9,809173	y = 7,510120 + 1,870241x	17,039199	
	5		0,4891	18,128557			
	10		0,4506	24,573150			
	16		0,3822	36,022765			
	20		0,3271	45,246066			
	25		0,2651	55,289588			

Lampiran 18. Uji Aktivitas Antioksidan Supernatan Formula 1 Terhadap DPPH

Sampel	Konsentrasi Supernatan (ppm)	Absorbansi		% Inhibisi (%)	Regresi linear	IC ₅₀ (ppm)	IC ₅₀ rata-rata (ppm)
		DPPH	Sampel				
Supernatan Formula 1	1	0,6177	0,5964	3,448275	y = 4,544230 + 1,146390x	29,738361	29,065042
	5		0,5479	11,299983			
	10		0,5123	17,063299			
	15		0,4780	22,616156			
	20		0,4448	27,990934			
	30		0,3848	37,704387			
	1	0,6221	0,5829	6,301237	y = 5,760104 + 1,168656x	28,391724	
	5		0,5420	12,825743			
	10		0,5269	15,303005			
	15		0,4744	23,742163			
	20		0,4261	31,506188			
	30		0,3761	39,543481			

Lampiran 19. Uji aktivitas antioksidan supernatan formula 2 terhadap DPPH

Sampel	Konsentrasi Supernatan (ppm)	Absorbansi		% Inhibisi (%)	Regresi linear	IC ₅₀ (ppm)	IC ₅₀ rata-rata (ppm)
		DPPH	Sampel				
Supernatan Formula 2	1	0,6019	0,5767	4,186741	y = 3,645785 + 0,837655x	41,503555	40,716527
	5		0,5468	9,154344			
	10		0,5388	10,483469			
	20		0,4744	21,182920			
	30		0,4312	28,360192			
	40		0,3774	37,298554			
	1	0,5933	0,5481	7,618405	y = 6,216717 + 0,822386x	39,929500	
	5		0,5275	11,09051			
	10		0,5198	12,388336			
	20		0,4495	24,237316			
	30		0,4214	28,973537			
	40		0,3550	40,165177			

Lampiran 20. Uji aktivitas antioksidan supernatan formula 3 terhadap DPPH

Sampel	Konsentrasi Supernatan (ppm)	Absorbansi		% Inhibisi (%)	Regresi linear	IC ₅₀ (ppm)	IC ₅₀ rata-rata (ppm)
		DPPH	Sampel				
Supernatan Formula 3	1	0,5774	0,5421	6,109109	y = 7,441731+ 0,627829x	50,839801	49,630826
	10		0,4908	14,989260			
	20		0,4601	20,315206			
	30		0,4159	27,970211			
	40		0,3883	32,746449			
	50		0,3619	37,322480			
	1	0,5680	0,5186	8,697183	y = 9.318091 + 0.630117x	48,421851	
	10		0,4834	14,894366			
	20		0,4304	24,225352			
	30		0,4008	29,436619			
	40		0,3737	34,207746			
	50		0,3431	39,595070			

Lampiran 21. Uji aktivitas antioksidan supernatan formula 4 terhadap DPPH

Sampel	Konsentrasi Supernatan (ppm)	Absorbansi		% Inhibisi (%)	Regresi linear	IC ₅₀ (ppm)	IC ₅₀ rata-rata (ppm)
		DPPH	Sampel				
Supernatan Formula 4	1	0,6208	0,6149	0,950386	y = 0,699110 + 0,500232x	73,917036	68,063430
	10		0,5877	5,331829			
	20		0,5541	10,760309			
	30		0,5151	17,026417			
	40		0,4930	20,596340			
	50		0,4652	25,064432			
	1	0,6313	0,6213	1,584032	y = 1,981148 + 0,578914x	62,209825	
	10		0,5813	7,920164			
	20		0,5376	14,842388			
	30		0,5061	19,832092			
	40		0,4766	24,504989			
	50		0,4380	30,619356			

Lampiran 22. Hasil Pengamatan Organoleptis

Minggu ke-	Hasil Pengamatan Organoleptis Gel Liposom					
	Suhu Rendah ($\pm 4^{\circ}\text{C}$)		Suhu Kamar		Suhu Tinggi ($\pm 40^{\circ}\text{C}$)	
	Warna	Bau	Warna	Bau	Warna	Bau
0	Putih agak keruh (++)	Bau khas liposom	Putih agak keruh (++)	Bau khas liposom	Putih agak keruh (++)	Bau khas liposom
1	Putih agak keruh (++)	Bau khas liposom	Putih agak keruh (++)	Bau khas liposom	Putih agak keruh (++)	Bau khas liposom
2	Putih agak keruh (++)	Bau khas liposom	Putih agak keruh (++)	Bau khas liposom	Putih agak keruh (++)	Bau khas liposom
3	Putih agak keruh (++)	Bau khas liposom	Putih agak keruh (++)	Bau khas liposom	Putih agak keruh (++)	Bau khas liposom
4	Putih agak keruh (++)	Bau khas liposom	Putih agak keruh (++)	Bau khas liposom	Putih agak keruh (++)	Bau khas liposom

Lampiran 23. Hasil Pengamatan pH Sediaan

Minggu ke-	pH Sediaan Formula Gel Liposom											
	Suhu Dingin (4°C)				Suhu Kamar (29°C)				Suhu Tinggi (40°C)			
	A	B	C	Rata-rata	A	B	C	Rata-rata	A	B	C	Rata-rata
0	6,60	6,60	6,60	6,60	6,60	6,60	6,60	6,60	6,60	6,60	6,60	6,60
1	6,60	6,59	6,60	6,596	6,60	6,61	6,59	6,60	6,48	6,51	6,58	6,523
2	6,60	6,60	6,61	6,603	6,60	6,63	6,59	6,606	6,39	6,41	6,43	6,41
3	6,61	6,60	6,60	6,603	6,61	6,61	6,59	6,603	6,40	6,39	6,42	6,403
4	6,61	6,61	6,60	6,606	6,60	6,61	6,60	6,603	6,38	6,39	6,40	6,39

Lampiran 24. Nilai Viskositas Gel Liposom Minggu Ke-0

Hasil Pengamatan Viskositas Gel Liposom							
Waktu	Spindel	Kecepatan (rpm)	Dial Reading (dr)	Faktor Koreksi (f)	Viskositas $\eta = dr \times f$ (cps)	Shearing Stress F/A = $dr \times 7,187$ (dyne/cm ²)	Rate of Shear $dv/dr = F/A \times 1/\eta$
Minggu ke-0	5	0,5	21,5	8.000	172.000	154,5205	0,0008984
		2	25,5	2.000	51.000	183,2685	0,0035935
		4	29	1.000	29.000	208,4230	0,0071870
		10	30,5	800	24.400	219,2035	0,0089838
		20	36	400	14.400	258,7320	0,0179675
		20	36	400	14.400	258,7320	0,0179675
		10	31	800	24.800	222,7970	0,0089838
		4	29,5	1.000	29.500	212,0165	0,0071870
		2	25,5	2.000	51.000	183,2685	0,0035935
		0,5	21,5	8.000	172.000	154,5205	0,0008984

Lampiran 25. Nilai Viskositas Gel Liposom Minggu Ke-4

Hasil Pengamatan Viskositas Gel Liposom							
Waktu	Spindel	Kecepatan (rpm)	Dial Reading (dr)	Faktor Koreksi (f)	Viskositas $\eta = dr \times f$ (cps)	Shearing Stress $F/A = dr \times 7,187$ (dyne/cm ²)	Rate of Shear $dv/dr = F/A \times 1/\eta$
Minggu ke-4	5	0,5	22	8.000	176.000	158,1140	0,0008984
		2	25,75	2.000	51.500	185,0653	0,0035935
		4	29.5	1.000	29.500	212,0165	0,0071870
		10	31	800	24.800	222,7970	0,0089838
		20	36,75	400	14.700	264,1223	0,0179675
		20	36,75	400	14.700	264,1223	0,0179675
		10	31,5	800	25.200	226,3905	0,0089838
		4	30	1.000	30.000	215,6100	0,0071870
		2	26	2.000	52.000	186,8620	0,0035935
		0,5	22,5	8.000	180.000	161,7075	0,0008984

Lampiran 26. Hasil Konsistensi Gel Liposom

Konsistensi Gel Liposom	
Waktu	Konsistensi (1/10 mm)
Minggu ke-0	390
Minggu ke-4	379

Lampiran 27. Hasil *Cycling Test*

Hasil Pengamatan Gel Liposom								
Siklus ke-0			Siklus ke-6					
Warna			Warna			Sineresis		
a	b	c	a	b	c	a	b	c
Putih agak keruh (++)	Putih agak keruh (++)	Putih agak keruh (++)	Putih agak keruh (++)	Putih agak keruh (++)	Putih agak keruh (++)	-	-	-

Lampiran 28. Perhitungan Persentase Inhibisi Aktivitas Antioksidan Fraksinasi
Diklorometana

$$\text{Persentase Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Absorbansi kontrol = 0,6448

Absorbansi sampel = 0,5967

$$\frac{0,6448 - 0,5967}{0,6448} \times 100\% = 7,459677\%$$

Lampiran 29. Perhitungan IC₅₀

$$y = a + bx$$

Keterangan :

$$y = 50$$

Misal :

$$y = 6,186839 + 1,835751x$$

$$50 = 6,186839 + 1,835751x$$

$$x = \frac{50 - 6,186839}{1,835751}$$

$$= 23,866614 \text{ ppm}$$

Perbandingan DPPH dan sampel = 3:1

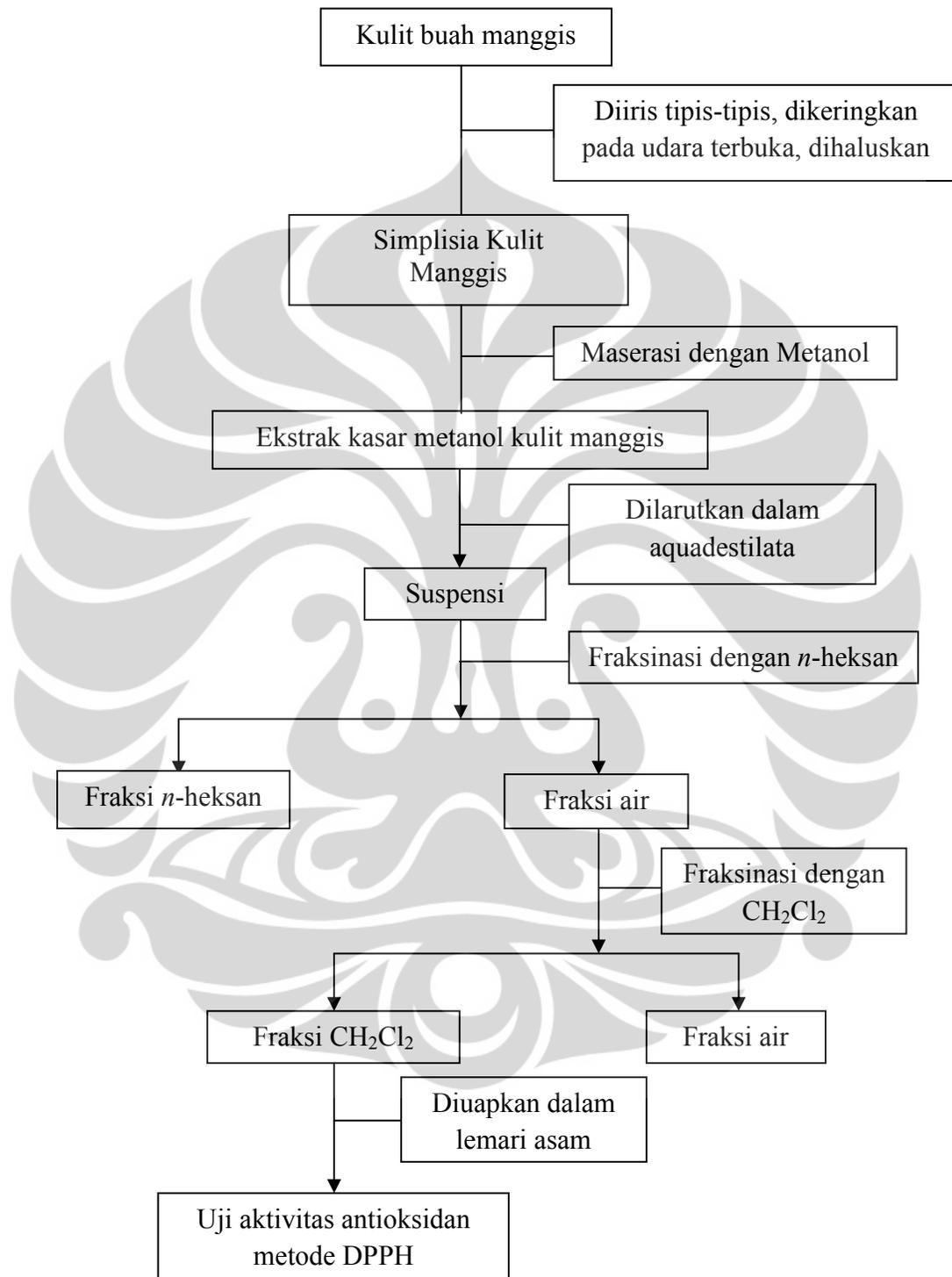
$$\begin{aligned} \text{IC}_{50} &= \frac{x \times 3}{4} \\ &= \frac{23,866614 \text{ ppm} \times 3}{4} \\ &= 17,899960 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Lampiran 30. Perhitungan Persentase Inhibisi Aktivitas Antioksidan Supernatan dan Efisiensi Penjerapan

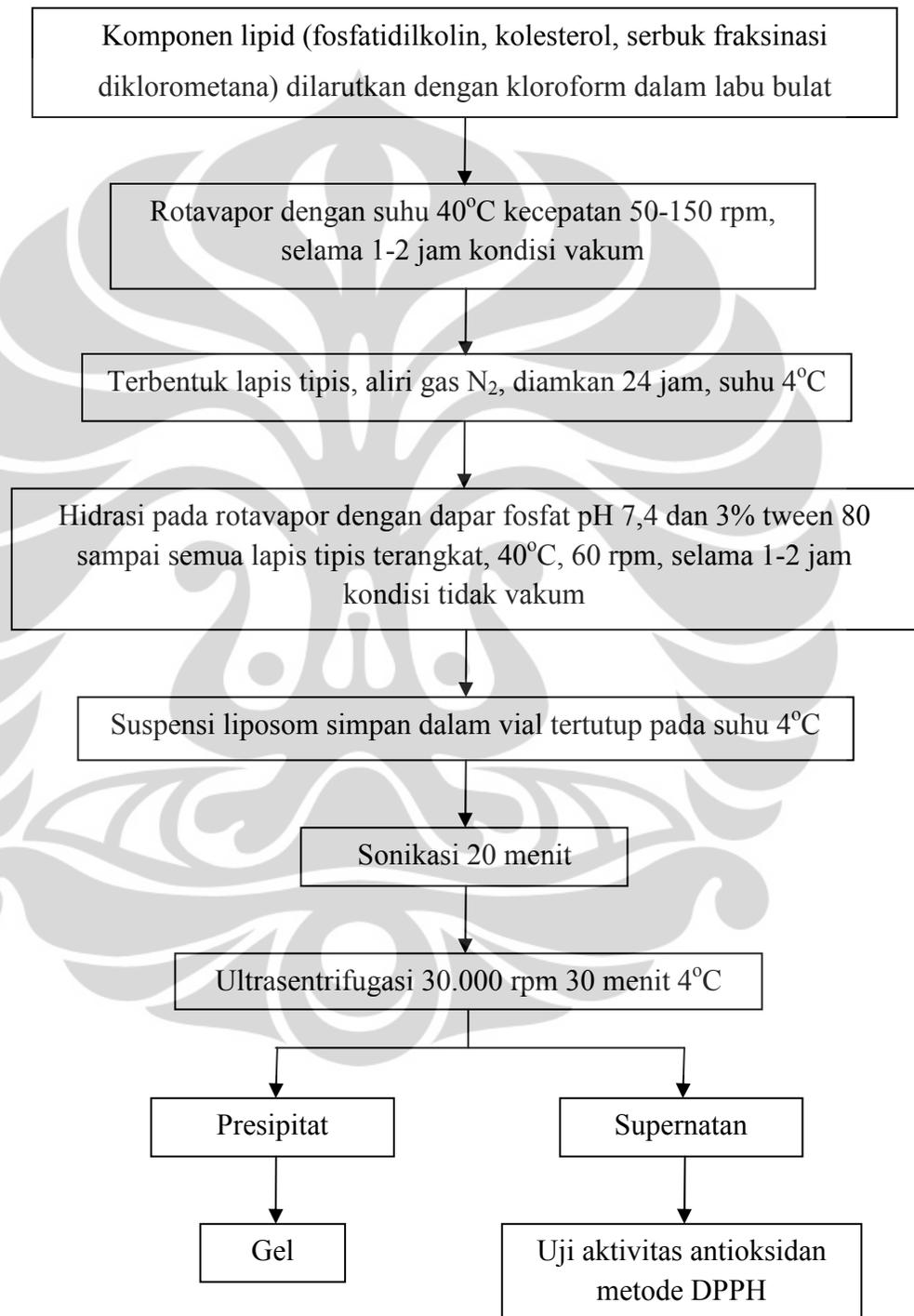
$$\text{Persentase Inhibisi Supernatan} = \frac{\text{IC50 serbuk fraksinasi diklorometana}}{\text{IC50 supernatan}} \times 100\%$$

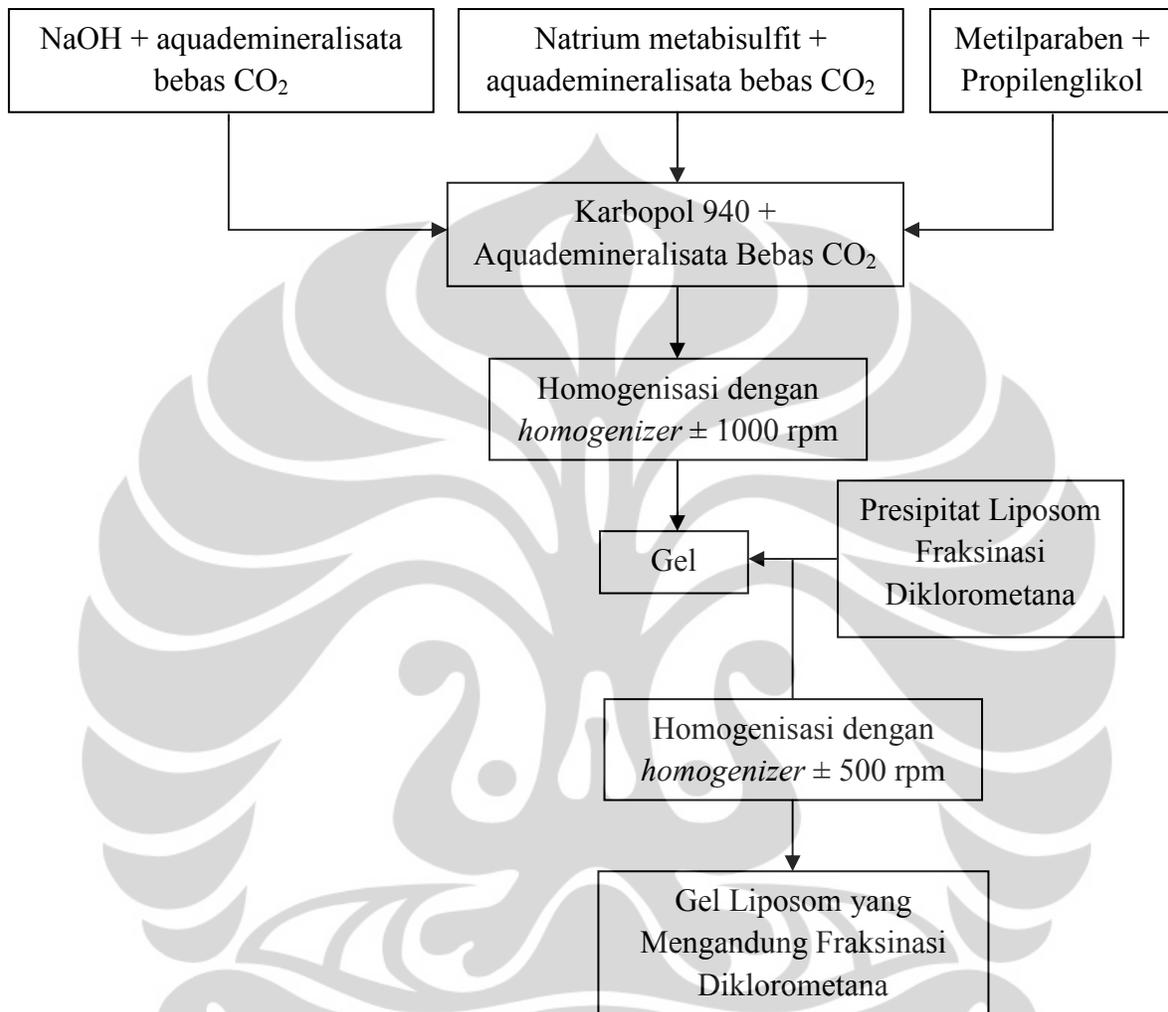
$$\text{Efisiensi Penjerapan} = 100\% - \text{Persentase Inhibisi Supernatan}$$

1. Formula 1 $= \frac{17,469579}{29,065042} \times 100\% = 60,105122\% \sim 60,11\%$
 Efisiensi Penjerapan $= 100\% - 60,11\%$
 $= 39,89\%$
2. Formula 2 $= \frac{17,469579}{40,716527} \times 100\% = 42,905375\% \sim 42,91\%$
 Efisiensi Penjerapan $= 100\% - 42,91\%$
 $= 57,09\%$
3. Formula 3 $= \frac{17,469579}{49,630826} \times 100\% = 35,199049\% \sim 35,20\%$
 Efisiensi Penjerapan $= 100\% - 35,20\%$
 $= 64,80\%$
4. Formula 4 $= \frac{17,469579}{68,063430} \times 100\% = 25,666615\% \sim 25,67\%$
 Efisiensi Penjerapan $= 100\% - 25,67\%$
 $= 74,33\%$

Lampiran 31. Diagram Alir Ekstraksi Dan Fraksinasi Kulit Manggis

Lampiran 32. Diagram Alir Pembuatan Liposom dengan Metode Hidrasi Lapis Tipis Dan Pemurnian Liposom.



Lampiran 33. Diagram Alir Pembuatan Gel Liposom

Lampiran 34. Hasil Determinasi Tumbuhan



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

Cibinong, 10 Januari 2012

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

Kepada Yth.
 Bpk./Ibu/Sdr(i). Wenny Silvia Marinda

Dengan hormat,

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

No.	No. Kol.	Jenis	Suku
1	Manggis	<i>Garcinia mangostana</i> L.	Clusiaceae

Demikian, semoga berguna bagi Saudara.

Kepala Bidang Botani
 Pusat Penelitian Biologi-LIPI,

Dr. Joeni Setijoe Rahajoe
 NIP. 196706241993032004

D:\Ident 2012\Wenny Silvia Marinda.doc\IS-ABR

Page 1 of 1

Lampiran 35. Sertifikat Analisis Ekstrak Metanol Kulit Manggis



Kementerian Pertanian
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Laboratorium Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
 Jalan Teratai Pelajar No. 3 Kampus Penelitian Pertanian Cisarung, Bogor 16111
 Telp/Fax : (0251) 8321879 Faksimile : (0251) 8327010 E-mail : balai@pvtb.litbang.pertanian.go.id

SERTIFIKAT PENGUJIAN
CERTIFICATE OF ANALYSIS
 No. Adm. : 50/IT/LAB/12

DF 5.10.1.2.

Kepada Yth
Wenny Silvia Marinda
 Universitas Indonesia Depok

Kondisi/Identifikasi Contoh : Serbuk
 Tanggal Penerimaan : 25 Januari 2012
 Tanggal Pengujian : 25 Januari 2012

No	Jenis Contoh	Jenis Pengujian/Pemeriksaan	Hasil	Metode Pengujian
			Pengujian/Pemeriksaan (No. contoh/kode)	
1.	Kulit manggis	Ekstrak dengan metanol - Rendemen (%)	25,58	Maserasi

Bogor, 15 Februari 2012
 Manajer Teknis

Ma'mun, S.Si

Laporan hasil uji ini merupakan salinan resmi dari dokumen. Negeri ini adalah agar bertanggung jawab secara administrasi.
 Hasil pengujian di atas hanya berdasarkan contoh uji yang bersangkutan. Laporan ini dilindungi diperbanyak kecuali atas persetujuan tertulis dari
 Laboratorium Pengujian Halalita.

Contoh kertas disimpan oleh Manajer Administrasi

Lampiran 36. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Manggis



Kementerian Pertanian
Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian
Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Laboratorium Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
 Jalan Teratai Pelajar No. 3 Kampus Penelitian Pertanian Cisarung, Bogor 16111
 Telpun : (0251) 8321879 Faksimile : (0251) 8327010 E-mail : balai@p2k.or.id

SERTIFIKAT PENGUJIAN
 CERTIFICATE OF ANALYSIS

No. Adm. : 96/T/LAB/II/12

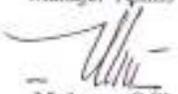
DF 5.10.1.2.

Kepada Yth,
Wenny Silvia Marinda
 Universitas Indonesia

Kondisi/Identifikasi Contoh : Ekstrak cair
 Tanggal Penerimaan : 22 Februari 2012
 Tanggal Pengujian : 6 & 8 Maret 2012

No	Jenis Contoh	Jenis Pengujian/Pemeriksaan	Hasil Pengujian/Pemeriksaan (No. contoh/kode)	Metode Pengujian
1.	Ekstrak metanol Kulit manggis	- Kadar air (%)	51,50	Gravimetri
		- Kadar abu (%)	0,44	Gravimetri
		Uji fitokimia :		Kualitatif
		- Alkaloid	++++	
		- Saponin	++++	
		- Tanin	+++	
		- Fenolik	++++	
		- Flavonoid	++++	
		- Triterpenoid	++++	
		- Steroid	+	
- Glikosida	++++			

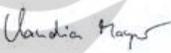
Keterangan :
 - : Negatif
 + : Positif lemah
 ++ : Positif
 +++ : Positif kuat
 ++++ : Positif kuat sekali

Bogor, 8 Maret 2012
 Manajer Teknis

Ma'mun, S.Si

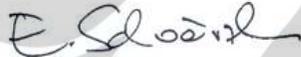
- Laporan hasil uji ini berlaku selama 90 hari sejak diterbitkan. Surat ini yang asli mengantarannya ke kantor administrasi.
 - Hasil pengujian di atas hanya berdasarkan contoh uji yang bersangkutan. Laporan ini dilarang dipertukarkan kecuali atas persetujuan tertulis dari Laboratorium Pengujian Halusinasi.

Lembar kedua ditandatangani oleh Manajer Administrasi

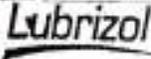
Lampiran 37. Sertifikat Analisis Kolesterol

SIGMA-ALDRICH®		 Riedstrasse 2, D-89555 Steinheim/Germany Tel: +49 73 2997 2550 Fax: +49 73 2997 2557
Certificate of Analysis		
Product Name:	CHOLESTEROL	
	95 %	
Product Number:	C75209	
Product Brand:	Sigma	
Molecular Formula:	C ₂₇ H ₄₆ O	
Molecular Mass:	386.65	
CAS Number:	57-88-5	
TEST	SPECIFICATION	LOT STBB5512 RESULTS
APPEARANCE (COLOR)	WHITE	WHITE
APPEARANCE (FORM)	POWDER	POWDER
PURITY (GC AREA %)	≥ 94.0 %	94.1 %
OPTICAL ROTATION	-39 ± 6 DEGREES	-37 DEGREES
CONCENTRATION	C=2% DIOXANE	2% IN DIOXAN
SOLUBILITY (COLOR)	COLORLESS TO PALE YELLOW	COLORLESS
SOLUBILITY (TURBIDITY)	CLEAR TO SLIGHTLY HAZY	CLEAR
SOLUBILITY (METHOD)	1G/4.5ML, CHCL3	1G/4.5ML, CHCL3
INFRARED SPECTRUM	CONFORMS TO STRUCTURE	CONFORMS
QC RELEASE DATE	22/JUN/10	
 Claudia Mayer, Manager Quality Control Steinheim, Germany		
<p>Sigma-Aldrich warrants, that its products conform to the information contained in this and other Sigma-Aldrich publications. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice for additional terms and conditions of sale. The values given on the 'Certificate of Analysis' are the results determined at the time of analysis.</p>		
Sigma-Aldrich	Certificate of Analysis - Product C75209 Lot STBB5512	Page 1 of 1

Lampiran 38. Sertifikat Analisis Fosfatidilkolin

SIGMA-ALDRICH®		 SIGMA <small>Life Science</small> Industriestrasse 25, CH-9471 Buchs (SG), Switzerland Tel: +41 81 755 2511 Fax: +41 81 756 5449	
Certificate of Analysis			
Product Name:	L- α -PHOSPHATIDYLCHOLINE from egg yolk, ~ 60 % TLC		
Product Number:	61755		
Product Brand:	Sigma		
Molecular Formula:			
Molecular Mass:			
CAS Number:	8002-43-5		
TEST	SPECIFICATION	LOT BCBD3767 RESULTS	
APPEARANCE (COLOR)	YELLOW TO ORANGE	ORANGE	
APPEARANCE (FORM)	POWDER TO SOLIDIFIED MASS OR CHUNKS	SOLIDIFIED MASS OR CHUNKS	
PURITY (TLC AREA %)	$\geq 55.0 \%$	76.5 %	
WATER	$\leq 2.0 \%$	0.7 %	
INFRARED SPECTRUM	CONFORMS TO STRUCTURE	CONFORMS	
QC RELEASE DATE	15/OCT/10		
 Edeltraud Schwärzler, Manager Quality Control Buchs, Switzerland			
<small>Sigma-Aldrich warrants, that its products conform to the information contained in this and other Sigma-Aldrich publications. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice for additional terms and conditions of sale. The values given on the 'Certificate of Analysis' are the results determined at the time of analysis.</small>			

Lampiran 39. Sertifikat Analisis Karbopol 940

 <p>LUBRIZOL ADVANCED MATERIALS ASIA PACIFIC LTD 1187 HILLSIDE DRIVE, # 5 HAPKICK ROAD SINGAPORE 610120 TEL: +65 256 1101</p>		<p align="center">CERTIFICATE OF ANALYSIS</p>																																				
<p>LZ Sales Order No.: 1365885 Customer PO No.: 175841 Delivery No.: 11712891 Ex Plant Date: April 25, 2011 Delivery Point: JAKARTA Transportation ID: 97850996 Compartments/Seals:</p>		<p>Date: April 29, 2011 Page: 1 of 2 Certificate Receipt:</p>	<p>Material: CARBOPOL® 940 POLYMER, BOX Qty: 18.0 CT Box # No.: KK138K342 Mfg. Date: March 11, 2011 Recommended Retest: March 12, 2013</p>																																			
<p>Sold to:  www.tristarchemical.com Jl. Jukung Mapan Utara CA - 24 Surabaya Telp. 031 - 8708071 Fax. 031 - 8710111</p>		<p>Ship to:</p>																																				
<p>Characteristics</p>	<p>Product Specifications</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Minimum</th> <th>Typical</th> <th>Maximum</th> <th>Result</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>BROOKFIELD VIS, 0.2% MECPH, 24 H, 21°C</td> <td>cp</td> <td>14000</td> <td>35000</td> <td></td> </tr> <tr> <td>BROOKFIELD VIS, 1.5% MILDAGE, 21°C</td> <td>cp</td> <td>40000</td> <td>60000</td> <td>48800</td> </tr> <tr> <td>BROOKFIELD VIS, 1.0% MECPH, 40°C</td> <td>cp</td> <td>45000</td> <td>80000</td> <td></td> </tr> <tr> <td>PPM BENZENE</td> <td>ppm</td> <td></td> <td>5000</td> <td>300</td> </tr> <tr> <td>CLARITY, % TRANSMITTANCE (10% IN DIOPHOL)</td> <td>%</td> <td>85</td> <td></td> <td>97</td> </tr> <tr> <td>HM AND/ORAS (0.25% IN DIOPHOL)</td> <td>%</td> <td></td> <td>2.0</td> <td>Pass</td> </tr> </tbody> </table>				Minimum	Typical	Maximum	Result	BROOKFIELD VIS, 0.2% MECPH, 24 H, 21°C	cp	14000	35000		BROOKFIELD VIS, 1.5% MILDAGE, 21°C	cp	40000	60000	48800	BROOKFIELD VIS, 1.0% MECPH, 40°C	cp	45000	80000		PPM BENZENE	ppm		5000	300	CLARITY, % TRANSMITTANCE (10% IN DIOPHOL)	%	85		97	HM AND/ORAS (0.25% IN DIOPHOL)	%		2.0	Pass
	Minimum	Typical	Maximum	Result																																		
BROOKFIELD VIS, 0.2% MECPH, 24 H, 21°C	cp	14000	35000																																			
BROOKFIELD VIS, 1.5% MILDAGE, 21°C	cp	40000	60000	48800																																		
BROOKFIELD VIS, 1.0% MECPH, 40°C	cp	45000	80000																																			
PPM BENZENE	ppm		5000	300																																		
CLARITY, % TRANSMITTANCE (10% IN DIOPHOL)	%	85		97																																		
HM AND/ORAS (0.25% IN DIOPHOL)	%		2.0	Pass																																		
<p>Where actual values are Low or High (as indicated), 0.2% Brookfield Viscosity (Onco2D test), 1.0% Brookfield Viscosity (Onco2D test) and Heavy Metals (Green 200 test) are given. Lubrizol Advanced Materials, Inc. certifies that each batch fulfills most requirements for the characteristics based on historical process and product data. Because these characteristics are tested on a spot-test frequency as indicated on the product specifications, results are not reported on the Certificate of Analysis.</p>																																						
<p>We guarantee that the above analytical results are in conformity with the agreed upon specifications. Approved by: Lubrizol Quality Assurance</p>																																						

Lampiran 41. Sertifikat Analisis Tween 80




HASIL PEMERIKSAAN

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

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

Kesimpulan : *Memenuhi syarat*

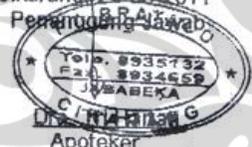
Pemeriksa



Tatang Suhartono
Analis

Cikarang, 24 08 2011

Pemeriksaan JAWAB



Apoteker
SIK 3836/B

HEAD OFFICE : Jl. Cioeng Besar No. 78, Jakarta Pusat 10150, Telp. (021) 3522733 (hunting) Fax. (021) 3522734, E-mail : biosera@brataco.com
 BRANCH OFFICE :

- JAKARTA : Jl. Mangga Besar V No.8, Jakarta 11800 Telp. (021) 6290113 (hunting 3 line) Fax. (021) 6292430
- BANDUNG : Jl. Boulevard Raya Blok T82 No. 8, Jakarta 14340 Telp. (021) 45645992-04 Fax. (021) 4522615
- SEMARANG : Jl. Kalibeng No. 8, Bandung Telp. (022) 6077128, 6030808 Fax. (022) 6031979
- YOGYA : Jl. Terusan Jakarta No. 77D, Bandung Telp. (022) 7101277, 7210308-309 Fax. (022) 7210310
- SURABAYA : Jl. Blegien, Karama No. 18 Telp. (031) 8415272, 8416098 Fax. (031) 8416490
- MEDAN : Jl. Shevanklare No. 45, Yoova Telp. (0274) 543348, 515390 Fax. (0274) 543348
- TANGERANG : Jl. Tidar No. 89, Surabaya Telp. (031) 8322887, 8325067 Fax. (031) 8310465
- CIREBON : Jl. Iskandar Muda No. 40 B, Medan Telp. (061) 4148272, 4823159 Fax. (061) 4525995

The Nationwide Chemicals and Ingredients Distributor

11 Jan. 2012 9:32PM PT

FAX NO. : 0218934659

FROM: PT BRATACO

Lampiran 42. 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 FIV	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	sesuai	
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%	99,63%	

Kesimpulan : Memenuhi syarat			
Pemeriksa		Cikarang, 16-02-2012	
			
Putreni Analis		Penanggung Jawab	
HEAD OFFICE : J. Cideng Barat No. 78, Jakarta Pusat 10150, Telp. (021) 3522733 (Handing) Fax. : (021) 3522734, E-mail : brataco@brataco.com BRANCH OFFICE : <ul style="list-style-type: none"> • JAKARTA : J. Mangga Besar V No. 5, Jakarta 11180 Telp. (021) 6201113 (Dumiling 3 lines) Fax. (021) 6202430 • BANDUNG : J. Boulevard Raya Blok TB2 No. 5, Jakarta 14240 Telp. (021) 4584.6652-94 Fax. (021) 453.2615 • SEHARANG : J. Kelenjen No. 8, Bandung Telp. (022) 8077128, 8 030807, 8030808 Fax. (022) 8031879 • YOGYA : J. Terusan Jakarta No. 77G, Bandung Telp. (022) 7101277, 7210208 - 308 Fax. (022) 7210310 • SURABAYA : J. Palarangan Timur No. 4, Gemparang Telp. (034) 841-2360, 8448277 Fax. (034) 8414860 • MEDAN : J. Belayungkara No. 45, Yogyakarta Telp. (0274) 543349, 518390 Fax. (0274) 543348 • DENPASAR : J. Tidar No. 88, Surabaya Telp. (031) 5322887, 5322957 Fax. (031) 5310465 • TANGERANG : J. Iskandar Meutia No. 408, Medan Telp. (061) 414.8272, 452.3158 Fax. (061) 452.5986 • BOGOR : J. Galud Subroto Baras No. 336C Denpasar Telp. (0361) 7440973, 7801787 Fax. : (0361) 413388 • PALEMBANG : TANGERANG, BOGOR, CIKARANG, CAREBON, TASIKMALAYA, SOLO, PURWOKERTO, TEGAL, MALANG, SIDGARJO, KEDIRI, KUDUS, PEKANBARU, LAMPUNG 			
The Nationwide Chemical and Ingredient Distributor			

Lampiran 43. Sertifikat Analisis Metil Paraben

No. Asytrig Solo 7/2010

HASIL PEMERIKSAAN



PT. BRATACO

Nama Bahan : Metil Paraben (MParabn)
 No Batch : J 0096/10 (M.P. 103/08-09)
 Ex : India
 E.D : 10-2013
 Grade : farm

Jenis Pemeriksaan	Peraturan F.I.V	Hasil Pemeriksaan
Pemoran	Serbuk atau hablur kecil, tidak berwarna, Putih, tidak berbau atau berbau khas lemah, menyempit sedikit jika terbakar	Sesuai
Kelarutan	Sukar larut dalam air, benzene, mudah larut dalam etanol dan eter	Sesuai
Identifikasi	Dididihkan 10 mg dengan 10 ml air, dinginkan, tambahkan 0.05 ml larutan besi (III) klorida P; terjadi warna toga kemerahan	Positif
Keasaman	Panaskan 750 mg dalam 15 ml air pada suhu 80° C selama 1 menit, dinginkan dan saring; pada 10 ml filtrat, tambahkan 0.2 ml NaOH 0,1 N dan 2 tetes larutan metil I.P; larutan berwarna bening	Sesuai
Jumlah air	125° C - 126° C	127° C
Kadar	99.0% - 100.5%	99.6%
Kesimpulan : Memenuhi Syarat		
Pemeriksaan		
Revisi Pertama Atas		
Awalir		Apoteker SIK 3836/11

Cekung 25-01-2010
 Penanggung Jawab

 Dird. Industri

HEAD OFFICE
 BRANCH OFFICE

PT. BRATACO GEMILAKA
 Jl. Raya ...
 ...
 ...