



**OPTIMASI NILAI HLB KOMBINASI SURFAKTAN DAN
KONSENTRASI ISOPROPIL MIRISTAT PADA
MIKROEMULSI KAFEIN**

SKIRPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Pendidikan Strata Satu (S1) Fakultas Farmasi
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

BANNAN MUTHI'ATUL AF-IDAHA

122210101065

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2016

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, dengan menyebut nama Allah SWT Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, atas rahmat dan hidayah-Nya sehingga dapat terselesaikan skripsi yang merupakan bagian dari perjalanan hidup ini. Sholawat serta salam semoga tercurahkan pada junjungan Nabi Muhammad SAW yang telah membawa kita menuju jalan yang terang di muka bumi ini. Dengan segala ketulusan dan kerendahan hati, skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tua tercinta, Bapak Drs. Sidiq Heri Susanto dan Ibu Dra. Siti Nurhayati, M.Pd.I yang senantiasa berjuang tanpa kenal lelah untuk mengantarkan anaknya menuju kesuksesan
2. Ahrozu Junda Mudafi'ul Islam, Roihana Jannatil Firdaus, dan Tholhah Waratsa An-Na'im saudara-saudariku tercinta yang selalu memberikan semangat dan motivasi.
3. Ibu dan bapak guru semasa di SDIT Ar-Rahmah, SD Muhammadiyah 1 Jember, SMP Negeri 2 Jember, dan SMA Negeri 1 Jember yang telah banyak berjasa mendidik dan memberikan bekal ilmu yang berharga.
4. Bapak ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang selama empat tahun penuh kesabaran dan dedikasi memberikan bekal ilmu yang bermafaat.
5. Keluarga besar mahasiswa farmasi angkatan 2012 "Petrok Rolas", kawan seperjuangan dalam menggapai kesuksesan.
6. Keluarga besar Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah banyak memberikan pengalaman berharga.
7. Seluruh mahasiswa farmasi di seluruh wilayah Indonesia

MOTTO

هَلْ جَزَاءُ الْإِحْسَانِ إِلَّا الْإِحْسَانُ ﴿١٠١﴾

Tidak ada balasan kebaikan selain kebaikan (pula). QS Ar-Rahman: 60^{)}*

خَيْرُ النَّاسِ أَنْفَعُهُمْ لِلنَّاسِ

Sebaik-baik manusia adalah yang paling bermanfaat bagi manusia”

(HR. Ahmad)

مَنْ أَرَادَ الدُّنْيَا فَعَلَيْهِ بِالْعِلْمِ، وَمَنْ أَرَادَ الْآخِرَةَ فَعَلَيْهِ بِالْعِلْمِ،

وَمَنْ أَرَادَهُمَا فَعَلَيْهِ بِالْعِلْمِ

Barang siapa yang menghendaki kehidupan dunia maka wajib baginya memiliki ilmu, dan barang siapa yang menghendaki kehidupan akhirat, maka wajib baginya memiliki ilmu, dan barang siapa menghendaki keduanya maka wajib baginya memiliki ilmu

(HR. At-Tirmidzi)

^{*)}Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. Al-Qur'an dan Terjemahnya. Bandung: CV Penerbit J-ART.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Bannan Muthi'atul Af-idah

NIM : 122210101065

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: *Optimasi Nilai HLB Kombinasi Surfaktan dan Konsentrasi Isopropil Miristat pada Mikroemulsi Kafein* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak bena

Jember, Juni 2016
Yang menyatakan,

Bannan Muthi'atul Af-idah
NIM. 122210101065

SKRIPSI

**OPTIMASI NILAI HLB KOMBINASI SURFAKTAN DAN
KONSENTRASI ISOPROPIL MIRISTAT PADA
MIKROEMULSI KAFEIN**

Oleh

BANNAN MUTHI'ATUL AF-IDAHA

NIM 122210101065

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama (DPU) : Dwi Nurahmanto., S.Farm., M.Sc., Apt

Dosen Pembimbing Anggota (DPA) : Lidya Ameliana, S.Si., Apt., M.Farm

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Optimasi Nilai HLB Kombinasi Surfaktan dan Konsentrasi Isopropil Miristat pada Mikroemulsi Kafein*, telah diuji dan disahkan pada:

Hari, Tanggal : Selasa, Juni 2016

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

Dwi Nurahmanto., S.Farm., M.Sc., Apt
NIP 198401242008011001

Lidya Ameliana, S.Si., Apt., M.Farm
NIP 198004052005012005

Tim Penguji

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II

Eka Deddy Irawan, S.Si., M.Sc., Apt
NIP 197503092001121001

Indah Purnama Sary, S. Si., Apt., M.Farm
NIP 198304282008122004

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm
NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Optimasi Nilai HLB Kombinasi Surfaktan dan Konsentrasi Isopropil Miristat pada Mikroemulsi Kafein; Bannan Muthi'atul Af-idah, 122210101065; 2016: 100 halaman; Bagian Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Paparan radiasi sinar UV dapat mempercepat *photoaging* pada kulit dan memicu terbentuknya sel kanker melanoma (Herman & Herman, 2013). Radiasi UV B dapat menyebabkan mutagenesis pada DNA, mengubah sinyal transduksi intraseluler, dan memicu aktivitas faktor transkripsi untuk membentuk sel-sel kanker (Ma *et al.*, 2015).

Kafein merupakan senyawa golongan alkaloid bersifat antioksidan dan dapat mencegah terbentuknya sel kanker akibat radiasi sinar Ultraviolet B (UV B) dengan menginduksi apoptosis pada sel karotinosit yang rusak akibat radiasi sinar UV (Han *et al.*, 2011). Kafein banyak ditambahkan pada sediaan kosmetik, namun sifat hidrofilik yang terlalu tinggi ($\log P = -0.07$) sehingga sulit menembus stratum korneum yang bersifat lipofilik (Puglia *et al.*, 2014). Kafein harus diformulasi untuk meningkatkan kemampuan penetrasi menembus kulit menjadi lebih baik.

Sistem penghantaran obat secara topikal dapat meningkatkan efektivitas terapi, bioavailabilitas obat, dan mencegah efek samping saat pemberian oral (Shakeel *et al.*, 2008). Mikroemulsi merupakan salah satu sistem penghantaran obat yang berpotensi untuk meningkatkan penetrasi obat dalam menembus epidermis kulit (Fanun, 2009) dengan ukuran partikel kecil yaitu sekitar 10–140 nm (Muzaffar *et al.*, 2013). Mikroemulsi merupakan sediaan yang stabil secara termodinamika dengan sistem pembawa obat koloidal yang tersusun atas fase minyak, fase air, dan surfaktan atau kosurfaktan (Schwarz *et al.*, 2012).

Surfaktan merupakan komponen penting mikroemulsi, sehingga jenis, komposisi, dan nilai HLB surfaktan yang digunakan mempengaruhi karakteristik dan stabilitas mikroemulsi yang terbentuk (Agrawal *et al.*, 2012). Usaha untuk meningkatkan kemampuan penetrasi sediaan mikroemulsi dilakukan dengan menambahkan *Chemical Penetration Enhancer (CPE)*. Isopropil Miristat (IPM) merupakan salah satu jenis CPE golongan ester asam lemak yang memenuhi persyaratan keamanan dan memiliki efektivitas yang baik (Schroeter *et al.*, 2015).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh nilai HLB kombinasi surfaktan dan konsentrasi IPM terhadap stabilitas dan kemampuan penetrasi mikroemulsi kafein. Stabilitas mikroemulsi secara kuantitatif diukur melalui nilai

pergeseran viskositas dan pH sebelum dan sesudah uji stabilitas, sedangkan kemampuan penetrasi sediaan dapat dilihat dari nilai fluks penetrasi. Penelitian ini menggunakan metode desain faktorial dengan dua faktor yaitu nilai HLB campuran surfaktan (tween 80 dan span 80) dan konsentrasi IPM. Respon yang akan diamati adalah nilai pergeseran viskositas, pergeseran pH, dan nilai fluks. Formula optimum mikroemulsi kafein didapatkan dengan analisis faktor dan respon menggunakan aplikasi *Design Expert 9.0*.

Penelitian ini akan dilakukan dengan tahapan sebagai berikut: (1) penentuan formula mikroemulsi kafein, (2) pembuatan mikroemulsi kafein, (3) uji stabilitas dan uji penetrasi mikroemulsi kafein, (4) penentuan formula optimum dengan menggunakan aplikasi *Design Expert 9.0*, (5) pembuatan formula mikroemulsi optimum, (6) uji karakteristik formula optimum mikroemulsi kafein meliputi: pH, viskositas, analisis fase, bobot jenis, morfologi partikel, ukuran partikel, distribusi partikel, dan zeta potensial.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan, faktor nilai HLB kombinasi memberikan pengaruh yang signifikan terhadap stabilitas dan kemampuan penetrasi. Nilai HLB yang semakin tinggi akan menurunkan nilai pergeseran pH, viskositas, dan nilai fluks penetrasi mikroemulsi. Faktor konsentrasi IPM memberikan pengaruh yang signifikan pada kemampuan penetrasi. Konsentrasi IPM yang semakin tinggi menurunkan nilai pergeseran viskositas dan pH, serta meningkatkan fluks penetrasi. Interaksi antara kedua faktor dapat meningkatkan pergeseran viskositas, namun dapat menurunkan pergeseran pH dan nilai fluks obat.

Analisis menggunakan aplikasi *Design Expert 9.0* menghasilkan formula optimum mikroemulsi kafein yang memiliki nilai HLB kombinasi surfaktan 14,22 dan konsentrasi IPM 10%. Komposisi formula optimum terdiri dari 1% kafein, 10% benzil alkohol, 32,45% tween 80, 2,55 % span 80, dan 44% akuades. Karakteristik formula optimum mikroemulsi kafein yang dihasilkan adalah tipe mikroemulsi minyak dalam air (M/A), pH 5,84, bobot jenis 1,030 g/ml, dan viskositas 1,07 dPas. Karakteristik fisik mikroemulsi kafein memiliki *droplet* berbentuk sferis, ukuran partikel rata-rata 43 nm, bersifat monodispersi dengan indeks polidispersi sebesar 0,572, dan nilai zeta potensial $-0,2$ mV.

PRAKATA

Alhamdulillah, segala puji ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “*Optimasi Nilai HLB Kombinasi Surfaktan dan Konsentrasi Isopropil Miristat pada Mikroemulsi Kafein*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ibu Dra. Siti Nurhayati, M.Pd.I dan Bapak Drs. Sidiq Heri Susanto yang senantiasa memberikan doa, dukungan, bimbingan, dan kasih sayang tiada henti, serta pengorbanan yang telah diberikan selama ini untuk mengantarkan ananda menuju kesuksesan;
2. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt dan Dosen Pembimbing Akademik Ibu Siti Muslichah, S. Si., M. Sc., Apt. terima kasih atas bimbingannya;
3. Bapak Dwi Nurahmanto., S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatiannya dalam membantu penulisan tugas akhir ini;
4. Ibu Lidya Ameliana, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah banyak membantu penulisan tugas akhir ini;
5. Bapak Eka Deddy Irawan, S.Si., M.Sc., Apt dan Ibu Indah Purnama Sary S.Si., Apt., M.Farm. selaku dosen penguji yang banyak memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penulisan tugas akhir ini;
6. Ahrozu Junda Mudafi'ul Islam, Roihana Jannatil Firdaus, dan Tholhah Waratsa An-Na'im saudara-saudariku tercinta yang senantiasa memberikan semangat dan motivasi;
7. Bapak ibu guru semasa menuntut ilmu di TK ABA 1, SDIT Ar-Rohmah Lumajang, SD Muhammadiyah 1 Jember, SMP Negeri 2 Jember, dan SMA Negeri 1 Jember atas segala bekal ilmu yang telah diberikan;
8. Ibu bapak dosen di Fakutas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan banyak sekali ilmu yang bermanfaat.
9. Rekan satu tim penelitian Dessy Dwi Risky Ayuningtias, terimakasih atas segala bantuan dalam penyelesaian tugas akhir ini;

10. Saudara-saudariku di Garuda Keadilan, terimakasih atas setiap doa kalian yang membuat langkahku menjadi lebih mudah dalam menggapai kesuksesan;
11. Seluruh keluarga besar Petrok Rolas (Farmasi angkatan 2012) yang banyak memberikan dukungan dan motivasi selama berjuang di Fakultas Farmasi selama empat tahun;
12. Seluruh keluarga besar BEM Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan banyak pelajaran dan pengalaman berharga dan bermanfaat.
13. Seluruh keluarga besar UKKI Asy-Syifa' yang senantiasa memberikan motivasi dan dukungan.
14. Seluruh rekan kerja dalam penelitian di Laboratorium Farmasetika, Mia, Galuh, Lisa, Chici, Umam, Uswah, Herlita, Sendy, Novia, Amel, Ninda, Aik, Rani, Ifa, Ria, Fitria, Zarin, Ulya, dan lainnya, terimakasih atas bantuan yang diberikan untuk penyelesaian tugas akhir ini;
15. Sahabat-sahabat terbaikku yang tak dapat kusebutkan satu-persatu, terimakasih untuk setiap senyum semangat kalian;
16. Ibu Itus dan Mbak Titin yang telah banyak membantu selama proses penelitian;
17. Fakultas MIPA, UGM dan Fakultas farmasi, UII yang telah membantu penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini;
18. Dan semua pihak yang tak dapat saya sebutkan satu-persatu yang memberikan dukungan dalam menyelesaikan tugas akhir ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat secara luas.

Jember, Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Kulit	6
2.1.1 Fungsi Kulit	6
2.1.2 Struktur Kulit.....	7
2.2 Sistem Penghantaran Topikal	8
2.3 Mikroemulsi	10
2.3.1 Mikroemulsi.....	10
2.3.2 Komponen Mikroemulsi	13
2.3.3 Karakteristik Mikroemulsi.....	15
2.4 Surfaktan.....	18
2.4.1 Mekanisme Kerja Surfaktan	18

2.4.2	Jenis-Jenis Surfaktan	18
2.4.3	<i>Hidrophile Liphophile Balance (HLB)</i>	19
2.5	<i>Chemical Penetration Enhancer (CPE)</i>	20
2.6	Tinjauan Kafein	22
2.6.1	Sifat Fisika Kimia	22
2.6.2	Kemampuan Penetrasi Kafein	23
2.6.3	Aktivitas Farmakologi Kafein	23
2.7	Tinjauan Bahan Tambahan	25
2.7.1	Benzil Alkohol.....	25
2.7.2	Tween 80 (Polisorbat 80).....	25
2.7.3	Span 80 (Sorbitan Monooleat 80).....	26
2.7.4	Isopropil Miristat (IPM)	27
2.8	Metode Desain Faktorial	27
BAB 3.	METODE PENELITIAN	30
3.1	Jenis Penelitian	30
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	30
3.3	Rancangan Penelitian	30
3.4	Alat dan Bahan Penelitian	31
3.4.1	Alat	31
3.4.2	Bahan Penelitian	31
3.5	Prosedur Penelitian	31
3.5.1	Rancangan Desain Faktorial	31
3.5.2	Formula Mikroemulsi dan Emulsi Kafein	32
3.5.3	Preparasi Mikroemulsi Kafein	33
3.5.4	Evaluasi Formula Mikroemulsi Kafein	34
3.5.5	Penentuan Formula Optimum	38
3.5.6	Evaluasi Formula Optimum Mikroemulsi Kafein	39
BAB 4.	PEMBAHASAN	43
4.1	Hasil Pembuatan Mikroemulsi Kafein	43
4.1.1	Formulasi Mikroemulsi Kafein.....	43
4.1.2	Pembuatan Mikroemulsi Kafein	45
4.2	Penetapan Kadar Kafein dalam Mikroemulsi	47

4.2.1	Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	47
4.2.2	Uji Pengaruh Basis Mikroemulsi Kafein	48
4.2.3	Pembuatan Kurva Baku Kafein dalam Etanol 96%	48
4.2.4	Penetapan Kadar Kafein dalam Mikroemulsi	50
4.3	Uji Stabilitas Mikroemulsi Kafein	51
4.4	Uji Penetrasi Mikroemulsi Kafein	53
4.4.1	Pembuatan Kurva Baku Dapar Fosfat Salin pH 7,4±0,05	53
4.4.2	Hasil Pengujian Penetrasi Mikroemulsi Kafein	55
4.5	Optimasi Formula dengan <i>Design Expert 9.0</i>	57
4.5.1	Hasil Analisis <i>Design Expert 9.0</i>	59
4.5.2	Rekomendasi Formula Optimum	64
4.6	Karakteristik Formula Optimum Mikroemulsi Kafein	66
4.6.1	Pengujian Organoleptis dan Fisik Mikroemulsi Kafein	66
4.6.2	Penetapan Kadar Kafein dalam Mikroemulsi	68
4.6.3	Karakterisasi Mikroemulsi Kafein	69
BAB 5. PENUTUP		73
5.1	Kesimpulan	73
5.2	Saran	74
DAFTAR PUSTAKA		75
LAMPIRAN		83

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Perbedaan Karakteristik Emulsi dan Mikroemulsi	12
Tabel 2.2. Contoh Surfaktan Nonionik dan Nilai HLB.....	19
Tabel 2.3. Rentang Nilai HLB dan Jenis Emulsi yang Terbentuk	20
Tabel 3.1. Rancangan Formula Desain Faktorial	31
Tabel 3.2. Level Rendah dan Tinggi Respon Desain Faktorial	32
Tabel 3.3. Formula Mikroemulsi Kafein	33
Tabel 4.1. Profil Organoleptis Mikroemulsi Kafein.....	46
Tabel 4.2. Hasil Serapan Larutan Standar Kafein dalam Etanol 96%	49
Tabel 4.3. Hasil Penetapan Kadar Kafein dalam Sediaan Mikroemulsi	51
Tabel 4.4. Absorbansi Standar Kafein Dapar Fosfat Salin pH7,4±0,05	54
Tabel 4.5. Nilai Fluks Sediaan Mikroemulsi Kafein Hasil Uji Penetrasi	56
Tabel 4.6. Hasil Pengujian Pengaruh Faktor Terhadap Respon	58
Tabel 4.7. Hasil Perhitungan Nilai Efek Faktor Terhadap Respon.....	58
Tabel 4.8. Formula Optimum Mikroemulsi Kafein	66
Tabel 4.9. Profil Fisika Kimia Mikroemulsi Kafein (Formula Optimum)	68
Tabel 4.10. Penetapan Kadar Kafein (Formula Optimum).....	69

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Struktur Lapisan Kulit Manusia	8
Gambar 2.2. Skema Komponen Mikroemulsi	13
Gambar 2.3. Struktur Kimia Kafein	23
Gambar 2.4. Struktur Kimia Benzil Alkohol	25
Gambar 2.5. Struktur Kimia Tween 80/ Polysorbat 80	26
Gambar 2.6. Struktur Kimia Span 80/ Sorbitan Monooleat 80	26
Gambar 2.7. Struktur Kimia Senyawa Isopropil Miristat (IPM)	27
Gambar 3.1. Skema Tahapan Penelitian Mikroemulsi Kafein	33
Gambar 3.2. Susunan <i>Franz Diffusion Cell</i>	38
Gambar 4.1. Hasil Pembuatan Empat Formula Mikroemulsi Kafein	46
Gambar 4.2. Grafik Absorbansi Kafein $\lambda = 200-400$ nm	47
Gambar 4.3. Grafik Absorbansi Mikroemulsi Pada $\lambda = 273$ nm	48
Gambar 4.4. Hasil Uji Linieritas Standar Kafein Dalam Etanol 96%	50
Gambar 4.5. Organoleptis Mikroemulsi Kafein Uji Stabilitas	52
Gambar 4.6. Histogram Pergeseran Viskositas Sediaan Mikroemulsi Kafein	52
Gambar 4.7. Histogram Pergeseran pH Sediaan Mikroemulsi Kafein	53
Gambar 4.8. Uji Linieritas Baku Kafein Dapar Fosfat Salin pH $7,4 \pm 0,05$	55
Gambar 4.9. Kurva Hasil Uji Penetrasi Mikroemulsi Kafein	56
Gambar 4.10. <i>Contour Plot</i> Pergeseran Viskositas.....	60
Gambar 4.11. <i>Contour Plot</i> Pergeseran pH.....	62
Gambar 4.12. <i>Contour Plot</i> Fluks Penetrasi.....	63
Gambar 4.13. Overlay Formula Optimum <i>Design Expert 9.0</i>	65
Gambar 4.14. Organoleptis Mikroemulsi Kafein (Formula Optimum)	66
Gambar 4.15. Hasil Analisis Fase Mikroemulsi Kafein	67
Gambar 4.13. Analisa Morfologi Mikroemulsi Kafein	70

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Pembuatan Kurva Baku.....	83
Lampiran B. Hasil Linieritas Kurva Baku	86
Lampiran C. Hasil Penetapan Kadar Mikroemulsi Kafein	87
Lampiran D. Data Penatrasi Empat Formula Miroemulsi	87
Lampiran E. Hasil Uji Stabilitas	101
Lampiran F. ANOVA Respon Pergeseran Viskositas (Design Expert 9.0)	102
Lampiran G. ANOVA Respon Pergeseran pH (Design Expert 9.0)	105
Lampiran H. ANOVA Respon Fluks (Design Expert 9.0)	108
Lampiran I. Hasil Perhitungan Efek dan Interaksinya	110
Lampiran J. Hasil Analisis Design Expert 9.0.....	111
Lampiran K. Hasil Penetapan Kadar Kafein (Formula Optimum)	114
Lampiran L. Hasil Pengukuran Bobot Jenis (Formula Optimum)	114
Lampiran M. Profil Fisika Kimia (Formula Optimum)	116
Lampiran N. Hasil Karakteristik Mikroemulsi Kafein	116

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Fenomena pemanasan global atau *global warming* menyebabkan terjadinya penipisan lapisan ozon di atmosfer yang berfungsi melindungi bumi dari paparan radiasi sinar Ultraviolet (UV) matahari (*National Academy of Sciences*, 2015). Penipisan ozon berakibat pada kenaikan intensitas paparan radiasi sinar UV dipermukaan bumi yang dapat menyebabkan gangguan pada kesehatan kulit seperti bintik merah, kulit terbakar, memicu tumor pada sel-sel kulit, hingga kanker kulit. Salah satu faktor yang dapat memicu terbentuknya sel-sel kanker pada kulit adalah paparan radiasi sinar UV B (*World Health Organization*, 2006). Paparan radiasi sinar UV dapat mempercepat *photoaging* pada kulit dengan menghambat pembentukan prokolagen, menurunkan elastisitas kulit, memicu terbentuknya bintik kemerahan, warna kulit tidak merata, hingga memicu terbentuknya sel kanker (Herman & Herman, 2013). Radiasi UV B menyebabkan mutagenesis pada DNA, mengubah sinyal transduksi intraseluler, dan memicu aktivitas faktor transkripsi untuk membentuk sel-sel kanker (Ma *et al.*, 2015). Radiasi sinar UV meningkatkan pembentukan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan pada sel (Herman & Herman, 2013).

Kasus kanker kulit setiap tahun senantiasa mengalami kenaikan, berdasarkan data Institut Kanker Nasional Amerika Serikat terdapat 67,753 pasien didiagnosis sel melanoma (*U.S. Cancer Statistics Working Group*, 2015). Di Jakarta, pada tahun 2000-2009, Poliklinik Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin (IKKK) Rumah Sakit dr Cipto Mangunkusumo (RSCM) melaporkan 261 kasus KSB, diikuti dengan 69 KSS, dan 22 melanoma.

Kafein merupakan salah satu senyawa golongan alkaloid yang terdapat pada daun teh, kopi dan biji coklat (Sintov & Greenberg, 2014). Berdasarkan berbagai penelitian yang telah dilakukan, kafein memiliki berbagai manfaat untuk kesehatan

kulit diantaranya adalah sebagai antiselulit, antioksidan, mencegah kanker kulit, dan melindungi kulit dari radiasi sinar UV B cahaya matahari (Herman & Herman, 2013). Kafein terbukti memiliki efek induksi apoptosis pada sel karotinosit yang rusak akibat radiasi sinar UV sehingga dapat mencegah terbentuknya sel kanker pada epidermis kulit tikus (Han *et al.*, 2011). Miura *et al.* (2013) telah melakukan penelitian selama 10 tahun (1997-2007), menunjukkan dengan mengkonsumsi kafein secara rutin dapat mengurangi resiko terbentuknya *Basal Cell Carcinoma (BCC)*. Kafein memiliki efek pada jalur ATR–Chk1 (*Ataxia-Telangiectasia and Rad3-related – Checkpointkinase 1*) yang dapat mencegah kerusakan sel akibat radiasi UV (Heffernan *et al.*, 2009).

Kafein telah banyak dipakai sebagai bahan aktif pada sediaan kosmetik ataupun obat topikal untuk mencegah kanker dan menjaga kesehatan kulit karena kafein memiliki banyak aktivitas farmakologi yang bermanfaat (Herman & Herman, 2013), namun sifat hidrofilik kafein yang terlalu tinggi ($\log P = -0.07$) menyebabkan keterbatasan penetrasimenembus *barier* stratum korneum yang bersifat lipofilik (Puglia *et al.*, 2014). Pengembangan formula sediaan yang mengandung kafein perlu dilakukan untuk meningkatkan lipofilitas kafein sehingga memiliki kemampuan penetrasi menembus kulit yang lebih baik.

Sistem penghantaran obat secara topikal dikembangkan untuk meningkatkan efektivitas terapi, bioavailabilitas obat, dan mencegah terjadinya efek samping yang dapat muncul saat pemberian secara oral terutama untuk mendapatkan efek terapi lokal (Shakeel *et al.*, 2008). Salah satu jenis sediaan topikal yang saat ini banyak dikembangkan adalah mikroemulsi. Mikroemulsi merupakan salah satu sistem penghantaran obat yang berpotensi untuk meningkatkan penetrasi obat dalam menembus lapisan epidermis kulit (Fanun, 2009). Sediaan mikroemulsi memiliki ukuran partikel yang lebih kecil dari pada sediaan emulsi, yaitu berdiameter sekitar 10 – 140 nm (Muzaffar *et al.*, 2013). Mikroemulsi merupakan sediaan yang stabil secara termodinamika dengan sistem pembawa obat koloidal yang tersusun atas fase minyak, fase air, dan surfaktan atau kosurfaktan (Schwarz *et al.*, 2012).

Surfaktan merupakan senyawa yang dapat bersifat amfifilik karena memiliki gugus kepala bersifat hidrofilik dan ekor lipofilik. Surfaktan dapat menurunkan

tegangan permukaan antara fase minyak dan fase air, sehingga keduanya dapat bercampur sempurna (Muzaffar *et al.*, 2013). Surfaktan merupakan komponen penting mikroemulsi sehingga jenis dan komposisi surfaktan yang digunakan dalam formulasi mikroemulsi akan sangat berpengaruh terhadap karakteristik dan stabilitas mikroemulsi yang akan terbentuk (Agrawal *et al.*, 2012). Nilai *Hydrophile Lipophile Balance* (HLB) yang menunjukkan kekuatan sifat hidrofilik dan lipofilik dari surfaktan. Penelitian yang dilakukan oleh Chen *et al.* (2012) menunjukkan bahwa jenis, konsentrasi, dan nilai HLB surfaktan memberikan pengaruh terhadap karakteristik fisika kimia dan kemampuan penetrasi mikroemulsi. Nilai HLB dapat memberikan pengaruh yang signifikan pada stabilitas dan karakteristik mikroemulsi karena mempengaruhi sifat hidrofilik dan lipofilik dari sediaan (Chemmunique, 1980).

Penggunaan surfaktan tunggal pada umumnya kurang efektif dalam membentuk fase spontan mikroemulsi, sehingga perlu digunakan kombinasi surfaktan yang dapat membentuk mikroemulsi secara optimal dan meningkatkan stabilitas mikroemulsi (Djekic *et al.*, 2011). Campuran surfaktan tween 80 dan span 80 merupakan kombinasi surfaktan nonionik yang banyak digunakan untuk formulasi mikroemulsi. Surfaktan tween 80 bersifat hidrofilik dengan nilai HLB 15 sedangkan span 80 bersifat lipofilik dengan nilai HLB 4.3 (Wu *et al.*, 2010). Silvia *et al.* (2013) membuktikan tween 80 memiliki kapasitas melarutkan yang paling tinggi dari pada tween 20 atau tween 85. Surfaktan nonionik bersifat tidak toksik dan tidak mengiritasi kulit sehingga aman digunakan dalam formulasi sediaan topikal (Djekic *et al.*, 2011).

Obat yang diberikan secara topikal harus mampu berpenetrasi menembus *barier* kulit yaitu lapisan stratum korneum. Usaha untuk meningkatkan kemampuan penetrasi sediaan mikroemulsi juga perlu dilakukan, salah satunya dengan cara menambahkan *Chemical Penetration Enhancer* (CPE). CPE yang dapat digunakan adalah golongan air, hidrokarbon, azon, alkohol, asam lemak, terpen, turunan imidazol, atau ester (Ahad *et al.*, 2009). Isopropil Miristat (IPM) merupakan salah satu jenis CPE golongan ester asam lemak yang memenuhi persyaratan keamanan dan banyak digunakan karena memiliki efektivitas yang baik (Schroeter *et al.*,

2015). IPM dapat berintegrasi dengan lapisan lipid bilayer dari membran bilayer stratum korneum sehingga susunannya menjadi renggang dan memudahkan obat untuk berpenetrasi (Dragicevic *et al.*, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Patel *et al.* (2014) membuktikan bahwa IPM dalam formula sediaan transdermal mikroemulsi Sodium Heparin memiliki kemampuan meningkatkan penetrasi yang baik pada konsentrasi 10%.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh nilai HLB kombinasi surfaktan dan konsentrasi IPM terhadap stabilitas dan kemampuan penetrasi mikroemulsi kafein. Stabilitas mikroemulsi secara kuantitatif diukur melalui nilai pergeseran viskositas dan pH sebelum dan sesudah uji stabilitas, sedangkan kemampuan penetrasi sediaan dapat dilihat dari nilai fluks. Penelitian ini menggunakan metode desain faktorial dengan dua faktor (nilai HLB campuran surfaktan dan konsentrasi IPM) dan dua level (tinggi dan rendah). Respon yang akan diamati adalah nilai pergeseran viskositas, pergeseran pH, dan nilai fluks. Formula optimum mikroemulsi kafein didapatkan dengan analisis faktor dan respon menggunakan aplikasi *Design Expert 9.0*. Sediaan mikroemulsi kafein formula optimum selanjutnya dievaluasi dan diuji karakteristik mikroemulsi, meliputi pengujian secara organoleptis, pH, viskositas, uji bobot jenis, morfologi, ukuran partikel, dan nilai zeta potensial.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang di atas, dapat dirumuskan pertanyaan sebagai berikut:

- a. Bagaimanakah pengaruh faktor nilai HLB kombinasi surfaktan dan konsentrasi IPM terhadap respon pergeseran viskositas, pergeseran pH, dan nilai fluks?
- b. Bagaimanakah komposisi formula optimum mikroemulsi kafein yang memiliki stabilitas terbaik dan kemampuan penetrasi terbesar?
- c. Bagaimanakah karakteristik mikroemulsi yang dihasilkan dari formula optimum mikroemulsi kafein?

1.3 Tujuan

Berdasarkan uraian di atas, tujuan penelitian ini dilakukan adalah sebagai berikut:

- a. Untuk mengetahui pengaruh faktor nilai HLB kombinasi surfaktan dan konsentrasi IPM terhadap respon pergeseran viskositas, pergeseran pH, dan nilai fluks.
- b. Untuk mengetahui komposisi formula optimum mikroemulsi kafein yang memiliki stabilitas terbaik dan kemampuan penetrasi terbesar
- c. Untuk mengetahui karakteristik karakteristik mikroemulsi yang dihasilkan dari formula optimum mikroemulsi kafein

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dapat memberikan berbagai manfaat diantaranya adalah dapat mengetahui pengaruh besaran nilai HLB kombinasi surfaktan dan konsentrasi IPM yang digunakan pada formulasi terhadap pergeseran viskositas, pergeseran pH, dan nilai fluks. Penelitian ini dapat mengetahui formula optimum sediaan mikroemulsi kafein yang memiliki stabilitas terbaik (pergeseran nilai viskositas dan pH yang terkecil) dan kemampuan penetrasi terbesar (nilai fluks terbesar), serta mengetahui karakteristik mikroemulsi kafein yang dihasilkan dari formula optimum, meliputi organoleptis, pH, viskositas, uji bobot jenis, morfologi, ukuran partikel, dan nilai zeta potensial.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit

2.1.1 Fungsi Kulit

Kulit merupakan organ terbesar tubuh manusia yang memberikan sekitar 15% berat badan pada orang dewasa. Kulit memiliki banyak fungsi vital bagi manusia, berikut ini merupakan fungsi utama kulit:

a. Pelindung atau Proteksi

Kulit dapat mengatur dan menyesuaikan suhu tubuh, menahan luka-luka kecil, mencegah zat kimia dan bakteri masuk ke dalam tubuh serta melindungi dari radiasi sinar ultraviolet matahari (Kinantakis, 2002).

b. Penerima Rangsang

Kulit sangat peka terhadap berbagai rangsang sensorik yang berhubungan dengan sakit, suhu panas atau dingin, tekanan, rabaan, dan getaran.

c. Organ Absorpsi

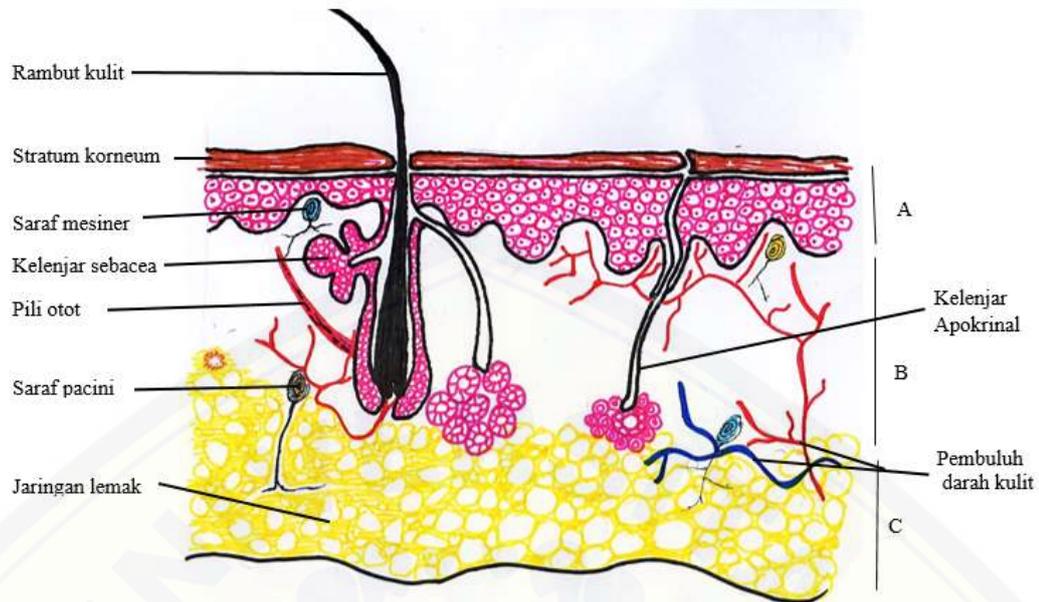
Kulit dapat mengabsorpsi senyawa-senyawa seperti oksigen, nitrogen, maupun senyawa obat yang diaplikasikan pada kulit. Terdapat tiga jalur absorpsi obat masuk melalui kulit yaitu transeuler, intraseluler, dan transepindageal.

d. Organ Metabolisme

Kulit merupakan salah satu organ yang berperan dalam metabolisme sebagai organ ekskresi. Kulit melalui kelenjar keringat mengeluarkan cairan yaitu keringat dengan membawa garam, iodium dan zat kimia lainnya yang tidak dibutuhkan lagi oleh tubuh (Tranggono & Latifah, 2007).

2.1.2 Struktur Kulit

Kulit tersusun atas tiga lapisan yaitu lapisan epidermis, dermis, dan jaringan subkutan. Pada lapisan epidermis yang merupakan lapisan terluar kulit terdapat dua sel penyusun utama yaitu sel keratinosit dan sel dendritik. Sel keratinosit menyusun 80% epidermis berfungsi untuk mensintesis keratin sebuah protein yang digunakan untuk perlindungan tubuh. Sel keratinosit akan bermigrasi dari lapisan basal menuju permukaan kulit yang disebut proses keratinisasi yang membutuhkan waktu sekitar 14 hari. Epidermis kulit dibagi menjadi 4 lapisan; lapisan basal (*stratum germinativum*), lapisan sel squamosa (*stratum spinosum*), lapisan sel granular (*stratum granulosum*), dan lapisan sel yang tersusun rapi dan kompak *stratum korneum* (James *et al.*, 2006). Lapisan basal sel memiliki sel-sel yang masih aktif dalam pembelahan. Kerusakan DNA sel yang disebabkan oleh agen karsinogenesis dapat mempengaruhi proses proliferasi dan pembelahan sel-sel kulit yang memicu terbentuknya tumor atau kanker pada kulit. Lapisan *stratum spinosum* terdiri atas 5-10 sel yang memiliki bentuk, ukuran dan susunan yang berbeda tergantung pada letak lapisan sel (Chu, 2008). Lapisan *stratum granulosum* memiliki sel yang mengandung keratohialin di dalam sitoplasmanya. Sel tersebut berperan dalam sintesis dan modifikasi protein pada proses keratinisasi. Granul keratohialin memiliki ukuran dan bentuk yang tidak teratur. Enzim lisosomal terdapat di lapisan *stratum granulosum* dalam jumlah banyak karena lapisan ini merupakan zona keratogenis pada epidermis. Lapisan korneosit pada *stratum korneum* berperan sebagai fungsi perlindungan pada kulit karena terdapat lapisan kedap air yang mencegah terjadinya penguapan air yang berlebihan (Jackson *et al.*, 1993). Sel korneosit akan kehilangan inti selnya dan berubah menjadi sel mati berbentuk lapisan tipis polihedral. Struktur lapisan kulit ditunjukkan pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Struktur lapisan kulit manusia (Sumber: James *et al.*, 2006).
Keterangan: A. Lapisan epidermis, B. Lapisan dermis, dan
C. Lapisan subkutan

Ketebalan dan konsistensi kulit dijaga oleh mekanisme apoptosis sel, yaitu kemampuan untuk membunuh secara terprogram sel-sel yang telah rusak dan tidak dapat berfungsi dengan baik. Pada kulit proses apoptosis sangat penting untuk *remodeling*, pengaturan jumlah sel, dan perlindungan terhadap mutasi, infeksi virus, dan bahaya lain yang mengancam sel-sel kulit. deferensiasi terminal merupakan jenis apoptosis yang merubah sel keratinosit menjadi sel korneosit yang menyusun lapisan stratum korneum sebagai lapisan pelindung (Haake & Hollbrook, 1999).

2.2 Sistem Penghantaran Topikal

Penghantaran obat secara topikal adalah pemberian obat melalui kulit. Obat yang dapat diberikan melalui kulit dapat berbentuk cair atau semipadat seperti emulsi, larutan, *lotion*, krim, gel, salep, ataupun *patch*. Administrasi obat melalui kulit menjadi salah satu sistem penghantaran obat potensial yang saat ini banyak dikembangkan. Terdapat beberapa keuntungan apabila obat diberikan secara

topikal yaitu mencegah pengaruh obat karena proses pengosongan lambung, pH, dan enzim pada saluran pencernaan; mencegah obat mengalami *first hepatic metabolism*; dapat memberikan efek lokal maupun sistemik; serta obat lebih mudah digunakan oleh pasien. Penghantaran obat topikal juga memiliki beberapa keterbatasan, diantaranya adalah jumlah obat yang dapat diabsorpsi melalui kulit dipengaruhi oleh keadaan pasien meliputi umur, penyakit, luas permukaan kulit tempat absorpsi; beberapa obat mengalami *first skin metabolism*; terjadinya iritasi dan toksisitas pada kulit; dosis obat yang dapat masuk kecil bergantung pada sifat fisika kimia bahan aktif (Muzaffar *et al.*, 2013).

Obat-obat yang dapat diformulasikan menjadi obat topikal atau transdermal harus memenuhi syarat *Lipinski's Rule of Five* agar dapat terabsorpsi melalui kulit, yakni obat harus memiliki ukuran molekul yang kecil dengan berat molekul kurang dari 500 dalton, memiliki titik leleh rendah, memiliki jumlah ikatan hidrogen donor <5 dan hidrogen aseptor <10, dan memiliki koefisien partisi oktanol/air (Log P) <5 (Van *et al.*, 2011). Obat yang diaplikasikan pada kulit harus dapat menembus *barier* kulit agar dapat memberikan efek terapi baik secara lokal maupun sistemik. Obat topikal dapat masuk menembus kulit melalui tiga jalur, yaitu:

a. Transeluler

Penetrasi obat melalui jalur ini melewati sel-sel kulit dengan langsung menembus lapisan membran bilayer. Penetrasi pada jalur ini hanya terjadi dalam jumlah yang sangat kecil, hal ini dipengaruhi oleh sel tanduk yang sulit ditembus (Walters & Kenneth, 2002).

b. Intraseluler

Jalur penetrasi obat menembus *barier* kulit stratum korneum melalui celah-celah antar sel. Kemampuan penetrasi obat pada jalur ini dapat ditingkatkan menggunakan *penetration enhancer* secara kimia maupun fisik yang dapat mempengaruhi susunan korneosit pada lapisan epidermis kulit (Walters & Kenneth, 2002).

c. Transepindageal

Penetrasi obat melalui kelenjar-kelenjar yang terdapat pada kulit, contohnya kelenjar sebacea, folikel rambut, atau kelenjar keringat. Jalur transepindageal memiliki keterbatasan karena ukuran permukaan yang kecil sehingga absorpsi melalui jalur ini tidak dapat maksimal (Walters & Kenneth, 2002).

2.3 Mikroemulsi

2.3.1 Mikroemulsi

Mikroemulsi merupakan campuran dua fase air dan minyak yang disatukan dengan surfaktan dan kosurfaktan membentuk campuran homogen yang transparan. Penggunaan surfaktan dan kosurfaktan pada mikroemulsi menyebabkan tegangan permukaan menjadi sangat rendah sehingga menghasilkan fase spontan dengan ukuran droplet sekitar 10-140 nm (Fanun, 2012).

Mikroemulsi merupakan teknologi yang banyak diterapkan pada industri farmasi sebagai salah satu sistem penghantaran obat transdermal dan diformulasi untuk sediaan topikal atau sediaan luar. Mikroemulsi memiliki potensi untuk meningkatkan penetrasi obat menembus membran difusi, memiliki penampilan yang baik, dan dapat meningkatkan kelarutan bahan aktif (Basheer *et al.*, 2013).

Mikroemulsi saat ini banyak digunakan untuk formulasi sediaan kosmetik untuk meningkatkan efisiensi produk, stabilitas, penampilan, dan meminimalisir terjadinya iritasi pada kulit. Mikroemulsi digunakan untuk formulasi berbagai jenis produk kosmetik seperti pelembap dan penghalus kulit, tabir surya, antiprespiran, pembersih badan, kondisioner rambut, dan parfum (Grampurohit *et al.*, 2011).

Mikroemulsi sebagai sistem penghantaran obat transdermal memiliki berbagai keuntungan diantaranya adalah stabil secara termodinamik; memiliki penampilan yang lebih baik, jernih, dan transparan; ukuran droplet partikel mikroemulsi lebih kecil; mudah dipreparasi, tidak membutuhkan energi input yang besar; biaya yang dibutuhkan untuk pembuatan mikroemulsi murah, tidak membutuhkan peralatan khusus; dapat digunakan untuk formulasi obat yang bersifat hidrofilik maupun lipofilik; meningkatkan penetrasi obat; dan dapat

meningkatkan *drug loading* karena lapisan permukaan ampifilik dapat digunakan sebagai daerah yang meningkatkan kelarutan obat jika digabungkan dengan vesikel struktur minyak atau air (Lopes, 2014). Namun formulasi mikroemulsi memiliki beberapa kekurangan diantaranya adalah membutuhkan lebih banyak konsentrasi surfaktan/ kosurfaktan untuk menstabilkan dispersi droplet; sistem ini memiliki keterbatasan untuk melarutkan bahan yang memiliki titik lebur yang tinggi; surfaktan yang digunakan dalam formulasi harus aman, tidak toksik, menimbulkan iritasi; dan stabilitas mikroemulsi dipengaruhi oleh keadaan lingkungan, temperatur dan pH (Muzaffar *et al.*, 2013).

Energi bebas pada pembentukan mikroemulsi dapat dipengaruhi oleh keberadaan surfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan hingga memiliki tekanan yang sangat rendah pada permukaan air dan minyak sehingga mampu merubah entropi pada sistem sesuai rumus di bawah ini:

$$Gf = \gamma A - T S$$

Keterangan:

Gf = energi bebas dari pembentukan

A = perubahan tegangan permukaan pada mikroemulsi

S = perubahan entropi pada sistem

T = temperatur

γ = tegangan permukaan antara fase minyak dan air

Pada saat mikroemulsi terbentuk akan terjadi perubahan pada nilai A dengan sangat signifikan menjadi nilai yang kecil sehingga terbentuk droplet-droplet kecil (Saini *et al.*, 2014).

Berdasarkan karakteristiknya, mikroemulsi memiliki beberapa perbedaan dengan emulsi, dijelaskan pada Tabel 2.1 di bawah ini:

Tabel 2.1 Perbedaan karakteristik emulsi dan mikroemulsi (Lopes, 2014).

No	Karakteristik	Emulsi	Mikroemulsi
1	Tipe dispersi	Dispersi kasar	Dispersi koloidal
2	Ukuran partikel internal (μm)	Dibawah 0.5	Dibawah 0.15
3	Stabilitas termodinamika	Tidak stabil	Stabil
4	Pembentukan	Mebutuhkan energi	Spontan
5	Komposisi	Mebutuhkan jumlah surfaktan yang sedikit	Mebutuhkan konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan yang lebih besar
6	Konsistensi	Cairan/ semi solid	Cairan
7	Kekeruhan	Putih seperti susu	Transparan dan jernih

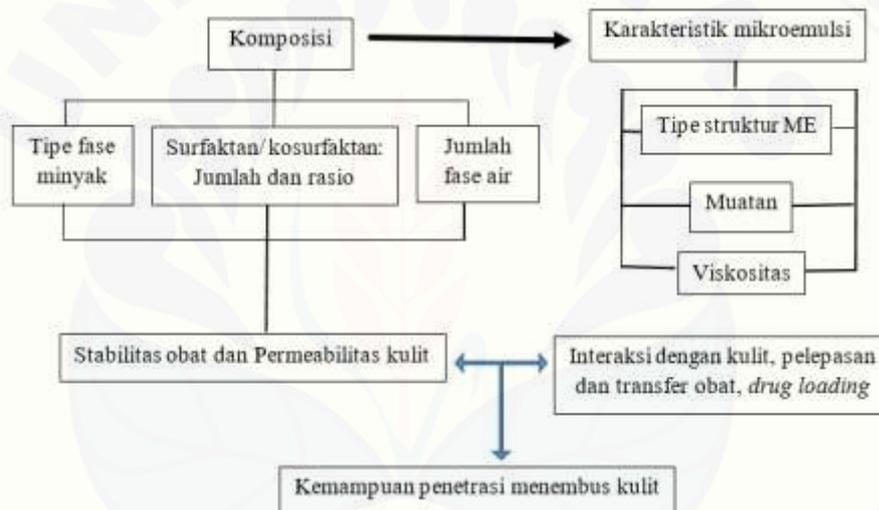
Pada dasarnya mikroemulsi terbentuk secara spontan tanpa memerlukan energi input yang harus diberikan. Terdapat dua tipe mikroemulsi, dimana tipe mikroemulsi yang akan terbentuk dipengaruhi oleh komposisi, rasio, dan sifat kimia dari masing-masing bahan yang digunakan dalam formula. Tipe M/A atau minyak dalam air merupakan *droplet* minyak yang terdispersi merata di dalam fase air, tipe A/M atau air dalam minyak merupakan *droplet* air yang terdispersi merata dalam fase minyak, dan tipe mikroemulsi bikontinyu merupakan fase minyak dan fase air yang terangkai dan stabil pada lembaran daerah surfaktan pada kedua zona tersebut (Kogan *et al.*, 2007). Pembentukan mikroemulsi dapat terjadi dengan 3 mekanisme, yaitu:

- a. Menurunkan tegangan permukaan antara fase minyak dan fase air oleh surfaktan
- b. Membentuk lapisan film monomolekul yang secara fisika mampu menghambat penggabungan granul terdispersi
- c. Merubah zeta potensial dari fase terdispersi

(Mahato & Ajit, 2012)

2.3.2 Komponen Mikroemulsi

Kemampuan mikroemulsi menghantarkan obat untuk menembus *barier* kulit dipengaruhi oleh struktur internal dan tipe mikroemulsi yang diformulasikan, yang dipengaruhi oleh komposisi dan konsentrasi komponen-komponen mikroemulsi. Secara umum mikroemulsi terdiri dari komponen fase minyak, surfaktan, kosurfaktan, dan fase air. Penggunaan fase minyak, surfaktan dan kosurfaktan tertentu akan menghasilkan mikroemulsi dengan karakteristik yang berbeda-beda. Dalam formulasi mikroemulsi komponen yang digunakan harus disesuaikan dengan sifat fisika kimia bahan aktif obat untuk menghasilkan sistem pembawa obat yang optimal, sesuai ditunjukkan pada Gambar 2.2



Gambar 2.2. Skema komponen mikroemulsi dan hubungan sifat fisika kimia serta karakteristik mikroemulsi yang dihasilkan

a. Fase Minyak

Fase minyak merupakan komponen penting bagi formulasi mikroemulsi, tidak hanya sebagai pelarut bahan obat bersifat lipofilik melainkan juga dapat meningkatkan fraksi dari obat lipofilik yang diabsorpsi dan ditransportasikan melalui saluran limfatik, penyerapan pada saluran gastrointestinal, maupun penetrasi transdermal (Muzaffar *et al.*, 2013). Pemilihan jenis fase minyak yang digunakan dalam formulasi mikroemulsi akan mempengaruhi tiga parameter, yaitu profil

pelepasan obat, stabilitas mikroemulsi, dan permeabilitas kulit (Lopes, 2014). Berbagai jenis asam lemak jenuh maupun tak jenuh dapat digunakan untuk meningkatkan penetrasi obat menembus kulit (contohnya: nalokson, hidrokortison, dan estradiol). Asam lemak ester banyak digunakan untuk melarutkan bahan aktif obat bersifat lipofilik untuk formulasi mikroemulsi M/A. Lapisan bilayer stratum korneum memiliki ekor yang bersifat hidrofobik menyebabkan asam lemak dapat melewatinya dengan membentuk domain pemisah sehingga dapat meningkatkan permeabilitas obat menembus kulit (Kogan *et al.*, 2007). Beberapa jenis fase minyak yang dapat digunakan dalam formulasi mikroemulsi, yaitu asam lemak jenuh (contoh: asam laurat, asam miristat, asam kaprik), asam lemak tidak jenuh (contoh: asam oleat, asam linoleat, asam linolenik) dan asam lemak ester (contoh: etil atau metil ester dari miristik, laurik, dan oleat) (Muzaffar *et al.*, 2013).

b. Fase Air

Fase air terdiri dari bahan-bahan yang bersifat hidrofilik baik bahan aktif maupun bahan tambahan. Penambahan senyawa buffer bersifat hidrofilik juga banyak digunakan pada formulasi mikroemulsi dalam berbagai penelitian (Muzaffar *et al.*, 2013). Air menjadi bahan yang paling sering digunakan sebagai fase air. Tingkat keasaman (pH) dari fase air harus disesuaikan karena dapat mempengaruhi fase pada komponen mikroemulsi (Saini *et al.*, 2014).

c. Surfaktan

Pada formulasi mikroemulsi surfaktan berfungsi untuk menurunkan tegangan permukaan hingga mencapai angka minimal yang akan memfasilitasi proses dispersi molekul selama formulasi mikroemulsi dan menghasilkan lapisan film fleksibel yang dapat dengan mudah membentuk lapisan pada *droplet* sehingga memiliki karakteristik lipofilik yang sesuai (Muzaffar *et al.*, 2013).

2.3.3 Karakteristik Mikroemulsi

Pengujian karakteristik mikroemulsi dilakukan untuk mendapatkan informasi tentang sifat fisika dan kimia sediaan mikroemulsi yang dihasilkan. Terdapat berbagai pengujian yang harus dilakukan pada sediaan mikroemulsi diantaranya adalah;

a. Ukuran *Droplet*/ Partikel

Pelepasan obat juga dipengaruhi dari ukuran partikel. Partikel berukuran kecil memiliki luas permukaan yang besar, akibatnya semakin banyak obat pada permukaan partikel yang dapat dilepaskan sehingga pelepasan obat menjadi lebih cepat. Partikel yang lebih besar memiliki inti yang besar sehingga memungkinkan lebih banyak obat yang dapat dienkapsulasi dan sedikit demi sedikit berdifusi keluar (Mohanraj & Chen, 2006). Analisis ukuran droplet mikroemulsi dapat ditentukan menggunakan percobaan hamburan cahaya dinamis (*Dynamic Light Scattering*) atau diukur dengan mikroskop elektron (PSA) (Saini *et al.*, 2014). Morfologi mikropartikel dapat diketahui menggunakan instrumen seperti *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dan *Transmission Electronic Microscopy* (TEM). Distribusi ukuran partikel dinyatakan dalam indeks polidispersitas. Indeks polidispersitas dikategorikan menjadi dua, yaitu monodispersi (unimodal) dan polidispersi (bimodal). Nilai indeks polidispersitas yang masuk dalam rentang monodispersi adalah dalam rentang 0,01-0,7, sedangkan untuk nilai indeks polidispersitas yang masuk dalam kategori polidispersi adalah $> 0,7$ (Nidhin *et al.*, 2008).

b. Zeta potensial

Potensial zeta merupakan pengukuran besarnya gaya tolak menolak antar partikel, gaya tolak-menolak inilah yang mencegah terjadinya agregasi partikel. Idealnya, partikel harus memiliki muatan atau zeta potensial yang tinggi dibandingkan dengan medium pendispersi untuk mencegah agregasi. Kekuatan tolak menolak yang dibawa oleh muatan ion serupa pada permukaan partikel akan mencegah gaya tarik menarik yang ditentukan oleh ikatan hidrogen dan ikatan *van der waals*. Zeta potensial

dan ukuran partikel merupakan parameter yang dapat digunakan untuk menentukan stabilitas dispersi ataupun mikroemulsi (Horiba, 2012). Nilai zeta potensial mikroemulsi dapat diukur menggunakan *Zetasizer* atau instrumen PSA (*Particle Size Analyzer*). Semakin tinggi nilai zeta potensial maka semakin stabil suatu sediaan mikroemulsi. Sistem dispersi dapat dikatakan stabil jika memiliki nilai zeta potensial lebih tinggi dari +30mV atau lebih kecil dari -30mV (Mardiyati *et al.*, 2012).

c. Analisis Fase

Analisis fase dilakukan untuk mengetahui jenis mikroemulsi yang terbentuk (air dalam minyak atau minyak dalam air) dengan mengukur konduktivitas elektrolit menggunakan konduktometer. Pengukuran konduktivitas elektrolit memberikan solubilitas kuantitatif dari fase air yang telah bercampur dengan fase minyak, surfaktan, dan kosurfaktan tertentu (Saini *et al.*, 2014).

Jenis mikroemulsi yang terbentuk juga dapat ditentukan menggunakan zat pewarna *metilen blue*, jika sediaan merupakan tipe M/A maka zat warna *metilen blue* akan melarut di dalamnya dan berdifusi merata ke seluruh bagian dari air. Jika sediaan merupakan tipe A/M maka partikel-partikel zat warna biru metilen akan bergerombol pada permukaannya, kemudian dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop elektron untuk mengetahui kelarutan *metilen blue* pada sediaan (Purnamasari, 2012).

d. Viskositas

Komposisi bahan yang digunakan dalam formulasi mikroemulsi akan sangat berpengaruh terhadap kekentalan mikroemulsi yang terbentuk. Viskositas mikroemulsi dapat ditentukan menggunakan Viskometer Brookfiel VT 03 dengan ukuran dan kecepatan spindel tertentu. Pengukuran dilakukan pada suhu $37 \pm 0.2^\circ\text{C}$ dengan menggunakan *thermobath* untuk menjaga temperatur agar tetap konstan (Saini *et al.*, 2014).

e. Uji Stabilitas Termodinamik

Uji stabilitas sediaan mikroemulsi dapat dilakukan dengan berbagai metode, antara lain :

- *Heating-Cooling Cycle*

Mikroemulsi yang telah dibuat disimpan pada suhu 4 °C selama 24 jam dan 40 °C selama 24 jam sebagai satu siklus. Tiap formula yang dibuat diuji dalam 6 siklus (Al Abood *et al.*, 2013).

- *Centrifugation Test*

Mikroemulsi disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 3500 rpm untuk mengetahui pemisahan fase (Al Abood *et al.*, 2013).

- *Accelerated Stability*

Pengujian dilakukan dengan meletakkan mikroemulsi pada suhu rendah (4 °C) dan kemudian diletakkan pada suhu ruangan 25 °C. Pengujian ini dilakukan selama 3 bulan (Alam *et al.*, 2012).

- *Freez- Thaw Cycle*

Mikroemulsi yang dibuat dilakukan pengujian dalam 3 siklus pada suhu -21 °C dan 25 °C. Masing-masing formula disimpan pada tiap temperatur tidak kurang dari 48 jam (Al Abood *et al.*, 2013).

f. Uji Penetrasi

Sediaan topikal mikroemulsi yang baik harus memiliki kemampuan untuk memberikan pelepasan obat yang optimal, menembus barier kulit, dan deposisi obat menuju lapisan kulit yang diinginkan epidermis atau dermis. Studi penetrasi kulit secara *in vitro* dilakukan untuk mengukur kecepatan dan jumlah senyawa yang dapat melewati kulit, dimana hal ini bergantung pada bahan aktif obat, bentuk sediaan, bahan excipien, bahan peningkat penetrasi, dan variabel formulasi lainnya (Witt & Bucks, 2003).

Salah satu metode sederhana untuk pengujian daya penetrasi suatu sediaan obat adalah menggunakan *franz diffusion cell*. Pengujian dilakukan secara *in vitro* menggunakan membran kulit tikus. *Franz diffusion cell* terbagi atas dua komponen yaitu kompartemen donor dan kompartemen reseptor yang dipisahkan oleh suatu lapisan membran. Kecepatan penetrasi obat

menembus epidermis untuk mencapai lapisan papilar di dermis dapat dinyatakan dengan hukum Fick's I dengan persamaan berikut (Sinko, 2011) :

$$J = \frac{dM}{S.dt}$$

dimana J adalah fluks, M adalah jumlah bahan aktif yang tertransportasi, S adalah luas kulit dan t adalah waktu. Definisi dari fluks adalah jumlah bahan aktif obat yang melewati satuan luas membran dalam waktu tertentu dengan adanya gaya dorong dalam hal ini berupa tekanan (Sinko, 2011).

2.4 Surfaktan

2.4.1 Mekanisme Kerja Surfaktan

Pada formulasi mikroemulsi surfaktan berfungsi untuk menurunkan tegangan permukaan hingga mencapai angka minimal yang akan memfasilitasi proses dispersi molekul selama formulasi mikroemulsi dan menghasilkan lapisan film fleksibel yang dapat dengan mudah membentuk lapisan pada *droplet* sehingga memiliki karakteristik lipofilik yang sesuai (Muzaffar *et al.*, 2013). Jenis dan konsentrasi surfaktan, kosurfaktan, dan rasio keduanya yang digunakan akan mempengaruhi formula mikroemulsi, ukuran partikel, bentuk agregat yang terbentuk, dan kelarutan terhadap air. Karakter lipofilisitas dan struktur surfaktan memerankan peran penting dalam menentukan kemampuan mikroemulsi melepaskan bahan aktif dengan mempengaruhi lapisan permukaan mikroemulsi (Lopes, 2014).

2.4.2 Jenis-Jenis Surfaktan

Berdasarkan muatannya surfaktan dibedakan menjadi 4 jenis yaitu surfaktan nonionik, kationik, anionik, dan zwitterionik. Surfaktan nonionik merupakan surfaktan yang gugus hidrofilnya tidak bermuatan contohnya tween 80, lesitin, PEG, labrasol, labrafil, dan span 80. Surfaktan kationik merupakan surfaktan yang memiliki gugus hidrofil kation atau bermuatan positif, contohnya garam alkil trimetil ammonium, garam dialkil-dimethyl ammonium dan garam alkil dimethyl

benzil ammonium. Surfaktan anionik merupakan surfaktan yang memiliki gugus hidrofil anion atau bermuatan negatif, contohnya garam alkana sulfonat, garam olefin sulfonat, garam sulfonat asam lemak rantai panjang. Surfaktan zwiterionik adalah surfaktan yang gugus hidrofilnya dapat bersifat kationik maupun anionik bergantung pada keasaman (pH) sediaan, contohnya *N-dedocylaminoacetic acid* dan surfaktan yang mengandung asam amino, betain, fosfobetain. (Muzaffar *et al.*, 2013).

2.4.3 Hydrophile Liphophile Balance (HLB)

Griffin (1949) menggunakan suatu skala yang dikenal sebagai skala HLB, klasifikasi ini didasarkan pada polaritas relatif yang dimiliki oleh molekul surfaktan yang ditimbulkan oleh gugus hidrofil dan gugus lipofilnya. Karakter ganda surfaktan akan bertindak sebagai jembatan antara dua zat yang sebenarnya tidak larut satu sama lain (Pasquali *et al.*, 2008). Nilai HLB merupakan keseimbangan antara sifat lipofil dan hidrofil dari suatu surfaktan. Nilai ini menggambarkan rasio relatif gugus polar dan non polar dalam surfaktan yang berhubungan dengan kelarutan surfaktan tersebut terhadap pelarut polar maupun nonpolar. Surfaktan yang bersifat lipofilik akan memiliki nilai HLB rendah dan lebih mudah larut dalam minyak, sedangkan surfaktan yang bersifat hidrofil memiliki nilai HLB tinggi dan akan lebih mudah larut dalam air. Berikut ini contoh beberapa surfaktan nonionik dan nilai HLB ditunjukkan pada Tabel 2.2 di bawah ini:

Tabel 2.2 Contoh surfaktan nonionik dan nilai HLB (Pasquali *et al.*, 2008)

Nama Surfaktan	HLB	Nama Surfaktan	HLB
Glycol Distearate	1,0	Stearamide MEA	11,0
Sorbitan Trioleate	1,8	PEG-100 Stearate	11,0
Propylene Glycol Isostearate	2,5	Polysorbate 85	11,0
Glycol Stearate	2,9	PEG-8 Oleate	11,6
Sorbitan Sesquioleate	3,7	Polyoxyl 10 Oleyl Ether	12,4
Glyceryl Stearate HLB	3,8	Oleth-10	12,4
Lecithin	4,0	Ceteth-10	12,9
Sorbitan Oleate	4,3	PEG-8 Laurate	13,0

Sorbitan Monostearate	4,7	Cocamide MEA	13,5
Sorbitan Stearate	4,7	Polysorbate 60	14,9
Ceteth-2 HLB = 5.3	5,3	Polysorbate 80	15,0
Glyceryl Stearate	5,8	Isosteareth-20	15,0
Methyl Glucose Sesquistearate	6,6	Steareth-20	15,3
PEG-8 Dioleate	8,0	Polysorbate 20	16,7
Sorbitan Laurate	8,6	PEG-100 Stearate	18,8

Nilai HLB suatu emulsi akan menentukan sifat (tipe) emulsi yang terbentuk baik berupa minyak dalam air atau air dalam minyak (Chemmunique, 1980). Berikut rentang nilai HLB dan tipe mikroemulsi yang akan terbentuk ditunjukkan pada Tabel 2.3 di bawah ini:

Tabel 2.3 Rentang nilai HLB dan jenis emulsi yang terbentuk
(Sumber: Chemmunique, 1980)

No	Nilai HLB	Tipe Emusli
1	4-6	Emulsi A/M
2	7-9	Agen Pembasah
3	8-18	Emulsi M/A
4	13-15	Detergen
5	10-18	Solubiliser/ Peningkat kelarutan

Formulasi mikroemulsi dengan mengkombinasikan dua surfaktan dengan nilai HLB rendah dan tinggi perlu dilakukan untuk mendapatkan sediaan mikroemulsi yang stabil (Date & Nagarsenker, 2008).

2.5 *Chemical Penetration Enhancer (CPE)*

Sistem penghantaran obat secara topikal telah sejak lama dikembangkan untuk menghasilkan berbagai sediaan obat-obatan. Keunggulan yang dimiliki sediaan topikal mampu mengatasi berbagai permasalahan yang muncul saat pemberian obat secara peroral. Obat yang diformulasikan dalam bentuk sediaan topikal dapat memberikan efek terapi secara lokal pada lapisan kulit tertentu setelah

mampu menembus barrier yang terdapat pada kulit, yaitu *barier* stratum korneum. Saat ini banyak dikembangkan metode baik secara fisik maupun kimia untuk meningkatkan penetrasi obat sediaan topikal (Shah & Williams, 2014)

Metode untuk meningkatkan kemampuan penetrasi obat menembus kulit telah banyak dikembangkan saat ini. Peningkatan penetrasi obat secara fisik dilakukan menggunakan alat-alat bantu seperti *microneedle* yaitu menggunakan jarum mikro untuk menciptakan jalur penetrasi, *iontophoresis* yaitu menggunakan muatan listrik, dan *sonophoresis* dengan memanfaatkan gelombang suara ultasonik. Metode meningkatkan penetrasi secara kimia juga dapat dilakukan dengan menambahkan *chemical penetration enhancer* (CPE) ke dalam formula obat (Shah & Williams, 2014).

Chemical Penetration Enhancer (CPE) merupakan senyawa yang dapat membantu penetrasi bahan aktif obat menembus kulit dengan mempengaruhi susunan lapisan membran kulit. Terdapat berbagai golongan senyawa yang memiliki kemampuan meningkatkan penetrasi yaitu air, hidrokarbon (alkana dan alkena), alkanol, alkenol, asam lemak, ester, alkil amino ester, amida, urea, sulfoksida, dan lain sebagainya. Terdapat beberapa mekanisme CPE dalam meningkatkan penetrasi bahan aktif obat yaitu dengan meningkatkan kemampuan difusi obat melalui kulit, menurunkan fluiditas membran stratum korneum, meningkatkan aktivitas termodinamik dari senyawa obat, mempengaruhi koefisien partisi dari bahan aktif obat, dan meningkatkan pelepasan obat pada permukaan kulit (Ahad *et al.*, 2009).

CPE harus memenuhi persyaratan berikut ini agar dapat digunakan dalam formulasi sediaan transdermal yaitu tidak toksik, tidak menyebabkan iritasi dan alergi pada kulit, mekanisme kerjanya diketahui, memberikan efek dengan cepat dan waktunya dapat diprediksi, tidak memiliki aktifitas farmakologi yang dapat mengganggu efek obat, murah dan mudah didapatkan, dan apabila senyawa telah hilang, susunan barrier kulit dapat normal kembali (Williams & Barry, 2012)

Salah satu jenis CPE yang sering digunakan pada sediaan farmasi adalah Isopropil Miristat (IPM). IPM banyak digunakan sebagai bahan tambahan untuk kosmetik dan sediaan transdermal. IPM merupakan salah satu jenis CPE golongan

ester asam lemak yang memenuhi persyaratan keamanan dan banyak digunakan karena memiliki efektivitas yang baik (Schroeter *et al.*, 2015). IPM dapat berintegrasi dengan lapisan lipid bilayer dan berikatan dengan gugus ester pada bagian kepala yang bersifat hidrofili sehingga susunan membran bilayer stratum korneum menjadi lebih renggang dan memudahkan obat untuk berpenetrasi (Engelbrecht *et al.*, 2012).

2.6 Tinjauan Kafein

Kafein merupakan golongan senyawa alkaloid yang terdapat pada daun teh *Chamellia sinensis* (Theaceae), biji kopi, buah coklat, mate, guarana, dan kola (Sintov & Greenberg, 2014). Berdasarkan berbagai penelitian yang telah dilakukan, kafein memiliki banyak manfaat untuk kesehatan kulit diantaranya adalah sebagai antiselulit, antioksidan, mencegah kanker kulit, dan melindungi kulit dari radiasi sinar UV B cahaya matahari. Kafein telah banyak dipakai sebagai bahan aktif kosmetik karena memiliki banyak aktivitas farmakologi yang bermanfaat (Herman & Herman, 2013).

2.6.1 Sifat Fisika Kimia

Sinonim : Kafein Anhidrous; Kofeinum; Guaranin; Metiltheobromin

Nama IUPAC : 3,7-Dihydro-1,3,7-trimethyl-1*H*-purine-2,6-dione

Rumus Kimia : $C_8H_{10}N_4O_2$

Berat Molekul : 194.2

Log P (o/a) : -0.07

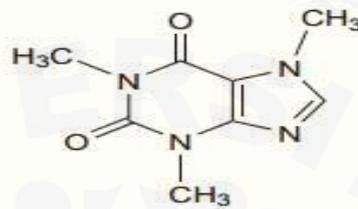
Kons. Disosiasi : pK_a 14.0 (25°), 10.4 (40°)

Berat Jenis : 1,23 g/cm³

(Moffat *et al.* 2005)

Pemerian kafein merupakan serbuk kristal berwarna putih, memiliki rasa pahit, dan tidak berbau. Kafein memiliki kelarutan 1 dalam 46 air, 1 dalam 5.5 air hangat suhu 80°C, 1 dalam 1.5 air mendidih, 1 dalam 66 alkohol, 1 dalam 22 alkohol suhu 60°C, 1 dalam 50 aseton, 1 dalam 5.5 Kloroform, 1 dalam 530 eter, 1

dalam 100 benzena, dan 1 dalam 22 benzena mendidih. Sangat larut di dalam pirrol tetrahidrofurana mengandung 4% air, larut dalam etil asetat, sulit larut dalam petroleum ether. Kelarutan kafein di dalam air dapat meningkat dengan adanya zat alkali benzoat, sinamat, sitrat, atau salisilat. Kafein dapat menyublim pada suhu 178°C dan memiliki titik lebur 238°C (O'Neil, 2013). Struktur kimia kafein ditunjukkan pada Gambar 2.3



Gambar 2.3 Struktur kimia Kafein (Sumber: Moffat et al. 2005)

2.6.2 Kemampuan Penetrasi Kafein

Kemampuan penetrasi suatu bahan aktif menembus membran barrier kulit sangat menentukan kemampuan obat tersebut memberikan efek terapi. Berbagai penelitian telah dilakukan untuk menguji kemampuan penetrasi senyawa kafein menembus *barier* kulit. Kafein memiliki laju absorpsi maksimum pada kulit sebesar $2.24 \pm 1.43 \text{ g/cm}^2/\text{h}$, pada pengujian *in vivo* menunjukkan bahwa absorpsi maksimal tercapai setelah 100 menit pemberian secara lokal (Herman & Herman, 2013). Pada penelitian yang dilakukan oleh Touitou *et al.* (1994) menggunakan autodiografi kulit menemukan setelah 24 jam konsentrasi tertinggi kafein di dalam jaringan adalah $280 \mu\text{g}$ /setiap jaringan yang terdapat pada jaringan epidermis dan $50 \mu\text{g}$ / jaringan pada dermis. Fluks difusi kafein menembus membran kulit tidak tergantung pada konsentrasi zat aktif namun dipengaruhi oleh bahan tambahan yang digunakan pada formula sediaan (Mustapha *et al.*, 2011).

2.6.3 Aktivitas Farmakologi Kafein

Kafein banyak dijadikan bahan aktif kosmetik karena memiliki berbagai aktivitas farmakologi diantaranya adalah sebagai antiselulit, pelangsing, penumbuh rambut, antioksidan, dan pencegah terbentuknya tumor ataupun sel karsinoma

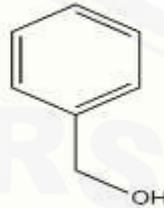
akibat radiasi sinar UV (Sintov & Greenberg, 2014). Paparan radiasi sinar UV dapat mempercepat terbentuknya *photoaging*, menurunkan sintesis prokolagen yang berpengaruh pada pembentukan fiber dan kolagen sehingga mengurangi elastisitas kulit, pada keadaan paparan radiasi UV yang berlebihan mampu memicu terbentuknya sel kanker melanoma (Herman & Herman, 2013). Radiasi sinar UV juga meningkatkan produksi radikal bebas yang dapat memicu mutasi pada DNA sel yang menyebabkan terbentuknya sel-sel karsinoma (Narayanan *et al.*, 2010). Kafein memberikan efek pada sel yang rusak karena radiasi sinar UV untuk berdifusi dan memicu apoptosis secara selektif pada sel yang rusak sebelum terbentuknya sel kanker (Herman & Herman, 2013). Konsumsi 6 gelas kopi sehari yang mengandung kafein dapat menurunkan resiko terbentuknya kanker kulit nonmelanoma (Abel *et al.*, 2007). Kafein memiliki efek induksi apoptosis pada sel karotinosit yang rusak akibat radiasi sinar UV dan terbukti dapat mencegah terbentuknya sel kanker pada epidermis kulit tikus (Han *et al.*, 2011). Sinar matahari juga dapat menjadi promotor terbentuknya tumor dengan mempengaruhi ekspresi p53 pada sel keratinosit termutasi, namun pemberian kafein terbukti dapat menurunkan produksi p53 (Kramata *et al.*, 2005). Heffernan *et al.* (2009) telah membuktikan kafein pada sel kulit manusia memiliki efek pada jalur ATR–Chk1 (*Ataxia-Telangiectasia and Rad3-related-Checkpoint kinase 1*) yang dapat mencegah kerusakan sel akibat radiasi UV. Analisis imunohistokimia menunjukkan pemberian kafein secara topikal dapat meningkatkan apoptosis pada tumor kulit nonmaligna dan sel karsinoma skuamosa (Herman & Herman, 2013).

Kafein merupakan salah satu senyawa antioksidan potensial yang mampu bereaksi dengan berbagai jenis senyawa radikal atau *Reactive Oxygen Species* (ROS), diantaranya adalah radikal hidroksil ($\bullet\text{OH}^-$), radikal hidroperoksida ($\bullet\text{OOH}^-$), radikal metoksi ($\bullet\text{OCH}_3^-$), radikal metil peroksida ($\bullet\text{OOCH}_3^-$), atau radikal superoksida ($\text{O}_2\bullet^-$). Terdapat lima mekanisme antioksidan yang dimiliki kafein, yaitu *Radical Adduct Formation* (RAF), *Hydrogen Atom Transfer* (HAT) *Single Electron Transfer* (SET), *Sequential Electron Proton Transfer* (SEPT), dan *Proton Coupled Electron Transfer* (PCET) (León-Carmona & Galano, 2011).

2.7 Tinjauan Bahan Tambahan

2.7.1 Benzil Alkohol

Benzil alkohol dapat berfungsi sebagai pelarut, bahan pengawet, antimikroba, dan desinfektan umumnya digunakan dalam formulasi kosmetik atau makanan. Struktur kimia benzil alkohol ditunjukkan oleh Gambar 2.4



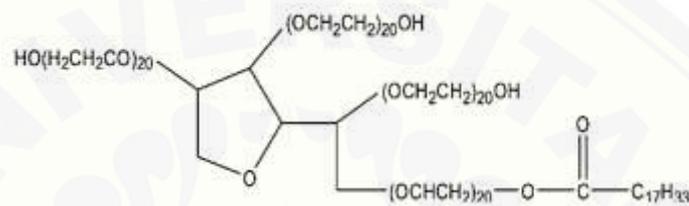
Gambar 2.4. Struktur kimia Benzil Alkohol (Sumber: Rowe *et al.* 2009)

Benzil alkohol memiliki nama lain Benzenametanol, a hidroksitoluena, fenilcarbinol, fenilmetanol, a-toluenol. Benzil alkohol memiliki rumus molekul C_7H_8O dengan berat molekul 108.14 dalton. Benzil alkohol memiliki karakteristik larutan jernih dengan titik didih $204.78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Benzil alkohol larut sempurna dalam klorofom, eter, dan etanol, dalam 1.5 bagian etanol 50%, dalam 24 bagian air pada suhu $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ dan dalam 14 bagian air pada suhu $90\text{ }^{\circ}\text{C}$. Benzil alkohol teroksidasi secara perlahan di udara menjadi benzaldehid dan asam benzoat, tidak bereaksi dengan air. Larutannya dapat disterilkan dengan filtrasi atau autoklaf. Benzil alkohol disimpan pada wadah logam atau gelas (Rowe *et al.*, 2009).

2.7.2 Tween 80 (Polisorbat 80)

Tween 80 (Polisorbat 80 atau polioksietilen 20 sorbitan monooleat) adalah salah satu golongan surfaktan nonionik golongan asam lemak ester polioksietilena sorbitan yang digunakan luas sebagai agen pengemulsi (emulgator) dalam preparasi emulsi minyak dalam air yang stabil. Polisorbat telah digunakan luas dalam kosmetik, produk makanan, dan formulasi farmasi oral, parenteral, dan topikal. Tween 80 tidak bersifat toksik dan tidak menimbulkan iritasi. Dosis tween 80 yang dapat digunakan didalam tubuh selama sehari (*acceptable daily intake*) yaitu 25 mg/kgbb (Rowe *et al.*, 2009).

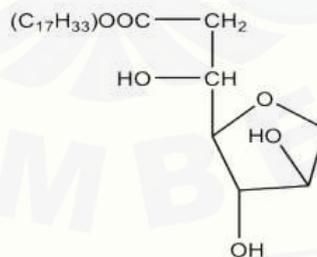
Tween 80 memiliki rumus molekul $C_{64}H_{124}O_{26}$ dengan berat molekul 1310 dan nilai HLB 15,0. Tween 80 dalam sediaan farmasi berfungsi sebagai agen pengemulsi, solubilisator, pembasah, dan agen pensuspensi/pendispersi. Tween 80 memiliki karakteristik berupa cairan kental berwarna kuning transparan, rasa sedikit pahit dan berbau khas. Tween 80 dapat bercampur dengan air, alkohol, kloroform, etil asetat, eter, dan metil alkohol. Stabil terhadap elektrolit dan asam lemah. Perubahan warna dan atau presipitasi dapat terjadi dengan adanya fenol dan tannin (Rowe *et al.*, 2009). Struktur kimia tween 80 ditunjukkan oleh Gambar 2.5



Gambar 2.5. Struktur kimia tween 80/ polysorbat 80 (Sumber: Rowe *et al.*, 2009).

2.7.3 Span 80 (Sorbitan Monooleat 80)

Span 80 (Sorbitan monooleat 80) digunakan dalam kosmetik, produk makanan dan formulasi farmasetika sebagai surfaktan nonionik lipofilik. Span 80 lebih utama digunakan dalam formulasi farmasetika sebagai emulgator dalam preparasi krim, emulsi, dan salep untuk pemakaian topikal. Gambar struktur kimia Span 80 ditunjukkan oleh gambar 2.6

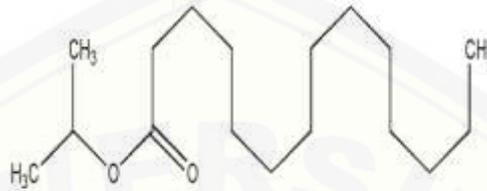


Gambar 2.6 Struktur kimia Span 80/ Sorbitan Monooleat 80 (Sumber: Rowe *et al.* 2009)

Span 80 larut atau terdispersi dalam minyak dan juga larut dalam pelarut organik. Span 80 berupa cairan berwarna kuning dengan rumus molekul $C_{24}H_{44}O_6$ dengan berat molekul 429 g/mol. Dapat terjadi pembentukan sabun dengan asam atau basa kuat dan stabil dalam asam atau basa lemah (Rowe *et al.*, 2009).

2.7.4 Isopropil Miristat (IPM)

Isopropil miristat (IPM) memiliki rumus kimia $C_{17}H_{34}O_2$ dengan berat molekul 270,5 memiliki nama lain 1-Methylethyl tetradekanoat. IPM dapat digunakan sebagai emolien, peningkat penetrasi, dan juga pelarut untuk bahan-bahan bersifat non polar. Struktur IPM ditunjukkan pada Gambar 2.7



Gambar 2.7. Struktur kimia senyawa Isopropil Miristat (IPM) (Rowe *et al.* 2009)

IPM merupakan larutan jernih tidak berwarna dan berbau, senyawa ini mengandung ester propanan-2-ol dan asam lemak jenuh dengan berat molekul yang besar. IPM memiliki titik didih $140.2^{\circ}C$, membeku pada suhu $5^{\circ}C$. IPM dapat larut dalam aseton, kloroform, etanol (95%), etil asetat, lemak, hidrokarbon cair, dan lilin. IPM tahan terhadap reaksi oksidasi dan hidrolisis, sehingga memiliki kestabilan yang baik (Rowe *et al.*, 2009). Pada penelitian yang dilakukan oleh Patel *et al.* (2014) menunjukkan formula dengan konsentrasi 10% IPM memiliki nilai *fluks* tertinggi dan kemampuan terbaik untuk meningkatkan penetrasi obat pada sediaan patch transdermal.

2.8 Metode Desain Faktorial

Desain faktorial merupakan metode rasional untuk menyimpulkan dan mengevaluasi secara obyektif efek dari besaran yang berpengaruh terhadap kualitas produk. Desain faktorial dapat digunakan pada penelitian di mana efek dari faktor atau kondisi yang berbeda dalam penelitian akan diketahui. Desain faktorial merupakan desain yang dipilih untuk mendeterminasi efek-efek secara simultan dan interaksi antar efek tersebut. Metode ini digunakan dalam suatu penelitian untuk mengetahui efek dari beberapa faktor atau suatu kondisi dalam hasil suatu penelitian. Desain faktorial merupakan aplikasi persamaan regresi yaitu teknik untuk memberikan model hubungan antara variabel respon dengan satu atau lebih

variabel bebas. Model yang diperoleh dari analisis tersebut berupa persamaan matematika (Bolton & Bon, 2004).

Terdapat dua tipe dari desain faktorial, yaitu *simple factorial design* dan *complex factorial design*. *Simple factorial design* juga sering disebut sebagai desain faktorial menggunakan dua faktor sedangkan *complex factorial design* sering disebut sebagai desain faktorial menggunakan multifaktor (Kothari, 2004). Terdapat beberapa istilah dalam desain faktorial diantaranya adalah faktor, level, efek, interaksi. Faktor adalah variabel yang ditentukan yang dapat memberikan pengaruh pada efek. Level adalah besaran dari faktor, dimana terdapat level tinggi dan level rendah. Efek adalah respon yang berubah akibat adanya perbedaan level dari faktor. Interaksi adalah suatu respon yang menunjukkan hubungan antar faktor dalam memberikan efek (Bolton & Bon, 2004). Persamaan umum dari desain faktorial yang menggunakan dua faktor adalah sebagai berikut:

$$Y = b_0 + b_1XA + b_2XB + b_{12}XAXB$$

Y	= efek respon yang diamati
XA	= level A
XB	= level B
b ₀ , b ₁ , b ₂ , b ₁₂	= koefisien, dapat dihitung dari hasil percobaan

Jumlah percobaan dalam desain faktorial adalah 2^n , di mana 2 menunjukkan level dan n menunjukkan jumlah faktor. Langkah untuk percobaan faktorial terdiri dari kombinasi semua level dari faktor.

Metode desain faktorial memiliki keuntungan sebagai berikut:

- Dapat menghemat biaya dibandingkan melakukan penelitian tunggal untuk mendapat tingkat ketelitian yang sama
- Dapat menentukan efek utama dari dua faktor dengan hanya satu penelitian tunggal
- Desain faktorial memiliki efisiensi maksimum dalam memperkirakan efek utama jika tidak ada interaksi, jika terdapat interaksi desain faktorial dapat

menentukan interaksi dari beberapa faktor yang digunakan yang umumnya tidak bisa didapatkan pada satu penelitian tunggal

- d. Hasil kesimpulan dari penelitian dapat digunakan dalam berbagai kondisi
- e. Metode ini memiliki efisiensi yang maksimum untuk memperkirakan efek yang dominan dalam menentukan respon.
- f. Metode desain faktorial memungkinkan untuk mengidentifikasi efek masing-masing faktor, maupun efek interaksi antar faktor (Bolton & Bon, 2004; Kothari, 2004).



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan metode desain faktorial untuk melihat pengaruh nilai HLB kombinasi surfaktan dan konsentrasi *Chemical Penetration Enhancer* (CPE) Isopropil Miristat (IPM) terhadap formula mikroemulsi kafein. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formula optimum mikroemulsi kafein yang memiliki stabilitas, karakteristik, serta kemampuan penetrasi yang terbaik.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Farmasi Bagian Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember, Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Gajah Mada, dan Laboratorium Farmasi Universitas Islam Indonesia. Waktu pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan Januari 2016 sampai dengan Mei 2016.

3.3 Rancangan Penelitian

Formula mikroemulsi terdiri dari bahan aktif kafein, fase minyak benzil alkohol, kombinasi surfaktan yang terdiri dari tween 80 dan span 80, bahan peningkat penetrasi Isopropil Miristat (IPM), serta akuades. Penelitian ini menggunakan metode desain faktorial dengan dua faktor dan dua level. Faktor pada penelitian ini yaitu nilai HLB kombinasi surfaktan (tween 80 dan span 80) serta konsentrasi IPM. Respon pada penelitian ini adalah nilai pergeseran viskositas dan pH sebelum dan sesudah uji stabilitas serta nilai fluks penetrasi mikroemulsi kafein.

Penelitian ini akan dilakukan dengan tahapan sebagai berikut: (1) penentuan formula mikroemulsi kafein, (2) pembuatan mikroemulsi kafein, (3) uji stabilitas

dan uji penetrasi mikroemulsi kafein, (4) penentuan formula optimum dengan menggunakan aplikasi *Design Expert 9.0*, (5) pembuatan formula mikroemulsi optimum, (6) pengujian karakteristik formula optimum mikroemulsi kafein meliputi: pH, viskositas, analisis fase, ukuran partikel, distribusi partikel, dan, zeta potensial, (7) pengolahan data dan penulisan laporan.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah TEM (*Transmission Electron Microscope*), PSA (*Particle Size Analyzer*) SZ-100, Spektrofotometer UV-Vis (*Genesys 10S*), *Franz diffusion cell*, viskotester (*Rion VT 03*), neraca analitik (*Adventure Ohaus*), *pH meter*, hotplate, *magnetic stirer*, piknometer, dan alat-alat gelas.

3.4.2 Bahan Penelitian

Penelitian ini menggunakan bahan kafein (CV Makmur Sejati), tween 80 (PT. Bratachem), span 80 (PT. Bratachem), benzil alkohol (Sigma Aldrich), akuades (Aneka Kimia), dan dapar fosfat salin pH $7,4 \pm 0,05$.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Rancangan Desain Faktorial

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode desain faktorial dimana terdapat dua faktor dengan dua level. Berikut ini merupakan rancangan desain faktorial yang dilakukan pada penelitian ini ditunjukkan pada Tabel 3.1

Tabel 3.1 Rancangan Formula Penelitian Menggunakan Metode Desain Faktorial

Formula	Faktor A	Faktor B	Interaksi A dan B
(1)	-1	-1	+1
A	+1	-1	-1
B	-1	+1	-1
AB	+1	+1	+1

Keterangan : Faktor A (Nilai HLB kombinasi Surfaktan); Faktor B (Konsentrasi IPM); +1 (Level tinggi); -1 (Level rendah).

Berikut ini merupakan variabel yang akan dilakukan dalam penelitian ini, yaitu:

- Variabel bebas : Nilai HLB kombinasi surfaktan tween 80 dan span 80 serta konsentrasi CPE Isopropil Miristat (IPM)
- Variabel terkontrol: Bahan penyusun mikroemulsi kafein, lama waktu pengadukan, dan kecepatan pengadukan
- Variabel terikat: Nilai pergeseran pH sediaan, pergeseran viskositas, dan nilai fluks penetrasi mikroemulsi kafein.

Level rendah dan tinggi dari faktor nilai HLB kombinasi surfaktan ditentukan melalui percobaan pendahuluan sehingga menemukan nilai HLB terendah dan tertinggi yang dapat membentuk sediaan mikroemulsi. Level rendah dan level tinggi dari faktor konsentrasi senyawa kimia peningkat penetrasi mengacu pada penelitian optimasi formula sediaan transdermal *patch* Sodium Heparin yang telah dilakukan oleh Patel *et al.*, (2014).

Level rendah dan tinggi dari faktor nilai HLB kombinasi surfaktan dan konsentrasi CPE ditunjukkan pada Tabel 3.2

Tabel 3.2. Level Rendah dan Tinggi Respon pada Desain Faktorial

Faktor	Level rendah (-1)	Level tinggi (+1)
Nilai HLB komposisi surfaktan	12	15
Konsentrasi IPM	1%	10%

3.5.2 Formula Mikroemulsi dan Emulsi Kafein

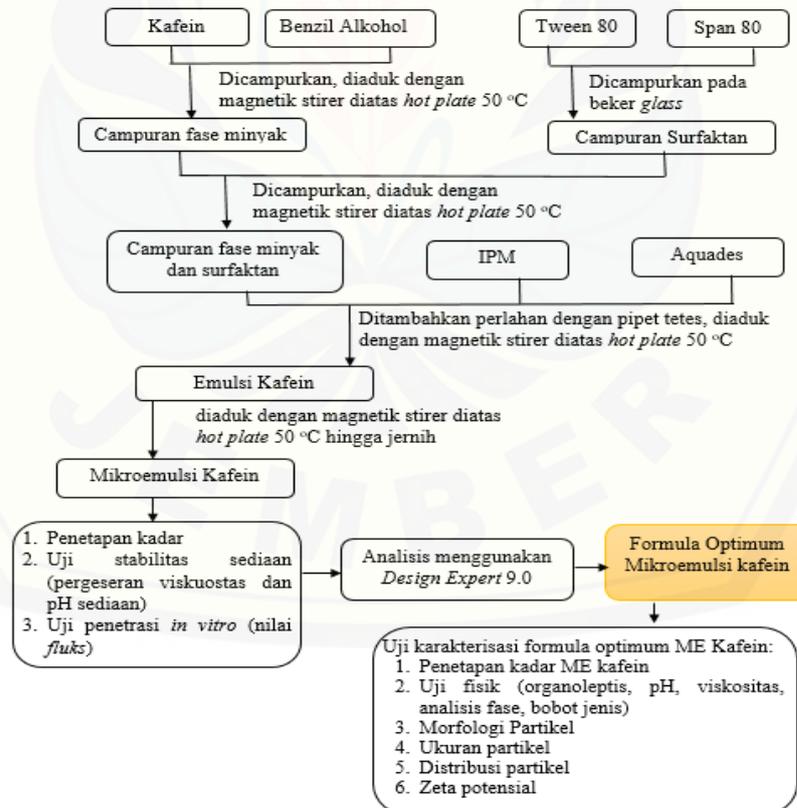
Penelitian ini diawali dengan menyusun rancangan formula mikroemulsi kafein untuk mendapatkan sediaan mikroemulsi yang stabil. Disusun sebanyak empat formula yang menggunakan konsentrasi surfaktan 35% dan terdiri dari kombinasi surfaktan tween 80 dan span 80 sehingga menghasilkan nilai HLB sediaan yang berbeda-beda. Jenis dan jumlah bahan yang digunakan ditunjukkan pada Tabel 3.3

Tabel 3.3. Formula Mikroemulsi Kafein

Nama Bahan	Fungsi Bahan	Formula Mikroemulsi Kafein			
		1	A	B	AB
Kafein	Bahan aktif	1 g	1g	1g	1g
Benzil Alkohol	Fase minyak	10 mL	10 mL	10 ml	10 mL
Tween 80	Surfaktan	25,2 mL	35 mL	25,2 mL	35 mL
Span 80	Surfaktan	9,8 mL	-	9,8 mL	-
Isopropil Miristat	CPE	1 mL	1 mL	10 mL	10 mL
Akuades	Fase air	Ad 100 mL			

3.5.3 Preparasi Mikroemulsi Kafein

Terdapat empat rancangan formula mikroemulsi kafein yang akan diformulasi pada penelitian ini. Tahapan pembuatan sediaan mikroemulsi kafein dijelaskan dalam Gambar 3.1



Gambar 3.1 Skema tahapan penelitian mikroemulsi kafein

3.5.4 Evaluasi Formula Mikroemulsi Kafein

a. Penetapan Kadar Mikroemulsi Kafein

1) Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Kafein ditimbang seksama sebanyak $\pm 100,0$ mg kemudian dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu ukur 100 mL. Larutan yang diperoleh memiliki konsentrasi sebesar 1000 ppm. Larutan induk ini kemudian diencerkan dengan etanol 96% hingga menghasilkan kadar 10 ppm. Pengukuran panjang serapan larutan 10 ppm dilakukan dari panjang gelombang 200-400 nm (Ameliana, 2014).

2) Uji Pengaruh Basis Mikroemulsi terhadap Serapan Kafein

Mikroemulsi yang mengandung kafein dan tanpa kafein masing-masing sebanyak 1 ml dimasukkan dalam labu ukur 10 mL kemudian ditambah etanol 96% sampai tanda batas. Labu ukur tersebut kemudian di ultrasonik selama 30 menit agar bahan aktif terlarut sempurna. Secara teoritis larutan ini mengandung kafein dengan kadar 10 ppm. Kedua larutan tersebut disaring dengan kertas milipore dan diamati serapannya dengan spektrofotometer UV- Vis pada panjang gelombang 200- 400 nm (Ameliana, 2014).

3) Pembuatan Kurva Baku

Larutan baku kafein 100 ppm diencerkan dengan etanol 96% hingga diperoleh konsentrasi 2 ppm; 2,5 ppm, 3 ppm, 4 ppm, 5 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12.5 ppm, 15 ppm, dan 20 ppm. Masing-masing larutan ini serapannya diukur pada panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan dibuat kurva kalibrasinya (Ameliana, 2014).

4) Penetapan Kadar Kafein

Penetapan kadar kafein dalam sampel mikroemulsi dilakukan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis menggunakan panjang gelombang maksimum kafein. Sebanyak 10 μ L larutan mikroemulsi kafein dimasukkan kedalam labu ukur 10

ml dan ditambahkan etanol 96%. Dilakukan preparasi sampel sebanyak 3 kali replikasi. Sampel diuji absorbansinya dan dihitung kadarnya menggunakan rumus yang didapat dari kurva baku (Ameliana, 2014).

b. Uji Stabilitas Mikroemulsi Kafein

Parameter kuantitatif yang akan digunakan untuk melihat stabilitas sediaan mikroemulsi kafein adalah nilai pergeseran pH dan viskositas sediaan. Setiap formula terlebih dahulu diukur pH dan viskositas sebelum pengujian. Sediaan mikroemulsi yang dihasilkan diuji stabilitas dengan menggunakan metode *heating-cooling cycle*. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kestabilan dari sediaan mikroemulsi dengan melihat kejernihan dan keterpisahan fase. Sediaan mikroemulsi disimpan pada ruangan yang memiliki perbedaan suhu yang signifikan, ruangan dengan suhu dingin 4°C selama 24 jam dan suhu panas 40°C selama 24 jam (1 siklus). Percobaan diulang sebanyak 6 siklus selama 12 hari (Al Abood *et al.*, 2013). Selanjutnya, dilakukan pengukuran viskositas menggunakan instrumen Viskotester VT-03 dan pH menggunakan pH meter. Nilai pergeseran viskositas dan pH didapat dari mengurangi nilai viskositas dan pH setelah uji stabilitas dengan nilai sebelum uji stabilitas.

c. Uji Penetrasi *In Vitro* Mikroemulsi Kafein

Sediaan topikal mikroemulsi kafein yang baik harus memiliki kemampuan untuk menembus *barier* kulit, memberikan pelepasan obat yang optimal, dan mampu terdeposisi menuju lapisan kulit yang diinginkan. Studi penetrasi kulit secara *in vitro* dilakukan untuk mengukur kecepatan dan jumlah senyawa yang melewati kulit, dimana hal ini bergantung pada bahan aktif obat, bentuk sediaan, bahan eksipien, bahan peningkat penetrasi, dan variabel formulasi lainnya (Witt & Bucks, 2003). Uji penetrasi *in vitro* dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

1) Pembutan Dapar Fosfat Salin pH $7,4 \pm 0,05$

Larutan dapar fosfat salin pH $7,4 \pm 0,05$ dibuat dengan menimbang 1,44 g Na_2HPO_4 , 0,27 g KH_2PO_4 , 8 g NaCl, dan 0,2 g KCl dimasukkan kedalam *beaker glass* 1 liter, tambahkan dengan akuades bebas CO_2 sampai tanda dan dilarutkan. Kemudian dilakukan pengukuran pH larutan dapar salin dengan menggunakan pH meter hingga pH $7,4 \pm 0,05$. Apabila pH tidak sesuai, tambahkan NaOH atau HCl yang dapat membantu untuk mencapai pH yang diinginkan (Depkes RI, 1995).

2) Penyiapan Hewan Uji

Uji penetrasi *in vitro* dilakukan dengan menggunakan membran berupa kulit tikus bagian abdomen. Kulit tikus diperoleh dari tikus jantan galur Wistar dengan usia sekitar 2-3 bulan dengan berat 200–250 g (Yadav *et al.*, 2012). Tikus terlebih dahulu dibunuh dengan melakukan dislokasi pada leher. Rambut pada bagian abdomen dicukur hingga bersih. Lemak yang ada pada sisi dermis dihilangkan dengan skalpel. Kulit yang sudah bersih dipotong sesuai cetakan *franz diffusion cell* dan dapat langsung digunakan.

3) Penyiapan *Franz Diffusion Cell*

Alat uji penetrasi *franz diffusion cell* disusun dengan meletakkan kulit diantara kompartemen donor dan reseptor dengan bagian epidermis menghadap ke atas kompartemen donor, kemudian baut dan penyangga dipasang agar kulit tidak bocor, kemudian diletakkan di atas *waterbath* dengan suhu $37^\circ\text{C} \pm 0,2^\circ\text{C}$. Sediaan mikroemulsi kafein dimasukkan pada kompartemen donor *franz diffusion cell*, sedangkan kompartemen reseptor diisi dengan dapar fosfat salin pH $7,4 \pm 0,5$. (Yadav *et al.*, 2012).

4) Pengambilan Sampel

Uji penetrasi dilakukan selama 8 jam. Sampel diambil dari kompartemen reseptor sebanyak 3 mL pada menit ke-0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420, dan 480. Setiap pengambilan sampel

dilakukan penambahan dapar fosfat salin pH $7,4 \pm 0,05$ yang baru sebanyak 3 mL. Sampel yang diambil selanjutnya dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum kafein (Yadav *et al.*, 2012). Jumlah kumulatif obat yang terpenetrasi per luas area difusi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) dapat dihitung dengan rumus (Thakker & Chern, 2003)

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

Keterangan:

Q	=	Jumlah kumulatif kafein yang terpenetrasi per luas area difusi ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
C _n	=	Konsentrasi kafein ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pada sampling menit ke-n
$\sum_{i=1}^{n-1} C_i$	=	Jumlah konsentrasi kafein ($\mu\text{g}/\text{mL}$) pada sampling pertama (menit ke (n-1) hingga sebelum menit ke-n)
V	=	Volume sel difusi Franz
S	=	Volume sampling (3 mL)
A	=	Luas area membran

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

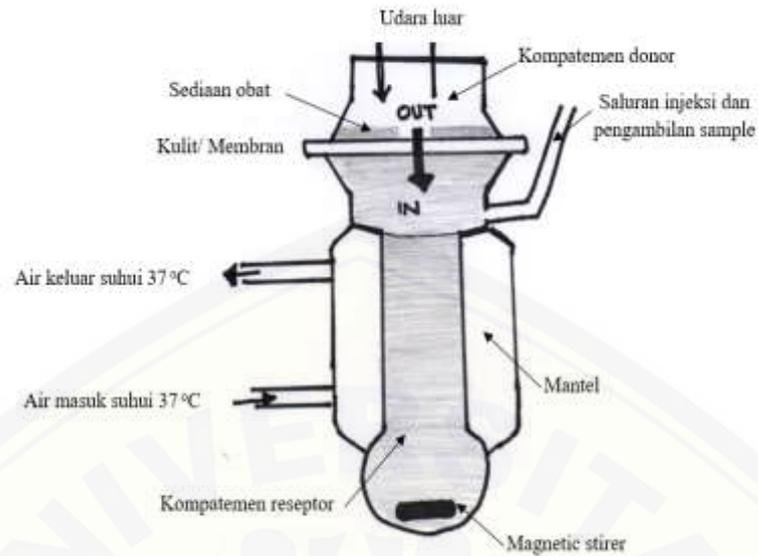
$$J = \frac{M}{S \cdot t}$$

Keterangan:

J	=	<i>Fluks</i> ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$ menit)
S	=	Luas area difusi (cm^2)
M	=	Jumlah kumulatif kafein yang melalui membran (μg)
t	=	Waktu (menit)

Setelah itu dibuat grafik jumlah kumulatif yang terpenetrasi (μg) per luas area difusi (cm^2) terhadap waktu (jam) (Thakker & Chern, 2003).

Susunan Franz diffusion Cell ditunjukkan pada Gambar 3.2



Gambar 3.2 Susunan Franz Diffusion Cell

3.5.5 Penentuan Formula Optimum

Penentuan formula optimum dilakukan dengan menganalisis data respon yang didapatkan yaitu respon pergeseran viskositas, pergeseran pH, dan nilai *fluks* yang didapatkan dari pengujian penetrasi. Nilai respon yang didapatkan digunakan untuk menentukan nilai koefisien b_0 , b_1 , b_2 , dan b_{12} yang memenuhi persamaan $Y = b_0 + b_1X_A + b_2X_B + b_{12}X_A X_B$. Dari data yang didapatkan dan nilai koefisien dapat dibuat *contour plot* dengan menggunakan aplikasi *Desain Expert 9.0*. Pembuatan *contour plot* meliputi nilai pergeseran viskositas, pergeseran pH, dan nilai *fluks* hasil uji penetrasi mikroemulsi kafein sehingga dapat diketahui efek faktor nilai HLB kombinasi surfaktan (tween 80 dan span 80) dan konsentrasi CPE isopropil miristat terhadap respon serta efek kombinasi faktor terhadap respon. Aplikasi *Design Expert 9.0* akan menunjukkan formula optimum mikroemulsi kafein yaitu formula yang memiliki stabilitas kemampuan penetrasi yang terbaik. Stabilitas sediaan yang terbaik dapat ditentukan dengan melihat nilai pergeseran viskositas dan pergeseran pH sediaan mikroemulsi kafein yang terkecil, sedangkan kemampuan penetrasi sediaan mikroemulsi kafein yang terbaik ditinjau dari nilai *fluks* yang terbesar.

3.5.6 Evaluasi Formula Optimum Mikroemulsi Kafein

a. Penetapan Kadar Mikroemulsi Kafein

Penetapan kadar kafein dalam sampel mikroemulsi dengan formula optimum dilakukan menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis menggunakan panjang gelombang maksimum kafein. Sebanyak 10 μ L larutan mikroemulsi kafein dimasukkan kedalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan etanol 96%. Dilakukan preparasi sampel sebanyak 3 kali replikasi. Sampel diuji absorbansinya dan dihitung kadarnya menggunakan rumus yang didapat dari kurva baku (Ameliana, 2014).

b. Pengujian Fisika Mikroemulsi Kafein

1) Pengamatan Organoleptis

Pengujian organoleptis mikroemulsi kafein dilakukan dengan pengamatan visual meliputi warna, bau kekentalan, dan kekeruhan/ kejernihan

2) Pengujian Viskositas

Pengujian viskositas dilakukan dengan menggunakan alat *Viscotester* VT-03 pada suhu ruang. Pasang spindel dengan ukuran tertentu pada rotor viskotester. Sebanyak 100 ml sediaan ditempatkan dalam beaker glass dan diukur viskositasnya dengan menggunakan spindel yang dicelupkan dalam sampel. Apitan jarum meter dipindahkan hingga berlawanan arah dan nyalakan tombol *on* pada viskotester. Nilai viskositas sediaan dapat terlihat melalui rotor viskotester (Langenbacher & Lange, 2007). Viskositas untuk mikroemulsi yang diharapkan yakni antara 0,1-10 dPas (Rosano, 1984)

3) Pengujian pH

Mikroemulsi kafein yang telah dibuat diuji pH dengan menggunakan pH meter. Pengujian pH dilakukan dengan cara meletakkan sampel dalam gelas beker, selanjutnya elektroda pH meter dicelupkan ke dalam gelas beker tersebut. Keasaman (pH) sediaan diketahui dari angka yang ditunjukkan oleh pH meter

digital (Saleem & Bala, 2010). Keasaman (pH) sediaan mikroemulsi yang diharapkan yakni antara 4,5 – 6,5 sebab pH kulit memiliki rentang 4,5 – 6,5. Jika sediaan mikroemulsi terlalu asam atau basa maka akan menyebabkan iritasi kulit (Purnamasari, 2012).

4) Pengujian Bobot Jenis

Bobot jenis mikroemulsi diukur dengan menggunakan piknometer pada suhu ruangan. Piknometer yang bersih dan kering ditimbang (A g) kemudian diisi dengan air sampai penuh dan ditimbang (A1 g). Air dikeluarkan dari piknometer dan piknometer dibersihkan. Sediaan mikroemulsi diisikan dengan piknometer sampai penuh dan ditimbang (A2 g) Bobot jenis sediaan diukur dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Bobot jenis} = \frac{A2-A}{A1-A} = \dots \text{ g/ml} \quad (\text{Depkes, 1995}).$$

5) Analisis Fase Mikroemulsi

Pemeriksaan tipe mikroemulsi dilakukan dengan menaburkan zat warna *metilen blue* pada permukaan sediaan di atas kaca objek dan diamati. Jika sediaan merupakan tipe minyak dalam air maka zat warna *metilen blue* akan melarut di dalamnya dan berdifusi merata ke seluruh bagian air, jika sediaan merupakan tipe air dalam minyak maka partikel-partikel zat warna *metilen blue* akan bergerombol di permukaan, kemudian dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop elektron untuk mengetahui kelarutan *metilen blue* pada sediaan (Purnamasari, 2012).

c. Karakterisasi Mikroemulsi

1) Penentuan Ukuran Partikel

Ukuran partikel atau globul mikroemulsi ditentukan dengan menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*) SZ- 100. Setelah alat

siap digunakan, sampel sediaan mikroemulsi sejumlah tertentu dimasukkan dalam kuvet kemudian tunggu hingga layar monitor menunjukkan keterangan *OK* ataupun *High* yang menunjukkan bahwa sampel siap untuk diukur. Memilih menu *particle size*. Pengukuran berlangsung hingga pada layar monitor memperlihatkan adanya grafik hubungan antara diameter globul (μm) dengan frekuensi (%) (Horiba, 2012). Ukuran partikel yang diharapkan adalah ukuran yang memasuki rentang antara 10–140 nm (Muzaffar *et al.*, 2013)

2) Distribusi Partikel

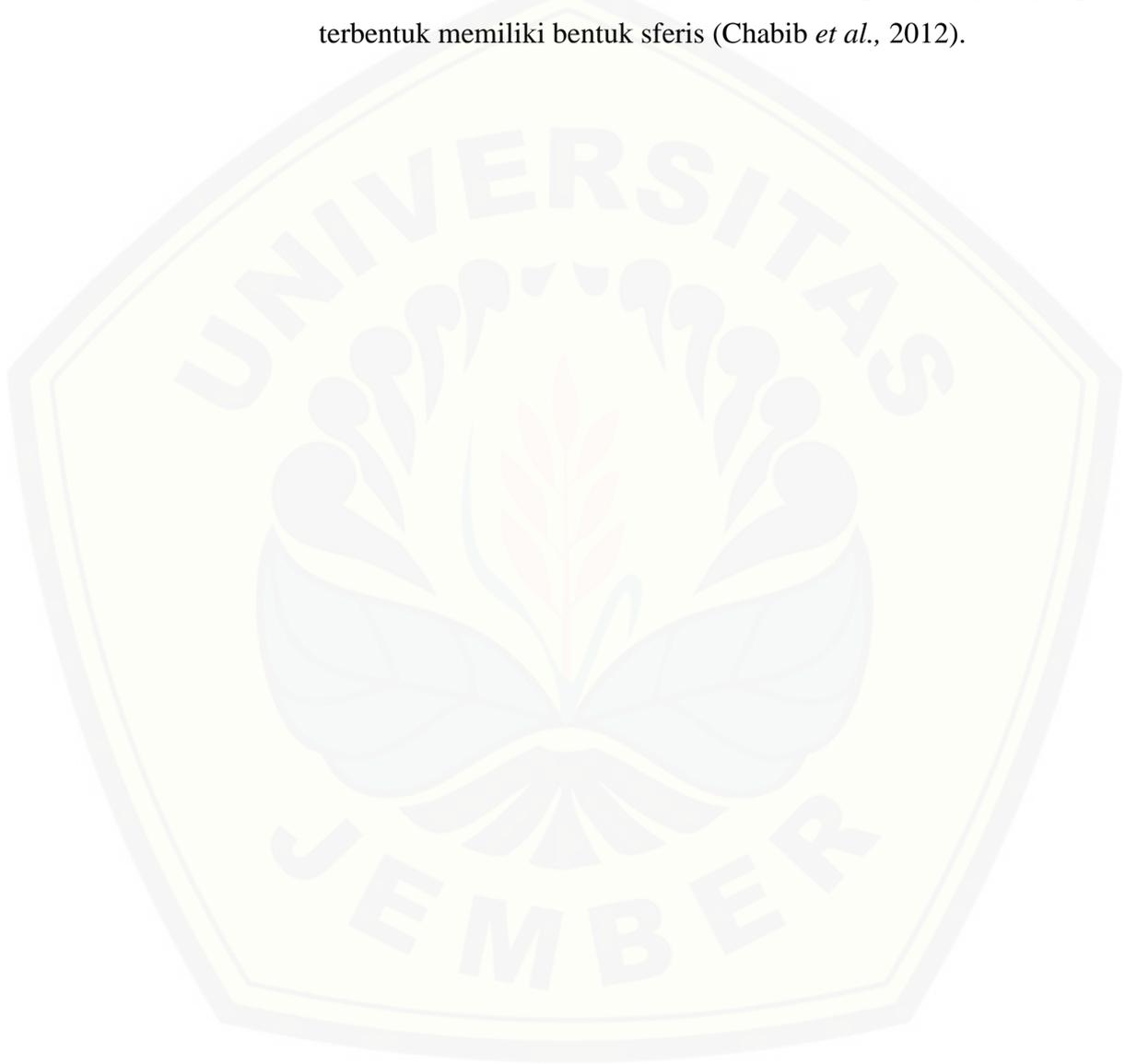
Pengujian distribusi partikel mikroemulsi dilakukan dengan menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*) SZ- 100. Pengukuran distribusi ukuran globul dengan memilih *alignment* (untuk menyiapkan dan mengatur detektor), *measuring offsets* (untuk menyiapkan dan mengatur detektor), *measuring background* (untuk menyiapkan dan mengatur background), *measuring loading* (untuk pengukuran sampel). Distribusi ukuran partikel dinyatakan dalam indeks polidispersitas. Indeks polidispersitas dikategorikan menjadi dua, yaitu monodispersi (unimodal) dan polidispersi (bimodal). Nilai indeks polidispersitas yang masuk dalam rentang monodispersi adalah dalam rentang 0,01-0,7 sedangkan untuk nilai indeks polidispersitas yang masuk dalam kategori polidispersitas adalah $> 0,7$ (Nidhin *et al.*, 2008).

3) Pengukuran Zeta Potensial

Zeta potensial merupakan karakteristik yang menunjukkan sifat dispersi mikroemulsi. Zeta potensial diuji pada mikroemulsi yang paling stabil, ditentukan dengan menggunakan PSA SZ-100 (Horiba, 2012). Sistem dispersi dapat dikatakan stabil jika memiliki nilai zeta potensial lebih besar dari +30 mV atau lebih kecil dari -30 mV (Mardiyati *et al.*, 2012).

4) Pengamatan Morfologi Mikroemulsi Kafein

Penentuan morfologi mikroemulsi dilakukan pada sediaan mikroemulsi yang memiliki stabilitas terbaik menggunakan TEM (*Transmission Electron Microscope*), diharapkan *droplet* yang terbentuk memiliki bentuk sferis (Chabib *et al.*, 2012).



BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Faktor nilai HLB kombinasi memberikan pengaruh yang signifikan terhadap stabilitas dan kemampuan penetrasi. Nilai HLB yang semakin tinggi akan menurunkan nilai pergeseran pH, viskositas, dan nilai fluks penetrasi mikroemulsi. Faktor konsentrasi IPM memberikan pengaruh yang signifikan pada kemampuan penetrasi. Konsentrasi IPM yang semakin tinggi menurunkan nilai pergeseran viskositas dan pH, serta meningkatkan fluks penetrasi. Interaksi antara kedua faktor dapat meningkatkan pergeseran viskositas, namun dapat menurunkan pergeseran pH dan nilai fluks obat.
2. Formula optimum mikroemulsi kafein memiliki nilai HLB kombinasi surfaktan 14,22 dan konsentrasi IPM 10%.
3. Karakteristik formula optimum mikroemulsi kafein yang dihasilkan adalah tipe mikroemulsi minyak dalam air (M/A), pH 5,84, bobot jenis 1,030 g/ml, dan viskositas 1,07 dPas. Karakteristik fisik mikroemulsi kafein memiliki *droplet* berbentuk sferis, ukuran partikel rata-rata 43 nm, bersifat menodispersi dengan indeks polidispersi sebesar 0,572, dan nilai zeta potensial $-0,2$ mV.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji efektifitas aktivitas antikanker pada sediaan mikroemulsi kafein dengan formula optimum secara *in vitro* maupun *in vivo*.



DAFTAR PUSTAKA

- Abel, Hendrix, McNeeley, Johnson, Rosenberg, Mossavar, Rahmani, Vitolins, & Kruger. 2007. Daily Coffee Consumption and Prevalence of Nonmelanoma Skin Cancer in Caucasian Women. *Eur J Cancer Prev*, 6. 446–452.
- Ahad, Aqil, Kohli, Chaudhary, Sultana, Mujeeb, & Talegaonkar. 2009. Chemical Penetration Enhancers: A Patent Review. *Expert Opin Ther Pat*, 19 (7).
- Agrawal, Giri, Tripathi, Ajazuddin, & Alexander. 2012. A Review on Novel Therapeutic Strategies for The Enhancement of Solubility for Hydrophobic Drugs through Lipid and Surfactant Based Self Micro Emulsifying Drug Delivery System: A Novel Approach. *Amer J Drug Disc Devel*, 2(4), 143-183.
- Al Abood, Raid, Talegaonkar, Tariq, & Ahmad. 2013. Microemulsion as a Tool for the Transdermal Delivery of Ondansetron for the Treatment of Chemotherapy Induced Nausea and Vomiting. *Colloids and Surfaces B*, 101, 143–151.
- Alam, Baboota, Ali, Ali, Alam, Alam, & Ali. 2012. Accelerated Stability Testing of Betamethasone Dipropionate Nanoemulsion. *Int J Pharm Pharm Sci*, 4(4), 76–77.
- Ameliana, L. 2014. *Pengaruh Penambahan Alpha Hydroxy Acid terhadap Laju Pelepasan dan Penetrasi In Vitro Kafein Sebagai Gel Antiselulit*. Universitas Jember.
- Arellano, Santoyo, Martin, & Ygartua. 1998. Surfactant Effects on the In Vitro Perutaneous Absorption of Diclofenac Sodium. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 23, 301 – 312.
- Basheer, H. S., Noordin, M. I., & Ghareeb, M. M. 2013. Characterization of Microemulsions Prepared Using Isopropyl Palmitate with Various Surfactants and Cosurfactants. *Trop J Pharm Res*, 12(3), 305-310.
- Bolton, S. & Bon, C., 2004. *Pharmaceutical Statistics: Practical and Clinical Applications* Fourth Edi., New York: Marcel Dekker, Inc.

- Chabib, L., Martien, R., & Ismail, H. 2012. Formulation of Nanocurcumin Using Low Viscosity Chitosan Polymer and Its Cellular Uptake Study Into T47d Cells. *Indonesian J. Pharm*, 23, 27 – 35.
- Chemmunique. 1980. *The HLB Systems, a Time Saving Guide to Emulsifier Selection*. Wilmington: ICI Americas Inc.,
- Chen, Tan, Wang, & Liu. 2012. Assessment of The Percutaneous Penetration of Indomethacin From Soybean Oil Microemulsion: Effects of The HLB Value of Mixed Surfactants. *Die Pharmazie-An Int J Pharm Sci*, 67(1), 31-36.
- Chu, D.H. 2008. Overview of Biology, Development, and Structure of Skin. In K. Wolff, L.A. Goldsmith, S.I. Katz, B.A. Gilchrest, A.S. Paller, & D.J. Leffell (Eds.), *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine* (7th ed., pp. 57–73). New York: McGraw-Hill.
- Cipto H. 2010. Patients Characteristic in Skin Tumor and Skin Surgery Division, Department of Dermatovenereology FKUI/RSCM, Jakarta. *Indones J Oncol*. *In press*.
- Date, Abhijit & M.S Nagarsenker. 2008. Parenteral Microemulsion: An Over View. *Int J Pharm* 355, 19–30.
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Dibbern, H.W., R.M. Muller, & E. Wirbitzki. 2002. *UV and IR Spectra: Pharmaceutical Substances (UV and IR) and Pharmaceutical and Cosmetic Excipients (IR)*. Germany: Editio Cantor Verlag.
- Djekic, L., Primorac, M., & Jockovic, J. 2011. Phase Behaviour, Microstructure and Ibuprofen Solubilization Capacity of Pseudo-Ternary Nonionic Microemulsions. *J Mol Liq*, 160(2), 81-87.
- Dragicevic, N., Atkinson, J. P., & Maibach, H. I. 2015. Chemical Penetration Enhancers: Classification and Mode of Action. In *Percutaneous Penetration Enhancers Chemical Methods in Penetration Enhancement* (pp. 11-27). Springer Berlin Heidelberg.
- Engelbrecht, Demé, Dobner, & Neubert. 2012. Study of The Influence of The Penetration Enhancer Isopropyl Myristate on The Nanostructure of Stratum Corneum Lipid Model Membranes Using Neutron Diffraction And Deuterium Labelling. *Skin Pharmacol Physiol*, 25 (4), 200-207.

- Ermer, J. & Miller, J. , H. 2005. *Method Validation in Pharmaceutical Analysis A Guide to Best Practice*. Weinheim: Villey-VHC Verlag GmbH & Co.KgaA.
- Fanun M. 2009. *Microemulsions Properties and Applications*. New York: Taylor and Francist.
- Fanun, M. 2012. Microemulsions as Delivery Systems. *Curr Opin Colloid In*,17(5), 306-313.
- Ganiswarna, S. G. 1995. *Farmakologi Dan Terapi*. 4th ed. Jakarta: Indonesia University Press.
- Grampurohit, N., Ravikumar, P., & Mallya, R. 2011. Microemulsions for Topical Use-A Review. *Indian J Pharm Educ*,45(1), 100-107.
- Haake, A.R., & Hollbrook, K. 1999. The Structure and Development of Skin. In I. Freedberg, A. Eisen, K. Wolff, K. Austen, L. Goldsmith, S. Katz, et al. (Eds.), *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine* (5th ed., pp. 70–111). New York: McGrawHill.
- Han, W., Ming, M., & He, Y. Y. 2011. Kafeine Promotes Ultraviolet B-Induced Apoptosis in Human Keratinocytes without Complete DNA Repair. *J Biol Chem*,286 (26), 22825-22832.
- Heffernan, Kawasumi, Blasina, Anderes, Conney, & Nghiem. 2009. ATR–Chk1 Pathway Inhibition Promotes Apoptosis After UV Treatment in Primary Human Keratinocytes: Potential Basis for The UV Protective Effects of Kafeine. *J Invest Dermatol*,129 (7), 1805-1815.
- Herman, A., & Herman, A. P. 2013. Caffeine's Mechanisms of Action and its Cosmetic Use. *Skin Pharmacol Physi*, 26 (1), 8-14.
- Hey, M. J., & Kingston, J. G. 2006. Maximum Stability of a Single Spherical Particle Attached to an Emulsion Drop. *J Colloid Interf Sci*, 298 (1), 497-499.
- Horiba. 2012. *Guidebook to Particle Size Analysis*. USA: Horiba Instrument Corporation.
- Huber, L. 2007. *Validation and Qualification in Analytical Laboratories 2nd Edition*. New York: Informa Healthcare USA, Inc.
- Jackson, Williams, Feingold, & Elias. 1993. Pathobiology of The Stratum Corneum. *Western J Med*, 158(3), 279–285.

- James, W.D., Berger, T.G., & Elston, D.M. 2006. *Andrews' Diseases of The Skin: Clinical Dermatology* (10th Ed.). Philadelphia: Elsevier Saunders
- Kinatakis, J. 2002. Anatomy, Histology and Immunohistochemistry of Normal Human Skin. *Eur J Dermatol*, 12(4), 390-9.
- Kogan, A., Aserin, A., & Garti, N. 2007. Improved Solubilization of Carbamazepine and Structural Transitions in Nonionic Microemulsions Upon Aqueous Phase Dilution. *J Colloid Interf Sci*, 315(2), 637-647.
- Kothari, C.R., 2004. *Research Methodology: Methods & Techniques* Second Edi., New Delhi: New Age International.
- Kramata, Lu, Lou, Cohen, Olcha, Liu, & Conney. 2005. Effect of administration of caffeine or green tea on the mutation profile in the *p53* gene in early mutant *p53*-positive patches of epidermal cells induced by chronic UVB-irradiation of hairless SKH-1 mice. *Carcinogenesis*, 26 (11), 1965–1974.
- Langenbucher & Lange. 2007. Reologi Farmasetik. Dalam Lachman, L.L, Kanig, H.A., and Joseph, L. *Teori dan Praktek Farmasi Industri II*. Edisi Ketiga. No 1 Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- León-Carmona, & Galano. 2011. Is Caffeine A Good Scavenger Of Oxygenated Free Radicals?. *The Journal of Physical Chemistry B*, 115(15), 4538-4546.
- Lopes, L. B. 2014. Overcoming the Cutaneous Barrier with Microemulsions. *Pharmaceutics*, 6(1), 52-77.
- Ma, Yu, Lei, Tan, & Li. 2015. A Novel Topical Targeting System of Caffeine Microemulsion for Inhibiting UVB-Induced Skin Tumor: Characterization, Optimization, and Evaluation. *AAPS PharmSciTech*, 1-9.
- Mahato, R. I. & Ajit S. Narang. 2012. *Pharmaceutical Dosage Form and Drug Delivery Second Edition*. Boca Raton : CRC Press
- Mardiyati, Muttaqien, Setyawati, Rosidah, & Sriningsih. 2012. Preparasi dan Aplikasi Nanopartikel Kitosan sebagai Sistem Penghantaran Insulin Secara Oral. *Prosiding InSINas MT-25*, hal: 25-30.
- Martin, A., Swarbrick, J., & Cammarata, A. 1993. *Physical Pharmacy*. 3rd ed. Philadelphia: Lea & Febriger.

- Miura, Hughes, Green, & Van. 2014. Kafeine Intake and Risk of Basal Cell and Squamous Cell Carcinomas of the Skin in an 11-Years Prospective Study. *Eur J of Nutr*, 53(2), 511-520.
- Mustapha, Lafforgue, Fenina, & Marty. 2011. Influence of Drug Concentration on the Diffusion Parameters of Caffeine. *Indian J Pharmacol*, 43, 157–162.
- Muzaffar, F. A., Singh, U. K., & Chauhan, L. Asch. (2013). Review on Microemulsion as Futuristic Drug Delivery. *Int J Pharm Pharm Sci*, 5, 39-53.
- Moffat, A.C., Osselton, M.D., & Widdop, B. 2005. *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons. Third Ed.* London: Pharmaceutical Press.
- Mohanraj, VJ & Chen Y. 2006. Nanoparticles - A Review. *Trop J Pharm Res*, 5(1). 561-573.
- Narayanan, D. L., Saladi, R. N., & Fox, J. L. 2010. Review: Ultraviolet Radiation and Skin Cancer. *Int J Dermatol*, 49(9), 978-986.
- National Academy of Sciences. 2015. *The Depletion Of Earth's Ozone Layer Discovery and Response.* National Academy of Sciences.
- Nidhin, Indumathy, Sreeram, & Nair. 2008. Synthesis of Iron Oxide Nanoparticles of Narrow Size Distribution on Polysaccharide Templates. *Bulletin of Materials Science*, 31. 93–96.
- Nisa, Radhia, Gani, Fatima, Aisyah, & Nursamsiar. 2013. Uji Efektifitas Beberapa Senyawa sebagai Peningkat Penetrasi terhadap Laju Difusi Krim Asam Kojat Tipe Minyak dalam Air secara In Vitro. *Pharmacy, Jurnal Farmasi Indonesia*, 10(01).
- O'Neil, M.J. (ed.). 2013. *The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals.* Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry.
- Patel, R. P., Gaiakwad, D. R., & Patel, N. A. 2014. Formulation, Optimization, and Evaluation of a Transdermal Patch of Heparin Sodium. *Drug Discov Ther*, 8(4), 185-193.
- Pasquali, R. C., Taurozzi, M. P., & Bregni, C. 2008. Some Considerations About the Hydrophilic–Lipophilic Balance System. *Int J Pharm*, 356(1), 44-51.

- Puglia, Offerta, Tirendi, Tarico, Curreri, Bonina, & Perrotta. 2014. Design of Solid Lipid Nanoparticles for Caffeine Topical Administration. *Drug Delivery*, (0), 1-5.
- Purnamasari, S.D. 2012. Formulasi dan Uji Penetrasi Natrium Diklofenak dalam Emulsi dan Mikroemulsi Menggunakan Virgin Coconut Oil (VCO) sebagai Fase Minyak. *Skripsi* : Universitas Indonesia.
- Rahmawanty, Dina, Anwar Effionora, & Bahtiar Anton. 2014. Formulasi Gel Menggunakan Serbuk Daging Ikan Haruan (*Channa Striatus*) sebagai Penyembuh Luka. *Media Farmasi* 11 (1): 29–40.
- Rosano, H.L. 1984. High Viscosity Microemulsions. *Int. Cl.* United State Patent
- Rowe, R.C., Sheckey, P.J., & Quinn, M.E., 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients, Sixth Edition*. London: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association.
- Saini, Nautiyal, Kumar, Singh, & Anwar. 2014. Microemulsions: A potential novel drug delivery system. *Int J Pharm Med Res*. 2(1):15-20
- Saleem, M.A. & Bala, S. 2010. Formulation and Evaluation of Meloxicam Solid Dispersion Incorporated Topical Gels. *Int J Pharm Biol Sci*, 1(3).
- Schwarz, Klang, Hoppel, Mahrhauser, & Valenta. 2012. Natural Microemulsions: Formulation Design and Skin Interaction. *Eur J Pharm Biopharm*, 81(3), 557-562.
- Schroeter, Eichner, Mueller, & Neubert. 2015. Penetration Enhancers and Their Mechanism Studied on a Molecular Level. In *Percutaneous Penetration Enhancers Chemical Methods in Penetration Enhancement*. Springer Berlin Heidelberg. pp. 29-37
- Shah, Rohan, Eldridge Daniel, Palombo Enzo, & Harding Ian. 2014. Optimisation and Stability Assessment of Solid Lipid Nanoparticles Using Particle Size and Zeta Potential. *Journal of Physical Science* 25 (1): 59– 75
- Shah, V. P., & Williams, R. L. 2014. Transdermal Drug Delivery Systems. In *Topical Drug Bioavailability, Bioequivalence, and Penetration* (pp. 319-328). Springer New York.

- Shakeel, Baboota, Ahuja, Ali, & Shafiq. 2008. Celecoxib Nanoemulsion: Skin Permeation Mechanism and Bioavailability Assessment. *J Drug Target*, 16(10), 733-740.
- Silva, A. E., Barratt, G., Chéron, M., & Egito, E. S. T. (2013). Development of Oil-in-Water Microemulsions for the Oral Delivery of Amphotericin B. *Int J Pharm*, 454(2), 641-648.
- Sinko, P. J. 2011. *Martin Farmasi Fisik dan Ilmu Farmasetika Edisi 5*. Jakarta: EGC Kedokteran.
- Sintov, A. C. & Greenberg, I. 2014. Comparative Percutaneous Permeation Study Using Caffeine-Loaded Microemulsion Showing Low Reliability of The Frozen/Thawed Skin Models. *Int J Pharm*, 471(1), 516-524.
- Thakker, K.D., & Chern, W.H. 2003. Development and Validation of In Vitro Release Tests for Semisolid Dosage Forms-Case Study. *Dissolut Technol2003*, 10-15.
- Toutou, Levi-Schafferm, Dayan, Alhaique, & Riccieri. 1994. Modulation of Caffeineskin Delivery by Carrier Design: Liposomes Versus Permeation Enhancers. *Int J Pharm*;103:131–136.
- Tranggono, R. I., & Latifah, F. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Editor: Joshita Djajadisastra, Pharm., MS, Ph. D, Jakarta: Penerbit Pustaka Utama.
- U.S. Cancer Statistics Working Group. 2015. *United States Cancer Statistics: 1999–2012 Incidence and Mortality Web-based Report*. Atlanta (GA): Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, and National Cancer Institute.
- Valenta, C., & Szabo, I. A. 1995. In Vitro Diffusion Studies of Ketoprofen Transdermal Therapeutic Systems. *Drug Development And Industry Pharmacy* 21 (15): 1799– 1805
- Van Gele, Geusens, Brochez, Speeckaert, & Lambert. 2011. Three-Dimensional Skin Models as Tools for Transdermal Drug Delivery: Challenges and Limitations. *Expert Opin Drug Del*, 8(6), 705-720.
- Walters & Kenneth, A. 2002. *Dermatological and Transdermal Formulation*. New York: Marcel Dekker Inc.

- Williams, A. C., & Barry, B. W. 2012. Penetration Enhancers. *Adv Drug Deliver Rev*, 64, 128-137.
- Witt, K. & Bucks, D. 2003. *Studying In Vitro Skin Preparation and Drug Release to Optimize Dermatological Formulations*. In *Pharmaceutical Technologies*. USA : Advanstar Ommunication Inc.
- World Health Organization. 2006. *Exposure to Artificial UV Radiation and Skin Cancer*. International Agency for Research on Cancer World Health Organization.
- Wu, Lin, Chang, Huang, & Tsai. 2010. The Effect of Component of Microemulsion for Transdermal Delivery of Nicardipine Hydrochloride. *Drug Dev Ind Pharm*, 36(12), 1398-1403.
- Yadev, Bhai, Mamatha, & Prasanth. 2012. Transdermal Drug Delivery: A Technical Writeup. *J Pharm Sci Innov* 1 (1): 5-12.

LAMPIRAN

