# FORMULASI SEDIAAN MIKROEMULSI TOPIKAL VITAMIN C PALMITAT TIPE MINYAK DALAM AIR

**SKRIPSI**




Oleh :

HERNINGGAR AULIA ANGGANI
08613076

JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2012

# FORMULASI SEDIAAN MIKROEMULSI TOPIKAL VITAMIN C PALMITAT TIPE MINYAK DALAM AIR

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.)

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia Yogyakarta


Oleh :

HERNINGGAR AULIA ANGGANI

08613076



JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
MEI 2012

ii

SKRIPSI

FORMULASI SEDIAAN MIKROEMULSI TOPIKAL
VITAMIN C PALMITAT TIPE MINYAK DALAM AIR

Yang diajukan oleh :

HERNINGGAR AULIA ANGGANI
08613076

Telah disetujui oleh :

| Pembimbing Utama, | Pembimbing Pendamping |
| --- | --- |
| T.N Saifullah S., S.Si., M.Si., Apt | Bambang Hernawan N, S.Farm., Apt |

iii

SKRIPSI

FORMULASI SEDIAAN MIKROEMULSI TOPIKAL
VITAMIN C PALMITAT TIPE MINYAK DALAM AIR

Oleh :

HERNINGGAR AULIA ANGGANI
08613076

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal : 9 Mei 2012

Ketua Penguji : T.N Saifullah S., S.Si., M.Si., Apt ( )

Anggota Penguji :

1. Bambang Hernawan N, S.Farm., Apt ( )
2. Yandi Syukri, M.Si., Apt ( )
3. Dra. Mimiek Murukmihadi , SU., Apt ( )

Mengetahui
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Yandi Syukri, M.Si., Apt

# PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya, juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, April 2012

Penulis

Herninggar Aulia Anggani

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya ini kupersembahkan untuk ibuku tercinta, ayahku tersayang, adekku Ardhi Imantaka dan Ahmad Laroybafih, kamu Setiyo Nugroho S.T., sahabatku, serta seluruh teman-temanku yang telah memberikan doa, dukungan, pengertian dan perhatiannya kepadaku

# KATA PENGANTAR

*Assalamualaikum, Wr. Wb.*

Alhamdulillah, dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan kekuatan dan petunjukNya sehingga Tugas Akhir yang berjudul *"FORMULASI SEDIAAN MIKROEMULSI TOPIKAL VITAMIN C PALMITAT TIPE MINYAK DALAM AIR"* dapat selesai sesuai dengan waktu yang diharapkan.

Tugas Akhir ini disusun sebagai persyaratan untuk menyelesaikan jenjang strata satu (S1) di Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Unversitas Islam Indonesia. Kelancaran dalam pembuatan Tugas Akhir ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Pada kesempatan ini, ucapan terimakasih tidak lupa disampaikan kepada:

1. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia
2. Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
3. Bapak T.N Saifullah S., S.Si., M.Si., Apt selaku pembimbing I dan Bapak Bambang Hernawan Nugroho S.Farm., Apt selaku pembimbing II yang telah banyak memberi masukan dan bimbingannya kepada penulis.
4. Kedua orang tuaku, yang telah sabar menyemangati, dan mendoakan anaknya dalam menyelesikan Tugas Akhir.

5. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu penyusunan Tugas Akhir ini hingga dapat selesai dengan baik dan sesuai dengan waktu yang diharapkan.

Ibarat *tiada gading yang tak retak,* disadari sepenuhnya bahwa Tugas Akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, sangat diharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun agar bisa lebih baik lagi di keesokan harinya.

Akhir kata, semoga tugas akhir ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak. Sekian dan terima Kasih.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

Yogyakarta, April 2012

Penulis

# DAFTAR ISI

Halaman

Halaman Judul ..... i
Lembar Pengesahan Pembimbing .....ii
Lembar Pengesahan Penguji .....iii
Lembar Pernyataan .....iv
Lembar Persembahan .....v
**KATA PENGANTAR** ..... vi
**DAFTAR ISI** .....viii
**DAFTAR GAMBAR** ..... x
**DAFTAR TABEL** .....xii
**DAFTAR LAMPIRAN** ..... xiii
**INTISARI** .....xiv
**ABSTRAC** ..... xv
**BAB I : PENDAHULUAN** ..... 1
A. Latar Belakang Masalah ..... 1
B. Rumusan Masalah ..... 2
C. Tujuan Penelitian ..... 3
D. Manfaat Penelitian ..... 3
**BAB II : STUDI PUSTAKA** ..... 4
A. Tinjauan Pustaka ..... 4
1. Vitamin C Palmitat ..... 4
2. Mikroemulsi .....4
3. Monografi Bahan ..... 7
4. HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) .....11
B. Landasan Teori .....14
C. Hipotesis .....15
**BAB III : METODE PENELITIAN** ..... 16
A. Alat dan Bahan ..... 16
B. Skematika Kerja .....16
C. Cara Penelitian ..... 18
D. Analisis Hasil .....21

Halaman

**BAB IV : HASIL DAN PENELITIAN**..... 22
A. Jumlah Surfaktan Dalam Formula ..... 22
B. Mikroemulsi Vitamin C Palmitat ..... 22
C. Evaluasi Sediaan Mikroemulsi ..... 23
I. Sifat fisik dan kimia mikroemulsi topikal vitamin C palmitat sebelum perlakuan ..... 23
1. Organoleptis ..... 23
2. Pemisahan fase ..... 24
3. Ukuran Globul ..... 25
4. Viskositas dan pH ..... 26
5. Kadar Vitamin C Palmitat ..... 27
a. Penetapan Kurva Baku ..... 28
b. Penetapan Linieritas ..... 28
c. Penetapan LOD dan LOQ ..... 28
d. Penetapan Presisi dan Akurasi ..... 29
e. Penetapan Kadar Vitamin C Palmitat Sebelum Perlakuan ..... 30
II. Stabilitas fisik dan kimia mikroemulsi topikal vitamin C palmitat setelah perlakuan ..... 31
a. Stabilitas Fisik ..... 31
1. Organoleptis ..... 31
2. Pemisahan fase ..... 33
3. Ukuran Globul ..... 34
4. Viskositas ..... 36
b. Stabilitas Kimia ..... 39
1. pH ..... 39
2. Kadar Vitamin C Palmitat ..... 41
**BAB V : KESIMPULAN DAN SARAN** ..... 46
A. Kesimpulan ..... 46
B. Saran ..... 46
**DAFTAR PUSTAKA** ..... 47
**LAMPIRAN** ..... 50

# DAFTAR GAMBAR

Halaman


Gambar 1. Struktur molekul vitamin C palmitat..... 8
Gambar 2. Struktur molekul *isopropyl meristate*..... 8
Gambar 3. Struktur molekul tween 80..... 9
Gambar 4. Struktur molekul propilen glikol.....10
Gambar 5. Struktur molekul lesitin.....11
Gambar 6. Skematika kerja.....17
Gambar 7. Sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat sebelum perlakuan..... 23
Gambar 8. Ukuran globul mikroemulsi topikal vitamin C palmitat sebelum perlakuan..... 25
Gambar 9. Kurva baku vitamin C palmitat.....28
Gambar 10. Perubahan warna sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat pada suhu $25^0$C..... 32
Gambar 11. Perubahan warna sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat pada suhu $40^0$C..... 32
Gambar 12. Perubahan ukuran globul formula 3 pada suhu $25^0$C..... 34
Gambar 13. Perubahan ukuran globul formula 3 pada suhu $40^0$C..... 35
Gambar 14. Grafik perubahan viskositas sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat pada suhu $25^0$C ( n=3 )..... 36
Gambar 15. Grafik perubahan viskositas sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat pada suhu $40^0$C ( n=3 )..... 37
Gambar 16. Grafik perubahan pH sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat pada suhu $25^0$C ( n=3 )..... 39
Gambar 17. Grafik perubahan pH sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat pada suhu $40^0$C ( n=3 )..... 40
Gambar 18. Grafik perubahan kadar vitamin C palmitat sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat pada suhu $25^0$C ( n=3 )..... 41

Gambar 19. Grafik perubahan kadar vitamin C palmitat sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat pada suhu $40^0$C ( n=3 )..... 43

Gambar 20. Kromatogram vitamin C palmitat formula 3 suhu $25^0$C minggu keempat..... 44

# DAFTAR TABEL

Halaman


Tabel I. Formula mikroemulsi topikal vitamin C palmitat dengan variasi kadar lesitin dan tween 80..... 17

Tabel II. Organoleptis sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat sebelum perlakuan..... 24

Tabel III. Viskositas dan pH sebelum perlakuan ( n=3 )..... 25

Tabel IV. Hasil presisi dan akurasi vitamin C palmitat..... 30

Tabel V. Kadar vitamin C palmitat sebelum perlakuan ( n=3 )..... 31

Tabel VI. Nilai signifikansi viskositas rata-rata sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat setelah perlakuan.. 38

Tabel VII. Nilai signifikansi pH sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat setelah perlakuan..... 41

Tabel VIII. Panjang gelombang vitamin C palmitat dalam sediaan mikroemulsi pada suhu $25^0$C dan $40^0$C..... 45

# DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat sebelum perlakuan..... 50
Lampiran 2. Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu pertama..... 55
Lampiran 3. Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu kedua.....60
Lampiran 4. Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu ketiga..... 65
Lampiran 5. Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu keempat.....70
Lampiran 6. Hasil kromatografi HPLC sebelum perlakuan..... 75
Lampiran 7. Hasil kromatografi HPLC minggu pertama..... 77
Lampiran 8. Hasil kromatografi HPLC minggu kedua..... 80
Lampiran 9. Hasil kromatografi HPLC minggu ketiga..... 83
Lampiran 10. Hasil kromatografi HPLC minggu keempat..... 86
Lampiran 11. Uji statistik data sebelum perlakuan ..... 89
Lampiran 12. Uji statistik data setelah perlakuan ..... 93
Lampiran 13. Gambar alat..... 103

# FORMULASI SEDIAAN MIKROEMULSI TOPIKAL VITAMIN C PALMITAT TIPE MINYAK DALAM AIR

## INTISARI

Vitamin C palmitat merupakan bentuk derivat vitamin C (*L-ascorbic acid*) yang larut dalam minyak dan mampu menembus kulit dengan baik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh variasi kombinasi surfaktan tween 80 dan lesitin terhadap stabilitas fisik dan kimia sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minyak dalam air. Perbandingan variasi kadar surfaktan lesitin dan tween 80 yang digunakan adalah 1:6 ; 1:8 ; 1:10. Sediaan disimpan pada suhu $25^0$C dan $40^0$C selama satu bulan. Parameter stabilitas fisik yang digunakan antara lain organoleptis, viskositas, pemisahan dua fase, dan ukuran globul, sedangkan parameter stabilitas kimia yang digunakan adalah penetapan kadar dan pH sediaan. Uji statistik *one way anova* untuk sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat sebelum perlakuan dan uji *paired t-test* untuk sediaan mikroemulsi setelah perlakuan. Hasil stabilitas fisik menunjukkan terjadinya perubahan warna, kejernihan sediaan makin rendah, viskositas semakin menurun dan terbentuknya koalesen. Hasil stabilitas kimia menunjukkan kadar vitamin C palmitat mengalami penurunan dan pH sediaan semakin asam.

Kata kunci : vitamin C palmitat, surfaktan, lesitin, tween 80, mikroemulsi

# FORMULATION TOPICAL MICROEMULSION VITAMIN C PALMITATE TYPE OIL IN WATER

## ABSTRAC

Vitamin C palmitate is a derivative form of vitamin C (L-ascorbic acid) which is dissolved in oil and able to penetrate the skin well. Derivate form of vitamin C is more stable and highly effective in preventing lipoprotein peroxidation and preventing skin damage caused by radiation of violet rays. The purpose of this study is to observe the effect of combination variations of surfactant tween 80 and lecithin on physical and chemical stability of the topical microemulsion vitamin C palmitate type oil in water. The variation ratio of the surfactant concentration of lecithin and tween 80 used is 1:6; 1:8, and 1:10. The microemulsion is kept at a temperature of 25$^{o}$C and 40$^{o}$C for a month. The parameters of physical stability used are organoleptis, viscosity, two-phase separation, and the form of globules, while the parameters of chemical stability used are pH and level determination of vitamin C palmitate. One-way ANOVA statistical tests for topical microemulsions vitamin C palmitate before the treatment and paired t-test for the supply of microemulsion after the treatment. The result of physical stability are the supply of microemulsion has change of colour, poor purity, low viscosity and form of coalessen. The result of chemical stability shows level of vitamin C palmitate has reduction and the supply more acidic.

Keywords : vitamin C palmitate, surfactan, lecithin, tween 80, microemulsion

# BAB I
# PENDAHULUAN

## A. Latar Belakang Masalah

*Ascorbic acid* (vitamin C) merupakan perlindungan utama pada kulit terhadap oksigen reaktif[1-3]. Oksigen reaktif ini berasal dari sinar UV yang dapat mengakibatkan penuaan dini dan kanker pada kulit[4]. Vitamin C sebagai salah satu *anti aging* mampu meningkatkan elastisitas kulit dan mengurangi kerutan dengan merangsang kolagen[4,5]. Namun vitamin C ini bersifat sangat reaktif, teroksidasi dengan cepat dan mengalami perubahan kimia yang bersifat *irreversible.* Vitamin C palmitat adalah bentuk derivat dari vitamin C (*L-ascorbic acid*) yang larut dalam minyak dan mempunyai kemampuan yang baik untuk menembus kulit[4]. Vitamin C dalam bentuk ester ini lebih stabil dan sangat efektif dalam mencegah peroksidasi pada lipoprotein[6,7] serta mencegah kerusakan pada kulit akibat radiasi sinar violet[8]. Bentuk ester vitamin C yang lipofilik ini diharapkan dapat memberikan efek antioksidan pada kulit dalam waktu yang lama dan mempunyai stabilitas yang baik. Penggunaannya secara topikal dapat meningkatkan kelarutan minyak dan ukuran partikel yang sangat kecil semakin mempercepat mikroemulsi menembus lapisan-lapisan kulit manusia[9]. Setelah diaplikasikan pada kulit, komponen dari mikroemulsi berinteraksi dengan lipid interseluler kulit, mengubah ruang antara dan memfasilitasi proses transport obat[10,11].

Mikroemulsi merupakan suatu sistem dispersi yang dikembangkan dari sediaan emulsi. Kelebihan bentuk sediaan mikroemulsi adalah mempunyai kestabilan dalam jangka waktu lama secara termodinamika, jernih dan transparan, dapat disterilkan secara filtrasi, biaya pembuatan murah, mempunyai daya larut yang tinggi serta mempunyai kemampuan berpenetrasi yang baik[12]. Menurut Polona *et al*, 2003, formulasi vitamin C palmitat dalam mikroemulsi tipe minyak dalam air (M/A) secara signifikan mempunyai daya permeasi pada kulit yang lebih baik dibandingkan dengan tipe emulsi air dalam minyak (A/M)[4]. Oleh karena itu diharapkan dengan formulasi vitamin C palmitat dalam bentuk mikroemulsi tipe M/A dapat meningkatkan stabilitas dari vitamin C palmitat.

Salah satu bahan yang sangat mempengaruhi stabilitas sediaan mikroemulsi adalah surfaktan. Pada penelitian ini digunakan kombinasi surfaktan lesitin dan tween 80. Lesitin mempunyai sifat yang sangat lipofil sehingga lesitin tidak mampu membentuk larutan isotropik antara air dan minyak tanpa adanya surfaktan lain. Penggunaan lesitin sebagai surfaktan tunggal dapat menyebabkan lapisan film yang sangat kaku. Namun lesitin dapat meningkatkan kelarutan fase minyak dalam fase internal dari mikroemulsi[13].

Penambahan surfaktan non ionik, yaitu tween 80 dapat meningkatkan sifat hidrofilik dari lesitin sehingga dapat menurunkan lapisan film interfasial dan dapat membentuk sediaan mikroemulsi[14]. Tween 80 dapat menurunkan tegangan permukaan dan dapat meningkatkan keseimbangan hidrofilik-lipofilik dari lesitin. Walaupun demikian, surfaktan nonionik, terutama yang mempunyai gugus polioksietilen, sensitif terhadap temperatur sehingga akan berpengaruh pada kestabilan sistem secara termodinamika. Semakin meningkat temperaturnya, surfaktan nonionik akan semakin bersifat lipofilik, hal ini disebabkan karena gugus polioksietilen yang berfungsi sebagai gugus polar atau kepala akan mengalami dehidrasi dengan meningkatnya suhu. Untuk mengatasi hal tersebut, surfaktan nonionik dikombinasikan dengan lesitin, kombinasi ini dapat memperluas wilayah mikroemulsi pada fase diagram[14].

Berdasarkan acuan di atas, maka perlu dilakukan penelitian tentang formulasi sediaan topikal mikroemulsi vitamin C palmitat sebagai anti aging dengan tipe minyak dalam air (M/A).

## B. Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah pengaruh variasi kadar lesitin dan tween 80 terhadap stabilitas fisik dari mikroemulsi vitamin C palmitat tipe minyak dalam air ?
2. Bagaimanakah pengaruh variasi kadar lesitin dan tween 80 terhadap stabilitas kimia dari mikroemulsi vitamin C palmitat tipe minyak dalam air ?

## C. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh variasi kadar lesitin dan tween 80 terhadap stabilitas fisik sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat tipe minyak dalam air.
2. Untuk mengetahui pengaruh variasi kadar lesitin dan tween 80 terhadap stabilitas kimia sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat tipe minyak dalam air.

## D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini bermanfaat untuk meningkatkan stabilitas dan daya permeasi kulit dari vitamin C palmitat dengan diformulasikan ke dalam bentuk sediaan mikroemulsi dengan tipe minyak dalam air. Vitamin C palmitat sebagai zat aktif dan kombinasi lesitin dan tween 80 sebagai surfaktan. Dengan diformulasikannya ke dalam bentuk sediaan topikal diharapkan dapat meningkatkan efikasi dari vitamin C palmitat sebagai antioksidan yang dapat menghambat proses penuaan dini pada kulit.

# BAB II
# STUDI PUSTAKA

## A. Tinjauan Pustaka

### 1. Vitamin C Palmitat

Vitamin C sebagai salah satu *anti aging* mampu meningkatkan elastisitas kulit dan mengurangi kerutan dengan merangsang kolagen[4,5]. Vitamin C palmitat adalah bentuk derivat dari vitamin C (*L-ascorbic acid*) yang larut dalam minyak dan mempunyai kemampuan yang baik untuk menembus kulit[4]. Vitamin C dalam bentuk ester ini lebih stabil dan sangat efektif dalam mencegah peroksidasi pada lipoprotein[6,7] serta mencegah kerusakan pada kulit akibat radiasi sinar violet[8]. Vitamin C palmitat stabil pada tempat yang kering, namun secara bertahap akan teroksidasi dan berubah warna ketika terpapar dengan cahaya dan kelembaban yang tinggi. Penyimpanan pada tempat yang tertutup baik, ditempat yang dingin, stabilitas vitamin C palmitat dapat bertahan hingga 12 bulan. Selama proses pembuatan sediaan, suhu lebih dari 65$^{o}$C harus dihindari. Serbuk vitamin C palmitat harus disimpan pada tempat kedap udara pada suhu 8-15$^{o}$C dan terlindung dari cahaya[24].

### 2. Mikroemulsi

a. Definisi Mikroemulsi

Mikroemulsi merupakan sistem dispersi minyak dengan air yang distabilkan oleh lapisan antarmuka dari molekul surfaktan[19]. Perbedaan utama antara makroemulsi dengan mikroemulsi adalah dari segi ukuran dan bentuk partikel yang terdispersi dalam fase *continue*. Ukuran partikel dari mikroemulsi (10-200 nm) lebih kecil dibanding makroemulsi (1-20 µm)[19]. Mikroemulsi terdiri dari minyak, air, surfaktan, dan kosurfaktan. Surfaktan yang digunakan dapat tunggal maupun campuran dengan surfaktan yang lain[15].

b. Kelebihan Mikroemulsi

Tetapi karakteristik sediaan mikroemulsi memiliki banyak kelebihan dibandingkan dengan emulsi biasa. Karakteristik tersebut antara lain bersifat stabil secara termodinamika, jernih, transparan atau *translucent*, viskositasnya rendah,

serta mempunyai tingkat solubilisasi yang tinggi sehingga dapat meningkatkan bioavailibilitas obat tersebut di dalam tubuh[19, 16-17]. Selain bermanfaat sebagai pembawa dalam penghantaran obat, mikroemulsi juga bermanfaat sebagai lubrikan, *cutting oils*, penghambat korosi, *textile finishing*, pembawa bahan bakar, membran *liquid*, dan berbagai manfaat lainnya. Sebagai sistem penghantaran obat, mikroemulsi dapat digunakan untuk pemberian secara oral, intradermal, intramuskular, okular, maupun pulmonal[19, 18-19].

c. Jenis Mikroemulsi

Mikroemulsi terdiri atas bermacam-macam sistem disperse, antara lain tipe M/A (minyak dalam air) dan tipe A/M (air dalam minyak). Mikroemulsi tipe M/A adalah mikroemulsi yang mengandung tetesan minyak dalam fase air, sedangkan mikroemulsi tipe A/M adalah mikroemulsi yang mengandung tetesan air dalam fase minyak. Mikroemulsi seringkali disebut sebagai suatu sistem terlarut karena secara makroskopis berperilaku sebagai suatu larutan dengan diameter tetesan yang sangat kecil[19].

d. Formulasi Sediaan Mikroemulsi

Suatu mikroemulsi umumnya dibentuk dari kombinasi oleh tiga sampai lima komponen, terdiri dari fase eksternal, fase internal, dan fase intrafasial. Fase eksternal atau fase pendispersi umumnya merupakan bagian cairan dengan jumlah lebih banyak, sedangkan cairan yang kedua akan terdispersi dalam bentuk globul-globul halus. Dalam hal-hal tertentu mungkin dapat menjadi fase dalam atau sebaliknya. Misalnya sistem mikroemulsi tersebut adalah M/A (minyak dalam air), akan dapat diubah menjadi A/M (air dalam minyak) atau sebaliknya mikroemulsi A/M menjadi M/A, tergantung jumlah fase terdispersi dan pendispersinya. Fase internal atau fase terdispersi terdiri dari globul-globul cairan yang terdispersi dalam fase luar. Fase interfasial terdiri dari surfaktan primer, terkadang dibantu dengan surfaktan sekunder (dapat disebut kosurfaktan). Peranan utama komponen interfasial ini adalah sebagai penstabil mikroemulsi[19].

Tahap yang paling menentukan dalam pembuatan mikroemulsi adalah pemilihan surfaktan dan kosurfaktan yang sesuai dengan fase minyak yang digunakan. Surfaktan yang dipilih harus mampu menurunkan tegangan antarmuka kedua fase sampai nilai yang sangat rendah, sehingga memudahkan proses

dispersi pada pembuatan mikroemulsi dan dapat membuat lapisan film tipis yang akan digunakan harus memiliki nilai hidrofilik-hidrofobik yang sesuai pada daerah antarmuka supaya dihasilkan mikroemulsi tipe A/M ataupun M/A yang diinginkan[19].

Pembuatan mikroemulsi secara umum yaitu dengan mencampurkan fase minyak, surfaktan dan kosurfaktan. Selanjutnya penambahan fase air sedikit demi sedikit disertai dengan pengadukan[19]. Sedangkan, pembuatan mikroemulsi secara lebih rinci adalah dengan pembuatan fase air dan fase minyak. Pembuatan fase air dengan memanaskan aquadest hingga suhu $50^0$C, kemudian campurkan tween 80 dan propilen glikol dengan menggunakan *magnetic heater stirrer* pada suhu $50^0$C sampai didapat larutan yang jernih. Pembuatan fase minyak diawali dengan melarutkan lesitin dengan isopropil miristat. Vitamin C palmitat dilarutkan dalam fase minyak. Dispersi ini dimasukkan ke dalam fase air, diaduk dengan *homogenizer* pada kecepatan 16.000 rpm selama 3 menit hingga terbentuk sediaan mikroemulsi yang jernih dan transparan[14].

e. Bentuk ketidakstabilan mikroemulsi

Mikroemulsi tidak stabil secara fisika jika pada saat didiamkan, fase terdispersi akan beragregasi, agregatnya naik ke permukaan, atau turun ke dasar emulsi membentuk lapisan yang lebih pekat, serta terdapat fase diam yang tidak teremulsikan sehingga membentuk lapisan yang lain[11,22-23]. Bentuk ketidakstabilan tersebut dapat dikelompokkan menjadi 2, yaitu bentuk ketidakstabilan fisik dan kimia[24-25].

1) Ketidakstabilan fisika

Beberapa hal yang dapat menyebabkan sediaan mikroemulsi tidak stabil secara fisika :

a). *Creaming*

*Creaming* adalah terpisahnya mikroemulsi menjadi dua lapisan, dimana lapisan yang satu mengandung butir-butir tetesan (fase terdispersi) lebih banyak daripada lapisan yang lain dibandingkan keadaan emulsi awal. Walaupun masih boleh, terbentuknya *cream* tidak baik dilihat dari nilai estetika sediaan, sehingga sebisa mungkin harus dicegah. Upaya yang dapat mencegah pembentukan cream adalah memperkecil ukuran tetes-tetes cairan yang terdispersi, meningkatkan viskositas

fase luar/fase kontinyu, memperkecil perbedaan kerapatan antara kedua fase cairan dan mengontrol konsentrasi fase terdispersi[24-25].

b). Koalesensi (*breaking*)

Koalesensi adalah peristiwa penggabungan globul-globul minyak sebagai fase dalam menjadi lebih besar yang menyebabkan mikroemulsi tidak terbentuk kembali (pecah). Hal ini dikarenakan koalesensi bersifat ireversibel[24-25].

c). Inversi

Inversi adalah peristiwa berubahnya jenis mikroemulsi dari M/A menjadi A/M atau sebaliknya[24-25].

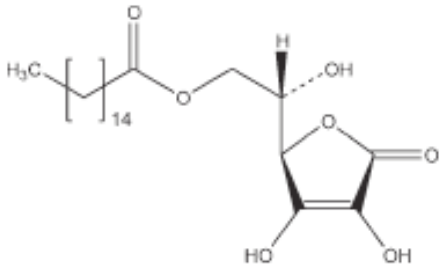
2) Ketidakstabilan Kimia

Dalam suatu sistem mikroemulsi, zat aktif serta zat-zat tambahan yang digunakan harus tercampurkan secara kimia. Sebagai contoh, penambahan alkohol dapat menyebabkan mikroemulsi dengan koloid hidrofilik mengalami pengendapan sedangkan perubahan pH yang drastis dapat mengakibatkan pecahnya mikroemulsi[24-25].

**3. Monografi Bahan**

a. Vitamin C Palmitat

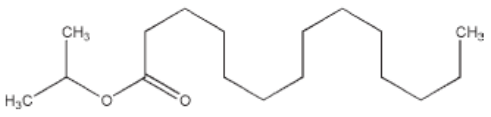
Nama lain dari vitamin C palmitat adalah *L-Ascorbic acid 6-palmitate; ascorbylis palmitas; E304; 3-oxo-Lgulofuranolactone 6-palmitate*. Vitamin C palmitat ini mempunyai rumus molekul $C_{22}H_{38}O_7$ dan mempunyai berat molekul 414,54. Vitamin C berbentuk hablur atau serbuk berwarna putih atau agak kekuningan. Khasiat dari zat aktif ini adalah sebagai antioksidan yang stabil dalam keadaan kering, namun dapat dengan mudah teroksidasi dan menjadi berubah warna saat terkena cahaya dan lembab. Penyimpanan ideal dari zat ini adalah dalam wadah tertutup rapat, di simpan dalam tempat yang sejuk, sehingga vitamin C palmitat dapat tahan hingga 12 bulan. Vitamin C palmitat inkompatibel dengan zat pengoksidasi, misalnya larutan katalis pengoksidasi seperti $Cu^{2+}$ dan $Fe^{3+}$. Berikut adalah struktur dari vitamin C palmitat[26].




**Gambar 1.** *Struktur molekul vitamin C palmitat*[26].

b. Isopropil Miristat (IPM)

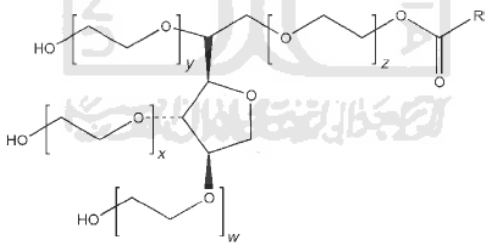
*Isopropil meristate* (IPM) merupakan zat pembawa minyak, dapat juga digunakan sebagai *emollient*, pelarut dan penetrasi kulit. IPM mempunyai rumus molekul $C_{17}H_{34}O_2$ dengan berat molekul 270,5. Pemerian dari IPM adalah bening, tidak berwarna, tidak berbau, kekentalan yang rendah (5–7 mPa s (5–7 cP) pada suhu $25^0$C) dan membeku pada suhu $5^0$C. Titik didihnya adalah 140,$2^0$C, larut dalam aseton, kloroform, etanol, etil asetat, lemak, lilin, toluene, campuran minyak, liquid hidrokarbon dan lemak alkohol, namun tidak larut dalam gliserin, glikol, dan air. Isopropil miristat ini tahan terhadap proses oksidasi dan hidrolisis, dan tidak menjadi tengik. Penyimpanannya harus dalam wadah tertutup rapat di tempat yang sejuk, kering dan hindarkan dari cahaya. IPM secara umum digunakan sebagai kosmetik dan sediaan formulasi topikal, tidak mengiritasi dan tidak bersifat toksik. Inkompatibilitas dari IPM adalah saat IPM bercampur dengan karet, maka kekentalan dari IPM akan menurun dan mengembang seiring dengan pemutusan ikatan dari karet tersebut. Jika bercampur dengan plastik seperti nilon dan polietilen, maka akan mengembang pula. IPM inkompatibel dengan parafin keras, menghasilkan campuran granular dan inkompatibel dengan zat pengoksidasi kuat[27].




**Gambar 2.** *Struktur molekul isopropyl meristate*[25].

c. Tween 80

Tween 80 atau disebut juga Polisorbat 80 adalah ester oleat dari sorbitol dan anhidrat yang berkopolimerisasi dengan lebih kurang 20 molekul etilena oksida untuk tiap molekul sorbitol dan anhidrat sorbitol[28], mempunyai bentuk molekul $C_{64}H_{124}O_{26}$ dengan berat molekul 1310[29]. Polisorbat 80 ini berbentuk cairan seperti minyak, jernih berwarna kuning muda hingga coklat muda, berbau khas lemah, rasa pahit dan hangat[28] yang dapat digunakan sebagai zat pengemulsi, surfaktan non ionik, pelarut, wetting agent, zat pendispersi atau pensuspensi. Kelarutannya sangat mudah larut dalam air, larutan tidak berbau dan praktis tidak berwarna, larut dalam etanol, dalam etil asetat, dan tidak larut dalam minyak mineral. Berat jenisnya sebesar 1,06 dan 1,09 g/cm$^3$ dengan kekentalan antara 300 dan 500 sentitokes pada suhu 25$^0$C. Tween 80 harus disimpan dalam wadah tertutup rapat terlindung dari cahaya, di tempat yang sejuk dan kering. Tween 80 inkompatibel dengan perubahan warna dan atau pengendapan dengan beberapa zat, terutama fenol, tanin, aspal dan zat yang mirip dengan aspal[29]. Berikut struktur molekul dari tween 80, dimana w + x + y + z = 20.

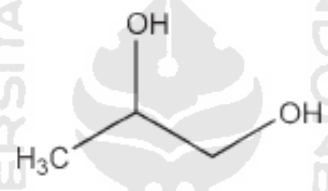



**Gambar 3.** *Struktur molekul tween 80*[29].

d. Propilen Glikol

Nama lain dari propilen glikol adalah *1,2-Dihydroxypropane; E1520; 2-hydroxypropanol; methyl ethylene glycol; methyl glycol; propane-1,2-diol; propylenglycolum*, dengan rumus molekul $C_3H_8O_2$ dan berat molekul 76.09[30]. Propilen glikol berbentuk cairan kental, jernih, tidak berwarna, rasa khas, praktis tidak berbau, dan menyerap air pada udara lembab. Kelarutannya dapat bercampur

dengan air, dengan aseton, dan dengan kloroform, larut dalam eter dan dalam beberapa minyak esensial, tetapi tidak dapat bercampur dengan minyak lemak[28]. Bobot jenisnya sebesar 1,038 g/cm$^3$ pada suhu 20$^0$C, dengan titik didih 188$^0$C dan titik lebur -59$^0$C. Zat ini dapat berfungsi sebagai pengawet, antimikrobia, desinfektan, larutan *plasticizer*, penstabil, dan kosolven *water-miscible*. Penyimpanan yang ideal adalah pada temperatur dingin dalam wadah tertutup baik, terlindung dari cahaya, dan di tempat yang kering, apabila disimpan pada temperatur tinggi dengan wadah yang terbuka maka akan teroksidasi menjadi propioneldehid, asam laktat, asam piruvat dan asam asetat. Propilen glikol akan stabil secara kimia ketika dicampur dengan etanol (95%), gliserin, atau air (termasuk aquadest yang disterilisasi dengan autoclav). Zat ini inkompatibel dengan oksidator, seperti kalium permanganat[26].

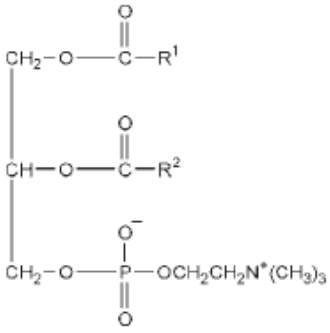



**Gambar 4.** *Struktur molekul propilen glikol*[26].

e. Lesitin

Lesitin atau disebut juga *mixed soybean phosphatides; soybean lecithin; soybean phospholipids; Sternpur; vegetable lecithin*, dapat digunakan sebagai *emollient*, emulgator, dan pelarut. Lesitin tersedia dalam berbagai berbentuk, mulai bentuk semisolid yang mempunyai kekentalan tinggi hingga dalam bentuk serbuk berwarna coklat kekuningan dan tidak berbau. Lesitin terdekomposisi pada pH yang ekstrim dan bersifat higroskopis. Pada suhu tinggi akan teroksidasi, warna menjadi lebih gelap dan terdekomposisi. Pada suhu 160-180$^o$C akan terdegradasi selama 24 jam. Lesitin cair mempunyai berat jenis 0,97 g/cm$^3$, sedangkan lesitin serbuk mempunyai berat jenis 0,5 g/cm$^3$. Lesitin larut dalam hidrokarbon alifatik dan aromatik, hidrokarbon halogen, minyak mineral dan asam lemak. Lesitin tidak larut dalam minyak nabati dan hewani yang dingin,

pelarut polar dan air. Saat dicampur dengan air lesitin hidrat akan membentuk emulsi. Berikut adalah struktur molekul dari lesitin dimana R1 dan R2 adalah asam lemak, dapat berupa asam lemak yang berbeda atau identik[30].



**Gambar 5.** *Struktur molekul lesitin*[30].

f. Aquadest

Aquadest atau disebut juga *Aqua*; *aqua purificata*; *hydrogen oxide*, mempunyai berat molekul 18,02 dan rumus molekul $H_2O$. Aquadest berfungsi sebagai pelarut dengan titik didih $100^0$C. Aquadest dapat bereaksi dengan obat-obatan dan eksipien lain yang rentan mengalami hidolisis (dekomposisi dengan adanya air atau uap air) pada suhu kamar ataupun pada suhu yang lebih tinggi, selain itu aquasdest dapat juga bereaksi dengan logam alkali dan oksidatornya, seperti kalsium oksida dan magnesium oksida. Dapat pula bereaksi dengan garam anhidrat dan bahan organik tertentu serta kalsium karbida[31].

**4. HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)**

HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) merupakan teknik pemisahan yang diterima secara luas untuk analisis dan pemurnian senyawa tertentu dalam suatu sampel. Metode ini dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif[32]. Kelebihan dari metode ini antara lain mampu memisahkan molekul-molekul dari suatu campuran, mudah dilakukan, cepat dalam pengerjaannya, mempunyai kepekaan yang tinggi, dapat terhindar dari dekomposisi atau kerusakan bahan yang dianalisis, mempunyai resolusi yang

baik, dapat digunakan bermacam-macam detektor, kolom yang digunakan dapat digunakan kembali dan mudah melakukan *sample recovery*[33].

a. Fase gerak dan fase diam

Keberhasilan proses pemisahan tergantung pada pemilihan fase gerak dan fase diam. Kesesuaian polaritas dalam pemilihan fase gerak dan fase diam menentukan kesempurnaan pemisahan. Akan berhasil jika ada perbedaan polaritas fase diam dengan fase gerak, interaksi analit dengan fase diam akan menimbulkan waktu retensi, dimana waktu yang diperlukan untuk melewati kolom, senyawa yang memiliki afinitas yang tinggi dengan fase diam akan memiliki waktu retensi yang lebih lama jika dibandingkan dengan yang afinitasnya rendah[34].

b. Instrumentasi HPLC

1. Gerbang suntik

Pemasukan sampel untuk analisis dengan metode HPLC dilakukan dengan tiga sistem injektor, antara lain :

1. Injektor dengan septum
2. Injektor tanpa septum
3. Injektor dengan pipa dosis

Sistem dengan pipa dosis saat ini merupakan pilihan yang tepat untuk analisis secara kuantitatif karena jumlah sampel yang diinjeksikan sangat penting. Prinsip kerja pipa dosis adalah "*load injector*" dimana jumlah sampel yang akan masuk *loop* dan tanpa berkurang masuk ke dalam kolom pemisahan[35].

2. Kolom

Pemisahan senyawa dilakukan di dalam kolom, kolom dibuat dari bahan metal anti korosif dan tahan bahan kimia, bahan gelas, dan bahan gelas yang dilapisi bahan metal. Ukuran kolom dibuat dengan diameter yang sangat kecil, bertujuan agar kepekaan menjadi tinggi, menghemat larutan pengembang, memperluas kemampuan detektor dan sampel yang dianalisis sedikit. Kolom dibuat pendek agar mampu menghasilkan resolusi yang baik, memperkecil ukuran harga diameter rata-rata dari fase diam, dan mempersingkat waktu retensi[35].

3. Detektor

Detektor dapat digolongkan atas dua macam, antara lain :

1. Detektor general adalah detektor yang bekerja secara umum, tidak selektif dan spesifik. Contohnya IR (*infra red*) yang berdasarkan indeks bias dan interfensi radiasi, MS (*mass spektra*).
2. Detektor selektif adalah detektor yang bekerja secara selektif dan spesifik. Contohnya UV-Abs, fluorometri, konduktrimetri, elektrokimia, radioaktif[35].

## B. Landasan Teori

Penuaan kulit merupakan proses fisiologis, artinya semua orang yang hidup pasti akan mengalami penuaan. Salah satu penyebab proses penuaan kulit adalah oksigen reaktif yang berasal dari sinar UV[36]. *Ascorbic acid* (vitamin C) merupakan perlindungan utama pada kulit terhadap oksigen reaktif[1-3]. Namun vitamin C ini bersifat sangat reaktif, teroksidasi dengan cepat dan mengalami perubahan kimia yang bersifat *irreversible*. Vitamin C palmitat merupakan bentuk derivat dari vitamin C (L-ascorbic acid) yang larut dalam minyak dan mempunyai kemampuan yang baik untuk menembus kulit[4]. Vitamin C dalam bentuk ester ini lebih stabil dan sangat efektif dalam mencegah peroksidasi pada lipoprotein[6-7] serta mencegah kerusakan pada kulit akibat radiasi sinar violet[8].

Bentuk sediaan mikroemulsi terbukti mempunyai kestabilan dalam jangka waktu lama secara termodinamika, jernih dan transparan, dapat disterilkan secara filtrasi, biaya pembuatan murah, mempunyai daya larut yang tinggi serta mempunyai kemampuan berpenetrasi yang baik[12]. Menurut Polona *et al*, 2003, formulasi vitamin C palmitat dalam mikroemulsi tipe minyak dalam air (M/A) secara signifikan mempunyai daya permeasi pada kulit yang lebih baik dibandingkan dengan tipe emulsi air dalam minyak (A/M)[4]. Penggunaannya secara topikal dapat meningkatkan kelarutan minyak dan ukuran partikel yang sangat kecil semakin mempercepat mikroemulsi menembus lapisan-lapisan kulit manusia[9]. Setelah diaplikasikan pada kulit, komponen dari mikroemulsi berinteraksi dengan lipid interseluler kulit, mengubah ruang antara dan memfasilitasi proses transport obat[10-11].

Menurut Spiclin *et al*, 2001, sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat dengan total surfaktan 38% terbukti mempunyai stabilitas yang paling baik selama 28 hari di lihat dari segi stabilitas kadar vitamin C palmitat[4]. Penyimpanan sediaan vitamin C palmitat pada tempat gelap juga terbukti mampu meminimalkan jumlah vitamin C palmitat yang terdegradasi[35]. Salah satu bahan yang sangat mempengaruhi stabilitas sediaan mikroemulsi adalah surfaktan. Pemilihan jenis surfaktan yang tepat dapat meminimalkan terjadinya pemisahan dua fase. Pada penelitian ini digunakan kombinasi surfaktan lesitin dan tween 80. Lesitin mempunyai sifat yang sangat lipofil sehingga lesitin tidak mampu

membentuk larutan isotropik antara air dan minyak tanpa adanya surfaktan lain. Penggunaan lesitin sebagai surfaktan tunggal dapat menyebabkan lapisan film yang sangat kaku, namun lesitin dapat meningkatkan kelarutan fase minyak dalam fase internal dari mikroemulsi[13] dan lesitin terbukti mampu meningkatkan viskositas dari sediaan mikroemulsi. Lesitin juga dapat meningkatkan ukuran partikel, namun peningkatan ukuran partikel ini tidak signifikan merusak sediaan mikroemulsi[36].

Penambahan surfaktan non ionik, yaitu tween 80 dapat meningkatkan sifat hidrofilik dari lesitin sehingga dapat menurunkan lapisan film interfasial dan dapat membentuk sediaan mikroemulsi[14]. Tween 80 dapat menurunkan tegangan permukaan dan dapat meningkatkan keseimbangan hidrofilik-lipofilik dari lesitin. Walaupun demikian, surfaktan nonionik, terutama yang mempunyai gugus polioksietilen, sensitif terhadap temperatur sehingga akan berpengaruh pada kestabilan sistem secara termodinamika. Semakin meningkat temperaturnya, surfaktan nonionik akan semakin bersifat lipofilik, hal ini disebabkan karena gugus polioksietilen yang berfungsi sebagai gugus polar atau kepala akan mengalami dehidrasi dengan meningkatnya suhu. Untuk mengatasi hal tersebut, surfaktan nonionik dikombinasikan dengan lesitin, kombinasi ini dapat memperluas wilayah mikroemulsi pada fase diagram[14].

## C. Hipotesis

Kombinasi surfaktan tween 80 dan lesitin dengan total sebesar 38%[44] diduga dapat meningkatkan stabilitas fisik dan kimia sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat dengan meminimalkan terjadinya *coalescence*, penurunan viskositas, dan menghindari terjadinya pemisahan dua fase.

# BAB III
# METODE PENELITIAN

## A. Alat dan Bahan

### 1. Alat

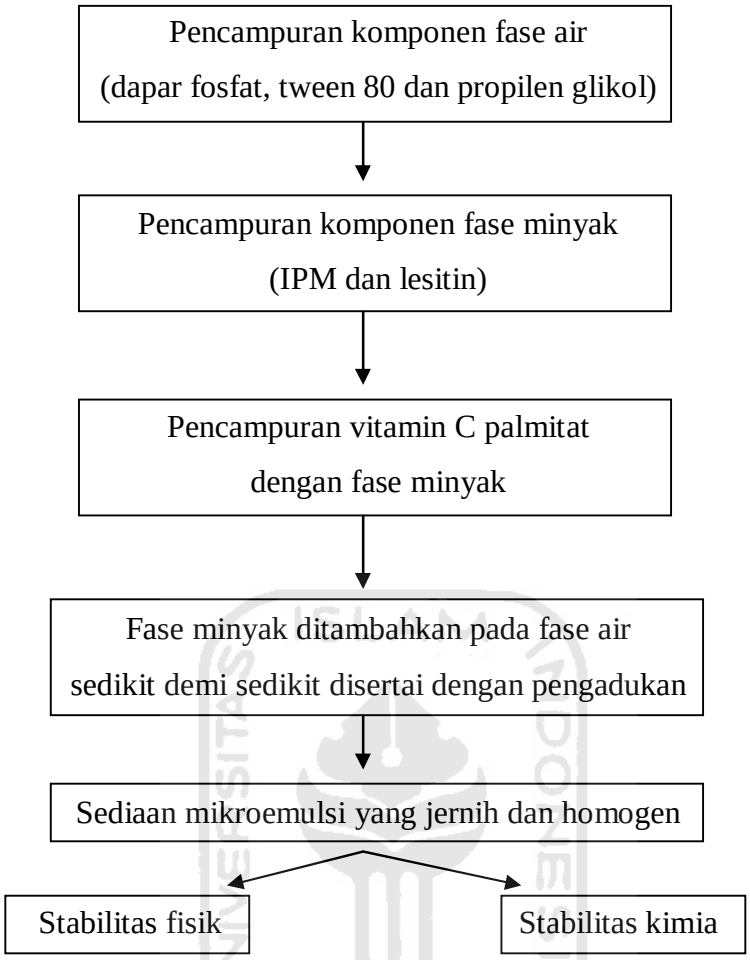
Timbangan elektrik (Metler Toledo-Dragon 204), cawan porselen, gelas ukur, gelas beker (Iwaki Pyrex), pipet tetes, pengaduk, *magnetic heater stirrer* (Heidolph MR 3001), *homogenizer* (IKA T18 basic), pH meter (Wtw-inolab), HPLC (Shimadzu LC-6), mikroskop elektrik (Olympus CX-41), ultasonik (Branson 5510), *climated chamber* (Climacell), viskometer *Brookfield* (DV-I Prime) .

### 2. Bahan

Vitamin C Palmitat (Sigma Aldrich), Isopropil Miristat (Merck), Lesitin (Farmasetis), Tween 80 (Brataco), Propilen Glikol (Brataco), Aquadest (kualitas pro analisis), Aquabidest (Ikapharmindo Putramas), NaOH (Merck), $KH_2PO_4$ (Merck), Asam Fosfat (Merck), Metanol (Brataco), *Methanol For Liquid Chromatography* (Merck-KGaA).

## B. Skematika Kerja

Alur penelitian dalam pembuatan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat dengan tipe minyak dalam air secara garis besar dapat dilihat dalam skematika kerja seperti pada gambar 6.




**Gambar 6.** *Skematika kerja.*

Formula yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel I.

**Tabel I.** *Formula mikroemulsi topikal vitamin C palmitat dengan variasi kadar lesitin dan tween 80*

| Bahan-bahan (% $^{w}/_{v}$) | Formula 1 (1 : 10) | Formula 2 (1 : 8) | Formula 3 (1 : 6) |
|---|---|---|---|
| Vitamin C palmitat | 2 % | 2 % | 2 % |
| Tween 80 | 38 % | 37,16 % | 35,83 % |
| Lesitin | 3,8 % | 4,64 % | 5,97 % |
| Propilen glikol | 22 % | 22 % | 22 % |
| IPM | 5 % | 5 % | 5 % |
| Aquadest | 31,2 % | 31,2 % | 31,2 % |

## C. Cara Penelitian

### 1. Penentuan jumlah surfaktan dalam formula

Surfaktan yang digunakan adalah kombinasi antara tween 80 dan lesitin. Penentuan jumlah surfaktan dalam formula dimulai dengan perbandingan yang terkecil yaitu mulai dari perbandingan 1:2 kemudian meningkat hingga perbandingan 1:10. Dalam penelitian ini menggunakan variasi perbandingan antara lesitin : tween 80 (1:6 ; 1:8 ; 1:10) karena perbandingan tersebut menghasilkan sediaan mikroemulsi yang homogen dan transparan.

### 2. Pembuatan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat

a) Pembuatan Buffer Fosfat pH 6,5

Langkah awal pembuatan buffer fosfat dengan pH 6,5 adalah dengan membuat larutan NaOH 0,2 M sebanyak 250 ml. Kemudian membuat larutan $KH_2PO_4$ 0,2 M sebanyak 500 ml. Pelarut yang digunakan adalah aqudestilata. Larutan NaOH ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam larutan $KH_2PO_4$ hingga pH mencapai 6,5. Buffer fosfat ini digunakan sebagai salah satu komponen fase air.

b) Pembuatan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat

Fase air dibuat dengan cara memanaskan aquadest hingga suhu $50^0$C, kemudian ditambahkan tween 80 (fase air) dan propilen glikol (sebagai kosurfaktan) dengan menggunakan *magnetic heater stirrer* pada suhu $50^0$C sampai didapat larutan yang homogen dan jernih. Fase minyak yang terdiri dari lesitin (surfaktan) dan isopropil miristat (fase minyak) dipanaskan pada suhu $40^0$C. Fase minyak yang telah tercampur didinginkan hingga suhu $27^0$C, kemudian vitamin C palmitat dilarutkan dalam fase minyak tersebut. Dispersi ini dimasukkan ke dalam fase air dengan pengadukan menggunakan *homogenizer* pada kecepatan 16.000 rpm selama 10 menit hingga terbentuk sediaan mikroemulsi yang jernih dan transparan[14].

### 3. Evaluasi sediaan mikroemulsi

a. Evaluasi fisik dan kimia sebelum perlakuan

Evaluasi fisik yang dilakukan meliputi uji organoleptis, uji volume sedimentasi, uji viskositas, dan penetapan ukuran globul. Cara kerja tiap evaluasi tersebut adalah sebagai berikut :

1. Uji organoleptis

Pengamatan secara visual terhadap bau, bentuk, dan warna mikroemulsi[(14)].

2. Uji pemisahan fase

Mikroemulsi dimasukkan ke dalam mikrotube sebanyak 1 ml, ditutup dengan kertas aluminium foil.

3. Uji viskositas

Pengukuran viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer Brookfield. Pengamatan sediaan mikroemulsi sebelum perlakuan menggunakan nomor spindel 62 dengan kecepatan 20 rpm. Setelah perlakuan untuk minggu pertama, kedua, ketiga dan keempat menggunakan kecepatan 20 rpm dengan nomor spindel 62 untuk sediaan yang disimpan pada suhu $25^0$C dan kecepatan 100 rpm dengan nomor spindel 63 untuk sediaan yang disimpan pada suhu $40^0$C.

4. Penetapan ukuran globul

Pengukuran dilakukan dengan menggunakan mikroskop elektron. Tiga tetes sediaan diletakkan pada gelas objek, amati bentuk globul dengan perbesaran 40 kali. Atur fokus pada alat mikroskop elektron hingga terlihat bentuk globul yang dimaksud.

Evaluasi kimia yang dilakukan meliputi penetapan pH dan penetapan kadar vitamin C palmitat. Cara kerja evaluasi kimia secara umum adalah sebagai berikut :

1. Penetapan pH

Menggunakan alat pH meter yang dicelupkan pada sediaan. Nilai pH akan terbaca pada alat pH meter tersebut. Penetapan pH ini dilakukan seminggu sekali selama satu bulan.

2. Penetapan kadar

a) Pembuatan fase gerak

Fase gerak yang digunakan adalah methanol-asetonitril-0,02 M buffer fosfat pH 2,5 dengan perbandingan 75:10:15. Pembuatan buffer fosfat pH 2,5 dengan cara membuat larutan $KH_2PO_4$ 0,2 M dan membuat larutan asam fosfat. Pelarut yang digunakan adalah aquabidestilata. Larutan asam fosfat ditambahkan tetes demi tetes ke dalam larutan $KH_2PO_4$ hingga pH mencapai 2,5.

b) Pembuatan kurva baku

Pembuatan kurva baku dilakukan dengan menggunakan beberapa seri kadar. Seri kadar yang digunakan adalah kadar 600 ppm, 300 ppm, 100 ppm, 40 ppm 10, 8 ppm dan 4 ppm. Pelarut yang digunakan untuk masing-masing seri kadar ini adalah metanol. Penetapan kurva baku dilakukan dengan menggunakan HPLC dengan fase diam C18 dan fase gerak methanol-asetonitril-0,02 M buffer fosfat pH 2,5 (75:10:15) pada panjang gelombang 254 nm[37].

c) Verifikasi metode

1. Penetapan presisi

Penetapan presisi dilakukan dengan menggunakan 3 variasi kadar yang mewakili kadar terendah, sedang hingga kadar tertinggi. Variasi kadar tersebut adalah 300 ppm, 40 ppm, dan 4 ppm. Masing-masing kadar direplikasi sebanyak 6 kali.

2. Penetapan akurasi

Penetapan akurasi dilakukan dengan metode *spiked placebo recovery*. Plasebo (basis mikroemulsi tanpa zat aktif) sebesar 300 ppm ditambahkan dengan larutan standar vitamin C palmitat dengan variasi kadar 300 ppm, 40 ppm, dan 4 ppm. Masing-masing kadar ini direplikasi sebanyak 3 kali.

3. Penetapan linieritas, LOD dan LOQ

Penetapan linieritas, LOD dan LOQ dilakukan dengan menggunakan 7 seri kadar, yaitu 600 ppm, 300 ppm, 100 ppm, 40 ppm 10, 8 ppm dan 4 ppm. Masing-masing seri kadar dilakukan sebanyak satu kali replikasi.

d) Preparasi sampel

Ambil sebanyak 0,1 ml sampel dan dilarutkan dalam labu ukur 10 ml dengan menggunakan metanol hingga volume 10 ml. Kemudian di ultrasonifikasi selama 10 menit.

e) Penetapan kadar

Penetapan kadar vitamin C palmitat ini menggunakan HPLC dengan fase diam C18 dan fase gerak methanol-asetonitril-0,02 M buffer fosfat pH 2,5 (75:10:15) pada panjang gelombang 254 nm[37]. Sebanyak 0,1 µl sediaan tiap formula pada masing-masing suhu dilarutkan dengan metanol hingga volume 10

ml dan di ultrasonifikasi selama 5 menit. Penetapan kadar dilakukan tiap minggu selama satu bulan.

b. Stabilitas fisik dan kimia setelah perlakuan

Sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat di simpan pada suhu $25^0$C dan $40^0$C. Masing-masing suhu dilakukan uji stabilitas selama satu bulan. Uji stablitas yang dimaksud meliputi evaluasi fisik dan kimia. Evaluasi fisik dan kimia tersebut meliputi uji organoleptis, pemisahan dua fase, viskositas, penetapan bentuk globul, penetapan pH dan penetapan kadar vitamin C palmitat. Cara kerja evaluasi ini sama dengan cara kerja evaluasi fisik dan kimia sebelum perlakuan.

## D. Analisis Hasil

Analisis data yang digunakan untuk parameter evaluasi fisik dan kimia sebelum perlakuan (penetapan pH dan viskositas) menggunakan *One Way Anova* untuk membandingkan antara formula 1, formula 2, dan formula 3. Data yang terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$) dilakukan uji *Anova* dan *Post Hoc*. Data yang tidak terdistribusi normal dan tidak homogen ($p < 0,05$) dilakukan uji *Kruskal Wallis*. Analisis data untuk parameter stabilitas fisik dan kimia (penetapan viskositas dan pH) menggunakan *Paired t-test*, yaitu membandingkan antar formula dari masing-masing suhu pada minggu pertama dan minggu keempat. Data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$) maka menggunakan uji *Paired t-test*, namun untuk data yang tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) maka menggunakan analisis uji *Wilcoxon*. Uji organoleptis serta penetapan globul menggunakan analisis secara deskriptif.

# BAB IV
# HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Penentuan jumlah surfaktan dalam formula

Penentuan jumlah surfaktan ini bertujuan untuk mengetahui jumlah surfaktan yang dapat menghasilkan sediaan mikroemulsi yang transparan, jernih dan tidak tejadi pemisahan dua fase. Total perbandingan jumlah surfaktan yang digunakan adalah sebesar 38%[(35)]. Orientasi dilakukan dengan membuat beberapa sediaan, yaitu sediaan dengan perbandingan lesitin dan tween 80 1:10 ; 1:8 ; 1:6 ; 1:4 dan 1:2. Hasil orientasi yang di dapat menunjukkan adanya perbedaan dari masing-masing sediaan. Sediaan dengan perbandingan surfaktan 1:10 ; 1:8 dan 1:6 menghasilkan mikroemulsi yang jernih, transparan dan setelah didiamkan selama satu minggu tidak menunjukkan adanya pemisahan dua fase. Hal ini disebabkan karena tween 80 dapat menurunkan tegangan permukaan pada sistem mikroemulsi dan dapat meningkatkan keseimbangan sifat lipofilik-hidrofilik dari lesitin[(17)], sehingga sistem emulsi yang dihasilkan lebih stabil dan termasuk dalam sediaan mikroemulsi yang baik. Oleh karena itu pada penelitian ini menggunakan perbandingan surfaktan lesitin : tween 80 sebesar 1:10 ; 1:8 dan 1:6.

B. Mikroemulsi topikal vitamin C palmitat

Mikroemulsi vitamin C palmitat menggunakan buffer fosfat pH 6,5 sebagai fase air, penggunaan buffer ini untuk meminimalkan terjadinya iritasi pada kulit. Tidak menggunakan air suling sebagai komponen fase air karena vitamin C palmitat bersifat asam sehingga ditakutkan dapat menyebabkan iritasi pada kulit. Tween 80 dan lesitin sebagai surfaktan. Surfaktan adalah molekul yang struktur kimianya terdiri dari dua bagian dan mempunyai perbedaan afinitas terhadap berbagai pelarut yaitu bagian hidrofobik dan hidrofilik[(11)]. Propilen glikol sebagai kosurfaktan yang berfungsi untuk membantu surfaktan agar lebih memudahkan bercampurnya fase minyak dan fase air sehingga dapat membentuk sediaan mikroemulsi yang transparan dan homogen. IPM (isopropil miristat) digunakan sebagai fase minyak. Hasil yang didapatkan, sediaan mikroemulsi yang terbentuk baik pada formula 1, 2 dan 3 sesaat setelah pembuatan terdapat buih pada

permukaan sediaan, namun setelah sediaan diultrasonifikasi selama 75 menit buih tersebut hilang dan mikroemulsi yang terbentuk lebih homogen. Ultrasonifikasi membantu proses penghilangan buih dan pelarutan bahan-bahan dalam sediaan agar lebih homogen.

C. Evaluasi sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat

I. Sifat fisik dan kimia mikroemulsi topikal vitamin C palmitat sebelum perlakuan

Evaluasi sifat fisik dan kimia ini bertujuan untuk mengetahui kondisi fisik dan kimia sediaan sebelum perlakuan (keadaan awal) sebagai kontrol kualitas sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat. Evaluasi sifat fisik yang dilakukan meliputi uji organoleptis, viskositas, penetapan ukuran globul dan pengamatan pemisahan fase, sedangkan evaluasi sifat kimia yang dilakukan adalah penetapan pH dan penetapan kadar.

1. Organoleptis

Uji organoleptis bertujuan untuk mengetahui bentuk, warna dan bau dari sediaan. Penetapan ini dilakukan secara deskriptif. Berikut adalah gambar formula 1, 2, dan 3 sebelum perlakuan :




F1 F2 F3

**Gambar 7.** *Sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat sebelum perlakuan.*

Keterangan :
F 1 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:10
F 2 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:8
F 3 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:6

Mikroemulsi mempunyai tingkat kejernihan lebih tinggi dibanding dengan emulsi karena yang membedakan dari kedua jenis sediaan tersebut adalah ukuran partikel dalam sediaan tersebut. Mikroemulsi mempunyai ukuran partikel yang

lebih kecil dibandingkan emulsi. Semakin kecil ukuran partikel maka tingkat kejernihan semakin tinggi. Formula 1 mempunyai tingkat kejernihan yang paling jernih dibanding dengan formula yang lain, sedangkan formula 3 mempunyai tingkat kejernihan paling rendah dibandingkan dengan formula 1 dan formula 2. Pada formula 3 komposisi lesitin lebih besar dibandingkan pada formula 1 dan 2. Warna lesitin yang sangat pekat dimungkinkan membuat sediaan yang dihasilkan menjadi lebih gelap dan keruh. Organoleptis sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat sebelum perlakuan dapat dilihat pada tabel II.

**Tabel II.** *Organoleptis sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat sebelum perlakuan*

| Pengamatan | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Bentuk | Larutan | Larutan | Larutan |
| Warna | Kuning orange | Orange muda | Orange |
| Kejernihan | Jernih | Agak keruh | Keruh |
| Bau | Tidak berbau | Tidak berbau | Tidak berbau |

2. Pemisahan fase

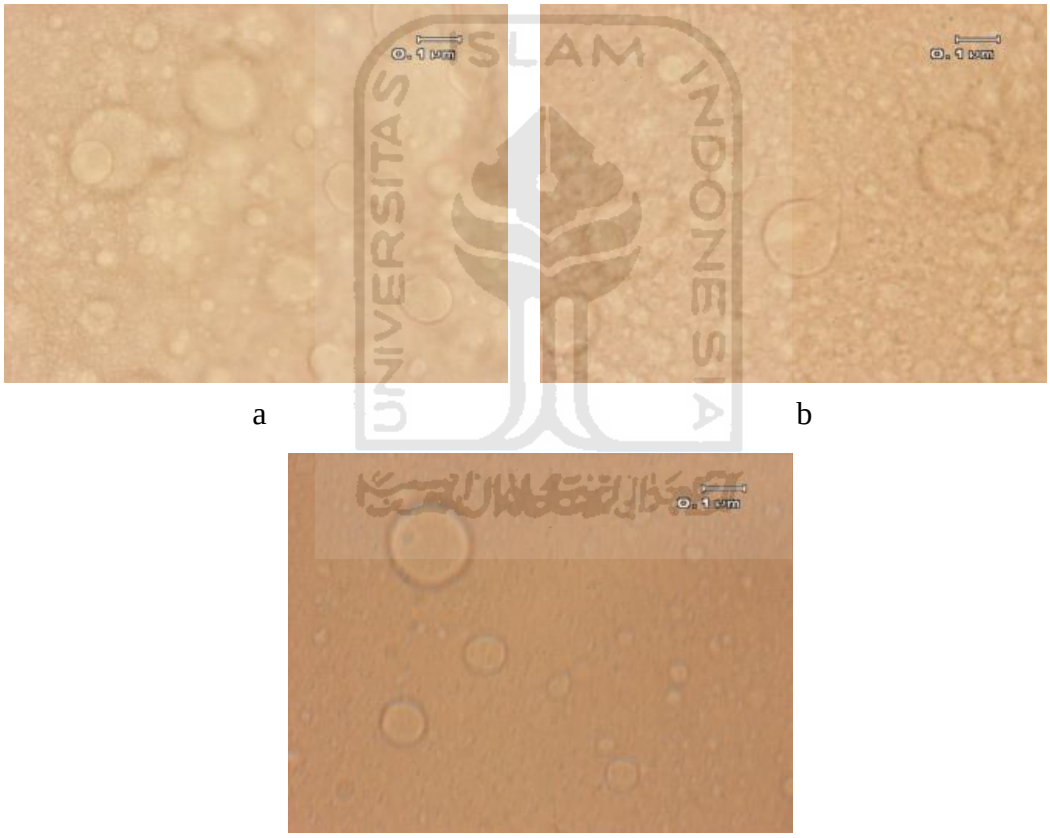
Evaluasi pemisahan fase bertujuan untuk mengetahui pembentukan dua fase pada sediaan. Pembentukan dua fase merupakan salah satu bentuk ketidakstabilan mikroemulsi atau pecahnya mikroemulsi. Peristiwa ini disebut juga destabilisasi, yaitu fase air terpisah dengan fase minyak[(38)]. Destabilisasi bisa disebabkan oleh ketidakmampuan surfaktan menarik fase minyak dan fase air untuk bercampur sehingga fase minyak dan fase air akan terpisah.

Sediaan mikroemulsi yang baik adalah yang stabil secara termodinamika[(12)], artinya tidak terbentuk pemisahan fase. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa dari ketiga formula tidak menunjukkan adanya pemisahan fase sesaat setelah pembuatan mikroemulsi vitamin C palmitat. Hal ini menandakan bahwa dengan perbandingan surfaktan lesitin dan tween 80 sebesar 1:10, 1:8 dan 1:6 mampu membentuk sediaan mikroemulsi yang baik. Tidak terbentuknya pemisahan fase ini dikarenakan lesitin mempunyai rantai hidrokarbon yang panjang sehingga sangat bersifat hidrofobik, namun lesitin juga mempunyai gugus zwitterion yang cenderung bersifat polar. Berdasarkan struktur

dari lesitin tersebut, lesitin mempunyai sifat hidrofilik dan lipofilik yang mendekati kesetimbangan[39]. Adanya tween 80 pada sediaan dapat menurunkan tegangan permukaan dan dapat meningkatkan keseimbangan hidrofilik-lipofilik dari lesitin[14]. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa sediaan mikroemulsi yang terbentuk merupakan sediaan mikroemulsi yang baik.

3. Ukuran globul

Penetapan ukuran globul bertujuan untuk mengetahui ukuran globul sediaan mikromulsi sebelum perlakuan. Perubahan ukuran globul merupakan salah satu indikator bentuk ketidakstabilan mikroemulsi. Gambar ukuran globul sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat dapat dilihat pada gambar 8.



a b

c

**Gambar 8.** *Ukuran globul mikroemulsi topikal vitamin C palmitat sebelum perlakuan.*

Keterangan :
a : Ukuran globul formula 1 sebelum perlakuan
b : Ukuran globul formula 2 sebelum perlakuan
c : Ukuran globul formula 3 sebelum perlakuan

Pada masing-masing formula baik formula 1, 2 dan 3 tidak menunjukkan terbentuknya koalesen. Koalesen merupakan salah satu bentuk ketidakstabilan dari mikroemulsi yang ditandai dengan penggabungan globul-globul minyak sebagai fase dalam menjadi lebih besar[40]. Perbandingan surfaktan lesitin dan tween 80 sebesar 1:10 , 1:8 dan 1:6 mampu membentuk lapisan antarmuka yang *viscous* sehingga dapat mencegah terjadinya koalesen[38], namun adanya globul yang berdekatan baik pada formula 1, 2 dan 3 dapat meningkatkan kemungkinan terjadinya koalesen selama proses penyimpanan.

4. Viskositas dan pH

Penetapan viskositas bertujuan untuk mengetahui tingkat kekentalan suatu sediaan mikroemulsi. Penetapan viskositas perlu dilakukan karena pada tahun 1980, Chin *dkk* meneliti bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi proses dispersi adalah viskositas[42]. Penetapan pH bertujuan untuk mengetahui tingkat keasaman dari sediaan. Penetapan pH ini perlu dilakukan karena pH merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi tingkat iritasi pada kulit, selain itu pH juga merupakan salah satu indikator stabilitas obat. Hasil viskositas dan pH dari ketiga formula dapat dilihat pada tabel III.

**Tabel III.** *Viskositas dan pH sebelum perlakuan ( n=3 )*

| Formula | Viskositas | pH |
|---|---|---|
| F 1 | 1162,7 cp ± 28,219 | 5,70 ± 0,005 |
| F 2 | 1066 cp ± 44,193 | 5,66 ± 0,020 |
| F 3 | 1061,7 cp ± 6,658 | 5,61 ± 0,028 |

Keterangan :
F 1 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:10
F 2 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:8
F 3 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:6

Berdasarkan hasil penetapan viskositas dan pH diatas dapat dilihat bahwa antara formula 1, 2 dan 3 mempunyai viskositas dan pH yang berbeda-beda. Pada formula 1, 2 dan 3 berturut-turut mempunyai viskositas yang semakin rendah.

Formula 1 mempunyai komposisi tween 80 yang paling besar dengan perbandingan lesitin dan tween 80 sebesar 1:10. Menurut Mustaufik, *dkk* tween 80 mampu meningkatkan viskositas fase pendispersi dan membentuk lapisan tipis yang kuat yang dapat mencegah penggabungan fase terdispersi sehingga tidak terjadi pengendapan[13]. Besarnya komposisi tween 80 ini yang menyebabkan tingginya viskositas pada formula 1. Asamnya sediaan pada ketiga formula ini disebabkan karena sifat vitamin C palmitat yang cenderung asam, sehingga mengakibatkan sediaan mikroemulsi yang dihasilkan bersifat lebih asam. Kesimpulan yang dapat ditarik berdasarkan hasil tersebut adalah perbedaan perbandingan surfaktan lesitin dan tween 80 dapat mempengaruhi viskositas dan pH dari masing-masing sediaan.

Analisis data yang digunakan untuk viskositas adalah menggunakan *kruskal wallis*, sedangkan analisis data yang digunakan untuk pH adalah menggunakan uji *one way anova*. Berdasarkan analisis data menggunakan *kruskal wallis* didapatkan nilai *sig* = 0,061 ($p > 0,05$), artinya perbedaan viskositas antara formula 1, 2 dan 3 tidak bermakna secara signifikan. Berdasarkan hasil analisis menggunakan *one way anova*, antara formula 1 dan 3, dan antara formula 2 dan 3 mempunyai perbedaan nilai pH yang signifikan, namun perbedaan nilai pH antara formula 1 dan 2 tidak berbeda secara signifikan.

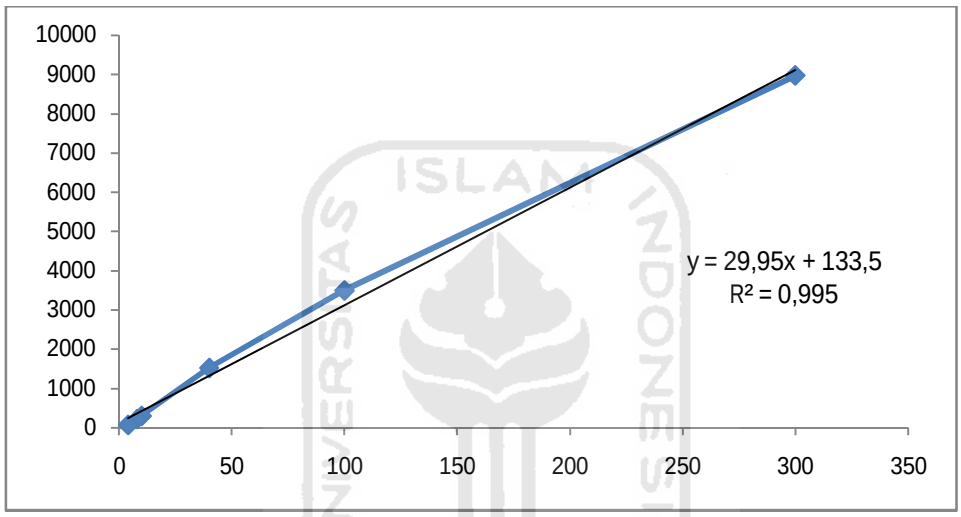
5. Kadar vitamin C palmitat

Penetapan kadar sediaan dilakukan dengan menggunakan HPLC. Fase gerak yang digunakan adalah methanol-asetonitril-0,02 M buffer fosfat pH 2,5 dengan perbandingan 75:10:15[37]. Langkah awal sebelum menggunakan penetapan kadar ini adalah dengan menetapkan panjang gelombang maksimal dari vitamin C palmitat dengan menggunakan alat spektrofotometer. Penetapan panjang gelombang ini menggunakan konsentrasi 50 ppm dan didapat hasil bahwa panjang gelombang dari vitamin C palmitat adalah 253 nm. Hasil panjang gelombang tersebut sesuai dengan literatur yang menyebutkan bahwa panjang gelombang maksimal dari vitamin C palmitat adalah 254 nm[37].

Ada beberapa tahap yang dilakukan sebelum penetapan kadar ini, yaitu verifikasi HPLC dan penetapan kurva baku. Tahapan tersebut dijelaskan sebagai berikut :

a. Penetapan kurva baku

Seri kadar yang digunakan untuk penetapan kurva baku ini adalah 4, 8, 10, 40, 100, dan 300 ppm. Berdasarkan hasil yang didapatkan persamaan kurva baku dari vitamin C palmitat adalah y = 29,95 x + 133,5. Kurva baku vitamin C palmitat dapat dilihat pada gambar 9.




**Gambar 9.** *Kurva baku vitamin C palmitat.*

b. Penetapan Linieritas

Linearitas adalah kemampuan metode analisis yang memberikan respon yang secara langsung atau dengan bantuan transformasi matematik yang baik, proporsional terhadap konsentrasi analit dalam sampel. Suatu metode dikatakan linier apabila menghasilkan nilai r = 0,999[41]. Hasil yang didapatkan dari regresi linier adalah nilai linieritas (r) sebesar 0,997. Sehingga dapat disimpulkan bahwa metode yang digunakan dapat menghasilkan data yang linier.

c. Penetapan LOD dan LOQ

Batas deteksi (LOD) adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko. Batas deteksi merupakan parameter uji batas. Batas kuantitasi merupakan (LOQ) parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas

terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama[41]. Hasil yang didapatkan nilai LOD adalah 18,766 ppm, artinya metode yang digunakan mampu memberikan respon yang baik dengan kadar terkecil 18,766 ppm, sedangkan nilai LOQ yang didapatkan adalah 56,868 ppm, artinya analit terkecil dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama sebesar 56,868 ppm. Berdasarkan hasil diatas dapat disimpulkan bahwa metode yang digunakan mampu mendeteksi kadar terkecil sebesar 18,766 ppm, namun kadar ini tidak dapat dikuantitaskan karena metode ini hanya mampu mengkuantitaskan kadar terkecil sebesar 56,868 ppm.

d. Penetapan Presisi dan Akurasi

Presisi atau keseksamaan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kesesuaian antara hasil uji individual, diukur melalui penyebaran hasil individual dari rata-rata jika prosedur di terapkan secara berulang pada sampel-sampel yang diambil dari campuran yang homogen. Presisi yang dilakukan adalah keterulangan (repeatability). Keterulangan adalah keseksamaan metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang sama pada kondisi sama dan dalam interval waktu yang pendek[41].

Akurasi atau kecermatan adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analis dengan kadar analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (*recovery*) analit yang ditambahkan[41]. Persen perolehan kembali yang masih dapat diterima adalah sebesar 80 % - 120 %[28]. Penetapan akurasi ini menggunakan metode *spiked placebo recovery*. Metode *spiked placebo recovery* dilakukan dengan cara sejumlah analit bahan murni ditambahkan ke dalam campuran bahan pembawa sediaan (hanya basis mikroemulsi tanpa zat aktif) lalu campuran tersebut dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar analit yang ditambahkan (kadar yang sebenarnya)[41].

Presisi ditetapkan dengan seri kadar 4 ppm, 40 ppm dan 300 ppm, sedangkan akurasi menggunakan seri kadar 8 ppm, 40 ppm dan 300 ppm. Hasil dari presisi ditunjukkan dengan nilai CV (*coefisien varian*) dan hasil dari akurasi ditunjukkan dengan nilai % perolehan kembali. Hasil penetapan presisi dan akurasi dapat dilihat pada tabel IV.

**Tabel IV.** *Hasil presisi dan akurasi vitamin C palmitat*

| Konsentrasi | 300 ppm | 40 ppm | 8 ppm | 4 ppm |
|---|---|---|---|---|
| CV | 1,55 % | 0,99 % | - | 2,69 % |
| % perolehan kembali | 99,87 % | 108,55 % | 61,93 % | - |

Kadar 300 ppm, 40 ppm dan 4 ppm persyaratan CV (*coefisien varian*) yang dapat diterima berturut-turut adalah <3 %, < 4 % dan < 6 %[43]. Berdasarkan hasil presisi di atas, kadar 300 ppm, 40 ppm, dan 4 ppm memenuhi persyaratan nilai CV yang dapat diterima. Berdasarkan hasil tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa metode yang digunakan mempunyai presisi yang baik.

Berdasarkan hasil % perolehan kembali di atas dapat disimpulkan bahwa metode yang digunakan memiliki akurasi yang bagus untuk kadar 300 ppm dan 40 ppm (% perolehan kembali sebesar 80 % - 120 %[28]), artinya metode ini mampu menghasilkan kadar yang akurat. Pada kadar 8 ppm metode ini tidak mampu menghasilkan data yang akurat, artinya metode ini mampu membaca absorbansi untuk kadar 8 ppm namun hasil yang didapatkan tidak akurat (% perolehan kembali kurang dari 80 %). Hasil ini dapat dikaitkan dengan LOD yang didapatkan. Menurut hasil LOD, kadar terendah yang dapat terdeteksi adalah 18,766 ppm, artinya metode ini mampu memberikan respon yang baik untuk pembacaan kadar terendah sebesar 18,766 ppm. Berdasarkan hasil tersebut maka metode ini tidak akurat untuk pembacaan kadar 8 ppm.

e. Penetapan kadar sebelum perlakuan

Penetapan kadar ini didapatkan dari hasil persamaan kurva baku y = 29,95 x + 133,5. Kadar vitamin C palmitat dari ketiga formula dapat dilihat pada tabel V.

**Tabel V.** *Kadar vitamin C palmitat sebelum perlakuan ( n=3 )*

| Formula | Kadar Vitamin C palmitat (ppm) |
|---|---|
| F 1 | 205,752 ± 1,4701 |
| F 2 | 302,259 ± 1,4892 |
| F 3 | 225,306 ± 14,3127 |

Keterangan :
F 1 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:10
F 2 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:8
F 3 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:6

Kadar vitamin C palmitat yang sebenarnya adalah sebesar 2 %[37] (2 gram/100 ml) yang diencerkan 1:100, jadi kadar awal vitamin C palmitat awal adalah 200 ppm (200 mg/ 1000 ml). Berdasarkan hasil di atas dapat disimpulkan bahwa perbedaan perbandingan surfaktan mempengaruhi kadar vitamin C palmitat pada sediaan mikroemulsi. Hal ini dimungkinkan adanya interaksi antara vitamin C palmitat dengan surfaktan lesitin dan tween 80 sehingga mengakibatkan penurunan kadar vitamin C palmitat dalam sediaan. Hasil kadar sebelum perlakuan ini sebagai patokan adanya perbedaan kadar dari ketiga formula dengan penyimpanan pada suhu 25$^{o}$C dan 40$^{o}$C selama satu bulan.

II. Stabilitas fisik dan kimia mikroemulsi vitamin C palmitat setelah perlakuan

a. Stabilitas Fisik

1. Organoleptis

Hasil yang didapatkan untuk sediaan yang disimpan pada suhu 25$^{o}$C selama satu bulan terjadi perubahan dilihat dari segi warna dan tingkat kejernihan sediaan. Warna sediaan makin lebih gelap yaitu dari warna orange bening menjadi warna orange tua dan agak keruh. Gambar perubahan warna sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat dari minggu pertama dan minggu keempat pada suhu 25$^{o}$C dapat dilihat pada gambar 10.



a b

**Gambar 10.** *Perubahan warna sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat pada suhu 25$^{o}$C.*

Keterangan :
a : Formula 1, 2 dan 3 pada minggu pertama
b : Formula 1, 2 dan 3 pada minggu keempat

Perbedaan warna yang terjadi dari minggu pertama hingga minggu keempat ini disebabkan karena lesitin yang sudah mengalami oksidasi karena penyimpanan selama satu bulan. Lesitin yang teroksidasi akan berubah warna menjadi lebih gelap[30]. Selain itu perubahan warna sediaan yang cenderung lebih gelap juga dapat disebabkan karena tween 80 yang mengalami degradasi, tween 80 menjadi tidak stabil karena terpapar dengan cahaya[29].

Berbeda dengan sediaan yang disimpan pada suhu 40$^{o}$C, perubahan warna sangat jelas terlihat. Perubahan warna dari warna orange pada minggu pertama menjadi merah bata pada minggu keempat. Perubahan warna yang terjadi menunjukkan sediaan sudah mengalami kerusakan atau teroksidasi. Perubahan warna sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat dari minggu pertama dan minggu keempat pada suhu 40$^{o}$C dapat dilihat pada gambar 11.



a b

**Gambar 11.** *Perubahan warna sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat pada suhu 40$^{o}$C.*

Keterangan :
a : Formula 1, 2 dan 3 pada minggu pertama
b : Formula 1, 2 dan 3 pada minggu keempat

Warna sediaan mikroemulsi yang disimpan pada suhu 40$^{o}$C cenderung lebih tua, hal ini dikarenakan sifat dari lesitin. Pada suhu yang lebih tinggi lesitin cenderung tidak stabil, lesitin mengalami oksidasi, warna menjadi lebih gelap dan terdekomposisi[30]. Perubahan warna yang terjadi pada sediaan mikroemulsi ini juga dapat disebabkan karena sifat dari vitamin C palmitat yang tidak stabil, mudah teroksidasi dan menjadi berubah warna saat terkena cahaya. Vitamin C palmitat lebih stabil dengan penyimpanan pada tempat yang sejuk[26].

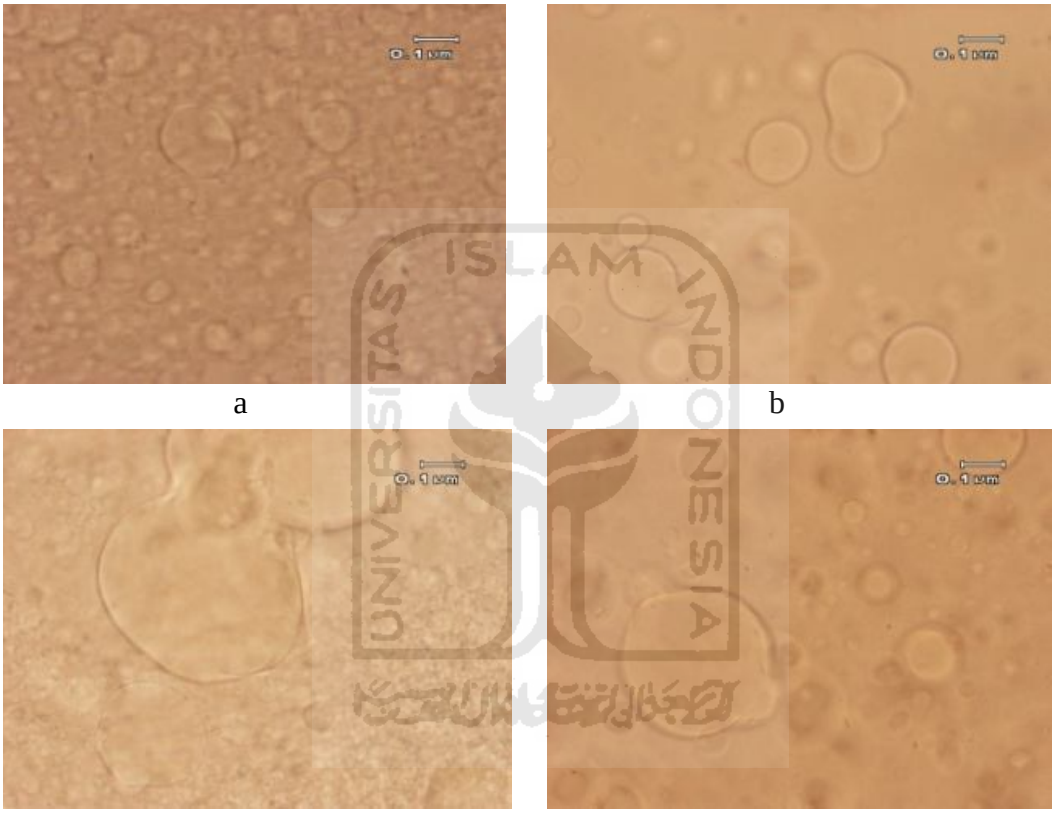
Berdasarkan perbedaan warna yang terjadi dapat disimpulkan bahwa warna sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat dipengaruhi oleh suhu. Sediaan yang disimpan pada suhu 40$^{o}$C mengalami perubahan warna yang lebih cepat dibandingkan dengan sediaan yang disimpan pada suhu 25$^{o}$C. Semakin tinggi suhu dapat mempercepat reaksi oksidasi dari lesitin, tween 80 dan vitamin C palmitat sehingga perubahan warna sediaan menjadi lebih gelap pada sediaan menjadi lebih cepat.

2. Pemisahan fase

Berdasarkan hasil yang didapatkan dari semua formula baik yang disimpan pada suhu 25$^{o}$C dan suhu 40$^{o}$C tidak terbentuk adanya dua fase. Menurut teori film plastik, suatu sistem emulsi terjadi apabila ditambahkan zat yang dapat mengelilingi antarmuka kedua cairan, mengelilingi tetesan fase dalam sebagai suatu lapisan tipis atau film yang diadsorpsi pada permukaan dari tetesan tersebut. Semakin kuat dan semakin lunak lapisan tersebut maka emulsi yang terbentuk akan semakin stabil[22]. Tidak terbentuknya pemisahan fase ini dikarenakan lesitin mempunyai rantai hidrokarbon yang panjang sehingga sangat bersifat hidrofobik, namun lesitin juga mempunyai gugus zwitterion yang cenderung bersifat polar. Berdasarkan struktur dari lesitin tersebut, lesitin mempunyai sifat hidrofilik dan lipofilik yang mendekati kesetimbangan[39]. Adanya tween 80 pada sediaan dapat menurunkan tegangan permukaan dan dapat meningkatkan keseimbangan hidrofilik-lipofilik dari lesitin[14]. Penyimpanan sediaan pada suhu 25$^{o}$C dan 40$^{o}$C tidak mempengaruhi ikatan yang terjadi antara lesitin dan twee 80, sehingga sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat tetap stabil pada penyimpanan pada suhu 25$^{o}$C dan 40$^{o}$C selama satu bulan.

3. Ukuran globul

Penetapan ukuran globul menggunakan alat mikroskop elektrik. Penetapan ini dapat digunakan untuk mengetahui perubahan ukuran globul dari masing-masing formula dengan penyimpanan pada suhu yang berbeda selama satu bulan. Berdasarkan hasil yang diperoleh, terdapat perbedaan ukuran globul yang sangat terlihat dari formula 3 pada suhu 25$^{o}$C dan 40$^{o}$C serta formula 1 pada suhu 40$^{o}$C. Perubahan tersebut dapat dilihat pada gambar 12.



a b c d

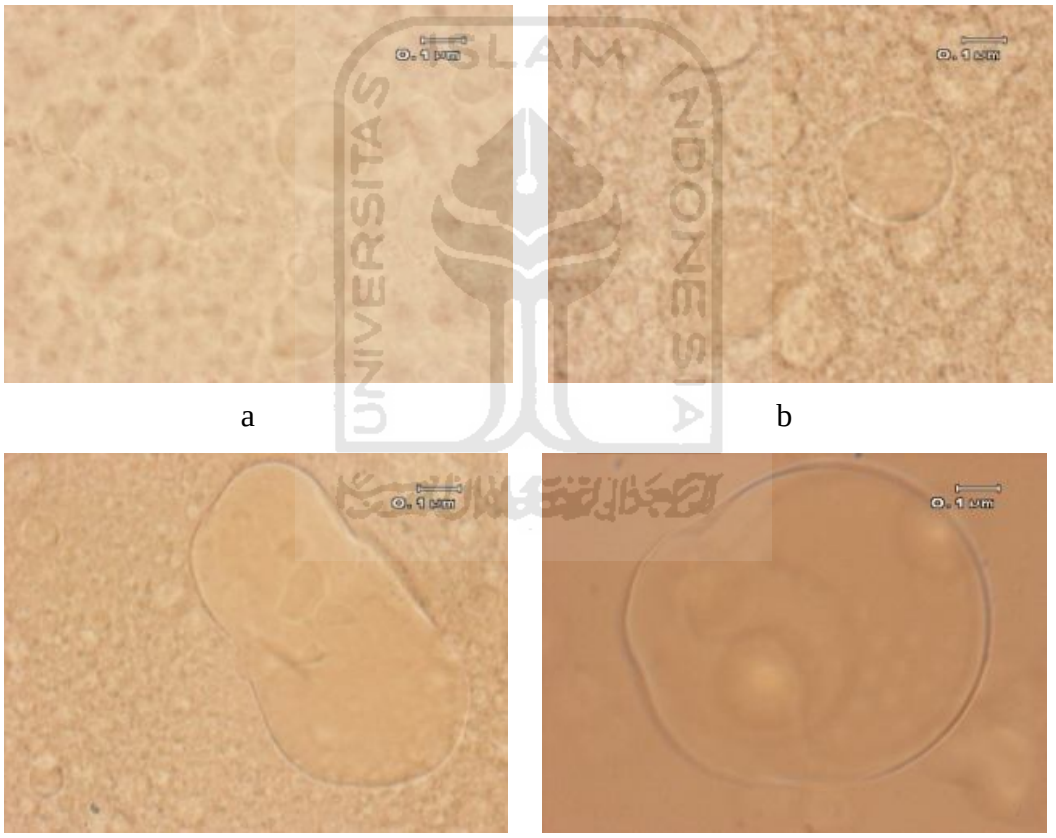
**Gambar 12.** *Perubahan ukuran globul formula 3 pada suhu 25$^{o}$C.*

Keterangan :
a : Ukuran globul formula 3 pada suhu 25$^{o}$C minggu pertama
b : Ukuran globul formula 3 pada suhu 25$^{o}$C minggu kedua
c : Ukuran globul formula 3 pada suhu 25$^{o}$C minggu ketiga
d : Ukuran globul formula 3 pada suhu 25$^{o}$C minggu keempat

Perubahan ukuran globul pada formula 3 diatas menunjukkan terbentuknya koalesen pada sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat. Koalesen merupakan salah satu bentuk ketidakstabilan dari mikroemulsi yang ditandai dengan penggabungan globul-globul minyak sebagai fase dalam menjadi

lebih besar[40]. Formula 3 mengandung perbandingan lesitin dan tween 80 sebesar 1:6 dimana komposisi lesitin lebih besar dibandingkan dengan formula 1 dan formula 2. Menurut Radomska, lesitin mempunyai stabilitas yang sangat buruk, lesitin mempunyai kecenderungan yang tinggi untuk membentuk agregat, namun hal ini tidak mempunyai efek yang cukup besar dalam merusak sistem mikroemulsi[13]. Terbentuknya agregat ini membuat antar globul menyatu membentuk koalesen.

Pada minggu kedua terlihat bahwa koalesen sudah mulai akan terbentuk dan pada minggu ketiga dan minggu keempat koalesen yang terbentuk sudah mulai bertambah besar. Koalesen juga terjadi pada formula 3 suhu 40$^{o}$C, hal ini dapat dilihat pada gambar 13.



a b

c d

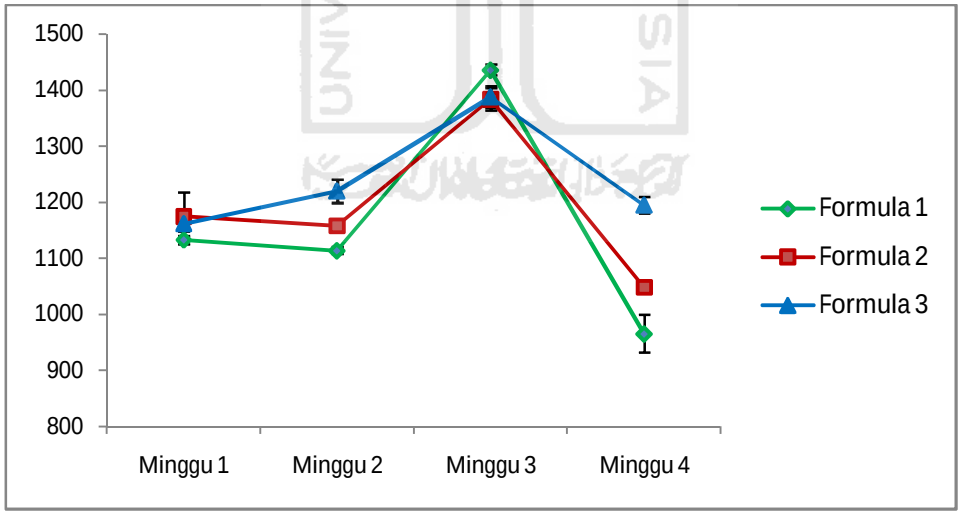
**Gambar 13.** *Perubahan ukuran globul formula 3 pada suhu 40$^{o}$C.*

Keterangan :
a : Ukuran globul formula 3 pada suhu 40$^{o}$C minggu pertama
b : Ukuran globul formula 3 pada suhu 40$^{o}$C minggu kedua
c : Ukuran globul formula 3 pada suhu 40$^{o}$C minggu ketiga
d : Ukuran globul formula 3 pada suhu 40$^{o}$C minggu keempat

Koalesen yang terbentuk pada formula 3 dengan penyimpanan suhu 40$^{o}$C lebih besar dibanding dengan koalesen yang terbentuk pada formula 3 dengan penyimpanan suhu 25$^{o}$C. Lesitin mudah mengalami oksidasi pada suhu yang lebih tinggi[30]. Kerusakan lesitin ini membuat globul pada sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat mempunyai kecenderungan yang lebih tinggi untuk membentuk koalesen[13]. Secara garis besar, sediaan mikroemulsi lebih stabil disimpan pada suhu 25$^{o}$C dilihat dari segi ukuran globul. Penyimpanan sediaan dengan suhu yang lebih tinggi dapat mengakibatkan peningkatan laju tumbukan antar globul sehingga sangat mudah terbentuk koalesen[44].

4. Viskositas

Berdasarkan hasil viskositas dapat dilihat pada masing-masing formula mempunyai viskositas yang berbeda, perbedaan perbandingan surfaktan lesitin dan tween 80 mempengaruhi viskositas dari sediaan mikroemulsi. Berikut adalah gambar grafik perubahan viskositas sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat yang disimpan pada suhu 25$^{o}$C selama satu bulan :

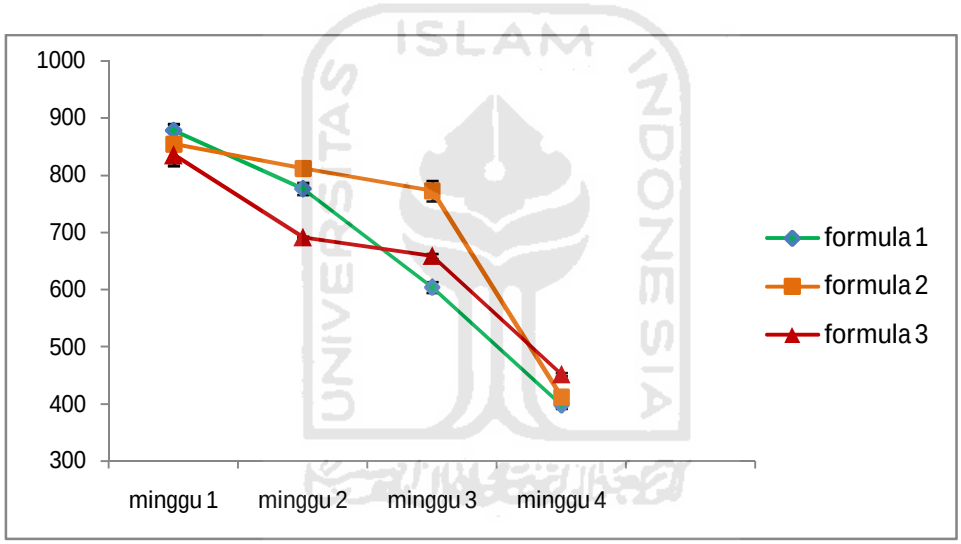



**Gambar 14.** *Grafik perubahan viskositas sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat pada suhu 25$^{o}$C ( n=3 ).*

Keterangan :
F 1 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:10
F 2 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:8
F 3 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:6

Formula 1, 2, dan 3 pada minggu pertama hingga minggu ketiga mengalami kenaikan viskositas, hal ini dikarenakan terjadinya proses autooksidasi dari lesitin sehingga lesitin mengalami proses polimerasi. Pada minggu keempat, formula 1,2 dan 3 mengalami penurunan viskositas yang dikarenakan putusnya rantai polimer dari tween 80 sehingga menyebabkan berkurangnya bobot molekul[13]. Tween 80 merupakan bentuk ester dimana putusnya rantai polimer ini terjadi akibat dari proses hidrolisis, yaitu putusnya rantai polimer yang disebabkan oleh air[44].

Berbeda dengan sediaan yang disimpan pada suhu 40$^{o}$C. Berikut adalah gambar grafik perubahan viskositas sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat yang disimpan pada suhu 40$^{o}$C selama satu bulan :




**Gambar 15.** *Grafik perubahan viskositas sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat pada suhu 40$^{o}$C ( n=3 ).*

Keterangan :
F 1 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:10
F 2 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:8
F 3 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:6

Berdasarkan grafik perubahan viskositas, sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat pada suhu 40$^{o}$C baik pada formula 1, 2 dan 3 viskositas sediaan cenderung mengalami penurunan. Penurunan viskositas ini disebabkan karena putusnya rantai polimer dari tween 80 sehingga mengakibatkan bobot molekul berkurang[13]. Putusnya ikatan ini akan semakin cepat pada suhu yang

lebih tinggi sehingga viskositas sediaan akan semakin rendah. Semakin tinggi suhu dapat mempercepat perubahan viskositas sediaan. Penyimpanan dengan suhu yang tinggi dapat membuat sediaan menjadi lebih encer (viskositas yang rendah).

Berdasarkan hasil analisis data menggunakan *paired t-test*, formula 2 dan 3 yang disimpan pada suhu 25$^{o}$C mengalami perubahan viskositas namun perubahan viskositas ini tidak berbeda secara signifikan, sedangkan untuk formula 1 yang disimpan pada suhu 25$^{o}$C perubahan viskositas dari minggu pertama hingga minggu keempat bermakna secara signifikan. Sediaan yang disimpan pada suhu 40$^{o}$C baik pada formula 1, 2 dan 3 mengalami perubahan viskositas secara bermakna. Berikut adalah hasil signifikansi analisis data viskositas sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat setelah perlakuan :

**Tabel VI.** *Nilai signifikansi viskositas sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat setelah perlakuan*

| Perlakuan | Nilai signifikansi perubahan viskositas pada minggu pertama dan minggu keempat | | |
|---|---|---|---|
| | F 1 | F 2 | F 3 |
| Suhu 25$^{0}$C | 0,009 | 0,109 | 0,152 |
| Suhu 40$^{0}$C | 0,000 | 0,000 | 0,001 |

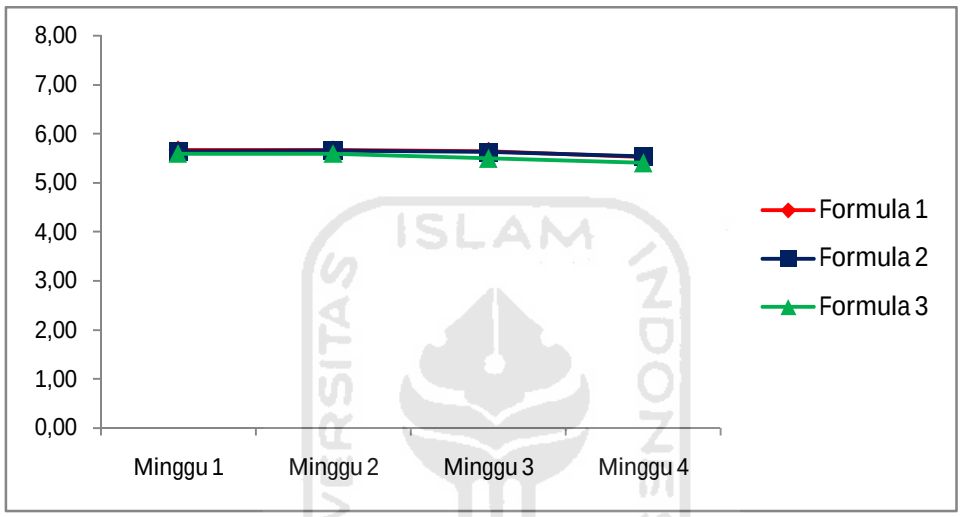
Keterangan :
F 1 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:10
F 2 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:8
F 3 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:6

Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa viskositas sediaan dipengaruhi oleh suhu penyimpanan. Tingginya suhu penyimpanan mengakibatkan meningkatnya tekanan uap sehingga dapat mengakibatkan menurunnya stabilitas sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat[37].

b. Stabilitas kimia

1. pH

Penetapan pH ini menggunakan pH meter. Sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat ini ditujukan untuk penggunakan secara topikal, sehingga diharapkan mempunyai pH yang tergolong basa ( pH > 7 ). pH yang basa lebih cocok untuk kulit karena bersifat tidak mengiritasi kulit. Perubahan pH dari ketiga formula yang disimpan pada suhu 25$^{o}$C dapat dilihat pada gambar 16.

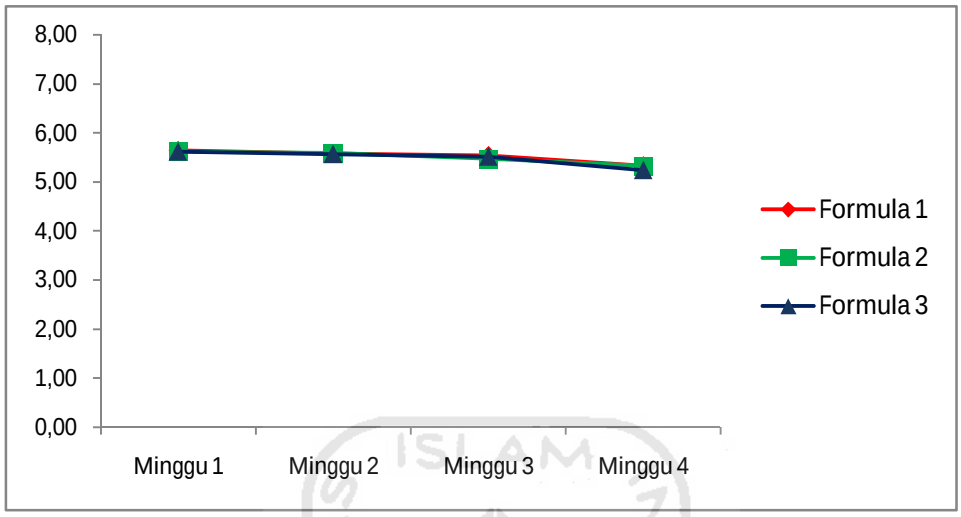



**Gambar 16.** *Grafik perubahan pH sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat pada suhu 25$^{o}$C ( n=3 )*

Keterangan :
F 1 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:10
F 2 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:8
F 3 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:6

Berdasarkan grafik diatas dapat dilihat bahwa dari ketiga formula dengan penyimpanan pada suhu 25$^{o}$C mengalami perubahan pH dari minggu ke minggu selama satu bulan. Nilai pH pada formula 1, 2 dan 3 tidak terlalu jauh berbeda, namun dari ketiga formula ini nilai pH sediaan cenderung menjadi lebih asam. Penurunan pH yang terjadi pada sediaan ini disebabkan karena ketidakstabilan dari lesitin. Rantai asam tak jenuh dari lesitin mengalami oksidasi atau proses hidrolisis pada gugus polar yang berlangsung dengan cepat[13] sehingga menyebabkan pH pada sediaan makin asam selama penyimpanan satu bulan.

Berbeda dengan sediaan yang disimpan pada suhu 40°C. Berikut grafik perubahan pH sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat dengan penyimpanan pada suhu 40°C selama satu bulan :




**Gambar 17.** *Grafik perubahan pH sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat pada suhu 40°C ( n=3 ).*

Keterangan :
F 1 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:10
F 2 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:8
F 3 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:6

Formula 1,2 dan 3 yang disimpan pada suhu 40°C mengalami perubahan pH yang lebih asam dibanding dengan sediaan yang disimpan pada suhu 25°C. Hal ini disebabkan karena ketidakstabilan dari lesitin. Pada suhu yang lebih tinggi lesitin lebih mudah teroksidasi[30]. Seperti yang terjadi pada sediaan yang disimpan pada suhu 25°C, rantai asam tak jenuh dari lesitin mengalami oksidasi atau proses hidrolisis pada gugus polar yang berlangsung dengan cepat[13] sehingga menyebabkan pH pada sediaan makin asam selama penyimpanan satu bulan. Penyimpanan pada suhu 40°C mengakibatkan proses oksidasi ini berjalan lebih cepat, sehingga penurunan pH pada sediaan terjadi lebih cepat dan lebih asam. Semakin tinggi suhu penyimpanan sediaan, maka pH sediaan semakin menurun (pH cenderung lebih asam).

Berdasarkan hasil analisis data menggunakan *paired t-test*, pada formula 1 dan 2 yang disimpan pada suhu 25°C perubahan pH dari minggu pertama dan

minggu keempat tidak berbeda secara signifikan, sedangkan pad formula 3 yang disimpan pada suhu 25$^{o}$C perubahan pH dari minggu pertama dan minggu keempat terjadi secara signifikan. Sediaan yang disimpan pada suhu 40$^{o}$C baik pada formula 1, 2 dan 3 perubahan pH yang terjadi tidak secara signifikan. Berikut adalah tabel nilai signifikansi pH sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat :

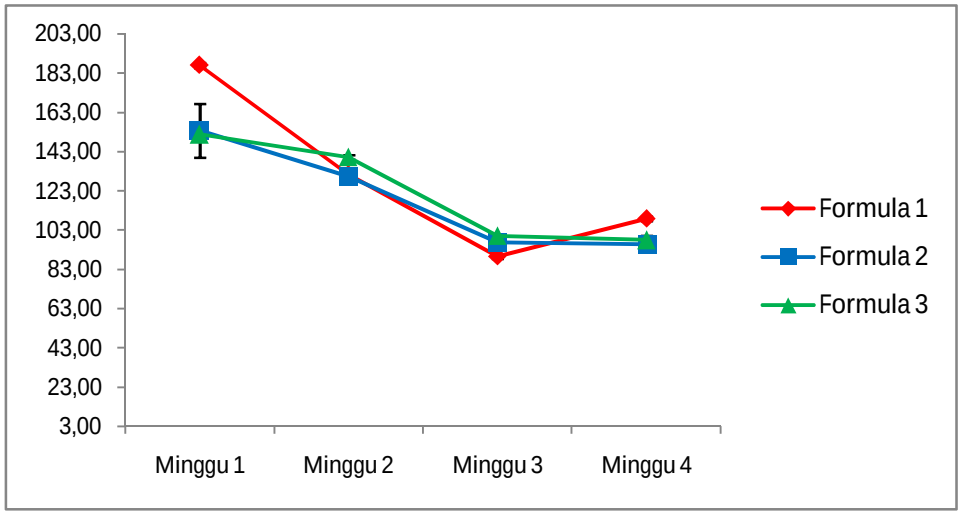
**Tabel VII.** *Nilai signifikansi pH sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat setelah perlakuan*

| Perlakuan | Nilai signifikansi perubahan viskositas pada minggu pertama dan minggu keempat | | |
|---|---|---|---|
| | F1 | F2 | F3 |
| Suhu 25$^{o}$C | 0,102 | 0,102 | 0,006 |
| Suhu 40$^{o}$C | 0,109 | 0,109 | 0,102 |

Keterangan :
F 1 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:10
F 2 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:8
F 3 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:6

2. Kadar vitamin C palmitat

Penetapan kadar vitamin C palmitat ini menggunakan HPLC dengan fase diam C18 dan fase gerak methanol-asetonitril-0,02 M buffer fosfat pH 2,5 (75:10:15) pada panjang gelombang 254 nm[37]. Grafik kadar rata-rata formula 1, 2 dan 3 pada penyimpanan suhu 25$^{0}$C dapat dilihat pada gambar 18.

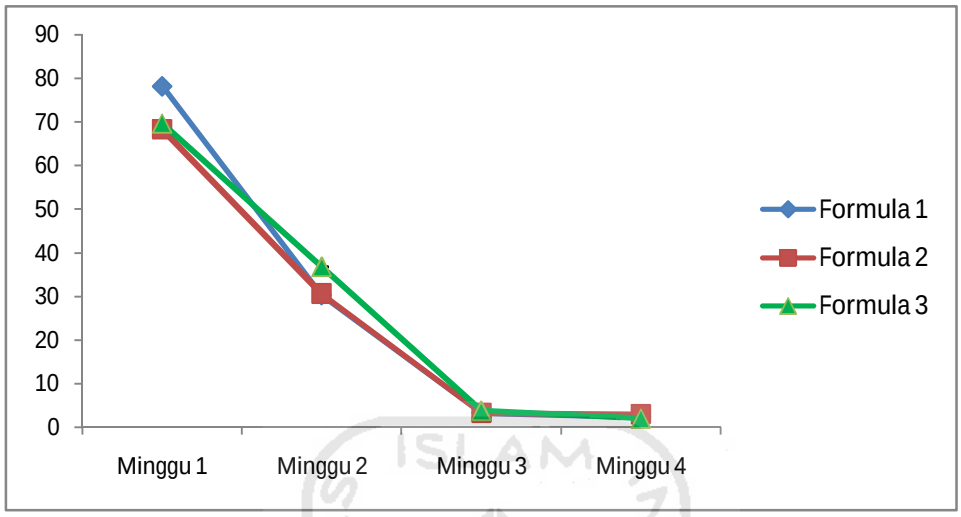



**Gambar 18.** *Grafik perubahan kadar vitamin C palmitat sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat pada suhu $25^0$C ( n=3 ).*

Keterangan :
F 1 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:10
F 2 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:8
F 3 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:6

Berdasarkan grafik diatas dapat dilihat bahwa pada formula 1, 2 dan 3 mengalami penurunan kadar. Pada formula 1 mengalami kenaikan kadar pada minggu keempat, hal ini dimungkinkan vitamin C palmitat sudah mengalami oksidasi dan menjadi produk lain, sehingga yang terbaca pada HPLC bukan lagi vitamin C palmitat. Proses oksidasi terdiri dari 3 tahap, yaitu inisiasi, propagasi dan terminasi. Tahap inisiasi adalah radikal bebas dihasilkan oleh radiasi pengion kemudian bereaksi dengan monomer yang belum jenuh, tahap propagasi adalah pertumbuhan rantai polimer dengan terjadinya ikatan antara radikal propagasi dengan monomer dan tahap terminasi adalah pertumbuhan radikal propagasi sudah mengalami kejenuhan kemudian mulai melakukan reaksi penggabungan sampai mencapai keseimbangan dan reaksi berhenti[(45)]. Pada gambar 18 dapat dilihat perubahan kadar pada minggu pertama dan kedua merupakan tahap inisiasi, pada minggu kedua hingga minggu ketiga merupakan tahap propagasi, dan pada minggu ketiga hingga minggu keempat merupakan tahap terminasi.

Penurunan kadar ini berbeda pada sediaan mikroemulsi yang disimpan pada suhu 40$^{o}$C. Grafik perubahan kadar sediaan mikroemulsi topikal vitamin C pamitat yang disimpan pada suhu 40$^{o}$C dapat dilihat pada gambar 19.

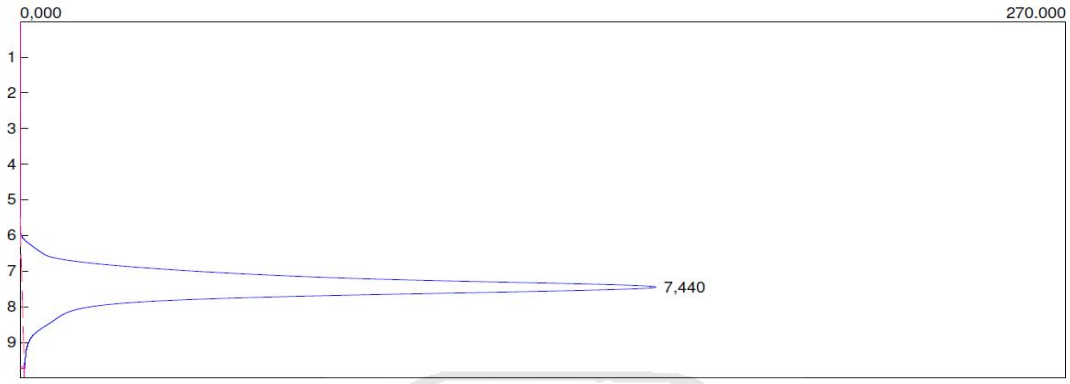



**Gambar 19.** *Grafik perubahan kadar vitamin C palmitat sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat pada suhu 40$^{o}$C ( n=3 ).*

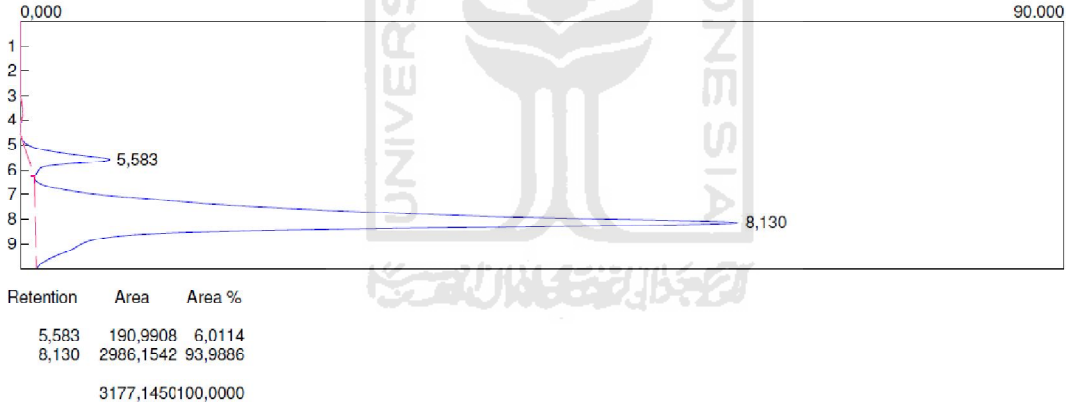
Keterangan :
F 1 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:10
F 2 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:8
F 3 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:6

Berdasarkan hasil diatas dapat dilihat bahwa dari minggu ke minggu baik pada formula 1, 2 dan 3 mengalami penurunan kadar. Jika dibandingkan dengan sediaan yang disimpan pada suhu 25$^{o}$C, penurunan kadar pada sediaan yang disimpan pada suhu 40$^{o}$C terjadi sangat cepat dan kadar vitamin C palmitat juga sangat menurun. Penurunan kadar vitamin C palmitat ini terjadi karena ketidakstabilan dari vitamin C palmitat pada sediaan. Vitamin C palmitat sangat mudah teroksidai akibat suhu yang tinggi. Penyimpanan yang baik untuk vitamin C palmitat adalah ditempat yang sejuk[(26)]. Pada gambar 19 dapat dilihat perubahan kadar pada minggu pertama merupakan tahap inisiasi, pada minggu kedua hingga minggu ketiga merupakan tahap propagasi, dan pada minggu ketiga hingga minggu keempat merupakan tahap terminasi.

Proses oksidasi yang terjadi pada vitamin C palmitat ini diduga mengakibatkan terbentuknya produk lain. Hal ini dapat dilihat pada hasil *peak* pada formula 3 dengan penyimpanan dalam suhu 25$^{o}$C sebelum perlakuan dan minggu keempat.




a




b

**Gambar 20.** *Kromatogram vitamin C palmitat formula 3 suhu 25$^{o}$C minggu keempat.*

Keterangan :
a : Kromatogram vitamin C palmitat sebelum perlakuan
b : Kromatogram vitamin C palmitat formula 3 suhu 25$^{o}$C minggu keempat

Berdasarkan hasil kromatogram tersebut terdapat 2 puncak yang menandakan adanya produk lain yang dihasilkan akibat oksidasi dari vitamin C palmitat tersebut. Perhitungan dalam penentuan kadar menggunakan AUC dengan waktu retensi 8,130 karena waktu retensi ini mendekati waktu retensi pada AUC

vitamin C palmitat sebelum perlakuan. Kesimpulan yang dapat ditarik adalah bahwa kadar dari vitamin C palmitat dalam sediaan mikroemulsi dipengaruhi oleh perbedaan suhu penyimpanan sediaan. Semakin tinggi suhu penyimpanan maka dapat mempercepat proses oksidasi dari vitamin C palmitat, sehingga kadar vitamin C palmitat semakin kecil. Jenis reaksi kerusakan pada vitamin C palmitat ini termasuk dalam reaksi oksidasi, hal ini dapat dilihat dari hasil pengamatan organoleptis selama satu bulan pada suhu 25$^{o}$C dan 40$^{o}$C dimana sediaan mikroemulsi mengalami perubahan warna. Selain itu untuk membuktikan vitamin C palmitat pada sediaan mikroemulsi mengalami reaksi oksidasi, dilakukan penetapan panjang gelombang vitamin C palmitat dari minggu pertama dan minggu keempat. Hasil penetapan panjang gelombang vitamin C palmitat pada sediaan mikroemulsi dapat dilihat pada tabel VIII.

**Tabel VIII.** *Panjang gelombang vitamin C palmitat dalam sediaan mikroemulsi pada suhu 25$^{o}$C dan 40$^{o}$C (50 ppm)*

| Perlakuan | F 1 ( nm ) | | F 2 ( nm ) | | F 3 ( nm ) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 25$^{0}$C | 40$^{0}$C | 25$^{0}$C | 40$^{0}$C | 25$^{0}$C | 40$^{0}$C |
| Minggu pertama | 222,5 | 251,5 | 245,5 | 248,5 | 246,5 | 248,5 |
| Minggu keempat | 240 | 240,5 | 240,5 | 240,5 | 240,5 | 240,5 |

Keterangan :
F 1 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:10
F 2 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:8
F 3 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:6

Pergeseran panjang gelombang ini menandakan bahwa vitamin C palmitat mengalami reaksi oksidasi. Pada minggu keempat baik sediaan yang disimpan pada suhu 25$^{o}$C dan 40$^{o}$C panjang gelombang yang dihasilkan sangat berbeda dengan panjang gelombang vitamin C palmitat ( $\lambda$ = 253 nm ) itu sendiri. Pada minggu keempat merupakan tahap terminasi karena dari ketiga formula menghasilkan panjang gelombang yang hampir sama. Perbedaan panjang gelombang selama penyimpanan menandakan bahwa vitamin C palmitat sudah mengalami oksidasi. Secara garis besar, sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat lebih stabil disimpan pada suhu 25$^{o}$C.

# BAB V
# KESIMPULAN DAN SARAN

## A. Kesimpulan

1. Perbedaan perbandingan kombinasi surfaktan tween 80 dan lesitin dapat mempengaruhi stabilitas fisik sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat, warna sediaan sebelum perlakuan kuning orange, jernih, dan tidak terbentuknya koalesen, namun setelah penyimpanan selama satu bulan warna sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat menjadi lebih gelap, kejernihan sediaan makin rendah, viskositas semakin menurun dan terbentuknya koalesen.
2. Perbedaan perbandingan kombinasi surfaktan tween 80 dan lesitin dapat mempengaruhi stabilitas kimia sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat, pH sediaan yang semakin asam dan semakin menurunnya kadar vitamin C palmitat pada sediaan setelah penyimpanan selama satu bulan.

## B. Saran

1. Dilakukan uji stabilitas sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat dengan variasi jenis surfaktan yang lain.
2. Dilakukan uji iritasi primer sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat sebagai tindak lanjut dari penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA


(1) Humbert, P.G, Haftek, M., Creidi, P., Lapiere, C., Nusqens, B., Richard, A., Schmitt, D., Rougier, A., Zahouani, H., 2003, Topical Ascorbic Acid On Photoaged Skin. Clinical, Topographical And Ultrastructural Evaluation: Double-Blind Study vs Placebo, *Exp. Derm*. 12, 237–244.

(2) Pinnell, S.R., Madey, D.L., 1998, Topical Vitamin C in Skin Care, *Aesth. Surg. J*. 18, 468–470.

(3) Walter, P.S., The Effects of Topical L(+) Lactic Acid And Ascorbic Acid On Skin Whitening, *Int. J. Cosmet. Sci.* 21 (1999) 33–40.

(4) Jurkovic, P., Sentjurc, M., Gasperlin, M., Kristl, J and Pecar, S. 2003. Skin Protection Against Ultraviolet Induced Free Radicals With Ascorbyl Palmitate In Microelmulsions. *Eur. J. Pharm. Biopharm*. 56, 59-66.

(5) Colven, R.M., Pinnel, S.R., 1996, Topical Vitamin C in Aging, *Clin. Dermatol*. 14 , 227–234.

(6) Gosenca, Mirjam, 2010, A New Approach for Increasing Ascorbyl Palmitate Stability by Addition of Non-irritant Co-antioxidant, *AAPS PharmSciTech*, Vol. 11, No.3.

(7) Liu, G.T., Zhang, T.M., Wang, B.E., and Wang, Y.W., 1992. Protective Action of Seven Natural Phenolic Coumpounds Againts Peroxidative Damage to Biomembranes, *Biochem Pharmcol*. 43. 147-152.

(8) Liu, Z.Q., Ma, L.P., and Liu, Z.L., 1996, Making Vitamin C Lipophilic Enhances Its Protective Effect Against Free Radical Induced Peroxidation of Low Density Lipoprotein. *Chem. Phys. Lipids*. 95, 49–57.

(9) Gulati, R., Sharma, S., dan Gupta, V., 2002, *Pharmacokinetcs of Cyclosporine from Conventional and New Microemulsions Formulation Healthy Volunteers*.http://www.Panaceabiotes.Com/publication/journal/panimunBioral 14.htm ( diakses 13 November 2011. pkl. 19.30).

(10) Charo, D.M.B., Vilas, I.G., Mendez, B.J., 1997, Delivery of Hydrophilic Solute Through The Skin From Novel Microemulsions Systems, *Eur. J. Pharm*. Biopharm, 43, 37–42.

(11) Schmalfuss, U., Neubert, R., Wohlrab, W., 1997, *Modification of Drug Penetration Into Human Skin Using Microemulsion*, J. Controlled Release 46, 279-285.

(12) Jufri, M., Binu, A., Rahmawati, J., 2004, Formula Gameksan Dalam Bentuk Mikroemulsi, *Majalah Ilmu Kefarmasian* Vol.1 No.3, Desember, 160,174.

(13) Radomska, A.S., Wojciechowska, J., 2005, Microemulsion As Potential Ocular Drug Delivery Systems : Phase Diagram And Physical Properties Depending On Ingredients, *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, Vol 62 nomor 6 pp 465-471.

(14) Jufri, Mahdi, Anwar, E., Utami, P.M., 2006, Uji Stabilitas Sediaan Mikroemulsi Menggunakan hidrolisat Pati (DE 35-40) sebagai Stabilizer, ISSN : 1693-9883, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. III, No.1, April 08 – 21.

(15) Grampurohit, R., Ravikumar, P., Mallya, R., 2009, Microemulsion For Topikal Use-A Review, *Indian Journal of Pharmaceutical Education And Research*, 400 056.

(16) Ping Li, A. Gosh, R.F. Wagner, S. Krill, Y.M. Joshi, A.T.M. Serajuddin. 2005. Effect of Combined Use of Nonionic Surfactant on Format Ion of Oil-In-Water Microemulsions. *International Journal of Pharmaceutics*. 288 (1): 27-34.
(17) Lawrence, M.J., dan Rees, G.D., 2000, Microemulsion-Based Media As Novel Drug Delivery Systems, *Advance Drug Delivery Reviews*, 45: 89-121.
(18) Paul, B.K., Moulik, S.P., 2001, Uses And Applications of Microemulsions. Current, *Science*. 80 (8): 990- 1001.
(19) Martin, A., Swarbick, J., dan Cammarata, A., 1993, *Farmasi Fisik 2*, Edisi III, diterjemahkan oleh Yoshita, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
(20) Swarbrick, J., and Boylan, J.C., 1995, *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, Volume I, Marcel Dekker Inc., New York, hal 3.
(21) Patel, M.R., Patel, B., Rashmin, R.P., Jolly, K.B., Kasyab, B., Solanki, Ajay, 2010, Investigating The Effect Of Vehicle On In Vitro Skin Permeation of Ketoconazole Applied In O/W Microemulsions, *Acta Pharmaceutica Sciencia* 52: 65-77.
(22) Ansel, H., 1989, *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*, diterjemahkan oleh F. Ibrahim, UI Press, Jakarta, 377-378.
(23) Lachman, L., Lieberman, A.H., Konig, L.J., 1994, *Teori dan Praktek Farmasi Industri*, Edisi II, diterjemahkan oleh Siti Suyatmi, Universitas Indonesia Press, Jakarta, 1029-1088.
(24) Aulton, M. E., 1988, *Pharmaceutics, The Science of Dosage Form Design*, London: Churchill Livingstone, Page: 292-297.
(25) Gennaro, A. R., 1990, *Remington's Pharmaceutical Science*, Volume 2, Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Company, Page: 500.
(26) Weller, P.J., 2009, *Pharmaceutical Excipients Sixth Edition*, Pharmaceutical Press, London, Chicago, 46-47.
(27) Taylor, A.K., 2009, *Pharmaceutical Excipients Sixth Edition*, Pharmaceutical Press, London, Chicago.
(28) Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi 4, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 687-688, 712.
(29) Lawrence, M.J., 2009, *Pharmaceutical Excipients Fifth Edition*, Pharmaceutical Press, London, Chicago, 580-584.
(30) Sheng, J.J., 2009, *Pharmaceutical Excipients Sixth Edition*, Pharmaceutical Press, London, Chicago.
(31) Dubash, D.,Shah, U., 2009, *Pharmaceutical Excipients Sixth Edition*, Pharmaceutical Press, London, Chicago.
(32) Sudjaji, 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 378-379.
(33) Putra, E.D.L., 2004, *Kromatografi Cair Kinerja Tinggi dalam Bidang Farmasi*, Jurusan Farmasi, FMIPA, Universitas Sumatera Utara.
(34) Skoog, D., West, A., Donald, M., and James H.F., 1992, *Fundamental Of Analitycal Chemistry Sixth Edition*, Sounder College, 717-728.
(35) Mulya, Muhammad, dan Suharman, 1995, *Analisis Instrumental*, Airlangga University Press, Surabaya, hal 236-267.
(36) Martodiharjo dan Sunarko, 1995, *Penuaan Kulit Dini*, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya.
(37) Spiclin, P., Gasperlin, M., Kmetec, V., 2001, Stability of Ascorbyl Palmitate in Topical Microemulsion, *International Journal Of Pharmaceutics*, 222, 271-279.

(38) Supriyo, E., 2007, Pengaruh Konsentrasi Surfaktan Pada Formulasi Propuxure 20 EC Dan Efektifitasnya Dalam Membasmi Nyamuk Aedes Aegypti, *Thesis*, Program Pasca Sarjana, Universitas Diponegoro, Semarang.
(39) Aboofazeli, R., Mortazavi, S.A., Khoshneveis, P., 2000, *Phase Diagram Of Lecithin-based Microemulsion Containing Sodium Salicylate*, DARU vol. 8 nomor 3 dan 4, Iran.
(40) Febrina, E., Gozali, D., Rosdiana, T., 2007, Formulasi Sediaan Mikroemulsi Buah Merah (Pandanus conoideus lam.) Sebagai Produk Antioksidan Alami, *Laporan Penelitian*, Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran.
(41) Harmita, 2004, Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode Dan Cara Perhitungannya, *Review Artikel*, Departemen Farmasi FMIPA-UI, Jakarta, 117-135.
(42) Isaacs, E.E., and Chow, R.S., 1992, Practical Aspects of Emulsion Stability, In: Schramm, L.L. ed. *Emulsions Fundamentals and Applications in the Petroleum Industry*, Washington, DC: American Chemical Society.
(43) *AOAC* Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, 2002, 12-19.
(44) Sumaryani, D., 2009, Optimasi Konsentrasi Tween 80 Pada Pembuatan Mikrosfer Polipaduan (poliasamlaktat dengan Polikaprolaktat), *Skripsi*, Departemen Kimia Fakultas MIPA, IPB, Bogor.
(45) Swantomo, D., Megasari, K., Saptaaji, R., 2008, *Pembuatan Komposit Polimer Superabsorben Dengan Mesin Berkas Elektron*, Seminar Nasional IV, ISSN 1978-0176.

## LAMPIRAN

**Lampiran 1.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat sebelum perlakuan

1. Organoleptis

| Parameter | Formula 1 (1:10) | Formula 2 (1:8) | Formula 3 (1:6) |
|---|---|---|---|
| Bentuk | Larutan | Larutan | Larutan |
| Warna | Kuning orange | Orange muda | Orange lebih tua |
| Bau | - | - | - |
| Rasa | - | - | - |

2. pH

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 5,7 | 5,65 | 5,58 |
| Replikasi 2 | 5,7 | 5,68 | 5,63 |
| Replikasi 3 | 5,69 | 5,64 | 5,63 |
| Rata-rata ± sd | 5,7 ± 0,005 | 5,66 ± 0,020 | 5,61 ± 0,028 |

3. Viskositas

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 1195 cp | 1117 cp | 1065 cp |
| Replikasi 2 | 1150 cp | 1042 cp | 1066 cp |
| Replikasi 3 | 1143 cp | 1039 cp | 1054 cp |
| Rata-rata ± sd | 1162,7 cp ± 28,219 | 1066 cp ± 44,193 | 1061,7 cp ± 6,658 |

4. Pemisahan fase

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | - | - | - |
| Replikasi 2 | - | - | - |
| Replikasi 3 | - | - | - |

**Lampiran 1.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat sebelum perlakuan (Lanjutan)

5. Kadar vitamin C palmitat

   a. Penetapan kurva baku

| Seri Kadar | AUC |
|---|---|
| 300 ppm | 8976,7470 |
| 100 ppm | 3505,3896 |
| 40 ppm | 1531,8776 |
| 10 ppm | 308,3264 |
| 8 ppm | 234,0908 |
| 4 ppm | 83,0984 |

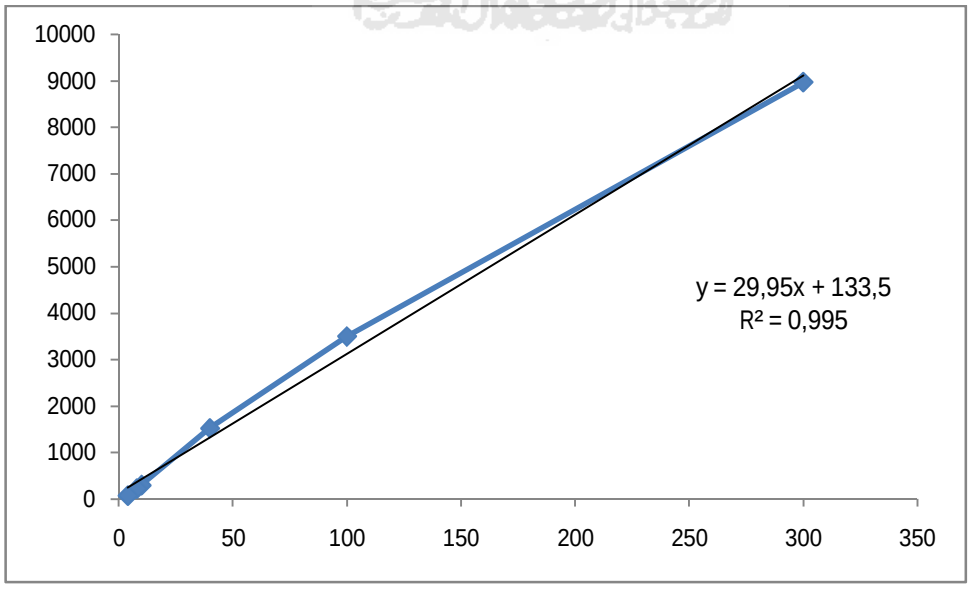
Hasil regresi linier dari seri kadar di atas dengan fungsi x sebagai kadar dan fungsi y sebagai AUC adalah sebagai berikut :

a = 133,5

b = 29,95

r = 0,9975

Sehingga didapat persamaan kurva baku y = 29,95 x + 133,5.



**Lampiran 1.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat sebelum perlakuan (Lanjutan)

b. Penetapan presisi

| Seri kadar | 300 ppm | 40 ppm | 4 ppm |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 9220,8872 | 1523,4118 | 234,0908 |
| Replikasi 2 | 9306,9204 | 1510,7512 | 223,9252 |
| Replikasi 3 | 8976,7470 | 1531,8776 | 234,0578 |
| Replikasi 4 | 9321,7544 | 1498,8280 | 232,0764 |
| Replikasi 5 | 9255,3636 | 1499,1140 | 242,8094 |
| Replikasi 6 | 9388,2016 | 1530,8832 | 238,0192 |
| Rata-rata | 9244,9790 | 1515,8110 | 234,1631 |
| sd | 143,4438 | 15,0724 | 6,3058 |
| CV | 1,5516 % | 0,9943 % | 2,6929 % |

c. Penetapan akurasi

| Seri kadar | 300 ppm | 40 ppm | 8 ppm |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 5196,4964 | 869,5196 | 232,0764 |
| Replikasi 2 | 5045,7696 | 894,4804 | 242,8094 |
| Replikasi 3 | 5161,5134 | 866,6212 | 238,0192 |
| Rata-rata | 5134,5931 | 876,8737 | 237,6350 |

Hasil regresi linier dari seri kadar di atas dengan fungsi x sebagai kadar dan fungsi y sebagai AUC rata-rata adalah sebagai berikut :

a = 155,2979

b = 16,6184

r = 0,9997

**Lampiran 1.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat sebelum perlakuan (Lanjutan)

Sehingga didapat persamaan kurva baku y = 16,6184 x + 155,2979. AUC rata-rata dimasukkan dalam persamaan kurva baku tersebut sehingga di dapat nilai x (kadar yang terbaca). Kadar yang terbaca tersebut dimasukkan dalam rumus akurasi. Berikut adalah rumus akurasi :

$$\% \text{ akurasi} = \frac{\text{Kadar yang terbaca}}{\text{Kadar sebenarnya}} \times 100\%$$

% akurasi yang didapatkan adalah sebagai berikut :

| Seri kadar | Akurasi |
|---|---|
| 300 ppm | 99,8691 % |
| 40 ppm | 108,5507 % |
| 8 ppm | 61,9322 % |

d. Penetapan LOD dan LOQ

| Seri Kadar | AUC ($y_i$) | AUC ($y_r$) | $(y_i - y_r)^2$ |
|---|---|---|---|
| 600 ppm | 18758,5300 | 18718,0237 | 1640,7603 |
| 300 ppm | 9220,8872 | 9398,3737 | 31501,4577 |
| 100 ppm | 3414,3004 | 3185,2737 | 52453,2293 |
| 40 ppm | 1523,4118 | 1321,3437 | 40831,5170 |
| 10 ppm | 308,3264 | 389,3823 | 6570,0589 |
| 8 ppm | 234,0908 | 327,2477 | 8678,2080 |
| 4 ppm | 83,0984 | 202,9857 | 14372,9647 |
| Jumlah | | | 156048,1959 |

$$\frac{Sy}{x} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - y_r)^2}{n - 2}} = \sqrt{\frac{156048,1959}{7 - 2}} = 176,6625$$

$$\text{LOD} = 3,3 \frac{Sy / x}{b} = 18,7664 \text{ ppm} \qquad \text{LOQ} = 10 \frac{Sy / x}{b} = 56,8677 \text{ ppm}$$

**Lampiran 1.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat sebelum perlakuan (Lanjutan)

e. Kadar vitamin C palmitat

| Formula | Kadar vitamin C palmitat (ppm) ± sd |
|---|---|
| F 1 | 205,7521 ± 1,4701 |
| F 2 | 302,2595 ± 1,4892 |
| F 3 | 225,3055 ± 14,3127 |

**Lampiran 2.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu pertama

A. Minggu pertama (hari ke-7)

1. Organoleptis

a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

| Parameter | Formula 1 (1:10) | Formula 2 (1:8) | Formula 3 (1:6) |
|---|---|---|---|
| Bentuk | Larutan | Larutan | Larutan |
| Warna | Kuning orange | Orange muda | Orange |
| Bau | - | - | - |
| Rasa | - | - | - |

b. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

| Parameter | Formula 1 (1:10) | Formula 2 (1:8) | Formula 3 (1:6) |
|---|---|---|---|
| Bentuk | Larutan | Larutan | Larutan |
| Warna | Orange tua | Orange tua | Orange tua |
| Bau | - | - | - |
| Rasa | - | - | - |

2. pH

a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 5,68 | 5,65 | 5,56 |
| Replikasi 2 | 5,68 | 5,64 | 5,63 |
| Replikasi 3 | 5,69 | 5,66 | 5,62 |
| Rata-rata ± sd | 5,68 ± 0,005 | 5,65 ± 0,010 | 5,6 ± 0,038 |

b. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 5,66 | 5,62 | 5,62 |
| Replikasi 2 | 5,65 | 5,62 | 5,63 |
| Replikasi 3 | 5,64 | 5,63 | 5,62 |
| Rata-rata ± sd | 5,65 ± 0,010 | 5,62 ± 0,005 | 5,62 ± 0,005 |

**Lampiran 2.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu pertama (Lanjutan)

b. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 5,66 | 5,62 | 5,62 |
| Replikasi 2 | 5,65 | 5,62 | 5,63 |
| Replikasi 3 | 5,64 | 5,63 | 5,62 |
| Rata-rata ± sd | 5,65 ± 0,010 | 5,62 ± 0,005 | 5,62 ± 0,005 |

1. Viskositas

a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 1125 cp | 1132 cp | 1153 cp |
| Replikasi 2 | 1134 cp | 1180 cp | 1155 cp |
| Replikasi 3 | 1140 cp | 1215 cp | 1177 cp |
| Rata-rata ± sd | 1133 cp ± 7,550 | 1175,7 cp ± 41,669 | 1161,7 cp ± 13,317 |

b. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 866,2 cp | 857,8 cp | 856,6 cp |
| Replikasi 2 | 877 cp | 854,2 cp | 824,2 cp |
| Replikasi 3 | 890,2 cp | 853 cp | 825,4 cp |
| Rata-rata ± sd | 877,8 cp ± 12,020 | 855 cp ± 2,498 | 835,4 cp ± 18,370 |

2. Pemisahan fase

a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | - | - | - |
| Replikasi 2 | - | - | - |
| Replikasi 3 | - | - | - |

**Lampiran 2.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu pertama (Lanjutan)

b. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | - | - | - |
| Replikasi 2 | - | - | - |
| Replikasi 3 | - | - | - |

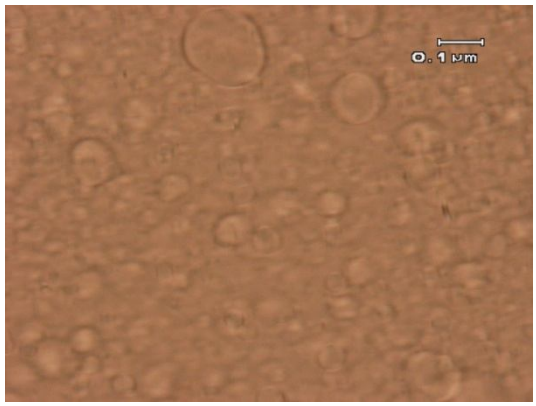
3. Penetapan bentuk globul

   a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

   Formula 1

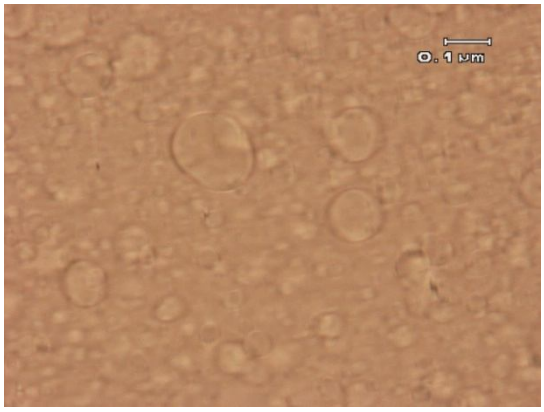



   Formula 2



**Lampiran 2.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu pertama (Lanjutan)

Formula 3

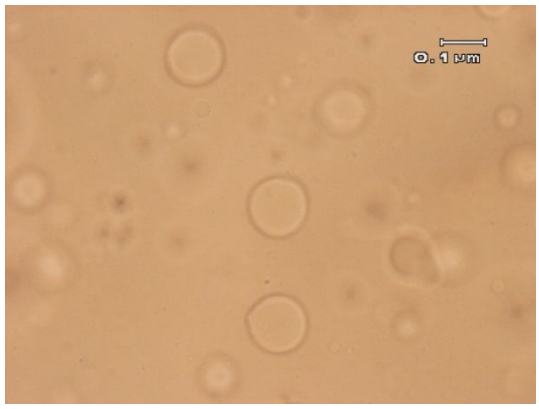



b. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

Formula 1




Formula 2



**Lampiran 2.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu pertama (Lanjutan)

4. Kadar vitamin C palmitat

| Perlakuan | Suhu $25^0$C | | | Suhu $40^0$C | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | F 1 | F 2 | F 3 | F 1 | F 2 | F 3 |
| Kadar rata-rata (ppm) | 187,2195 | 154,0031 | 151,9218 | 78,2750 | 68,3234 | 69,7573 |
| sd | 1,2367 | 13,6362 | 2,9607 | 0,6109 | 0,5550 | 1,4390 |

**Lampiran 3.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu kedua

1. Organoleptis

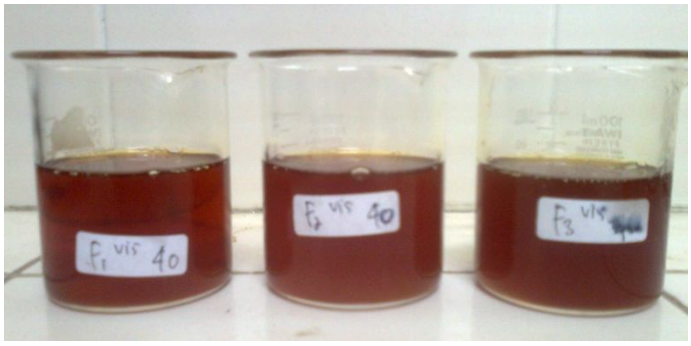
a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

| Parameter | Formula 1 (1:10) | Formula 2 (1:8) | Formula 3 (1:6) |
|---|---|---|---|
| Bentuk | Larutan | Larutan | Larutan |
| Warna | Kuning orange | Orange muda | Orange tua |
| Bau | - | - | - |
| Rasa | - | - | - |



b. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

| Parameter | Formula 1 (1:10) | Formula 2 (1:8) | Formula 3 (1:6) |
|---|---|---|---|
| Bentuk | Larutan | Larutan | Larutan |
| Warna | Merah bata | Merah bata | Merah bata |
| Bau | - | - | - |
| Rasa | - | - | - |



**Lampiran 3.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu kedua (Lanjutan)

2. pH

a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 5,68 | 5,65 | 5,6 |
| Replikasi 2 | 5,68 | 5,66 | 5,6 |
| Replikasi 3 | 5,69 | 5,66 | 5,6 |
| Rata-rata ± sd | 5,68 ± 0,005 | 5,66 ± 0,005 | 5,6 ± 0 |

b. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 5,58 | 5,62 | 5,57 |
| Replikasi 2 | 5,58 | 5,6 | 5,57 |
| Replikasi 3 | 5,58 | 5,59 | 5,57 |
| Rata-rata ± sd | 5,58 ± 0 | 5,6 ± 0,015 | 5,57 ± 0 |

3. Viskositas

a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 1119 cp | 1362 cp | 1200 cp |
| Replikasi 2 | 1107 cp | 1356 cp | 1218 cp |
| Replikasi 3 | 1116 cp | 1359 cp | 1242 cp |
| Rata-rata ± sd | 1114 cp ± 6,245 | 1359 cp ± 3 | 1220 cp ± 21,071 |

**Lampiran 3.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu kedua (Lanjutan)

b. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 769 cp | 808,6 cp | 693,5 cp |
| Replikasi 2 | 788,2 cp | 809,8 cp | 689,9 cp |
| Replikasi 3 | 772,6 cp | 818,2 cp | 692,3 cp |
| Rata-rata ± sd | 776,6 cp ± 10,206 | 812,2 cp ± 5,231 | 691,9 cp ± 1,833 |

4. Pemisahan fase

a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | - | - | - |
| Replikasi 2 | - | - | - |
| Replikasi 3 | - | - | - |

a. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

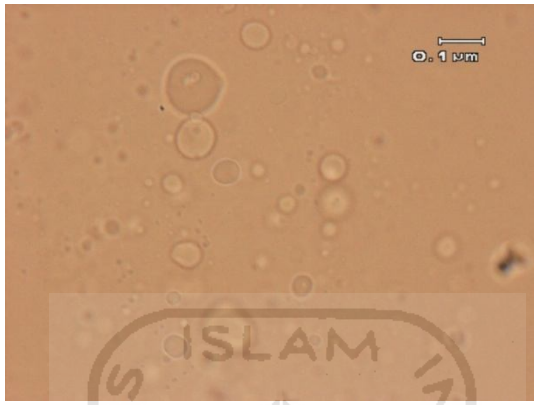
| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | - | - | - |
| Replikasi 2 | - | - | - |
| Replikasi 3 | - | - | - |

**Lampiran 3.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu kedua (Lanjutan)

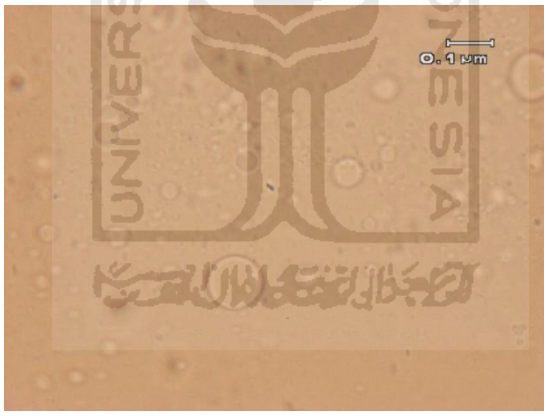
5. Ukuran globul

a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

Formula 1



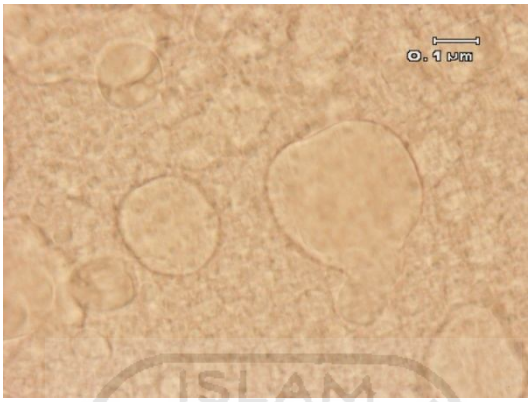

Formula 2



**Lampiran 3.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu kedua (Lanjutan)

b. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

Formula 1




Formula 2




6. Kadar vitamin C palmitat

| Perlakuan | Suhu $25^0$C | | | Suhu $40^0$C | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | F 1 | F 2 | F 3 | F 1 | F 2 | F 3 |
| Kadar rata-rata (ppm) | 131,5424 | 130,5883 | 140,3953 | 30,3787 | 30,7087 | 36,9491 |
| sd | 1,5808 | 1,4073 | 1,1158 | 1,6018 | 6,1467 | 0,3274 |

**Lampiran 4.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu ketiga

1. Organoleptis

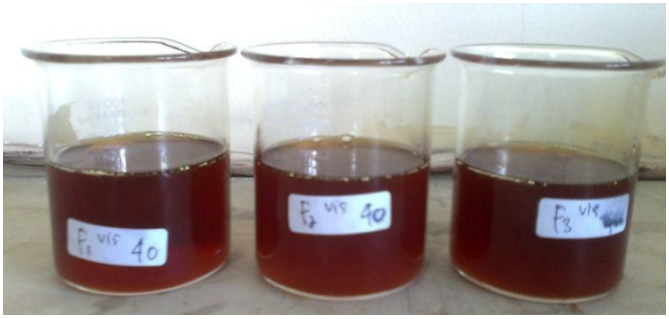
a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

| Parameter | Formula 1 (1:10) | Formula 2 (1:8) | Formula 3 (1:6) |
|---|---|---|---|
| Bentuk | Larutan | Larutan | Larutan |
| Warna | Orange | Orange | Orange tua |
| Bau | - | - | - |
| Rasa | - | - | - |




b. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

| Parameter | Formula 1 (1:10) | Formula 2 (1:8) | Formula 3 (1:6) |
|---|---|---|---|
| Bentuk | Larutan | Larutan | Larutan |
| Warna | Merah bata | Merah bata | Merah bata |
| Bau | - | - | - |
| Rasa | - | - | - |



**Lampiran 4.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu ketiga (Lanjutan)

2. pH

a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 5,63 | 5,65 | 5,49 |
| Replikasi 2 | 5,65 | 5,64 | 5,5 |
| Replikasi 3 | 5,66 | 5,63 | 5,5 |
| Rata-rata ± sd | 5,65 ± 0,015 | 5,64 ± 0,010 | 5,5 ± 0,005 |

b. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 5,53 | 5,47 | 5,52 |
| Replikasi 2 | 5,54 | 5,49 | 5,52 |
| Replikasi 3 | 5,54 | 5,47 | 5,52 |
| Rata-rata ± sd | 5,54 ± 0,005 | 5,48 ± 0,012 | 5,52 ± 0 |

3. Viskositas

a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 1443 cp | 1365 cp | 1380 cp |
| Replikasi 2 | 1425 cp | 1383 cp | 1374 cp |
| Replikasi 3 | 1440 cp | 1405 cp | 1410 cp |
| Rata-rata ± sd | 1436 cp ± 9,644 | 1384,3 cp ± 20,033 | 1388 cp ± 19,287 |

**Lampiran 4.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu ketiga (Lanjutan)

b. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 614,3 cp | 793 cp | 663,5 cp |
| Replikasi 2 | 595,1 cp | 767,8 cp | 658,7 cp |
| Replikasi 3 | 603,5 cp | 758,2 cp | 653,9 cp |
| Rata-rata ± sd | 604,3 cp ± 9,625 | 773 cp ± 17,973 | 658,7 cp ± 4,8 |

4. Pemisahan fase

a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | - | - | - |
| Replikasi 2 | - | - | - |
| Replikasi 3 | - | - | - |

a. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

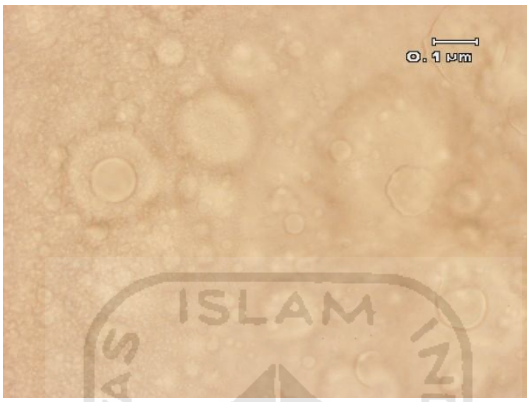
| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | - | - | - |
| Replikasi 2 | - | - | - |
| Replikasi 3 | - | - | - |

**Lampiran 4.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu ketiga (Lanjutan)

5. Ukuran Globul

a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

Formula 1



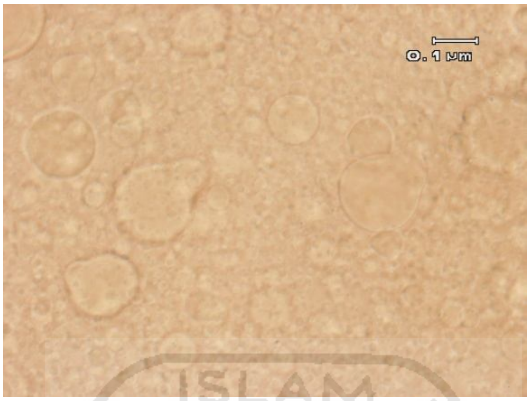

Formula 2



**Lampiran 4.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu ketiga (Lanjutan)

b. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

Formula 1




Formula 2




6. Kadar vitamin C palmitat

| Perlakuan | Suhu $25^0$C | | | Suhu $40^0$C | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | F 1 | F 2 | F 3 | F 1 | F 2 | F 3 |
| Kadar rata-rata (ppm) | 89,7767 | 96,9353 | 100,2187 | 3,3932 | 3,3303 | 3,9208 |
| sd | 0,8839 | 0,9924 | 0,9176 | 0,0436 | 0,0796 | 0,0820 |

**Lampiran 5.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu keempat

1. Organoleptis

a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

| Parameter | Formula 1 (1:10) | Formula 2 (1:8) | Formula 3 (1:6) |
|---|---|---|---|
| Bentuk | Larutan | Larutan | Larutan |
| Warna | Orange | Orange | Orange tua |
| Bau | - | - | - |
| Rasa | - | - | - |

b. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

| Parameter | Formula 1 (1:10) | Formula 2 (1:8) | Formula 3 (1:6) |
|---|---|---|---|
| Bentuk | Larutan | Larutan | Larutan |
| Warna | Merah bata | Merah bata | Merah bata |
| Bau | - | - | - |
| Rasa | - | - | - |

2. pH

a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 5,53 | 5,55 | 5,4 |
| Replikasi 2 | 5,53 | 5,54 | 5,43 |
| Replikasi 3 | 5,52 | 5,55 | 5,41 |
| Rata-rata ± sd | 5,53 ± 0,005 | 5,55 ± 0,005 | 5,41 ± 0,015 |

**Lampiran 5.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu keempat (Lanjutan)

b. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 5,33 | 5,34 | 5,24 |
| Replikasi 2 | 5,33 | 5,33 | 5,25 |
| Replikasi 3 | 5,34 | 5,35 | 5,25 |
| Rata-rata ± sd | 5,33 ± 0,005 | 5,34 ± 0,01 | 5,25 ± 0,005 |

3. Viskositas

a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 928,3 cp | 1059 cp | 1212 cp |
| Replikasi 2 | 992,8 cp | 1059 cp | 1188 cp |
| Replikasi 3 | 976,3 cp | 1030 cp | 1185 cp |
| Rata-rata ± sd | 965,8 cp ± 33,507 | 1049,3 cp ± 0,005 | 1195 cp ± 14,799 |

b. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | 396,5 cp | 402,5 cp | 449,9 cp |
| Replikasi 2 | 394,1 cp | 415,1 cp | 452,3 cp |
| Replikasi 3 | 405,5 cp | 419,9 cp | 455,3 cp |
| Rata-rata ± sd | 398,7 cp ± 6,010 | 412,5 cp ± 8,987 | 452,5 cp ± 2,706 |

**Lampiran 5.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu keempat (Lanjutan)

4. Pemisahan fase

a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | - | - | - |
| Replikasi 2 | - | - | - |
| Replikasi 3 | - | - | - |

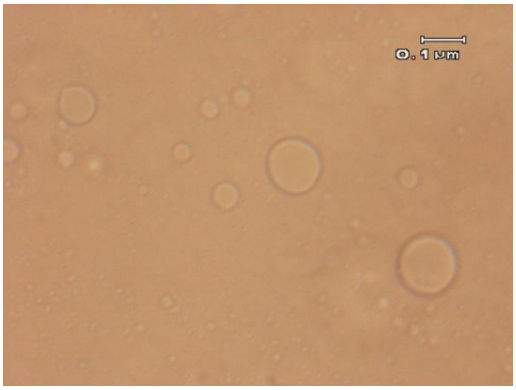
a. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

| Replikasi | Formula 1 | Formula 2 | Formula 3 |
|---|---|---|---|
| Replikasi 1 | - | - | - |
| Replikasi 2 | - | - | - |
| Replikasi 3 | - | - | - |

5. Ukuran globul

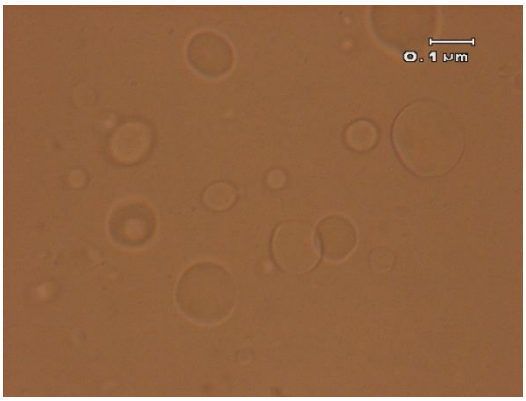
a. Penyimpanan pada suhu $25^0$C

Formula 1



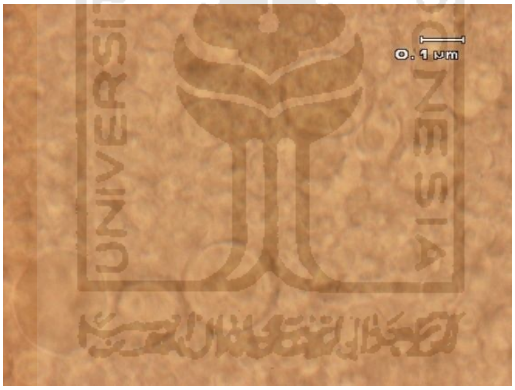
**Lampiran 5.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu keempat (Lanjutan)

Formula 2

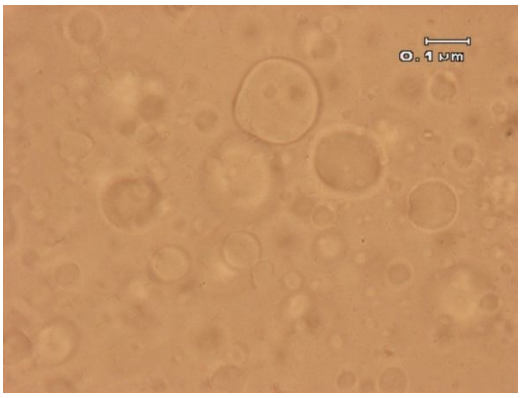



b. Penyimpanan pada suhu $40^0$C

Formula 1




Formula 2



**Lampiran 5.** Hasil pengamatan sediaan mikroemulsi topikal vitamin C palmitat minggu keempat (Lanjutan)

6. Kadar vitamin C palmitat

| Perlakuan | Suhu $25^0$C | | | Suhu $40^0$C | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | F 1 | F 2 | F 3 | F 1 | F 2 | F 3 |
| Kadar rata-rata (ppm) | 109,0186 | 96,3648 | 98,0948 | 2,4940 | 3,0671 | 2,1235 |
| sd | 1,1409 | 2,6837 | 2,5064 | 0,0239 | 0,6845 | 1,9608 |

III. Penetapan panjang gelombang

Panjang gelombang vitamin C palmitat murni adalah 253 nm

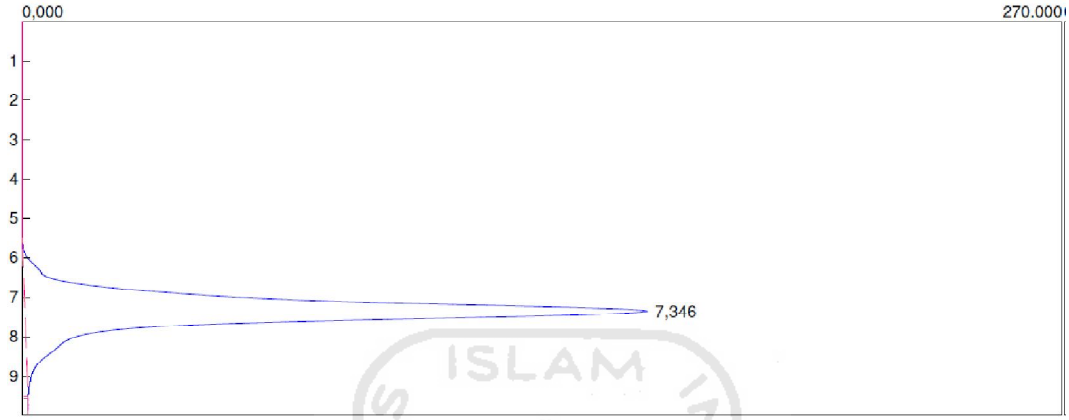
| Perlakuan | F 1 ( nm ) | | F 2 ( nm ) | | F 3 ( nm ) | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $25^0$C | $40^0$C | $25^0$C | $40^0$C | $25^0$C | $40^0$C |
| Minggu pertama | 222,5 | 251,5 | 245,5 | 248,5 | 246,5 | 248,5 |
| Minggu keempat | 240 | 240,5 | 240,5 | 240,5 | 240,5 | 240,5 |

Keterangan :
F 1 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:10
F 2 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:8
F 3 : Formula mikroemulsi dengan perbandingan lesitin-tween 80 1:6

**Lampiran 6.** Hasil kromatografi HPLC sebelum perlakuan

1. Formula 1

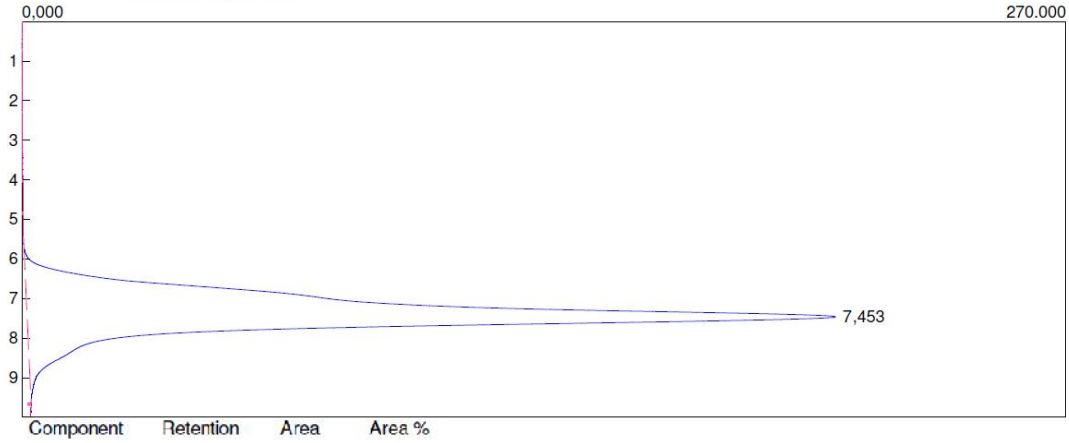
Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate F 1 R 1
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5 ml/mnt, lamda 254 nm.
Sebelum perlakuan




| Component | Retention | Area | Area % |
|---|---|---|---|
| | 7,346 | 6261,6358 | 100,0000 |
| | | 6261,6358 | 100,0000 |

2. Formula 2

Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl palmitate F2 R1
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5 ml/mnt, lamda 254 nm.
Sebelum perlakuan

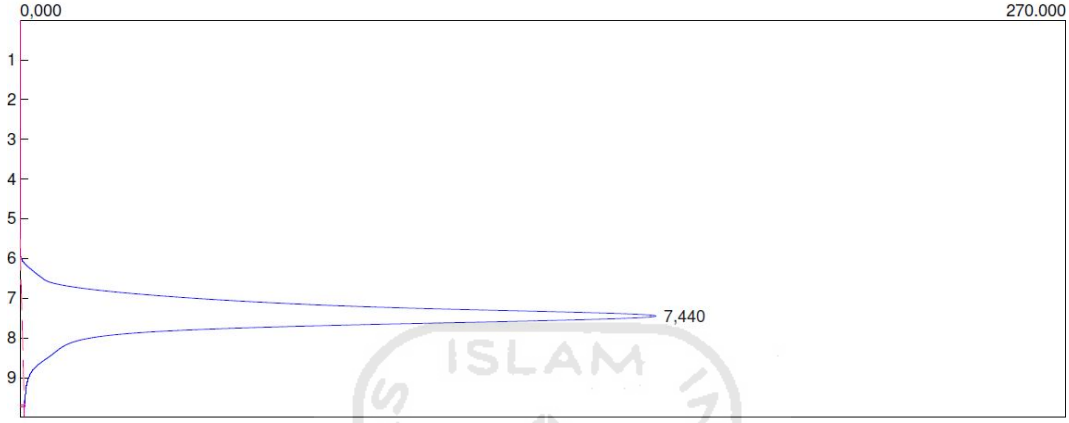



| Component | Retention | Area | Area % |
|---|---|---|---|
| | 7,453 | 9229,4210 | 100,0000 |
| | | 9229,4210 | 100,0000 |

**Lampiran 6.** Hasil kromatografi HPLC sebelum perlakuan (Lanjutan)

3. Formula 3

Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl palmitate F3 R3
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5 ml/mnt, lamda 254 nm.
Sebelum perlakuan

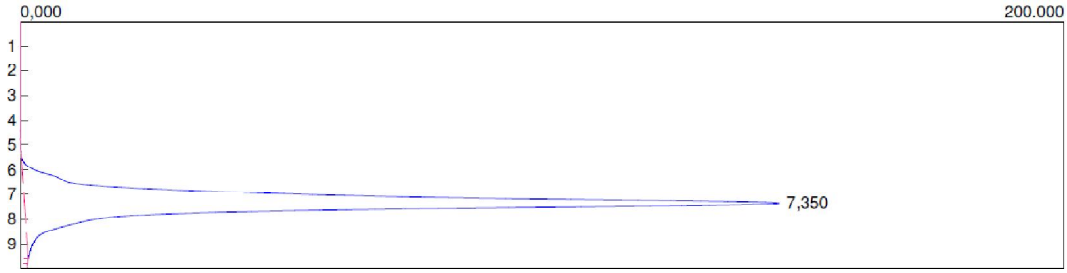



| Component | Retention | Area | Area % |
|---|---|---|---|
| | 7,440 | 6386,4256 | 100,0000 |
| | | 6386,4256 | 100,0000 |

**Lampiran 7.** Hasil kromatografi HPLC minggu pertama

1. Formula 1 penyimpanan suhu $25^0$C

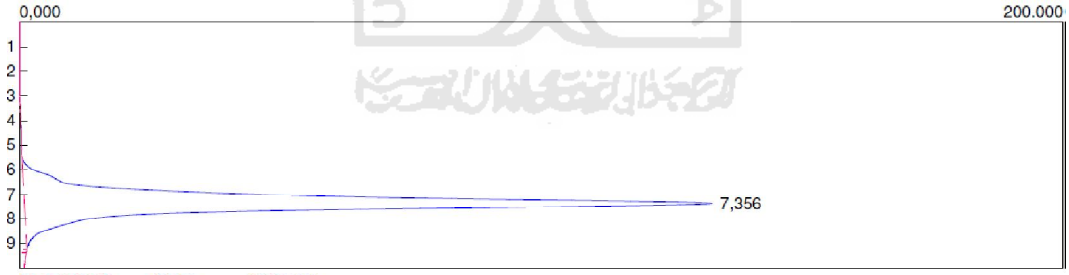
Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm
F1 R1 suhu 25 mgg 1




| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 7,350 | 5778,7972 | 100,0000 |
| | 5778,7972 | 100,0000 |

2. Formula 2 penyimpanan suhu $25^0$C

Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm
F2 R1 suhu 25 mgg 1

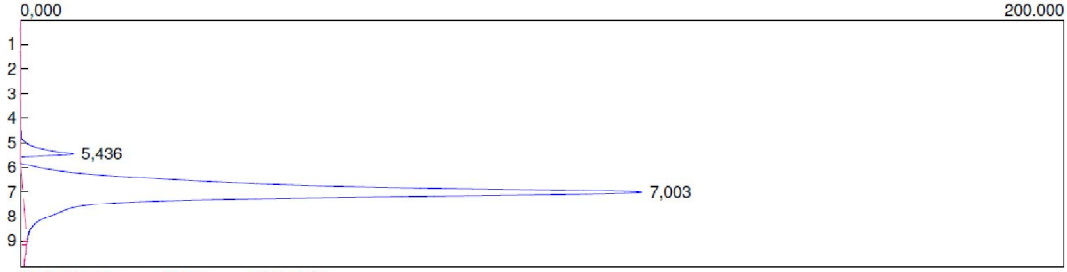



| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 7,356 | 5217,3220 | 100,0000 |
| | 5217,3220 | 100,0000 |

**Lampiran 7.** Hasil kromatografi HPLC minggu pertama (Lanjutan)

3. Formula 3 penyimpanan suhu $25^0$C

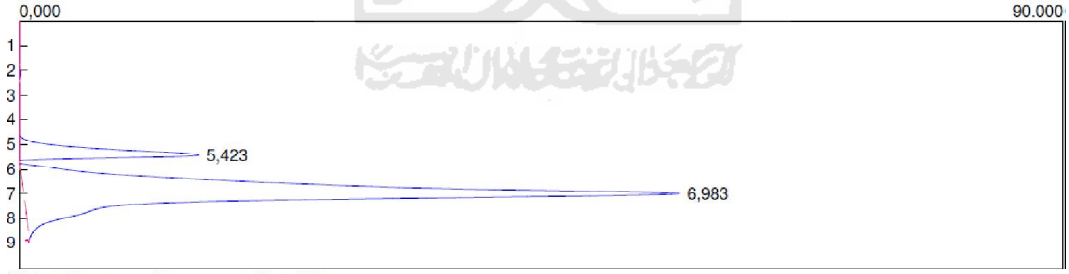
Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm
F3 R1 suhu 25 mgg 1




| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,436 | 278,9858 | 5,5126 |
| 7,003 | 4781,8464 | 94,4874 |
| | 5060,8322 | 100,0000 |

4. Formula 1 penyimpanan suhu $40^0$C

Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm
F1 R1 suhu 40 mgg 1

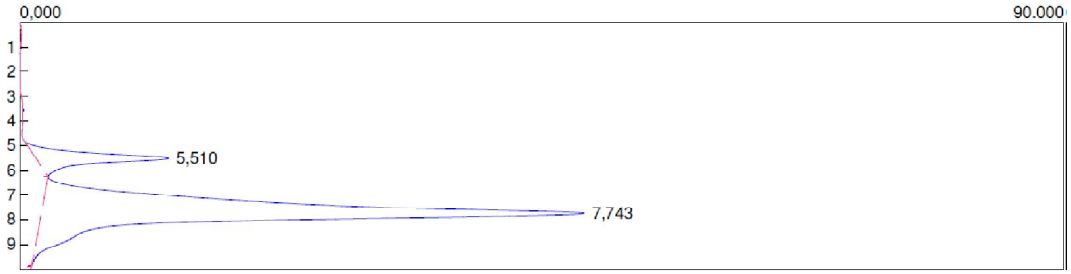



| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,423 | 376,7768 | 13,2464 |
| 6,983 | 2467,6020 | 86,7536 |
| | 2844,3788 | 100,0000 |

**Lampiran 7.** Hasil kromatografi HPLC minggu pertama (Lanjutan)

5. Formula 2 penyimpanan suhu $40^0$C

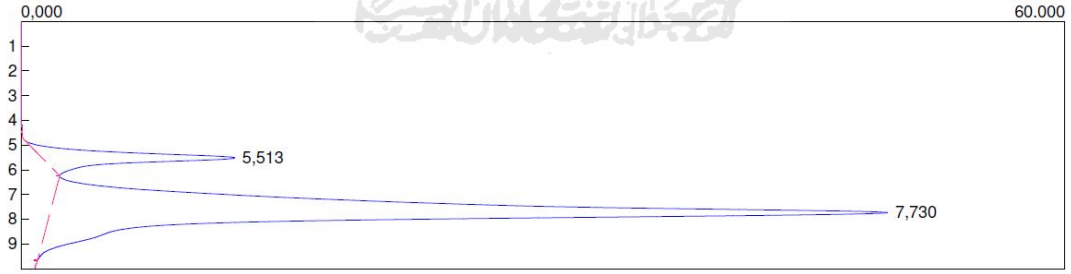
Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm
F2 R1 suhu 40 mgg 1




| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,510 | 308,3496 | 12,3117 |
| 7,743 | 2196,1696 | 87,6883 |
| | 2504,5192 | 100,0000 |

6. Formula 3 penyimpanan suhu $40^0$C

Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm
F3 R1 suhu 40 mgg 1

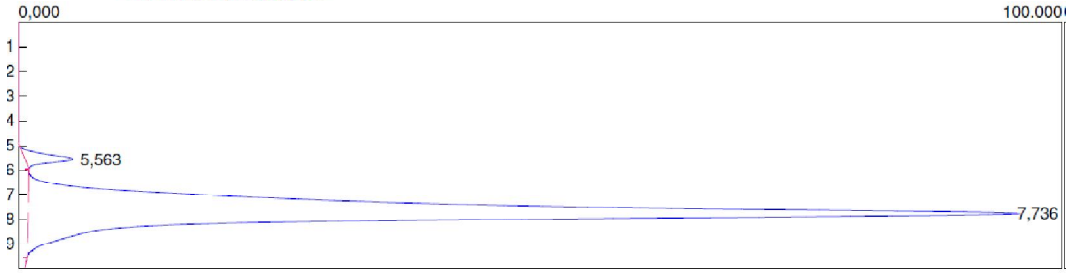



| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,513 | 300,1082 | 11,9965 |
| 7,730 | 2201,5324 | 88,0035 |
| | 2501,6406 | 100,0000 |

**Lampiran 8.** Hasil kromatografi HPLC minggu kedua

1. Formula 1 penyimpanan suhu $25^0$C

Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm
F1 R1 suhu 25 mgg 2




| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,563 | 108,0288 | 2,5988 |
| 7,736 | 4048,8906 | 97,4012 |
| | 4156,9194 | 100,0000 |

2. Formula 2 penyimpanan suhu $25^0$C

Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm
F2 R1 suhu 25 mgg 2

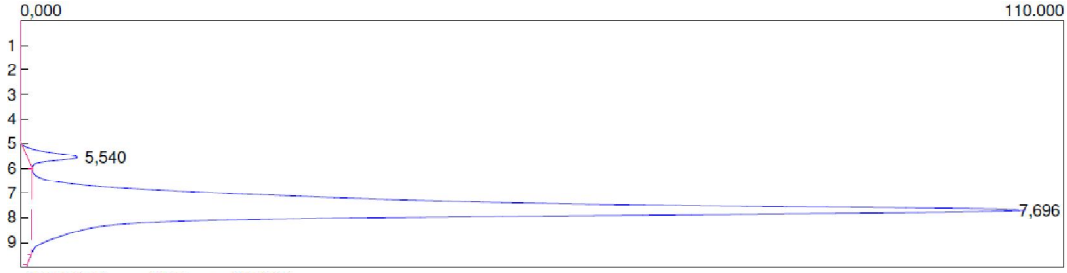



| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,546 | 111,0388 | 2,6988 |
| 7,693 | 4003,3726 | 97,3012 |
| | 4114,4114 | 100,0000 |

**Lampiran 8.** Hasil kromatografi HPLC minggu kedua (Lanjutan)

3. Formula 3 penyimpanan suhu $25^0$C

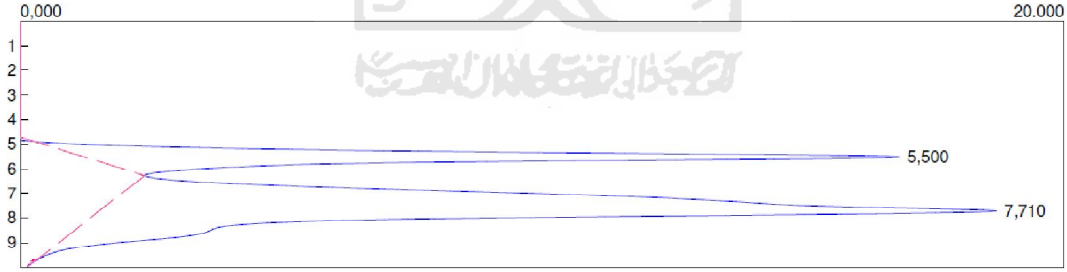
Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm
F3 R1 suhu 25 mgg 2




| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,540 | 119,7760 | 2,6799 |
| 7,696 | 4349,5986 | 97,3201 |
| | 4469,3746 | 100,0000 |

4. Formula 1 penyimpanan suhu $40^0$C

Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm
F1 R1 suhu 40 mgg 2

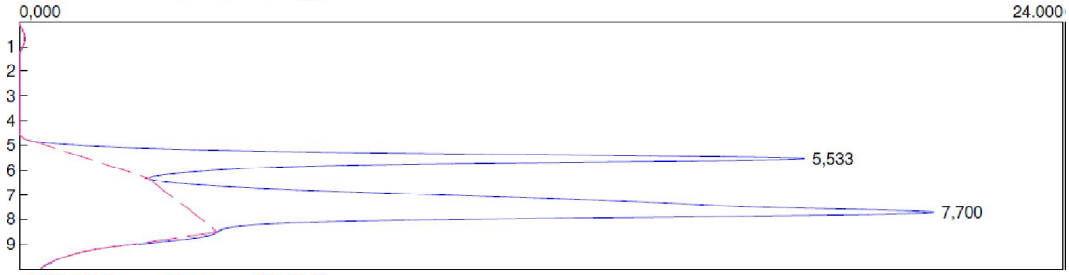



| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,500 | 443,7350 | 29,3133 |
| 7,710 | 1070,0308 | 70,6867 |
| | 1513,7658 | 100,0000 |

**Lampiran 8.** Hasil kromatografi HPLC minggu kedua (Lanjutan)

5. Formula 2 penyimpanan suhu $40^0$C

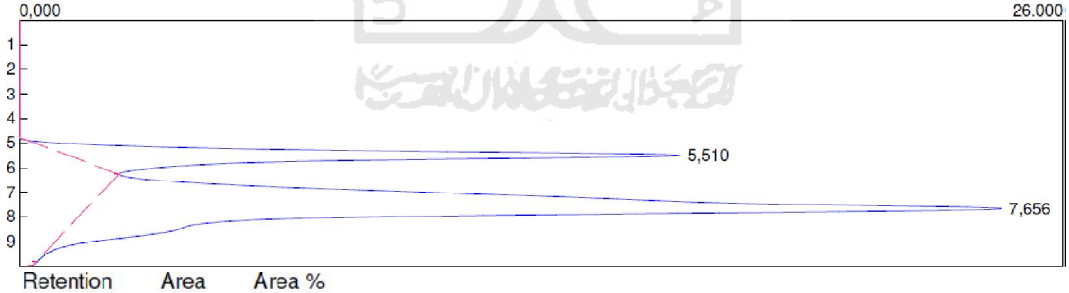
Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm
F2 R1 suhu 40 mgg 2




| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,533 | 468,5492 | 35,7690 |
| 7,700 | 841,3822 | 64,2310 |
| | 1309,9314 | 100,0000 |

6. Formula 3 penyimpanan suhu $40^0$C

Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm
F3 R1 suhu 40 mgg 2

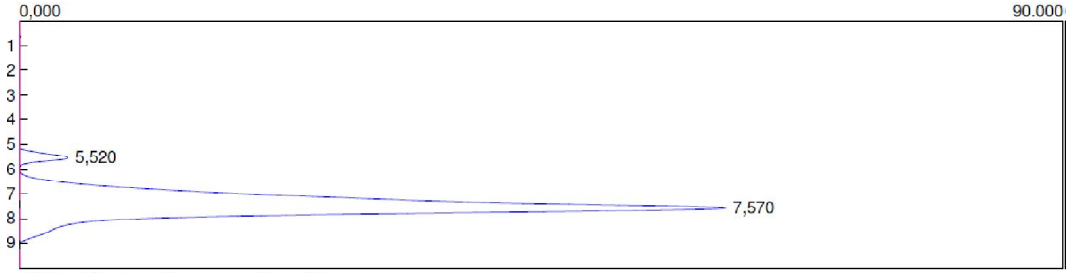



| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,510 | 412,8572 | 25,1484 |
| 7,656 | 1228,8276 | 74,8516 |
| | 1641,6848 | 100,0000 |

**Lampiran 9.** Hasil kromatografi HPLC minggu ketiga

1. Formula 1 penyimpanan suhu $25^0$C

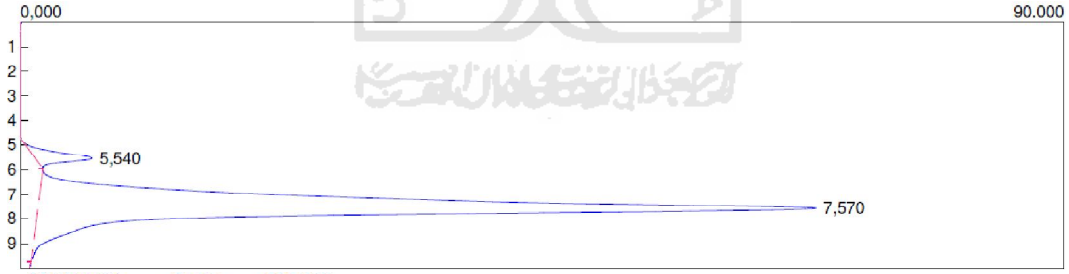
Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm.
F1 R1 suhu 25 mgg 3




| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,520 | 114,4484 | 3,9371 |
| 7,570 | 2792,4516 | 96,0629 |
| | 2906,9000 | 100,0000 |

2. Formula 2 penyimpanan suhu $25^0$C

Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm.
F2 R1 suhu 25 mgg 3

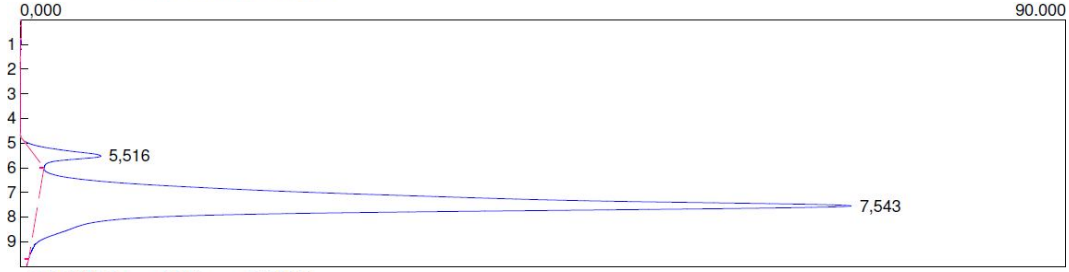



| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,540 | 116,8932 | 3,7473 |
| 7,570 | 3002,4916 | 96,2527 |
| | 3119,3848 | 100,0000 |

**Lampiran 9.** Hasil kromatografi HPLC minggu ketiga (Lanjutan)

3. Formula 3 penyimpanan suhu $25^0$C

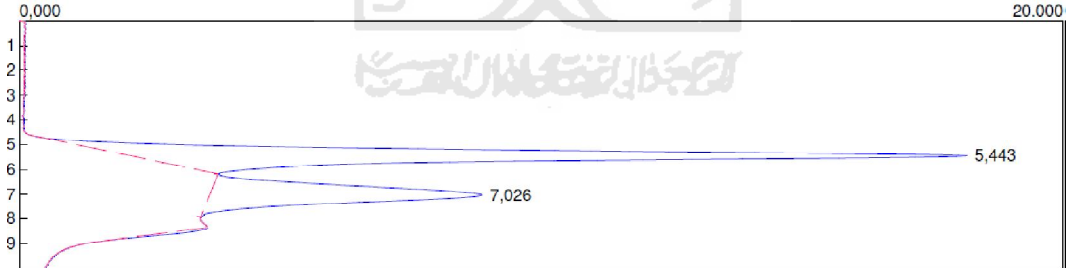
Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm.
F3 R1 suhu 25 mgg 3




| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,516 | 142,8660 | 4,3852 |
| 7,543 | 3115,0256 | 95,6148 |
| | 3257,8916 | 100,0000 |

4. Formula 1 penyimpanan suhu $40^0$C

Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm
F1 R1 suhu 40 mgg 3

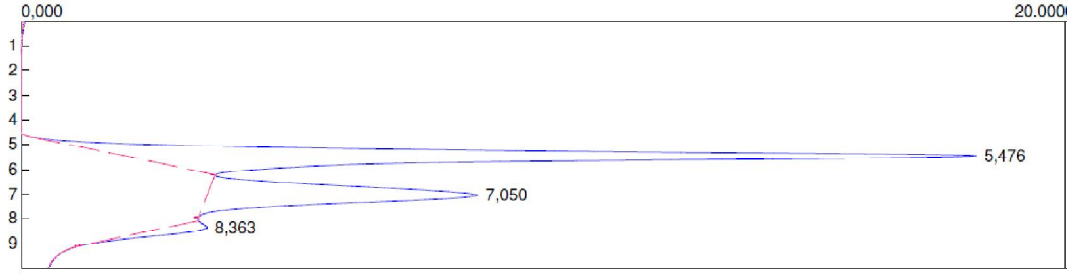



| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,443 | 465,6728 | 66,3139 |
| 7,026 | 236,5524 | 33,6861 |
| | 702,2252 | 100,0000 |

**Lampiran 9.** Hasil kromatografi HPLC minggu ketiga (Lanjutan)

5. Formula 2 penyimpanan suhu $40^0$C

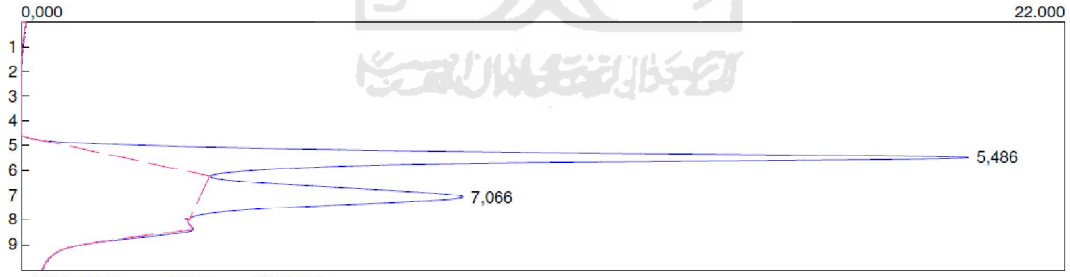
Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm
F2 R1 suhu 40 mgg 3




| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,476 | 467,7812 | 64,4934 |
| 7,050 | 231,0924 | 31,8609 |
| 8,363 | 26,4424 | 3,6456 |
| | 725,3160 | 100,0000 |

6. Formula 3 penyimpanan suhu $40^0$C

Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm
F3 R1 suhu 40 mgg 3

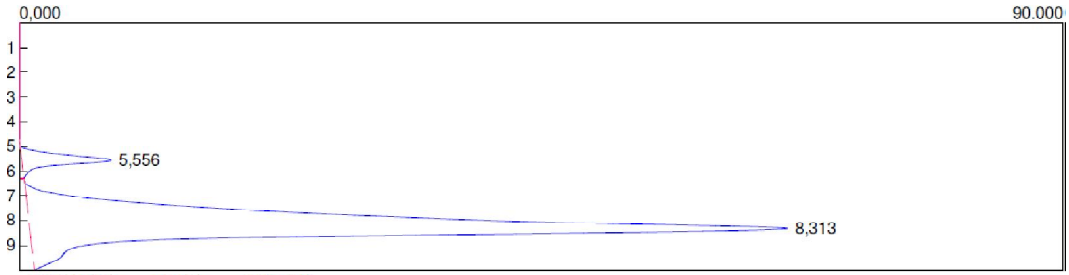



| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,486 | 513,1528 | 67,3126 |
| 7,066 | 249,1896 | 32,6874 |
| | 762,3424 | 100,0000 |

**Lampiran 10.** Hasil kromatografi HPLC minggu keempat

1. Formula 1 penyimpanan suhu $25^0$C

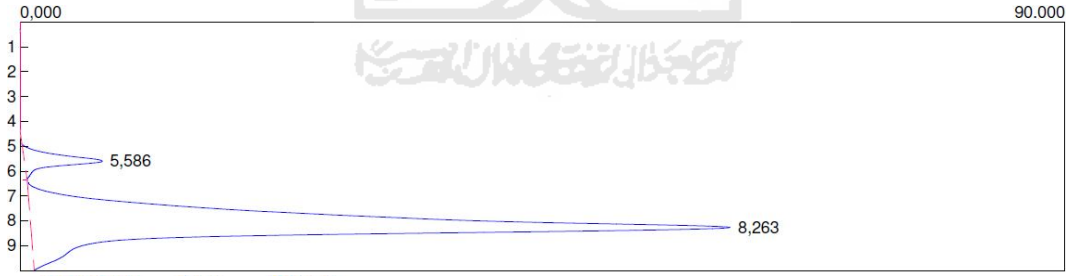
Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm.
F1 R1 suhu 25 mgg 4




| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,556 | 220,6456 | 6,0326 |
| 8,313 | 3436,9032 | 93,9674 |
| | 3657,5488 | 100,0000 |

2. Formula 2 penyimpanan suhu $25^0$C

Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm.
F2 R1 suhu 25 mgg 4

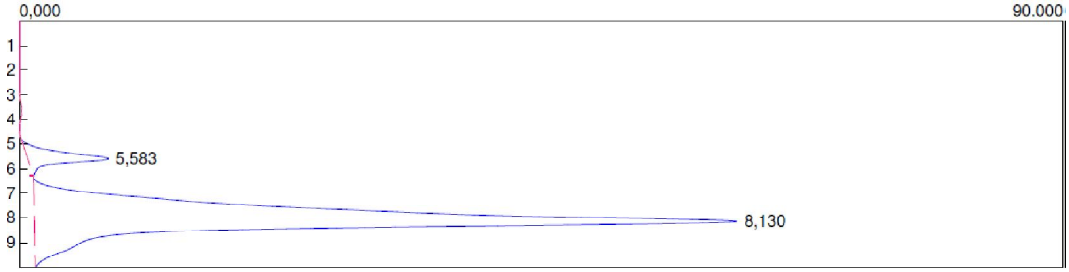



| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,586 | 204,9686 | 6,2176 |
| 8,263 | 3091,6076 | 93,7824 |
| | 3296,5762 | 100,0000 |

**Lampiran 10.** Hasil kromatografi HPLC minggu keempat (Lanjutan)

3. Formula 3 penyimpanan suhu $25^0$C

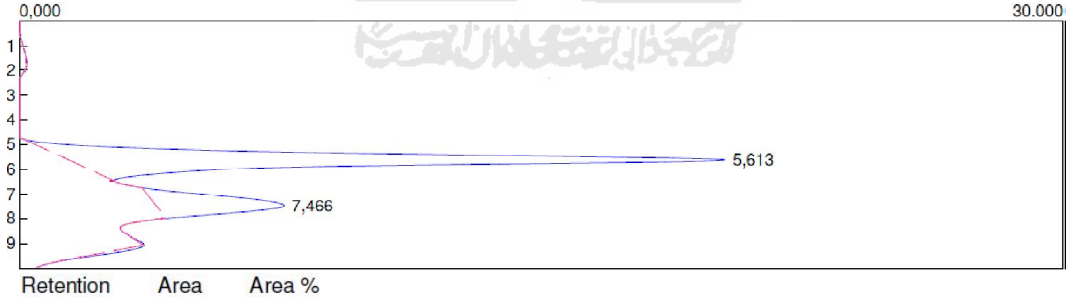
Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm.
F3 R1 suhu 25 mgg 4




| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,583 | 190,9908 | 6,0114 |
| 8,130 | 2986,1542 | 93,9886 |
| | 3177,1450 | 100,0000 |

4. Formula 1 penyimpanan suhu $40^0$C

Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm
F1 R1 suhu 40 mgg 4

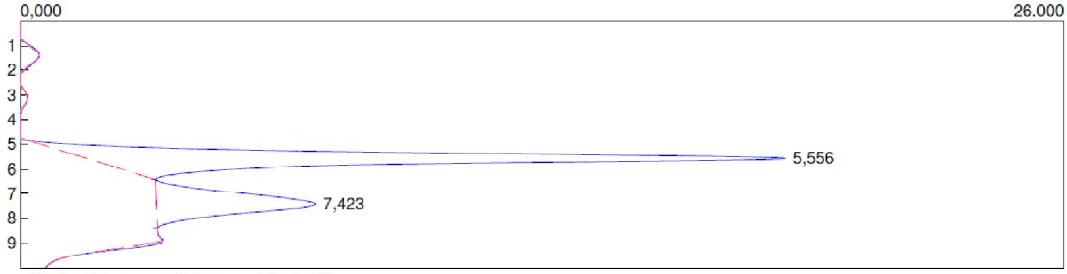



| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,613 | 604,6716 | 78,5042 |
| 7,466 | 165,5690 | 21,4958 |
| | 770,2406 | 100,0000 |

**Lampiran 10.** Hasil kromatografi HPLC minggu keempat (Lanjutan)

5. Formula 2 penyimpanan suhu $40^0$C

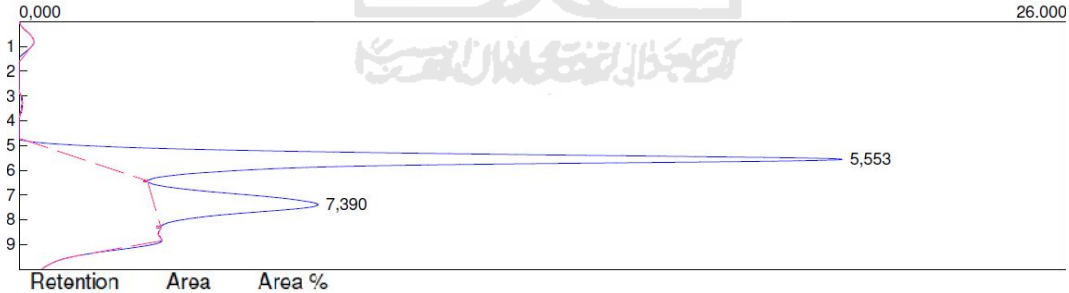
Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm.
F2 R1 suhu 40 mgg 4




| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,556 | 528,6382 | 71,4856 |
| 7,423 | 210,8644 | 28,5144 |
| | 739,5026 | 100,0000 |

6. Formula 3 penyimpanan suhu $40^0$C

Lab name: Lab Instrumentasi
Client: Herninggar A.A
Column: C18
Carrier: MeOH:ph:ACN
Sample: Ascorbyl Palmitate
Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0.5ml/mnt, lamda 254nm.
F3 R1 suhu 40 mgg 4




| Retention | Area | Area % |
|---|---|---|
| 5,553 | 592,1026 | 74,5506 |
| 7,390 | 202,1264 | 25,4494 |
| | 794,2290 | 100,0000 |

**Lampiran 11.** Uji statistik data sebelum perlakuan

1. Viskositas

## Explore

**Case Processing Summary**

| | Cases | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Valid | | Missing | | Total | |
| | N | Percent | N | Percent | N | Percent |
| Viskositas | 9 | 100.0% | 0 | .0% | 9 | 100.0% |

**Descriptives**

| | | | Statistic | Std. Error |
|---|---|---|---|---|
| Viskositas | Mean | | 1.0968E3 | 18.69030 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 1.0537E3 | |
| | | Upper Bound | 1.1399E3 | |
| | 5% Trimmed Mean | | 1.0945E3 | |
| | Median | | 1.0660E3 | |
| | Variance | | 3.144E3 | |
| | Std. Deviation | | 5.60709E1 | |
| | Minimum | | 1039.00 | |
| | Maximum | | 1195.00 | |
| | Range | | 156.00 | |
| | Interquartile Range | | 98.50 | |
| | Skewness | | .646 | .717 |
| | Kurtosis | | -1.015 | 1.400 |

**Tests of Normality**

| | Kolmogorov-Smirnov[a] | | | Shapiro-Wilk | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Viskositas | .264 | 9 | .070 | .888 | 9 | .190 |

a. Lilliefors Significance Correction

**Lampiran 11.** Uji statistik data sebelum perlakuan (Lanjutan)

## Oneway

**Test of Homogeneity of Variances**

Viskositas

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|---|---|---|---|
| 5.841 | 2 | 6 | .039 |

**ANOVA**

Viskositas

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | 19564.222 | 2 | 9782.111 | 10.505 | .011 |
| Within Groups | 5587.333 | 6 | 931.222 | | |
| Total | 25151.556 | 8 | | | |

## NPar Tests

## Kruskal-Wallis Test

**Ranks**

| | Mikroemulsi | N | Mean Rank |
|---|---|---|---|
| Viskositas | F1 | 3 | 8.00 |
| | F2 | 3 | 3.00 |
| | F3 | 3 | 4.00 |
| | Total | 9 | |

**Test Statistics[a,b]**

| | Viskositas |
|---|---|
| Chi-Square | 5.600 |
| df | 2 |
| Asymp. Sig. | .061 |

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Mikroemulsi

**Lampiran 11.** Uji statistik data sebelum perlakuan (Lanjutan)

2. pH

## Explore

**Case Processing Summary**

| | Cases | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Valid | | Missing | | Total | |
| | N | Percent | N | Percent | N | Percent |
| pH | 9 | 100.0% | 0 | .0% | 9 | 100.0% |

**Descriptives**

| | | | Statistic | Std. Error |
|---|---|---|---|---|
| pH | Mean | | 5.6556 | .01345 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 5.6245 | |
| | | Upper Bound | 5.6866 | |
| | 5% Trimmed Mean | | 5.6573 | |
| | Median | | 5.6500 | |
| | Variance | | .002 | |
| | Std. Deviation | | .04035 | |
| | Minimum | | 5.58 | |
| | Maximum | | 5.70 | |
| | Range | | .12 | |
| | Interquartile Range | | .07 | |
| | Skewness | | -.581 | .717 |
| | Kurtosis | | -.217 | 1.400 |

**Tests of Normality**

| | Kolmogorov-Smirnov[a] | | | Shapiro-Wilk | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| pH | .172 | 9 | .200* | .913 | 9 | .337 |

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

**Lampiran 11.** Uji statistik data sebelum perlakuan (Lanjutan)

## Oneway

**Test of Homogeneity of Variances**

pH

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|---|---|---|---|
| 4.356 | 2 | 6 | .068 |

**ANOVA**

pH

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|---|---|---|---|---|---|
| Between Groups | .010 | 2 | .005 | 12.026 | .008 |
| Within Groups | .003 | 6 | .000 | | |
| Total | .013 | 8 | | | |

## Post Hoc Tests

**Multiple Comparisons**

pH

LSD

| (I) Mikroemulsi | (J) Mikroemulsi | Mean Difference (I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| F1 | F2 | .04000 | .01700 | .057 | -.0016 | .0816 |
| | F3 | .08333* | .01700 | .003 | .0417 | .1249 |
| F2 | F1 | -.04000 | .01700 | .057 | -.0816 | .0016 |
| | F3 | .04333* | .01700 | .044 | .0017 | .0849 |
| F3 | F1 | -.08333* | .01700 | .003 | -.1249 | -.0417 |
| | F2 | -.04333* | .01700 | .044 | -.0849 | -.0017 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

**Lampiran 12.** Uji statistik data setelah perlakuan

1. Viskositas formula 1 suhu $25^0$C

## Explore

**Descriptives**

| | | | Statistic | Std. Error |
|---|---|---|---|---|
| Viskositas_F1_25_mgg1 | Mean | | 1.1330E3 | 4.35890 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 1.1142E3 | |
| | | Upper Bound | 1.1518E3 | |
| | 5% Trimmed Mean | | . | |
| | Median | | 1.1340E3 | |
| | Variance | | 57.000 | |
| | Std. Deviation | | 7.54983 | |
| | Minimum | | 1125.00 | |
| | Maximum | | 1140.00 | |
| | Range | | 15.00 | |
| | Interquartile Range | | . | |
| | Skewness | | -.586 | 1.225 |
| | Kurtosis | | . | . |
| Viskositas_F1_25_mgg4 | Mean | | 9.6580E2 | 19.34554 |
| | 95% Confidence Interval for Mean | Lower Bound | 8.8256E2 | |
| | | Upper Bound | 1.0490E3 | |
| | 5% Trimmed Mean | | . | |
| | Median | | 9.7630E2 | |
| | Variance | | 1.123E3 | |
| | Std. Deviation | | 3.35075E1 | |
| | Minimum | | 928.30 | |
| | Maximum | | 992.80 | |
| | Range | | 64.50 | |
| | Interquartile Range | | . | |
| | Skewness | | -1.272 | 1.225 |
| | Kurtosis | | . | . |

**Lampiran 12.** Uji statistik data setelah perlakuan (Lanjutan)

**Tests of Normality**

| | Kolmogorov-Smirnov[a] | | | Shapiro-Wilk | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Viskositas_F1_25_mgg1 | .219 | 3 | . | .987 | 3 | .780 |
| Viskositas_F1_25_mgg4 | .290 | 3 | . | .926 | 3 | .475 |

a. Lilliefors Significance Correction

## T-Test

**Paired Samples Statistics**

| | | Mean | N | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|---|---|---|---|---|---|
| Pair 1 | Viskositas_F1_25_mgg1 | 1.1330E3 | 3 | 7.54983 | 4.35890 |
| | Viskositas_F1_25_mgg4 | 9.6580E2 | 3 | 33.50746 | 19.34554 |

**Paired Samples Correlations**

| | | N | Correlation | Sig. |
|---|---|---|---|---|
| Pair 1 | Viskositas_F1_25_mgg1 & Viskositas_F1_25_mgg4 | 3 | .792 | .419 |

**Paired Samples Test**

| | Paired Differences | | | | | t | df | Sig. (2-tailed) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference Lower | Upper | | | |
| Pair 1 Viskositas_F1_25_mgg1 - Viskositas_F1_25_mgg4 | 1.67200E2 | 27.91505 | 16.11676 | 97.85517 | 236.54483 | 10.374 | 2 | .009 |

**Lampiran 12.** Uji statistik data setelah perlakuan (Lanjutan)

2. pH formula 1 suhu $25^0$C

## NPar Tests

## Wilcoxon Signed Ranks Test

**Ranks**

| | | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---|---|---|---|---|
| pH_F1_25_mgg4 - pH_F1_25_mgg1 | Negative Ranks | 3[a] | 2.00 | 6.00 |
| | Positive Ranks | 0[b] | .00 | .00 |
| | Ties | 0[c] | | |
| | Total | 3 | | |

a. pH_F1_25_mgg4 < pH_F1_25_mgg1

b. pH_F1_25_mgg4 > pH_F1_25_mgg1

c. pH_F1_25_mgg4 = pH_F1_25_mgg1

**Test Statistics[b]**

| | pH_F1_25_mgg4 - pH_F1_25_mgg1 |
|---|---|
| Z | -1.633[a] |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .102 |

a. Based on positive ranks.

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

3. Viskositas formula 2 suhu $25^0$C

## NPar Tests

## Wilcoxon Signed Ranks Test

**Ranks**

| | | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---|---|---|---|---|
| Viskositas_F2_25_mgg4 - Viskositas_F2_25_mgg1 | Negative Ranks | 3[a] | 2.00 | 6.00 |
| | Positive Ranks | 0[b] | .00 | .00 |
| | Ties | 0[c] | | |
| | Total | 3 | | |

**Lampiran 12.** Uji statistik data setelah perlakuan (Lanjutan)

a. Viskositas_F2_25_mgg4 < Viskositas_F2_25_mgg1

b. Viskositas_F2_25_mgg4 > Viskositas_F2_25_mgg1

c. Viskositas_F2_25_mgg4 = Viskositas_F2_25_mgg1

**Test Statistics[b]**

| | Viskositas_F2_25_mgg4 - Viskositas_F2_25_mgg1 |
|---|---|
| Z | -1.604[a] |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .109 |

a. Based on positive ranks.

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

4. pH formula 2 suhu $25^0$C

## NPar Tests

## Wilcoxon Signed Ranks Test

**Ranks**

| | | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---|---|---|---|---|
| pH_F2_25_mgg4 - pH_F2_25_mgg1 | Negative Ranks | 3[a] | 2.00 | 6.00 |
| | Positive Ranks | 0[b] | .00 | .00 |
| | Ties | 0[c] | | |
| | Total | 3 | | |

a. pH_F2_25_mgg4 < pH_F2_25_mgg1

b. pH_F2_25_mgg4 > pH_F2_25_mgg1

c. pH_F2_25_mgg4 = pH_F2_25_mgg1

**Test Statistics[b]**

| | pH_F2_25_mgg4 - pH_F2_25_mgg1 |
|---|---|
| Z | -1.633[a] |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .102 |

a. Based on positive ranks.

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

**Lampiran 12.** Uji statistik data setelah perlakuan (Lanjutan)

5. Viskositas formula 3 suhu $25^0$C

## T-Test

**Paired Samples Statistics**

| | | Mean | N | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|---|---|---|---|---|---|
| Pair 1 | Viskositas_F3_25_mgg1 | 1.1617E3 | 3 | 13.31666 | 7.68838 |
| | Viskositas_F3_25_mgg4 | 1.1950E3 | 3 | 14.79865 | 8.54400 |

**Paired Samples Correlations**

| | | N | Correlation | Sig. |
|---|---|---|---|---|
| Pair 1 | Viskositas_F3_25_mgg1 & Viskositas_F3_25_mgg4 | 3 | -.644 | .554 |

**Paired Samples Test**

| | Paired Differences | | | | | t | df | Sig. (2-tailed) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference Lower | Upper | | | |
| Pair 1 Viskositas_F3_25_mgg1 - Viskositas_F3_25_mgg4 | -3.33333E1 | 25.50163 | 14.72338 | -96.68290 | 30.01624 | -2.264 | 2 | .152 |

6. pH formula 3 suhu $25^0$C

## T-Test

**Paired Samples Statistics**

| | | Mean | N | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|---|---|---|---|---|---|
| Pair 1 | pH_25_F3_mgg1 | 5.6033 | 3 | .03786 | .02186 |
| | pH_25_F3_mgg4 | 5.4133 | 3 | .01528 | .00882 |

**Lampiran 12.** Uji statistik data setelah perlakuan (Lanjutan)

**Paired Samples Correlations**

| | | N | Correlation | Sig. |
|---|---|---|---|---|
| Pair 1 | pH_25_F3_mgg1 & pH_25_F3_mgg4 | 3 | .836 | .370 |

**Paired Samples Test**

| | Paired Differences | | | | | t | df | Sig. (2-tailed) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference Lower | Upper | | | |
| Pair 1 pH_25_F3_mgg1 - pH_25_F3_mgg4 | .19000 | .02646 | .01528 | .12428 | .25572 | 12.438 | 2 | .006 |

7. Penetapan viskositas formula 1 suhu $40^0$C

## T-Test

**Paired Samples Statistics**

| | | Mean | N | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|---|---|---|---|---|---|
| Pair 1 | Viskositas_40_F1_mgg1 | 8.7773E2 | 3 | 11.91693 | 6.88025 |
| | Viskositas_40_F1_mgg4 | 3.9870E2 | 3 | 6.00999 | 3.46987 |

**Paired Samples Correlations**

| | | N | Correlation | Sig. |
|---|---|---|---|---|
| Pair 1 | Viskositas_40_F1_mgg1 & Viskositas_40_F1_mgg4 | 3 | .783 | .427 |

**Lampiran 12.** Uji statistik data setelah perlakuan (Lanjutan)

**Paired Samples Test**

| | Paired Differences | | | | | t | df | Sig. (2-tailed) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference Lower | Upper | | | |
| Pair 1 Viskositas_40_F1_mgg1 - Viskositas_40_F1_mgg4 | 4.79033E2 | 8.12240 | 4.68947 | 458.85618 | 499.21049 | 102.151 | 2 | .000 |

8. Penetapan pH formula 1 suhu $40^0$C

## NPar Tests

## Wilcoxon Signed Ranks Test

**Ranks**

| | | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---|---|---|---|---|
| pH_40_F1_mgg4 - pH_40_F1_mgg1 | Negative Ranks | 3[a] | 2.00 | 6.00 |
| | Positive Ranks | 0[b] | .00 | .00 |
| | Ties | 0[c] | | |
| | Total | 3 | | |

a. pH_40_F1_mgg4 < pH_40_F1_mgg1

b. pH_40_F1_mgg4 > pH_40_F1_mgg1

c. pH_40_F1_mgg4 = pH_40_F1_mgg1

**Test Statistics[b]**

| | pH_40_F1_mgg4 - pH_40_F1_mgg1 |
|---|---|
| Z | -1.604[a] |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .109 |

a. Based on positive ranks.

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

**Lampiran 12.** Uji statistik data setelah perlakuan (Lanjutan)

9. Penetapan viskositas formula 2 suhu $40^0$C

## T-Test

**Paired Samples Statistics**

| | | Mean | N | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|---|---|---|---|---|---|
| Pair 1 | Viskositas_40_F2_mgg1 | 8.5500E2 | 3 | 2.49800 | 1.44222 |
| | Viskositas_40_F2_mgg4 | 4.1250E2 | 3 | 8.98666 | 5.18845 |

**Paired Samples Correlations**

| | | N | Correlation | Sig. |
|---|---|---|---|---|
| Pair 1 | Viskositas_40_F2_mgg1 & Viskositas_40_F2_mgg4 | 3 | -1.000 | .018 |

**Paired Samples Test**

| | Paired Differences | | | | | t | df | Sig. (2-tailed) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference Lower | Upper | | | |
| Pair 1 Viskositas_40_F2_mgg1 - Viskositas_40_F2_mgg4 | 4.42500E2 | 11.48390 | 6.63023 | 413.97241 | 471.02759 | 66.740 | 2 | .000 |

10. Penetapan pH formula 2 suhu $40^0$C

## NPar Tests

## Wilcoxon Signed Ranks Test

**Ranks**

| | | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---|---|---|---|---|
| pH_40_F2_mgg4 - pH_40_F2_mgg1 | Negative Ranks | 3[a] | 2.00 | 6.00 |
| | Positive Ranks | 0[b] | .00 | .00 |
| | Ties | 0[c] | | |
| | Total | 3 | | |

**Lampiran 12.** Uji statistik data setelah perlakuan (Lanjutan)

a. pH_40_F2_mgg4 < pH_40_F2_mgg1

b. pH_40_F2_mgg4 > pH_40_F2_mgg1

c. pH_40_F2_mgg4 = pH_40_F2_mgg1

**Test Statistics[b]**

| | pH_40_F2_mgg4 - pH_40_F2_mgg1 |
|---|---|
| Z | -1.604[a] |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .109 |

a. Based on positive ranks.

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

11. Viskositas formula 3 suhu $40^0$C

## T-Test

**Paired Samples Statistics**

| | | Mean | N | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|---|---|---|---|---|---|
| Pair 1 | Viskositas_40_F3_mgg1 | 8.3540E2 | 3 | 18.36954 | 10.60566 |
| | Viskositas_40_F3_mgg4 | 4.5250E2 | 3 | 2.70555 | 1.56205 |

**Paired Samples Correlations**

| | | N | Correlation | Sig. |
|---|---|---|---|---|
| Pair 1 | Viskositas_40_F3_mgg1 & Viskositas_40_F3_mgg4 | 3 | -.814 | .395 |

**Paired Samples Test**

| | Paired Differences | | | | | t | df | Sig. (2-tailed) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Mean | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference Lower | Upper | | | |
| Pair 1 Viskositas_40_F3_mgg1 - Viskositas_40_F3_mgg4 | 3.82900E2 | 20.63104 | 11.91134 | 331.64964 | 434.15036 | 32.146 | 2 | .001 |

**Lampiran 12.** Uji statistik data setelah perlakuan (Lanjutan)

12. pH formula 3 suhu $40^0$C

## NPar Tests

## Wilcoxon Signed Ranks Test

**Ranks**

| | | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|---|---|---|---|---|
| pH_40_F3_mgg4 - pH_40_F3_mgg1 | Negative Ranks | 3[a] | 2.00 | 6.00 |
| | Positive Ranks | 0[b] | .00 | .00 |
| | Ties | 0[c] | | |
| | Total | 3 | | |

a. pH_40_F3_mgg4 < pH_40_F3_mgg1

b. pH_40_F3_mgg4 > pH_40_F3_mgg1

c. pH_40_F3_mgg4 = pH_40_F3_mgg1

**Test Statistics[b]**

| | pH_40_F3_mgg4 - pH_40_F3_mgg1 |
|---|---|
| Z | -1.633[a] |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .102 |

a. Based on positive ranks.

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

**Lampiran 13.** Gambar alat



*High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Shimadzu LC-6*



*Climated Chamber (Climacell)*

**Lampiran 13.** Gambar alat (Lanjutan)




*pH meter (Wtw-inolab)*




*viskometer Brookfield (DV-I Prime)*

**Lampiran 13.** Gambar alat (Lanjutan)




*Timbangan elektrik (Metler Toledo-Dragon 204)*




*Magnetic heater stirrer (Heidolph MR 3001)*

**Lampiran 13.** Gambar alat (Lanjutan)



*Homogenizer (IKA T18 basic)*