

**FORMULASI SEDIAAN TOPIKAL MIKROEMULSI VITAMIN  
C PALMITAT TIPE AIR DALAM MINYAK (A/M) DENGAN  
KOMBINASI TWEEN 20 DAN SPAN 80**

**SKRIPSI**



**Oleh :**

**RYZYA DWI BAKTIARTI**

**08613026**

**PROGRAM STUDI FARMASI**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA**

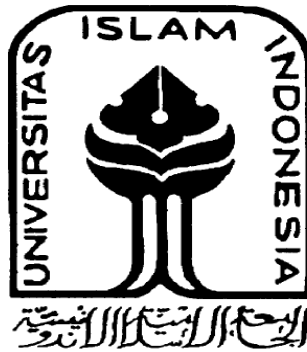
**YOGYAKARTA**

**JUNI 2012**

FORMULASI SEDIAAN TOPIKAL MIKROEMULSI VITAMIN C  
PALMITAT TIPE AIR DALAM MINYAK (A/M) DENGAN  
KOMBINASI TWEEN 20 DAN SPAN 80

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 :

RYZYA DWI BAKTIARTI

08613026

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

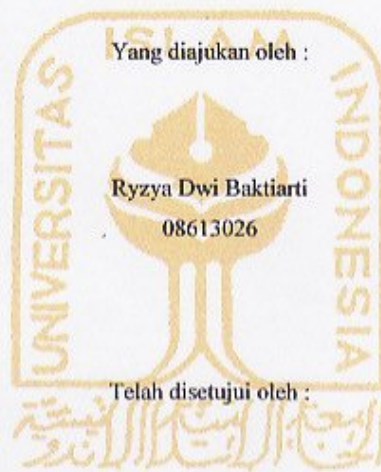
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

YOGYAKARTA

JUNI 2012

## SKRIPSI

FORMULASI SEDIAAN TOPIKAL MIKROEMULSI VITAMIN C PALMITAT  
TIPE AIR DALAM MINYAK (A/M) DENGAN KOMBINASI TWEEN 20 DAN  
SPAN 80



Pembimbing utama,

TN.Saifulah S., M.Si., Apt

Pembimbing pendamping

Bambang Hernawan N., S.Farm., Apt

## SKRIPSI

### FORMULASI SEDIAAN TOPIKAL MIKROEMULSI VITAMIN C PALMITAT TIPE AIR DALAM MINYAK (A/M) DENGAN KOMBINASI TWEEN 20 DAN SPAN 80

Oleh:

Ryzya Dwi Baktiarti

08613026

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

Tanggal:

Ketua Penguji : TN. Saifullah S., M.Si., Apt

(.....)

Anggota Penguji : 1. Bambang Hernawan N., S.Farm., Apt

(.....)

: 2. Dra. Mimiek Murrukmihadi, SU., Apt

(.....)

: 3. Dr. Abdul Rohman, M.Si., 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, Juni 2012

Penulis,

Ryzya Dwi Baktiarti

## HALAMAN PERSEMBAHAN

*Barang siapa berjalan untuk menuntut ilmu maka Allah akan memudahkan baginya jalan ke Surga. (HR. Muslim)*

### MOTTO

*Tidak akan pernah berhasil, orang yang tidak pernah gagal.  
Orang yang kehilangan keberanian, maka dia akan kehilangan segala-galanya.*

\*\*\*\*\*

*Karya sederhana ini kupersembahkan kepada :*

1. *Bapak Nurhadi dan Ibu Tri Wahyuni tercinta atas doa yang selalu ibu dan bapak panjatkan disetiap untaian doamu, semangat dan kasih sayang yang ibu dan bapak berikan. Karena kekuatan doa ibu dan bapaklah, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.*
2. *Kedua adikku Rizky dan Si kecil tiara yang sudah membuat hari-hariku berarti karena kasih sayang kalian dan memotivasiku untuk melakukan yang terbaik.*
3. *Keluarga besar di Ambon, Demak, Kediri dan Palembang yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.*
4. *Keempat kurcaci kelas A (Vita, Ririn, Nova dan Tety) atas dukungan, cerita dan kebersamaan kalian yang mewarnai hidupku.*
5. *Teman seperjuanganku Herninggar dan Wilis atas kerja sama, bantuan, kebersamaan dan bimbingan kalian.*
6. *The third floor Community (alin, mbk tita, mbk nila, mbk owek, thyas)*
7. *Teman-teman KKN Unit-168 (Upi, Venny, Dwi, Mahasin, Indra, Salman)*
8. *Teman-teman farmasi angkatan 2008*

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

*Alhamdulillahirobbil'alamin*, segala puji dipanjatkan kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan rahmat, taufik dan hidayahNya, karena hanya dengan pertolongan dari-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “FORMULASI SEDIAAN TOPIKAL MIKROEMULSI VITAMIN C PALMITAT TIPE AIR DALAM MINYAK (A/M) DENGAN KOMBINASI TWEEN 20 DAN SPAN 80”. Shalawat dan salam semoga tetap terlimpahkan kepada Nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat dan akhirnya sampai kepada kita pengikutnya yang selalu berusaha mengikuti sunah-sunahnya.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Indonesia Yogyakarta. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa tanpa bantuan dan dorongan yang diberikan oleh berbagai pihak, penulisan skripsi ini tidak dapat terselesaikan.

Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. TN Saifullah, S.,M.Si.,Apt selaku dosen pembimbing utama dan Bapak Bambang Hernawan Nugroho, S.Farm.,Apt., selaku dosen pembimbing yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, masukan dan dorongan dari awal penelitian hingga akhir penyusunan skripsi ini.
2. Yandi Syukri M.Si.,Apt selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
3. M.Hatta Prabowo M.Si.,Apt selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
4. Arba Pramundita S.Farm.,Apt Selaku Dosen Pembimbing Akademik
5. Bapak Hartanto dan bapak Yusuf sebagai laboran laboratorium teknologi farmasi dan laboran laboratorium instrumental atas kerjasama dan bantuannya selama penelitian.
6. Seluruh dosen, karyawan FMIPA UII dan pihak keamanan atas didikan, layanan dan bantuan yang telah diberikan.
7. Seluruh mahasiswa Farmasi UII serta pihak yang telah berkontribusi dalam penyelesaian skripsi ini.

Penyusun menyadari bahwa penyusunan skripsi ini jauh dari kesempurnaan dan tidak lepas dari kekurangan, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya bidang kefarmasian.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

Yogyakarta, Juni 2012

Penulis,

Ryzya Dwi Baktiarti

## DAFTAR ISI

|                                                        |      |
|--------------------------------------------------------|------|
| HALAMAMAN JUDUL .....                                  | i    |
| HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING .....                    | ii   |
| HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI .....                       | iii  |
| PERNYATAAN PERNYATAAN .....                            | iv   |
| HALAMAN PERSEMBAHAN .....                              | v    |
| KATA PENGANTAR .....                                   | vi   |
| DAFTAR ISI .....                                       | viii |
| DAFTAR GAMBAR .....                                    | xi   |
| DAFTAR TABEL .....                                     | xiii |
| DAFTAR LAMPIRAN .....                                  | xiv  |
| DAFTAR PERSAMAAN .....                                 | xv   |
| INTISARI .....                                         | xvi  |
| <i>ABSTRACT</i> .....                                  | xvii |
| BAB I. PENDAHULUAN .....                               | 1    |
| A. Latar Belakang Masalah .....                        | 1    |
| B. Perumusan Masalah .....                             | 2    |
| C. Tujuan Penelitian .....                             | 2    |
| D. Manfaat Penelitian .....                            | 3    |
| BAB II. STUDI PUSTAKA .....                            | 4    |
| A. Tinjauan Pustaka .....                              | 4    |
| 1. Mikroemulsi .....                                   | 4    |
| a. Definisi .....                                      | 4    |
| b. Tipe mikroemulsi .....                              | 5    |
| c. Karakteristik .....                                 | 6    |
| d. Kelebihan dan manfaat .....                         | 8    |
| e. Teori pembentukan mikroemulsi .....                 | 8    |
| f. Formulasi mikroemulsi .....                         | 9    |
| g. Surfaktan .....                                     | 9    |
| 2. Vitamin C .....                                     | 11   |
| 3. Monografi bahan .....                               | 13   |
| 4. <i>High Performance Liquid Chromatography</i> ..... | 16   |

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| B. Landasan teori .....                                        | 18 |
| C. Hipotesis .....                                             | 19 |
| BAB III. METODE PENELITIAN .....                               | 20 |
| A. Bahan dan Alat .....                                        | 20 |
| 1. Bahan.....                                                  | 20 |
| 2. Alat.....                                                   | 20 |
| B. Cara Penelitian .....                                       | 21 |
| 1. Penentuan perbandingan surfaktan .....                      | 21 |
| 2. Penentuan formula sediaan mikroemulsi .....                 | 21 |
| 3. Formula mikroemulsi vitamin C palmitat .....                | 21 |
| 4. Pembuatan sediaan mikroemulsi .....                         | 22 |
| 5. Uji sifat fisik dan kimia.....                              | 22 |
| 6. Verifikasi metode.....                                      | 23 |
| 7. Uji stabilitas sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat ..... | 25 |
| C. Analisa Hasil .....                                         | 25 |
| BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....                             | 26 |
| A.. Penentuan perbandingan surfaktan.....                      | 26 |
| B.. Formula mikroemulsi vitamin C palmitat .....               | 28 |
| C.. Pembuatan mikroemulsi vitamin C palmitat .....             | 29 |
| D.. Hasil Uji Sifat Fisik Mikroemulsi.....                     | 31 |
| 1. Uji organoleptis .....                                      | 31 |
| 2. Penetapan viskositas .....                                  | 31 |
| 3. Pemisahan dua fase.....                                     | 32 |
| 4. Penentuan ukuran globul .....                               | 33 |
| E. Hasil Uji Sifat kimia mikroemulsi .....                     | 34 |
| 1. Penetapan pH.....                                           | 34 |
| 2. Penetapan kadar .....                                       | 35 |
| F. Hasil verifikasi metode analisis .....                      | 35 |
| 1. Penentuan akurasi .....                                     | 35 |
| 2. Penentuan presisi.....                                      | 36 |
| 3. Penentuan LOD dan LOQ.....                                  | 37 |
| 4. Penentuan kurva baku dan linieritas .....                   | 37 |

|                                               |    |
|-----------------------------------------------|----|
| G. Hasil uji stabilitas fisik dan kimia ..... | 39 |
| BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....              | 50 |
| A. Kesimpulan .....                           | 50 |
| B. Saran .....                                | 50 |
| DAFTAR PUSTAKA .....                          | 51 |
| LAMPIRAN ..                                   | 54 |

## DAFTAR GAMBAR

|           |                                                                                 |    |
|-----------|---------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar 1  | Tipe mikroemulsi.....                                                           | 6  |
| Gambar 2  | Struktur kimia vitamin C.....                                                   | 12 |
| Gambar 3  | Skema proses penguraian vitamin C.....                                          | 12 |
| Gambar 4  | Struktur molekul vitamin C palmitat.....                                        | 14 |
| Gambar 5  | Struktur molekul isopropyl miristat.....                                        | 14 |
| Gambar 6  | Struktur molekul tween 20.....                                                  | 15 |
| Gambar 7  | Struktur molekul span 80.....                                                   | 16 |
| Gambar 8  | Skema sistematika cara kerja.....                                               | 20 |
| Gambar 9  | Penggunaan kosurfaktan 1-butanol dan iso propanol alkohol dalam formula.....    | 27 |
| Gambar 10 | Formula tanpa kosurfaktan satu minggu setelah penyimpanan.....                  | 28 |
| Gambar 11 | Sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat ketiga formula sebelum perlakuan.....    | 30 |
| Gambar 12 | Bentuk globul formula 1 sebelum perlakuan.....                                  | 33 |
| Gambar 13 | Bentuk globul formula 2 sebelum perlakuan.....                                  | 33 |
| Gambar 14 | Bentuk globul formula 3 sebelum perlakuan.....                                  | 34 |
| Gambar 15 | Grafik persamaan kurva baku vitamin C palmitat.....                             | 38 |
| Gambar 16 | Kromatogram vitamin C palmitat sebelum Perlakuan.....                           | 39 |
| Gambar 17 | Kurva perubahan viskositas selama penyimpanan suhu 25°C.....                    | 42 |
| Gambar 18 | Kurva perubahan viskositas selama penyimpanan suhu 40 °C.....                   | 42 |
| Gambar 19 | Bentuk globul formula 2 suhu 25°C tiap minggu.....                              | 44 |
| Gambar 20 | Bentuk globul formula 2 suhu 40°C tiap minggu.....                              | 45 |
| Gambar 21 | Kurva perubahan kadar vitamin C palmitat selama penyimpanan pada suhu 25°C..... | 47 |
| Gambar 22 | Kurva perubahan kadar vitamin C palmitat selama penyimpanan pada suhu 40°C..... | 47 |

|           |                                        |    |
|-----------|----------------------------------------|----|
| Gambar 23 | Kromatogram vitamin C palmitat formula |    |
|           | 2 minggu keempat suhu 40°C.....        | 48 |

## DAFTAR TABEL

|              |                                                                                          |    |
|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel I.     | Perbedaan mikroemulsi dan emulsi (makroemulsi).....                                      | 7  |
| Tabel II.    | Klasifikasi surfaktan .....                                                              | 11 |
| Tabel III.   | Rancangan formula sediaan mikroemulsi.....                                               | 21 |
| Tabel IV.    | Penentuan perbandingan surfaktan tween 20<br>dan span 80 dalam formula .....             | 26 |
| Tabel V.     | Orientasi formula sediaan mikroemulsi<br>vitamin C palmitat.....                         | 28 |
| Tabel VI.    | Formula sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat.....                                      | 29 |
| Tabel VII.   | Pengamatan organoleptis sediaan mikroemulsi<br>vitamin C palmitat sebelum perlakuan..... | 31 |
| Tabel VIII.  | Hasil pengukuran viskositas sebelum perlakuan.....                                       | 32 |
| Tabel IX.    | Hasil pengamatan pemisahan dua fase sebelum<br>perlakuan.....                            | 32 |
| Tabel X.     | Hasil pengukuran pH sebelum perlakuan.....                                               | 34 |
| Tabel XI.    | Hasil penetapan akurasi.....                                                             | 36 |
| Tabel XII.   | Hasil penetapan presisi.....                                                             | 36 |
| Tabel XIII.  | Hasil penetapan kadar vitamin C palmitat<br>sebelum perlakuan.....                       | 39 |
| Tabel XIV.   | Pengamatan organoleptis sediaan mikroemulsi<br>minggu ke-1 dan ke-4 suhu 25°C.....       | 41 |
| Tabel XV.    | Pengamatan organoleptis sediaan mikroemulsi<br>minggu ke-1 dan ke-4 suhu 40°C.....       | 41 |
| Tabel XVI.   | Hasil pengamatan pemisahan dua fase suhu<br>25°C dan 40°C.....                           | 46 |
| Tabel XVII.  | Hasil penetapan pH suhu 25°C.....                                                        | 48 |
| Tabel XVIII. | Hasil penetapan pH suhu 40°C.....                                                        | 49 |

## DAFTAR LAMPIRAN

|            |                                                                  |    |
|------------|------------------------------------------------------------------|----|
| Lampiran 1 | Hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan<br>mikroemulsi..... | 54 |
| Lampiran 2 | Analisis hasil menggunakan SPSS 16.....                          | 81 |
| Lampiran 3 | Kurva kromatografi vitamin C palmitat.....                       | 90 |
| Lampiran 4 | Gambar alat yang digunakan.....                                  | 99 |

## DAFTAR PERSAMAAN

|                                         |   |
|-----------------------------------------|---|
| Persamaan 1 Persamaan Gibbs-Duheim..... | 8 |
|-----------------------------------------|---|

**FORMULASI SEDIAAN TOPIKAL MIKROEMULSI VITAMIN C  
PALMITAT TIPE AIR DALAM MINYAK (A/M) DENGAN KOMBINASI  
TWEEN 20 DAN SPAN 80**

**INTISARI**

Vitamin C palmitat merupakan derivat vitamin C yang bersifat lipofilik dan memiliki aktifitas sebagai senyawa antioksidan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui stabilitas fisik dan kimia sediaan topikal mikroemulsi vitamin C palmitat tipe A/M dengan kombinasi surfaktan tween 20 dan span 80. Dalam penelitian ini sediaan mikroemulsi dibuat dengan tipe air dalam minyak (A/M) menggunakan vitamin C palmitat sebagai model obat, isopropil miristat sebagai fase minyak, kombinasi tween 20 dan span 80 dengan perbandingan 2:1, 3:1, 4:1 sebagai komponen surfaktan dan dapar fosfat sebagai fase air. Sediaan mikroemulsi dievaluasi stabilitas fisik (uji organoleptis, viskositas, pemisahan dua fase dan ukuran globul) dan stabilitas kimia (penetapan kadar dan pH) selama 4 minggu pada suhu 25°C dan 40°C. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dan statistik menggunakan *Oneway ANOVA* dan *Paired t-test* dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat tipe A/M memberikan stabilitas fisik kurang baik karena mengalami perubahan warna, ukuran globul yang lebih dari 0,1 µm dan terlihat adanya koalesen serta stabilitas vitamin C palmitat dalam sediaan mikroemulsi juga mengalami penurunan kadar dan pH seiring lamanya waktu penyimpanan.

*Kata kunci : Mikroemulsi, vitamin C palmitat, surfaktan*

# **FORMULATION OF TOPICAL W/O MICROEMULSION OF ASCORBYL PALMITATE WITH A COMBINATION OF TWEEN 20 AND SPAN 80**

## **ABSTRACT**

Ascorbyl palmitate is a derivative of ascorbyl acid that is lipophilic and has activity as an antioxidant compound. The study was conducted to determine the chemical and physical stability of the preparation of topical w/o microemulsion with a combination of tween 20 and span 80. In this study the preparation of w/o microemulsion consisting of ascorbyl palmitate as a model drug, isopropyl miristate as oil phase, the combination of tween 20 and span 80 with a ratio of 2:1, 3:1, 4:1 as components of surfactant and phosphate buffer as the aqueous phase. Evaluating the physical stability of the microemulsion preparation consisting of organoleptics test, viscosity, two-phase separation, the globule size and chemical stability consisting of assay the content and pH for 4 weeks at a temperature of 25°C and 40°C. Data were analyzed using descriptive and statistics using Oneway ANOVA and paired t-test. The results showed that the topical of w/o microemulsions provides physical stability is not good because its undergoing color change, the globule size more of 0,1  $\mu\text{m}$ , visible presence coalescent and stability of ascorbyl palmitate in w/o microemulsions decreased level and pH along the length of storage time.

*Keyword : Microemulsion, Ascorbyl palmitate, Surfactants*

**BAB 1**  
**PENDAHULUAN**  
**A. Latar belakang masalah**

Vitamin C palmitat merupakan derivat vitamin C yang bersifat lipofilik dan lebih stabil jika dibandingkan dengan vitamin C (*L-Ascorbic acid*) yang memiliki aktifitas sebagai senyawa antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas penyebab kerusakan sel-sel kulit oleh adanya paparan sinar ultraviolet (UV)<sup>(1)</sup>. Berbagai formulasi sediaan topikal telah banyak digunakan dan dikembangkan sebagai alternatif yang efisien dan praktis dalam sistem penghantaran obat. Salah satunya dengan mengembangkan formulasi sediaan topikal mikroemulsi. Kelebihan mikroemulsi sebagai sediaan topikal antara lain bersifat stabil secara termodinamika, jernih, transparan atau *translucent*. Penggunaan mikroemulsi tidak hanya pada pembuatan yang mudah dan biayanya murah tetapi sediaan topikal mikroemulsi dapat meningkatkan kecepatan permeasi obat ke kulit karena kelarutan dalam minyak meningkat dan ukuran partikel yang sangat kecil semakin mempercepat mikroemulsi berpenetrasi pada lapisan kulit<sup>(2)</sup>.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa dalam bidang farmasi, sediaan topikal mikroemulsi telah digunakan sebagai salah satu sistem penghantaran obat dari vitamin C palmitat<sup>(1,3)</sup>. Spiclin *et al*, menyatakan bahwa tipe mikroemulsi secara signifikan mempengaruhi stabilitas mikroemulsi. Tipe mikroemulsi A/M dipilih sebagai suatu sistem pembawa karena tipe A/M dapat meminimalisir terjadinya reaksi oksidasi dari vitamin C palmitat. Faktor lain yang mempengaruhi stabilitas mikroemulsi adalah konsentration awal vitamin C palmitat. Tipe mikroemulsi A/M memberikan stabilitas yang baik pada konsentration awal vitamin C palmitat sebesar 2% w/w<sup>(1)</sup>. Pelepasan vitamin C palmitat dari pembawa dan berpenetrasi ke dalam stratum korneum dipengaruhi oleh interaksi pembawa dengan kulit<sup>(3)</sup>. Penggunaan kosurfaktan yang berupa alkohol rantai pendek atau sedang tidak sesuai untuk sediaan topikal karena dapat menyebabkan iritasi kulit<sup>(4)</sup>. Kosurfaktan juga dapat menyebabkan rusaknya mikroemulsi akibat *dilution* karena kosurfaktan mengalami partisi keluar dari antarmuka masuk kedalam fase luar<sup>(4)</sup>.

Surfaktan nonionik seperti tween 20 dan span 80 merupakan surfaktan yang memiliki toksisitas minimal dan tidak menyebabkan iritasi serta telah banyak digunakan dalam produk makanan, kosmetik maupun farmasi<sup>(5)</sup>. Kelebihan lain dari surfaktan nonionik yaitu memiliki sifat fisik yang baik berupa tampilan berwarna kuning jernih, transparan dan homogen. Li *et al*, menyatakan bahwa kombinasi surfaktan nonionik dapat menyebabkan terbentuknya mikroemulsi yang bersifat *self-emulsifying* dengan ukuran partikel yang kecil (10-11 nm), meningkatkan stabilitas fisik berupa tidak adanya perubahan ukuran partikel yang signifikan selama penyimpanan dan meningkatkan kelarutan senyawa bioaktif<sup>(6)</sup>. Penelitian sebelumnya juga menyatakan bahwa mikroemulsi dengan kombinasi tween 20 dan span 80 tidak mengalami perubahan penampilan yang signifikan selama penyimpanan yaitu mikroemulsi tetap stabil dan jernih<sup>(4)</sup>. Surfaktan nonionik juga dapat menjaga stabilitas kimia sediaan mikroemulsi karena sifatnya yang tidak dipengaruhi oleh adanya perubahan muatan dan pH, sehingga dapat meminimalisir terjadinya ketidakseimbangan sistem mikroemulsi dan pH sediaan tetap stabil<sup>(7)</sup>. pH merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi stabilitas vitamin C, sehingga dengan pH yang stabil dapat menjaga stabilitas vitamin C<sup>(8)</sup>. Faktor lainnya yaitu tween 20 diketahui efektif meningkatkan daerah sistem mikroemulsi<sup>(9)</sup>. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui stabilitas fisik dan kimia sediaan topikal mikroemulsi vitamin C palmitat tipe A/M dengan kombinasi tween 20 dan span 80.

### **B. Rumusan masalah**

- a. Bagaimanakah stabilitas fisik sediaan topikal mikroemulsi vitamin C palmitat tipe A/M dengan kombinasi tween 20 dan span 80?
- b. Bagaimanakah stabilitas kimia sediaan topikal mikroemulsi vitamin C palmitat tipe A/M dengan kombinasi tween 20 dan span 80?

### **C. Tujuan Penelitian**

- a. Mengetahui stabilitas fisik sediaan topikal mikroemulsi vitamin C palmitat tipe A/M dengan kombinasi tween 20 dan span 80?
- b. Mengetahui stabilitas kimia sediaan topikal mikroemulsi vitamin C palmitat tipe A/M dengan kombinasi tween 20 dan span 80?

#### **D. Manfaat penelitian**

Manfaat yang dapat diambil dari penelitian formulasi sediaan topikal mikroemulsi vitamin C palmitat tipe air dalam minyak (A/M) dengan kombinasi tween 20 dan span 80 adalah :

1. Bagi ilmu pengetahuan

- a. Penelitian ini bermanfaat untuk mengembangkan sediaan topikal mikroemulsi sebagai salah satu sistem penghantaran obat dengan vitamin C palmitat sebagai model obat, isopropil miristat sebagai fase minyak dan kombinasi span 80 dan tween 20 sebagai surfaktan. Sediaan mikroemulsi yang memiliki ukuran droplet berkisar antara 0,01-0,1  $\mu\text{m}$  diharapkan dapat mempercepat permeasi mikroemulsi ke dalam kulit dan meningkatkan stabilitas sediaan mikroemulsi.
- b. Penelitian ini diharapkan dapat berguna sebagai bahan informasi untuk penelitian selanjutnya.

2. Bagi masyarakat

Penelitian ini diharapkan untuk kedepannya dapat menghasilkan sediaan mikroemulsi yang lebih praktis, mudah digunakan dan memiliki nilai estetika yang baik.

## BAB II

### STUDI PUSTAKA

#### A. TINJAUAN PUSTAKA

##### 1. Mikroemulsi

###### a. Definisi

Konsep mikroemulsi pertama kali diperkenalkan pada awal tahun 1940-an oleh Hoar dan Schulman yang menghasilkan larutan jernih fase tunggal dengan mendispersikan minyak dalam larutan surfaktan dan menambahkan alkohol sebagai kosurfaktan. Schulman *et al* pada tahun 1959 kemudian menggunakan istilah mikroemulsi. Sejak saat itu mikroemulsi telah ditetapkan dan didefinisikan kembali oleh berbagai penulis. Menurut Danielsson dan Lindman mikroemulsi didefinisikan sebagai suatu sistem dispersi yang terdiri dari air, minyak dan senyawa *amphipilic* (surfaktan dan kosurfaktan) dengan diameter droplet berkisar antara 10-100 nm. Mikroemulsi bersifat *isotropic*, transparan dan stabil secara termodinamika yang mana kedua cairan yang tidak dapat bercampur (minyak dan air) dicampur agar membentuk fase tunggal dengan cara menambahkan surfaktan yang sesuai atau campuran surfaktan-surfaktan<sup>(10)</sup>.

Mikroemulsi merupakan suatu sistem yang dinamik dengan antarmuka berfluktuasi secara terus-menerus dan spontan<sup>(4)</sup>. Mikroemulsi dikenal sebagai suatu sistem *kuaterner* yang terdiri dari fase air, fase minyak, surfaktan dan kosurfaktan. Stabilitas emulsi dapat dipengaruhi oleh penambahan garam, bahan tambahan lainnya, suhu dan tekanan. Mikroemulsi memiliki kemampuan untuk menghantarkan sebagian besar obat hidrofilik ke kulit yang digunakan secara topikal karena mikroemulsi dapat bertindak sebagai *reservoir* untuk obat yang memiliki kelarutan rendah dengan cara meningkatkan kelarutan obat<sup>(11)</sup>. Mikroemulsi dapat diformulasi tanpa adanya kosurfaktan dengan menggunakan surfaktan nonionik, namun mikroemulsi yang berbasis lesitin tidak dapat diformulasikan tanpa penggunaan kosurfaktan<sup>(12)</sup>.

## b. Tipe mikroemulsi

Klasifikasi mikroemulsi dibagi menjadi 3 tipe yaitu mikroemulsi minyak dalam air (M/A), air dalam minyak (A/M) dan mikroemulsi *bicontinuous*.

### 1. Mikroemulsi tipe I

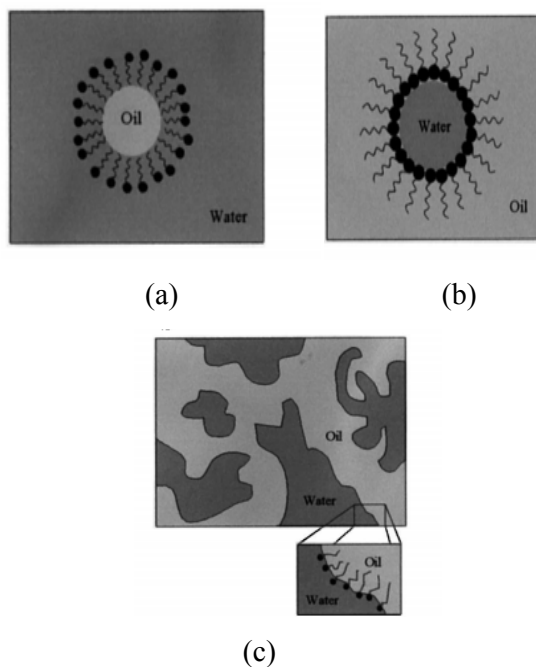
Pada tipe mikroemulsi ini, droplet fase minyak (fase dalam) dikelilingi oleh fase air (fase luar). Surfaktan dan kosurfaktan mengelilingi droplet minyak sebagai film. Surfaktan *monolayer* pada tipe mikroemulsi ini ditandai dengan bagian kepala polar dari surfaktan yang cenderung pada fase air atau hidrofilik dan ekor non polar yang cenderung pada fase minyak atau lipofilik. Tipe mikroemulsi M/A dapat melarutkan obat hidrofobik pada fase minyak kemudian terdispersi stabil dalam fase air<sup>(12)</sup>. Tetesan minyak pada mikroemulsi tipe M/A dikelilingi oleh lapisan elektrik ganda yang dapat memperluas droplet minyak masuk dalam fase air (fase luar) untuk jarak yang cukup jauh hingga 100 nm, tergantung pada konsentrasi elektrolit<sup>(5)</sup>.

### 2. Mikroemulsi tipe II

Pada tipe mikroemulsi ini, droplet fase air (fase dalam) dikelilingi oleh fase luar (minyak). Pada mikroemulsi A/M kepala polar surfaktan cenderung pada droplet air. Sedangkan rantai panjang asam lemak dari ekor non polar cenderung pada fase minyak. Mikroemulsi A/M dikenal sebagai *reverse micelles*. Tipe mikroemulsi A/M terbentuk ketika volume air lebih rendah dari pada fase minyak. Ketika mikroemulsi tipe A/M diencerkan dengan media air maka terbentuk sistem yang tidak stabil. Hal ini disebabkan karena meningkatnya volume fase air mengarah pada pemisahan fase dan terjadi *inversi* yaitu perubahan mikroemulsi menjadi bentuk makroemulsi. Beberapa peptida seperti protein menggunakan sistem mikroemulsi A/M sebagai pembawa. Contohnya adalah protein yang diformulasi dengan pembawa mikroemulsi A/M menggunakan lesitin sebagai surfaktan. Secara umum, mikroemulsi A/M juga digunakan sebagai pengobatan pada kondisi kulit kering dan sebagai *emollient* pada kulit. Mikroemulsi tipe A/M dapat diberikan melalui intravena sebagai *nutrien lipid* dengan pemilihan surfaktan dan kosurfaktan yang aman untuk pemberian parenteral<sup>(12)</sup>.

### 3. Mikroemulsi tipe III

Mikroemulsi *bicontinus* terjadi jika jumlah minyak dan air seimbang atau sama. Mikroemulsi tipe ini terdiri dari lapisan surfaktan yang memisahkan air dan minyak. Ketika mikroemulsi A/M berubah menjadi mikroemulsi M/A maka akan melewati mikroemulsi *bicontinus*. Mikroemulsi tipe ini menunjukkan sifat alir *non-newtonian* dan *plastis*. Mikroemulsi *bicontinus* digunakan sebagai sistem penghantaran obat pada sediaan topikal dan intravena<sup>(11)</sup>. Perbedaan ketiga tipe mikroemulsi dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Tipe mikroemulsi (a) mikroemulsi tipe M/A (b) mikroemulsi tipe A/M (c) mikroemulsi *bicontinus*<sup>(14)</sup>.

#### c. Karakteristik mikroemulsi

Sistem dispersi koloid yang bersifat *isotropic*, transparan dan stabil secara termodinamika diketahui sebagai suatu sistem mikroemulsi. Mikroemulsi dapat diformulasi dengan atau tanpa kosurfaktan. Tetapi, pada mikroemulsi yang berbasis lesitin penambahan kosurfaktan dibutuhkan agar terbentuk mikroemulsi yang stabil. Mikroemulsi berbeda dengan emulsi pada beberapa sifat seperti yang tertera pada tabel 1.

**Tabel 1.** Perbedaan mikroemulsi dan emulsi (makroemulsi)<sup>(15)</sup>

| Sifat                   | Mikroemulsi                               | Emulsi                                                   |
|-------------------------|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Penampilan              | Transparan                                | Keruh                                                    |
| <i>Optical isotropy</i> | Isotropik                                 | Anisotropik                                              |
| Tegangan permukaan      | Rendah                                    | Tinggi                                                   |
| Mikrostruktur           | Dinamik                                   | Statik                                                   |
| Ukuran droplet          | 20-200 nm                                 | > 500 nm                                                 |
| Stabilitas              | Stabil secara termodinamik                | Tidak stabil secara termodinamik (stabil secara kinetik) |
| Fase                    | Monofasik                                 | Bifasik                                                  |
| Pembuatan               | Pembuatan mudah dan biaya murah           | Membutuhkan masukan energi yang besar dan mahal          |
| Viskositas              | Viskositas rendah dengan aliran newtonian | Viskositas tinggi                                        |

Mikroemulsi memiliki film antarmuka yang fleksibel dengan ukuran diameter droplet kurang dari 200 nm membuat mikroemulsi transparan dan memiliki penampilan seperti larutan<sup>(12)</sup>. Karakterisasi dari sediaan mikroemulsi yang dihasilkan dapat dianalisis secara fisika. Metode pengukuran untuk mengidentifikasi bentuk globul dapat dilakukan menggunakan mikroskop elektron dengan ukuran globul pada mikroemulsi berkisar antara 10-100 nm, semakin kecil ukuran globul daya kelarutan obat semakin meningkat. Identifikasi sifat *rheologic* pada umumnya menggunakan viskometer Brookfield digital yang terdiri atas adaptor berukuran kecil (kecepatan rotasi *spindle* 0-100 rpm) dengan nomor *spindle* C-50. Penentuan nilai pH menggunakan alat pH meter yang sudah distandarisasi dengan *buffer* pada pH 4 dan 7 sebelumnya<sup>(15)</sup>. Evaluasi mikroemulsi lainnya yaitu uji organoleptis dan volume sedimentasi<sup>(16)</sup>.

#### d. Kelebihan dan manfaat mikroemulsi

Mikroemulsi merupakan suatu sistem penghantaran obat yang dapat meningkatkan *bioavailabilitas* obat yang kelarutan dalam airnya rendah (lipofilik) seperti *microcides*, *steroids*, dan hormon. Berbeda dengan sediaan oral, pada sediaan topikal mikroemulsi dapat meningkatkan kecepatan permeasi obat ke dalam kulit. Mikroemulsi banyak digunakan untuk sediaan farmasi maupun sediaan kosmetik. Beberapa kelebihan mikroemulsi antara lain lebih stabil secara termodinamika, jernih, transparan atau *translucent*, viskositasnya rendah sehingga memiliki nilai estetika tinggi yang dapat menarik minat konsumen dan penggunaannya oleh pasien bisa lebih diterima<sup>(2)</sup>. Selain oral dan topikal sediaan mikroemulsi dapat dibuat dalam bentuk *intradermal*, *okular*, *intramuskular* maupun *pulmonal*. Selain bermanfaat sebagai pembawa dalam penghantaran obat, potensi mikroemulsi lainnya sebagai pelumasan, *cutting oils*, penghambat korosi, *textile finishing*, pembawa bahan bakar, membran *liquid*, dan berbagai manfaat lainnya<sup>(11)</sup>.

#### e. Teori Pembentukan Mikroemulsi

Ada tiga pendekatan yang dapat digunakan untuk menjelaskan pembentukan dan stabilitas mikroemulsi antara lain teori film campuran atau antarmuka permukaan, teori *solubilisasi* dan *treatment* termodinamik. Energi bebas pembentukan mikroemulsi tergantung pada sejauh mana surfaktan menurunkan tegangan permukaan dari antarmuka minyak-air dan perubahan entropi dari sistem seperti pada persamaan berikut ini :

$$\Delta G_f = \gamma \Delta A - T \Delta S \dots \dots \dots (1)$$

$\Delta G_f$  merupakan energi bebas dari pembentukan mikroemulsi,  $\gamma$  merupakan tegangan permukaan dari antarmuka minyak-air,  $\Delta A$  adalah perubahan daerah antarmuka pada pembentukan mikroemulsi dan  $\Delta S$  adalah perubahan pada *entropy* dari sistem, sedangkan T adalah suhu<sup>(14)</sup>.

## f. Formulasi Mikroemulsi

### 1) Fase minyak

Pemilihan fase minyak harus disesuaikan dengan komposisi lainnya dalam mikroemulsi. Dua faktor utama yang harus dipertimbangkan sebelum pemilihan fase minyak adalah kelarutan obat dalam fase minyak dan pemilihan fase minyak yang dapat meningkatkan daerah pembentukan mikroemulsi. Minyak dengan rantai hidrokarbon pendek lebih mudah untuk membentuk mikroemulsi dibandingkan dengan rantai hidrokarbon panjang<sup>(12)</sup>. Fase minyak dapat berupa rantai asam lemak jenuh maupun tak jenuh yang dapat meningkatkan penetrasi berbagai obat seperti *naloxone*, *hydrocortisone*, *estradiol* dan *peptida*. Komponen lain yang digunakan sebagai fase minyak dan dapat meningkatkan permeasi adalah isopropil miristat (IPM), isopropil palmitat, triacetin, isostearyl isostearat, mygliol 812<sup>(5)</sup>.

### 2) Surfaktan

Surfaktan merupakan suatu senyawa aktif permukaan yang digunakan dalam berbagai aplikasi ketika berada pada kondisi yang sesuai diantaranya melarutkan senyawa yang memiliki kelarutan sangat rendah dalam air (lipofilik). Sebaliknya, surfaktan dapat meningkatkan kelarutan air dan senyawa polar lainnya dalam senyawa hidrokarbon dan cairan lain yang memiliki polaritas rendah. Fenomena ini terjadi dengan melibatkan penggabungan zat terlarut dengan agregat dari molekul surfaktan yang lebih dikenal sebagai proses *solubilisasi*. Molekul surfaktan didefinisikan sebagai senyawa dengan gugus polar seperti ion atau rantai etilena oksida dan senyawa non polar seperti hidrokarbon atau rantai fluorocarbon. Penambahan surfaktan dalam air, biasanya terjadi agregasi pada konsentrasi yang cukup rendah untuk meminimalkan area kontak antara kelompok non polar dengan air<sup>(17)</sup>.

Penambahan surfaktan dalam larutan akan menyebabkan penurunan tegangan permukaan larutan. Setelah mencapai konsentrasi tertentu, tegangan permukaan akan konstan walaupun konsentrasi surfaktan ditingkatkan. Bila surfaktan ditambahkan melebihi konsentrasi ini maka surfaktan mengagregasi membentuk misel dengan inti hidrofobik dan hidrofilik pada permukaannya. Inti hidrofobik meningkatkan jebakan obat sehingga, meningkatkan kelarutan obat

Konsentrasiterbentuknya misel disebut *Critical Micelle Concentration* (CMC). Teganganpermukaan akan menurun hingga CMC tercapai. Setelah CMC tercapai, tegangan permukaan akan konstan yang menunjukkan bahwa antar muka menjadi jenuh dan terbentuk misel yang berada dalam keseimbangan dinamis dengan monomernya<sup>(6)</sup>. Surfaktan dalam larutan dibawah CMC meningkatkan kelarutan obat dengan menyediakan wilayah untuk obat hidrofobik berinteraksi dalam larutan. Lokasi yang mendominasi kelarutan obat tergantung pada kelarutan dalam minyak atau *hydrophobicity* dan interaksi dengan surfaktan atau kosurfaktan<sup>(17)</sup>.

Surfaktan memiliki dua sifat kelarutan yaitu hidrofilik dan hidrofobik yang dikarakterisasi dengan nilai keseimbangan hidrofil-lipofil (HLB). Surfaktan dengan nilai HLB lebih dari 10 lebih cenderung pada daerah hidrofilik untuk tipe M/A. Sedangkan jika nilai HLB kurang dari 10 cenderung pada daerah lipofilik untuk tipe A/M<sup>(6)</sup>.

Klasifikasi surfaktan berdasarkan muatannya dibagi menjadi empat golongan yaitu:

1. Surfaktan anionik yaitu surfaktan yang bagian alkilnya terikat pada suatu anion. Contohnya adalah garam alkana sulfonat, garam olefin sulfonat, garam sulfonat asam lemak rantai panjang.
2. Surfaktan kationik yaitu surfaktan yang bagian alkilnya terikat pada suatu kation. Contohnya garam alkil trimetil ammonium, garam dialkil-dimethyl ammonium dan garam alkil dimethyl benzil ammonium.
3. Surfaktan nonionik yaitu surfaktan yang bagian alkilnya tidak bermuatan. Contohnya ester gliserin asam lemak, ester sorbitan asam lemak, ester sukrosa asam lemak, polietilena alkil amina, glukamina, alkil poliglukosida, mono alkanol amina, dialkanol amina dan alkil amina oksida.
4. Surfaktan amfoter yaitu surfaktan yang bagian alkilnya mempunyai muatan positif dan negatif. Contohnya surfaktan yang mengandung asam amino, *betain*, *fosfobetain*<sup>(6)</sup>.

Sebagian besar surfaktan mampu berperan dalam *solubilisasi*. Surfaktan yang dipergunakan untuk membuat sediaan farmasi dan kosmetika untuk pemakaian luar harus secara farmakologis non-agresif dan non-toksik pada kulit.

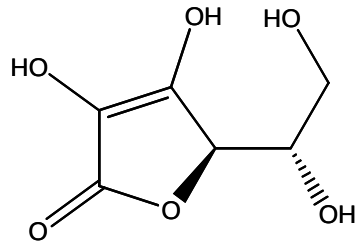
Oleh karena alasan tersebut maka di dalam banyak penelitian digunakan surfaktan dari golongan non-ionik yang tidak toksik<sup>(6)</sup>.

**Tabel II. Klasifikasi Surfaktan<sup>(6)</sup>**

| Type                | Contoh                                                                                                                               |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Anionic</i>      | <i>Alcohol ether sulfates<br/>Alkyl sulfates<br/>Soap<br/>Sulfosuccinates</i>                                                        |
| <i>Cationic</i>     | <i>Quaternary ammonium compound<br/>Alkyl betaine derivatives</i>                                                                    |
| <i>Zwitterionic</i> | <i>Fatty amine sulfates</i>                                                                                                          |
| <i>Amphoteric</i>   | <i>Difatty alkyl triethanolamine derivatives<br/>Lanolin alcohol<br/>Polyoxyethylated (POE) alkyl phenol</i>                         |
| <i>Non-ionic</i>    | <i>POE fatty amine<br/>POE alcohol ether<br/>POE ester<br/>Poloxamer<br/>POE glycol monoether<br/>Polysorbate<br/>Sorbitan ester</i> |

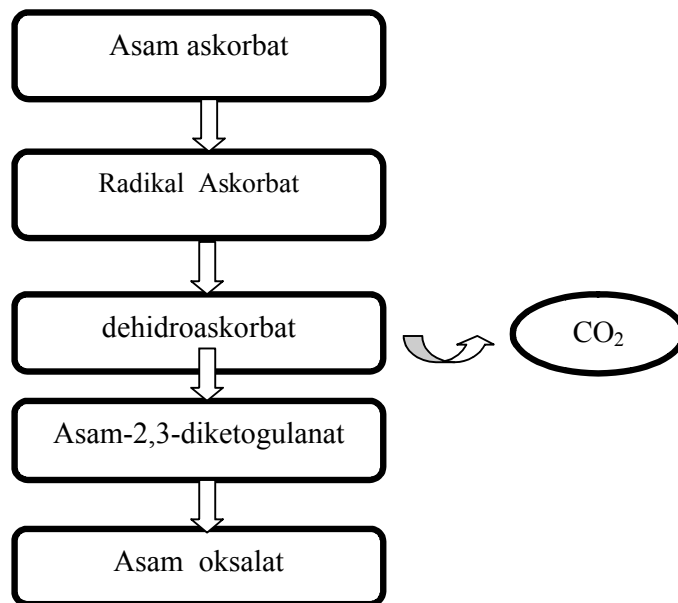
## 2. Vitamin C ( Asam askorbat)

Asam Askorbat adalah bentuk  $\beta$ -laktone dari asam 2-keto-L-gulonate yang ada dalam bentuk enol. Gugus endiolnya menyebabkan senyawa ini mempunyai kemampuan reduksi yang kuat, sedangkan sifat asamnya ditentukan oleh gugus hidroksil pada C3. Vitamin C dalam bentuk kristalnya stabil terhadap oksigen udara, akan tetapi dalam larutan oleh oksidator akan cepat diuraikan menjadi asam oksalat. Basa dan logam berat terutama ion tembaga akan mempercepat proses ini. Asam askorbat terdapat dalam seluruh sel makhluk hidup yang terutama kaya akan vitamin C adalah buah segar (tomat, pepaya, jeruk, sitrun)<sup>(19)</sup>. Vitamin C palmitat merupakan suatu senyawa yang dihasilkan dari proses esterifikasi vitamin C dengan asam palmitat<sup>(3)</sup>. Struktur kimia vitamin C dan vitamin C palmitat ditunjukkan pada Gambar 2.



**Gambar 2:** struktur kimia vitamin C<sup>(20)</sup>.

Vitamin C merupakan salah satu antioksidan penting untuk kulit. Dipasaran vitamin C telah banyak digunakan baik sebagai produk kosmetik maupun *dermatologi* setelah diketahui memiliki efek yang bermanfaat untuk kulit. Penggunaan vitamin C secara topikal dapat meningkatkan garis halus (*fine line*), mengurangi pigmentasi dan peradangan<sup>(21)</sup>. Vitamin C merupakan agen pereduksi dengan cara bertindak sebagai *scavenge* dan merusak secara agresif agen pengoksidasi dan radikal<sup>(22,23,24)</sup>. Vitamin C merupakan senyawa yang tidak stabil dan mudah teroksidasi oleh adanya oksigen, cahaya dan kelembaban<sup>(3)</sup>. Proses penguraian vitamin C seperti pada gambar 3.



**Gambar 3:** Skema proses penguraian vitamin C<sup>(22)</sup>.

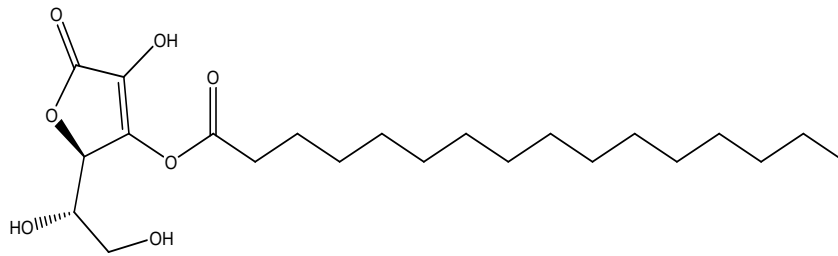
Hingga saat ini, penggunaan vitamin C sebagai kosmetik lebih dikenal dalam bentuk sediaan oral atau parenteral. Untuk memperoleh kosentrasi

optimal vitamin C dikulit tanpa menimbulkan rasa sakit dan efek samping, sediaan topikal dapat digunakan sebagai solusinya, namun perkembangan formulasi sediaan topikal vitamin C mengalami kesulitan. Karena vitamin C merupakan molekul yang tidak stabil dan mudah teroksidasi menjadi *asam dehidroaskorbat*<sup>(22)</sup>. Beberapa derivat vitamin C telah diteliti, namun derivat tersebut pertama harus diabsorpsi ke dalam kulit kemudian diubah menjadi vitamin C. Stabilitas dan penetrasi vitamin C palmitat ke kulit telah diteliti oleh beberapa peneliti. Peneliti menyatakan beberapa kondisi yang mempengaruhi stabilitas vitamin C dalam formula antara lain pH dan konsentrasi elektrolit. Mekanisme penetrasi dari molekul yang sangat hidrofilik juga telah diungkapkan dan kemampuan difusi, koefisien partisi serta kelarutan vitamin C pada stratum corneum telah dikaitkan dengan permeasi ke kulit<sup>(8)</sup>. Vitamin C palmitat pertama dilepaskan dari sistem pembawa pada permukaan kulit, kemudian berpenetrasi melewati stratum korneum menuju lapisan kulit dalam dan terakhir vitamin C palmitat bertindak sebagai *scavenge* radikal bebas<sup>(3)</sup>.

### 3. Monografi Bahan

#### a. Vitamin C palmitat

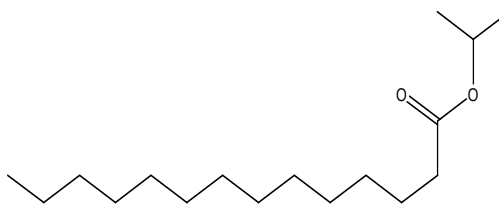
Rumus molekul :  $C_{22}H_{38}O_7$ , Sinonim : *L-Ascorbic acid 6-palmitat*, *Ascorbylis palmitas*; *E304*; *3-oxo-L-gulofuranolactone 6-palmitate*; *vitamin C palmitate*. Vitamin C palmitat adalah serbuk berwarna putih-kekuningan dan praktis tidak berbau. Vitamin C palmitat dapat digunakan baik untuk sediaan oral atau topikal yang berfungsi sebagai antioksidan pada obat yang tidak stabil terhadap oksigen. Kelarutan vitamin C palmitat dalam alkohol diizinkan untuk digunakan pada sistem *Aqueous* dan *non- aqueous* serta emulsi. Kelarutan praktis tidak larut dalam air, 1 larut dalam 9,3 bagian etanol 95%, 1 larut dalam 5,5 bagian metanol dan larut dalam 135 bagian eter. Vitamin C palmitat stabil dalam keadaan kering, tetapi secara bertahap teroksidasi menjadi berubah warna bila terkena cahaya dan kelembaban tinggi. Dalam wadah belum dibuka, disimpan di tempat dingin, vitamin C palmitat memiliki waktu paruh paling sedikit 12 bulan. Selama proses, suhu lebih tinggi dari 65°C harus dihindari. Material bulk harus disimpan dalam wadah kedap udara pada suhu 8-15°C, terlindung dari cahaya<sup>(20)</sup>. Rumus struktur vitamin C palmitat ditampilkan pada Gambar 4.



**Gambar 4 :** Struktur molekul vitamin C palmitat<sup>(20)</sup>.

b. Isopropil miristat

Rumus molekul:  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOCH}(\text{CH}_3)_2$ , sinonim: *myristic acid isopropyl ester*, *tetradecanoic ester*, *1-methylethyl eter*, Pemerian: transparan, tidak berwarna, hampir tidak berbau, cairan encer dengan rasa lemah, terdiri dari ester isopropil alkohol, asam lemak jenuh, BM tinggi yaitu 270,45 dengan rantai utama asam miristat. Kelarutan larut dalam aseton, kloroform, etanol 95%, etil asetat, lemak, cairan hidrokarbon. Tidak larut dalam air, gliserin, dan propilen glikol. Memiliki viskositas 5-7 Cp pada suhu  $25^\circ\text{C}$ , pada titik lebur  $153,5^\circ\text{C}$ . *Inkompatibilitas* dengan parafin keras menghasilkan campuran granular dan agen oksidator kuat. Kegunaan sebagai fase minyak, pelarut dan emolient. Keamanan studi toksisitas akut menunjukkan ketoksikan yang sangat lemah. Isopropil miristat lebih bisa ditoleransi daripada sesami dan minyak zaitun. Penyimpanan dalam wadah tertutup rapat dengan temperatur terkendali<sup>(25)</sup>. Struktur kimia Isopropyl myristat ditampilkan pada Gambar 5.

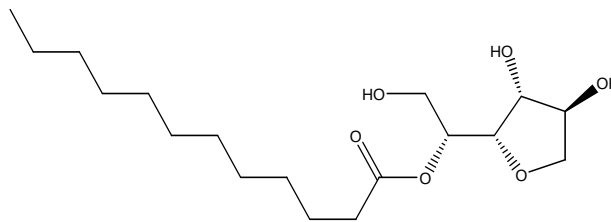


**Gambar 5:** Struktur molekul isopropyl miristat<sup>(25)</sup>.

c. Tween 20 ( Polisorbat 20 )

Rumus molekul :  $\text{C}_{58}\text{H}_{114}\text{O}_{26}$ , sinonim : *Armotan PML 20*, *Capmul POE-L*, *Campul POE-L Low PV*, *Crillet 1*, *Drewmulse*. Polisorbat 20 adalah cairan berwarna kuning yang larut air, berbau khas, hangat, dan rasa agak pahit. Tween

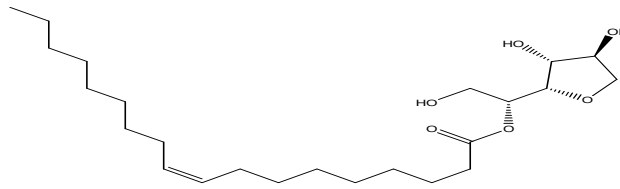
20 mengalami perubahan warna dan pengendapan jika bereaksi dengan fenol, tanin dan *tars*. Bagian hidrofilik terdiri dari polieter yang dikenal dengan *polyoxyethilen* yang merupakan polimer dari *ethylen oxide*. Polisorbat merupakan bagian *lipofil* yang terdiri dari asam oleat. Kelarutan : sangat larut dalam air dan larut dalam etanol. Viskositas 400 mPas pada suhu 25<sup>0</sup>C, HLB 16,7<sup>(26)</sup>. Rumus struktur Tween 20 ditampilkan pada Gambar 6.



**Gambar 6** : Struktur molekul tween 20<sup>(26)</sup>.

d. Span80 (*Sorbitan Monolaurat*)

Rumus molekul : C<sub>24</sub>H<sub>44</sub>O<sub>6</sub>, sinonim : *Ablunol S-80*, *Arlacel 80*, *Armotan MO*. Ester sorbitan banyak digunakan dalam kosmetik, produk makanan, dan formulasi farmasi sebagai surfaktan nonionik lipofilik. Dalam formulasi farmasi, Span 80 terutama digunakan sebagai agen pengemulsi dalam pembuatan krim, emulsi, salep untuk aplikasi topikal dan secara umum merupakan agen yang tidak mengiritasi dan tidak toksik. Span 80 adalah cairan kental berwarna kuning dan berbau khas. Kelarutan : umumnya larut atau terdispersi dalam minyak dan larut dalam pelarut organik. Dalam air, meskipun tidak larut, tetapi umumnya terdispersi. Span 20 memiliki berat jenis : 1,01 g/cm<sup>3</sup>, HLB : 4,3, viskositas : 970-1080 mPas pada suhu 25<sup>0</sup>C. Ester sorbitan stabil dalam asam lemah atau basa dan harus disimpan dalam wadah tertutup baik dalam tempat yang kering<sup>(27)</sup>. Rumus struktur Span 80 ditampilkan pada Gambar 7.



**Gambar 7.** Struktur molekul span 80<sup>(27)</sup>.

e. Aquades

Aquadestilata adalah air yang sudah dimurnikan yang diperoleh dengan destilata. Memiliki rumus struktur  $H_2O$ . Berat molekul 18, diperoleh dengan menggunakan penukar ion, osmosis balik, atau proses lain yang sesuai. Dibuat dari air yang memenuhi persyaratan air minum. Tidak mengandung zat tambahan. Pemerian cairan jernih, tidak berwarna, tidak berbau, pH antara 5,0 dan 7,0. Wadah dan penyimpanan dalam wadah tertutup rapat<sup>(28)</sup>.

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

HPLC dikembangkan pada akhir tahun 1960-an dan awal tahun 1970-an. Penggunaan HPLC secara umum adalah untuk pemisahan sejumlah senyawa organik, anorganik maupun senyawa biologis; analisis ketidakmurnian (*impurities*); analisis senyawa-senyawa tidak mudah menguap (*non-volatile*); penentuan molekul-molekul netral ionik, maupun *zwitter ion* ; isolasi dan pemurnian senyawa, pemisahan senyawa-senyawa yang strukturnya hampir sama; pemisahan senyawa-senyawa dalam jumlah sekelumit (*trace elements*); dalam jumlah banyak dan dalam skala proses industri. HPLC merupakan metode yang tidak destruktif dan dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif<sup>(29)</sup>.

HPLC paling sering digunakan untuk menetapkan kadar senyawa-senyawa tertentu seperti asam-asam amino, asam-asam nukleat dan protein-protein dalam cairan fisiologis; menentukan senyawa-senyawa aktif obat, produk hasil samping proses sintesis atau produk-produk degradasi dalam sediaan farmasi. Kelemahan metode HPLC antara lain untuk identifikasi senyawa, kecuali HPLC dihubungkan dengan spektrometer massa dan jika sampelnya sangat kompleks maka resolusi yang baik sulit diperoleh. Metode HPLC merupakan

metode yang sangat populer untuk menetapkan kadar senyawa obat baik dalam bentuk sediaan atau dalam sampel hayati. Hal ini disebabkan karena HPLC merupakan metode yang memberikan sensitifitas dan spesifisitas yang tinggi<sup>(29)</sup>.

Instrumentasi HPLC pada dasarnya terdiri dari 8 komponen pokok yaitu :

- a. Wadah fase Gerak
- b. Sistem penghantaran fase gerak
- c. Fase diam
- d. Detektor
- e. Wadah penampung buangan fase gerak
- f. Tabung penghubung
- g. Suatu komputer atau integrator atau perekam

Fase gerak *eluen* biasanya terdiri atas campuran pelarut yang dapat bercampur yang secara keseluruhan berperan dalam daya *elusi* dan *resolusi*. Daya *elusi* dan *resolusi* ini ditentukan oleh polaritas keseluruhan pelarut, polaritas fase diam dan sifat komponen-komponen sampel. Untuk fase normal (fase diam lebih polar daripada fase gerak). Kemampuan elusi meningkat dengan meningkatnya polaritas pelarut. Sementara untuk fase terbalik (fase diam kurang polar daripada fase gerak), kemampuan *elusi* menurun dengan meningkatnya polaritas pelarut. *Elusi* dapat dilakukan dengan cara *isokratik* (komposisi fase gerak tetap selama *elusi*) atau dengan cara *bergradien* (komposisi fase gerak berubah ubah selama *elusi*). *Elusi* gradien digunakan untuk meningkatkan resolusi campuran yang kompleks terutama jika sampel mempunyai kisaran polaritas yang luas<sup>(29)</sup>.

Fase gerak yang paling sering digunakan untuk pemisahan dengan fase terbalik adalah campuran larutan *buffer* dengan metanol atau campuran air dengan asetonitril. Untuk pemisahan dengan fase normal, fase gerak yang paling sering digunakan adalah campuran pelarut-pelarut hidrokarbon dengan pelarut yang terklorisasi atau menggunakan pelarut-pelarut jenis alkohol. Pemisahan dengan fase normal ini kurang umum dibanding dengan fase terbalik<sup>(29)</sup>.

Oktadesil silika (ODS atau C<sub>18</sub>) merupakan fase diam yang paling banyak digunakan karena mampu memisahkan senyawa-senyawa dengan kepolaran yang rendah, sedang, maupun tinggi. Oktal atau rantai alkil yang lebih pendek lagi lebih sesuai untuk *soluty* yang polar. Hampir semua jenis campuran

*solut* dapat dipisahkan dengan HPLC karena banyaknya fase diam yang tersedia dan selektifitas yang dapat ditingkatkan dengan mengatur fase gerak. Pemisahan dapat dilakukan dengan fase normal atau fase terbalik tergantung pada polaritas relatif fase diam dan fase gerak. Jenis-jenis HPLC berdasarkan mekanisme *sorpsi* *solut* antara lain : kromatografi adsorpsi, partisi, penukar ion dan eksklusi ukuran (kromatografi permiasi gel) <sup>(29)</sup>.

## B. Landasan Teori

Vitamin C palmitat merupakan senyawa antioksidan yang bersifat lipofilik dan mudah teroksidasi oleh adanya oksigen dan cahaya. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa stabilitas sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat dipengaruhi oleh tipe mikroemulsi. Tipe mikroemulsi A/M dipilih sebagai sistem pembawa karena reaksi oksidasi menyerang cincin siklik dari vitamin C palmitat yang sangat sensitif terhadap oksidasi dan cenderung pada fase air, sehingga jumlah fase air yang sedikit dapat meminimalisir terjadinya reaksi oksidasi dari vitamin C palmitat. Faktor lain yang mempengaruhi stabilitas mikroemulsi adalah konsentrasi awal vitamin C palmitat. Mikroemulsi tipe A/M memberikan stabilitas yang baik pada konsentrasi awal vitamin C palmitat sebesar 2%<sup>(1)</sup>.

Dua faktor utama pemilihan surfaktan nonionik antara lain memiliki penampilan yang baik yaitu berwarna kuning jernih, transparan, homogen serta tidak membutuhkan adanya kosurfaktan<sup>(12)</sup>. Penggunaan kosurfaktan yang berupa alkohol rantai pendek atau sedang tidak sesuai untuk sediaan topikal karena dapat menyebabkan iritasi kulit. Kosurfaktan juga dapat menyebabkan rusaknya mikroemulsi akibat *dilution* karena kosurfaktan mengalami *partisi* keluar dari antarmuka masuk kedalam fase luar. Cho *et al*, menyatakan bahwa mikroemulsi tipe M/A tanpa kosurfaktan dapat diformulasi dengan menggunakan kombinasi surfaktan nonionik seperti penggunaan surfaktan hidrofobik (span 20, 40, 60 dan 80) dan surfaktan hidrofilik (tween 20, 40, 60, dan 80)<sup>(4)</sup>.

Surfaktan nonionik seperti tween 20 dan span 80 merupakan surfaktan yang memiliki toksisitas minimal dan tidak menyebabkan iritasi serta telah

banyak digunakan dalam produk makanan, kosmetik maupun farmasi<sup>(5)</sup>. Li *et al*, menyatakan bahwa kombinasi surfaktan nonionik dapat menyebabkan terbentuknya mikroemulsi yang bersifat *self-emulsifying* dengan ukuran partikel yang kecil (10-11 nm), meningkatkan stabilitas fisik berupa tidak adanya perubahan ukuran partikel yang signifikan selama penyimpanan dan meningkatkan kelarutan senyawa bioaktif<sup>(6)</sup>. Penelitian sebelumnya juga menyatakan bahwa mikroemulsi dengan kombinasi tween 20 dan span 80 tidak mengalami perubahan penampilan yang signifikan selama penyimpanan yaitu mikroemulsi tetap stabil dan jernih<sup>(4)</sup>. Surfaktan nonionik juga dapat menjaga stabilitas kimia sediaan mikroemulsi karena sifatnya yang tidak dipengaruhi oleh adanya perubahan muatan dan pH, sehingga dapat meminimalisir terjadinya ketidakseimbangan sistem mikroemulsi dan pH sediaan tetap stabil<sup>(7)</sup>. Beberapa kondisi yang mempengaruhi stabilitas vitamin C adalah pH dan konsentrasi elektrolit, sehingga dengan pH yang stabil dapat menjaga stabilitas vitamin C<sup>(8)</sup>. Faktor lainnya yaitu tween 20 diketahui efektif meningkatkan daerah sistem mikroemulsi<sup>(9)</sup>.

### C. Hipotesa

Sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat tipe A/M dengan kombinasi tween 20 dan span 80 memiliki stabilitas fisik yang baik berupa penampilan yang berwarna kuning jernih, homogen, viskositas rendah dengan ukuran partikel yang kecil dan pH sediaan mikroemulsi yang stabil, sehingga dapat menjaga stabilitas vitamin C palmitat.

### BAB III

#### METODE PENELITIAN

##### A. Alat dan Bahan

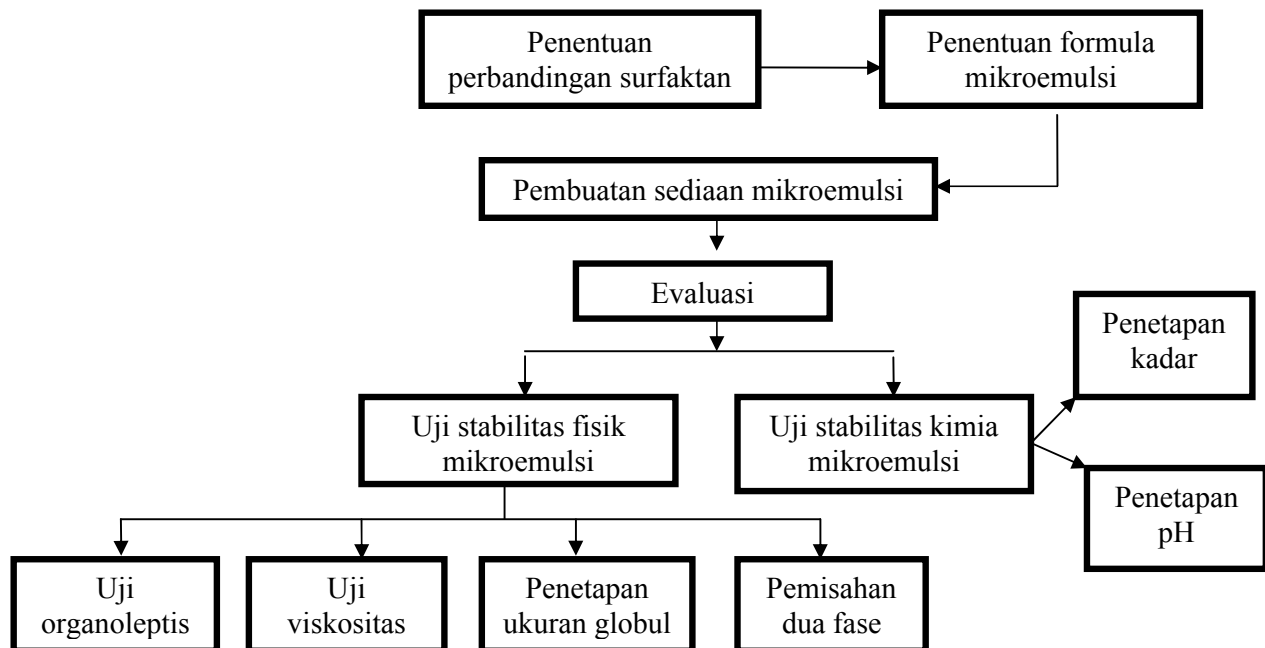
###### 1. Bahan

Vitamin C palmitat (Sigma aldrich) sebagai zat aktif, span 80, isopropil miristat, tween 20, asetonitril, metanol, asam fosfat, kalium hidroksida, natrium hidroksida, *aquabidest*. Semua bahan yang digunakan berkualitas pro analisis yang berasal dari Merck kecuali span 80 dan *aquabidest* berkualitas farmasetis.

###### 2. Alat

Homogenizer (Ultra turrak®), neraca analitik (Metler toledo® tipe PL303), *hot plate* (Heidolph® Mr 3001K), viskometer Brookfield (DV-I Prime®), mikroskop elektrik (Olympus®), pH meter (Metler toledo®), magnetic stirrer, ultrasonifikasi (Branson 5510®), seperangkat alat HPLC yang dilengkapi dengan detektor spektrofotometer UV (Shimadzu®), kolom Bondolone C18 ukuran 300 x 3,90 mm.

##### B. Sistematika Cara Kerja



**Gambar 8.** Skema sistematika cara kerja.**C. Jalannya Penelitian**

20

**1. Penentuan Perbandingan Surfaktan dan Formula**

Penentuan perbandingan Span 80 dan Tween 20 dimulai dari perbandingan 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 dan kemudian dari formula tersebut dipilih formula yang masih membentuk sistem mikroemulsi yang homogen, jernih dan transparan untuk dievaluasi stabilitas fisik dan kimia sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat. Jumlah minyak yang digunakan dalam penentuan jumlah surfaktan ini tetap.

**2. Penentuan Formula Sediaan Mikroemulsi Vitamin C Palmitat**

Penentuan konsentration masing-masing bahan yang digunakan dalam tiap formula sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat, setelah diperoleh perbandingan surfaktan dan jumlah minyak tetap yang masih dapat menghasilkan mikroemulsi tipe A/M yang homogen, jernih dan transparan.

**3. Formula Mikroemulsi Vitamin C Palmitat**

Fase air yang digunakan pada sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat adalah dapar fosfat 0,2 M pada pH 6,5 yaitu dengan melarutkan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,2 M dengan air sampai volume yang diinginkan dan ditambahkan larutan NaOH 0,2 M sedikit demi sedikit hingga pH 6,5.

**Tabel III.** Rancangan formula sediaan mikroemulsi

| <b>Bahan % b/v *</b> | <b>F1</b> | <b>F2</b> | <b>F3</b> |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|
| Vitamin C palmitat   | 2         | 2         | 2         |
| Isopropil miristat   | 30,3      | 30,3      | 30,3      |
| Span 80              | 20,2      | 15,15     | 12,12     |
| Tween 20             | 40,4      | 45,45     | 48,48     |
| Dapar fosfat         | 9,1       | 9,1       | 9,1       |

Keterangan :

F1 = Sediaan mikroemulsi dengan perbandingan 1 : 2 (span 80 : tween 20)

F2 = Sediaan mikroemulsi dengan perbandingan 1 : 3 (span 80 : tween 20)

F3 = Sediaan mikroemulsi dengan perbandingan 1 : 4 (span 80 : tween 20)

\* = satuan b/v (gram/100ml)

#### 4. Pembuatan Sediaan Mikroemulsi

Pembuatan mikroemulsi vitamin C palmitat terdiri dari dua fase yaitu fase minyak dan fase air. Komponen Fase minyak meliputi IPM, span 80 dan komponen fase air meliputi dapar fosfat dan tween 20. Kedua fase dicampur dan dipanaskan pada magnetic heater stirrer hingga suhu 50°C. Kemudian didinginkan hingga suhu kamar ( $\pm 25^\circ\text{C}$ ). Vitamin C palmitat ditambahkan pada fase minyak dan diaduk hingga homogen. Fase minyak dan air dicampur menggunakan homogenizer selama 10 menit. Kemudian diultrasonifikasi selama 75 menit dan terbentuk mikroemulasi yang jernih, transparan dan homogen.

#### 5. Evaluasi sifat fisik dan kimia sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat

Uji sifat fisik dan kimia mikroemulsi vitamin C palmitat dilakukan setelah sediaan dibuat atau sebelum sediaan mengalami penyimpanan yang digunakan sebagai kontrol kualitas dari sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat. Uji sifat fisik meliputi uji organoleptis, viskositas, pemisahan dua fase dan penetapan ukuran globul. Uji sifat kimia meliputi penetapan kadar dan pH sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat.

##### A. Uji sifat fisik

##### a. Penentuan Ukuran Globul Mikroemulsi

Penentuan ukuran globul mikroemulsi dilakukan dengan menggunakan metode mikroskopi yaitu pengukuran ukuran partikel menggunakan mikroskop dengan ukuran partikel kurang dari  $0,1\ \mu\text{m}$  pada masing-masing formula sediaan mikroemulsi<sup>(30)</sup>. Penentuan ukuran globul dilakukan dengan cara sediaan ditetaskan pada kaca preparat kemudian dimiringkan ke kanan dan ke kiri untuk meratakan sediaan pada kaca preparat dan dicari ukuran globul yang kurang dari  $0,1\ \mu\text{m}$  dengan mengatur perbesarannya. Mikroemulsi yang baik adalah mikroemulsi dengan ukuran partikel berada pada kisaran  $0,01\text{-}0,1\ \mu\text{m}$  ( $10\text{-}100\ \text{nm}$ ).

##### b. Viskositas

Sediaan mikroemulsi yang sudah dibuat ditentukan viskositasnya dengan menggunakan viskometer Brookfield. Sediaan mikroemulsi diletakkan dalam

gelas beaker selanjutnya dicari nomor rotor yang sesuai, setelah rotor di pasang pada tempatnya lalu atur *speed* (rpm) dan dicari presentase kecepatan berputarnya rotor yang paling stabil dan catat nilai viskositas yang tertera<sup>(30)</sup>. Spindle yang digunakan adalah nomor 61 dengan kecepatan 50 rpm.

c. Uji pemisahan dua fase

Mikroemulsi dimasukkan kedalam gelas ukur 100 ml, ditutup dengan kertas aluminium foil, kemudian diamati adanya pemisahan fase selama 4 minggu dan diamati tiap minggu<sup>(15)</sup>. Mikroemulsi yang baik adalah mikroemulsi yang tidak menunjukkan adanya pemisahan fase selama penyimpanan.

d. Uji organoleptis

Sediaan mikroemulsi diamati secara visual kondisi awal sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat meliputi bentuk, warna, bau dan homogenitas. Mikroemulsi yang baik adalah mikroemulsi yang tidak mengalami perubahan warna, bau dan homogenitas selama penyimpanan<sup>(30)</sup>.

## B. Uji sifat kimia

### 1. Penetapan Kadar Vitamin C Palmitat Sediaan Mikroemulsi

a. Pembuatan fase gerak

Fase gerak yang digunakan adalah metanol : asetonitril : larutan dapar fosfat 0,02 M pada PH 2,5 (75:10:15). Larutan dapar fosfat dibuat dengan melarutkan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,02 M dengan air sampai volume yang diinginkan dan ditambahkan larutan asam fosfat sedikit demi sedikit hingga pH 2,5, kemudian semua komponen fase gerak dicampur dan disaring menggunakan kertas saring.

b. Pembuatan kurva baku

Seri kadar yang digunakan pada penetapan kurva baku adalah 600, 300, 100, 40, 10, 8 dan 4 ppm. Sampel (larutan standar) diambil 0,1 ml dan dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 10 ml hingga tanda batas, kemudian sampel dicampur hingga homogen menggunakan ultrasonifikasi selama 5 menit.

c. Verifikasi metode

1) Penetapan presisi (ketepatan)

Pada penetapan presisi digunakan 3 seri kadar yaitu 300, 40 dan 4 ppm. Sampel (larutan standar) dibaca menggunakan HPLC dengan 6 kali repitasi,

kemudian ditentukan nilai koefisien variasi (CV) dan standar deviasinya (SD) dan dibandingkan dengan ketentuan RSD atau CV yang dapat diterima.

## 2) Penetapan akurasi (kecermatan)

Pada penetapan akurasi digunakan 3 seri kadar yaitu 300, 40 dan 8 ppm. Metode yang digunakan pada penetapan akurasi adalah metode simulasi atau *spike-placebo recovery*. Pada metode simulasi, larutan standar (vitamin C palmitat murni) ditambahkan ke dalam plasebo (sediaan tanpa zat aktif), kemudian campuran dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar larutan standar yang ditambahkan (kadar analit sebenarnya)<sup>(32)</sup>.

## 3) Penetapan linieritas (r), LOD dan LOQ

Seri kadar yang digunakan adalah 600, 300, 100, 40, 8 dan 4 ppm. Setelah dilakukan penetapan kurva baku maka diperoleh nilai linearitas dan dapat dihitung nilai LOD dan LOQ.

## 4) Preparasi sampel

Sampel yang digunakan adalah mikroemulsi vitamin C palmitat. Sebanyak 0,1 ml sampel dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 10 ml hingga tanda batas (pengenceran 100x), kemudian dicampur sampai homogen menggunakan ultrasonifikasi selama 5 menit.

## 5) Penetapan kadar

Penetapan kadar vitamin C palmitat menggunakan HPLC dengan fase diam adalah kolom Bondolone 10  $\mu$  C18 ukuran 300 x 3,90 mm ; fase gerak menggunakan metanol : asetonitril : larutan dapar fosfat 0,02 M pada PH 2,5 (75:10:15), volume injeksi 20  $\mu$ l dan kecepatan alir 0,5 ml/menit. Vitamin C palmitat dideteksi menggunakan detektor spektrofotometer UV pada panjang gelombang 254 nm<sup>(1)</sup>.

## 2. Uji pH

Alat yang digunakan adalah pH meter. Uji dilakukan dengan cara memindahkan secukupnya sediaan mikroemulsi ke dalam *cup* yang akan dicelupkan pH meter. Kemudian dapat langsung dilihat nilai pH yang tertera pada pH meter. Sebelum dan sesudah menggunakan pH meter perlu dilakukan kalibrasi pH pada pH meter yaitu dengan cara elektroda dicuci dan dibilas dengan aquades,

lalu keringkan menggunakan tisu. Kalibrasi alat menggunakan larutan dapar standar pH 4 dan pH 7<sup>(30)</sup>.

### C. Uji stabilitas sediaan mikroemulsi

Uji stabilitas fisik (organoleptis, viskositas, pemisahan dua fase, ukuran globul) dan kimia (penetapan kadar dan pH) setelah perlakuan dilakukan pada 2 kondisi penyimpanan yang berbeda yaitu pada suhu 25°C yang disimpan pada *climatic chamber* dan pada suhu 40°C yang disimpan pada oven selama 4 minggu penyimpanan dan diamati tiap minggu kecuali pada penetapan kadar yang diamati pada hari 1, 2, 7, 14, 28. Cara kerja uji stabilitas fisik dan kimia sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat setelah perlakuan sama dengan uji sifat fisik dan kimia (sebelum perlakuan).

### D. Analisis Hasil

#### 1. Pendekatan secara statistik

Data yang diperoleh pada uji viskositas dan pH antar formula sebelum perlakuan dianalisis menggunakan uji statistik ANOVA satu arah. Data yang tidak terdistribusi normal akan dilanjutkan dengan uji nonparametrik yaitu uji Kruskal-Wallis, sedangkan uji stabilitas sediaan yaitu uji viskositas dan pH setelah perlakuan pada minggu ke-1 dibandingkan dengan minggu ke-4 tiap formula dan dianalisis menggunakan uji statistik *paired-t test*. Data yang tidak terdistribusi normal akan dilanjutkan dengan uji nonparametrik yaitu uji Wilcoxon. Kedua uji statistik menggunakan taraf kepercayaan 95%.

#### 2. Pendekatan secara teoritik

Data yang diperoleh pada uji organoleptis, ukuran globul, pemisahan dua fase dan penetapan kadar dianalisis secara deskriptif.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 1. Penentuan perbandingan surfaktan dalam formula mikroemulsi

Sebelum dilakukan percobaan utama, terlebih dahulu dilakukan percobaan pendahuluan yang bertujuan untuk menentukan komposisi bahan yang digunakan pada sediaan mikroemulsi dalam menghasilkan sistem mikroemulsi yang jernih, transparan dan stabil. Percobaan pendahuluan diawali dengan orientasi perbandingan surfaktan nonionik yaitu tween 20 dan span 80 serta orientasi penggunaan kosurfaktan seperti 1- butanol dan iso-propanol alkohol dalam formula mikroemulsi vitamin C palmitat tipe air dalam minyak (A/M). Perbandingan surfaktan dimulai dari perbandingan paling rendah yaitu 1:1 kemudian meningkat sampai terbentuk sediaan mikroemulsi dengan tampilan warna kuning jernih, transparan dan homogen.

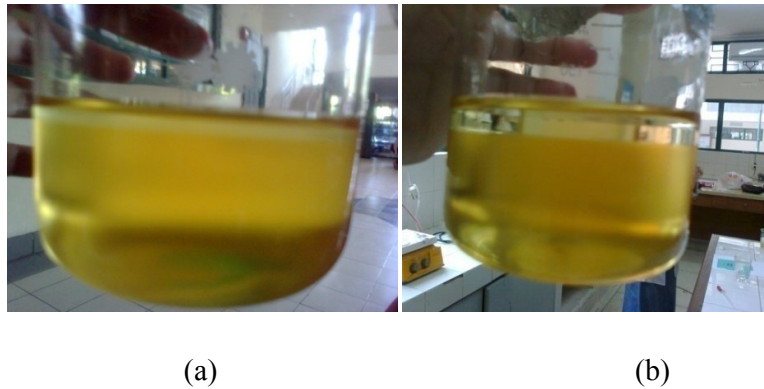
**Tabel IV.** *Penentuan perbandingan surfaktan tween 20 dan span 80 dalam formula*

| Tween 20 dan span 80 | Mikroemulsi yang terbentuk   |
|----------------------|------------------------------|
| 1:1                  | Kuning jernih dengan endapan |
| 1:2                  | Kuning jernih                |
| 1:3                  | Kuning jernih                |
| 1:4                  | Kuning jernih                |

Berdasarkan hasil percobaan yang telah dilakukan seperti pada tabel IV diperoleh perbandingan surfaktan tween 20 dan span 80 yang dapat membentuk sistem mikroemulsi tipe A/M yang baik yaitu berwarna kuning jernih, transparan dan homogen dengan perbandingan span 80 dan tween 20 adalah 1:2, 1:3, 1:4.

Selain orientasi perbandingan surfaktan juga dilakukan orientasi penggunaan kosurfaktan dalam sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat tipe air dalam minyak (A/M). Penggunaan kosurfaktan seperti 1-butanol dan iso-propanol alkohol dalam sistem mikroemulsi menyebabkan ketidakstabilan sistem

mikroemulsi yaitu adanya pemisahan antara fase minyak dan air (*creaming*). Kemampuan kosurfaktan yang kurang kuat untuk menarik fase minyak bergabung dengan fase air, sehingga lapisan atas sistem mikroemulsi terlihat adanya lapisan putih jernih yang menunjukkan adanya pemisahan fase minyak seperti terlihat pada gambar 9.



**Gambar 9.** a) Penggunaan kosurfaktan 1-butanol dalam formula b) penggunaan kosurfaktan iso-propanol alkohol dalam formula.

Pemisahan fase pada sistem mikroemulsi dengan adanya kosurfaktan dapat diatasi dengan penambahan jumlah kosurfaktan yang cukup sebagai jembatan penghubung antara molekul polar dan non polar dengan cara menurunkan tegangan permukaan antarmuka sehingga dapat membentuk suatu sistem mikroemulsi yang stabil. Penggunaan kosurfaktan dalam jumlah yang banyak dapat mengiritasi kulit sehingga pada penelitian ini tidak menggunakan kosurfaktan karena sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat ditujukan untuk penggunaan topikal. Dua faktor utama penggunaan surfaktan nonionik pada sediaan topikal antara lain memiliki penampilan yang baik yaitu berwarna kuning jernih dan transparan, serta tidak membutuhkan penggunaan kosurfaktan<sup>(11)</sup>. Kelebihan lain dari surfaktan nonionik adalah sifatnya yang tidak dipengaruhi oleh adanya perubahan muatan dan pH, sehingga dapat meminimalisir terjadinya ketidakseimbangan sistem mikroemulsi<sup>(6)</sup>. Alasan lain tidak menggunakan kosurfaktan adalah kemampuan kosurfaktan yang mengalami partisi ke fase luar menyebabkan hilangnya kosenterasi kosurfaktan pada antarmuka dan bergabung pada fase luar sehingga menyebabkan ketidakstabilan mikroemulsi<sup>(16)</sup>. Pada percobaan ini, formula mikroemulsi vitamin C palmitat tipe A/M tanpa

kosurfaktan dapat membentuk sistem mikroemulsi yang jernih, transparan dan homogen, namun setelah disimpan selama satu minggu sediaan mengalami pemisahan yang menunjukkan sediaan tidak stabil selama penyimpanan seperti terlihat pada gambar 10.



**Gambar 10.** Formula tanpa kosurfaktan satu minggu setelah penyimpanan.

Untuk mengatasi adanya pemisahan fase selama penyimpanan seperti pada gambar diatas, maka mengurangi jumlah fase minyak dapat digunakan sebagai solusinya. Penurunan jumlah fase minyak sebesar 5% dari konsentersasi awal yaitu sebesar 36,5% menjadi 30,5%. Pengurangan jumlah fase minyak menghasilkan sistem mikroemulsi tipe A/M yang stabil.

## 2. Formula sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat

Penentuan konsentersasi masing-masing bahan dilakukan setelah diperoleh perbandingan tetap jumlah surfaktan dan jumlah minyak dalam sediaan mikroemulsi yang dapat membentuk sistem mikroemulsi tipe A/M yang jernih, transparan dan homogen.

**Tabel V.** Orientasi formula sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat

| Komposisi %<br>b/v * | Formula orientasi |       |       |       |
|----------------------|-------------------|-------|-------|-------|
|                      | F1                | F2    | F3    | F4    |
| Tween 20             | 30,30             | 40,40 | 45,45 | 48,48 |
| Span 80              | 30,30             | 20,20 | 15,15 | 12,12 |
| IPM                  | 30,30             | 30,30 | 30,30 | 30,30 |
| Dapar fosfat         | 9,10              | 9,10  | 9,10  | 9,10  |

Keterangan :

F1 = Sediaan mikroemulsi dengan perbandingan 1 : 1 (span 80 : tween 20)

F2 = Sediaan mikroemulsi dengan perbandingan 1 : 2 (span 80 : tween 20)

F3 = Sediaan mikroemulsi dengan perbandingan 1 : 3 (span 80 : tween 20)

F4 = Sediaan mikroemulsi dengan perbandingan 1 : 4 (span 80 : tween 20)

\* = satuan b/v (gram/100ml)

Berdasarkan percobaan yang telah dilakukan diperoleh 3 formula yang masih dapat membentuk sistem mikroemulsi yang jernih, transparan dan homogen yaitu formula 2 dengan jumlah tween 20 sebesar 40,40 % dan span 80 sebesar 20,2%, formula 3 dengan jumlah tween 20 sebesar 45,45 % dan span 80 sebesar 15,15%, serta formula 4 dengan jumlah tween 20 sebesar 48,48 % dan span 80 sebesar 12,12%. Pada perbandingan tween 20 dan span 80 1 : 1 terdapat endapan yang menunjukkan bahwa perbandingan yang sama antara tween 20 dan span 80 belum cukup kuat untuk menggabungkan antara fase minyak dan air menjadi sistem mikroemulsi yang jernih, transparan dan homogen.

### 3. Pembuatan sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat

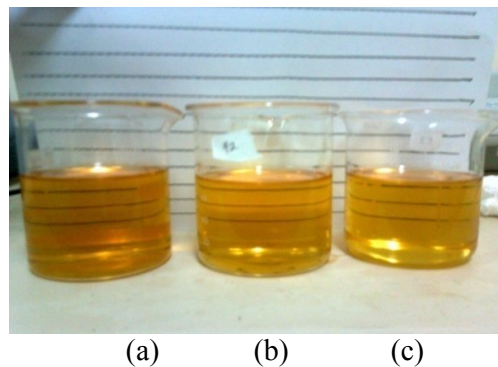
Setelah diperoleh formula mikroemulsi vitamin C palmitat yang menghasilkan sistem mikroemulsi yang baik yaitu memiliki tampilan jernih, transparan, homogen dan viskositas rendah, selanjutnya dilakukan percobaan utama dengan hasil dari percobaan pendahuluan diperoleh 3 formula sediaan mikroemulsi seperti terlihat pada tabel VI.

**Tabel VI.** *Formula sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat*

| Komposisi<br>% b/v | Formula                          |                                     |                                  |
|--------------------|----------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|
|                    | F1                               | F2                                  | F3                               |
| Vitamin C palmitat | 2                                | 2                                   | 2                                |
| IPM                | 30,30                            | 30,30                               | 30,30                            |
| Tween 20           | 40,40                            | 45,45                               | 48,48                            |
| Span 80            | 20,20                            | 15,15                               | 12,12                            |
| Dapar fosfat       | 9,10                             | 9,10                                | 9,10                             |
| Hasil              | Kuning jernih,<br>homogen, encer | Kuning jernih,<br>homogen,<br>encer | Kuning jernih,<br>homogen, encer |

Sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat tipe A/M terdiri dari IPM sebagai fase minyak, tween 20 dan span 80 sebagai surfaktan dan larutan dapar fosfat 0,2 M pada pH 6,5 sebagai fase air. Pembuatan sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat dilakukan dengan mencampurkan dua komponen yang tidak

saling bercampur (fase minyak dan air), kemudian dengan bantuan surfaktan fase minyak dan air dapat bergabung dengan cara menurunkan tegangan permukaan antarmuka kedua komponen, sehingga terbentuklah jembatan penghubung antara fase minyak dan air<sup>(10)</sup>. Percampuran fase air ke dalam fase minyak dengan proses pengadukan merupakan faktor penting dalam pembentukan mikroemulsi tipe A/M. Pengadukan bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel sehingga meningkatkan luas permukaan efektif partikel atau luas permukaan kontak antara partikel dengan cairan dalam menghasilkan sistem mikroemulsi tipe A/M yang jernih, transparan dan homogen. Penggunaan dapar fosfat sebagai fase air bertujuan untuk menjaga pH sediaan mikroemulsi yang dibuat agar berada pada kisaran pH normal kulit (4,5 - 6,5), sehingga dapat mencegah iritasi pada kulit<sup>(31)</sup>. Mikroemulsi vitamin C palmitat memiliki tampilan berwarna kuning jernih, transparan dan homogen seperti pada gambar 11.



**Gambar 11.** Sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat sebelum perlakuan a) formula 1, b) formula 2 dan c) Formula 3.

#### 4. Evaluasi sifat fisik dan kimia sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat

Uji sifat fisik dan kimia sediaan mikroemulsi merupakan tahapan penting dalam mengontrol kualitas dari sediaan vitamin C palmitat setelah sediaan dibuat atau sebelum perlakuan yang meliputi uji organoleptis, viskositas, penetapan ukuran globul dan pemisahan dua fase untuk uji sifat fisik, sedangkan untuk uji sifat kimia meliputi penetapan kadar dan pH.

##### 1. Uji sifat fisik

###### a. Uji organoleptis

Uji organoleptis sebelum perlakuan bertujuan untuk mengetahui kondisi awal sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat sebelum penyimpanan secara visual (bentuk, warna, bau dan homogenitas) yang digunakan sebagai parameter adanya perubahan warna, bentuk dan bau setelah sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat mengalami penyimpanan selama 4 minggu.

**TabelVII.** *Pengamatan organoleptis sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat sebelum perlakuan (n=3)*

| Formula    | Organoleptis |                     |      |             |
|------------|--------------|---------------------|------|-------------|
|            | Bentuk       | Warna               | Bau  | Homogenitas |
| F1 (1 : 2) | Larutan      | Kuning muda, jernih | Khas | Homogen     |
| F2 (1 : 3) | Larutan      | Kuning muda, jernih | Khas | Homogen     |
| F3 (1 : 4) | Larutan      | Kuning muda, jernih | Khas | Homogen     |

Hasil pengamatan organoleptis terlihat seperti pada tabel diatas, ketiga sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat memiliki tampilan warna kuning muda, jernih, bau khas yang berasal dari tween 20, homogen dan dalam bentuk larutan (viskositas rendah), sehingga dapat dikatakan bahwa sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat sebelum penyimpanan memiliki kondisi awal (bentuk, warna, bau dan homogenitas) yang cukup baik.

#### b. Penetapan viskositas

Uji viskositas bertujuan untuk mengetahui kekentalan sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat. Lim (2006) menyatakan bahwa viskositas dapat digunakan untuk mengetahui perubahan struktur dari mikroemulsi. Garti *et al*(2005) juga melaporkan bahwa viskositas sangat tergantung pada struktur mikroemulsi seperti tipe dan bentuk *aggregat*, konsentration dan interaksi antar partikel<sup>(4)</sup>. Viskositas sediaan diukur menggunakan Viskometer Brookfield. Hasil pengukuran viskositas dikatakan baik jika % rpm yang dihasilkan diatas 50%. Pada percobaan ini, % rpm yang dihasilkan lebih dari 50%, sehingga dapat

dikatakan bahwa hasil pengukuran viskositas yang diperoleh cukup baik. Hasil pengukuran viskositas sebelum perlakuan seperti terlihat pada tabel VIII.

**Tabel VIII.** Hasil pengukuran viskositas sebelum perlakuan ( $n=3$ )

| Formula | Viskositas (Cps) * |
|---------|--------------------|
| F1      | 91,30±0,35         |
| F2      | 93,23 ±0,81        |
| F3      | 97,57±0,32         |

Keterangan : \*) = Rata-rata±SD

Hasil uji statistik terhadap viskositas menggunakan uji LSD menunjukkan bahwa tiap formula memiliki viskositas yang berbeda secara bermakna ( $p<0,005$ ). Peningkatan viskositas berbanding lurus dengan konsentration tween 20 yang ditambahkan. Semakin tinggi konsentration tween 20 (viskositas 400 mPas) maka viskositas sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat semakin meningkat. Formula 1 memiliki jumlah tween 20 paling rendah, diikuti formula 2 dan paling tinggi formula 3, sehingga dapat dikatakan bahwa viskositas formula 1 < formula 2 < formula 3.

c. Pemisahan dua fase

Pemisahan dua fase merupakan salah satu parameter ketidakstabilan mikroemulsi. Uji ini bertujuan untuk mengetahui adanya pemisahan fase antara fase minyak dan air (*creaming*). Sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat tidak mengalami pemisahan fase seperti terlihat pada tabel dibawah ini.

**Tabel IX.** Hasil pengamatan pemisahan dua fase sebelum perlakuan ( $n=3$ )

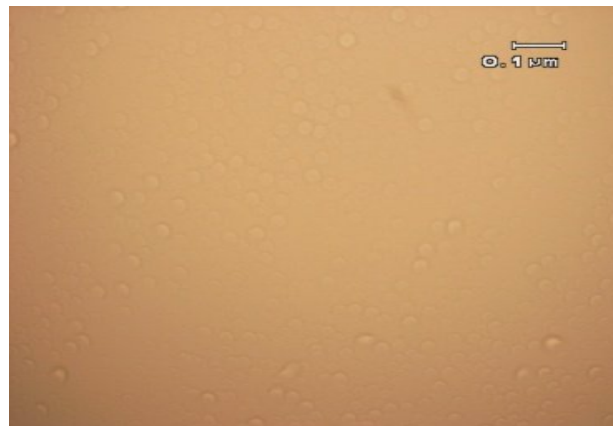
| Formula | Pemisahan dua fase       |
|---------|--------------------------|
| 1       | Tidak ada pemisahan fase |
| 2       | Tidak ada pemisahan fase |
| 3       | Tidak ada pemisahan fase |

Dari tabel diatas terlihat bahwa ketiga formula sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat tidak menunjukkan adanya pemisahan dua fase yaitu fase minyak dan air (*creaming*). Proses *creaming* dapat terjadi jika terdapat pemisahan globul-globul fase dalam dari fase luar, sehingga globul fase dalam saling bergabung membentuk ukuran globul yang lebih besar dan cukup kuat untuk

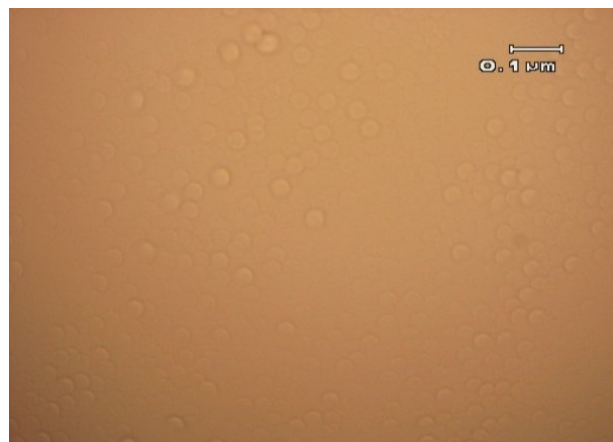
mengalami pemisahan fase<sup>(31)</sup>. Ketiga formula sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat dapat dikatakan cukup stabil dalam mencegah bergabungnya globul-globul fase dalam, sehingga tidak tampak adanya pemisahan fase.

d. Penentuan ukuran globul

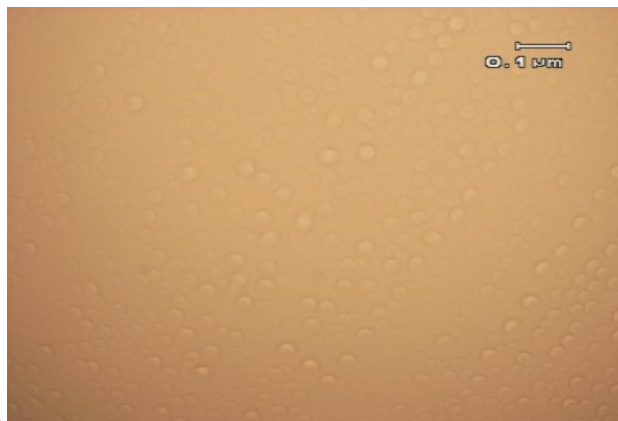
Penentuan ukuran globul bertujuan untuk mengetahui apakah globul yang terbentuk pada sediaan mikroemulsi memiliki kisaran ukuran globul 0,01-0,1  $\mu\text{m}$ . Mikroemulsi yang baik adalah mikroemulsi yang memiliki ukuran globul berkisar pada 0,01-0,1  $\mu\text{m}$ . Ukuran globul ditentukan menggunakan mikroskop elektron dengan perbesaran 10x. Gambar dibawah ini adalah bentuk ukuran globul sebelum perlakuan pada tiap formula.



**Gambar 12.** Bentuk globul formula 1 sebelum perlakuan.



**Gambar 13.** Bentuk globul formula 2 sebelum perlakuan



**Gambar 14.** *Bentuk globul formula 3 sebelum perlakuan.*

Berdasarkan gambar diatas terlihat bahwa ukuran globul ketiga sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat kurang dari  $0,1\ \mu\text{m}$  dan tidak nampak adanya perbedaan ukuran globul pada masing-masing formula karena ketiga formula memiliki ukuran globul yang sangat kecil, sehingga dapat dikatakan bahwa ketiga formula mikroemulsi vitamin C palmitat memiliki sifat fisik yang cukup baik dengan ukuran globul kecil.

## 2. Uji sifat kimia

### a) Penetapan pH

Uji pH bertujuan untuk mengetahui pH sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat. Sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat digunakan secara topikal, sehingga pH sediaan harus berada pada kisaran pH normal kulit yaitu pH 4,5-6,5<sup>(31)</sup>. Penetapan pH dilakukan menggunakan pH meter yang sebelumnya pH meter sudah dikalibrasi dengan larutan standar pH 4 dan 7. Pentingnya penetapan pH sediaan mikroemulsi karena pH merupakan salah satu parameter stabilitas obat yang menunjukkan adanya reaksi kimia yang terjadi ketika sediaan mikroemulsi mengalami perubahan pH.

**Tabel X.** *Hasil pengukuran pH sebelum perlakuan (n=3)*

| Formula | pH *            |
|---------|-----------------|
| F1      | $4,97 \pm 0,02$ |
| F2      | $5,26 \pm 0,01$ |
| F3      | $5,38 \pm 0,01$ |

Keterangan : \*)= Rata-rata $\pm$ SD

Berdasarkan hasil pengamatan pada tabel X terlihat bahwa pH sediaan topikal mikroemulsi vitamin C palmitat berada pada kisaran pH normal kulit yaitu 4,5-6,5. Hal ini mengindikasikan bahwa pH yang diperoleh sesuai dengan persyaratan pH yang digunakan pada kulit yaitu tidak menyebabkan iritasi kulit. Hasil uji statistik terhadap pH menggunakan uji Mann-Whitney pada ketiga formula menunjukkan bahwa variasi konsentrasi tween 20 dan span 80 menyebabkan adanya perbedaan pH secara bermakna ( $p < 0,005$ ) pada ketiga formula. Peningkatan pH terjadi seiring meningkatnya konsentrasi tween 20 (pH 6-8)<sup>(26)</sup>. Formula 1 memiliki konsentersasi tween 20 paling rendah diikuti dengan formula 2 dan paling tinggi formula 3, sehingga dapat dikatakan bahwa pH sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 1 < formula 2 < formula 3.

#### b) Penetapan kadar

Sebelum dilakukan penetapan kadar vitamin C palmitat terlebih dahulu dilakukan verifikasi metode analisis. Verifikasimerupakan suatu tindakan pembuktian bahwa suatu metode telah memenuhi persyaratan sesuai dengan penggunaanya<sup>(32)</sup>. Verifikasi dilakukan karena instrumen yang digunakan dan kondisinya berbeda serta analisis yang mengoperasikan juga berbeda. Tahapan proses verifikasi seperti berikut :

##### 1) Penetapan akurasi (kecermatan)

Akurasi adalah ukuran yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan analit yang sebenarnya. Kecermatan dinyatakan sebagai persen perolehan kembali (% *recovery*) analit yang ditambahkan. Metode yang digunakan untuk menetapkan akurasi adalah metode simulasi (*spiked-placebo recovery*) yaitu dengan cara membuat larutan standar vitamin C palmitat murni dengan 3 seri kadar (300, 40 dan 8 ppm ) kemudian ditambahkan pada plasebo (sediaan tanpa zat aktif) lalu campuran dianalisis dan hasilnya dibandingkan dengan kadar analit yang sebenarnya<sup>(31)</sup>. Penetapan akurasi digunakan untuk mengetahui adanya kesalahan sistematik. Berdasarkan data AUC yang diperoleh pada penetapan akurasi diperoleh persamaan kurva baku :  $y = 16,57x + 136,12$ , kemudian persamaan kurva baku tersebut digunakan untuk menentukan % akurasi. Berikut ini adalah % akurasi yang diperoleh dari penetapan akurasi.

**Tabel XI.** Hasil penetapan akurasi ( $n=3$ )

| Seri kadar | %Akurasi |
|------------|----------|
| 300 ppm    | 99, 91%  |
| 40 ppm     | 106, 43% |
| 8 ppm      | 71, 36%  |

Berdasarkan percobaan, diperoleh nilai % akurasi seperti pada tabel diatas. Menurut panduan AOAC menyatakan bahwa konsentersasi sampel 1, 10 dan 100 ppm masing-masing memiliki % *recovery* yang diizinkan berada pada kisaran 75-120 %, 80-115 % dan 85-110%, namun pada kadar 8 ppm % *recovery* yang diperoleh tidak berada pada kisaran yang diizinkan, sehingga dapat dikatakan bahwa metode analisis yang digunakan memberikan hasil analisis yang akurat pada konsentersasi 300 dan 40 ppm, tetapi tidak cukup akurat pada kadar 8 ppm yang menunjukkan adanya kesalahan sistematis.

## 2) Penetapan presisi (keseksamaan)

Presisi adalah ukuran keterulangan metode analisis dan biasanya diukur sebagai simpangan baku relatif (koefisien variasi). Keseksamaan dapat dinyatakan sebagai keterulangan (*repeatability*) yaitu keseksamaan metode jika dilakukan berulang kali oleh analis yang sama, pada kondisi yang sama dan dalam interval yang pendek. Selain keterulangan juga dapat dinyatakan sebagai ketertiruan (*reproducibility*) yaitu keseksamaan metode jika dilakukan pada kondisi yang berbeda<sup>(32)</sup>. Seri kadar yang digunakan pada penetapan presisi adalah 300, 40 dan 4 ppm dengan 6 kali repitasi. Penetapan presisi digunakan untuk mengetahui adanya kesalahan acak. Berikut ini adalah hasil dari penetapan presisi yang tertera pada tabel XII.

**Tabel XII.** Hasil penetapan presisi ( $n=3$ )

| Kadar                              | 300 ppm               | 40 ppm               | 4 ppm               |
|------------------------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|
| <b>Rata-rata<math>\pm</math>SD</b> | 9244,98 $\pm$ 143, 44 | 1515,81 $\pm$ 15, 07 | 234, 16 $\pm$ 6, 31 |
| <b>RSD</b>                         | 1, 55                 | 0, 99                | 2, 69               |

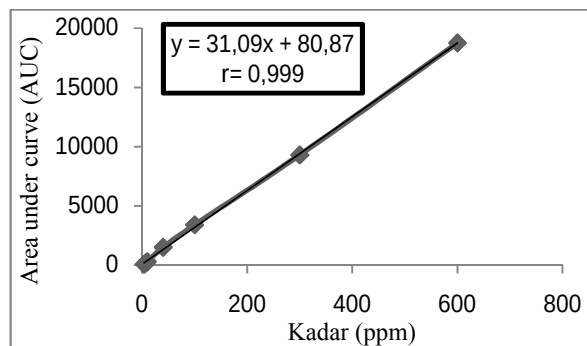
Berdasarkan percobaan diperoleh hasil penetapan presisi seperti pada tabel diatas. Menurut panduan AOAC menyatakan bahwa % keterulangan (RSD) pada konsentration analit 10 ppm dan 100 ppm masing-masing tidak lebih dari 6% dan 4%<sup>(33)</sup>. Dari ketiga seri kadar yang digunakan menghasilkan nilai RSD kurang dari 3%, sehingga dapat dikatakan bahwa metode analisis yang digunakan secara berulang memberikan hasil yang tepat atau seksama.

### 3) Batas deteksi dan batas kuantitasi (LOD dan LOQ)

Batas deteksi adalah jumlah terkecil analit dalam sampel yang dapat dideteksi yang masih dapat memberikan respon yang signifikan dibandingkan dengan blanko. Batas kuantitasi adalah kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria cermat dan seksama<sup>(31)</sup>. Penetapan LOD dan LOQ dapat digunakan untuk mengetahui kadar vitamin C palmitat yang tersisa dan untuk mengetahui sensitifitas suatu metode analisis. Untuk menentukan nilai LOD dan LOQ digunakan 7 seri kadar yaitu 600, 300, 100, 40, 10, 8, 4 ppm dan memberikan nilai LOD sebesar 18,75 ppm artinya jumlah terkecil analit dalam sampel yang masih dapat dideteksi dan masih dapat memberikan respon yang signifikan adalah sebesar 18,75 ppm. Untuk jumlah terkecil analit dalam sampel yang masih dapat dikuantitaskan dan memenuhi kriteria cermat dan seksama (LOQ) yaitu sebesar 56,82 ppm.

### 4) Penetapan kurva baku dan linieritas

Penetapan kurva baku bertujuan untuk menentukan kadar vitamin C palmitat dalam sediaan. Seri kadar yang digunakan pada penetapan kurva baku adalah 600, 300, 100, 40, 10, 8 dan 4 ppm. Sampel (larutan standar) sebanyak 0,1 ml dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 10 ml hingga tanda batas, selanjutnya larutan dengan berbagai seri kadar ditetapkan kadarnya menggunakan HPLC dan diperoleh persamaan kurva baku seperti kurva dibawah ini.



**Gambar 15.** Grafik persamaan kurva baku vitamin C palmitat.

Berdasarkan grafik diatas diperoleh persamaan kurva baku yaitu  $y = 31,09x + 80,87$  dengan linieritas ( $r$ ) sebesar 0,999. Linieritas adalah kemampuan suatu metode untuk memperoleh hasil-hasil uji yang secara langsung proporsional dengan konsentrasinya analit pada kisaran yang diberikan. Berdasarkan nilai linearitas yang diperoleh menunjukkan bahwa metode analisis yang digunakan memberikan hasil yang baik. Karena metode analisis dikatakan baik jika memberikan linearitas lebih dari 0,99<sup>(34)</sup>.

#### 5) Penentuan kadar vitamin C palmitat

##### a. Preparasi sampel

Sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat sebanyak 100  $\mu$ l diencerkan 100 kali pengenceran dengan metanol dalam labu ukur 10 ml<sup>(1)</sup>.

##### b. Pembuatan fase gerak

Fase gerak yang digunakan adalah campuran metanol : asetonitril : dapar fosfat 0,02 M pH 2,5 (75 : 10 : 15)<sup>(1)</sup>.

##### c. Penetapan kadar vitamin C palmitat

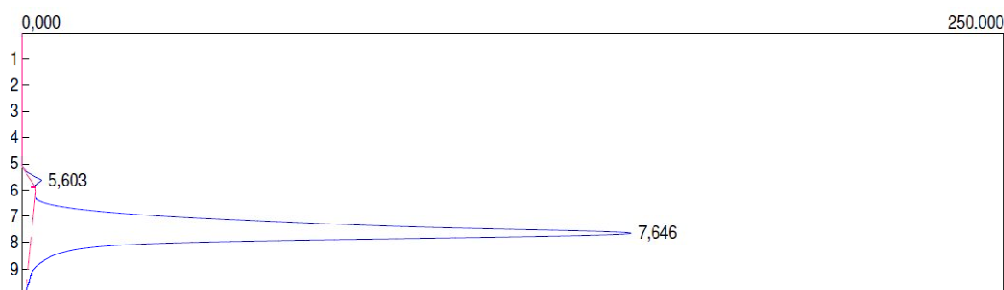
Penetapan kadar vitamin C palmitat sebelum perlakuan bertujuan untuk mengetahui kadar awal vitamin C palmitat sebelum mengalami penyimpanan. Berdasarkan persamaan kurva baku pada gambar 15, maka dapat ditentukan kadar vitamin C palmitat sebelum perlakuan dengan cara nilai AUC diplotkan pada sumbu y dari persamaan tersebut kemudian ditentukan kadarnya (nilai x).

**Tabel XIII.** Hasil penetapan kadar vitamin C palmitat sebelum perlakuan (n=3)

| Formula | Kadar (ppm)* |
|---------|--------------|
| F1      | 263, 33±1,33 |
| F2      | 210, 66±2,51 |
| F3      | 231, 75±1,39 |

Keterangan : \*) = Rata-rata±SD (ppm = mg/L)

Berdasarkan pada tabel diatas diperoleh kadar formula 1 sebesar 263,33 ppm, formula 2 sebesar 210,66 ppm dan formula 3 sebesar 231,75 ppm. Hasil percobaan menunjukkan bahwa formula 1 memiliki kadar paling tinggi yang kemungkinan dapat disebabkan karena konsenterasi span 80 yang lebih banyak dibandingkan formula 2 dan 3 dapat meningkatkan lipofilisitas sediaan mikroemulsi, sehingga kelarutan vitamin C palmitat yang bersifat lipofilik lebih besar pada formula 1. Pada formula 2 dan 3 kadar span 80 lebih sedikit dibandingkan formula 1 dan konsenterasi tween 20 (hidrofilik) yang meningkat, sehingga tidak cukup kuat meningkatkan lipofilisitas sediaan dan kurang membantu kelarutan vitamin C palmitat. Kadar awal vitamin C palmitat dalam sediaan sebesar 2 % (20.000 ppm), namun karena dilakukan pengenceran 100 kali maka kadar dalam sediaan menjadi 200 ppm. Pada hasil percobaan diperoleh kadar yang lebih dari 200 ppm, kemungkinan disebabkan karena adanya kadar vitamin C palmitat yang lebih dari 200 ppm pada saat penetapan kurva baku, sehingga kadar yang terbaca melebihi kadar 200 ppm. Berikut ini adalah gambar kromatografi sediaan mikroemulsi formula 2 sebelum perlakuan.

**Gambar 16 .** Kromatogram vitamin C palmitat sebelum perlakuan.

## A. Uji stabilitas sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat

### 1. Stabilitas fisik

#### a. Uji organoleptis

Uji organoleptis dilakukan tiap minggu pada suhu kamar  $\pm 25^{\circ}\text{C}$  dan suhu  $40^{\circ}\text{C}$  dan diamati perubahan yang terjadi seperti pada tabel XIV dan XV. Hasil percobaan menunjukkan bahwa perubahan warna sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat pada minggu pertama dengan minggu keempat suhu  $25^{\circ}\text{C}$  pada ketiga formula terlihat jelas perbedaannya. Pada minggu pertama suhu  $25^{\circ}\text{C}$  tampilan sediaan berwarna kuning, jernih, bau khas dan homogen, sedangkan pada minggu keempat terlihat berwarna merah bata, jernih, bau khas dan homogen.

Perubahan warna merupakan salah satu parameter ketidakstabilan mikroemulsi. Perubahan warna dapat disebabkan karena adanya reaksi kimia yang terjadi dari bahan-bahan dalam sediaan mikroemulsi dan faktor-faktor lingkungan atau berasal dari vitamin C palmitat sendiri yang mengalami reaksi kimia seperti reaksi oksidasi karena sifat vitamin C palmitat yang mudah teroksidasi oleh adanya oksigen, cahaya dan pemanasan<sup>(1)</sup>. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa stabilitas vitamin C palmitat dipengaruhi oleh sifat struktur dari formulasi<sup>(36)</sup>. Sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat mengandung tween 20 yang merupakan senyawa *polyoxyethylene* yang dapat mengalami autoksidasi selama penyimpanan oleh adanya cahaya, temperatur tinggi dan tembaga sulfat<sup>(37)</sup>.

Sensitifitas tween 20 terhadap pemanasan menyebabkan perubahan warna menjadi gelap ketika terpapar suhu yang tinggi, sehingga pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  sediaan mikroemulsi berwarna lebih gelap dibandingkan dengan suhu  $25^{\circ}\text{C}$ . Sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat memiliki stabilitas fisik kurang baik karena seiring lama waktu penyimpanan sediaan mikroemulsi mengalami perubahan warna seperti terlihat pada tabel dibawah ini.

**Tabel XIV.** *Pengamatan organoleptis sediaan mikroemulsi minggu ke-1 dan minggu ke-4 suhu 25°C*

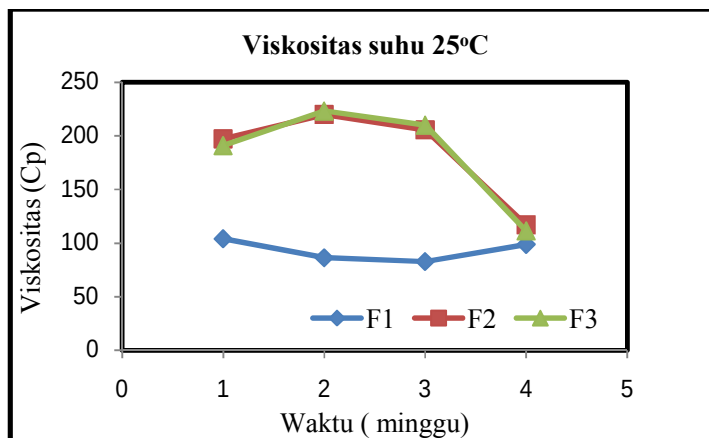
| Formula | Waktu (minggu) | Organoleptis |      |                |             |
|---------|----------------|--------------|------|----------------|-------------|
|         |                | Bentuk       | Bau  | Warna          | Homogenitas |
| F1      | 1              | Larutan      | Khas | Kuning, jernih | Homogen     |
|         | 4              | Larutan      | Khas | Merah bata     | Homogen     |
| F2      | 1              | Larutan      | Khas | Kuning, jernih | Homogen     |
|         | 4              | Larutan      | Khas | Merah bata     | Homogen     |
| F3      | 1              | Larutan      | Khas | Kuning, jernih | Homogen     |
|         | 4              | Larutan      | Khas | Merah bata     | Homogen     |

**Tabel XV.** *Pengamatan organoleptis sediaan mikroemulsi minggu ke-1 dan minggu ke-4 suhu 40°C.*

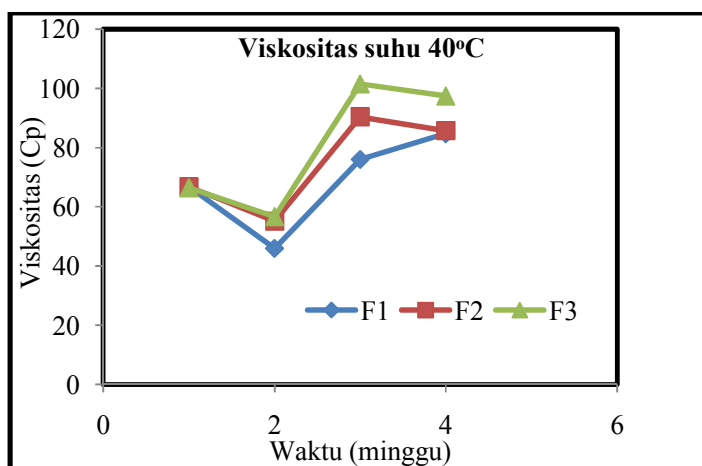
| Formula | Waktu (minggu) | Organoleptis |      |                    |             |
|---------|----------------|--------------|------|--------------------|-------------|
|         |                | Bentuk       | Bau  | Warna              | Homogenitas |
| F1      | 1              | Larutan      | Khas | Kuning tua, jernih | Homogen     |
|         | 4              | Larutan      | Khas | Merah bata tua     | Homogen     |
| F2      | 1              | Larutan      | Khas | Kuning tua, jernih | Homogen     |
|         | 4              | Larutan      | Khas | Merah bata tua     | Homogen     |
| F3      | 1              | Larutan      | Khas | Kuning tua, jernih | Homogen     |
|         | 4              | Larutan      | Khas | Merah bata tua     | Homogen     |

**b. Penetapan viskositas**

Penetapan viskositas sediaan mikroemulsi oleh adanya pengaruh lama waktu penyimpanan sediaan dilakukan pada 2 kondisi yaitu pada suhu 25°C dan 40°C. Hasil pengukuran viskositas diperoleh pada % rpm yang lebih dari 50%. Perubahan viskositas selama penyimpanan pada minggu pertama dan keempat tiap formula dan suhu dapat dilihat pada kurva dibawah ini.



**Gambar 17.** Kurva perubahan viskositas selama penyimpanan suhu 25°C.



**Gambar 18.** Kurva perubahan viskositas selama penyimpanan suhu 40°C.

Keterangan : F1 = Sediaan mikroemulsi dengan perbandingan tween 20 dan span 80 2 : 1

F2 = Sediaan mikroemulsi dengan perbandingan tween 20 dan span 80 3 : 1

F3 = Sediaan mikroemulsi dengan perbandingan tween 20 dan span 80 4 : 1

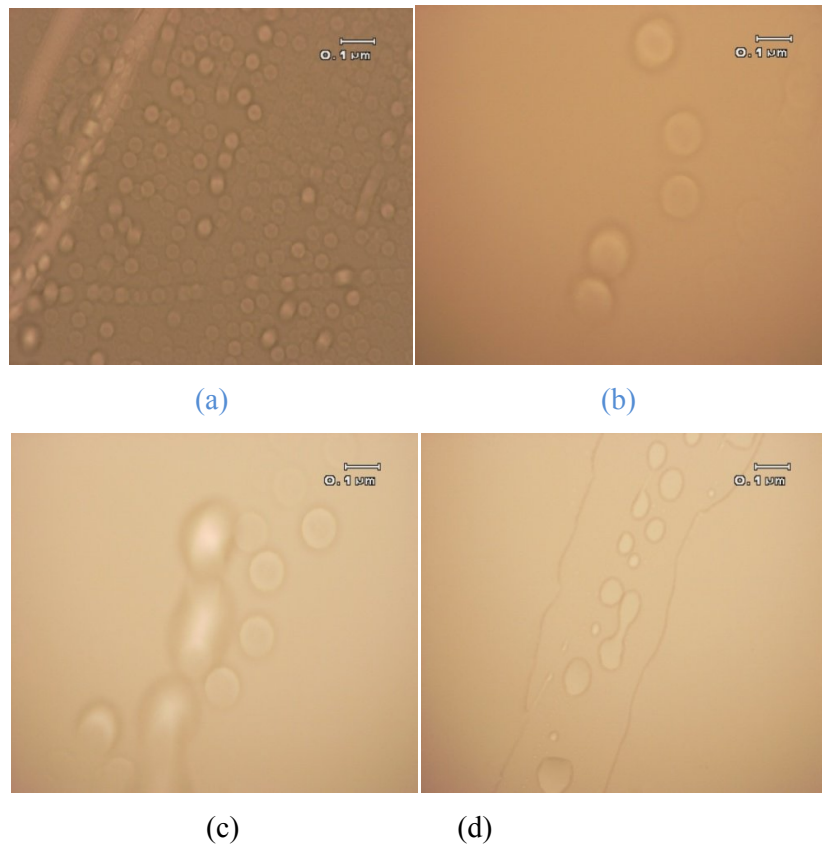
Berdasarkan kurva diatas, perubahan viskositas pada suhu 25°C mengalami penurunan dan peningkatan. Formula 2 dan 3 mengalami peningkatan viskositas pada minggu kedua kemudian minggu ketiga dan keempat mengalami penurunan. Hasil uji statistik terhadap viskositas pada formula 2 dan 3 menggunakan uji *paired t-test* menunjukkan bahwa terjadi perbedaan viskositas secara bermakna ( $p < 0,05$ ) pada minggu pertama dan keempat yang artinya formula 2 dan 3 tidak stabil selama 4 minggu penyimpanan. Sebaliknya, formula 1 dari minggu pertama sampai ketiga mengalami penurunan viskositas dan minggu keempat mengalami peningkatan. Namun, hasil uji statistik terhadap viskositas pada formula 1 menunjukkan bahwa penurunan dan peningkatan

viskositas yang terjadi tidak secara bermakna ( $p > 0,05$ ) pada minggu pertama dan keempat yang artinya formula 1 stabil selama 4 minggu penyimpanan. Peningkatan viskositas pada minggu kedua kemungkinan terjadi karena adanya ikatan Van der Waals antar molekul yaitu interaksi antara gugus non polar dengan non polar (span 80 dan IPM) atau gugus polar dengan polar (tween 20 dan vitamin C palmitat) yang saling berdekatan, namun karena sifat ikatan Van der Waals yang lemah maka dapat mengalami pemutusan ikatan dan peningkatan ukuran globul yang terjadi seiring lamanya waktu penyimpanan menyebabkan berkurangnya kerapatan globul, sehingga tahanan cairan untuk mengalir semakin berkurang akibatnya viskositas menurun pada minggu ketiga dan keempat.

Viskositas pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  mengalami penurunan pada minggu kedua dan peningkatan pada minggu ketiga untuk ketiga formula, namun pada minggu keempat formula 2 dan 3 menurun tetapi formula 1 meningkat. Hasil uji statistik terhadap viskositas pada ketiga formula menunjukkan bahwa terdapat perbedaan viskositas secara bermakna ( $p < 0,05$ ) pada minggu pertama dan keempat yang artinya ketiga formula tidak stabil selama 4 minggu penyimpanan. Penurunan viskositas kemungkinan dapat disebabkan oleh adanya autoksidasi dari tween 20 menghasilkan senyawa hidroperoksida (senyawa yang mengandung gugus  $-\text{OOH}$ )<sup>(36)</sup>. Peningkatan viskositas terjadi karena adanya ikatan Van der Waals antara produk autoksidasi yang mengandung gugus  $-\text{OOH}$  dengan gugus polar lain, kemudian ikatan Van der Waals putus seiring meningkatnya ukuran globul dan kembali menurun viskositasnya.

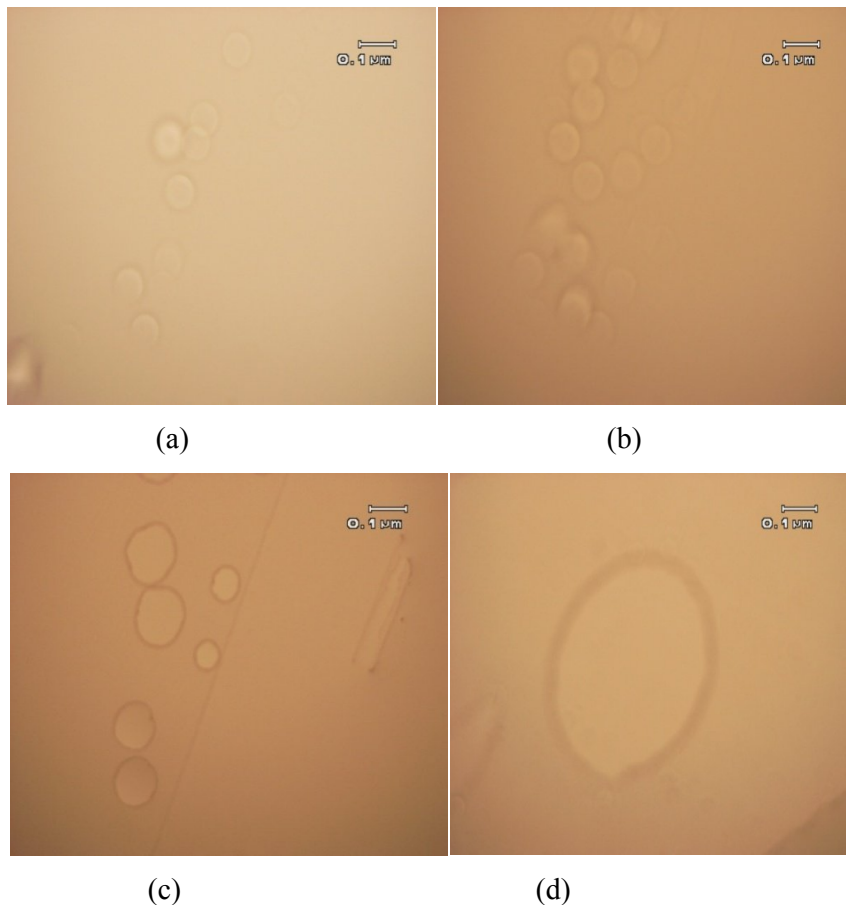
#### c. Penetapan ukuran globul

Ukuran globul yang lebih dari  $0,1\ \mu\text{m}$  menunjukkan ketidakstabilan mikroemulsi yang berupa adanya koalesensi akibat bergabungnya globul-globul pada sediaan mikroemulsi menjadi bentuk globul yang lebih besar. Berikut ini adalah perbedaan bentuk globul tiap minggu pada formula 2 suhu  $25^{\circ}\text{C}$ .



**Gambar 19.** Bentuk globul formula 2 suhu 25°C, a) minggu 1, b) minggu 2, c) minggu 3, d) minggu 4.

Berdasarkan gambar diatas terlihat bahwa dari minggu pertama hingga ketiga ukuran globul sediaan masih berada pada kisaran ukuran globul mikroemulsi yaitu 0,01-0,1  $\mu\text{m}$ , tetapi pada minggu keempat nampak adanya koalesen antar globul. Koalesen terjadi karena penggabungan dari globul-globul fase dalam yang keluar dari fase luar dan membentuk ukuran globul yang lebih besar, sehingga dapat dikatakan bahwa pada minggu keempat secara makroskopis sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat tidak tampak adanya pemisahan fase, tetapi secara mikroskopis terlihat penggabungan antar globul menjadi ukuran globul yang lebih besar. Bentuk globul sediaan mikroemulsi formula 2 pada suhu 40°C seperti terlihat pada gambar 20.



**Gambar 20.** Bentuk globul suhu  $40^{\circ}\text{C}$ , a) minggu 1, b) minggu 2, c) minggu 3, d) minggu 4 formula 2.

Dari gambar diatas terlihat bahwa sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat suhu  $40^{\circ}\text{C}$  memiliki ukuran globul yang lebih besar, karena semakin tinggi suhu maka mempercepat ketidakstabilan mikromulsi dengan cara meningkatkan motilitas dari partikel untuk bergabung satu sama lain<sup>(37)</sup>. Pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  terlihat jelas bahwa pada minggu ketiga dan keempat mengalami peningkatan ukuran globul dengan ukuran globul lebih dari  $0,1\ \mu\text{m}$  yang menunjukkan bahwa sediaan mikroemulsi secara mikroskopis tidak stabil, namun secara makroskopis belum cukup kuat untuk terjadinya pemisahan dua fase.

#### d. Pemisahan dua fase

Pemisahan fase merupakan salah satu bentuk ketidakstabilan mikroemulsi yang dapat berkaitan dengan peningkatan ukuran globul mikroemulsi. Sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat tidak menunjukkan adanya

pemisahan fase selama penyimpanan baik pada suhu 25°C maupun 40°C seperti pada tabel XVI.

**Tabel XVI.** Hasil pengamatan pemisahan dua fase suhu 25°C dan 40°C

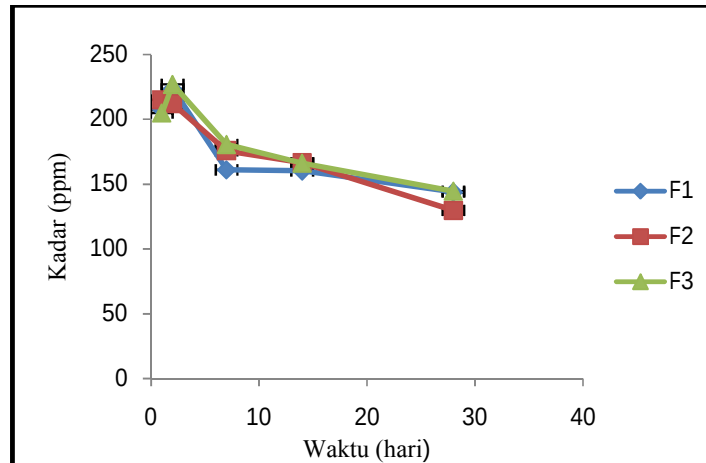
| Formula | Pemisahan dua fase       |
|---------|--------------------------|
| 1       | Tidak ada pemisahan fase |
| 2       | Tidak ada pemisahan fase |
| 3       | Tidak ada pemisahan fase |

Berdasarkan tabel diatas terlihat bahwa ketiga formula baik suhu 25°C maupun 40°C tidak menunjukkan adanya pemisahan dua fase karena kemampuan surfaktan yaitu tween 20 dan span 80 yang cukup kuat dalam menurunkan tegangan permukaan antarmuka, sehingga fase minyak dan air masih menyatu dan membentuk suatu larutan monofasik (satu fase) meskipun terjadi peningkatan ukuran globul, namun hal tersebut masih belum cukup kuat untuk memisahkan antara fase minyak dan air, sehingga dapat dikatakan bahwa mikroemulsi vitamin C palmitat cukup stabil selama 4 minggu penyimpanan yaitu tidak terjadi pemisahan fase.

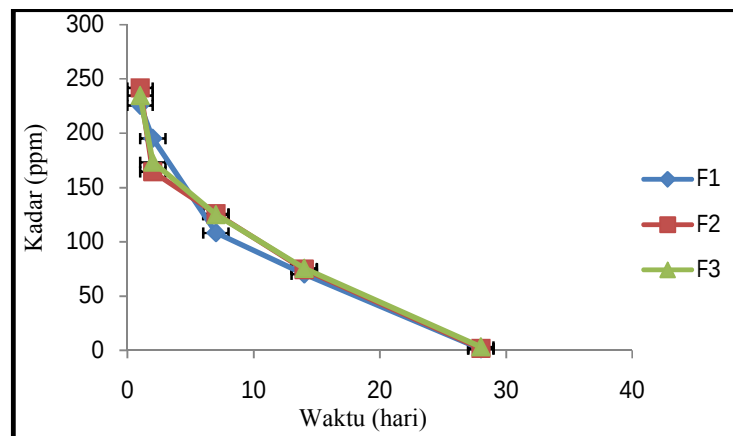
## 2. Stabilitas kimia

### a. Penetapan kadar vitamin C palmitat

Penetapan kadar vitamin C palmitat setelah penyimpanan bertujuan untuk mengetahui stabilitas vitamin C palmitat seiring lama waktu penyimpanan. Penetapan kadar vitamin C palmitat dilakukan pada hari ke-1, 2, 7, 14 dan 28. Berdasarkan persamaan kurva baku pada gambar 15, maka dapat ditentukan kadar vitamin C palmitat setelah perlakuan dengan cara nilai AUC diplotkan pada sumbu y dari persamaan kurva baku tersebut kemudian ditentukan kadarnya (nilai x). Perubahan kadar vitamin C palmitat oleh lamanya waktu penyimpanan seperti pada gambar 21 dan 22.



**Gambar 21.** Kurva perubahan kadar vitamin C palmitat selama penyimpanan pada suhu 25°C.

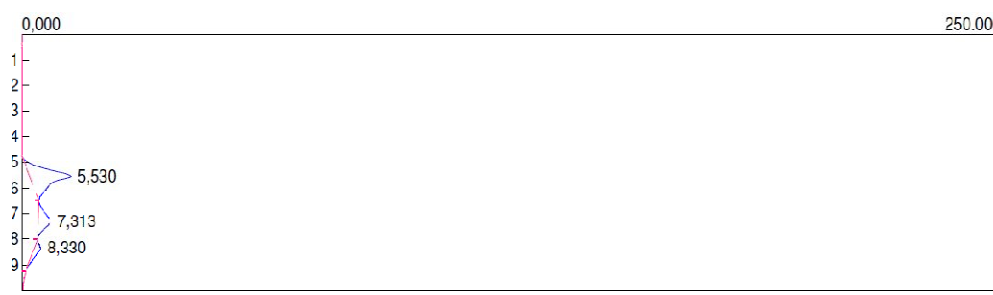


**Gambar 22.** Kurva perubahan kadar vitamin C palmitat selama penyimpanan suhu 40°C.

Keterangan : F1 = Sediaan mikroemulsi dengan perbandingan tween 20 dan span 80 2 : 1  
 F2 = Sediaan mikroemulsi dengan perbandingan tween 20 dan span 80 3 : 1  
 F3 = Sediaan mikroemulsi dengan perbandingan tween 20 dan span 80 4 : 1

Berdasarkan pada tabel diatas terlihat bahwa penurunan kadar vitamin C palmitat terjadi baik pada suhu 25°C maupun 40°C. Peningkatan kadar vitamin C palmitat terjadi pada hari kedua suhu 25°C untuk formula 1 dan 3. Kemungkinan dapat terjadi karena adanya kesalahan pada saat preparasi sampel, tetapi setelah hari ke-7 kadar vitamin C palmitat mengalami penurunan. Penurunan kadar vitamin C terjadi karena sifat dari vitamin C palmitat yang mudah teroksidasi oleh adanya oksigen, cahaya dan pemanasan<sup>(1)</sup>. Kemungkinan lainnya oksidasi vitamin C palmitat dapat disebabkan oleh senyawa *polyoxyethylene* seperti tween 20 yang

dapat mengalami autoksidasi oleh adanya cahaya dan suhu yang tinggi menjadi bentuk hidroperoksid (senyawa dengan gugus -OOH) yang diketahui sebagai radikal bebas dan mudah diubah menjadi produk lain<sup>(36)</sup>. Selanjutnya, radikal bebas tersebut menyerang struktur vitamin C palmitat terutama gugus yang memiliki elektron bebas, sehingga reaksi oksidasi yang terjadi semakin cepat. Berikut ini adalah gambar kromatografi vitamin C palmitat formula 2 pada hari ke-28 suhu 40°C yang telah mengalami oksidasi dan menghasilkan produk hasil degradasi vitamin C palmitat.



**Gambar 23.** Kromatogram vitamin C palmitat formula 2 minggu keempat pada suhu 40°C.

b. Penetapan pH

Perubahan pH merupakan indikator terjadinya penurunan stabilitas suatu sediaan atau obat. Hasil penetapan pH sediaan mikroemulsi selama penyimpanan seperti tertera pada tabel XVIII.

**Tabel XVII.** Hasil penetapan pH suhu 25°C (n=3)

| Formula | Waktu (minggu) | pH *        |
|---------|----------------|-------------|
| F1      | 1              | 4,86±0,01   |
|         | 4              | 4,64 ±0,01  |
| F2      | 1              | 5,28± 0,02  |
|         | 4              | 5,07± 0,01  |
| F3      | 1              | 5,27 ± 0,01 |
|         | 4              | 5,12± 0,01  |

**Tabel XVIII.** Hasil penetapan pH suhu 40°C (n=3)

| Formula | Waktu (minggu) | pH *       |
|---------|----------------|------------|
| F1      | 1              | 4,83±0,01  |
|         | 4              | 4,67±0,01  |
| F2      | 1              | 5,23± 0,01 |
|         | 4              | 4,86±0,02  |
| F3      | 1              | 5,11± 0,03 |
|         | 4              | 4,88± 0,01 |

Keterangan : \*) = Rata-rata±SD

Berdasarkan tabel diatas, ketiga formula sediaan mikroemulsi baik pada suhu 25°C maupun 40°C mengalami perubahan pH menjadi lebih rendah (asam), namun, perubahan pH tersebut masih berada pada kisaran pH normal kulit (4,5-6,5), sehingga tidak menyebabkan iritasi kulit. Hasil uji statistik terhadap pH menggunakan uji *paired t-test* pada suhu 25°C menunjukkan bahwa formula 1 dan 2 mengalami perubahan pH yang berbeda secara bermakna ( $p < 0,05$ ) pada minggu pertama dan keempat yang artinya pH formula 1 dan 2 tidak stabil selama 4 minggu penyimpanan, namun hasil uji statistik terhadap pH menunjukkan bahwa formula 3 mengalami perubahan pH yang berbeda secara tidak bermakna ( $p > 0,05$ ) pada minggu pertama dan keempat yang artinya pH formula 3 stabil selama 4 minggu penyimpanan.

Hasil uji statistik terhadap pH pada suhu 40°C menunjukkan bahwa ketiga formula sediaan mikroemulsi mengalami perubahan pH yang berbeda secara tidak bermakna ( $p > 0,05$ ) pada minggu pertama dan keempat yang artinya pH ketiga formula mikroemulsi stabil selama 4 minggu penyimpanan. Penurunan pH menjadi lebih asam kemungkinan dapat terjadi karena terbentuknya produk degradasi dari vitamin C palmitat menjadi senyawa pembentuknya yaitu vitamin C dan asam palmitat. Vitamin C memiliki pH rendah yaitu berada pada kisaran 2,1-2,6, sehingga dapat dikatakan bahwa sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat mengalami perubahan pH menjadi lebih asam seiring lama waktu penyimpanan dan memberikan stabilitas kimia yang kurang baik.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

1. Sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat dengan kombinasi tween 20 dan span 80 memberikan stabilitas fisik sediaan mikroemulsi kurang baik karena mengalami perubahan warna menjadi lebih gelap dan ukuran globul yang lebih dari  $0,1\ \mu\text{m}$  serta nampak adanya koalesen seiring lamanya waktu penyimpanan, namun sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat tidak terlihat adanya pemisahan dua fase selama penyimpanan 4 minggu baik pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$  maupun  $40^{\circ}\text{C}$ .
2. Sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat dengan kombinasi tween 20 dan span 80 memberikan stabilitas kimia sediaan mikroemulsi kurang baik karena vitamin C palmitat mengalami penurunan kadar dan pH sediaan menjadi lebih asam seiring lamanya waktu penyimpanan.

#### **B. Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menambahkan *gelling agent* karena viskositas sediaan mikroemulsi yang dihasilkan sangat encer dan penggunaan surfaktan lainnya yang memberikan stabilitas lebih baik.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan mempertimbangkan faktor-faktor lain yang menyebabkan ketidakstabilan vitamin C palmitat seperti pengaruh cahaya, kelembaban dan wadah penyimpanan sediaan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Spiclin, P., Gasperlin, M., Kmetec, V., 2001, Stability of ascorbyl palmitate in topical microemulsions, *Int.J.Pharm.*, 222 : 271-279.
2. Tenjarla, S., 1999, Microemulsions: an overview and pharmaceutical applications, *Crit.Rev. Ther.Drug Carrier Syst.*,16:461–521.
3. Jurkovic, P., Sentjerc M., Gasperlin, M., Pecar, S., 2003, Skin protection against ultraviolet induced free radicals with ascorbyl palmitate in microemulsions, *Int.J.Pharm.*, 56 : 59-66.
4. Rukmini, A., Raharjo, S., Hastutui, P., Supriyadi, S., 2012, Formulation and stability of water in virgin coconut oil microemulsion using ternary food grade nonionic surfactants, *Int.Food.Res.J.*,19 (1): 259-264.
5. Grampurohit, N., Ravikumar, P., Mallya, R., 2006, Microemulsions for topical use a review, *Ind.J.Pharm.Edu.Res.*, 45 (1) : 100-105.
6. Li, P., Ghosh, A., Wagner, R.F., Krill, S., Joshi, Y.M., Serajuddin, A.T.M., 2005, Effect of combined use of nonionic surfactant on formation of oil-in water microemulsions., *Int. J.Pharm.*, 288 : 27-34.
7. Tadros, T.F., 2005, *Applied surfactants*, ISBN, United Kingdom, 18-28.
8. Pakpayat, N., Nielloud, F., Fortune, R., Peteilh, C.T, Villarreal, A., Grillo, I., Bataille B., 2009, Formulation of ascorbic acid microemulsions with alkyl polyglycosides, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 72 : 444-452.
9. Anjali, C.H., Dash, M., Chandrasekaran, N., Mukherjee, A., 2010, Anti bacterial activity of sunflower oil microemulsion, *Int.J.Pharm.*, 2 : 123-128.
10. Julian, E., 2005, *Microemulsions*, In Cosgrove Terence, Colloid science, Blackwell publishing, Bristol UK, 77-96.
11. Paul, B.K., Moulik, S.P., 2001, Uses and Applications of microemulsion., *Special section:soft condensed matter*, 80(8): 990-1000.
12. Parekh, K., 2011, Preparation characterization and in vitro protein releasing studies in pharmaceutically relevant lecithin microemulsions, *Disertasi*, master of science degree in pharmaceutical sciences the university of Toledo, India
13. Talegaonkar, S., Azeem, A., Ahmad, J.F., Khar, R.K., Pathan, S.A., Khan, Z.I., 2008, Microemulsion: A novel approach to enhanced drug delivery, *Recent.Pat.Drug.Deliv.Formul.*, 2 : 238-257.

14. Lawrence, M.J., Rees, G.D., 2000, Microemulsion-based media as novel drug delivery systems, *Adv. Drug. Del. Rev.*, 45: 89–121.
15. Kumar, K.S., Dhachinamoorthi, D., Saravanan, R., Gopal, U.K., 2011 Microemulsion as carrier for novel drug delivery a review, *Int.J.Pharm.*, 10 (007) : 37-43.
16. Jufri, M., Binu, A., Rahmawati, J., 2004, Formulasi gameksan dalam bentuk mikroemulsi, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1(3) : 160 – 174.
17. Banker, G.S., Rhodes, C.T., 2003, *Modern Pharmaceutics*, Fourth Edition, , Marcel Dekker Inc, New York, p. 299-310.
18. Danchen, G., David, D., Ajit, S.N., 2007, Stable drug encapsulation in micelles and microemulsions, *Int.J.Pharm.*, 345 : 9–25.
19. Mutschler E., 1991, *Dinamika Obat*, Edisi 5, Penerbit ITB, Bandung, 606-507.
20. Weller, P.J., 2006, Ascorbyl Palmitat, In Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Quinn, M.E., *Handbook Of Pharmaceutical Excipients*, Sixth Edition, Pharmaceutical press, Washington DC, USA, 46-47.
21. Gupta, C., Goyal, S., 2011, Cosmeceuticals beauty behind plants, *J.Pharm. Res.*, 4 : 56-57.
22. Lee, J.S., Kim, J.W., Han, S.H., Chang, I.S., Kang, H.H., Lee, O.S., OH, S.G., Suh, K.D., 2004, The stabilization of L-ascorbic acid in aqueous solution and water in oil in water double emulsion by controlling pH and electrolyte concentration, *J. Cosmet. Sci.*, 55 : 1-12.
23. Keller, K.L., Fenske, N.A., 1998., Uses of vitamins A, C and E and related compounds dermatology: a review, *J. Am.Acad.Dermatol.*, 39 : 611–625.
24. Darr, D., Combs, S., Dunston, S., Manning, T., Pinell, S., 1992, Topical vitamin C protects porcine skin from ultraviolet radiation-induced damage, *Brit. J. Dermatol.*, 127 : 247–253.
25. Taylor, A.K., 2006, Isopropyl Miristat, In Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Quinn, M.E., *Handbook Of Pharmaceutical Excipients*, Sixth Edition, Pharmaceutical press, Washington DC, USA, 348-349.
26. Zhang, D., 2006, Polyoxyethylene Sorbitan Acid Ester, In Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Quinn, M.E., *Handbook Of Pharmaceutical Excipients*, Sixth Edition, Pharmaceutical press, Washington DC, USA, 549-552.

27. Zhang, D., 2006, Sorbitan Esters (Sorbitan Fatty Acid Esters), In Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Quinn, M.E., *Handbook Of Pharmaceutical Excipients*, Sixth Edition, Pharmaceutical press, Washington DC, USA, 675-678.
28. Dubash, D., 2006, Water, In Rowe, R.C., Sheskey, P.J., Quinn, M.E., *Handbook Of Pharmaceutical Excipients*, Sixth Edition, Pharmaceutical press, Washington DC, USA, 766-769.
29. Rohman, A, Gandjar, G.I., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Cetakan kedua, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 378-406.
30. Hidayanti, A.V., 2011, Formulasi sediaan mikrogel ekstrak herba pegangan ( Centela asiatica (L). Urban) dengan variasi kadar tween 80 menggunakan teknik pembuatan mikroemulsi, *Skripsi*, Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
31. Kori, Y., 2010, Formulasi mikroemulsi minyak kelapa murni (*Virgin coconut oil*) dengan tween 80 sebagai surfaktan, *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan alam Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka, Jakarta, 22-26.
32. Harmita, 2004, Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1 (3) : 117-135.
33. AOAC, 2002, *AOAC Guideline for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals*, AOAC international, USA.
34. Watson, D.G., 2007, *Analisis farmasi*, Edisi kedua, diterjemahkan oleh Syarief, W.R., EGC, Jakarta, 8-19.
35. Gasperlin, M., Pecar, S., Obreza, A., Gosenca, M., 2010, A new approach for increasing ascorbyl palmitate stability by addition as non-irritant co-antioxidant, *Pharm.Sci.Tech.*, 11 (3) : 1485-1492.
36. Ong, J.T.H., Rutherford, B.S., Wich, A.G., 1981, Formation of N-nitrosodiethanolamine from the peroxidation of diethanolamine, *J.Suc.Cosmet.Chem.*, 32 : 75-85.
37. Campos, M., Goncalves, G.M.F., P.M.B.G., 2009, Shelf life and rheology of emulsion containing vitamin C and its derivatives, *J.Bas and applied pharm.Sci.*, 30 (2) : 217-224.

**Lampiran 1.** Hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi

a. Penetapan kadar vitamin C palmitat sebelum perlakuan

1. Penetapan kurva baku

| Seri kadar | Area under curve (AUC) |
|------------|------------------------|
| 600 ppm    | 18746, 4024            |
| 300 ppm    | 9306, 9204             |
| 100 ppm    | 3414, 3004             |
| 40 ppm     | 1510, 7512             |
| 10 ppm     | 308, 3264              |
| 8 ppm      | 223, 9252              |
| 4 ppm      | 83, 0984               |

Berdasarkan data pada tabel diatas kemudian data tersebut dimasukkan dalam regresi linier dengan fungsi x sebagai kadar, fungsi y sebagai AUC dan diperoleh hasil dari regresi linier sebagai berikut :

$$a = 80,88$$

$$b = 31,09$$

$$r = 0,99$$

Sehingga, diperoleh persamaan kurva baku:  $y = 31,0994x + 80,8757$ .

2. Penetapan Akurasi

| Seri kadar | Area under curve ( AUC) |
|------------|-------------------------|
| 300 ppm    | 5101, 3108              |
| 40 ppm     | 841, 3988               |
| 8 ppm      | 230, 6913               |

Berdasarkan data pada tabel diatas kemudian data tersebut dimasukkan dalam regresi linier dengan fungsi x sebagai kadar, fungsi y sebagai AUC dan diperoleh hasil dari regresi linier sebagai berikut :

**Lampiran 1** (lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

$$a = 136,12$$

$$b = 16,57$$

$$r = 0,99$$

Sehingga, diperoleh persamaan kurva baku:  $y = 16,57x + 136,12$ . Dari persamaan kurva baku kemudian dapat ditentukan kadar vitamin C palmitat yang terbaca (nilai x) dengan substitusi nilai AUC pada fungsi y dari persamaan kurva baku. Kadar yang terbaca dimasukkan dalam rumus % akurasi seperti berikut ini :

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

% akurasi yang diperoleh seperti pada tabel .

| Seri kadar | % Akurasi (Rata-rata $\pm$ SD) |
|------------|--------------------------------|
| 300 ppm    | 99,91 $\pm$ 6,01               |
| 40 ppm     | 106,43 $\pm$ 1,21              |
| 8 ppm      | 71,36 $\pm$ 0,35               |

## 3. Penetapan presisi

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

**Lampiran 1** (lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

## 4. Penetapan linieritas, LOD dan LOQ

Berdasarkan data yang diperoleh pada penetapan kurva baku diketahui bahwa nilai linieritas (r) sebesar 0,9992.

| Kadar (x) | AUC (Yi)    | Yr*         | (Yi-Yr) <sup>2</sup>   |
|-----------|-------------|-------------|------------------------|
| 600 ppm   | 18746, 4024 | 18740, 5157 | 34, 6532               |
| 300 ppm   | 9306, 9204  | 9110, 6957  | 38504, 1328            |
| 100 ppm   | 3414, 3004  | 3190, 8157  | 49945, 4111            |
| 40 ppm    | 1510, 7512  | 1324, 8517  | 34558, 6241            |
| 10 ppm    | 308, 3264   | 391, 8697   | 6979, 4829             |
| 8 ppm     | 223, 9252   | 329, 6709   | 11182, 153             |
| 4 ppm     | 83, 0984    | 205, 2733   | 14926, 7061            |
|           |             |             | $\Sigma = 156131,1632$ |

Keterangan : \* = hasil dari substitusi nilai x pada persamaan kurva baku  $y = 31,0994x + 80,8757$  dengan nilai x adalah kadar sebenarnya.

Nilai total  $(Yi-Yr)^2$  pada tabel diatas digunakan untuk menentukan nilai  $Sy/x$  untuk menentukan nilai LOD dan LOQ .

$$— = \frac{\Sigma(Yi - Yr)^2}{N - 2}$$

$$LOD = 3,3 \times \frac{—}{b} = 3,3 \times \frac{176,7094}{31,0994} = 18,75 \text{ ppm}$$

$$LOQ = \frac{10}{b} = 10 \times \frac{176,7094}{31,0994} = 56,82 \text{ ppm}$$

**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

5) Penetapan kadar

| Formula | AUC      | Kadar (Rata-rata $\pm$ SD) |
|---------|----------|----------------------------|
| F1      | 8270, 27 | 263, 33 $\pm$ 1,33         |
| F2      | 6632, 32 | 210, 66 $\pm$ 2,51         |
| F3      | 7288, 07 | 231, 75 $\pm$ 1,39         |

**I. Hasil uji stabilitas sediaan mikroemulsi Setelah perlakuan**

1. Minggu ke-1

A. Uji stabilitas fisik

1) Uji organoleptis

- a. Gambar sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat minggu ke-1 (25<sup>0</sup>C) untuk formula 1, formula 2 dan Formula 3.



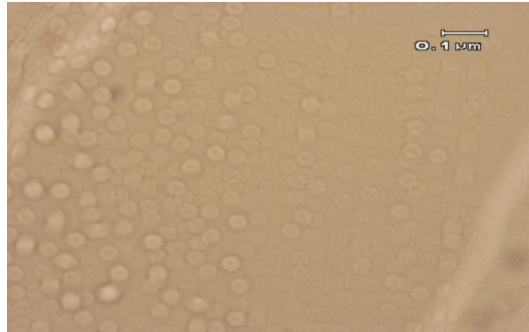
- b. Gambarsediaan mikroemulsi vitamin C palmitat minggu ke-1 (40<sup>0</sup>C) untuk formula 1, formula 2 dan formula 3.



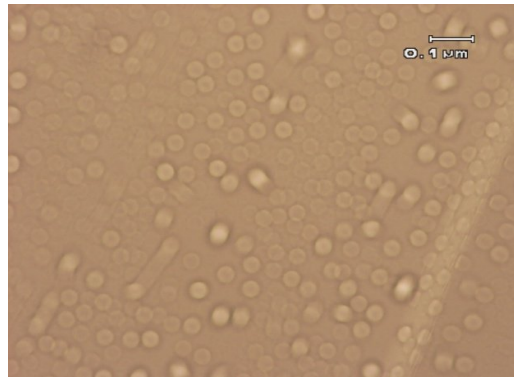
**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

## 2) Penetapan ukuran globul

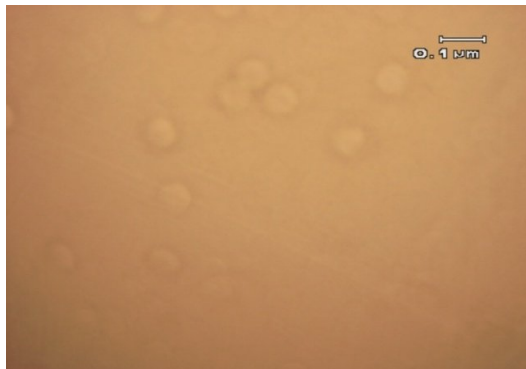
- a. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 1 (25°C)



- b. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 3 (25°C).



- c. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 1 (40°C).



**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

- d. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 3 (40<sup>0</sup>C).



3. Uji pemisahan dua fase

- a. Tabel pemisahan dua fase sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat (25<sup>0</sup>C)

| Formula | Repitasi | Pemisahan dua fase |
|---------|----------|--------------------|
| 1       | 1        | -                  |
|         | 2        | -                  |
|         | 3        | -                  |
| 2       | 1        | -                  |
|         | 2        | -                  |
|         | 3        | -                  |
| 3       | 1        | -                  |
|         | 2        | -                  |
|         | 3        | -                  |

- b. Tabel pemisahan dua fase sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat (40<sup>0</sup>C)

| Formula | Repitasi | Pemisahan dua fase |
|---------|----------|--------------------|
| 1       | 1        | -                  |
|         | 2        | -                  |
|         | 3        | -                  |
| 2       | 1        | -                  |
|         | 2        | -                  |
|         | 3        | -                  |
| 3       | 1        | -                  |
|         | 2        | -                  |
|         | 3        | -                  |

**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)**B. Stabilitas kimia****1) Penetapan kadar vitamin C palmitat**

- a. Data AUC dan kadar vitamin C palmitat tiap formula suhu 25°C da 40 °C pada hari pertama

| <b>Formula/repitasi/hari/suhu</b> | <b>AUC</b> | <b>Kadar (Rata-rata<math>\pm</math>SD)</b> |
|-----------------------------------|------------|--------------------------------------------|
| F1_R1_H1_25                       | 209,5824   | 207,84 $\pm$ 3,46                          |
| F1_R2_H1_25                       | 203,8607   |                                            |
| F1_R3_H1_25                       | 210,0813   |                                            |
| F2_R1_H1_25                       | 213,4784   | 215,12 $\pm$ 2,15                          |
| F2_R2_H1_25                       | 217,5475   |                                            |
| F2_R3_H1_25                       | 214,3252   |                                            |
| F3_R1_H1_25                       | 204,7098   | 205,03 $\pm$ 0,38                          |
| F3_R2_H1_25                       | 204,9276   |                                            |
| F3_R3_H1_25                       | 205,4518   |                                            |
| F1_R1_H1_40                       | 223,7723   | 225,74 $\pm$ 2,38                          |
| F1_R2_H1_40                       | 225,0642   |                                            |
| F1_R3_H1_40                       | 228,3840   |                                            |
| F2_R1_H1_40                       | 239,5453   | 241,83 $\pm$ 2,20                          |
| F2_R2_H1_40                       | 242,0104   |                                            |
| F2_R3_H1_40                       | 243,9414   |                                            |
| F3_R1_H1_40                       | 215,9269   | 234,78 $\pm$ 16,33                         |
| F3_R2_H1_40                       | 244,7781   |                                            |
| F3_R3_H1_40                       | 243,6219   |                                            |

**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

- c. Data AUC dan kadar vitamin C palmitat tiap formula suhu 25°C da 40 °C pada hari kedua

| <b>Formula/repitasi/hari/suhu</b> | <b>AUC</b> | <b>Kadar (Rata-rata±SD)</b> |
|-----------------------------------|------------|-----------------------------|
| F1_R1_H2_25                       | 226,0180   | 223,62±2,16                 |
| F1_R2_H2_25                       | 222,9945   |                             |
| F1_R3_H2_25                       | 221,8381   |                             |
| F2_R1_H2_25                       | 212,3937   | 212,16±0,72                 |
| F2_R2_H2_25                       | 211,3600   |                             |
| F2_R3_H2_25                       | 212,7359   |                             |
| F3_R1_H2_25                       | 225,7102   | 227,19±1,59                 |
| F3_R2_H2_25                       | 228,8651   |                             |
| F3_R3_H2_25                       | 226,9811   |                             |
| F1_R1_H2_40                       | 194,8315   | 195,28±0,77                 |
| F1_R2_H2_40                       | 194,8279   |                             |
| F1_R3_H2_40                       | 196,1660   |                             |
| F2_R1_H2_40                       | 165,7726   | 164,63±1,02                 |
| F2_R2_H2_40                       | 164,3250   |                             |
| F2_R3_H2_40                       | 163,8013   |                             |
| F3_R1_H2_40                       | 170,9921   | 173,37±2,31                 |
| F3_R2_H2_40                       | 175,5961   |                             |
| F3_R3_H2_40                       | 173,5242   |                             |

**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

- d. Data AUC dan kadar vitamin C palmitat tiap formula suhu 25°C da 40 °C pada hari ketujuh

| Formula/repitasi/hari/suhu | AUC      | Kadar (Rata-rata±SD) |
|----------------------------|----------|----------------------|
| F1_R1_H7_25                | 159,3098 | 161,11±1,60          |
| F1_R2_H7_25                | 162,3753 |                      |
| F1_R3_H7_25                | 161,6377 |                      |
| F2_R1_H7_25                | 175,8054 | 175,83±0,05          |
| F2_R2_H7_25                | 175,7944 |                      |
| F2_R3_H7_25                | 175,8839 |                      |
| F3_R1_H7_25                | 180,8932 | 180,73±1,71          |
| F3_R2_H7_25                | 178,9386 |                      |
| F3_R3_H7_25                | 182,3535 |                      |
| F1_R1_H7_40                | 108,5976 | 108,28±0,74          |
| F1_R2_H7_40                | 108,8132 |                      |
| F1_R3_H7_40                | 107,4422 |                      |
| F2_R1_H7_40                | 125,8128 | 125,94±0,66          |
| F2_R2_H7_40                | 125,3488 |                      |
| F2_R3_H7_40                | 126,6459 |                      |
| F3_R1_H7_40                | 124,9383 | 125,02±0,08          |
| F3_R2_H7_40                | 125,1009 |                      |
| F3_R3_H7_40                | 125,0291 |                      |

**2. Minggu ke-2**

- a. Uji stabilitas fisik

## 1) Uji organoleptis

- a. Hasil uji organoleptis sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat (25°C)

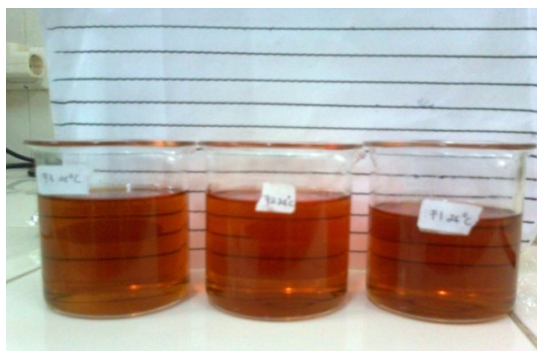
| Formula    | Organoleptis |                    |      |
|------------|--------------|--------------------|------|
|            | Bentuk       | warna              | Bau  |
| F1 (1 : 2) | Larutan      | Kuning tua, jernih | Khas |
| F2 (1 : 3) | Larutan      | Kuning tua, jernih | Khas |
| F3 (1 : 4) | Larutan      | Kuning tua, jernih | Khas |

**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

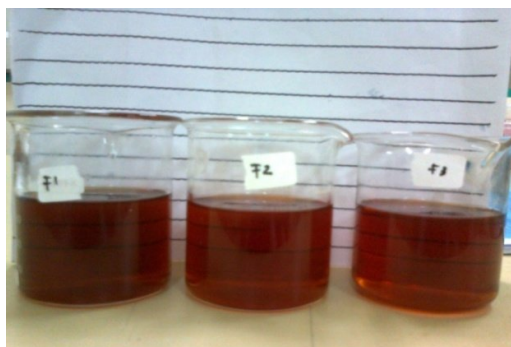
b. Hasil uji organoleptis sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat (40°C)

| Formula    | Organoleptis |                       |      |
|------------|--------------|-----------------------|------|
|            | Bentuk       | warna                 | Bau  |
| F1 (1 : 2) | Larutan      | Merah bata,<br>jernih | Khas |
| F2 (1 : 3) | Larutan      | Merah bata,<br>jernih | Khas |
| F3 (1 : 4) | Larutan      | Merah bata,<br>jernih | Khas |

c. Gambar sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat minggu ke-2 (25°C) untuk formula 1, formula 2 dan Formula 3.



d. Gambar sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat minggu ke-2 (40°C) untuk formula 1, formula 2 dan Formula 3.



**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

## 2) Uji viskositas

## a. Tabel viskositas sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat suhu 25°C

| Formula | Repitasi                              | Viskositas (Cps) |
|---------|---------------------------------------|------------------|
| 1       | 1                                     | 86,70            |
|         | 2                                     | 86,30            |
|         | 3                                     | 85,70            |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 86,23 $\pm$ 0,50  |                  |
| 2       | 1                                     | 221,70           |
|         | 2                                     | 219,30           |
|         | 3                                     | 218,70           |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 219,90 $\pm$ 1,59 |                  |
| 3       | 1                                     | 225,60           |
|         | 2                                     | 223,80           |
|         | 3                                     | 220,50           |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 223,30 $\pm$ 2,59 |                  |

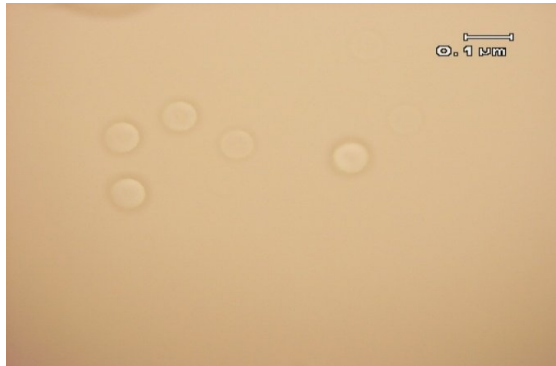
## b. Tabel viskositas sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat suhu 40°C

| Formula | Repitasi                             | Viskositas (Cps) |
|---------|--------------------------------------|------------------|
| 1       | 1                                    | 45,10            |
|         | 2                                    | 47,60            |
|         | 3                                    | 45,10            |
|         | Rata-rata $\pm$ SD=45,93 $\pm$ 1,44  |                  |
| 2       | 1                                    | 55,80            |
|         | 2                                    | 53,40            |
|         | 3                                    | 56,40            |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 55,20 $\pm$ 1,59 |                  |
| 3       | 1                                    | 56,70            |
|         | 2                                    | 57,20            |
|         | 3                                    | 56,10            |
|         | Rata-rata $\pm$ SD=56,68 $\pm$ 0,55  |                  |

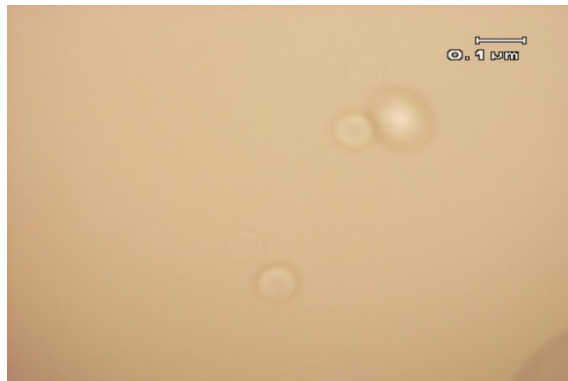
**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

## 3) Penetapan ukuran globul

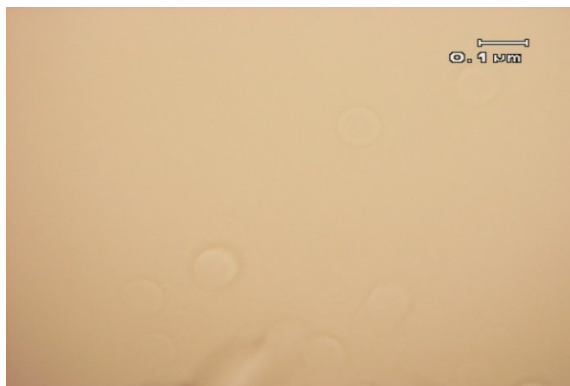
- a. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 1 (25°C).



- b. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 2 (25°C).



- c. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 3 (25°C).

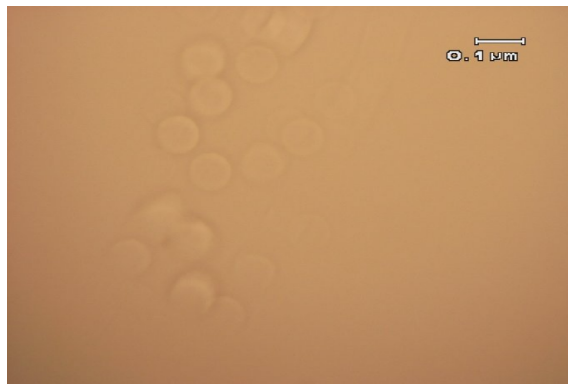


**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

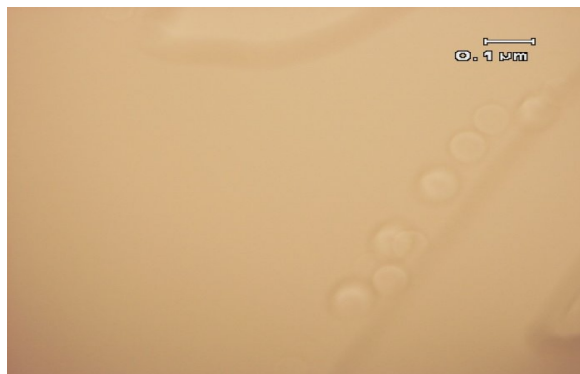
- d. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 1 (40°C).



- e. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 2 (40°C).



- f. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 3 (40°C).



**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

## 4. Uji pemisahan dua fase

- a. Tabel pemisahan dua fase sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat suhu 25°C dan 40 °C

| Formula | Repitasi | Pemisahan dua fase |
|---------|----------|--------------------|
| 1       | 1        | -                  |
|         | 2        | -                  |
|         | 3        | -                  |
| 2       | 1        | -                  |
|         | 2        | -                  |
|         | 3        | -                  |
| 3       | 1        | -                  |
|         | 2        | -                  |
|         | 3        | -                  |

**b. Stabilitas kimia**

## 1) Penetapan pH

- a. Tabel pH sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat tiap formula (25°C)

| Formula | Repitasi                            | pH   |
|---------|-------------------------------------|------|
| 1       | 1                                   | 4,73 |
|         | 2                                   | 4,75 |
|         | 3                                   | 4,72 |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 4,73 $\pm$ 0,01 |      |
| 2       | 1                                   | 5,21 |
|         | 2                                   | 5,21 |
|         | 3                                   | 5,19 |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 5,20 $\pm$ 0,01 |      |
| 3       | 1                                   | 5,23 |
|         | 2                                   | 5,23 |
|         | 3                                   | 5,24 |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 5,23 $\pm$ 0,01 |      |

**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

b. Tabel pH sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat tiap formula (40°C)

| Formula | Repitasi                 | pH   |
|---------|--------------------------|------|
| 1       | 1                        | 4,81 |
|         | 2                        | 4,85 |
|         | 3                        | 4,83 |
|         | Rata-rata±SD= 4,83± 0,02 |      |
| 2       | 1                        | 5,01 |
|         | 2                        | 5,01 |
|         | 3                        | 5,02 |
|         | Rata±SD= 5,01± 0,01      |      |
| 3       | 1                        | 5,15 |
|         | 2                        | 5,10 |
|         | 3                        | 5,12 |
|         | Rata-rata±SD= 5,12± 0,03 |      |

2) Penetapan kadar vitamin C palmitat

a. Tabel data AUC dan kadar vitamin C palmitat hari keempat belas 25°C dan 40°C

| Formula/repitasi/hari/suhu | AUC      | Kadar (Rata-rata±SD) |
|----------------------------|----------|----------------------|
| F1_R1_H14_25               | 158,8388 | 160,31±1,91          |
| F1_R2_H14_25               | 162,4646 |                      |
| F1_R3_H14_25               | 159,6314 |                      |
| F2_R1_H14_25               | 166,8688 | 166,65±0,79          |
| F2_R2_H14_25               | 165,7764 |                      |
| F2_R3_H14_25               | 167,3115 |                      |
| F3_R1_H14_25               | 164,5047 | 166,26±2,22          |
| F3_R2_H14_25               | 165,5178 |                      |
| F3_R3_H14_25               | 168,7502 |                      |
| F1_R1_H14_40               | 70,9623  | 70,40±0,70           |
| F1_R2_H14_40               | 69,6149  |                      |
| F1_R3_H14_40               | 70,6323  |                      |
| F2_R1_H14_40               | 73,0771  | 74,62±1,34           |
| F2_R2_H14_40               | 75,5036  |                      |
| F2_R3_H14_40               | 75,2850  |                      |
| F3_R1_H14_40               | 75,5848  | 75,65±0,87           |
| F3_R2_H14_40               | 76,5585  |                      |
| F3_R3_H14_40               | 74,8210  |                      |

**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)**3. Minggu ke-3**

## a. Uji stabilitas fisik

## 1) Uji organoleptis

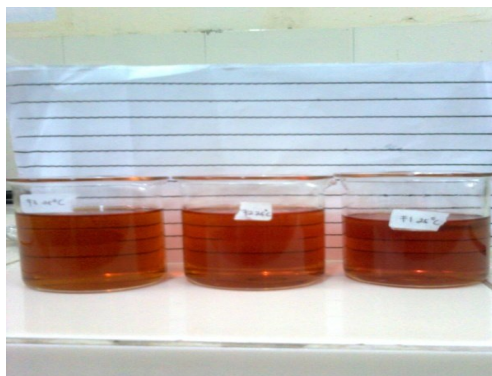
## a. Tabel hasil uji organoleptis sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat (25°C)

| Formula    | Organoleptis |                       |      |
|------------|--------------|-----------------------|------|
|            | Bentuk       | warna                 | Bau  |
| F1 (1 : 2) | Larutan      | Kuning tua,<br>jernih | Khas |
| F2 (1 : 3) | Larutan      | Kuning tua,<br>jernih | Khas |
| F3 (1 : 4) | Larutan      | Kuning tua,<br>jernih | Khas |

## b. Tabel hasil uji organoleptis sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat (40°C)

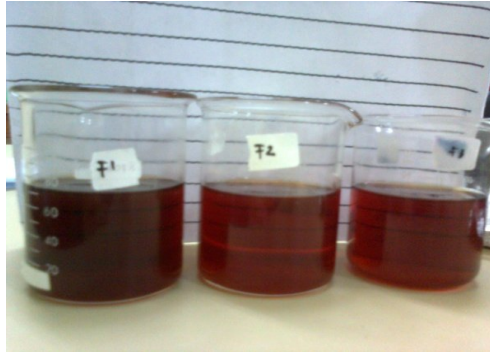
| Formula    | Organoleptis |                       |      |
|------------|--------------|-----------------------|------|
|            | Bentuk       | warna                 | Bau  |
| F1 (1 : 2) | Larutan      | Merah bata,<br>jernih | Khas |
| F2 (1 : 3) | Larutan      | Merah bata,<br>jernih | Khas |
| F3 (1 : 4) | Larutan      | Merah bata,<br>jernih | Khas |

## c. Gambar sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat minggu ke-3 (25°C) untuk formula 1, formula 2 dan Formula 3.



**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

- d. Gambar sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat minggu ke-3 (40°C) untuk formula 1, formula 2 dan Formula 3.



2) Uji viskositas

- a. Tabelviskositas sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat suhu 25°C

| Formula | Repitasi                               | Viskositas (Cps) |
|---------|----------------------------------------|------------------|
| 1       | 1                                      | 81,90            |
|         | 2                                      | 82,70            |
|         | 3                                      | 83,50            |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 82,70 $\pm$ 0,8    |                  |
| 2       | 1                                      | 202,80           |
|         | 2                                      | 206,10           |
|         | 3                                      | 207,90           |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 205,60 $\pm$ 2,587 |                  |
| 3       | 1                                      | 207,00           |
|         | 2                                      | 208,50           |
|         | 3                                      | 214,80           |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 210,10 $\pm$ 4,14  |                  |

**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

b. Tabel viskositas sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat suhu 40°C

| Formula | Repitasi                              | Viskositas (Cps) |
|---------|---------------------------------------|------------------|
| 1       | 1                                     | 77,1             |
|         | 2                                     | 73,8             |
|         | 3                                     | 77,1             |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 76 $\pm$ 1,91     |                  |
| 2       | 1                                     | 91,1             |
|         | 2                                     | 89,3             |
|         | 3                                     | 90,7             |
|         | Rata-rata $\pm$ SD=90,38 $\pm$ 0,95   |                  |
| 3       | 1                                     | 101,1            |
|         | 2                                     | 100,9            |
|         | 3                                     | 102,5            |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 101,50 $\pm$ 0,87 |                  |

3) Penetapan ukuran globul

a. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 1 (25°C).

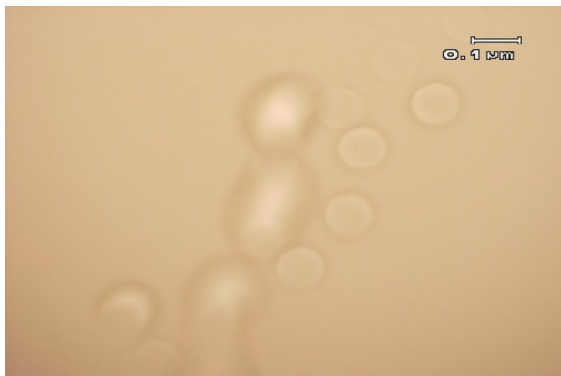


**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

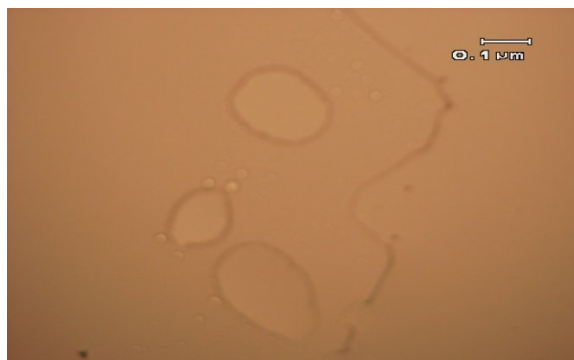
- b. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 2 (25°C).



- c. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 3 (25°C).



- d. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 1 (40°C).

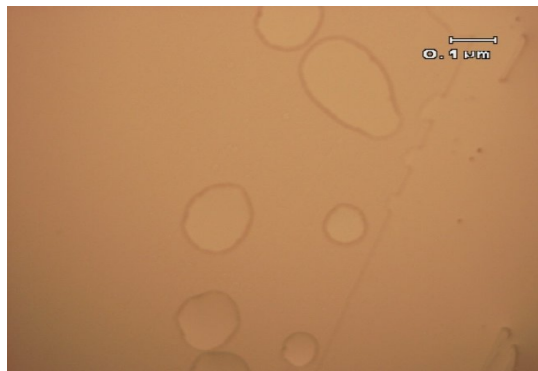


**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

- e. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 2 (40°C).



- f. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 3 (40°C).



4) Uji pemisahan dua fase

- a. Tabel pemisahan dua fase sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat suhu 25°C dan 40°C

| Formula | Repitasi | Pemisahan dua fase |
|---------|----------|--------------------|
| 1       | 1        | -                  |
|         | 2        | -                  |
|         | 3        | -                  |
| 2       | 1        | -                  |
|         | 2        | -                  |
|         | 3        | -                  |
| 3       | 1        | -                  |
|         | 2        | -                  |
|         | 3        | -                  |

**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)**b. Stabilitas kimia**

## 1) Penetapan pH

## a. Tabel pH sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat tiap formula (25°C)

| Formula | Repitasi                            | pH   |
|---------|-------------------------------------|------|
| 1       | 1                                   | 4,78 |
|         | 2                                   | 4,76 |
|         | 3                                   | 4,77 |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 4,77 $\pm$ 0,01 |      |
| 2       | 1                                   | 5,21 |
|         | 2                                   | 5,22 |
|         | 3                                   | 5,20 |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 5,21 $\pm$ 0,01 |      |
| 3       | 1                                   | 5,21 |
|         | 2                                   | 5,22 |
|         | 3                                   | 5,22 |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 5,22 $\pm$ 0,01 |      |

## b. Tabel pH sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat tiap formula (40°C)

| Formula | Repitasi                    | pH   |
|---------|-----------------------------|------|
| 1       | 1                           | 4,78 |
|         | 2                           | 4,75 |
|         | 3                           | 4,74 |
|         | X $\pm$ SD= 4,76 $\pm$ 0,02 |      |
| 2       | 1                           | 4,96 |
|         | 2                           | 4,92 |
|         | 3                           | 4,91 |
|         | X $\pm$ SD= 4,93 $\pm$ 0,03 |      |
| 3       | 1                           | 5,06 |
|         | 2                           | 5,02 |
|         | 3                           | 5,01 |
|         | X $\pm$ SD= 5,03 $\pm$ 0,03 |      |

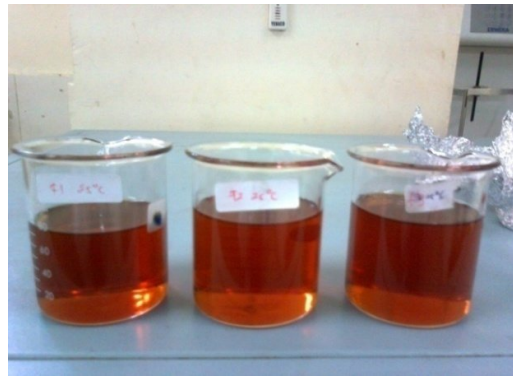
**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

**4. Minggu ke-4**

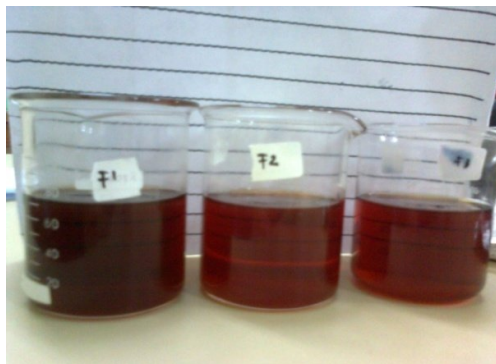
**a. Uji stabilitas fisik**

1) Uji organoleptis

- a. Gambar sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat minggu ke-4 (25°C) untuk formula 1, formula 2 dan formula 3.



- b. Gambar sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat minggu ke-4 (40°C) untuk formula 1, formula 2 dan formula 3.



**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

## 2) Uji viskositas

## a. Tabel viskositas sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat suhu 25°C

| Formula | Repitasi                              | Viskositas (Cps) |
|---------|---------------------------------------|------------------|
| 1       | 1                                     | 99,8             |
|         | 2                                     | 97,8             |
|         | 3                                     | 98,7             |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 98,77 $\pm$ 1,00  |                  |
| 2       | 1                                     | 117,5            |
|         | 2                                     | 117,0            |
|         | 3                                     | 116,5            |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 117 $\pm$ 0,50    |                  |
| 3       | 1                                     | 112,2            |
|         | 2                                     | 111,2            |
|         | 3                                     | 111,0            |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 111,47 $\pm$ 0,64 |                  |

## b. Tabelviskositas sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat suhu 40°C

| Formula | Repitasi                    | Viskositas (Cps) |
|---------|-----------------------------|------------------|
| 1       | 1                           | 83,9             |
|         | 2                           | 84,5             |
|         | 3                           | 85,8             |
|         | X $\pm$ SD=84,73 $\pm$ 0,97 |                  |
| 2       | 1                           | 85,5             |
|         | 2                           | 85,9             |
|         | 3                           | 85,7             |
|         | X $\pm$ SD= 85,7 $\pm$ 0,2  |                  |
| 3       | 1                           | 98,1             |
|         | 2                           | 96,1             |
|         | 3                           | 98,0             |
|         | X $\pm$ SD= 97,4 $\pm$ 1,13 |                  |

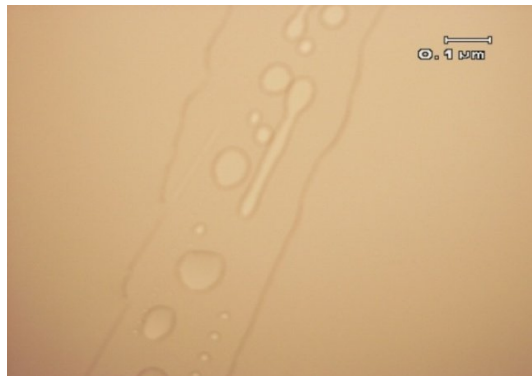
**Lampiran 1** (lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

## 3) Penetapan ukuran globul

- a. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 1 (25°C).



- b. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 3 (25°C).



- c. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 1 (40°C).



**Lampiran 1** (lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

- d. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 2 (40°C).



- e. Gambar bentuk globul sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat formula 3 (40°C).



4) Uji pemisahan dua fase

- a. Tabel pemisahan dua fase sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat tiap formula suhu 25°C dan 40 °C pada minggu ke-28

| Formula | Repitasi | Pemisahan dua fase |
|---------|----------|--------------------|
| 1       | 1        | -                  |
|         | 2        | -                  |
|         | 3        | -                  |
| 2       | 1        | -                  |
|         | 2        | -                  |
|         | 3        | -                  |
| 3       | 1        | -                  |
|         | 2        | -                  |
|         | 3        | -                  |

**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)**b. Stabilitas kimia**

## 1) Penetapan pH

## a. Tabel pH sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat tiap formula (25°C)

| Formula | Repitasi                             | pH   |
|---------|--------------------------------------|------|
| 1       | 1                                    | 4,65 |
|         | 2                                    | 4,64 |
|         | 3                                    | 4,63 |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 4,64 $\pm$ 0,01  |      |
| 2       | 1                                    | 5,06 |
|         | 2                                    | 5,08 |
|         | 3                                    | 5,07 |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 5,07 $\pm$ 0,01  |      |
| 3       | 1                                    | 5,13 |
|         | 2                                    | 5,12 |
|         | 3                                    | 5,12 |
|         | Rata-rata $\pm$ SD= 5,123 $\pm$ 0,01 |      |

## b. Tabel pH sediaan mikroemulsi vitamin C palmitat tiap formula (40°C)

| Formula | Repitasi                    | pH   |
|---------|-----------------------------|------|
| 1       | 1                           | 4,67 |
|         | 2                           | 4,68 |
|         | 3                           | 4,66 |
|         | X $\pm$ SD= 4,67 $\pm$ 0,01 |      |
| 2       | 1                           | 4,88 |
|         | 2                           | 4,84 |
|         | 3                           | 4,87 |
|         | X $\pm$ SD= 4,86 $\pm$ 0,02 |      |
| 3       | 1                           | 4,88 |
|         | 2                           | 4,88 |
|         | 3                           | 4,87 |
|         | X $\pm$ SD= 4,88 $\pm$ 0,01 |      |

**Lampiran 1**(lanjutan hasil uji sifat kimia dan stabilitas sediaan mikroemulsi)

## 2) penetapan kadar

- a. Tabel data AUC dan kadar vitamin C palmitat tiap formula suhu 25°C dan 40°C

| <b>Formula/repitasi/hari/suhu</b> | <b>AUC</b> | <b>Kadar (Rata-rata±SD)</b> |
|-----------------------------------|------------|-----------------------------|
| F1_R1_H28_25                      | 144,7116   | 143,84±0,75                 |
| F1_R2_H28_25                      | 143,4049   |                             |
| F1_R3_H28_25                      | 143,4049   |                             |
| F2_R1_H28_25                      | 130,8340   | 129,83±0,97                 |
| F2_R2_H28_25                      | 128,8867   |                             |
| F2_R3_H28_25                      | 129,7772   |                             |
| F3_R1_H28_25                      | 147,0021   | 144,69±2,25                 |
| F3_R2_H28_25                      | 142,5025   |                             |
| F3_R3_H28_25                      | 144,5513   |                             |
| F1_R1_H28_40                      | 1,9835     | 1,30±0,61                   |
| F1_R2_H28_40                      | 0,8269     |                             |
| F1_R3_H28_40                      | 1,0904     |                             |
| F2_R1_H28_40                      | 1,9176     | 1,81±0,28                   |
| F2_R2_H28_40                      | 2,0152     |                             |
| F2_R3_H28_40                      | 1,4903     |                             |
| F3_R1_H28_40                      | 3,2542     | 4,08±1,40                   |
| F3_R2_H28_40                      | 3,2904     |                             |
| F3_R3_H28_40                      | 5,6999     |                             |

**Lampiran 2 . Analisis hasil menggunakan SPSS 16**

Setelah perlakuan

**1. Uji pH suhu 25°C**

**Tests of Normality**

|               | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |       |
|---------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|-------|
|               | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig.  |
| F1_pH_25_mgg1 | .253                            | 3  | .    | .964         | 3  | .637  |
| F1_pH_25_mgg4 | .175                            | 3  | .    | 1.000        | 3  | 1.000 |

a. Lilliefors Significance Correction

**T-Test**

**Paired Samples Test**

|                                      | Paired Differences |                   |                    |                                                 |        | t      | df | Sig.<br>(2-tailed) |
|--------------------------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------------------------------------|--------|--------|----|--------------------|
|                                      | Mean               | Std.<br>Deviation | Std. Error<br>Mean | 95% Confidence<br>Interval of the<br>Difference |        |        |    |                    |
|                                      |                    |                   |                    | Lower                                           | Upper  |        |    |                    |
| Pair 1 F1_pH_25_mgg1 - F1_pH_25_mgg4 | .21667             | .02517            | .01453             | .15415                                          | .27918 | 14.912 | 2  | .004               |

**Tests of Normality**

|               | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |       |
|---------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|-------|
|               | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig.  |
| F2_pH_25_mgg1 | .292                            | 3  | .    | .923         | 3  | .463  |
| F2_pH_25_mgg4 | .175                            | 3  | .    | 1.000        | 3  | 1.000 |

a. Lilliefors Significance Correction

**T-Test**

**Paired Samples Test**

|                                      | Paired Differences |                   |                       |                                                 |        | t      | df | Sig.<br>(2-tailed) |
|--------------------------------------|--------------------|-------------------|-----------------------|-------------------------------------------------|--------|--------|----|--------------------|
|                                      | Mean               | Std.<br>Deviation | Std.<br>Error<br>Mean | 95% Confidence<br>Interval of the<br>Difference |        |        |    |                    |
|                                      |                    |                   |                       | Lower                                           | Upper  |        |    |                    |
| Pair 1 F2_pH_25_mgg1 - F2_pH_25_mgg4 | .20667             | .02887            | .01667                | .13496                                          | .27838 | 12.400 | 2  | .006               |

**Lampiran 2**(lanjutan analisis hasil menggunakan SPSS 16)**Tests of Normality**

|               | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |       |
|---------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|-------|
|               | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig.  |
| F3_pH_25_mgg1 | .175                            | 3  | .    | 1.000        | 3  | 1.000 |
| F3_pH_25_mgg4 | .385                            | 3  | .    | .750         | 3  | .000  |

a. Lilliefors Significance Correction

**NPar Tests****Test Statistics<sup>b</sup>**

|                        | F3_pH_25_mgg4 - F3_pH_25_mgg1 |
|------------------------|-------------------------------|
| Z                      | -1.604 <sup>a</sup>           |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .109                          |

a. Based on positive ranks.

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

**2. Uji pH suhu 40°C****Tests of Normality**

|               | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |       |
|---------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|-------|
|               | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig.  |
| F1_pH_40_mgg1 | .385                            | 3  | .    | .750         | 3  | .000  |
| F1_pH_40_mgg4 | .175                            | 3  | .    | 1.000        | 3  | 1.000 |

a. Lilliefors Significance Correction

**NPar Tests****Test Statistics<sup>b</sup>**

|                        | F1_pH_40_mgg4 - F1_pH_40_mgg1 |
|------------------------|-------------------------------|
| Z                      | -1.604 <sup>a</sup>           |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .109                          |

a. Based on positive ranks.

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

**Lampiran 2** (lanjutan analisis hasil menggunakan SPSS 16)**Tests of Normality**

|               | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|---------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|               | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| F2_pH_40_mgg1 | .385                            | 3  | .    | .750         | 3  | .000 |
| F2_pH_40_mgg4 | .292                            | 3  | .    | .923         | 3  | .463 |

a. Lilliefors Significance Correction

**NPar Tests****Test Statistics<sup>b</sup>**

|                        |                               |
|------------------------|-------------------------------|
|                        | F2_pH_40_mgg4 - F2_pH_40_mgg1 |
| Z                      | -1.604 <sup>a</sup>           |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .109                          |

a. Based on positive ranks

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

**Tests of Normality**

|               | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|---------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|               | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| F3_pH_40_mgg1 | .314                            | 3  | .    | .893         | 3  | .363 |
| F3_pH_40_mgg4 | .385                            | 3  | .    | .750         | 3  | .000 |

a. Lilliefors Significance Correction

**NPar Tests****Test Statistics<sup>b</sup>**

|                        |                               |
|------------------------|-------------------------------|
|                        | F3_pH_40_mgg4 - F3_pH_40_mgg1 |
| Z                      | -1.604 <sup>a</sup>           |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .109                          |

a. Based on positive ranks.

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

**Lampiran 2**(lanjutan analisis hasil menggunakan SPSS 16)

3. Uji viskositas

**Tests of Normality**

|                  | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|                  | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| F1_visko_25_mgg1 | .321                            | 3  | .    | .881         | 3  | .328 |
| F1_visko_25_mgg4 | .193                            | 3  | .    | .997         | 3  | .890 |

a. Lilliefors Significance Correction

**T-Test**

**Paired Samples Test**

|                                            | Paired Differences |                   |                       |                                                    |          | t     | df | Sig.<br>(2-tailed) |
|--------------------------------------------|--------------------|-------------------|-----------------------|----------------------------------------------------|----------|-------|----|--------------------|
|                                            | Mean               | Std.<br>Deviation | Std.<br>Error<br>Mean | 95%<br>Confidence<br>Interval of the<br>Difference |          |       |    |                    |
|                                            |                    |                   |                       | Lower                                              | Upper    |       |    |                    |
| Pair 1 F1_visko_25_mgg1 - F1_visko_25_mgg4 | 5.20000            | 2.33024           | 1.34536               | -.58863                                            | 10.98863 | 3.865 | 2  | .061               |

**Tests of Normality**

|                  | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |       |
|------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|-------|
|                  | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig.  |
| F2_visko_25_mgg1 | .204                            | 3  | .    | .993         | 3  | .843  |
| F2_visko_25_mgg4 | .175                            | 3  | .    | 1.000        | 3  | 1.000 |

a. Lilliefors Significance Correction

**T-Test**

**Paired Samples Test**

|                                            | Paired Differences |                   |                       |                                                 |          | t      | df | Sig.<br>(2-tailed) |
|--------------------------------------------|--------------------|-------------------|-----------------------|-------------------------------------------------|----------|--------|----|--------------------|
|                                            | Mean               | Std.<br>Deviation | Std.<br>Error<br>Mean | 95% Confidence<br>Interval of the<br>Difference |          |        |    |                    |
|                                            |                    |                   |                       | Lower                                           | Upper    |        |    |                    |
| Pair 1 F2_visko_25_mgg1 - F2_visko_25_mgg4 | 8.0200E1           | 2.36432           | 1.36504               | 74.32671                                        | 86.07329 | 58.753 | 2  | .000               |

**Lampiran 2**(lanjutan analisis hasil menggunakan SPSS 16)

**Tests of Normality**

|                  | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|                  | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| F3_visko_25_mgg1 | .269                            | 3  | .    | .949         | 3  | .567 |
| F3_visko_25_mgg4 | .328                            | 3  | .    | .871         | 3  | .298 |

a. Lilliefors Significance Correction

**T-Test**

**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 | F3_visko_25_mgg1 - F3_visko_25_mgg4 | 7.95333E1          | 1.42945        | .82529          | 75.98238                                  | 83.08429 | 96.370 | 2  | .000            |

**Tests of Normality**

|                  | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|                  | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| F1_visko_40_mgg1 | .219                            | 3  | .    | .987         | 3  | .780 |
| F1_visko_40_mgg4 | .262                            | 3  | .    | .957         | 3  | .600 |

a. Lilliefors Significance Correction

**T-Test**

**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<br>F1_visko_40_mgg1 - F1_visko_40_mgg4 | -1.79667E1         | .47258         | .27285          | -19.14062                                 | -16.79271 | -65.849 | 2  | .000            |

**Lampiran 2**(lanjutan analisis hasil menggunakan SPSS 16)

**Tests of Normality**

|                  | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |       |
|------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|-------|
|                  | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig.  |
| F2_visko_40_mgg1 | .196                            | 3  | .    | .996         | 3  | .878  |
| F2_visko_40_mgg4 | .175                            | 3  | .    | 1.000        | 3  | 1.000 |

a. Lilliefors Significance Correction

**T-Test**

**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 | F2_visko_40_mgg1 - F2_visko_40_mgg4 | -1.89333E1         | .58595         | .33830          | 20.38891                                  | 17.47776 | 55.967 | 2  | .000            |

**Tests of Normality**

|                  | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|------------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|                  | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| F3_visko_40_mgg1 | .273                            | 3  | .    | .945         | 3  | .549 |
| F3_visko_40_mgg4 | .369                            | 3  | .    | .787         | 3  | .085 |

a. Lilliefors Significance Correction

**T-Test**

**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 | F3_visko_40_mgg1 - F3_visko_40_mgg4 | -3.10333E1         | 2.21209        | 1.27715         | -36.52846                                 | -25.53820 | -24.299 | 2  | .002            |

**Lampiran 2** (lanjutan analisis hasil menggunakan SPSS 16)**Sebelum perlakuan**

## 1. Uji pH

**Tests of Normality**

|    | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|----|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|    | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| pH | .267                            | 9  | .064 | .819         | 9  | .033 |

a. Lilliefors Significance Correction

**NPar Tests****Mann-Whitney Test ( F1 : F2)****Test Statistics<sup>b</sup>**

|                                | pH                |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U                 | .000              |
| Wilcoxon W                     | 6.000             |
| Z                              | -1.993            |
| Asymp. Sig. (2-tailed)         | .046              |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .100 <sup>a</sup> |

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Mikroemulsi

**Mann-Whitney Test (F1 : F3)****Test Statistics<sup>b</sup>**

|                                | pH                |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U                 | .000              |
| Wilcoxon W                     | 6.000             |
| Z                              | -1.993            |
| Asymp. Sig. (2-tailed)         | .046              |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .100 <sup>a</sup> |

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Mikroemulsi

**Lampiran 2**(lanjutan analisis hasil menggunakan SPSS 16)

**Mann-Whitney Test ( F2 : F3)**

**Test Statistics<sup>b</sup>**

|                                | pH                |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U                 | .000              |
| Wilcoxon W                     | 6.000             |
| Z                              | -2.023            |
| Asymp. Sig. (2-tailed)         | .043              |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .100 <sup>a</sup> |

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Mikroemulsi

**2. Uji viskositas**

**Tests of Normality**

|            | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |       | Shapiro-Wilk |    |      |
|------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
|            | Statistic                       | df | Sig.  | Statistic    | df | Sig. |
| viskositas | .203                            | 9  | .200* | .849         | 9  | .072 |

a. Lilliefors Significance Correction

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

**Oneway**

**Test of Homogeneity of Variances**

viskositas

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 3.689            | 2   | 6   | .090 |

**ANOVA**

| viskositas     | Sum of Squares | df | Mean Square | F       | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|---------|------|
| Between Groups | 61.787         | 2  | 30.893      | 104.526 | .000 |
| Within Groups  | 1.773          | 6  | .296        |         |      |
| Total          | 63.560         | 8  |             |         |      |

**Lampiran 2**(lanjutan analisis hasil menggunakan SPSS 16)

viskositas

LSD

| (I)<br>tipe_m<br>ikroem<br>ulsi | (J)<br>tipe_<br>mikro<br>emulsi | Mean<br>Difference (I-<br>J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval |             |
|---------------------------------|---------------------------------|------------------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
|                                 |                                 |                              |            |      | Lower Bound             | Upper Bound |
| F1                              | F2                              | -1.93333*                    | .44389     | .005 | -3.0195                 | -.8472      |
|                                 | F3                              | -6.26667*                    | .44389     | .000 | -7.3528                 | -5.1805     |
| F2                              | F1                              | 1.93333*                     | .44389     | .005 | .8472                   | 3.0195      |
|                                 | F3                              | -4.33333*                    | .44389     | .000 | -5.4195                 | -3.2472     |
| F3                              | F1                              | 6.26667*                     | .44389     | .000 | 5.1805                  | 7.3528      |
|                                 | F2                              | 4.33333*                     | .44389     | .000 | 3.2472                  | 5.4195      |

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

### Lampiran 3. Kurva kromatografi vitamin C palmitat.

Lab name: Lab Instrumentasi

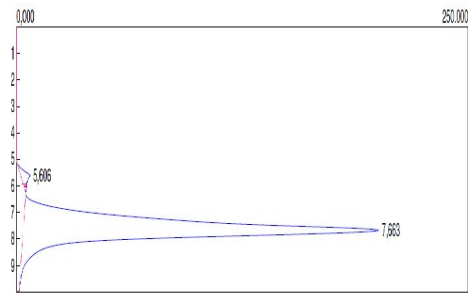
Column: C18

Carrier: MeOH:Dpr Fosfat : ACN

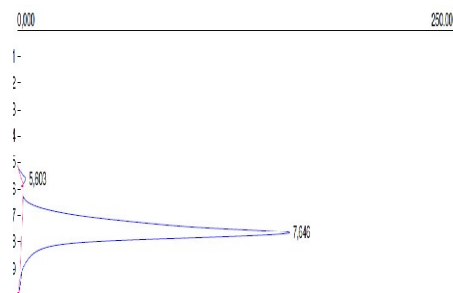
Operator: Ryzya Dwi B

Comments: Inject : 20 mikroliter, flow : 0,5ml/mnt, lamda 254nm.

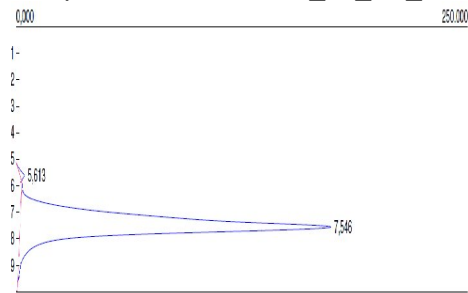
Sample: Asc Palmitat F1\_25\_R1\_SP



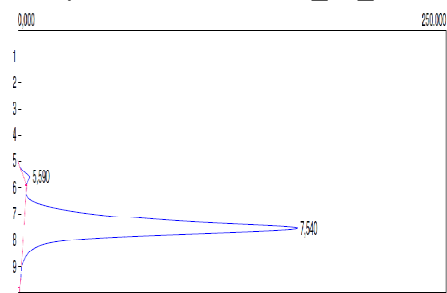
Sample: Asc Palmitat F2\_25\_R1\_SP



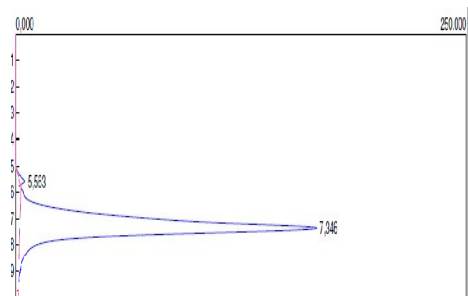
Sample: Asc Palmitat F3\_25\_R1\_SP



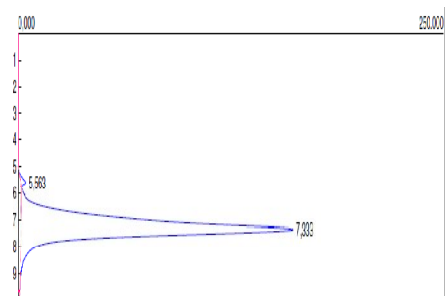
Sample: Asc Palmitat F1\_25\_H1



Sample: Asc Palmitat F2\_25\_H1

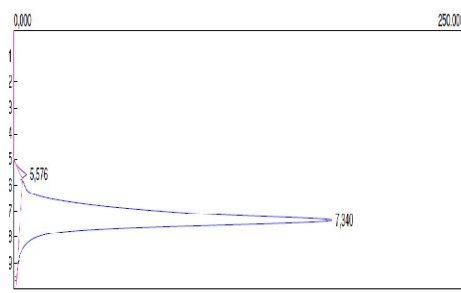


Sample: Asc Palmitat F3\_25\_H1

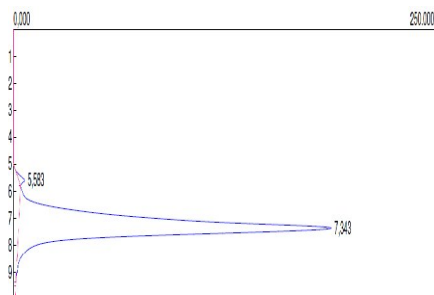


**Lampiran 3(lanjutan kurva kromatografi vitamin C palmitat)**

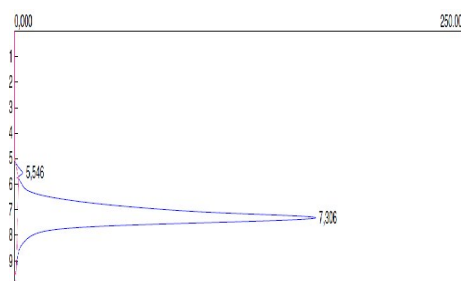
Sample: Asc Palmitat F1\_40\_H1



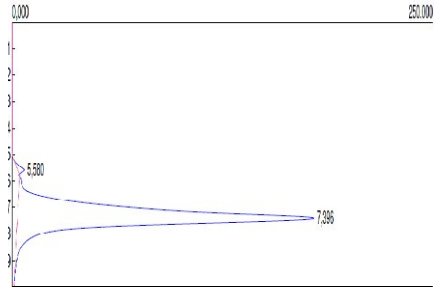
Sample: Asc Palmitat F2\_40\_H1



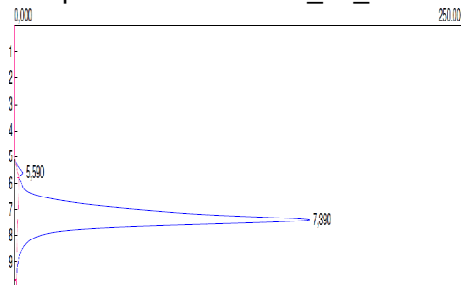
Sample: Asc Palmitat F3\_40\_H1



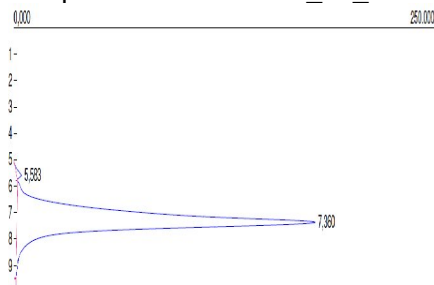
Sample: Asc Palmitat F1\_25\_H2



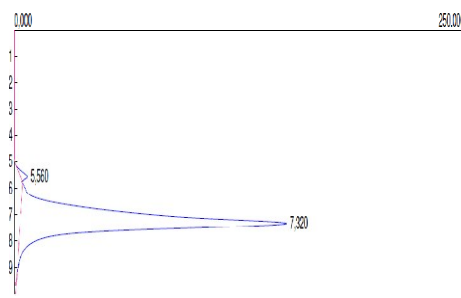
Sample: Asc Palmitat F2\_25\_H2



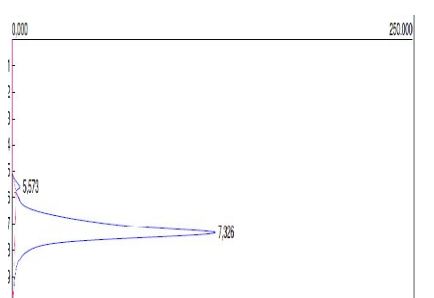
Sample: Asc Palmitat F3\_25\_H2



Sample: Asc Palmitat F1\_40\_H2

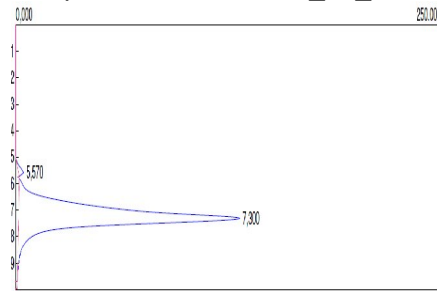


Sample: Asc Palmitat F2\_40\_H2

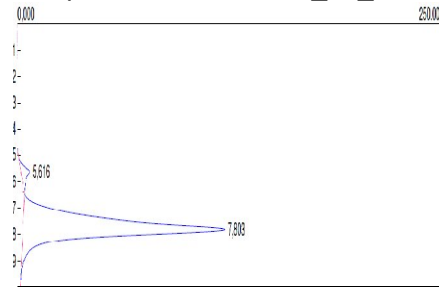


**Lampiran 3**(lanjutan kurva kromatografi vitamin C palmitat)

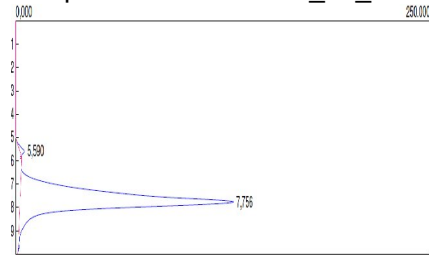
Sample: Asc Palmitat F3\_40\_H2



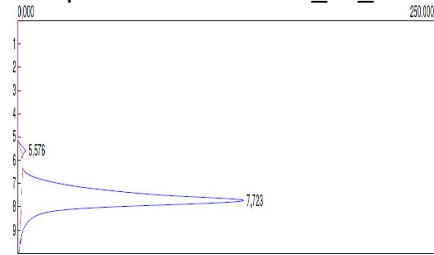
Sample: Asc Palmitat F1\_25\_H7



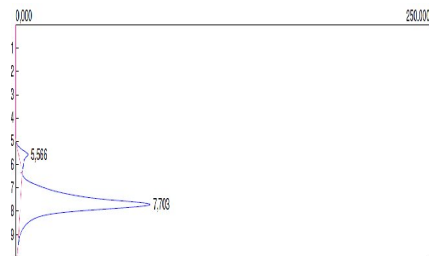
Sample: Asc Palmitat F2\_25\_H7



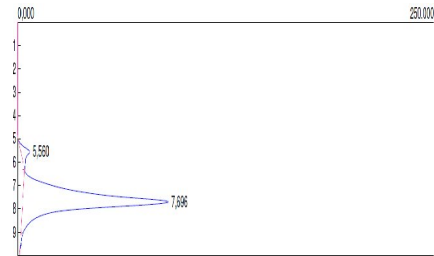
Sample: Asc Palmitat F3\_25\_H7



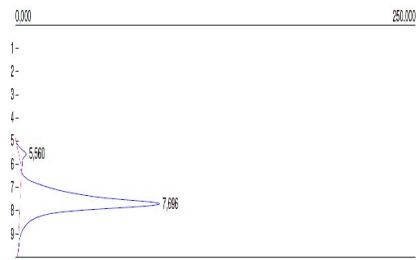
Sample: Asc Palmitat F1\_40\_H7



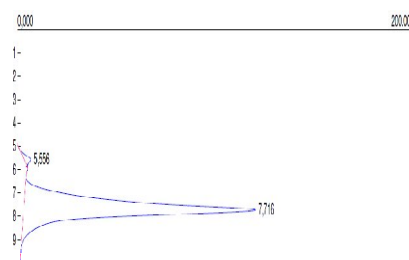
Sample: Asc Palmitat F2\_40\_H7



Sample: Asc Palmitat F3\_40\_H7

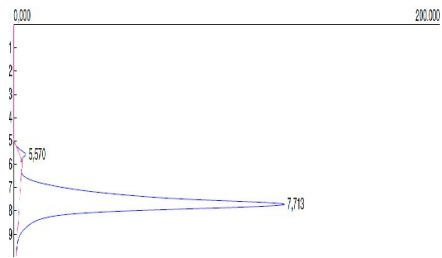


Sample: Asc Palmitat F1\_25\_H14

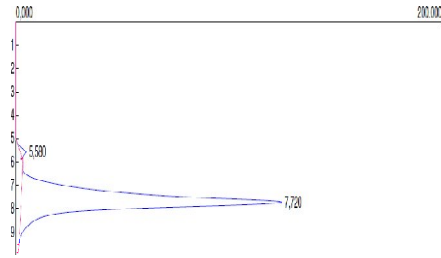


### Lampiran 3(lanjutan kurva kromatografi vitamin C palmitat)

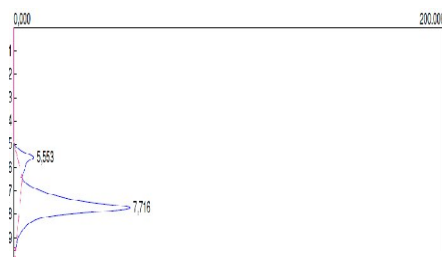
Sample: Asc Palmitat F2\_25\_H14



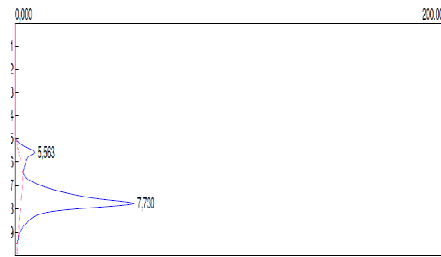
Sample: Asc Palmitat F3\_25\_H14



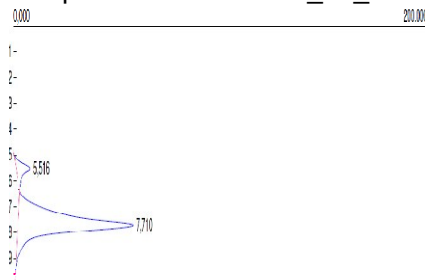
Sample: Asc Palmitat F1\_40\_H14



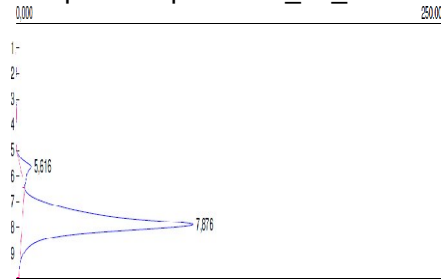
Sample: Asc Palmitat F2\_40\_H14



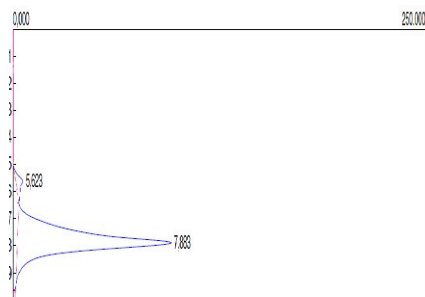
Sample: Asc Palmitat F3\_40\_H14



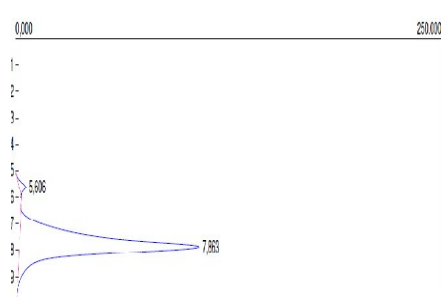
Sample: Asc palmtt F1\_25\_H28



Sample: Asc palmtat F2\_25\_H28



Sample: Asc palmitatF3\_25\_H28



### Lampiran 3(lanjutan kurva kromatografi vitamin C palmitat)

Sample: Asc PalmttF1\_40\_H28



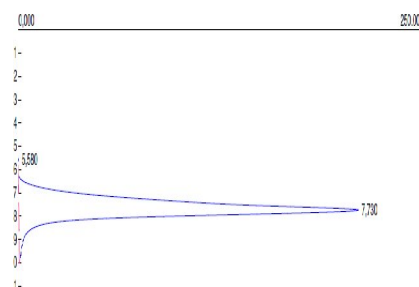
Sample:Asc palmtt F2\_40\_H28



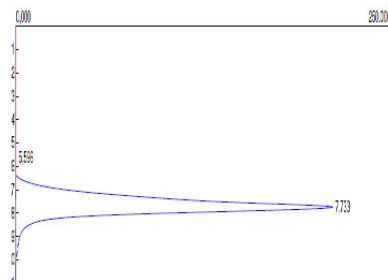
Sample:Asc palmttF3\_40\_H28



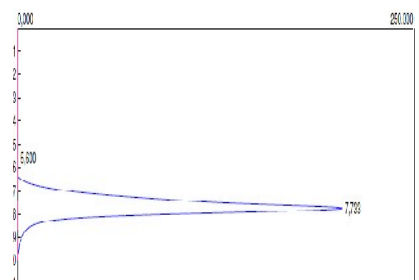
Sample: Asc Palmtt 300ppm\_R1



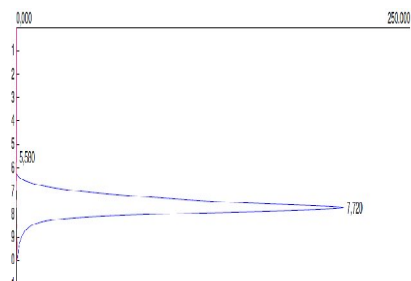
Sample: Asc Palmitat 300ppm\_R2



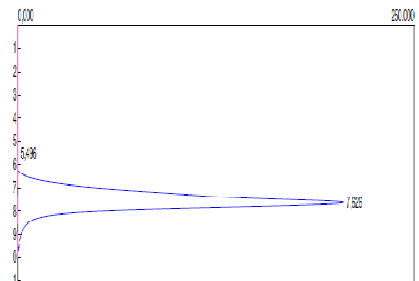
Sample: Asc Palmitat 300ppm\_R3



Sample: Asc Palmitat 300ppm\_R4

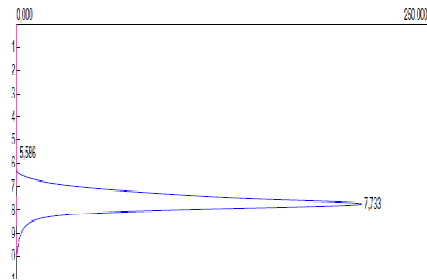


Sample: Asc Palmitat 300ppm\_R5



**Lampiran 3**(lanjutan kurva kromatografi vitamin C palmitat)

Sample: Asc Palmitat 300ppm\_R6



Sample: Asc Palmitat 40ppm\_R1



Sample: Asc Palmitat 40ppm\_R2



Sample: Asc Palmitat 40ppm\_R3



Sample: Asc Palmitat 40ppm\_R4



Sample: Asc Palmitat 40ppm\_R5



Sample: Asc Palmitat 40ppm\_R6



Sample: Asc Palmitat 4ppm\_R1



**Lampiran 3**(lanjutan kurva kromatografi vitamin C palmitat)

Sample: Asc Palmitat 4ppm\_R2



Sample: Asc Palmitat 4ppm\_R3



Sample: Asc Palmitat 4ppm\_R4



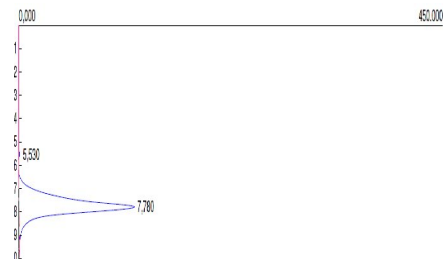
Sample: Asc Palmitat 4ppm\_R5



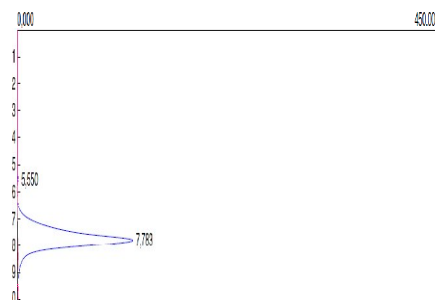
Sample: Asc Palmitat 4ppm\_R6



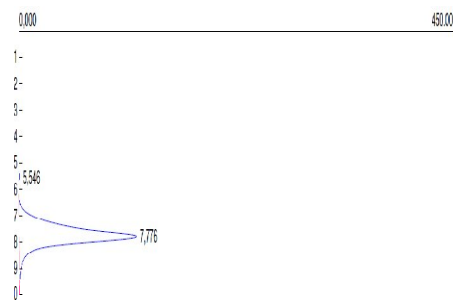
Sample: Asc Palmitt akursi\_300\_R1



Sample: Asc Palmitat akurasi\_300\_R2



Sample: Asc Palmitt akursi\_300\_R3



### Lampiran 3(lanjutan kurva kromatografi vitamin C palmitat)

Sample: Asc Palmitat akursi\_40\_R1



Sample: Asc Palmitt akursi\_40\_R2



Sample: Asc Palmitat akurasi\_40\_R3



Sample: Asc Plmitt akursi 8ppm\_R1



Sample: Asc Palmitt akurasi 8ppm\_R2



Sample: Asc Plmitt akursi 8ppm\_R3



Sample: Asc Palmitt 4ppm\_kurva baku



Sample: Asc Plmitt 8ppm\_kurva baku



### Lampiran 3(lanjutan kurva kromatografi vitamin C palmitat)

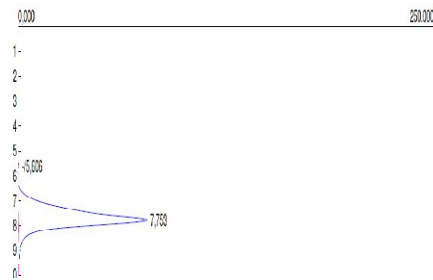
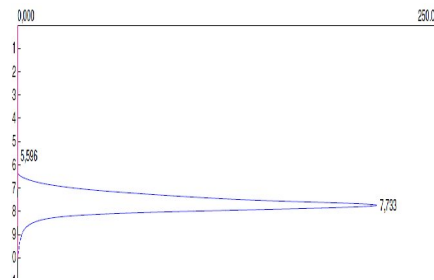
Sample: Asc Plmitt 10ppm\_kurva bku

Sample: Asc Plmitt 40ppm\_kurv bku

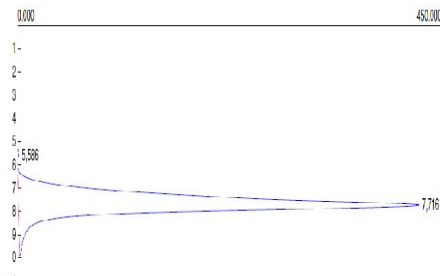


Sample: Asc Plmitt 100ppm\_kurva bku

Smple: Asc Plmitt 300ppm\_kurv bku



Sample: Asc Palmitat 600ppm\_kurva baku



**Lampiran 4. Gambar alat yang digunakan**



pH meter



Viskometer brookfield



Timbangan analitik



Spektrofotometer UV



Homogenizer



Climatic chamber

**Lampiran 4(lanjutan gambar alat yang digunakan)**

Oven



Ultrasonifikator



Mikroskop elektrik



Seperangkat alat HPLC