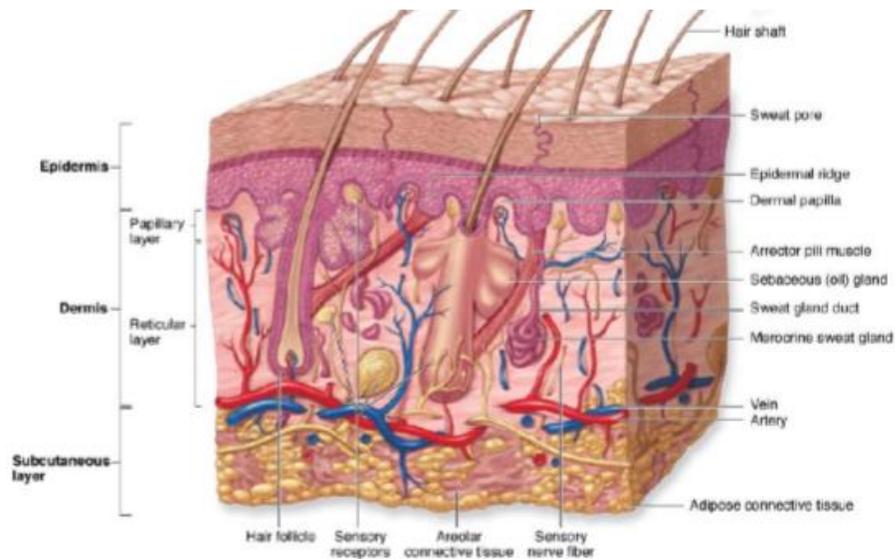


## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Anatomi dan Fisiologi Kulit

Kulit merupakan organ yang terletak paling luar dan yang menutupi seluruh tubuh. Kulit adalah target masuknya obat dari sediaan transdermal. Lapisan terluar dari kulit yaitu stratum korneum yang terdiri dari keratin dan dikelilingi oleh lapisan *lipid* intraseluler sehingga sulit ditembus. Menurut (Kalangi, 2013) Kulit tersusun dari empat jaringan dasar antara lain : pertama kulit mempunyai berbagai jenis epitel terutama epitel berlapis gepeng dengan lapisan tanduk, kedua terdapat beberapa jenis jaringan ikat, seperti serat-serat kolagen dan elastin, sel-sel lemak pada dermis, ketiga Kulit tersusun jaringan otot yang dapat ditemukan pada dermis. Contohnya jaringan otot polos dan jaringan otot berkorak. Pada jaringan otot terdapat pada penegak rambut dan pada dinding pembuluh darah, sedangkan jaringan otot berkorak terdapat pada otot-otot ekspresi wajah, keempat kulit tersusun dari jaringan saraf sebagai reseptor sensoris. (Kalangi, 2013)



Gambar 2. 1 Struktur kulit (Kalangi, 2013)

### 1.1.1. Epidermis

Epidermis adalah bagian luar kulit yang terdiri atas epitel berlapis gepeng dengan lapisan tanduk, serta tidak mempunyai pembuluh darah maupun limfa oleh karena itu semua nutrisi dan oksigen diperoleh dari kapiler pada lapisan dermis. Epitel berlapis gepeng pada epidermis ini tersusun oleh banyak lapis sel yang disebut keratinosit. Sel-sel ini secara tetap diperbarui melalui mitosis sel-sel dalam lapis basal yang secara berangsur digeser ke permukaan epitel. Selama perjalanannya, sel-sel ini berdiferensiasi, membesar, dan mengumpulkan filamen keratin dalam sitoplasma. Untuk mendekati permukaan, sel-sel mati dan secara tetap dilepaskan (terkelupas). Waktu yang dibutuhkan untuk mencapai permukaan adalah 20 sampai 30 hari. Modifikasi struktur selama perjalanan ini disebut *sitomorfosis* dari sel-sel epidermis. Epidermis terdiri atas 5 lapisan yaitu, dari dalam ke luar, stratum basal, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum, dan stratum korneum. (Kalangi, 2013)

### 2.1.1 Dermis

Dermis merupakan lapisan kulit dibawah lapisan epidermis dengan tebal 3-5 mm yang terdiri dari jaringan ikat matriks, dan terdiri dari pembuluh darah, pembuluh getah bening, dan saraf (Himanshi *et al.*, 2016). Dermis terdiri atas *stratum papilaris* dan *stratum retikularis*, pada *stratum papilaris* tersusun longgar serta banyak papilla dermis, sedangkan pada *stratum retikularis* tersusun lebih padat, tebal terdiri atas berkas-berkas kolagen kasar dan sejumlah serat-serat elastin (Himanshi *et al.*, 2016).

### 2.1.2 Hipodermis

Hipodermis terdiri dari jaringan ikat lebih longgar dengan serat kolagen halus dan sejajar terhadap permukaan kulit, dengan beberapa di antaranya menyatu dengan dermis. Jaringan ini memiliki banyak proteoglikan dan glikosaminoglikan sehingga dapat memberikan sifat seperti lendir. Hipodermis terdiri dari sel fibroblast, sel – sel adiposa dan makrofag, lapisan hipodermis berfungsi sebagai cadangan makanan dan bantalan untuk melindungi tubuh dari benturan – benturan fisik, serta lapisan hipodermis berperan dalam pengaturan suhu tubuh (Wong *et al.*, 2016).

## 2.2 Antioksidan dan Radikal bebas

### 2.2.1 Antioksidan

Antioksidan adalah zat penghambat reaksi oksidasi oleh radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan asam lemak tak jenuh, membran dinding sel, pembuluh darah dan jaringan lipid sehingga menimbulkan penyakit. Antioksidan dibutuhkan untuk menunda atau menghambat reaksi oksidasi oleh radikal bebas atau menetralkan dan menghancurkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan sel dan biomolekul seperti DNA, protein dan lipoprotein didalam tubuh yang akhirnya dapat memicu terjadi penyakit degeneratif. Antioksidan dapat mengurangi resiko penyakit kronik seperti kanker dan penyakit jantung. Karena sumber protein yang mengandung antioksidan adalah gandum, buah – buah dan sayur – sayuran. sumber makanan yang mengandung vit c, vit e, karoten dan asam fenolat dapat mengurangi resiko penyakit (Sayuti and Yenrina, 2015) .

Senyawa antioksidan seperti asam fenolat, polifenol dan flavonoid dapat menangkap radikal bebas seperti peroksida, hidroperoksida atau *lipid peroxy*l serta dapat menghambat mekanisme oksidatif yang merupakan penyebab penyakit – penyakit degeneratif (Alfira, 2014).

Penggolongan antioksidan:

1. Berdasarkan mekanisme kerja:
  - a. Antioksidan primer adalah antioksidan yang bekerja dengan mencegah reaksi berantai pembentukan radikal bebas dengan mengubahnya menjadi senyawa yang tidak reaktif atau stabil. Antioksidan ini berperan sebagai donor hydrogen atau dapat juga sebagai ekseptor elektron. Contohnya BHT (*butylated hidroxy toluene*) (Andarina and Djauhari, 2017).
  - b. Antioksidan sekunder adalah antioksidan yang bekerja dengan menghambat kerja peroksidan, dengan mekanisme reaksi berupa penyerapan sinar UV dan ion logam dengan cara pembentukan (Andarina and Djauhari, 2017).
  - c. senyawa kompleks contohnya, *etil diamin tetrasetat* (EDTA), asam sitrat dan asan tartat (Andarina and Djauhari, 2017).
  - d. Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel – sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Contoh *mentionin*

*sulfoksidan reductase* yang dapat memperbaiki DNA dalam inti sel (Andarina and Djauhari, 2017).

2. Berdasarkan jenis

Antioksidan dapat digolongkan menjadi dua yaitu antioksidan enzimatis dan non-enzimatis contohnya antioksidan enzimatis adalah *superperoksida dismutase*, *glutathion peroksidase* dan katalase. Contoh antioksidan non – enzimatis yaitu *glutathion*, melatonin, vitamin c dan vit e (Alfira, 2014).

3. Berdasarkan sumber

Antioksidan sintetis adalah antioksidan alami yang telah diproduksi secara sintetis untuk tujuan komersial. Antioksidan sintetis yang diijinkan penggunaannya untuk pangan yaitu *Butil hidroksi anisol (BHA)*, *butil hidroksi toluen (BHT)*, *propil galat*, *ter-butil hidroksi quinon (TBHQ)* dan *tokoferol*. Antioksidan alami adalah antioksidan yang diperoleh dari bahan alam, merupakan senyawa metabolit sekunder tumbuhan seperti senyawa golongan alkaloid, fenolik, flavonoid. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavone, kateksin, flavonol dan kalkan. (Alfira, 2014)

### 2.2.2 Radikal bebas

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang mengandung satu atau lebih elektron bebas pada orbital luar. Terdapatnya elektron bebas menyebabkan senyawa tersebut berusaha untuk menstabilkan diri sehingga bersifat reaktif. Molekul yang reaktif akan berinteraksi dengan elektron lain yang berada disekitarnya dan biasa disebut sebagai *reactive oxygen spesies (ROS)* dan dapat memicu timbulnya kerusakan. Secara alamiah, radikal bebas terbentuk melalui sistem biologis tubuh dan juga dapat berasal dari lingkungan. Faktor eksternal pemicu radikal bebas antara lain sinar UV, polusi, asap rokok, emisi kendaraan, maupun alkohol. Sel tubuh manusia dilengkapi dengan berbagai macam antioksidan alami yang berguna sebagai pertahanan terhadap kerusakan oksidatif. Dalam tubuh manusia, jumlah oksidan dan antioksidan akan dijaga jumlahnya agar tidak menimbulkan kerusakan terhadap organ dan jaringan. Adanya oksidan dalam tubuh akan segera dinetralkan oleh enzim spesifik tergantung dengan organ atau jaringan yang diserang sehingga senyawa oksidan tidak sempat bereaksi

menimbulkan kerusakan. Antioksidan alami dalam tubuh terbagi menjadi antioksidan enzimatis dan non enzimatis. Antioksidan enzimatis contohnya adalah *superoxide dismutase* yang bekerja dalam memperbaiki sel yang mengalami kerusakan akibat superoksida. Antioksidan non enzimatis biasanya jenis antioksidan yang berasal dari luar tubuh seperti vitamin A, C, dan E (Wulansari, 2018).

### **2.2.3 Mekanisme kerja Antioksidan**

Mekanisme antioksidan dalam menghambat oksidasi atau menghentikan reaksi berantai pada radikal bebas dari lemak yang teroksidasi dapat disebabkan oleh empat macam mekanisme reaksi, yaitu:

1. Pelepasan hidrogen dari antioksidan
2. Pelepasan elektron dari antioksidan,
3. Adisi lemak ke dalam cincin aromatik pada antioksidan,

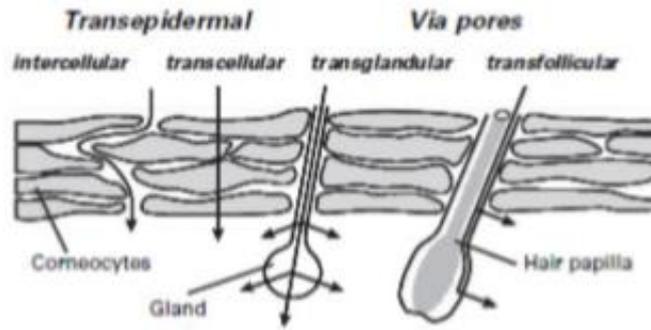
Pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Wijaya and Junaidi, 2011).

### **2.3 Sistem penghantaran obat melalui kulit**

Penghantaran obat secara transdermal melibatkan transport obat melalui kulit. Sehingga diperlukan sifat fisikokimia yang optimal supaya obat dapat dihantarkan secara transdermal. Obat yang bersifat hidrofobik akan secara mudah berdifusi melewati kulit (Sulastris and Husni, 2017). Sistem penghantaran obat melalui transdermal memiliki keuntungan antara lain: pertama, dapat menghilangkan fluktuasi yang muncul pada absorpsi di gastro-intestinal. Kedua, dapat menaikkan bioavailabilitas dari obat karena dengan menggunakan penghantaran transdermal maka bahan aktif akan masuk langsung ke dalam sistem sirkulasi melalui kulit dan menghindari hepatic *first pass effect*. Ketiga, memberikan input obat yang konstan dan terkontrol dan menurunkan variasi kadar plasma obat. Dan keempat Meningkatkan kepatuhan pasien karena pemberian yang lebih mudah, resiko minimal dari trauma sakit atau kerusakan jaringan (Handayani and Kautsar, 2018).

#### **2.3.1 Mekanisme Absorpsi obat melalui kulit**

Mekanisme absorpsi obat melalui kulit terdiri dari dua jalur utama yaitu



Gambar 2. 2 Jalur Absorpsi Obat Melalui Kulit (Trommer and Neubert, 2006)

a. *Transepidermal*

*Transepidermal* merupakan jalur difusi melalui stratum korneum yang terjadi melalui dua mekanisme, yaitu transeuler yang berarti jalur difusi melalui protein di dalam sel kemudian melewati daerah yang kaya akan lipid dan jalur praseuler yang berarti jalur melalui ruang atau celah antar sel. Penetrasi transepidermal berlangsung melalui dua tahap. Pertama, pelepasan obat dari pembawa ke stratum korneum, yang bergantung pada koefisien partisi obat dalam pembawa dan stratum korneum. Kedua, difusi melalui epidermis dan dermis. Jalur *trasepidermal* merupakan jalur utama dibandingkan dengan jalur melalui kelenjar – kelenjar lainnya karena luas permukaan epidermal 100 sampai 1000 kali lebih luas dari luas permukaan kelenjar- kelenjar tersebut. (Trommer and Neubert, 2006)

b. *Transppendageal*

*Transppendageal* merupakan jalur masuknya obat melalui kulit folikel rambut (*transfolikular*) dan kelenjar keringat (*transglandular*) yang disebabkan karena adanya pori – pori diantara keua kelenjar tersebut, sehingga memungkinkan obat berpenetrasi masuk ke dalam folikel atau kelenjar keringat tersebut. (Trommer and Neubert, 2006)

Secara skematis, Langkah – Langkah absorpsi obat melalui kulit dapat dijelaskan sebagai berikut:

Disolusi obat dalam pembawa kemudian disolusi obat melalui pembawa ke permukaan kulit dan terbagi menjadi dua jalur yaitu jalur *transepidermal* dan *transappedegal*. Pada jalur *transepidermal* obat akan partisi kedalam stratum korneum lalu berdifusi melalui matrik protein- lipid stratum korneum, dan lanjut berpartisi kedalam *viable* epidermis, difusi melalui sel epidermis kemudian

berdifusi melalui sel dermis dan alan *uptake* kapiler dan dilusi sistematik. Pada jalur *transappendageal* setelah obat disolusi obat melalui pembawa ke permukaan kulit maka obat akan partisi ke dalam sebum dan berdifusi melalui lipid, selanjutnya partisi ke dalam *viable* epidermis, berdifusi melalui sel epidermis dan berdifusi melalui sel dermis, setelah itu obat akan *uptake* kapiler dan dilusi sistematik (Trommer and Neubert, 2006).

### 2.3.2 Teori Difusi

Perlintasan dalam membran sintesis pada umumnya berlangsung dalam dua tahap yaitu: tahap awal adalah proses difusi zat aktif menuju permukaan yang kontak dengan membran, kedua tahap pengangkutan. Proses masuknya obat ke dalam kulit secara umum terjadi melalui proses difusi pasif. Difusi tersebut secara umum terjadi melalui stratum korneum (jalur *transepidermal*), tetapi dapat juga terjadi melalui kelenjar keringat, minyak atau folikel rambut (jalur *transappendageal* atau *transfolikular*). Penetrasi *transeppendageal* ini sangat sedikit digunakan untuk transport molekul obat, karena hanya mempunyai daerah kecil (< 0,1 % dari total permukaan kulit). Akan tetapi, penetrasi ini berperan penting pada beberapa senyawa polar dan molekul ion yang hampir tidak berpenetrasi melalui stratum korneum (Ramadan, 2015). Pada jalur *transappendageal*, obat sulit berdifusi menuju ke arah dalam karena berlawanan dengan arah sekresi kelenjar keringat. Jalur *transfolikular* melibatkan difusi melalui sebum (lemak) yang ada dalam kelenjar sebum, kemudian masuk ke pembuluh darah. Difusi pasif merupakan proses dimana suatu substansi bergerak dari daerah suatu sistem ke daerah lain dan terjadi penurunan kadar gradien diikuti Bergeraknya molekul. Difusi pasif merupakan bagian terbesar dari proses trans-membran pada obat, tenaga pendorong untuk difusi pasif adalah perbedaan konsentrasi obat pada kedua sisi membrane sel. Kemampuan berdifusi suatu zat melalui kulit dipengaruhi oleh sifat fisikokimia dari zat aktif (bobot molekul, kelarutan dan koefisien partisi) ataupun dipengaruhi oleh karakteristik sediaan, basis dan zat zat tambahan dalam sediaan (Trommer and Neubert, 2006).

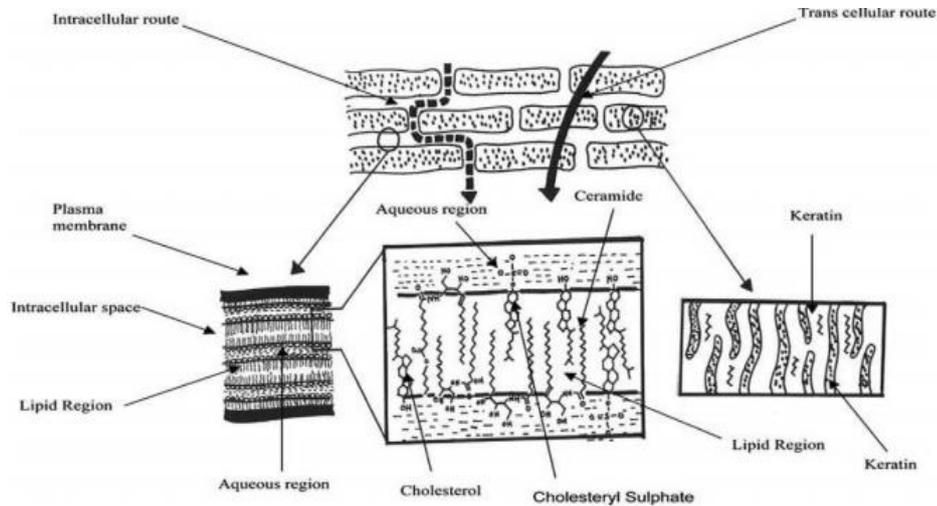
## 2.4 Transfersom

Liposom adalah analog sintetik dari membrane alami, suatu vesikel berair yang dikelilingi oleh membrane *lipid bilayer* unilamellar atau multilamellar. Liposom berbentuk kantung (vesikel) yang terbungkus dalam ukuran *micron* atau *submicron* dan tersebar dilingkungan air. Dinding vesikel terdiri dari dualapisan yang bersifat ampifilik. Sifat *bilayer* yang dimiliki liposom membuat perbedaan antara kompartemen air didalam dengan media luar. Dengan adanya lingkungan yang berbeda ini, maka liposom menjadi sistem pembawa yang baik untuk bahan atau zat aktif yang bersifat hidrofobik, hidrofilik ataupun ampifilik.

Salah satu perkembangan dari liposom adalah transfersom. Transfersom merupakan sistem penghantaran obat berbasis fosfolipid, surfaktan dan air. Transfersom berasal dari bahasa latin *transferre* yang mempunyai arti sebagai seluruh pembawa. Transfersom merupakan vesikel buatan yang menyerupai vesikel alami. Transfersom terbentuk secara spontan ketika fosfolipid dihidrasi dengan sejumlah air. Vesikel transfersom terdiri dari fosfolipid dan *edge activator* (EA) yang merupakan surfaktan rantai tunggal. EA adalah bahan yang berperan dalam meningkatkan fleksibilitas dan deformabilitas dari transfersom sehingga dapat dengan mudah melewati stratum korneum. Beberapa jenis EA yang sering digunakan misalnya sodium kolat, sodium deoksikolat, Span 60, Span 65, Span 80, Tween 20, Tween 60, Tween 80 atau dikalsium glisirizinat (Mathur, 2013).

Transfersom adalah tetesan lipid bilayer yang memiliki kemampuan deformabiliti dimana mampu membuat penetrasi yang mudah melalui pori yang lebih kecil. Ketika diaplikasikan ke dalam kulit, dimana transfersom membentuk vesikel yang sangat elastis sehingga mampu berubah bentuk ketika melewati celah pada membrane sel. Sifat deformability tersebut terjadi karena inti cairan yang dikelilingi oleh lapisan lipid *bilayer* yang kompleks. Komposisi dan bentuk dari *bilayer* membuat vesikel elastis dan optimal menjalankan fungsinya sebagai sistem penghantar (Ermawati, 2011). Transfersom memiliki beberapa kelebihan yaitu biokompatibel, biodegradabel, mudah dibuat, dapat melindungi obat dari degradasi lingkungan, mampu menghantarkan obat melalui celah sempit antar sel dengan baik dan telah digunakan untuk berbagai bahan seperti peptida, protein, analgesik dan senyawa bahan alam. Namun transfersom juga memiliki beberapa keterbatasan,

misalnya sulit untuk dibuat dalam skala besar, sistem pembawa tidak stabil terhadap oksidasi dan tidak dapat membawa obat dengan dosis harian yang tinggi (Ramadon and Im, 2016)



Gambar 2. 3 Skema penetrasi transfersome (Sharma et al., 2013)

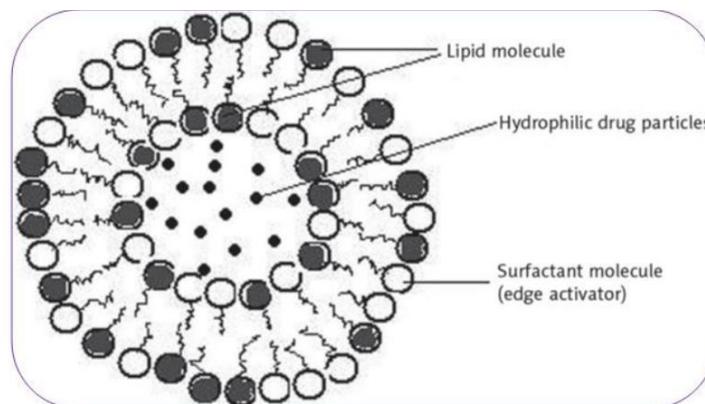
Ketika diaplikasikan pada kulit, transfersom menggunakan jalur hidrofilik atau melalui celah antar sel pada kulit yang akan terbuka cukup lebar untuk memungkinkan seluruh vesikel masuk melewati celah tersebut. Bentuknya yang elastis mampu membuat vesikel tersebut kehilangan integritasnya. Fleksibilitas dari transfersom diperoleh dari perbandingan konsentrasi antara surfaktan dengan fosfatidilkolin. Fleksibilitas inilah yang akan menentukan pecah atau tidaknya vesikel tersebut dalam kulit dan menentukan kemampuan transfersom untuk menembus epidermis mengikuti gradien air ketika diaplikasikan (Sharma *et al.*, 2013).

Mekanisme penetrasi transfersom mengikuti gradien osmotik. Hidrasi *transepidermal* menghasilkan gaya pada vesikel untuk masuk kedalam kulit. Karena elastisitasnya, vesikel dapat menyesuaikan bentuk dengan pori atau celah yang terdapat pada stratum korneum. Ukuran celah tersebut sekitar satu sampai sepuluh kali lebih kecil dibandingkan dengan diameter vesikel. Ketika transfersom diaplikasikan pada permukaan biologis seperti kulit, transfersom akan berpenetrasi menuju stratum korneum dan terjadi deformasi atau perubahan bentuk yang *reversible* pada *bilayer*. Jadi mekanisme penetrasi transfersom mengandung prinsip elasto-mekanik yang dikombinasikan dengan gaya hidrasi atau osmotik.

Kemampuan transfersom berpenetrasi menembus stratum korneum dapat meningkatkan nilai farmakokinetik dan efek farmakologis dari ekstrak. Transfersome diformulasi menggunakan fosfolipid sebagai vesikel pembentuk materi, surfaktan untuk memberikan fleksibilitas, alkohol sebagai pelarut, dan *buffering agent* sebagai medium hidrasi transfersome. Surfaktan dapat memberikan fleksibilitas dengan menurunkan tegangan permukaan atau energi bebas permukaan. Selain itu, surfaktan memiliki struktur molekular yang terdiri dari suatu gugus yang mempunyai afinitas sangat kecil untuk pelarut berair dinamakan gugus lipofilik dan mempunyai afinitas sangat kuat terhadap solven berair dinamakan gugus hidrofilik. Keadaan kedua gugus tersebut dalam molekul surfaktan disebut gugus ampifilik. Salah satu fosfolipid yang digunakan adalah soya lesitin yang merupakan salah satu komponen utama penyusun *lipid based vesicular drug delivery system*. Soya lesitin dipilih karena sifatnya yang *biocompatible*, *biodegradable*, memiliki *cleansing action*, dan lebih fleksibel karena kandungan kolesterol yang lebih sedikit dibandingkan lesitin telur (Solanki *et al.*, 2016).

#### 2.4.1 Struktur Transfersom

Transferosom memiliki struktur terdiri dari hidrofobik dan hidrofilik sehingga dapat menampung molekul obat dengan berbagai kelarutan. Transferosom bisa berubah bentuk dan melewati penyempitan sempit (dari 5 sampai 10 kali kurang dari diameternya sendiri) tanpa kehilangan vesikelnya. (Sharma *et al.*, 2013).



Gambar 2. 4 Struktur transfersom (Solanki et al., 2016)

Vesikel adalah partikel koloid memiliki inti berisi air yang dikelilingi oleh dinding lipid dan surfaktan (amfifilik) yang diatur dalam lapisan kulit. Jika kadar air meningkat, amfifilik ini bisa membentuk satu atau lebih bilayer. Obat hidrofilik akan menemukan tempat di lingkungan internal yang berair sementara amfifilik dan obat lipofilik terperangkap di dinding berlapis-lapis dengan kekuatan elektrostatik. Vesikula fleksibel atau *deformabel* disebut vesikula elastis atau transfersom (Venkatesh *et al.*, 2014). Stabilitas transfersom adalah hal utama yang perlu diperhatikan dalam pengembangannya. Obat yang terkandung di dalamnya dapat menjadi tidak stabil akibat degradasi fisik dan kimia. Perubahan struktur baik fisik maupun kimia akan mempengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu yang akan mempengaruhi disposisi obat yang terenkapsulasi. Stabilitas transfersome\ dipengaruhi oleh:

a. Stabilitas Kimia

Stabilitas kimia dari transfersom bergantung pada komponen lipidnya. Lipid merupakan biomolekul yang sangat sensitif dan cepat mengalami reaksi degradasi kimia. Kestabilan kimia pada fosfolipid dapat dipengaruhi oleh hidrolisis dan reaksi peroksidase. Reaksi hidrolisis terjadi pada ikatan ester fosfatidilkolin yang menghasilkan produk degradasi yaitu *2-lisofosfatidilkolin* dan asam lemak bebas. Reaksi peroksidase terjadi terutama pada ikatan yang jenuh dalam rantai asil dari fosfolipid. Reaksi peroksidase dapat dicegah dengan pemilihan fosfolipid dengan rantai asil jenuh, penyimpanan transfersom dalam ruang hampa atau pada gas inert seperti nitrogen, penyimpanan dalam tempat gelap untuk menghindari fotooksidasi, penggunaan bahan pengkelat untuk mencegah reaksi peroksidasi yang diaktivasi oleh ion logam serta penambahan antioksidan seperti *butylated hydroxyanisole*, *butylated hydroxytoluene*, asam askorbat, dan lain-lain (Venkatesh *et al.*, 2014).

b. Stabilitas Fisika

Ketidakstabilan fisik transfersom dapat dilihat dari terbentuknya transfersom berukuran besar karena reaksi fusi atau agregasi. Kecenderungan transfersom beragregasi tergantung pada konstituen *bilayer* obat yang dijerap,

ukuran partikel, dan suhu. Penambahan agen penginduksi seperti fosfatidilgliserol atau kolestrol 10% dapat menstabilkan transfersom (Venkatesh *et al.*, 2014)

Secara morfologi, transfersom dapat diklarifikasikan menjadi yaitu (Solanki *et al.*, 2016) :

1. *Multilamellar Vesicle (MLV)*

*Multilamellar Vesicle* dapat menjerap molekul berukuran kecil maupun besar. Ukuran *multilamellar Vesicle* antara 0,1 sampai 0,5  $\mu\text{m}$  dan pada umumnya terdiri dari lima atau lebih *lamellar*. Faktor yang paling penting pada preparasi *multilamellar Vesicle* memiliki kekurangan dimana kapasitas penjerapan untuk senyawa yang bersifat rendah.

2. *Small Unilamellar Vesicle (SUV)*

*Small Unilamellar Vesicle* berbentuk bulat dengan ukuran 20 sampai 50 nm. *Small Unilamellar Vesicle* dihasilkan dari proses sonikasi disperse fosfolipid. keberhasilan *Small Unilamellar Vesicle* sangat bergantung pada komposisi lipid, waktu sonikasi dan jumlah kolesterol pada campuran lipid.

3. *Large Unilamellar Vesicle (LUV)*

*large Unilamellar Vesicle* memiliki ukuran vesikel lebih besar dari SUV yaitu antara 500-1000 nm. Dibentuk dari emulsi fosfolipid dalam dapar dengan pelarut organik, diikuti dengan penguapan pelarut organik dibawah tekanan vakum

4. *Intermediated-size Unilamellar Vesicles (IUV)* berukuran 100-200 nm dan dibuat dengan ekstruksi tekanan tinggi/dialisis detergen. Vesikel ini dapat bertahan lebih lama dalam sirkulasi dan memiliki stabilitas yang baik sehingga bermanfaat sebagai sistem penghantaran obat.

#### **2.4.2 Komposisi transfersom**

Pada tabel 2.1 menjelaskan komposisi formula pada pembuatan transfersom beserta fungsinya.

Tabel 2.1 Komposisi Transfersom (Eldhose and Mathew, 2016)

Jenis bahan	Contoh	Kegunaan
Fosfolipid	Soyaphosphatydilcoline, Eggphosphatydilcoline, Dipalmytoylphosphatydilcoline	Agen pembentuk vesikel
Surfaktan	SodiumCholate, Sodium deoxycholate, Tween, Span	Membantu fleksibilitas
Pelarut Organik	Ethanol, Methanol, Isopropyl Alcohol, Chloroform dll	Pelarut
Buffer	Dapar fosfat pH 7,4	Medium hidrasi

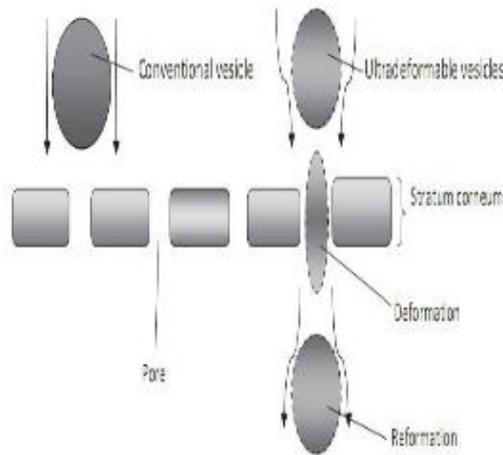
### 2.4.3 Perbandingan Transfersom dengan liposom jenis lain

Tabel 2.2 Perbandingan Transfersom dengan yang lain (Reddy *et al.*, 2015)

Metode	Keuntungan	Kerugian
Liposom	Vesikel fosfolipid, biokompatibel, bio-degradasi	Kurang stabil, kemampuan penetrasinya dikulit.
Niosom	Vesikel surfaktan non-ionik	Kemampuan penetrasi yang kurang mudah ditangani tapi tidak bisa menjangkau bagian kulit terdalam.
Transfersome dan pro transfersom	Lebih stabil, penetrasi tinggi, deformabilitas tinggi, biokompatibel, bio-degradasi cocok untuk obat yang berat molekulnya besar maupun kecil, juga untuk obat yang bersifat lipofilik maupun hidrofilik	Belum ada kekurangan tapi memiliki batasan.

Perbandingan transfersom dengan lainnya, transfersom lebih fleksibel dan mudah beradaptasi. Fleksibilitas membran transfersom dapat dengan mudah melintasi membran ke dalam pori-pori yang kecil. Fleksibilitas transfersom terjadi karena terdapat dua lipofolik atau komponen ampifilik (fosfolipid ditambah biosurfaktan) (Reddy *et al.*, 2015). Pada awalnya transfersom tampak berhubungan dengan vesikel lipid bilayer, misalnya liposom. Namun dalam hal fungsional, transfersom berbeda jauh dari liposom yang biasa digunakan, transfersom jauh lebih fleksibel dan mudah beradaptasi. Fleksibilitas membrannya yang sangat tinggi akan menekan diri mereka sendiri untuk dapat melalui pori-pori yang jauh lebih

kecil dari diameter mereka sendiri seperti yang terlihat pada gambar. Hal ini disebabkan karena membran transfersom mampu menggabungkan dua komponen lipofilik/amphiphilik (fosfolipid ditambah surfaktan).



Gambar 2. 5 Proses penghantaran obat dalam transfersom (Reddy et al., 2015)

Deformabilitas agregat yang tinggi memungkinkan transfersom untuk menembus kulit secara langsung. Kecenderungan ini didukung oleh permukaan hidrofilitas transfersom yang tinggi mencari konsentrasi air yang lebih tinggi yang ada disekitarnya. Berbeda dengan bahan lain, dimana konsentrasi surfaktan yang lebih tinggi dalam campuran misel yang mereka miliki tidak meningkatkan efektivitas transportasi bahan ke dalam kulit dikarenakan campuran misel yang lain jauh kurang sensitif terhadap gradien aktivitas air *transepidermal* dibandingkan dengan transfersom (Puspitasari, 2012). Adanya kekuatan pendorong untuk berpenetrasi ke dalam kulit gradien transdermal ini disebabkan juga karena perbedaan kandungan air antara permukaan kulit dehidrasi (sekitar 20% air) dan epidermis berair (hampir 100%).

Vesikel yang bersifat ultradeformabel dan sangat hidrofilik yang selalu berusaha untuk menghindari dehidrasi dalam proses transportasi. Contohnya, vesikel transfersom diletakkan pada permukaan biologis yang terbuka, vesikel ini cenderung untuk menembus penghalang dan bermigrasi ke dalam stratum yang kaya akan air. Penghalang penetrasi melibatkan deformasi bilayer reversibel, sehingga dapat berintegrasi dengan baik. Terdapat dua perbedaan transfersom dari

campuran misel yaitu Pertama, transfersom biasanya dalam ukuran lebih besar dari misel lemak standar. Kedua dan yang lebih penting, setiap vesikel transfersom berisi inti yang diisi air sedangkan misel lain hanyalah sebuah tetesan lemak sederhana. Sehingga transfersom dapat membawa air serta larut dalam lemak dibandingkan dengan misel yang hanya dapat menggabungkan zat lipoidal (Reddy *et al.*, 2015)

#### 2.4.4 Metode Preparasi Transfersom

Preparasi transfersom dapat dilakukan dengan beberapa metode, antara lain: metode dispersi film, metode penguapan fase balik, metode hand shaking, dan metode dispersi ultrasonik.

a. Metode hidrasi film tipis

dispersi film digunakan untuk persiapan dari transfersom yang terdiri tiga langkah :

1. Sebuah film tipis dibuat dari campuran bahan yang membentuk vesikula yaitu fosfolipid dan surfaktan dengan melarutkan dalam pelarut organik yang mudah menguap (kloroform-metanol). Pelarut organik saat itu menguap di atas suhu transisi lipid (room temp untuk vesikula PC murni, atau 50°C untuk *dipalmitoylphosphatidylcholine*) menggunakan rotary evaporator. Proses selesai bila pelarut telah dilepaskan di bawah vakum untuk semalam.
2. Lapisan tipis yang disiapkan dihidrasi dengan buffer (pH 7) dengan putaran pada 40-50 rpm selama 1 jam pada suhu yang sesuai. Vesikel yang dihasilkan membengkak 2 jam pada suhu kamar.
3. Vesikula yang dihasilkan disonikasi pada suhu kamar atau 50°C selama 30 menit menggunakan bath sonicator atau probe sonicator. Vesikula hasil sonikasi dihomogenisasi (Solanki *et al.*, 2016).

b. Metode hand shaking yang dimodifikasi hidrasi film lipid. Teknik ini juga digunakan untuk persiapan transfersom yang terdiri mengikuti Langkah-langkah:

1. Obat, fosfatidilkolin, dan surfaktan dilarutkan dalam campuran etanol: kloroform (1: 1). Pelarut organik dihilangkan dengan cara penguapan

handshaking di atas suhu transisi lipid (43°C). Film tipis lipid terbentuk di dalam labu dinding dengan rotasi film tipis itu disimpan dalam semalam untuk penguapan lengkap pelarut.

2. Film ini kemudian terhidrasi dengan bufeer fosfat (pH 7,4) dengan getaran lembut selama 15 menit pada suhu yang sesuai. Transferom suspensi lebih lanjut terhidrasi sampai 1 jam pada 2-8°C. (Solanki *et al.*, 2016)

c. Metode penguapan fase balik

Fosfatidilkolin dilarutkan dalam kloroform dan ¼ volume buffer fosfat salin. Campuran disonikasi dan diuapkan dibawah tekanan lipid yang terbentuk kemudian dihidrasi. Penguapan dilanjutkan hingga hidrasi sempurna.

d. Metode dispersi ultrasonik (Solanki *et al.*, 2016).

Campuran larutan obat dalam buffer, surfaktan, disonikasi dengan sonikator pada suhu 60°C selama 3 menit. Metode ini juga digunakan untuk memproduksi vesikel unilamellar kecil dari vesikel multilamellar besar yang dipreparasi dengan teknik lainnya (Solanki *et al.*, 2016)

#### 2.4.5 Karakterisasi dari Transfersom

Secara umum pengujian untuk karakterisasi transfersome adalah sebagai berikut:

a) Efisiensi Obat Terjerap

Efisiensi penjerapan istilah yang berhubungan dengan jumlah obat yang dimuat (*loading drug*). Muatan obat menyatakan persen berat bahan aktif terjerap dengan berat nanopartikel, sedangkan efisiensi penjerapan adalah rasio persentase antara eksperimen kandungan obat yang ditentukan, dibandingkan dengan yang sebenarnya, atau massa teoritis obat yang digunakan untuk penyusunan nanopartikel. Efisiensi bergantung pada kombinasi obat polimer dan metode yang digunakan. Polimer hidrofobik menjerap obat yang bersifat hidrofobik dengan jumlah yang lebih besar dibandingkan dengan obat hidrofilik. Sedangkan polimer hidrofilik mampu menjerap obat hidrofilik dengan jumlah yang lebih besar dibandingkan dengan obat hidrofobik. Efisiensi penjerapan ditentukan oleh

pemisahan pertama dari obat terjerap dengan menggunakan metode sentrifugasi kolom. Efisiensi penjerapan ini diukur dengan obat yang tidak terjerap menggunakan metode sentrifugasi. Setelah sentrifugasi dilanjutkan dengan teknik analisa untuk mengukur obat yang terjerap (Sharma *et al.*, 2013). Jumlah obat jerapan dinyatakan sebagai % dihitung dari persamaan berikut:

$$EE\% = \frac{\text{obat terperangkap}}{\text{jumlah obat}} \times 100\% \quad (2.1)$$

b) Diameter Vesikel

Diameter vesikel dapat ditentukan dengan menggunakan metode spektroskopi korelasi foton atau metode hamburan cahaya dinamis (*Dynamic Light Scattering*). Sampel yang telah disiapkan dalam air suling, disaring melalui 0,2 mm membran filter dan diencerkan dengan dapar, disaring kemudian pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektroskopi korelasi foton atau pengukuran hamburan cahaya dinamis (DLS) (Eldhose and Mathew, 2016) Distribusi ukuran partikel dan indeks polidispersitas. Ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel merupakan faktor penting dalam nanopartikel dimana distribusi ukuran partikel menunjukkan variasi yang signifikan dalam pemuatan obat, pelepasan obat, bioavailabilitas dan efikasi. Pengukuran distribusi ukuran partikel dapat dilakukan dengan menggunakan PSA (*particle size analyzer*). PSA merupakan instrument analisis yang dapat digunakan untuk mengukur distribusi ukuran diameter partikel sampel. PSA juga dapat mengukur ukuran diameter parameter dalam suatu sampel dengan sangat tepat dan data yang diperoleh dapat dikembangkan menjadi informasi suatu distribusi ukuran diameter parameter. *Partikel size analyzer* menggunakan prinsip *photon correlation spectroscopy*, dimana mampu pengukuran distribusi diameter partikel dilakukan dengan cara mengukur kecepatan fluktuasi intensitas sinar laser yang dihamburkan oleh partikel karena partikel ini berdifusi melalui fluida. (Musmade *et al.*, 2014) .

Ukuran nanopartikel yang diharapkan dalam pembuatannya adalah <100 nm. Prinsip kerja instrument *partikel size analyzer* juga memanfaatkan gerak brown yaitu gerak acak partikel mikroskopis karena benturan yang tidak teratur antara partikel mikroskopis tersebut dengan medium pendispersi. Arah gerakan ini beraturan dan jarak yang ditempuh pendek. Gerak ini disebabkan oleh medium

pendispersi yang bertumbukan dengan partikel terdispersi dari berbagai sisi (Musmade *et al.*, 2014). *Scanning Electron Microscopy* (SEM) salah satu contohnya adalah dengan alat JSM-T20 dari Kyoto, Jepang. Sampel nanopartikel dipasang pada logam (aluminium), menggunakan dua sisi pita karbon perekat dan dipotong dengan silet. Sampel dilapisi dengan percikan emas/palladium selama 120 detik pada 14 mA di bawah atmosfer argon untuk elektron sekunder yang memancarkan SEM kemudian dapat diamati morfologi nanopartikel pada tegangan percepatan 15 kV (Musmade *et al.*, 2014)

Indekspolidispersitas adalah parameter yang menyatakan distribusi ukuran partikel dari sistem nanopartikel, dimana rentang nilai 0 sampai 0,5 menunjukkan distribusi ukuran yang sempit (homogenitas tinggi). Nilai ini menunjukkan hasil perhitungan yang luas (heterogenitas tinggi). Nilai ini menunjukkan hasil perhitungan berat rata-rata molekul dibagi dengan jumlah rata-rata berat molekul, semakin mendekati 0 berarti distribusinya semakin baik (Ramadan, 2015).

#### **2.4.6 Aplikasi Transfersom**

##### **1. Penghantaran insulin**

Transfersom dapat digunakan untuk menghantarkan obat berbobot molekul besar seperti insulin. Insulin umumnya diberikan melalui rute subkutan, dimana hal ini biasanya tidak terlalu menyenangkan bagi pasien. Enkapsulasi insulin ke dalam transfersome (transfersulin) dapat mengatasi masalah ini. Transfersulin yang diaplikasikan ke kulit dapat menunjukkan efek hiplogikemik setelah 90 sampai 180 menit, tergantung dari komposisi pembawa spesifiknya (Priani *et al.*, 2013).

##### **2. Penghantaran protein dan peptida**

Protein dan peptida umumnya mempunyai bobot molekul yang besar dan bersifat hidrofilik sehingga sulit sekali untuk bisa berpenetrasi kedalam sirkulasi sistemik, ketika diberikan secara oral akan terdegrasi di dalam saluran gastro-intestinal. Oleh karena itu peptida dan protein sering diberikan melalui injeksi. Banyak pendekatan dikembangkan untuk memperbaiki masalah tersebut. Bioavailabilitas dari transfersome mirip dengan yang dihasilkan dari injeksi subkutan. Serum albumin manusia atau gap junction protein yang dienkapsulasi ke



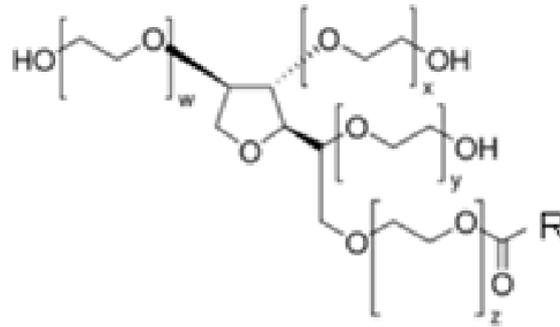
memiliki sifat lipofilisitas yang tinggi, struktur *coenzym Q-10* terdiri dari cincin *benzoquinon* dan rantai samping *isofrenoid* lipofilik. Panjang rantai samping bervariasi di antara organisme yang berbeda. Pada manusia, rantai samping terdiri dari 10 unit trans-isoprenoid (Bank., *et al* 2011). *Coenzym Q-10* banyak terdapat di dalam daging sapi, minyak ikan, sarden, dan kacang-kacangan (Pakpahan, 2019). Peranan fisiologis *Coenzym Q-10* adalah sebagai komponen elektron dalam proses transpor elektron respirasi aerobik. Proses ini sangat penting dalam respirasi di mitokondria untuk menghasilkan ATP. Selain di mitokondria, organel yang memiliki *Coenzym Q-10* adalah retikulum endoplasma, peroksisom, lisosom, dan vesikel (Pakpahan, 2019). Selain sebagai molekul yang berperan dalam transpor elektron, *Coenzym Q-10* juga memiliki fungsi antioksidan. *Coenzym Q-10* memiliki peran melindungi tubuh dari radikal bebas. Dalam bentuk reduksinya *Coenzym Q-10* sangat mudah melepaskan satu atau kedua elektron dan dapat berikatan dengan radikal bebas. *Coenzym Q-10* juga mampu mencegah peroksidase lipid, sehingga protein terlindungi dari proses oksidasi. Proses ini yang diyakini sangat bermanfaat dalam pencegahan penyakit seperti aterosklerosis pada penyakit jantung (Pakpahan, 2019).

## **2.6 Komponen transfersom**

### **2.6.1 Soy lecithin**

Lesitin adalah salah satu jenis surfaktan alami yang diisolasi dari telur atau kedelai. Lesitin banyak digunakan secara luas sebagai pengemulsi pada pembuatan makanan, produk farmasetik, pemodifikasi viskositas pada kosmetik, *solubilizer*, *emulsifier*, penstabil dan penetration enhancer. Pada pembuatan transfersom lesitin berfungsi sebagai surfaktan, karena dapat menurunkan tegangan muka antara fase air dan fase minyak sehingga akan terbentuk tetesan kecil yang stabil. Adanya komponen lipofilik pada surfaktan juga akan mempengaruhi fungsi barrier kulit sehingga akan meningkatkan penetrasi obat, Lesitin juga mampu meningkatkan flux pengiriman obat melalui mekanisme peningkatan permeasi pada *stratum corneum* (Dwi *et al.*, 2017).

### 2.6.2 Tween 80



Gambar 2. 7 Stuktur tween 80 (Mahmood and Al-koofee, 2013)

Tween 80 mempunyai nama kimia *Polyoxyethylene 80 sorbitan monolaurate*, memiliki berat molekul 1310 gram/mol, tween 80 larut dalam air, etanol, tidak larut dalam minyak mineral dan minyak sayur, tween 80 berwarna kekuningan dan memiliki yang khas dan berasa pahit. Tween 80 digunakan sebagai zat pembasah, emulgator, dan peningkatan kelarutan (Suksaeree *et al.*, 2014). Tween 80 juga berfungsi sebagai peningkatan penetrasi dengan cara menurunkan tegangan antarmuka antara obat dan medium sekaligus membentuk misel sehingga molekul obat akan terbawa oleh misel sehingga larut kedalam medium (Kesumawardhany and Mita, 2016).

### 2.6.3 Buffer Phospat

Larutan penyangga atau Buffer adalah larutan yang bila ditambahkan sedikit asam, basa atau air tidak mengubah pH, Pada umumnya larutan buffer mengandung natrium klorida, kalium klorida, natrium dihidrogen fosfat dan kalium dihidrogen fosfat. Cara kerja larutan buffer berkaitan dengan pengaruh ion, penambahan ion dalam larutan asam lemah atau basa lemah menghasilkan pergeseran kesetimbangan kearah molekul asam atau basa yang tidak terurai. Oleh karena itu larutan buffer dapat didefinisikan sebagai campuran asam lemah dengan basa konjugasinya atau basa lemah dengan asam konjugasinya. Larutan buffer dapat mempertahankan pH-nya karena mengandung ion garam, kesetimbangan asam lemah, dan kesetimbangan air, yang membentuk suatu sistem (Puspitasari, 2012).

#### 2.6.4 N-heksan



Gambar 2. 8 struktur N-heksan  
(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Hexane>)

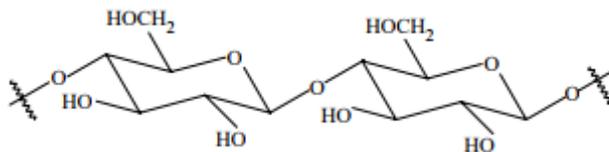
Heksana adalah hidrokarbon alkana rantai lurus yang memiliki 6 atom karbon. *Isomer n-heksana* tidak reaktif dan digunakan secara luas sebagai pelarut inert dalam reaksi organik karena n-heksana bersifat non polar. n-Heksana didapatkan dari hasil penyulingan minyak mentah dimana untuk produk industrinya ialah fraksi yang mendidih pada suhu 65-70 °C (Anggrawati, 2018).

#### 2.7 Gel transdermal

Gel adalah sediaan semi padat yang dibuat dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar serta dapat terpenetrasi oleh suatu cairan. Dalam formulasi gel dibutuhkan senyawa *gelling agent* yang berfungsi sebagai bahan pembentuk gel. *Gelling agent* atau bahan pembentuk gel adalah molekul komponen polimer yang mempunyai berat molekul tinggi dan merupakan gabungan dari beberapa molekul dan lilitan dari polimer yang dapat memberikan sifat kental pada gel (Danimayostu., *et al* 2017).

##### 2.7.1 Komponen pembentuk gel

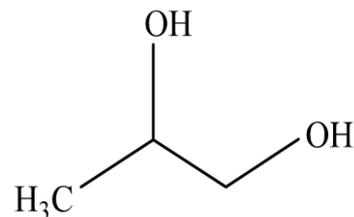
1. *Carboxymethyl cellulose*



Gambar 2. 9 Struktur kimia carboxymethyl selulosa (Iqbal et al., 2015)

*Carboxymethyl Cellulose* adalah garam dari poli-karboksi-metil-eter dari selulosa. *Carboxymethyl Cellulose* memiliki pemerian yakni berwarna putih, tidak berbau, tidak berasa, berbentuk serbuk granular, dan higroskopis setelah mengalami pengeringan. *Carboxymethyl Cellulose* digunakan untuk formulasi dalam sediaan farmasi baik dalam sediaan oral maupun topikal, karena dapat meningkatkan viskositas sediaan. *Carboxymethyl Cellulose* pada konsentrasi (3-6%) dapat meningkatkan viskositas medium sehingga dapat digunakan sebagai basis gel. *Carboxymethyl Cellulose* mudah terdispersi dalam air dan membentuk larutan koloidal, tetapi tidak larut dalam pelarut organik (Danimayostu., *et al* 2017).

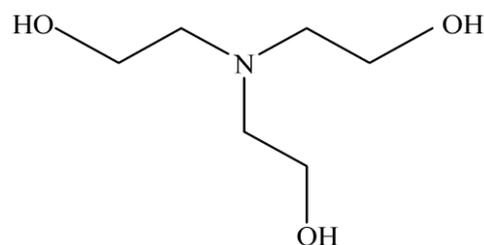
## 2. Propilenglikol



Gambar 2. 10 Struktur kimia propilen glikol

Propilen glikol atau *propana- 1,2- diol* berupa cairan jernih, kental tidak berwarna tidak berbau, larut dalam air, aseton, gliserin, etanol dan klorofom. Propilen glikol telah banyak digunakan sebagai pelarut dan pengawet dalam berbagai formulasi obat. Karena propilen glikol memiliki fungsi sebagai pengawet, desinfektan dan humektan untuk menjaga kelembapan dan kekeringan dari suatu sediaan. Serta dapat mempertahankan kandungan air dalam sediaan sehingga sifat fisik dan stabilitas sediaan selama penyimpanan dapat dipertahankan (Indriyati *et al.*, 2016).

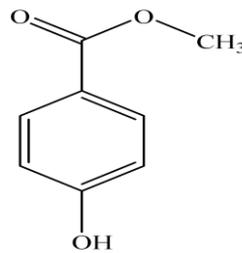
## 3. TEA (Trietanolamin)



Gambar 2.9 Struktur kimia Trietanolamin

Trietanolamin merupakan cairan kental, tidak berwarna hingga kuning pucat, bau lemah mudah larut dalam air, etanol (95%) dan mudah larut dalam klorofom. Trietanolamin dalam formulasi digunakan sebagai bahan pembentuk emulsi dan kegunaan lain yaitu sebagai buffer, pelarut, humektan dan dapat menjaga stabilitas gel (Indriyati *et al.*, 2016).

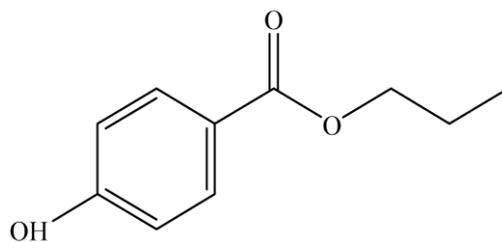
4. Nipagin (metil paraben)



Gambar 2. 11 Struktur kimia nipagin

Metil paraben merupakan serbuk hablur, tidak berwarna, tidak berbau, mempunyai sedikit rasa terbakar. Metil paraben sukar larut dalam air, benzen dan dalam karbon tetraklorida serta metil paraben mudah larut dalam etanol dan dalam eter. Metil paraben dalam formulasi berfungsi sebagai zat tambahan. sekaligus zat pengawet anti mikroba karena dapat meningkatkan aktivitas antimikroba dengan cara memperpanjang rantai alkil. Kemampuan pengawet metil paraben ditingkatkan dengan penambahan propilen glikol (Tambunan and Sulaiman, 2018)

5. Nipasol (Propil paraben)



Gambar 2. 12 Struktur kimia nipasol

Nipasol atau Propil paraben merupakan serbuk hablur putih, tidak berbau, dan tidak berasa. Nipasol sangat sukar larut dalam air, larut dalam etanol dan aseton serta mudah larut dalam alkali hidroksida. Propil paraben berfungsi sebagai pengawet anti jamur (Tambunan and Sulaiman, 2018).

## **2.8 Evaluasi gel transdermal**

### **2.8.1 Organoleptik**

Pemeriksaan organoleptik dilakukan dengan mengamati penampilan fisik sediaan, meliputi bentuk, warna dan bau (Ardiyanti and Djajadistra, 2015).

### **2.8.2 Pengukuran pH**

Pengujian pH dilakukan dengan cara menimbang 1 gram sampel formula gel kemudian ditambahkan 10 mL aquades masukan dalam beaker glass. Selanjutnya diuji menggunakan pH meter digital. Persyaratan pH sediaan gel yang dapat ditoleransi untuk tidak mengiritasi kulit yaitu 5 – 7,5 (Nurahmanto *et al.*, 2017).

### **2.8.3 Penentuan Viskositas**

Viskositas atau kekentalan adalah sifat dari suatu zat cair (fluida) disebabkan adanya gesekan antara molekul-molekul zat cair dengan gaya kohesi pada zat cair tersebut. Gesekan-gesekan inilah yang menghambat aliran zat cair. Uji viskositas bertujuan untuk mengetahui kekentalan dari sediaan gel (Priawanto and Hadning, 2017)

### **2.8.4 Daya sebar**

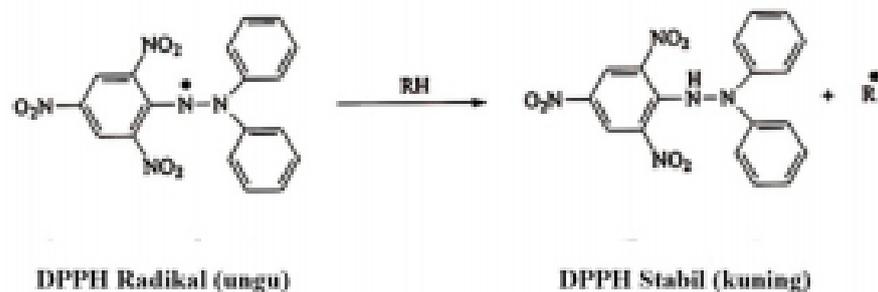
Uji daya sebar pada gel bertujuan untuk mengetahui kemampuan sediaan gel menyebar ditempat permukaan pemakaian. Daya sebar yang baik yaitu 5- 7 cm. Semakin besar nilai daya sebar sediaan gel maka kemampuan menyebar sediaan semakin besar, sehingga kemampuan gel lebih cepat menyerap pada kulit. (Priawanto and Hadning, 2017)

### **2.8.5 Daya lekat**

Uji daya lekat pada gel dilakukan untuk untuk mengetahui sediaan gel yang melekat pada kulit. Sifat umum sediaan gel adalah mampu melekat pada permukaan tempat pemakaian dalam waktu yang lama sebelum sediaan dicuci atau dibersihkan. Semakin lama daya lekat sediaan gel maka semakin baik sediaan gel tersebut. Rentang daya lekat yang telah ditetapkan, yaitu 2,00-300,00 detik atau lebih dari satu detik (Priawanto and Hadning, 2017)

## 2.9 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (*2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil*) diperkenalkan pertama kali oleh Blois pada tahun 1958. DPPH (*2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil*) mempunyai ciri – ciri padatan berwarna ungu kehitaman, larut dalam pelarut DMF (*dimetilformanida*), etanol dan metanol. merupakan radikal bebas atau zat pengoksidan yang stabil dan mempunyai satu kelebihan elektron pada strukturnya. Prinsip kerja metode DPPH adalah berdasarkan adanya senyawa (AH) mendonorkan hydrogen (H) pada DPPH sehingga mengubah radikal bebas DPPH yg berwarna ungu menjadi berwarna kuning pucat. Sebagai tanda berkurangnya radikal DPPH menjadi *diphenyl picryl hydrazine* yang berkaitan dengan kemampuan sebagai penangkap radikal bebas. Pengurangan intensitas warna yang terjadi berhubungan dengan jumlah elektron DPPH yang menangkap atom hydrogen.



Gambar 2. 13 Struktur mekanisme DPPH (Yuhernita and Juniarti, 2011)

Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk skrining aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat dan praktis. (Veeru *et al.*, 2009). Metode ini melibatkan penurunan serapan DPPH diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis diukur serapannya dengan Panjang gelombang 517 nm. (Trifena, 2012). Aktivitas antioksidan dapat dinyatakan dengan satuan persen inhibisi.

Rumus % inhibisi

$$\frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100 \%$$

(2.2)

Absorbansi blanko yang digunakan adalah absorbansi larutan DPPH berdasarkan rumus tersebut, semakin tinggi tingkat dekolonisasi (absorbansi semakin kecil) maka semakin tinggi nilai aktivitas penangkapan radikal bebas. Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dinyatakan dalam *inhibition concertation* 50% atau IC 50 yaitu konsentrasi sampel yang dapat menghambat aktivitas antioksidan (Veeru *et al.*,2009).

## **2.10 Spektrofotometer Uv-Vis**

Dalam analisis menggunakan spektrofotometer Uv-Vis (Ramadhan, 2015), ada beberapa hal yang perlu diperhatikan :

### **1. Penentuan Panjang Gelombang**

Panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang dimana terjadi absorbansi maksimum. Untuk memperoleh panjang gelombang serapan maksimum dapat diperoleh dengan membuat hubungan antara absorbansi dengan panjang gelombang dari suatu larutan baku dengan konsentrasi tertentu.

### **2. Pembuatan Kurva Kalibrasi**

Dilakukan dengan membuat seri larutan baku dalam berbagai konsentrasi kemudian absorbansi tiap konsentrasi diukur lalu dibuat kurva yang meruapakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi. Kurva kalibrasi yang lurus menandakan bahwa hukum Lambert-Beer terpenuhi.

### **3. Pembacaan Absorbansi Sampel**

Absorbansi yang terbaca pada spektrofotometer hendaknya antara 0,2-0,8 atau 15% sampai 70% jika dibaca sebagai transmittan. Hal ini disebabkan karena pada kisaran ini nilai absorbansi tersebut kesalahan fotometrik yang terjadi adalah paling minimal.

## **2.11 Analisis Data**

Statistika adalah ilmu atau seni yang berkaitan dengan tata cara (metode) pengumpulan data, analisis data, dan interpretasi hasil analisis untuk mendapatkan informasi guna penarikan kesimpulan dan pengambilan keputusan. Metode statistik yang banyak digunakan untuk menganalisis data dari suatu percobaan yang

terancang adalah teknik analisis ragam atau sering disebut dengan ANOVA. Analisis ragam adalah sebuah metode untuk memeriksa hubungan antara dua atau lebih set data. Dengan kata lain ada hubungan antara set data dengan melakukan analisis varians. Analisis varian kadang-kadang disebut sebagai F-test. Suatu ciri analisis ragam adalah model ini terparameterisasikan secara berlebihan, artinya model ini mengandung lebih banyak parameter dari pada yang dibutuhkan untuk mempresentasikan pengaruh-pengaruh yang diinginkan. Salah satu tipe dari analisis ragam adalah analisis varians satu jalur atau juga dikenal dengan istilah one-way ANOVA.

Analisis varians satu jalur adalah proses menganalisis data yang diperoleh dari percobaan dengan berbagai tingkat faktor, biasanya lebih dari dua tingkat faktor. Tujuan dari analisis ini adalah untuk mengidentifikasi variabel bebas yang penting dan bagaimana variabel tersebut dapat mempengaruhi respons. Bila hanya salah satu faktor yang diselidiki, proses ini disebut satu arah atau analisis varians satu jalur. Sebelum dilakukan uji Anova data tersebut dilakuka uji prasyarat yaitu uji normalitas dan homegenitas. *Uji Kolmogorov Smirnov* merupakan uji normalitas dengan membandingkan distribusi data (yang akan diuji normalitasnya) dengan distribusi normal baku. Distribusi normal baku adalah data yang telah ditransformasikan ke dalam bentuk *Z-Score* dan diasumsikan normal. Jadi sebenarnya uji *Kolmogorov Smirnov* adalah uji beda antara data yang diuji normalitasnya dengan data normal baku. Seperti pada uji beda biasa, jika signifikansi di bawah 0,05 berarti terdapat perbedaan yang signifikan, dan jika signifikansi di atas 0,05 maka tidak terjadi perbedaan yang signifikan. Penerapan pada uji *Kolmogorov Smirnov* adalah bahwa jika signifikansi di bawah 0,05 berarti data yang akan diuji mempunyai perbedaan yang signifikan dengan data normal baku, berarti data tersebut tidak normal.

Uji homogenitas adalah suatu uji yang dilakukan untuk mengetahui bahwa dua atau lebih kelompok data sampel berasal dari populasi yang memiliki varians sama (homogen). Seperti pada pengujian statistika yang lain, uji homoenitas dilakukan sebagai acuan untuk menentukan keputusan uji stastistika berikutnya. Menurut (joko widiyanto, 2010) dasar atau pengambilan keputusan dalam uji homogenitas adalah sebagai berikut, jika nilai signifikasi atau sig <0,05 maka dikatakan bahwa

varians dari dua atau lebih kelompok populasi data adalah tidak sama (tidak homogen). Jika nilai signifikan atau  $\text{sig} > 0,05$  maka dikatakan bahwa varians dari dua atau lebih kelompok populasi data adalah sama (homogen).

Independen T Test adalah uji komparatif atau uji beda untuk mengetahui adakah perbedaan mean atau rerata yang bermakna antara 2 kelompok bebas yang berskala data interval/rasio. Dua kelompok bebas yang dimaksud di sini adalah dua kelompok yang tidak berpasangan, artinya sumber data berasal dari subjek yang berbeda. Asumsi yang harus dipenuhi pada independen t test antara lain: Skala data interval/rasio, Kelompok data saling bebas atau tidak berpasangan, Data per kelompok berdistribusi normal, Data per kelompok tidak terdapat outlier (observasi yang muncul dengan nilai-nilai ekstrim, baik secara univariat ataupun multivariat. Yang dimaksud dengan nilai-nilai ekstrim dalam observasi adalah nilai yang jauh atau beda sama sekali dengan sebagian besar nilai lain dalam kelompoknya, Varians antar kelompok sama atau homogen.